



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 SUPERIEUR
BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE ET TECHNOLOGIES CELLULAIRES

SESSION 2015

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français

tout autre matériel est interdit.

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 8 pages numérotées de 1/8 à 8/8.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2015
Biologie et Technologies Cellulaires	BOE4BC	Page : 1/8

Vaccination contre les papillomavirus humains

Les papillomavirus humains (HPV) représentent une vaste famille de virus nus à ADN dont le tropisme est épithélial. Ils sont responsables de lésions de la peau et des muqueuses le plus souvent génitales et à plus long terme du cancer du col de l'utérus chez la femme.

L'infection par le virus HPV est un problème de santé publique. Aussi, plusieurs vaccins ont été développés.

1. Le papillomavirus : un virus oncogène (4,5 points)

Les papillomavirus sont détectés chez des patientes atteintes du cancer du col de l'utérus par la technique « HPV DNA test » (**document 1**).

1.1 A partir du **document 1**, présenter un schéma annoté de l'édifice moléculaire obtenu lors de la détection de l'ADN viral.

Les cellules infectées par le papillomavirus montrent un fort pouvoir de division.

1.2 Représenter sous forme d'un graphe l'évolution de la quantité d'ADN cellulaire au cours des différentes phases du cycle cellulaire. Préciser le nom des différentes phases.

1.3 Localiser deux points de contrôle du cycle cellulaire.

Le **document 2** présente deux modes d'action de la protéine antioncogène p53.

1.4 A partir du **document 2**, dégager deux caractéristiques d'un antioncogène.

Pendant le cycle viral du papillomavirus, la protéine virale E6 se fixe sur la protéine p53 et provoque sa dégradation dans la cellule infectée.

1.5 En déduire un mécanisme de l'oncogenèse induite par le papillomavirus.

2. Les étapes d'élaboration du vaccin A (8,5 points)

Un des vaccins prophylactiques existants, nommé vaccin A, est constitué de pseudo-particules virales ou Virus Like Particles (VLP). Ces pseudo-particules virales ont une structure et une morphologie similaires à celles des virions. Elles sont formées de protéines capsidales L1 et possèdent les épitopes nécessaires à l'induction d'anticorps neutralisants. Elles sont dépourvues de génome viral.

Une des particularités de ce vaccin est la production des VLP par des cellules d'insectes infectées par un baculovirus recombinant.

Dans la nature, le baculovirus est protégé dans des corps d'inclusion ou polyèdres (**document 3**), formés par une protéine virale, la polyédrine, que l'insecte ingère. Le suc digestif dégrade les polyèdres, le virus libéré peut alors se multiplier dans l'insecte.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2015
Biologie et Technologies Cellulaires	BOE4BC	Page : 2/8

- 2.1 Schématiser le trajet des électrons permettant l'obtention de chacune des électrographies présentées dans le **document 3**.
- 2.2 Indiquer les informations apportées par chacune des électrographies ; proposer une estimation de la taille moyenne d'un polyèdre et d'un virion.
- 2.3 Exploiter le **document 3** pour justifier que les polyèdres sont observables directement au microscope optique.

Le principe de la production d'un vaccin par le système baculovirus-cellule d'insecte consiste à remplacer la région du génome du baculovirus sauvage qui code la polyédrine par un gène d'intérêt qui code une protéine étrangère comme ici la protéine de capsid L1 du papillomavirus, fortement antigénique.

Ce baculovirus modifié, ou baculovirus recombinant, permet ainsi la synthèse de protéines vaccinales en grande quantité dans des cultures d'insectes infectées par ce virus recombinant.

Le **document 4** présente une technique permettant d'identifier les baculovirus recombinants dans un mélange contenant des baculovirus natifs et des baculovirus recombinants.

- 2.4 Rappeler le rôle du rouge neutre et indiquer à quoi correspondent les plages blanches.
- 2.5 Etablir le lien entre l'aspect des plages de lyse observées au microscope et le repérage des baculovirus recombinants.

Les virus recombinants sont ensuite inoculés sur des cellules d'insectes mises en culture dans le milieu de Grace à 30°C. Le **document 5** présente une photographie prise au microscope inversé d'une culture en flasque de ces cellules.

- 2.6 A partir de l'étude du **document 5**, argumenter l'absence d'utilisation de trypsine-EDTA lors des repiquages.

La composition du milieu de Grace est présentée sur le **document 6**.

- 2.7 A partir du **document 6**, construire un tableau à 3 colonnes libellées : «nature des constituants - exemples - rôles» montrant que le milieu de Grace répond aux exigences nutritionnelles des cellules cultivées.

La culture de ces cellules est possible en cytotuteur.

- 2.8 Expliquer ce qu'est un cytotuteur et préciser les paramètres généralement contrôlés pendant une culture.

3. Etude de l'efficacité du vaccin A (5 points)

La protéine L1 est la protéine majeure de la capside du papillomavirus humain. A chaque type de HPV correspond un type de protéine L1.

La composition du vaccin A est présentée dans le **document 7**.

3.1 indiquer le rôle des différents constituants du vaccin A.

Le tableau du **document 8** permet de comparer l'efficacité de trois vaccins dont le vaccin A. Les valeurs indiquées correspondent à un titre en anticorps obtenu après une injection de rappel.

3.2 Représenter le graphe caractéristique de l'évolution du titre d'anticorps au cours du temps lors d'une première injection de capsides de VLP du virus HPV16 puis lors d'un rappel.

Préciser sur le graphe les classes des anticorps ainsi titrés.

3.3 A l'aide du **document 8**, discuter l'intérêt de commercialiser vaccin A.

Le vaccin A est un vaccin prophylactique. D'autres vaccins sont en cours de développement dans le but de détruire les cellules épithéliales déjà infectées par le HPV : ces vaccins seraient donc thérapeutiques. Leur principe repose sur la stimulation de lymphocytes T cytotoxiques capables de détruire les cellules infectées.

3.4 Décrire les étapes d'un mécanisme d'élimination des cellules infectées par des lymphocytes T cytotoxiques activés.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points/20)

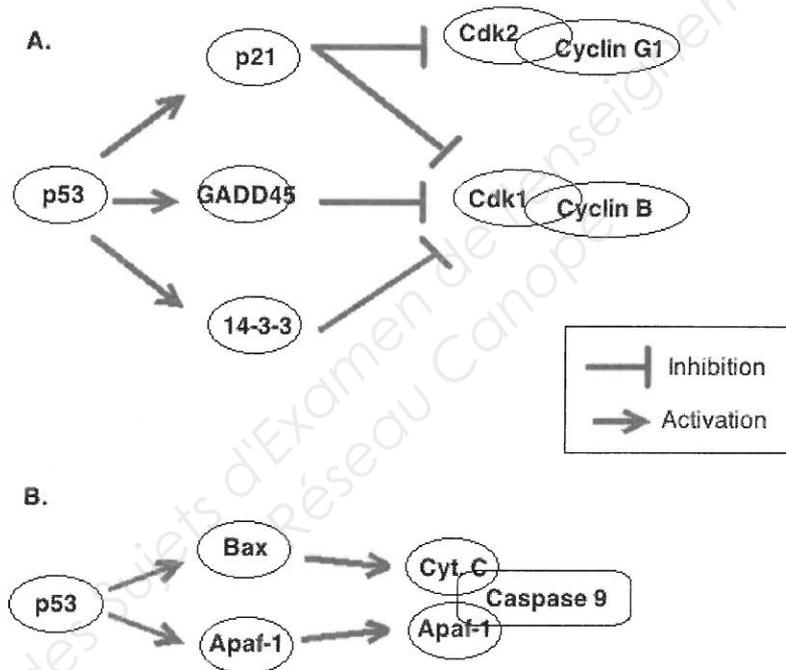
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

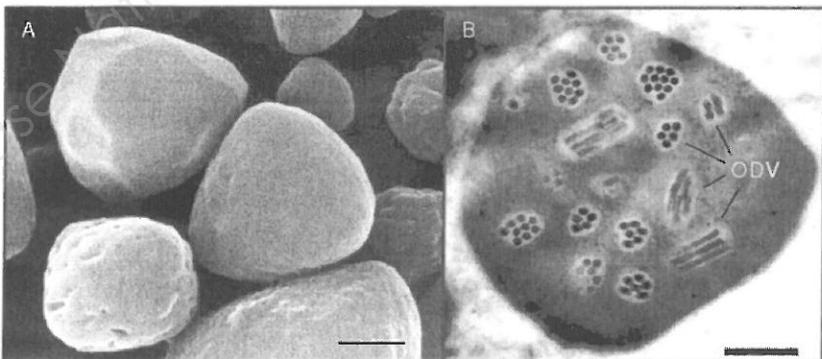
Document 1 : Principe de détection Human Papillomavirus (HPV) by HPV DNA test.

To perform the HPV DNA assay, cervical or vaginal clinical specimens are combined with an extraction buffer to release and denature the target HPV DNA. The released target DNA then combines with specific RNA probes to create RNA-DNA hybrids, which are captured onto a solid phase by an antibody specific for the hybrids. These captured RNA-DNA hybrids are then tagged with antibody reagents linked to alkaline phosphatase. A chemiluminescent substrate then produces light that is measured on a luminometer in relative light units (RLUs). The amount of light generated is proportional to the amount of target DNA in the original specimen

Document 2: Deux modes d'action de la protéine antioncogène p53



Document 3: Electronographies de polyèdres de baculovirus



A. Image de microscopie électronique à balayage des polyèdres de baculovirus (barre = 500 nm).

B. Coupe d'un polyèdre d'un baculovirus observée en microscopie électronique à transmission. ODV : virions occlus. (barre = 200 nm).

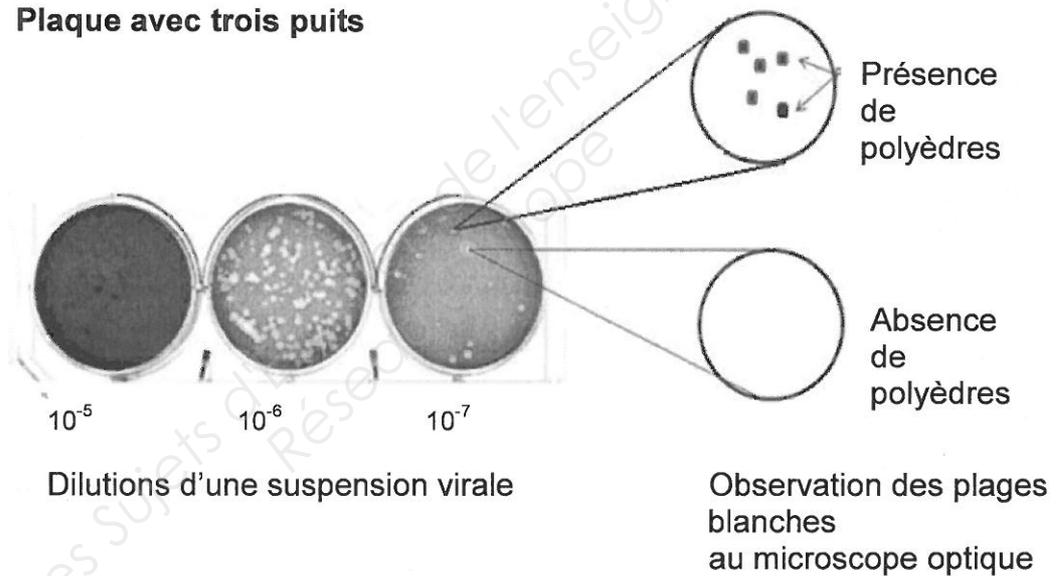
Document 4 : Sélection des baculovirus recombinants par la technique des plaques de lyse

Etapes :

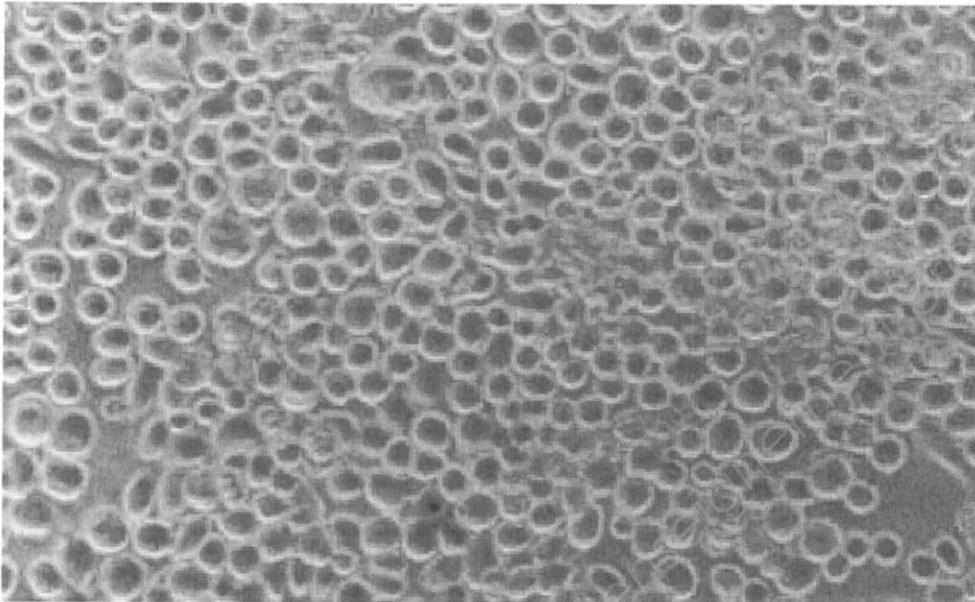
- Utilisation d'une plaque formée de puits contenant une culture de cellules d'insecte.
- Ajout d'une suspension de virus obtenus. Différentes dilutions de la suspension virale sont testées.
- Ajout d'une couche d'agarose à 2,5 %.
- Après 5 jours à 28 °C en atmosphère humide, ajout de rouge neutre.
- Observation des plaques blanches pour rechercher les virus recombinants.

Résultats :

Plaque avec trois puits



Document 5 : Observation au microscope inversé d'une flasque de culture de cellules d'insectes de la lignée sf9



Document 6 : Composition du milieu de Grace

Component	Concn	Component	Concn
	mg/liter		mg/liter
L-Alanine.....	200	Sodium acetate.....	50
L-Arginine-HCl.....	400	Sodium pyruvate.....	100
L-Aspartic acid.....	300	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O.....	200
L-Cysteine-HCl.....	100	KCl.....	2500
L-Glutamic acid.....	400	CaCl ₂ ·2H ₂ O.....	400
Glycine.....	400	MgCl ₂ ·6H ₂ O.....	400
L-Histidine-HCl.....	200	MgSO ₄ ·7H ₂ O.....	400
L-Isoleucine.....	150	NaCl.....	4500
L-Leucine.....	300	Malic acid.....	250
L-Lysine-HCl.....	300	α-Ketoglutaric acid.....	250
L-Methionine.....	60	Succinic acid.....	100
L-Phenylalanine.....	150	Fumaric acid.....	100
L-Proline.....	150	Sucrose.....	5000
L-Serine.....	300	Fructose.....	1000
L-Threonine.....	150	Glucose.....	5000
L-Tryptophan.....	100	Trehalose.....	1000
L-Tyrosine.....	100	Ascorbic acid.....	100
L-Valine.....	150	D-Biotin.....	1
L-Glutamine.....	500	Choline-Cl.....	1
L-Asparagine.....	300	Folic acid.....	1
<i>Aseptic Additions</i>		Niacinamide.....	1
Methylcellulose, 15 centipoises...	500	Ca pantothenate.....	2
Streptomycin.....	100	Pyridoxal-HCl.....	1
Penicillin.....	100,000 units/L	Thiamine-HCl.....	1
Nystatin.....	50,000 units/L	<i>l</i> -Inositol.....	1
Fetal bovine serum to 10%.....		Riboflavine.....	0.1
		B ₁₂	0.002
		KOH to pH 6.5.....	

Document 7 : Composition du vaccin A

Par dose (0,5 ml) :

- Protéine L1 de HPV ⁽¹⁾ de type 16 (20 µg) avec adjuvant AS04
- Protéine L1 de HPV ⁽¹⁾ de type 18 (20 µg)
- Excipients : chlorure de sodium (9 g.L⁻¹), eau désionisée stérile.

⁽¹⁾ HPV = Papillomavirus humain

Document 8: Study of the efficacy of vaccines against HPV

	Average antibody titre one month after the booster injection against capsids type			
	HPV6	HPV11	HPV16	HPV18
HPV16 vaccine	0	0	1.5 10 ³	0
Natural infection with HPV16 virus	0	0	0.3 10 ²	0
HPV18 vaccine	0	0	0	1.0 10 ³
Natural infection with HPV18 virus	0	0	0	0.5 10 ²
Vaccine A	0	0	6.0 10 ³	4.0 10 ³

70 % of uterin cancer are caused by HPV 16 or 18.