Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E3 – UNITÉ U33
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2016

_____

Durée : 2 heures
Coefficient : 3

_____

Calculatrice interdite

Matériel autorisé :

- Dictionnaire anglais-français.

Documents à rendre et à agrafer avec la copie :

- Documents n° 2 et n° 3 ..... page 5/8

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 8 pages, numérotées de 1/8 à 8/8.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

APPROCHES VACCINALES POUR LA LUTTE CONTRE LES PAPILLOMAVIRUS

Les papillomavirus (Human PapillomaVirus : HPV) sont des virus communs qui peuvent infecter la peau et les muqueuses. Une vingtaine de ces papillomavirus peut être à l'origine d'anomalies cellulaires et de cancers dont le cancer du col de l'utérus. Deux types de virus sont à haut risque : HPV16 et HPV18. La mise en évidence de ces HPV s'appuie sur un diagnostic de biologie moléculaire effectué sur des prélèvements cytologiques suspects (génotypage).

Des vaccins prophylactiques ont été développés en administrant des particules virales dénuées de matériel génétique.

1 - Les HPV : cycle viral et dépistage (17 points)

Les papillomavirus sont des petits virus à ADN double brin non-enveloppés.

1.1 - Le cycle viral

1.1.1 - La phase de pénétration du virus est une endocytose, clathrine-dépendante. Expliquer à l'aide d'un schéma annoté et commenté les étapes de ce processus.

1.1.2 - Le cycle viral comporte une phase d'éclipse. Justifier le terme d'éclipse et citer les étapes qui constituent cette phase.

1.2 - La détection des HPV

Les techniques de détection et de typage des HPV peuvent reposer sur la technique de PCR.

1.2.1 - Indiquer la signification du sigle PCR.

1.2.2 - La PCR utilise une ADN polymérase particulière. Préciser sa propriété principale.

1.2.3 - Nommer les principales phases d'un cycle d'amplification génique.

1.2.4 - Établir la formule de détermination du nombre de copies du gène cible obtenues après n cycles d'amplification.

Le **document n° 1** présente le principe du génotypage par hybridation inverse sur bandelettes. Ce test permet la détection spécifique de 37 types d'HPV.

1.2.5 - À l'aide du **document n° 1,** expliquer comment valider la technique du génotypage.

1.2.6 - Compléter le **document n° 2** pour présenter le résultat attendu pour une patiente infectée par HPV16 et HPV31 (**le document sera annexé à la copie**).

2 - Stratégie vaccinale (43 points)

Les deux vaccins commercialisés sont des VLP (Virus Like Particule). Ils sont composés des protéines majeures de capside L1 différentes selon les génotypes HPV.

Le vaccin bivalent est composé des protéines L1 des génotypes HPV 16 et 18. Le vaccin quadrivalent est composé des protéines L1 des génotypes HPV 6, 11, 16 et 18.

2.1 - Réponse immunitaire

2.1.1 - Annoter la structure de l'immunoglobuline G (IgG) présentée sur le **document n° 3** (**le document sera annexé à la copie**).

2.1.2 - Analyser le **document n° 4** afin de caractériser les réponses immunitaires suite à l'introduction de l'antigène.

2.2 - Vecteur YEGα-HPV16 L1

Dans le cas du vaccin quadrivalent, la production des VLP est obtenue par expression du gène de la protéine L1 des HPV de génotypes 6, 11, 16 et 18 chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Pour obtenir des VLP16 L1 (vaccin contenant la protéine capsidiale L1 du génotype HPV16), on utilise un vecteur plasmidique (YEGα-HIR525), auquel on a ajouté des séquences génomiques spécifiques des levures :

- une origine de réplication,
- le promoteur du gène GAL,
- le gène URA3, codant pour une enzyme impliquée dans la synthèse de l'uracile.

Base nationale des sujets d'examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Le gène HPV16 L1 est donc introduit dans ce plasmide (YEGα-HIR525). On obtient alors le vecteur d'expression YEGα-HPV16 L1 schématisé dans le **document n° 5**.

2.2.1 - Définir un « vecteur d'expression ».

2.2.2 - Préciser la nature des molécules « EcoR I » et « Sal I » et expliquer leur rôle lors de l'introduction du gène HPV16 L1 dans le vecteur.

2.2.3 - Après transformation des levures par le vecteur d'expression, la culture des levures est réalisée dans un milieu sans uracile. Justifier le choix de ce milieu de culture.

2.2.4 - Expliquer l'intérêt de la présence d'une origine de réplication dans la construction du vecteur d'expression YEGα-HPV16 L1.

2.2.5 - Préciser le rôle du promoteur.

2.3 - <u>Purification des protéines capsidales, principe actif du vaccin</u>

Les principales étapes de purification du vaccin sont présentées dans le **document n° 6**.

2.3.1 - Nommer cette méthode de centrifugation.

2.3.2 - Expliquer le principe de cette méthode de séparation.

2.3.3 - Indiquer ce que contiennent les fractions contenant de 30 à 40 % de saccharose.

2.4 - <u>Contrôle des VLP</u>

Après obtention de VLP16 L1 purifiées, leur diamètre est contrôlé afin de s'assurer qu'il est conforme à celui des virions HPV, soit environ 50 nm par observation microscopique, dont un champ est présenté sur le **document n° 7.**

2.4.1 - Indiquer le type de microscopie réalisé afin d'obtenir cette image et expliquer brièvement son principe.

2.4.2 - Préciser l'intérêt d'utiliser une solution d'acétate d'uranyle (métal lourd).

2.4.3 - D'après l'image obtenue, estimer la taille des particules et justifier que les VLP16 L1 produites sont conformes aux attentes.

2.5 - <u>Immunogénicité des vaccins bivalent et quadrivalent</u>

Le **document n° 8** présente le protocole ELISA du dosage des anticorps anti-HPV dans le sérum de sujets vaccinés, afin de tester l'immunogénicité du vaccin bivalent.

2.5.1 - Représenter un schéma annoté de l'édifice moléculaire obtenu dans la cupule du contrôle positif.

2.5.2 - Indiquer le rôle des contrôles réalisés et le résultat attendu pour chacun.

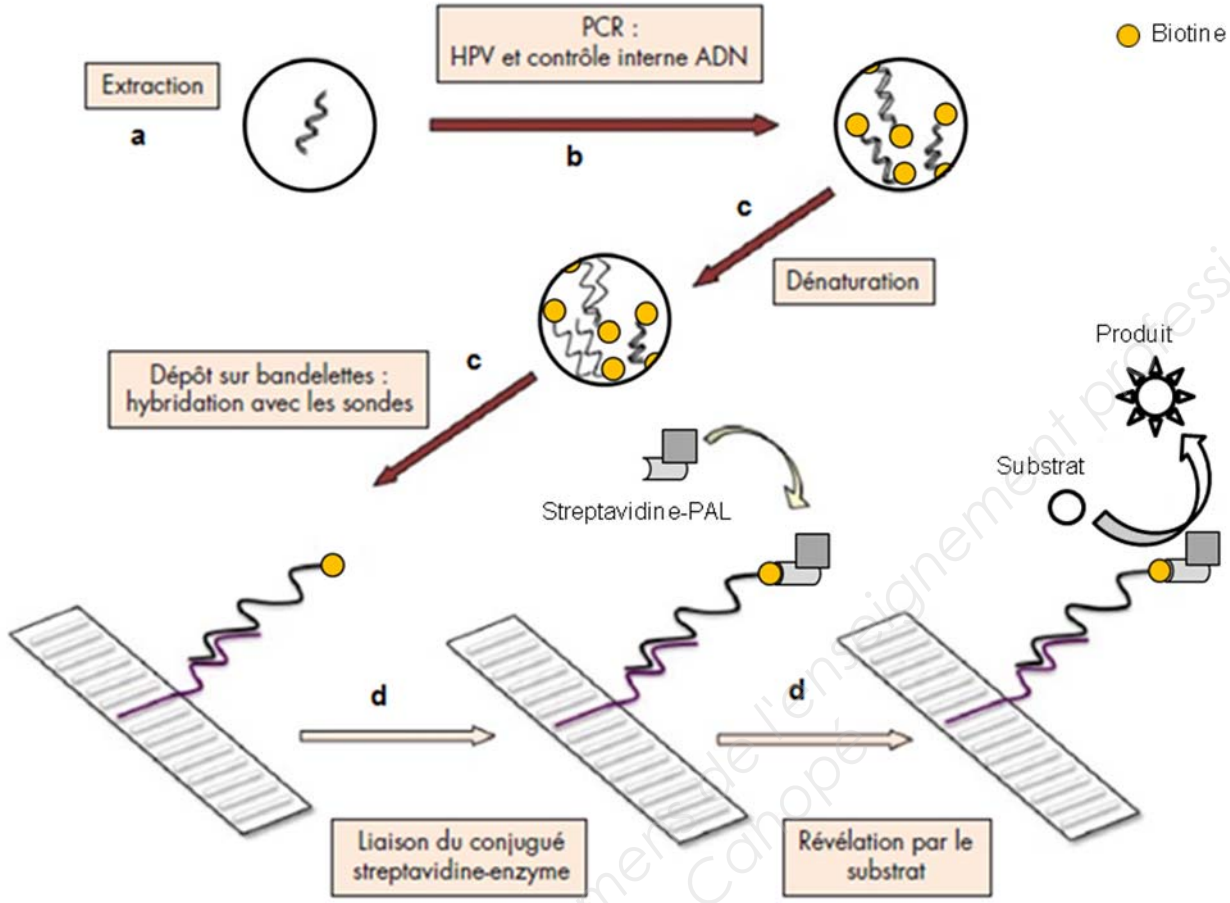
Les vaccins commercialisés contiennent chacun un adjuvant :
- l'hydroxyde d'aluminium ($Al(OH)_3$), pour le vaccin quadrivalent,
- le phosphate d'aluminium associé à un lipide A monophosphorylé (AS04), pour le vaccin bivalent.

2.5.3 - Indiquer le rôle d'un adjuvant.

2.5.4 - Analyser les résultats présentés sur le **document n° 9** et conclure sur l'effet des adjuvants utilisés dans la composition des vaccins bivalent et quadrivalent.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 1 : PRINCIPE DU GÉNOTYPAGE PAR HYBRIDATION INVERSE SUR BANDELETTES



Ce test comporte plusieurs étapes :

a) Extraction de l'ADN (viral et cellulaire) à partir d'un prélèvement suspect du col de l'utérus.

b) Amplification par PCR d'un fragment de 450 pb au sein de la région L1 du génome d'HPV en utilisant des amorces PGMY09/11 biotinylées consensus.

Un contrôle interne de la présence d'ADN est intégré au kit permettant d'amplifier le gène de la β-globine. Il s'agit d'un gène constitutif humain permettant la synthèse de deux protéines : Low et High globin.

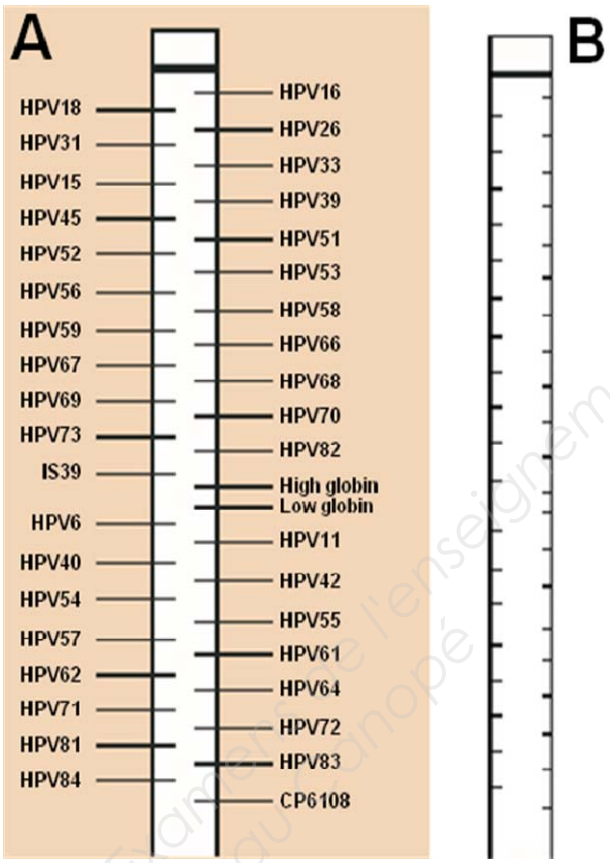
c) Les amplicons biotinylés sont ensuite hybridés avec des sondes oligonucléotidiques spécifiques des types d'HPV qui sont immobilisées en lignes parallèles sur des bandelettes de nitrocellulose.

d) Après hybridation et lavage, le conjugué streptavidine/phosphatase alcaline (PAL) est ajouté et se lie à tout hybride biotinylé formé. L'incubation avec le chromogène BCIP/ NBT forme un précipité violet au niveau des lignes réactionnelles permettant une interprétation visuelle des résultats.

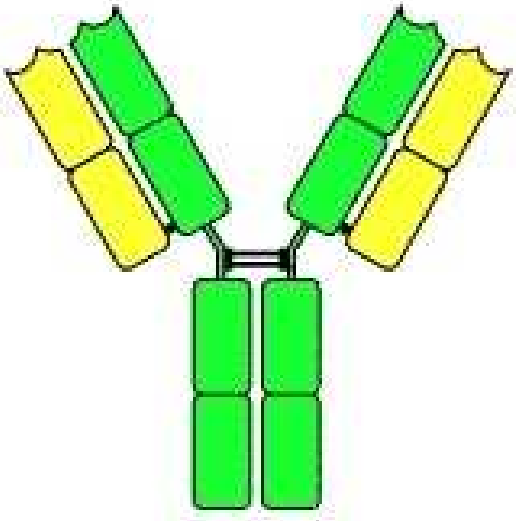
Base nationale des sujets d'Examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 2 : LECTURE DU GÉNOTYPAGE PAR HYBRIDATION INVERSE SUR BANDELETTE
À RENDRE AVEC LA COPIE

A : position des sondes spécifiques sur la bandelette.
B : Résultat attendu.



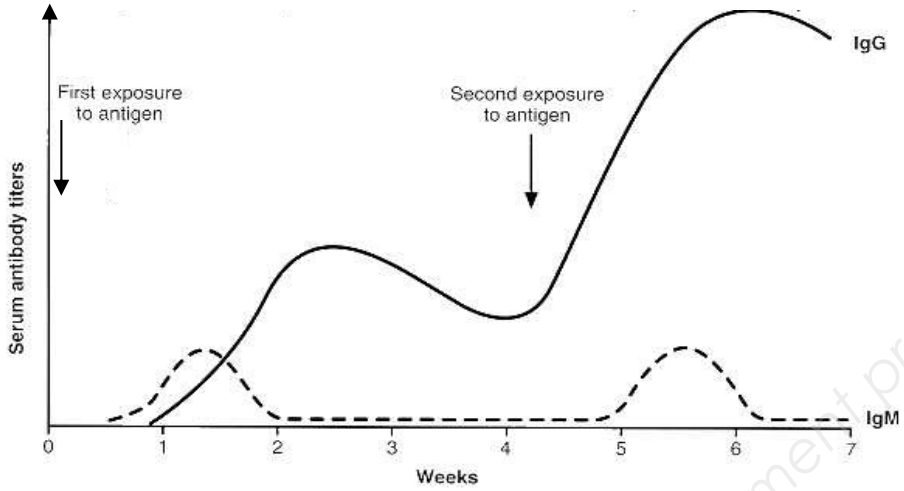
DOCUMENT N° 3 : SCHÉMA SIMPLIFIÉ DE LA STRUCTURE D'UNE IMMUNOGLOBINE G
À RENDRE AVEC LA COPIE



Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel Réseau Canopé

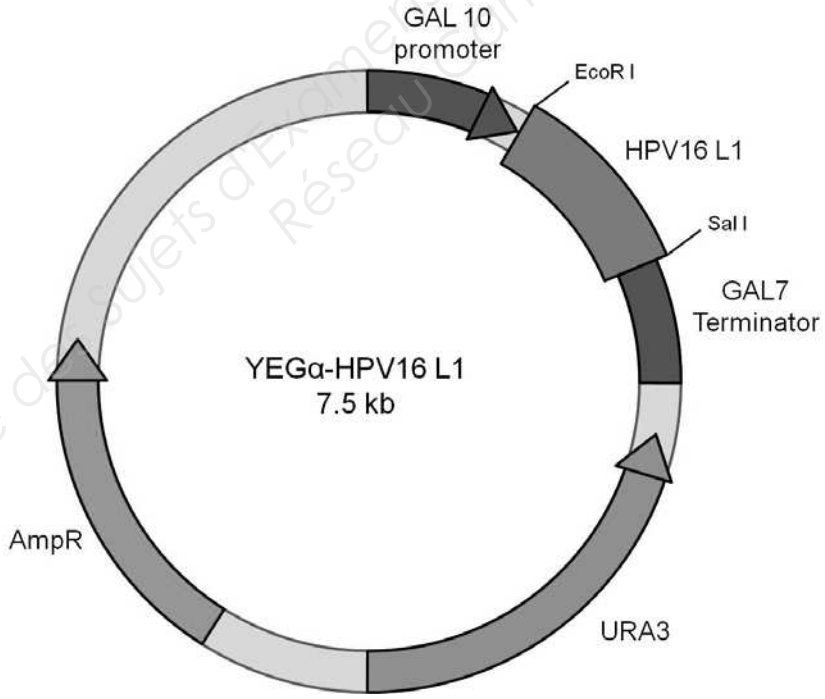
DOCUMENT N° 4 : PRODUCTION D'ANTICORPS SUITE À DES INJECTIONS D'UN ANTIGÈNE

(http://www.jpboseret.eu/index.php?page=les-differents-mecanismes-de-defense)



DOCUMENT N° 5 : YEAST EXPRESSION VECTOR PLASMID FOR HPV 16 L1 GENE

(D'après Park *et al.*, Production and Prophylactic Efficacy Study of Human Papillomavirus-like Particle Expressing HPV16 L1 Capsid Protein, 2002, The journal of Microbiology, Vol.40, pp.313-318)



Base Nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel Réseau Canopé

DOCUMENT N° 6 : PURIFICATION DES VLP16 L1

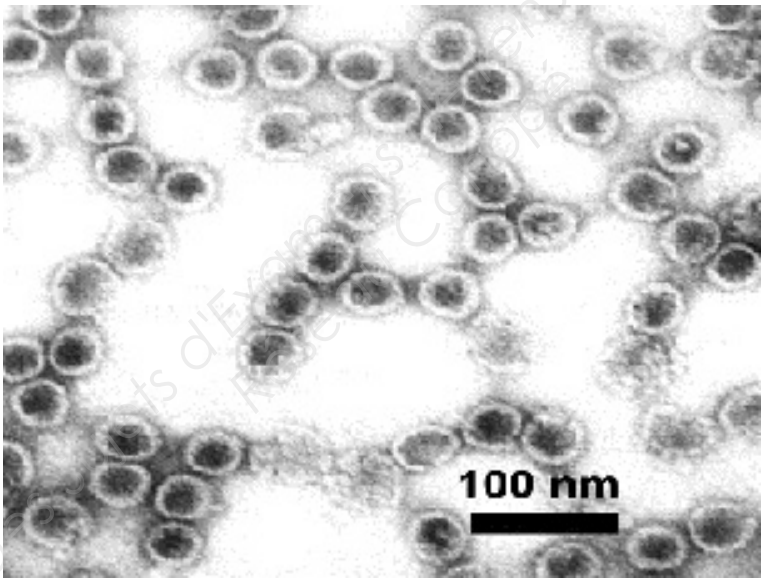
La purification des VLP16 L1 contenues dans les levures est réalisée en plusieurs étapes :

- obtention d'un lysat cellulaire,
- centrifugation,
- chromatographie d'exclusion,
- chromatographie d'échange d'ions.

La méthode de centrifugation utilisée consiste à déposer un volume V d'extrait cellulaire à la surface d'un gradient de saccharose (10 - 65 %) préparé en tampon PBS - 0,5 mol.L^{-1} NaCl dans un tube de centrifugation. Le tube est ensuite centrifugé à 154000 g pendant 1 h dans une centrifugeuse réfrigérée à 4° C. Le contenu du tube est fractionné, du fond vers le haut du tube, en 23 aliquotes d'approximativement 500 µL chacun. Les fractions contenant de 30 à 40 % de saccharose sont ensuite rassemblées, dialysées contre du tampon PBS - 0,5 mol.L^{-1} NaCl et centrifugées à nouveau (183 000 g 1 h à 4°C). Le culot cellulaire est enfin repris dans du tampon PBS - 0,5 mol.L^{-1} NaCl.

DOCUMENT N° 7 : CHAMP MICROSCOPIQUE MONTRANT DES VLP16 L1 PURIFIÉES, APRÈS COLORATION NÉGATIVE AVEC DE L'ACÉTATE D'URANYLE

(http://www.abcam.com/hpv16-l1-full-length-protein-ab119880.html)



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 8 : PROTOCOLE DE DOSAGE SÉROLOGIQUE DES ANTICORPS ANTI-HPV 16 ET 18 APRÈS INJECTIONS DU VACCIN BIVALENT PAR MÉTHODE ELISA

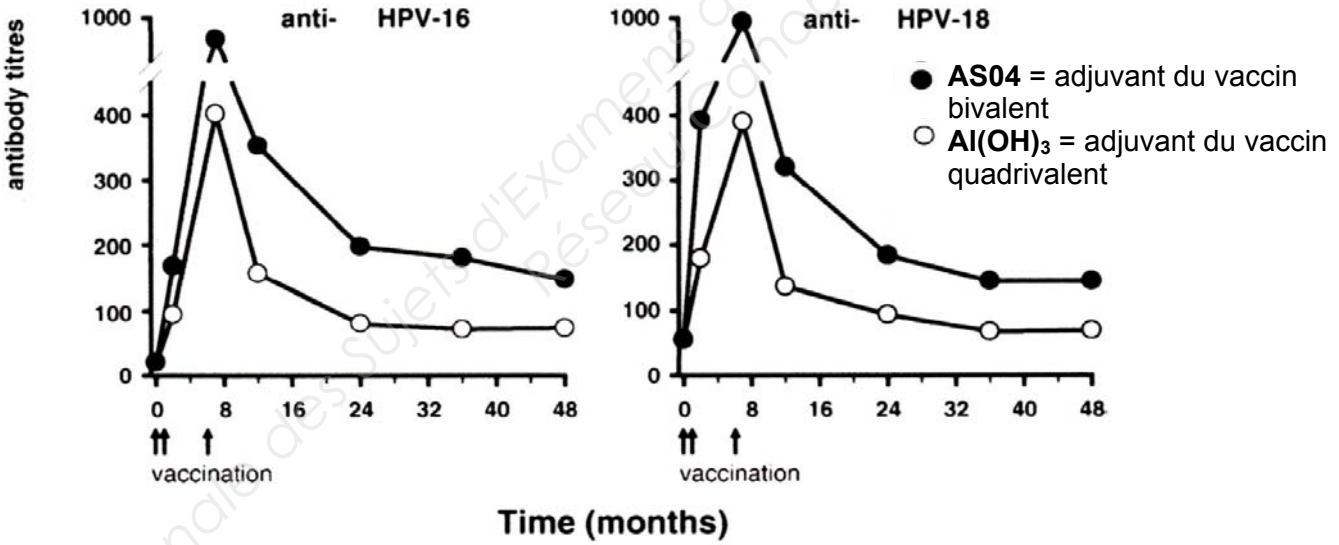
- ELISA plate (96-wells plate) is coated with 200 ng of 16/18 VLPs in the coating buffer (carbonate buffer, pH 9.6) at 4°C overnight, washed three times with washing buffer (0.01 % Tween-20 in PBS), and blocked with 10 % milk casein in washing buffer at 37°C for 1 hour.
- Study serum and control reagents were diluted in 2 % non-fat milk and 0.05 % TWEEN H_20 in TBS, added and incubated for 1 hour at 37°C.

The HPV16/18 positive and HPV negative serums were used as control reagents.

- Unbound antibodies were removed by washing and goat anti-human HRP conjugate was added (HRP = Horseradish peroxidase)
- When the incubation time was over, peroxidase substrates were added.
- The color reaction was stopped by adding 2.5 M H_2SO_4 and absorbance was recorded at 450 nm.

DOCUMENT N° 9 : RÉSULTAT DES DOSAGES SÉROLOGIQUES DES IgG ANTI-HPV 16 ET DES IgG ANTI-HPV18 APRÈS VACCINATION PAR LE VACCIN BIVALENT OU LE VACCIN QUADRIVALENT

(Schwarz and Leo, Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: Improving upon nature, 2008, Gynecologic oncology, Vol 110, pp.S1-S10).



Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel Réseau Canopé

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.