



SERVICES CULTURE ÉDITIONS
RESSOURCES POUR
L'ÉDUCATION NATIONALE

**Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel**

session 2011

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous épreuve de Biologie Cellulaire

SESSION 2011

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2h
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français
- l'utilisation de la calculatrice est interdite

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 7 pages numérotées de 1/7 à 7/7.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes Sous épreuve de Biologie Cellulaire	Code sujet BOE4BC	Page : 1/7

Biotechnologie vaccinale : application à l'élaboration d'un nouveau vaccin contre l'hépatite B

La vaccination contre l'hépatite B peut prévenir les hépatites B aiguës et chroniques, ainsi que les conséquences à long terme de l'infection due à ce virus que sont la cirrhose et le cancer primitif du foie. L'objectif de l'OMS est l'administration la plus large possible du vaccin contre l'hépatite B au niveau mondial.

Une équipe de recherche a étudié la faisabilité de la production d'un vaccin contre l'hépatite B par voie orale avec des cherry tomatillos. Ce type de vaccin permettrait une vaccination à grande échelle avec un coût de production réduit et une administration facilitée. Le tomatillo (*physalis ixocarpa* Brot.) est une plante du Mexique de la famille des Angiospermes, dicotylédone et annuelle. Consommé cru, le fruit est plus sucré que la tomate et son goût ressemble à celui de la pomme verte.

1. Production des plantes transgéniques exprimant l'Ag HBs (11 points).

L'antigène HBs est un antigène d'enveloppe du virus de l'hépatite B. Très immunogène, il est utilisé à l'état purifié dans les vaccins actuellement commercialisés.

Le gène S codant l'Ag HBs a été inséré dans un vecteur d'expression végétal pour constituer le plasmide p1301 HBs. Celui-ci contient un gène de résistance à l'hygromycine, un gène de résistance à la kanamycine et le gène rapporteur GUS.

1.1. Morphologie générale des Angiospermes.

1.1.1. Annoter le **document 1** qui représente la morphologie de base d'une Angiosperme. Reporter les annotations de « a » à « g » sur la copie et indiquer les légendes correspondantes.

Les méristèmes sont des tissus caractéristiques des organismes végétaux.

1.1.2. Définir un méristème.

1.1.3. Préciser la localisation et le rôle des méristèmes primaires.

Réalisé à partir de différentes électronographies, le **document 2** représente l'ultrastructure d'une cellule végétale.

1.1.4. Exposer le principe de fonctionnement d'un microscope électronique à transmission.

1.1.5. Annoter le **document 2**. Reporter les numéros de 1 à 12 sur la copie et indiquer les légendes correspondantes.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes	Code sujet BOE4BC	Page : 2/7
Sous épreuve de Biologie Cellulaire		

1.1.6. Indiquer les numéros des éléments absents des cellules animales.

1.2. Transformation et régénération des cherry tomatillos.

La culture *in vitro* des plantes transformées nécessite l'utilisation de milieux de culture adaptés.

1.2.1. A l'aide d'un tableau, présenter la liste des composants d'un milieu de culture cellulaire végétale solide classique de base et donner un exemple pour chaque constituant.

1.2.2. Les milieux de base sont additionnés de phytohormones. Préciser le rôle de ces molécules.

1.2.3. A partir des indications fournies par le **document 3** :

- Calculer le rapport auxine / cytokinine utilisé dans le milieu (a). En déduire le rôle de ce milieu.
- A partir de sa composition, donner le rôle du milieu (b) .
- Expliquer le rôle des molécules suivantes : hygromycine et cefotaxime

Les plantules transformées sont cultivées en chambre de culture ou phytotron avant d'être acclimatées en serre.

1.2.4. Inventorier les paramètres régulés dans une chambre de culture végétale.

2. Utilisation des plantes transformées : tests d'immunisation des animaux par voie orale (5 points).

Dix lignées de Cherry tomatillos transgéniques exprimant le gène S ont été obtenues. Parmi les différents organes de la même plante transgénique, le niveau d'expression de l'Ag HBs était le plus élevé dans les feuilles avec un rendement supérieur à 300 ng/g de masse sèche. Des tests d'immunisation sont envisagés sur des souris BALB/c âgées de quatre semaines afin de tester l'efficacité vaccinale des plantes transgéniques.

Des expériences d'immunisation primaire par voie orale ont été effectuées sans donner de résultat probant. Des expériences d'immunisation secondaire par voie orale ont été réalisées et sont résumées dans le **document 4a**. Les résultats sont consignés dans le **document 4b**.

2.1. Donner la signification des termes : « dose immunogène » , « réponse primaire » et « réponse secondaire ».

2.2. Analyser le graphique obtenu pour la souris A en commentant ses différentes phases et indiquer la nature des anticorps produits.

2.3. Comparer les résultats obtenus pour la souris B avec les résultats précédents ; indiquer la nature des anticorps produits et préciser le nom du phénomène immunitaire permettant d'expliquer ces résultats.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes Sous épreuve de Biologie Cellulaire	Code sujet BOE4BC	Page : 3/7

3. Apport des biotechnologies dans la vaccination (3 points).

Les résultats obtenus dans les expériences décrites laissent un espoir de réussite de mise au point d'un vaccin par voie orale utilisant des cherry tomatillos transgéniques. Des améliorations devront être apportées notamment au niveau de la quantité d'antigène HBs produit par les tissus.

Les biotechnologies offrent des outils indispensables à la mise au point de vaccins modernes destinés à la prévention mais aussi à la thérapeutique. Si les technologies évoluent, le principe de la vaccination reste inchangé depuis les travaux d'Edward Jenner et de Louis Pasteur.

3.1. Définir les différentes catégories de vaccins classiques.

Parmi les améliorations apportées par les Biotechnologies, on peut citer les vaccins à ADN nu.

3.2. Présenter cette stratégie vaccinale.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)

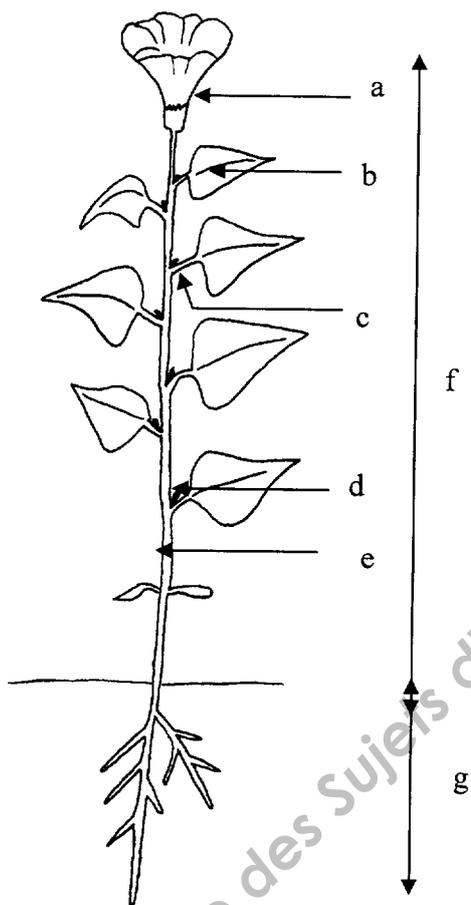
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

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

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes Sous épreuve de Biologie Cellulaire	Code sujet BOE4BC	Page : 4/7

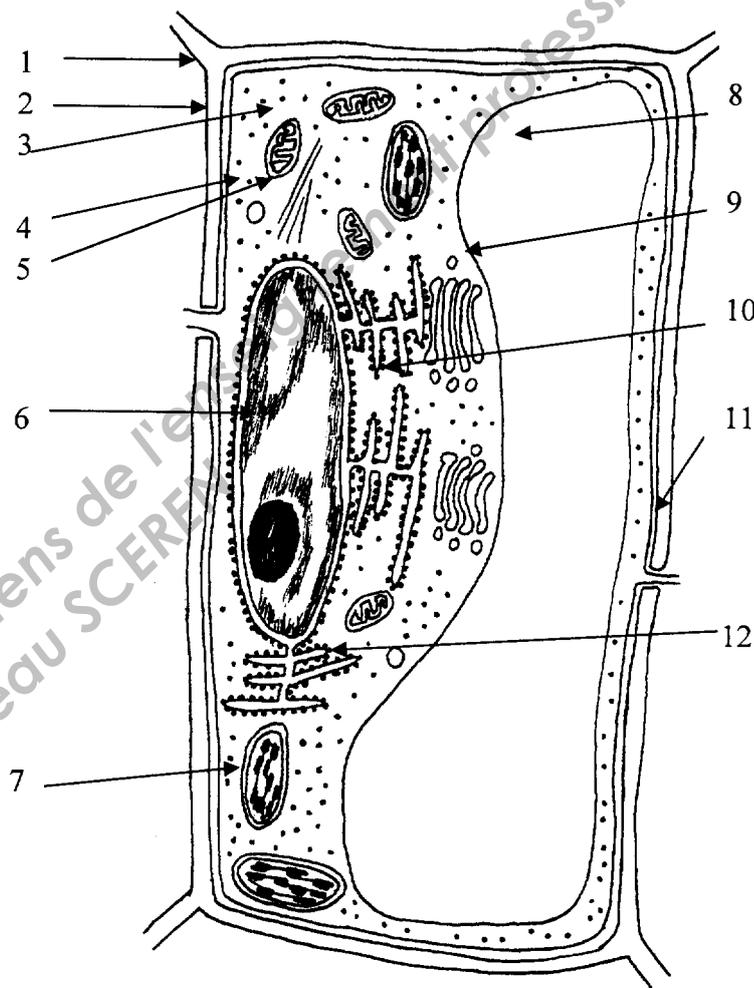
Document 1

Morphologie de base d'une angiosperme



Document 2

Ultrastructure d'une cellule végétale.



Document 3: plant transformation and regeneration.

p1301HBs was introduced into *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105 directly by the freeze-thaw method. Subsequently, *Agrobacterium tumefaciens* carrying p1301HBs was used to transform cherry tomatillo cotyledons disks.

Ten days post germination, cotyledons were excised from *in vitro*-germinated seedlings, and co-cultivated for 48-72 h with an overnight-grown culture of *Agrobacterium tumefaciens* carrying p1301HBs on a shooting medium (a) containing 2 mg/L 6-benzyladenine (6-BA) and 0.2 mg/L indole-3-acetic acid (IAA). Cotyledons were then rinsed with sterilized water to which 500 mg/l cefotaxime had been added to kill the *A. tumefaciens* on the surface of explants, blotted dry on a sterilized paper towel, and placed onto a shooting medium with an addition of 500 mg/L cefotaxime for recovery. After a seven day recovery period, the explants were transferred onto a shooting medium added 300 mg/L cefotaxime and 25 mg/L hygromycin to select transgenic progeny. About eight weeks later, hygromycin-resistant shoot regenerants were removed to be placed in a rooting medium (b) containing 0.2 mg/L IAA and 25 mg/L hygromycin. Rooted plantlets were acclimatized and transferred to a greenhouse for fruiting.

Data: IAA (indole -3- acetic acid) = auxin

6- BA (6 - benzyl adenin) = cytokinin.

Document 4

4a : expériences d'immunisation secondaire par voie orale

Quatre souris ont subi une primovaccination par voie parentérale (2µg d'Ag HBs) à l'aide d'un vaccin commercial pour réaliser l'immunisation primaire (**prime**). Trois de ces souris (B, C, D) ont ensuite été nourries chaque jour par voie orale avec 20g de tissus de tomatillos transgéniques contenant l'équivalent de 1 µg d'AgHBs (**boost**).

Une souris A témoin a été nourrie avec des tissus sauvages de tomatillos.

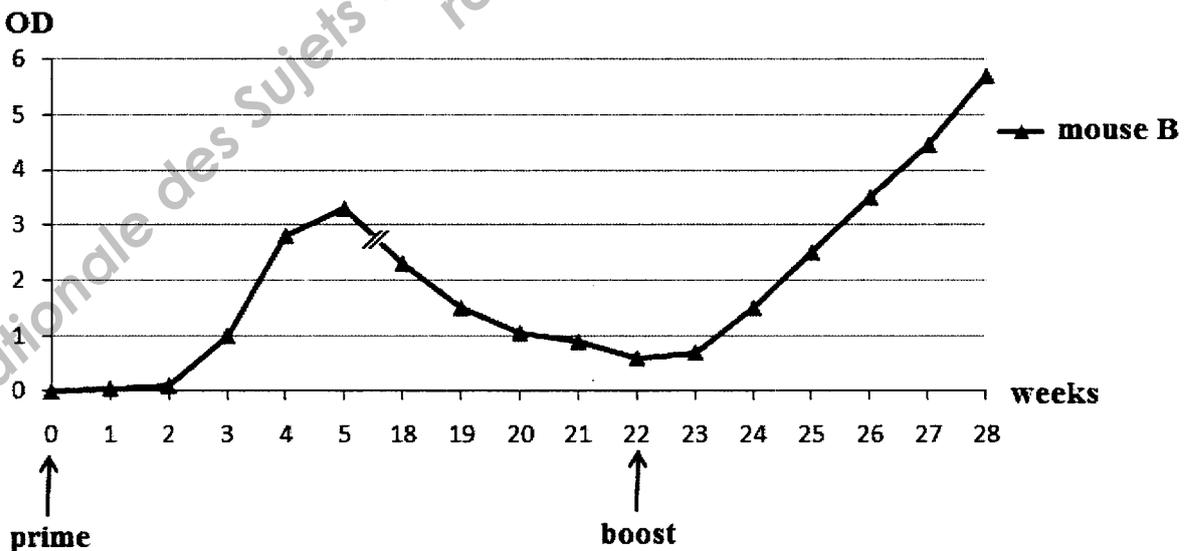
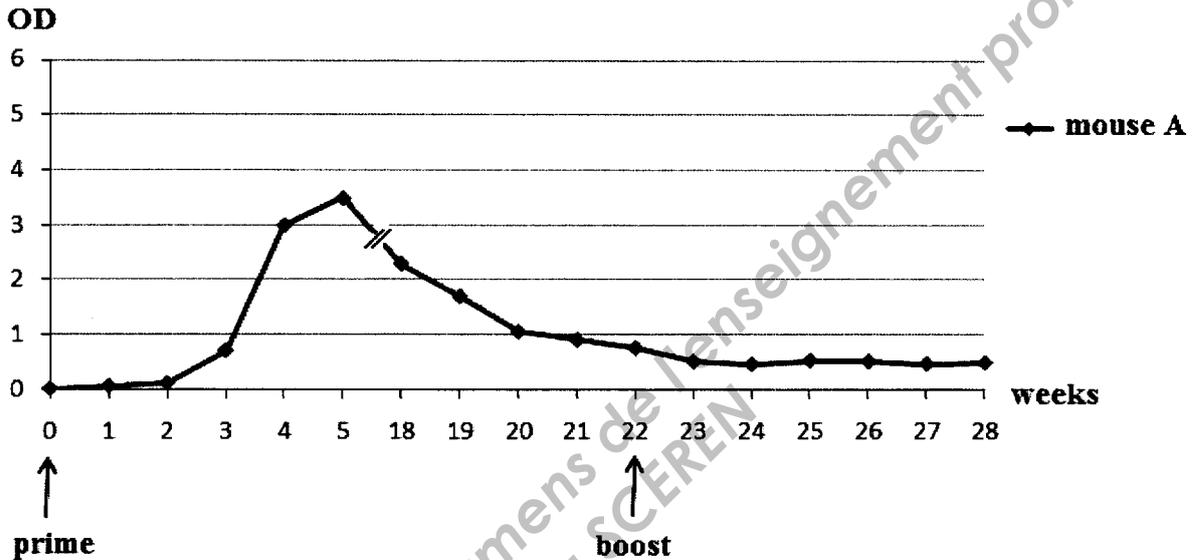
Chaque semaine, les anticorps spécifiques de l'AgHBs ont été recherchés et dosés par méthode immunoenzymatique dans le sérum des quatre souris.

Donnée : dose immunogène par voie parentérale chez la souris = 2 µg d'Ag HBs.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes Sous épreuve de Biologie Cellulaire	Code sujet BOE4BC	Page : 6/7

4b : résultats des expériences d'immunisation secondaire par voie orale

Serum antibody response elicited by oral boost with transgenic cherry tomatillo.
 Mouse A was primed parenterally with 2 µg commercial HBsAg, and when its serum antibody level reached OD<1.0, this mouse was fed untransformed tissues;
 B.C.D mice were primed parenterally with 2 µg commercial HBsAg, and when their serum antibody levels reached OD<1.0, they were fed transformed tissues as boost. Similar results were obtained for the three mice. You are only given the results of mouse B.



Data: OD = optical density.