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 :
formav.co/explorer

BTS BIOALC • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioAlc

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

Session 2019 • Code sujet : **BAE3BC** • Durée : **2 heures** • Coefficient : **3**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. **Production du principe actif** (4 questions) — **Page 3**
2. **Pharmacodynamie du principe actif** (2 questions) — **Page 5**
3. **Pharmacocinétique du principe actif** (4 questions) — **Page 7**
4. **Toxicologie du principe actif et suivi par PCR** (3 questions) — **Page 10**
5. **Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ)** (Synthèse & Q&A Examen) — **Page 12**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2019/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2019 - 3-Sujet.pdf

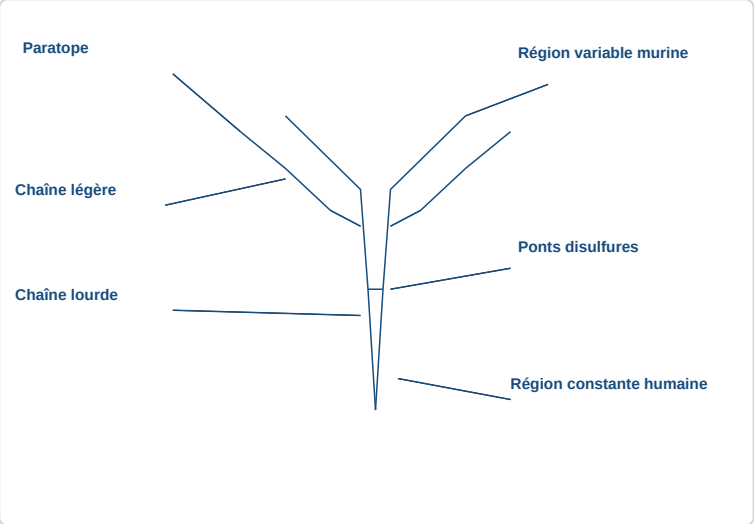
1. Production du principe actif

Le rituximab est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre CD20, et les documents le situent dans la classification des anticorps thérapeutiques. La partie étudie aussi l'obtention, la sélection en milieu HAT et l'isolement des hybridomes produisant l'anticorps recherché.

Question Q1. Réaliser un schéma annoté du rituximab en indiquant la chaîne lourde, la chaîne légère, la région variable murine, la région constante humaine, le paratope et les ponts disulfures. Argumenter l'intérêt des anticorps chimériques ou humanisés en thérapie humaine.

Le rituximab est chimérique : ses régions variables murines reconnaissent CD20 et ses régions constantes humaines contribuent aux fonctions effectrices de l'anticorps. Le paratope se situe à l'extrémité de chaque bras. Les deux chaînes lourdes forment l'intérieur des bras et la tige du Y ; une chaîne légère s'associe à l'extérieur de chaque bras. Des ponts disulfures relient les chaînes lourdes entre elles et les chaînes légères aux chaînes lourdes. Les anticorps chimériques ou humanisés sont moins immunogènes que les anticorps entièrement murins, tout en conservant la reconnaissance de l'antigène.

Rituximab : anticorps chimérique



✓ RÉPONSE À RETENIR

Rituximab : régions variables murines, régions constantes humaines. La chimérisation réduit l'immunogénicité et maintient la reconnaissance de CD20.

Question Q2. Rappeler les trois caractères essentiels des deux types de cellules utilisés pour obtenir les hybridomes.

Les cellules spléniques sont des lymphocytes B de souris immunisée : elles sécrètent l'anticorps recherché, possèdent l'enzyme HGPRT et ont une durée de vie limitée en culture. Les cellules de myélome se multiplient indéfiniment, ne sécrètent pas d'anticorps et sont déficientes en HGPRT. La fusion associe donc la sécrétion spécifique du lymphocyte B à l'immortalité de la cellule de myélome.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Lymphocyte B : sécrétion spécifique, HGPRT$^+$, durée de vie limitée. Myélome : immortalité, absence de sécrétion, HGPRT$^-$.

Question Q3. À l'aide des informations sur le milieu HAT et des voies de biosynthèse des nucléotides, expliquer la méthode de sélection des hybridomes candidats.

Dans le milieu HAT, l'aminoptérine bloque la synthèse endogène des nucléotides. Les cellules doivent donc utiliser la voie de récupération, grâce à l'hypoxanthine et à la thymidine.

1. Les myélomes HGPRT$^-$ ne peuvent pas récupérer les précurseurs puriques et meurent.
2. Les lymphocytes B, bien que capables de récupérer les nucléotides, ne sont pas immortels et disparaissent après quelques divisions.
3. Les hybridomes réunissent l'activité HGPRT du lymphocyte B et la multiplication indéfinie du myélome : ils survivent et se multiplient.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le milieu HAT élimine les myélomes HGPRT$^-$ et les lymphocytes B non immortels. Les hybridomes HGPRT$^+$ immortalisés survivent durablement.

Question Q4. Indiquer une méthode permettant d'isoler les hybridomes candidats et une méthode permettant de sélectionner l'hybridome qui sécrète l'anticorps de la spécificité souhaitée.

On peut isoler les hybridomes candidats par dilution limite : répartis à faible densité dans des puits, ils donnent des cultures clonales issues d'une cellule unique. Pour identifier le clone recherché, on teste le surnageant de chaque culture par ELISA avec l'antigène cible, ici CD20 ou un peptide de CD20. Un signal positif révèle la liaison spécifique de l'anticorps sécrété. Le clone sélectionné est ensuite conservé et amplifié.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Isolement : dilution limite et clonage en puits. Sélection de spécificité : ELISA du surnageant avec CD20 ou un peptide de CD20.

2. Pharmacodynamie du principe actif

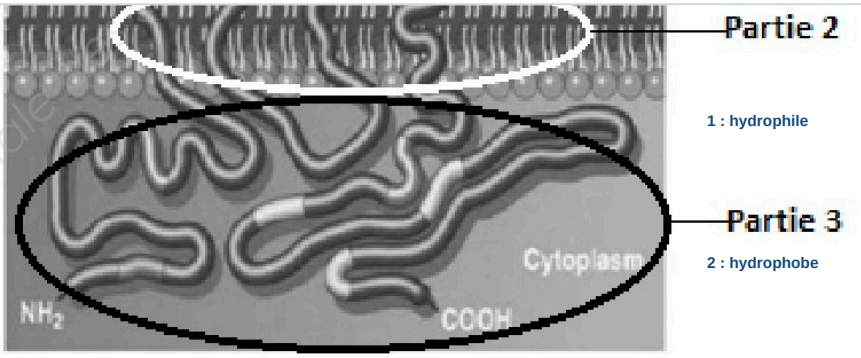
Cette partie porte sur CD20, une protéine transmembranaire présente sur les lymphocytes B, et sur sa polarité. Le schéma de transduction montre les effets de la fixation du rituximab, notamment sur l'expression de BCL2 et l'apoptose, dans le contexte des leucémies lymphoïdes chroniques.

Question Q5. Indiquer la polarité des parties 1, 2 et 3 de la protéine CD20 représentées dans le document.

Partie	Localisation	Polarité
1	Milieu extracellulaire	Hydrophile
2	Traversée de la membrane	Hydrophobe
3	Cytoplasme	Hydrophile

Les parties 1 et 3 sont au contact de milieux aqueux, respectivement extracellulaire et intracellulaire. Elles sont donc hydrophiles. La partie 2 traverse le cœur lipidique de la membrane, qui est hydrophobe : cette portion de CD20 est elle-même hydrophobe. Les localisations et polarités indiquées correspondent aux trois zones délimitées dans le document 4.

Polarité des régions de CD20



Source : thèse d'exercice de pharmacie, Emmanuelle SURGA, université Henri Poincaré, 20
www./docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2011_SURGA_EMMANUELLE.p

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

Partie 1 : hydrophile ; partie 2 : hydrophobe ; partie 3 : hydrophile.

Question Q6. À partir du schéma des voies de transduction du signal après fixation du rituximab sur CD20, argumenter l'utilisation du rituximab comme anticancéreux dans le traitement des leucémies lymphoïdes chroniques.

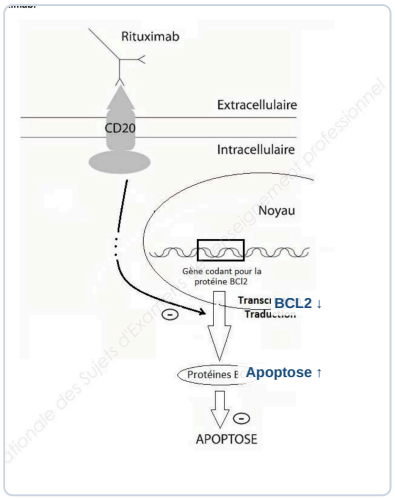
La fixation du rituximab sur CD20 déclenche une voie qui inhibe l'expression du gène codant la protéine BCL2. Le schéma indique ensuite que BCL2 freine l'apoptose.

1. La production de BCL2 diminue.
2. Le frein exercé sur l'apoptose est donc levé.

3. L’apoptose des lymphocytes B est favorisée.

Cette action contribue à éliminer les lymphocytes B qui se multiplient de façon anarchique dans les LLC.

Effet du rituximab sur BCL2 et l’apoptose



✓ RÉPONSE À RETENIR

Le rituximab réduit BCL2, favorise l’apoptose et contribue ainsi à éliminer les lymphocytes B leucémiques.

3. Pharmacocinétique du principe actif

Le rituximab est dosé dans le sang de patients traités par injections sous-cutanées, à l'aide de techniques ELISA. Les documents présentent le protocole ELISA 1, les caractéristiques comparées de trois techniques et un graphique de suivi pharmacocinétique obtenu par ELISA 3.

Question Q7. Schématiser l'édifice moléculaire obtenu dans un puits contenant du rituximab, en tenant compte du protocole ELISA 1.

Le peptide CD20 est adsorbé au fond du puits et se lie spécifiquement à une région Fab du rituximab. L'anticorps secondaire de chèvre anti-Fc humain, couplé à la peroxydase, se fixe sur la région Fc du rituximab. Après les lavages, l'OPD révèle l'activité de la peroxydase par une coloration dont l'absorbance est mesurée à 450 nm.

Complexe moléculaire de l'ELISA 1



La peroxydase est révélée par l'OPD après les lavages.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Fond du puits - peptide CD20 - rituximab - anticorps anti-Fc humain couplé à la peroxydase.

Question Q8. Pour chacun des témoins positif et négatif de la technique ELISA 1, indiquer la composition qualitative, expliquer son rôle et préciser le résultat attendu.

Les témoins suivent toutes les étapes du protocole. Le sérum fourni avec rituximab à concentration connue sert à vérifier que le dosage produit bien un signal. Le sérum sans rituximab vérifie l'absence de signal non spécifique.

Témoin	Composition	Rôle et résultat attendu
Positif	Sérum contenant du rituximab à 100 $\mu g \cdot mL^{-1}$	Valide la détection : coloration et absorbance nettes.
Négatif	Sérum sans rituximab	Contrôle le bruit de fond : absence de coloration ou absorbance très faible.

Un résultat contraire à ces attentes invalide la série de dosage.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Positif : signal net. Négatif : signal nul ou très faible.

Question Q9. Comparer les trois techniques ELISA selon leur limite de détection, la forme de rituximab dosée et leur reproductibilité, puis justifier l'utilisation préférentielle de la technique ELISA 3.

La limite de détection la plus faible correspond à la meilleure sensibilité. L'ELISA 1 ne dose que le rituximab libre, contrairement aux ELISA 2 et 3 qui dosent les formes libres et liées. Les ELISA 1 et 3 ont une reproductibilité élevée, contre moyenne pour l'ELISA 2.

Critère	ELISA 1	ELISA 2	ELISA 3
Limite de détection	50 µg·mL^{-1}	0,5 µg·mL^{-1}	30 ng·mL^{-1}
Forme dosée	Libre uniquement	Libre et liée	Libre et liée
Reproductibilité	Élevée	Moyenne	Élevée

L'ELISA 3 est donc préférable : elle est la plus sensible et mesure les deux formes avec une reproductibilité élevée.

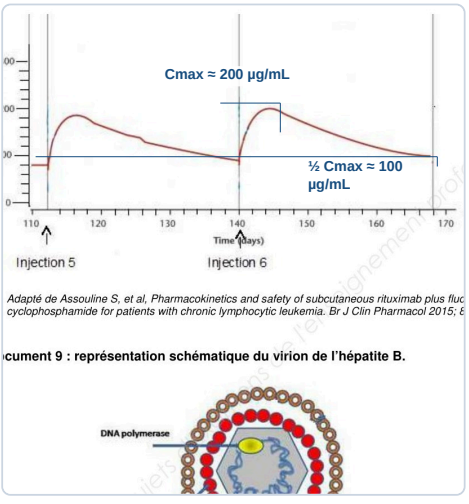
✓ RÉPONSE À RETENIR

Préférer l'ELISA 3 : meilleure sensibilité, dosage des formes libres et liées, reproductibilité élevée.

Question Q10. À partir du graphique de suivi pharmacocinétique, déterminer graphiquement Cmax et T1/2 après la sixième injection.

Après l'injection 6, la courbe atteint son maximum vers le jour 145, à environ 200 µg·mL^{-1}. La moitié de cette concentration est 100 µg·mL^{-1}, niveau atteint vers le jour 169. La demi-vie correspond au temps écoulé entre le maximum et ce point de la courbe.

Lecture de Cmax et de la demi-vie après l'injection 6



✓ RÉPONSE À RETENIR

$C_{max} \approx 200\ \mu g \cdot mL^{-1}$; $T_{1/2} \approx 24$ jours.

4. Toxicologie du principe actif et suivi par PCR

Cette partie aborde le risque de réactivation du virus de l'hépatite B associé au rituximab et le suivi de la virémie par PCR. Les documents montrent le virion et décrivent le réactif AmpErase UNG ainsi que les composants d'un mélange réactionnel de PCR.

Question Q11. À partir de la représentation du virion de l'hépatite B, déduire les trois caractéristiques principales permettant son positionnement taxonomique.

Le schéma montre un virion enveloppé portant l'antigène HBsAg, une capside contenant un génome d'ADN et une ADN polymérase. Le virus de l'hépatite B possède plus précisément un ADN circulaire partiellement double brin et se réplique par transcription inverse. Ces caractères le rattachent à la famille des Hepadnaviridae, au genre *Orthohepadnavirus*. Les trois critères utiles sont donc l'enveloppe, la nature du génome et le mode de réplication.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Virus enveloppé à ADN circulaire partiellement double brin, se répliquant par transcription inverse : famille des Hepadnaviridae, genre *Orthohepadnavirus*.

Question Q12. Indiquer le rôle des réactifs numérotés de 1 à 5 dans la colonne « Component » du tableau, puis calculer les volumes V1, V4 et V5 pour préparer 100 µL de mélange réactionnel.

N°	Réactif	Rôle
1	Tampon PCR	Maintient le pH et les conditions ioniques adaptés.
2	dATP, dCTP, dGTP, dUTP	Nucléotides incorporés aux nouveaux brins ; le dUTP remplace le dTTP.
3	$MgCl_2$	Cofacteur de l'ADN polymérase.
4	Amorces	Encadrent la séquence cible et initient sa synthèse.
5	AmpliTaq DNA polymérase	Élongue les nouveaux brins d'ADN.

Pour le tampon, la relation de dilution donne $V_1 = 1 \times 100 / 10 = 10$ µL. Pour chacune des deux amorces, $V_4 = 0{,}2 \times 100 / 10 = 2$ µL. Pour l'enzyme, le volume requis est $V_5 = 2{,}5 / 5 = 0{,}5$ µL. Le volume d'eau est ajusté à 100 µL au total.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> $V_1 = 10$ µL ; $V_4 = 2$ µL par amorce ; $V_5 = 0{,}5$ µL.

Question Q13. Présenter l'origine et la nature du réactif AmpErase UNG, puis expliquer comment il limite les contaminations croisées entre les amplicons résiduels d'une PCR précédente et la matrice de la PCR suivante.

AmpErase® UNG est une enzyme recombinante de 26 kDa, codée par le gène de l'uracile-N-glycosylase d'*E. coli*. Le dTTP étant remplacé par du dUTP, les anciens amplicons contiennent de l'uracile. Avant la PCR, l'UNG, active sous 55 °C, retire les résidus d'uracile et rend ces amplicons dégradables, sans altérer l'ADN matrice natif. L'enzyme est ensuite dénaturée pendant la PCR ; une température d'hybridation d'au moins 55 °C prévient la dégradation des nouveaux amplicons contenant du dU.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'UNG élimine les anciens amplicons contenant du dU avant l'amplification et limite ainsi les contaminations croisées.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2019)

Bilan de l'épreuve : L'épreuve E3, unité U33 du BTS Bioanalyses et contrôles, est proposée à la session 2019 sous le code BAE3BC ; sa durée est de deux heures et son coefficient de 3. Elle étudie les phases pré-cliniques du rituximab, de la production des hybridomes à la pharmacodynamie, au suivi pharmacocinétique par ELISA et au contrôle toxicologique par PCR. Les compétences portent sur l'analyse documentaire, l'interprétation et l'adaptation de protocoles.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- Le rituximab est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre CD20, une protéine présente à la surface des lymphocytes B.
- En milieu HAT, l'aminoptérine bloque la synthèse de novo des nucléotides ; les hybridomes HGPRT positifs survivent grâce à la voie de récupération.
- L'ELISA 3 dose le rituximab libre et lié, avec une limite de détection de 30 ng/mL et une reproductibilité élevée.
- Pour 100 µL de PCR, V1 = 10 µL, V4 = 2 µL par amorce et V5 = 0,5 µL ; l'UNG dégrade les anciens amplicons contenant de l'uracile.

Points de vigilance & attentes du jury

- Annoter précisément le schéma de l'anticorps et distinguer ses régions murines et humaines.
- Pour la sélection HAT, relier le blocage de la synthèse de novo à l'utilisation de la voie de récupération par les hybridomes.
- Comparer les trois ELISA sur les critères du tableau et justifier le choix de la technique 3.
- Dans les calculs de PCR, vérifier les unités, les concentrations finales et le volume réactionnel de 100 µL.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment calculer le volume d'un réactif à ajouter pour atteindre une concentration finale donnée ?

Utilisez la relation C1V1 = C2V2, où C1 et V1 désignent la concentration et le volume de la solution mère, et C2 et V2 la concentration et le volume final. Vérifiez que les unités concordent.

Q : Pourquoi le milieu HAT permet-il de sélectionner les hybridomes ?

L'aminoptérine bloque la synthèse de novo des nucléotides. Les cellules incapables d'utiliser la voie de récupération ne survivent pas ; les hybridomes héritent de l'activité HGPRT des cellules spléniques et peuvent se multiplier.

Q : Comment organiser les deux heures de l'épreuve et quel barème est indiqué ?

Le sujet prévoit deux heures et un coefficient 3. Les compétences totalisent 38 points et l'expression écrite, le soin et la formulation comptent pour 2 points sur 40. Aucun détail de points par partie n'est imprimé.

Q : Quels critères de présentation et de méthode faut-il respecter pour être évalué correctement ?

Présentez des réponses concises, des schémas annotés lisibles et des calculs avec leurs unités. Appuyez les interprétations sur les documents et respectez les concentrations et les conditions indiquées dans les protocoles.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2019/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2019 - 3-Sujet.pdf
Ressources BTS BioAlc : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

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.