

# BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

## BIOTECHNOLOGIES

### *MICROBIOLOGIE ET GÉNIE FERMENTAIRE*

Durée de l'épreuve : 2 heures

Coefficient : 1

**Le sujet comporte 8 pages numérotées de 1/8 à 8/8**

*L'usage d'un dictionnaire anglais/français est autorisé*

*L'usage de la calculatrice est interdit*

#### **Sujets zéros du BTS biotechnologies : avertissement.**

Les sujets zéros ont été conçus par des professeurs enseignant en BTS et finalisés en commission de choix et d'élaboration de sujets. Contrairement aux sujets d'examen, ils n'ont pas été testés. Leur faisabilité pendant le temps imparti par un élève moyen n'a donc pas été vérifiée.

Il s'agit ici de montrer l'orientation et l'esprit dans lequel les sujets peuvent valider les connaissances et savoir-faire acquis lors de la formation des étudiants se préparant au BTS biotechnologies. Ces sujets ne constituent pas des « modèles » ; ils donnent l'orientation des sujets d'évaluation respectant les **définitions de l'épreuve**, et selon les **préconisations** qui ont guidé leur élaboration. (cf « avertissement »)

Ces sujets sont à porter à la connaissance des étudiants en formation et à travailler avec eux à titre d'entraînement pour les épreuves terminales. Ils nécessitent que soient conjointement mobilisées les connaissances des élèves et leurs capacités à exploiter les documents associés.

# Le virus respiratoire syncytial (VRS) : mise au point d'un vaccin recombinant

De nombreux laboratoires sont impliqués dans la mise au point, la fabrication et la production de vaccins antiviraux tels que le vaccin contre la grippe aviaire, le SIDA.... Un centre d'immunologie s'est investi dans un projet de développement d'un vaccin recombinant contre le virus respiratoire syncytial (VRS). En effet ce virus est un véritable problème de santé publique puisqu'il provoque chez les nouveau-nés et chez les personnes immunodéprimées des maladies telles que bronchiolites ou pneumopathies.

## 1. Le virus respiratoire syncytial (3,5 points)

Le VRS appartient à la famille des Paramyxoviridae. Il possède une enveloppe, une capsid à symétrie hélicoïdale et renferme un ARN simple brin de polarité négative.

Afin d'étudier les modifications phénotypiques sur les cellules suite à l'infection par le VRS, on réalise une culture virale à partir d'un prélèvement bronchique.

**1.1** Nommer la caractéristique principale que doivent présenter les cellules pour subir un cycle viral complet.

**1.2** À partir du **document n° 1**, nommer les étapes de 1 à 12 du cycle viral proposé, sur la copie.

## 2. Mise au point d'un vaccin recombinant contre le VRS (6,5 points)

La démarche du laboratoire est de créer de nouvelles protéines vaccinales par génie génétique.

Pour cela une souche d'*Escherichia coli* BL21 a été transformée par un plasmide codant pour une protéine recombinante de l'enveloppe virale, d'environ 100 kDa. On cherche à produire cette protéine en bioréacteur.

La souche utilisée contient le prophage  $\lambda$ DE3 dont l'un des gènes codant l'ARN polymérase du bactériophage T7 est sous le contrôle du promoteur et de l'opérateur de l'opéron lactose. Ainsi l'expression de la protéine recombinante est induite par la présence du lactose ou d'un analogue.

La souche recombinante est cultivée en milieu standard LB et en milieu appelé « auto-inductible » ZYM-5052 dont la composition est fournie dans le **document n° 2**.

**2.1** Indiquer le rôle des composants soulignés du milieu ZYM-5052.

**2.2** Expliquer comment le phénomène d'induction survient séquentiellement au cours de la croissance de la souche dans ce milieu et permet l'expression de la protéine virale.

La production de la protéine recombinante a été analysée par SDS-PAGE ; les résultats de l'expérience sont présentés dans le **document n° 3**.

**2.3** Analyser et interpréter les résultats obtenus. Conclure quant à la pertinence de l'utilisation du milieu ZYM-5052.

Le marqueur de sélection du plasmide est classiquement le gène de résistance à l'ampicilline.

**2.4** Nommer la famille à laquelle appartient l'ampicilline. Justifier la réponse.

**2.5** Expliquer avec précision le mode d'action de l'ampicilline.

**2.6** Nommer le mécanisme de résistance à l'ampicilline codé par le gène *Amp<sup>R</sup>*. Expliquer le mode d'action.

### **3. Production d'une protéine virale recombinante en fermenteur pré-pilote (8 points)**

La souche recombinante est mise en culture dans du milieu ZYM-5052 en fermenteur 7,5 L dont le schéma est présenté **document n° 4**.

**Donnée** : on considère que le volume utile est égal aux 2/3 du volume du fermenteur.

**3.1** Donner sur la copie le nom et le rôle de chacun des éléments légendés dans le **document n° 4 (de a à e)**.

La demande en dioxygène de la souche est telle que la concentration en dioxygène dissous dans le milieu ne doit pas descendre en dessous de 20% de saturation ( $C_{LO_2}$  critique).

Les courbes représentant l'évolution au cours du temps de la concentration en dioxygène du milieu (en % de saturation) et de la biomasse sont présentées **document n° 5**.

**3.2** Définir la  $C_{L O_2}$  critique.

**3.3** À partir des données du **document n° 5**, calculer le débit d'air imposé pendant la croissance.

**3.4** Commenter et interpréter la courbe  $C_{L O_2} = f(t)$ .

**3.5** Indiquer si les conditions d'aération sont satisfaisantes. Justifier la réponse.

**3.6** Déterminer la vitesse spécifique de croissance et le temps de génération pendant la phase exponentielle.

**3.7** Calculer la productivité horaire totale en biomasse en  $g \cdot h^{-1}$  (facteur de proportionnalité :  $0,7 g \cdot L^{-1} \cdot UA_{600}^{-1}$ ).

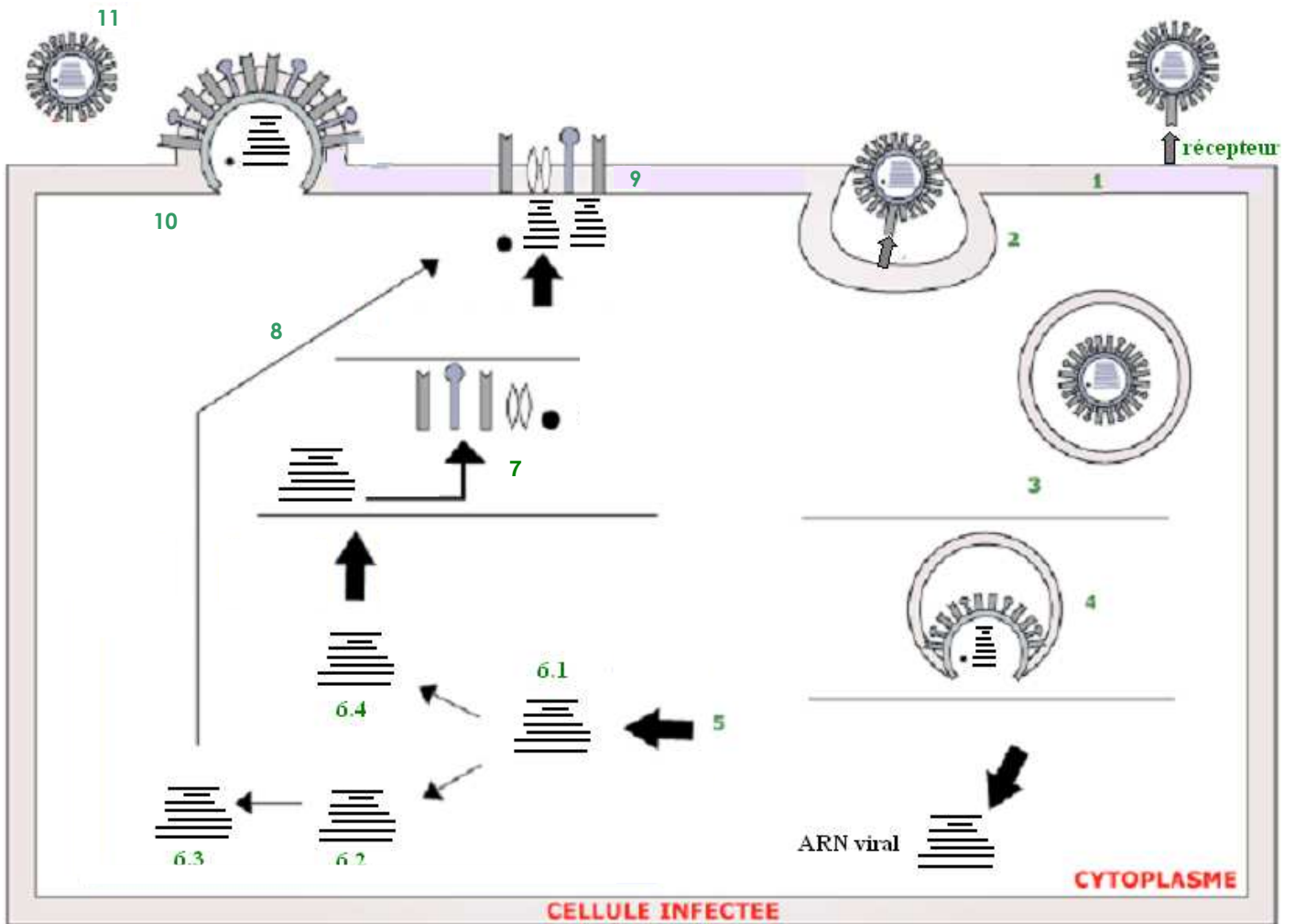
Le **document n° 6** présente la courbe de formation de la protéine recombinante pendant la croissance de la souche.

**3.8** Calculer la productivité volumique horaire maximale en protéine recombinante.

<b>Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)</b>
--

Document n° 1

Schéma du cycle d'un virus à ARN négatif



## Document n° 2

### Composition ZYM-5052 medium (for 1L)

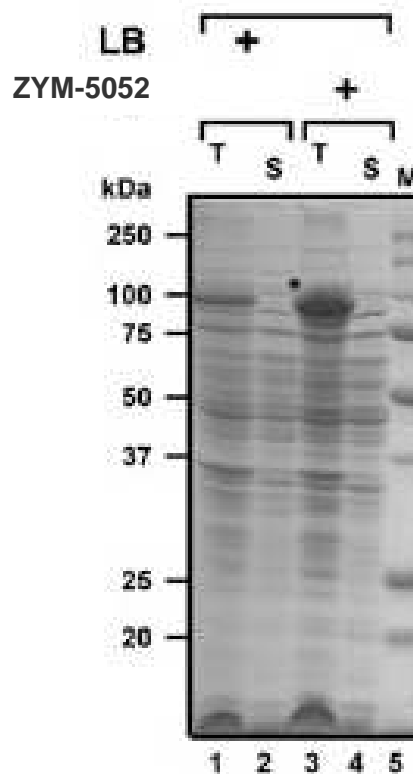
- 95,7 mL ZY
  - 5 g Yeast extract
  - 10 g N-Z-amine AS (caseine hydrolysate enzymatic soluble from Bovin Milk)
  - 1L of H<sub>2</sub>O
- 300 µL MgSO<sub>4</sub>
- 2 mL 50x solution 5052 (1x solution 5052 : 0,5% glucose, 0,2% lactose)
- 2 mL 50x solution M (1x solution M : 50 mM PO<sub>4</sub>, 50 mM NH<sub>4</sub>Cl, 5mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- eau distillée qsp 1L

## Document n° 3

### OD at 600 nm

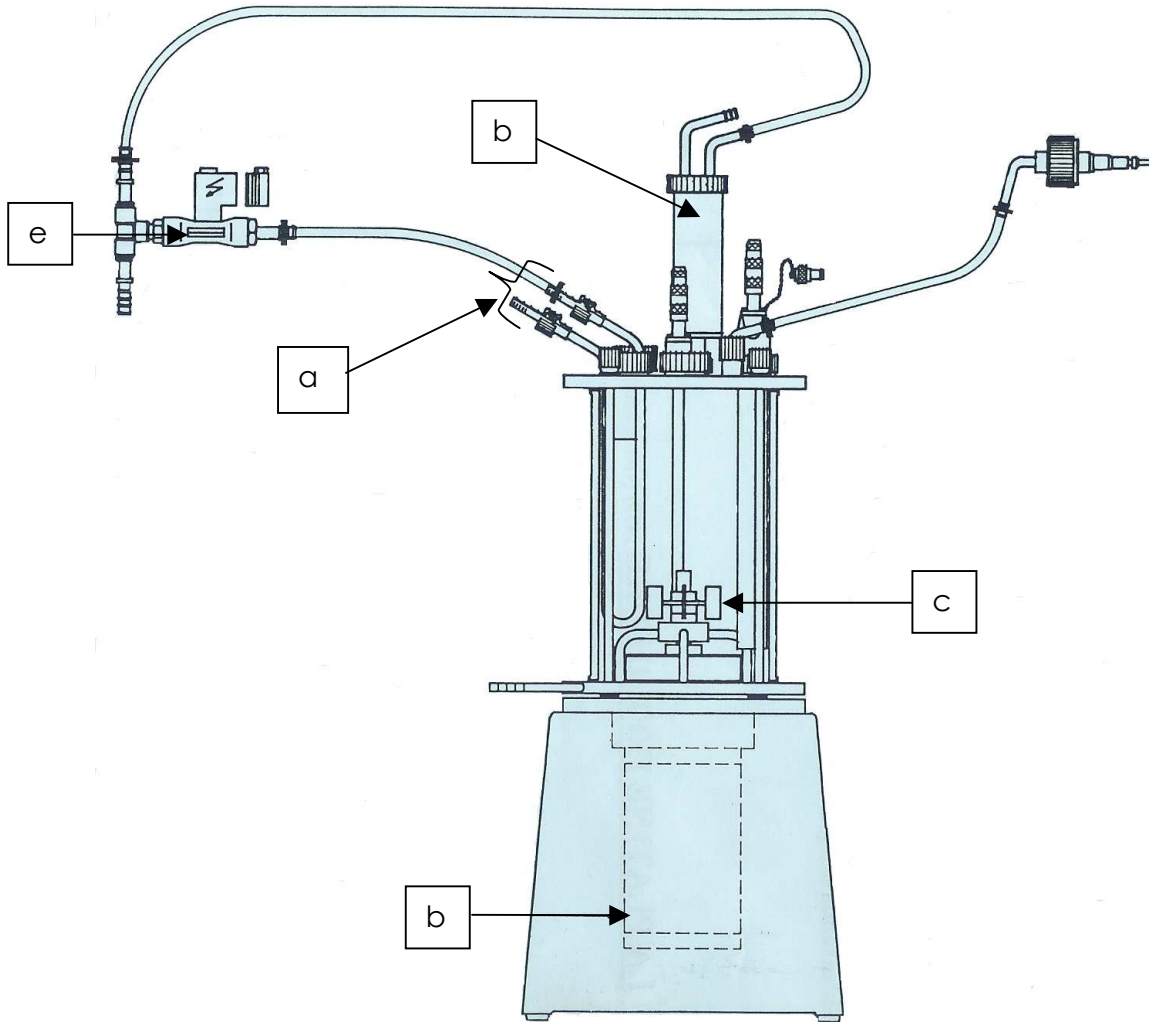
LB	ZYM-5052
3,50	12,10

### SDS-PAGE gel



**S** : soluble proteins  
**T** : total proteins  
**M** : molecular weight marker

Schéma du fermenteur prépilote de 7,5 L



**Evolution de la  $C_{LO_2}$  et de la biomasse au cours du temps**  
**DO à 600 nm = f(t) et  $C_{LO_2}$  = f(t)**

**Conditions de culture :**

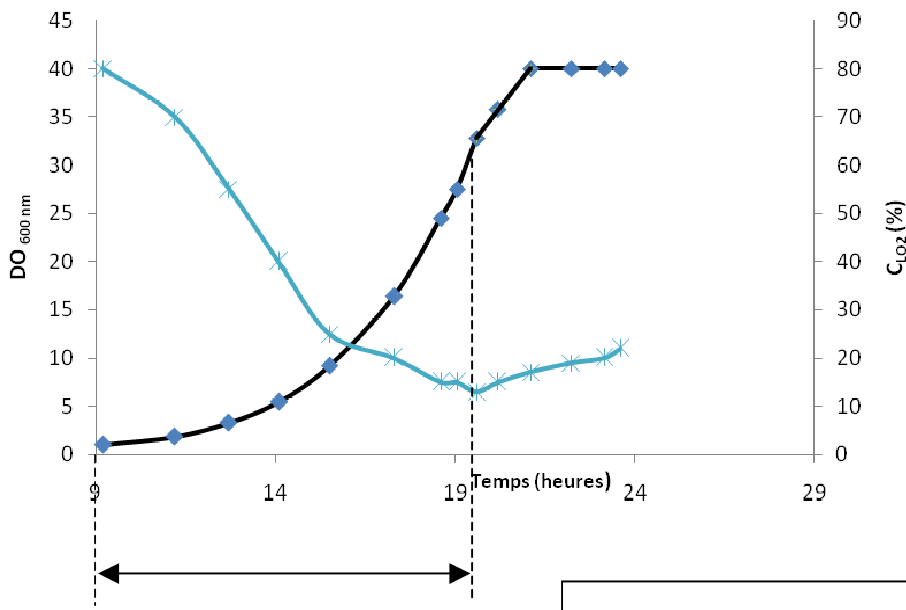
**Milieu :** ZYM 5052

**Température :** 37°C

**Pression de travail :** 1,2 atm

**Aération :** 0,4 VVM

**Agitation :** 500 rpm



Temps (h)	DO 600 nm
9,2	1,00
11,2	1,82
12,7	3,28
14,1	5,47
15,5	9,20
17,3	16,44
18,6	24,53
19,0	27,38
19,6	32,78
20,2	35,87
21,1	40,04
22,3	40,04
23,2	40,04
23,6	40,04

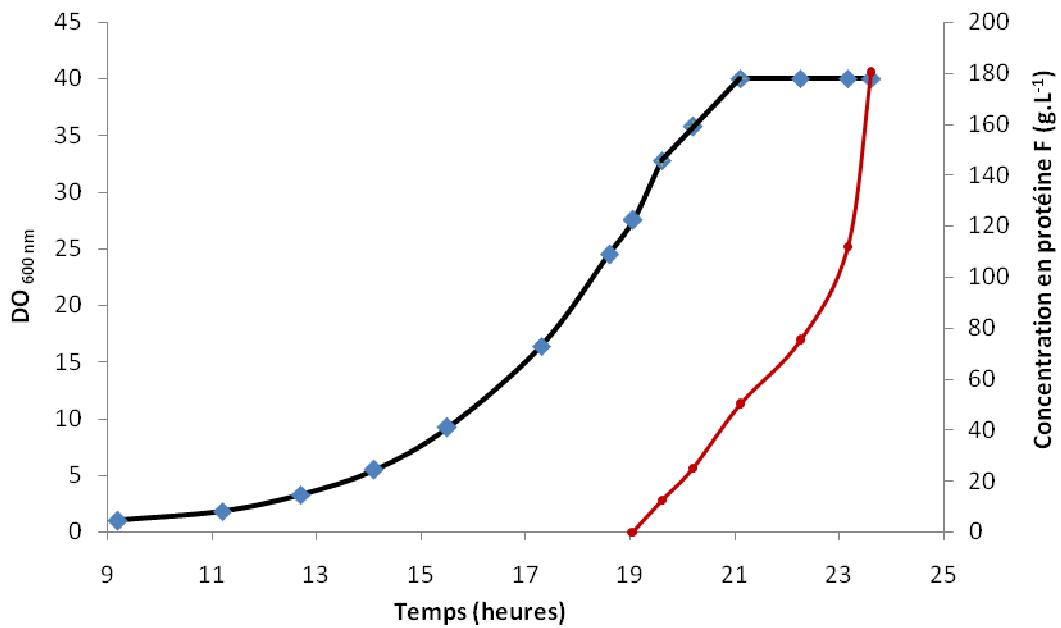
**Légende :** ◆—◆ : DO à 600 nm

\*—\* :  $C_{LO_2}$  (%)

## Document n° 6

### Croissance et production de la protéine recombinante en fermenteur prépilote

$$DO_{600\text{ nm}} = f(t) \text{ et } P = f(t)$$



**Légende :** ◆—◆ : DO à 600 nm

\*—\* : Concentration en protéines