

CONCOURS GÉNÉRAL DES LYCÉES

—

SESSION 2024

—

BIOCHIMIE-BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

(Classes de terminale série STL)

EPREUVE D'ADMISSIBILITE

Durée : 5 heures

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de la calculatrice sans mémoire « type collègue » est autorisé.*

Consignes aux candidats

- Ne pas utiliser d'encre claire
- N'utiliser ni colle, ni agrafe
- Ne joindre aucun brouillon
- Ne pas composer dans la marge
- Numéroté chaque page en bas à droite (numéro de page / nombre total de pages)
- Sur chaque copie, renseigner l'en-tête + l'identification du concours :

Concours / Examen : CGL Epreuve : admissibilité Matière : BIOT Session : 2024

Tournez la page S.V.P.

BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

(Classes de terminale série STL)

ÉPREUVE D'ADMISSIBILITÉ

Durée : 5 heures

L'évaluation valorisera deux stratégies possibles :

- **Persévérance** : tient compte du nombre de réponses **successives** traduisant un niveau « acceptable » dans chaque partie
- **Approfondissement** : tient compte du nombre de réponses traduisant un niveau « maîtrisé » pour l'ensemble du sujet

La lutte contre le cancer : approches innovantes dans le diagnostic et les traitements

Bien que des progrès importants aient été réalisés dans la lutte contre le cancer, cette pathologie continue de représenter une question de santé publique de dimension mondiale. En 2020, on estimait qu'il y avait environ 19,3 millions de nouveaux cas de cancer dans le monde et près de 10 millions de décès dus à cette maladie.

La recherche en cancérologie a joué un rôle central dans la compréhension des mécanismes de cancérogénèse, le développement de techniques de dépistage avancées et la conception de **biomédicaments**. Au-delà des méthodes conventionnelles, les **stratégies thérapeutiques se sont étendues pour inclure des domaines diversifiés tels que l'immunothérapie, la génomique, les approches ciblées**.

Au cœur de cette révolution, le « Paris-Saclay Cancer Cluster », qui regroupe des universités, des institutions de recherche, des entreprises pharmaceutiques et biotechnologiques et des hôpitaux, a pour ambition de **devenir un centre d'excellence mondiale dans le domaine de la recherche biomédicale et de la biotechnologie contre le cancer**.



Source : <https://www.gouvernement.fr/france-2030-paris-saclay-cancer-cluster-premier-laureat-de-l-ami-biocluster>

Financé **par le plan d'investissement « France 2030 »**, ce premier Biocluster a pour objectif de catalyser le développement d'un véritable **écosystème d'innovation à grande échelle en rassemblant les acteurs clés de l'innovation oncologique** au sein d'un site unique situé à Villejuif.

Partie 1- Le dépistage du cancer du col de l'utérus

Chaque année en France, près de 3000 femmes développent un cancer invasif du col de l'utérus et 1000 femmes en meurent. C'est le second cancer le plus fréquent chez les femmes dans le monde. Le cancer du col de l'utérus est attribuable dans la grande majorité des cas à une infection persistante par un papillomavirus humain (HPV) à haut-risque. L'infection à HPV est l'infection sexuellement transmissible la plus fréquente dans le monde : la plupart des femmes et des hommes sexuellement actifs (~80 %) seront infectés par ces virus au cours de leur vie.

Le cancer du col de l'utérus peut être évité grâce à deux interventions complémentaires :

- la vaccination contre le HPV : il s'agit d'une prévention primaire ;
- le dépistage qui permet de détecter des lésions précancéreuses et de les traiter avant qu'elles ne se transforment en cancer : il s'agit d'une prévention secondaire.

1.1 Intervention de l'infection à HPV-HR dans le processus de cancérisation du col de l'utérus

Le **document 1** présente plusieurs données sur l'appareil génital féminin et la structure histologique du col de l'utérus.

Q1 - Recopier et compléter le tableau ci-dessous en associant, à chaque niveau d'organisation du corps humain, un élément anatomique correspondant extrait du **document 1**.

Niveaux d'organisation	Éléments anatomiques
Appareil ou système	
Organe	
Tissu	
Cellule	

Le **document 2** présente les différents types de tissus épithéliaux.

Q2 - Analyser le **document 1** pour **caractériser** le tissu épithélial de l'endocol d'une part, et de l'exocol d'autre part, à l'aide du **document 2**.

Les papillomavirus humains (*human papillomaviruses*, HPV) sont des virus non enveloppés, à capsidie icosaédrique et à ADN double brin circulaire. Au cours de son cycle viral, l'HPV se fixe sur une cellule épithéliale du col utérin puis subit une endocytose. Le génome viral est ensuite libéré au niveau du noyau de la cellule cible où il se multiplie.

Il existe environ 40 types d'HPV qui sont classés en fonction de leur potentiel cancérogène :

- la plupart des HPV présentent un risque faible ou nul, tels les types 6 et 11, et peuvent simplement provoquer des condylomes (verru de la peau et/ou des muqueuses) ;

- 12 types de papillomavirus humains sont considérés comme cancérogènes et peuvent donc provoquer des cancers. Parmi ceux-ci, quelques types d'HPV en particulier sont considérés comme à haut risque (HPV-HR) et provoquent le cancer du col de l'utérus ou d'autres cancers chez l'homme comme chez la femme, en intégrant leur génome à celui de la cellule cible : les HPV 16 et 18 sont les plus fréquents.

La cancérogénèse est l'ensemble des phénomènes transformant une cellule normale en cellule cancéreuse. Ce processus intervient après la survenue de mutations sur les gènes contrôlant le cycle cellulaire et sa régulation, ainsi que l'apoptose et la réparation de l'ADN. Ces gènes sont alors qualifiés de gènes oncogènes.

Q3 - Émettre une hypothèse permettant d'expliquer qu'un papillomavirus humain à haut risque (HPV-HR) est un virus cancérogène.

Le dépistage permet de détecter des anomalies dans les cellules du col de l'utérus et de traiter ces cellules avant qu'elles n'évoluent en cancer. Il permet également de diagnostiquer des cancers à un stade précoce et ainsi d'améliorer les chances de guérison avec un traitement rapide. Depuis mai 2018, le dépistage du cancer du col de l'utérus est organisé dans un programme national de dépistage qui s'adresse à toutes les femmes entre 25 et 65 ans.

Le **document 3** présente les modalités de dépistage, définies par la Haute Autorité de Santé (HAS), qui varient désormais selon l'âge des femmes.

Q4 - Identifier l'examen que doit effectuer une femme de 40 ans pour laquelle l'examen cytologique réalisé quand elle avait 37 ans était normal.

1.2 Les tests HPV-HR de routine et leur optimisation

En France, le test privilégié pour le dépistage des HPV-HR est la recherche d'ADN génomique viral par PCR quantitative en temps réel ou qPCR. Il s'agit d'une amélioration de la technique de PCR consistant à suivre le nombre d'amplicons formés en continu. La qPCR permet de déterminer la quantité d'ADN matrice cible initialement présente dans un échantillon à l'aide d'un paramètre, le Ct, qui peut être également utilisé comme critère de positivité de la réaction.

Le **document 4** décrit le principe de la technique qPCR. Le **document 5** présente la composition des mélanges réactionnels et les résultats de l'analyse effectuée par qPCR du prélèvement cervico-vaginal de la patiente âgée de 40 ans.

Q5 - Rappeler le rôle de la Taq Polymérase.

Q6 - À partir de la composition-type d'un mélange réactionnel pour une réaction de PCR, proposer une hypothèse pour expliquer à quoi est dû le plateau observé pour un nombre de cycles supérieur à 30 cycles.

Q7 - Expliquer pourquoi la fluorescence émise à chaque cycle d'amplification est proportionnelle à la quantité d'amplicons formés.

Q8 - Argumenter le fait que la qPCR est plus sensible que la PCR en point final.

Q9 - Identifier le rôle du contrôle positif et le rôle du contrôle négatif à l'aide du **document 5A**.

Q10 - Proposer une définition du « Ct ».

Q11 - Déterminer graphiquement les Ct obtenus pour l'analyse de l'échantillon de la patiente.

Q12 - Conclure sur la quantité d'ADN matrice du contrôle positif par rapport à la quantité présente dans l'essai.

Q13 - Interpréter le résultat obtenu pour l'échantillon prélevé chez la patiente.

Le diagnostic des infections à HPV-HR pour l'ensemble des populations éloignées des centres médicaux pose d'importants défis. Les technologies actuellement disponibles pour la détection des HPV sont souvent complexes, nécessitant des équipements sophistiqués, des procédures élaborées et des réactifs coûteux. Le manque d'infrastructure médicale appropriée limite fréquemment l'accès à des méthodes de diagnostic précises. Cette situation expose à un risque accru de non-détection des infections aux HPV-HR, avec des conséquences graves, notamment le risque de développer des cancers.

Face à ce problème de santé publique majeur, la méthode d'amplification isotherme à médiation en boucle (LAMP) a émergé comme une solution prometteuse. La méthode LAMP est appréciée pour sa simplicité, sa rentabilité, sa spécificité et son efficacité, en faisant ainsi un outil de diagnostic précieux.

Le **document 6** présente le principe de la technique LAMP.

Q14 - Rappeler ce que signifie la T_m et **déterminer** sa valeur pour l'amorce B3.

Q15 - Calculer la T_m théorique de l'amorce FIP et proposer une explication au fait que la T_m réelle est inférieure à la valeur calculée, à l'aide du schéma de l'étape 1.

Dans le cas d'une amplification par PCR en point final, un cycle de température est classiquement de 95 °C, 72 °C et 65 °C.

Q16 - Faire correspondre, à chaque température, le nom de l'étape du cycle pour une PCR en point final correspondant ainsi que son rôle.

Q17 - Expliquer pourquoi il n'est pas nécessaire d'appliquer une température de 95 °C pour la LAMP, à l'aide des informations apportées par l'étape 2 du **document 6**.

Q18 - Rédiger un court texte décrivant les opérations 5 et 6 du schéma de l'étape 3 à l'aide des termes « hybridation » « élongation » « séparation » « amorce » « brin d'ADN ».

Q19 - Comparer les températures d'hybridation des amorces et la température optimale d'activité catalytique de la Bst polymérase.

Q20 - Montrer alors pourquoi la LAMP ne nécessite pas une succession de cycles au cours desquels la température varie.

Pour réaliser la technique LAMP, il n'est pas nécessaire de disposer d'un thermocycleur.

Q21 - Préciser quel équipement pourrait être approprié.

Le **document 7** détaille la procédure d'analyse des résultats obtenus par LAMP.

Q22 - Analyser les résultats présentés dans le graphe A à partir de la composition du mélange réactionnel. **Argumenter alors**, en exploitant l'ensemble des résultats expérimentaux, la spécificité de la LAMP.

Q23 - Expliquer le mode de détection des résultats à partir du **document 7B**.

Q24 - Argumenter l'intérêt de déployer la technique LAMP en particulier dans les territoires éloignés des centres médicaux.

Le **document 8** présente les résultats obtenus grâce à la technique LAMP pour la même patiente de 40 ans, dont l'analyse a été préalablement effectuée par une PCR en temps réel.

Q25 - Analyser les résultats obtenus pour les contrôles, puis ceux obtenus pour la patiente.

Q26 - A partir de l'algorithme de l'HAS, **identifier** l'examen à effectuer pour cette patiente, en tenant compte des directives de la HAS.

1.3 Rôle de l'anatomocytopathologie dans le dépistage du cancer du col de l'utérus.

L'anatomocytopathologie est une spécialité médicale consistant à observer les organes, les tissus ou les cellules, pour repérer et analyser des anomalies liées à une maladie.

Dans le cas de la surveillance du cancer du col de l'utérus, l'étude s'effectue sur une biopsie (prélèvement d'un fragment de tissu) de l'exocol.

L'observation de la structure histologique de l'échantillon s'effectue au microscope optique sur des coupes fines. L'utilisation de colorants permet de distinguer les différentes structures cellulaires et tissulaires.

Les étapes nécessaires à la préparation de l'échantillon en vue de son analyse histologique, sont représentées dans le **document 9**.

Q27 - Expliquer la nécessité de déshydrater le prélèvement avant l'étape d'inclusion en paraffine, en s'appuyant sur les propriétés de la paraffine. **Expliquer** également la nécessité de le réhydrater avant l'étape de coloration.

A la suite d'un examen cytologique révélant un frottis ASC-US+ pour la patiente de 40 ans, une coloscopie est prescrite afin de réaliser une biopsie de l'exocol qui sera analysée par anatomocytopathologie. L'aspect d'une coupe histologique obtenue à partir de cette biopsie, ainsi que l'aspect d'une coupe histologique normale, sont présentés dans le **document 10**. Les coupes sont observées après coloration HE.

Q28 - En s'appuyant sur la structure de la chromatine, **expliquer pourquoi** les noyaux des cellules attirent à la fois l'hémalum et l'éosine. **En déduire** la couleur observée pour cet organite.

Q29 - Comparer l'aspect de la coupe histologique de la biopsie de l'exocol de la patiente et l'aspect de la coupe histologique d'une biopsie d'exocol non infecté par HPV au schéma du **document 10A. Émettre une hypothèse** sur l'évolution de l'infection à HPV chez la patiente.

1.4 Bilan

Q30 - À partir de l'ensemble de la partie 1, récapituler, sous forme d'un texte ou d'un schéma le cheminement du diagnostic pour la patiente en listant les techniques d'analyse utilisées.

Partie 2 : Des microorganismes pour combattre les cancers

La recherche sur les microorganismes présentant des propriétés antitumorales est une piste prometteuse. L'efficacité oncolytique de ces microorganismes repose en particulier sur deux mécanismes : la destruction des cellules tumorales et la stimulation du système immunitaire.

Le **document 11** présente le microenvironnement cellulaire et moléculaire d'une tumeur avant et après traitement par un microorganisme oncolytique.

Q31 - Décrire le microenvironnement d'une tumeur non traitée et celui d'une tumeur traitée par des microorganismes oncolytiques à l'aide des légendes du schéma.

Q32 - Identifier les deux caractéristiques de la tumeur traitée symbolisant l'efficacité de l'action oncolytique du microorganisme.

Q33 - Associer les figures A, B et C du **document 11** présentant des agrandissements du schéma représentant la tumeur traitée à chacune des explications suivantes :

Explication 1 : Libération de signaux de danger dans le microenvironnement tumoral, permettant de lever l'immunosuppression existant dans ce microenvironnement.

Explication 2 : Stimulation du système immunitaire inné et adaptatif avec recrutement de cellules immunitaires, induit par la présence du micro-organisme et des signaux de danger.

Explication 3 : Destruction des cellules tumorales par multiplication intracellulaire ou par accumulation de microorganismes et présence d'anticorps sécrétés par des microorganismes génétiquement modifiés.

2.1 Utiliser des bactéries pour traiter les tumeurs

Certaines bactéries comme le sérovar *Salmonella enterica Typhimurium* (*S. Typhimurium*), induisent la mort des cellules tumorales du fait de leur accumulation dans ces cellules.

Salmonella Typhimurium peut inhiber ou faire régresser plusieurs types de tumeurs chez des souris ou des rats qui servent d'organismes modèles. C'est William Coley qui a étudié en premier l'effet antitumoral des bactéries et qui a établi que les tumeurs peuvent subir une régression après une infection bactérienne. En effet, l'environnement privé de dioxygène ainsi que des concentrations élevées de nutriments présents au niveau de la tumeur constituent un nid idéal pour la croissance de certaines souches bactériennes.

Q34 - Utiliser le **document 12** pour **décrire** l'aspect morphologique de *S. Typhimurium*.

Q35 - Argumenter pour déterminer le type de microscope ayant permis d'obtenir chacune des deux microphotographies.

Le **document 13** présente l'effet de l'infection par deux souches bactériennes sur des souris porteuses de tumeurs.

Q36 - Expliquer l'intérêt d'injecter du PBS à une souris pour la réalisation de cette expérience.

Q37 - Analyser la courbe obtenue suite à l'injection de PBS **pour montrer** l'évolution de la tumeur dans cette condition.

Q38 - Analyser le graphique A pour montrer l'évolution de la tumeur suite à l'infection par *Salmonella* SL7207.

Q39 - Comparer ces résultats à ceux obtenus pour *Salmonella* SF200 et **conclure** sur l'effet de *Salmonella Typhimurium* sur le développement des tumeurs.

Q40 - A partir du graphique C, **montrer** l'effet de l'immunisation préalable par *Salmonella Typhimurium* sur l'action anti-tumorale de cette même bactérie.

Q41 - Formuler une hypothèse pour expliquer l'effet observé.

Q42 - Analyser les résultats obtenus pour l'agent bactérien modifié génétiquement et **en déduire** l'intérêt de la modification génétique.

Q43 - Argumenter sur la dangerosité de produire des salmonelles génétiquement modifiées résistant au système immunitaire.

2.2 Restaurer l'immunité anti-tumorale grâce à des microorganismes

Les lymphocytes T cytotoxiques (LTc) jouent un rôle anti-tumoral en éliminant les cellules cancéreuses exprimant des antigènes spécifiques des tumeurs, considérés alors par le système immunitaire comme du non-soi.

Q44 - Réaliser un schéma annoté représentant les interactions entre un LTc et une cellule cancéreuse exprimant un antigène de tumeur pour montrer la spécificité des interactions moléculaires mises en jeu.

De nombreux mécanismes permettent aux cellules tumorales d'échapper au système immunitaire. Un de ces mécanismes concerne le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). En effet, les cellules tumorales expriment souvent beaucoup moins de molécules du CMH que les cellules saines.

Q45 - Expliquer comment une baisse d'expression des molécules du CMH par les cellules tumorales favorise leur échappement au système immunitaire.

Une nouvelle stratégie anti-tumorale est envisagée pour permettre la reconnaissance entre les LTc et les cellules tumorales indépendamment du CMH grâce des fragments d'anticorps produits par des microorganismes.

Le **document 14** présente différents formats de fragments d'anticorps qu'il est possible de produire.

Q46 - Réaliser un schéma représentant les interactions entre un fragment « *bispecific T cells engagers* », un lymphocyte T cytotoxique et une cellule tumorale.

Q47 - Expliquer l'intérêt de cette association dans l'amélioration de la lutte anti-tumorale.

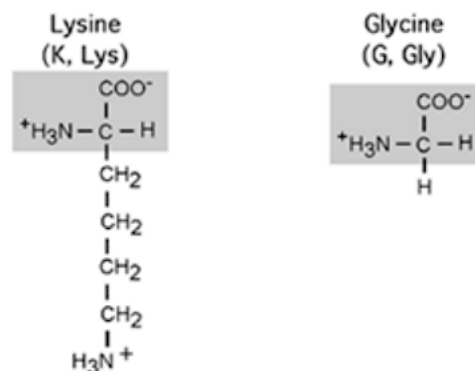
2.3 Bilan

Q48 - Réaliser une synthèse des deux stratégies présentées dans la partie 2 et utilisées dans la lutte contre le cancer sous une forme rédigée, à l'aide d'un schéma ou d'un tableau.

Partie 3 : Adressage des protéines à la dégradation par le protéasome : une nouvelle stratégie thérapeutique pour lutter contre les cellules cancéreuses

Les cellules normales se transforment en cellules cancéreuses suite à de nombreuses mutations au niveau de l'ADN qui peuvent conduire à la synthèse de protéines aberrantes favorisant la survie et la prolifération des cellules cancéreuses.

Q49 - Nommer le mécanisme de la synthèse des protéines à partir des ARNm. **Représenter** le dipeptide obtenu par synthèse protéique à partir des deux acides aminés dont les formules sont représentées ci-dessous. **Nommer et repérer** la liaison mise en jeu.



Source : <https://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/1a.html> (consulté le 23/09/23)

De nouvelles stratégies thérapeutiques visent à cibler ces protéines indispensables aux cellules cancéreuses pour les dégrader en les dirigeant spécifiquement vers le protéasome, complexe enzymatique spécialisé dans la dégradation des protéines.

3.1 La dégradation des protéines par le système Ubiquitine-Protéasome

Pour être dégradées par le protéasome, les protéines intracellulaires doivent être étiquetées par une chaîne de poly-ubiquitine. On parle alors « d'adressage » de la protéine au protéasome.

Le **document 15** présente le fonctionnement du système Ubiquitine-Protéasome.

Q50 - Décrire les étapes du fonctionnement du système Ubiquitine-Protéasome présentées dans le **document 15A**.

Q51 - Déterminer le nombre de sous-unités catalytiques présentes dans une particule cœur 20S du protéasome à partir du **document 15B**. **Expliquer** le raisonnement suivi.

Les activités protéolytiques du protéasome se situent à l'intérieur du cylindre de la particule cœur 20S.

Q52 - Argumenter l'importance de cette localisation des activités protéolytiques.

Le **document 16** présente plus en détails l'ubiquitine et l'ubiquitination.

Q53 - Indiquer quelle enzyme de la cascade d'ubiquitination confère la spécificité du système. **Argumenter** alors comment le système Ubiquitine-Protéasome permet à la fois la dégradation d'une grande diversité de substrat tout en ciblant spécifiquement la protéine à dégrader.

L'hydrolyse de l'ATP est associée à deux étapes lors de la dégradation ubiquitine-dépendante d'une protéine :

- création d'une liaison à haute énergie entre l'ubiquitine et l'enzyme E1 (**document 16B**)
- dépliement et transfert de la protéine dans la chambre catalytique (**document 15B3**).

Q54 - Expliquer pourquoi l'ATP est nécessaire pour chacun de ces deux rôles dans la dégradation protéique médiée par le système Ubiquitine-Protéasome.

La liaison chimique entre l'ubiquitine et le substrat à dégrader est une liaison isopeptidique, c'est-à-dire entre un groupement carboxyle de la glycine C-terminale de l'ubiquitine et le groupement amine de la chaîne latérale d'une lysine du substrat.

Q55 - Représenter la liaison isopeptidique entre la glycine de l'ubiquitine et la lysine du substrat à partir des formules des acides aminés données précédemment.

Au cours du processus, le substrat est polyubiquitylé, c'est-à-dire marqué par une chaîne constituée de plusieurs ubiquitines. Après la fixation d'une première ubiquitine sur le substrat à dégrader, d'autres ubiquitines vont être ajoutées pour former cette chaîne de polyubiquitine.

Q56 - Identifier à l'aide du **document 16** la caractéristique de la structure primaire de la protéine qui permet à une nouvelle ubiquitine d'être liée sur la première ubiquitine fixée sur le substrat.

3.2 Innovation thérapeutique : le système PROTAC®

Le système PROTAC® ou *Proteolysis-Targeting Chimera*, est une innovation dans la recherche biomédicale et la lutte contre le cancer. Les PROTAC® sont de petites molécules bifonctionnelles conçues au laboratoire afin d'induire l'interaction entre une ubiquitine ligase E3 et la protéine que l'on souhaite dégrader. Elles induisent la fixation de l'ubiquitine sur la protéine à dégrader et son élimination par le protéasome. Il est ainsi possible de dégrader des protéines nécessaires à la survie des cellules cancéreuses.

Le **document 17** présente les molécules PROTAC®.

Q57 - Représenter le complexe à trois éléments entre la molécule PROTAC® et les protéines cellulaires qu'elle fixe.

Des molécules PROTAC® ciblant une protéine particulière, l'histone déacétylase HDAC3, sont en cours de mise au point. Cette enzyme participe à la régulation de l'expression de nombreux gènes. HDAC3 est trop active dans certains cancers et sa destruction ciblée est une piste thérapeutique intéressante.

L'efficacité de cette molécule PROTAC® est suivie par Western Blot.

Le **document 18** présente le principe de la technique de Western Blot et les résultats obtenus en traitant des cellules avec une molécule PROTAC® ciblant HDAC3.

Q58 - Schématiser l'édifice moléculaire obtenu sur la membrane de nitrocellulose au niveau de la bande « HDAC3 » à l'étape finale de révélation du Western Blot.

En plus de la protéine d'intérêt HDAC3, la tubuline, protéine du cytosquelette des cellules, est étudiée. Il s'agit d'une protéine présente dans toutes les cellules. On considère que la concentration de tubuline n'est pas impactée par le PROTAC®, quelle que soit sa concentration.

Q59 - Analyser le résultat obtenu pour $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de PROTAC® et conclure sur l'efficacité de l'adressage de la protéine HDAC3 au protéasome.

Q60 - Émettre une hypothèse sur la différence d'efficacité observée à $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de PROTAC®, en procédant par analogie avec les conditions d'obtention d'un réseau dans une réaction de précipitation.

3.3 Bilan

Q61 - À partir de l'ensemble de la partie 3, **présenter**, sous forme d'un schéma légendé, les différentes étapes du mode action d'une molécule PROTAC® conduisant à la dégradation de sa protéine cible.

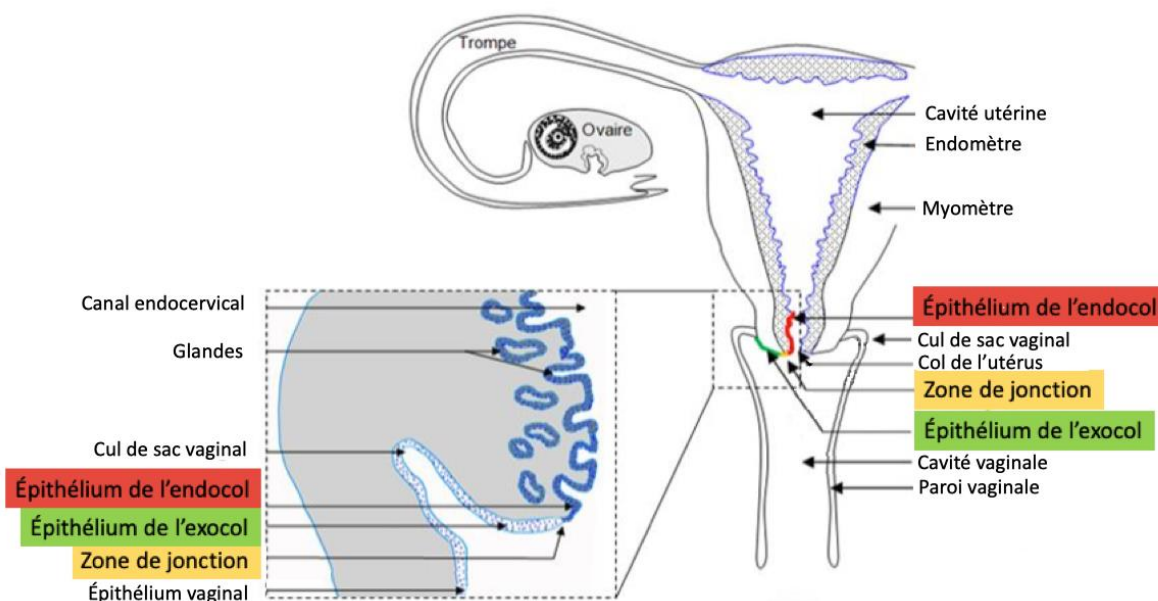
Question de synthèse

Le **document 19** présente différents traitements conventionnels du cancer.

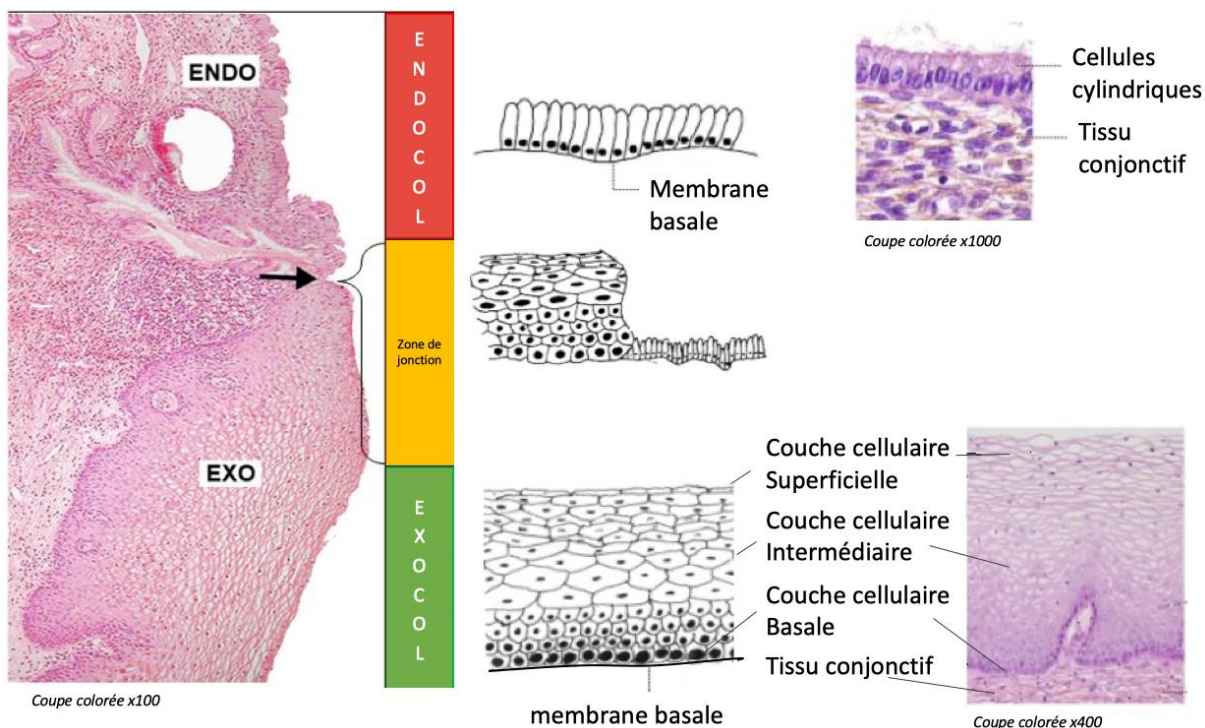
En s'appuyant sur l'ensemble des données du sujet et sur le **document 19**, **montrer en quoi** les biotechnologies contribuent au développement de nouvelles approches dans le diagnostic et le traitement des cancers. **Identifier** les avantages de ces nouvelles approches et leurs éventuels inconvénients.

Document 1 : Données sur l'appareil génital féminin et l'histologie du col de l'utérus

A. Schéma de l'anatomie de l'utérus en vue frontale

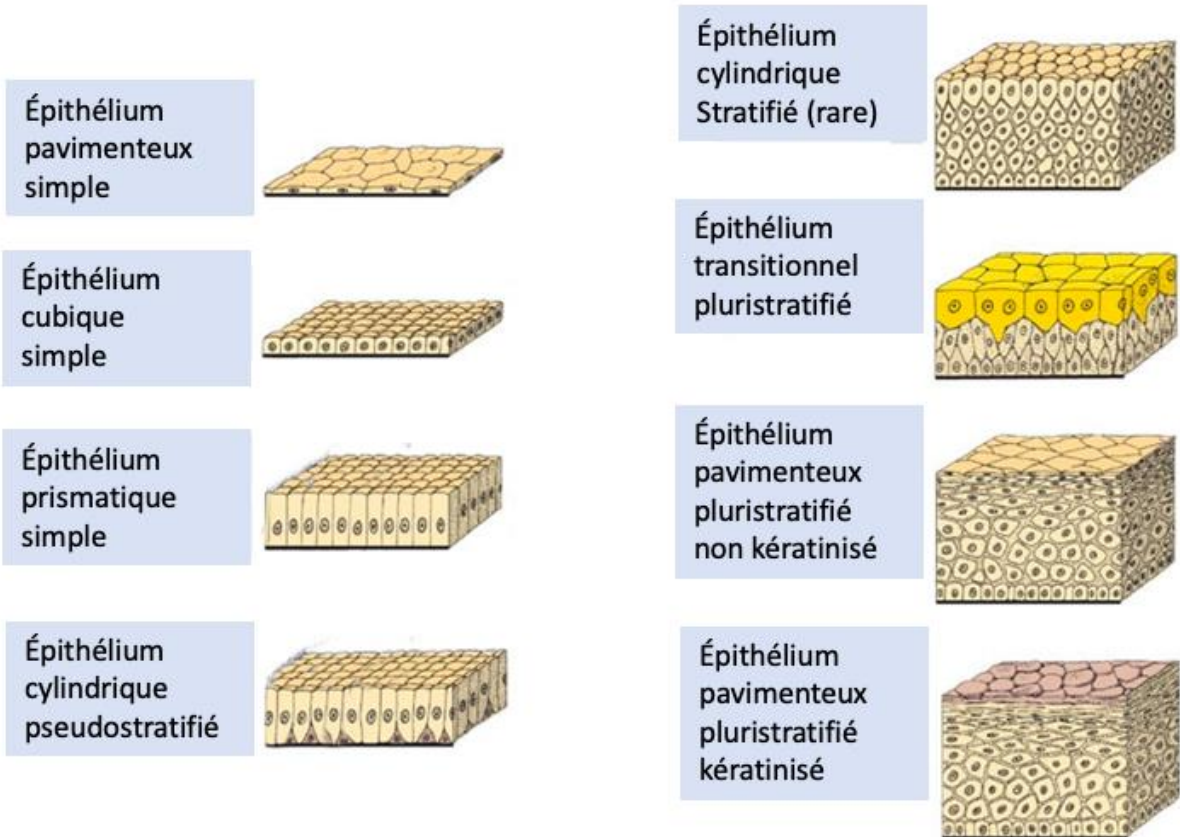


B. Histologie de l'endocol, de la zone de jonction et de l'exocol



Sources : <https://xml.tremplin.ens-lyon.fr/exist/rest/db/rel/data-xhtml/Vie/HPV/ar02s03.xhtml> et <https://screening.iarc.fr/colpochap.php?la>

Document 2 : Les différents types de tissus épithéiaux



Source : Anatomie et physiopathologie en soins infirmiers (Elsevier)

Document 3 : Modalités de dépistage du cancer du col de l'utérus définies par l'HAS

A. Dépistage chez les femmes de moins de 30 ans

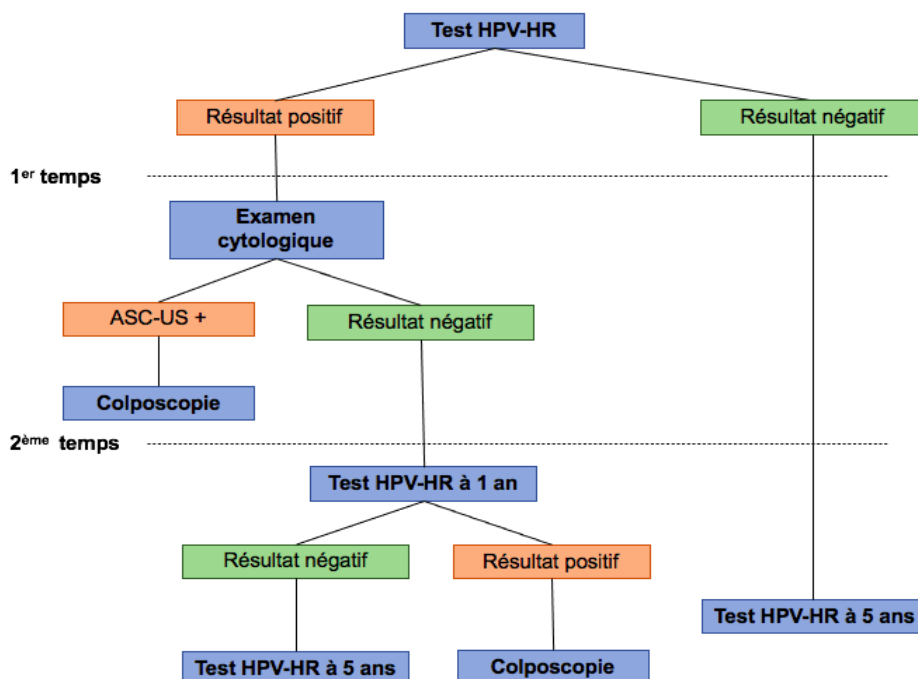
Pour les femmes entre 25 et 29 ans, le test de dépistage est réalisé par examen cytologique microscopique tous les 3 ans, après deux premiers tests réalisés à 1 an d'intervalle et dont les résultats sont normaux.

L'examen cytologique s'intéresse à la morphologie des cellules, ce test est réalisé sur un prélèvement de cellules superficielles au niveau du col de l'utérus, appelé prélèvement cervico-utérin (ou communément « frottis »). Ce prélèvement est pratiqué au cours d'un examen gynécologique par un médecin ou une sage-femme. Il est ensuite examiné au microscope dans un laboratoire de cytologie. Selon l'aspect des cellules, on peut conclure que le col utérin est normal, ou bien qu'il présente une infection, ou une lésion pré-cancéreuse ou enfin un cancer.

B. Dépistage chez les femmes de 30 ans à 65 ans

Pour les femmes de 30 ans à 65 ans, la HAS a fait évoluer les modalités de dépistage : elle recommande que le test HPV-HR remplace l'examen cytologique. Le test HPV-HR cherche la présence de l'ADN d'un type de papillomavirus à haut risque chez les femmes. Il est réalisé 3 ans après le dernier examen cytologique dont le résultat est normal si la femme a entre 30 et 65 ans. Un nouveau test est refait tous les 5 ans, jusqu'à l'âge de 65 ans, dès lors que le résultat du test est négatif. Ce test peut être effectué à partir d'un prélèvement cervico-utérin ou à partir d'un auto-prélèvement vaginal.

Algorithme de choix des examens pour le dépistage du cancer du col de l'utérus (source : HAS)



Un frottis ASC-US+ ou ASCUS est un frottis pour lequel les cellules observées au microscope optique présentent des anomalies morphologiques.

La colposcopie est un examen gynécologique effectué avec appareil optique grossissant, appelé colposcope, qui permet une observation du col de l'utérus et du vagin. Il est alors possible de réaliser une biopsie si nécessaire.

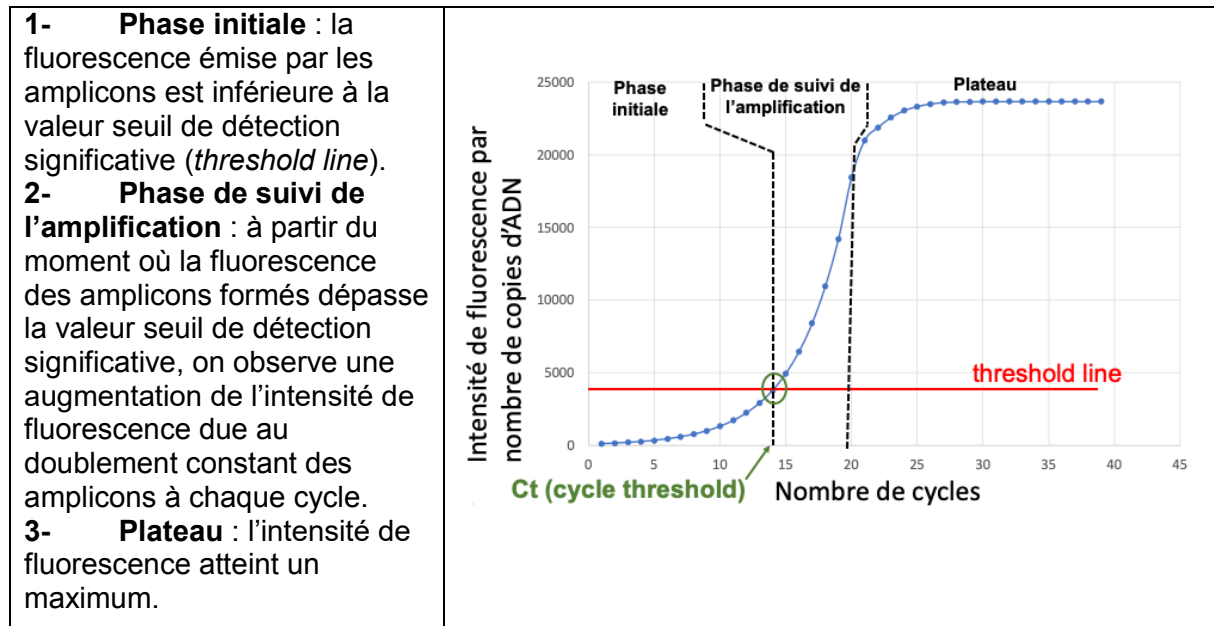
Document 4 : Dépistage des HPV-HR par PCR quantitative en temps réel

A. Principe général de la qPCR

La PCR quantitative en temps réel (qPCR) s'appuie sur les 3 mêmes étapes de la PCR en point final. L'utilisation d'une sonde fluorescente, nommée Taqman®, permet la mesure en continu de la quantité d'amplicons produits.

B. Suivi de l'amplification

La qPCR permet de suivre l'amplification, en présence d'une sonde portant un fluorochrome (*Taqman probe*- voir C) d'un fragment d'ADN en temps réel à partir d'une amorce sens (*forward primer*) et d'une amorce antisens (*reverse primer*). L'intensité de la fluorescence est mesurée à chaque cycle. Elle reflète la quantité de produits amplifiés au cours du temps comme le montre le graphique représentant l'intensité de fluorescence en fonction du nombre de cycles reporté ci-dessous.



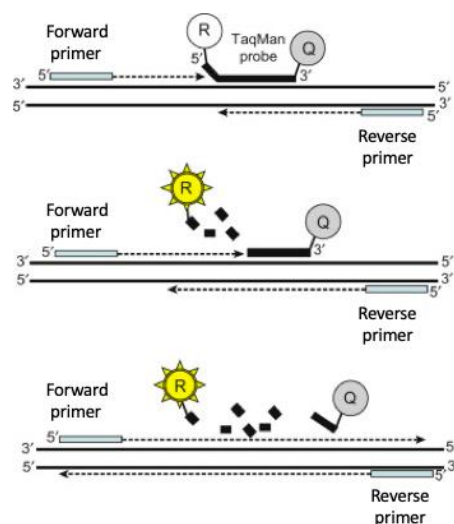
Remarque : Le Ct, ou « *Cycle threshold* », est inversement proportionnel à la quantité d'ADN matrice cible présente dans l'échantillon analysé.

C. TaqMan® probe

TaqMan® (1) utilizes a probe which consists of an oligonucleotide sequence with a 5' fluorescent reporter molecule (F) and a 3' quencher dye (Q). As long as the probe is attached, the signal from the quencher dye Q disrupts the signal of the fluorophore F.

Taq polymerase extends the primer (2) and replicates the template on which the TaqMan® probe is bound. The exonuclease activity of Taq polymerase (3) cleaves the probe, releasing the fluorophore F allowing fluorescence to occur.

Lexique : *A probe* : une sonde / *to disrupt*: bloquer, interrompre / *a template* : une matrice / *to bind (bound, bound)* : lier / *to cleave* : détacher, casser / *to occur* : se produire



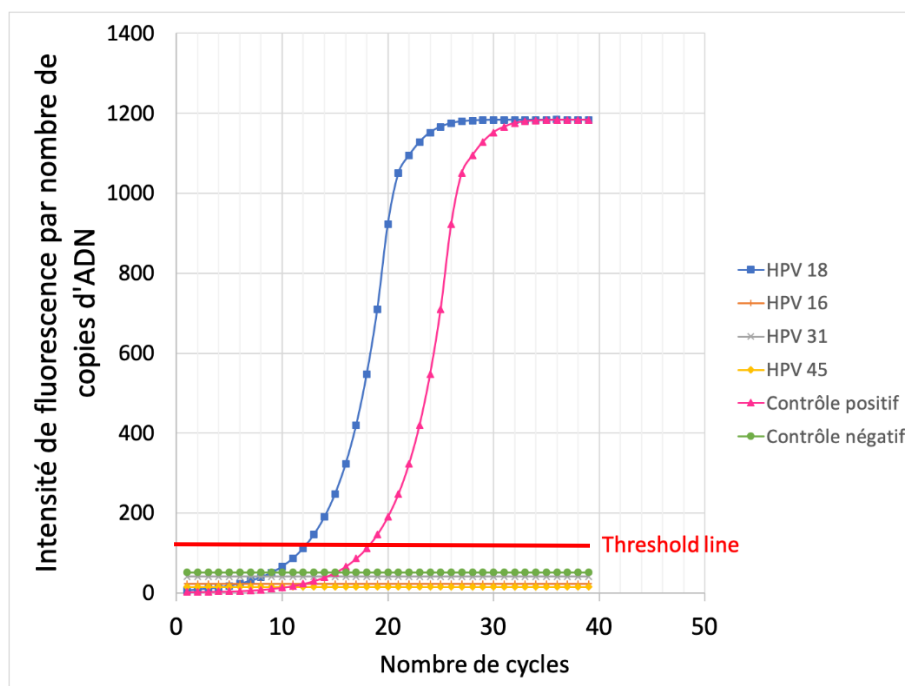
Source : adapté de **Thornton B et coll.** *Biochem Mol Biol Educ.* 2011

Document 5 : Résultats du diagnostic réalisé chez la patiente

A. Composition des différents mélanges réactionnels



HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 45	contrôle positif	contrôle négatif
Prélèvement cervico-vaginal (cellules prélevées sur le col de l'utérus)				ADN d'un HPV commercial de concentration connue (ex : HPV 18)	/
Tampon de lyse					
Amorces spécifiques de HPV 16	Amorces spécifiques de HPV 18	Amorces spécifiques de HPV 31	Amorces spécifiques de HPV 45	Amorces spécifiques d'une région commune des HPV testés	Amorces spécifiques d'une région commune des HPV testés
Sondes fluorescentes spécifiques de l'ADN cible					
Taq polymérase					
dNTPs					
Tampon de réaction					
Mg^{2+}					

B. Résultats de l'analyse de l'échantillon cervico-vaginal de la patiente



Document 6 : Principe de la technique d'amplification isotherme à médiation en boucle (LAMP)

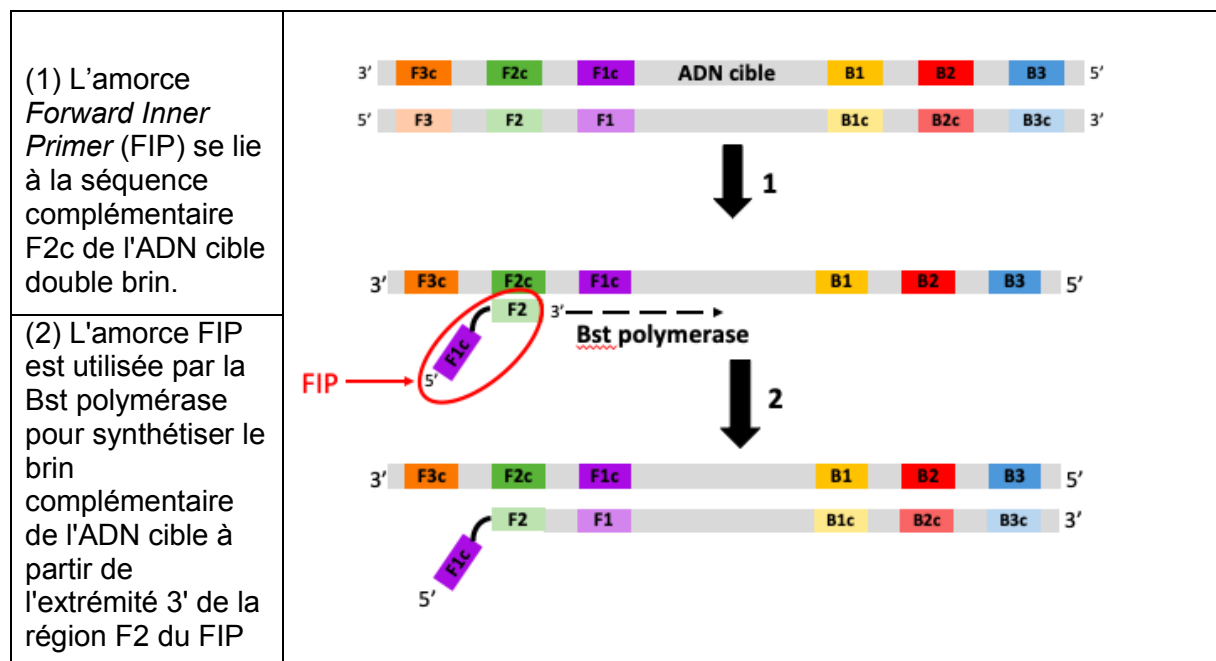
A. Séquences nucléotidiques des amorces pour la détection du HPV 16

Nom de l'amorce	Séquence	Tm (°C)
F3	5' CAGACGCAGTGGTGCAGACGC 3'	62,29
B3	5' GCATGCACGCGTCCTGCTC 3'	?
FIP	5' GCCACACAACCTTTAGGT TCTTATA TTTGTTTAATCTTTCTTTGCACACT 3' Représentation schématique : 	65,38
BIP	ACTTTAATTATGCTGCATAT GCACCTTT TGTGCTTTAGTTTTTCTATTTACACAC 3' Représentation schématique : 	65,36
LPF	5' GGCAAGGCACGCACTGAACCTG 3'	60,43
LPB	5' GGTAGTTCGCGTTACCTGTGTGCAC 3'	60,96

Donnée : formule de Wallace $T_m = (4 \times [G + C]) + (2 \times [A + T])$ en °C

B. Étapes de l'amplification par la technique LAMP

Étape 1 : Synthèse d'un brin complémentaire à la séquence d'ADN cible



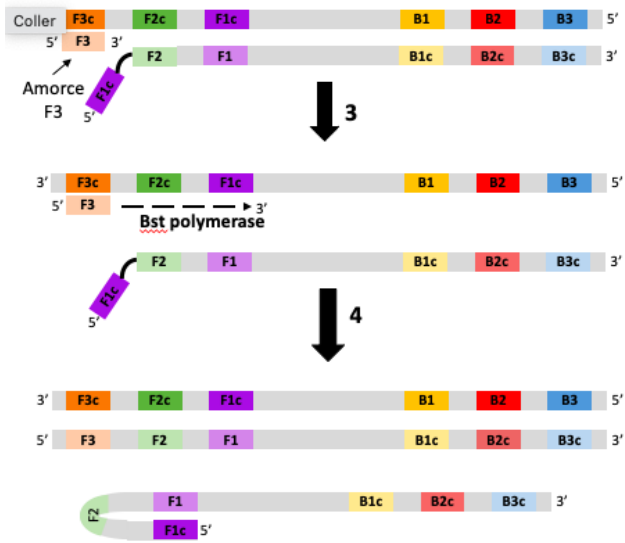
L'enzyme *Bst* polymérase, issue de *Bacillus stearothermophilus*, a une température optimale d'activité catalytique comprise entre 60 et 65 °C.

Étape 2 : Séparation d'un ADN en structure « tige-boucle »

(3) L'amorce F3 s'ancre dans la région F3c de l'ADN cible et initie la synthèse d'ADN.

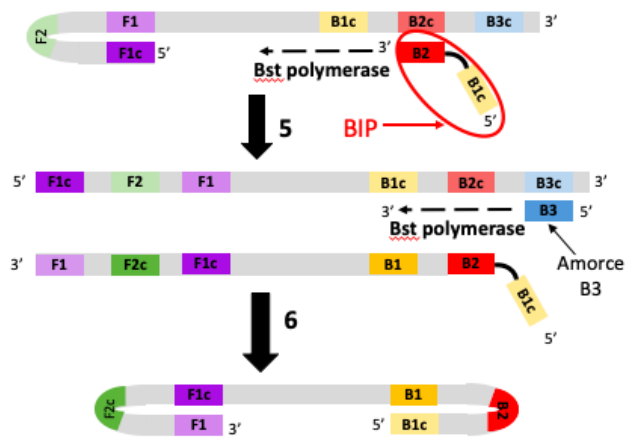
La Bst polymérase, présente également une activité hélicase : elle catalyse la rupture des liaisons hydrogène entre les deux brins d'ADN. La synthèse d'ADN permet ainsi également la libération du brin complémentaire initié par FIP (F1c-F2).

(4) Le brin complémentaire lié à FIP est libéré sous forme de brin unique, formant une structure en tige-boucle à l'extrémité 5' en raison de la complémentarité des régions F1c et F1.



Étape 3 : Formation d'un ADN de structure en haltère

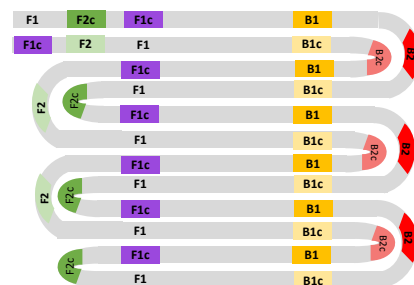
(5) et (6) : Les opérations similaires aux étapes (1) et (2) sont réalisées avec les amorces BIP et B3 et aboutissent à la formation d'une structure en haltère avec des boucles de tige à chaque extrémité.



Étape 4 : Amplification à l'aide des amorces Loop Primer (LPF et LPB)

Les amorces *Loop Primer Forward* (LPF) et *Loop Primer Backward* (LPB) se lient à leurs séquences complémentaires sur la structure en haltère, amorçant ainsi l'amplification par la Bst polymérase.

Exemple de résultat de l'amplification



Source : adapté de Nahar S, (2014). Université du Québec Institut National de la Recherche Scientifique.

Document 7 : Analyse de résultats par la technique LAMP

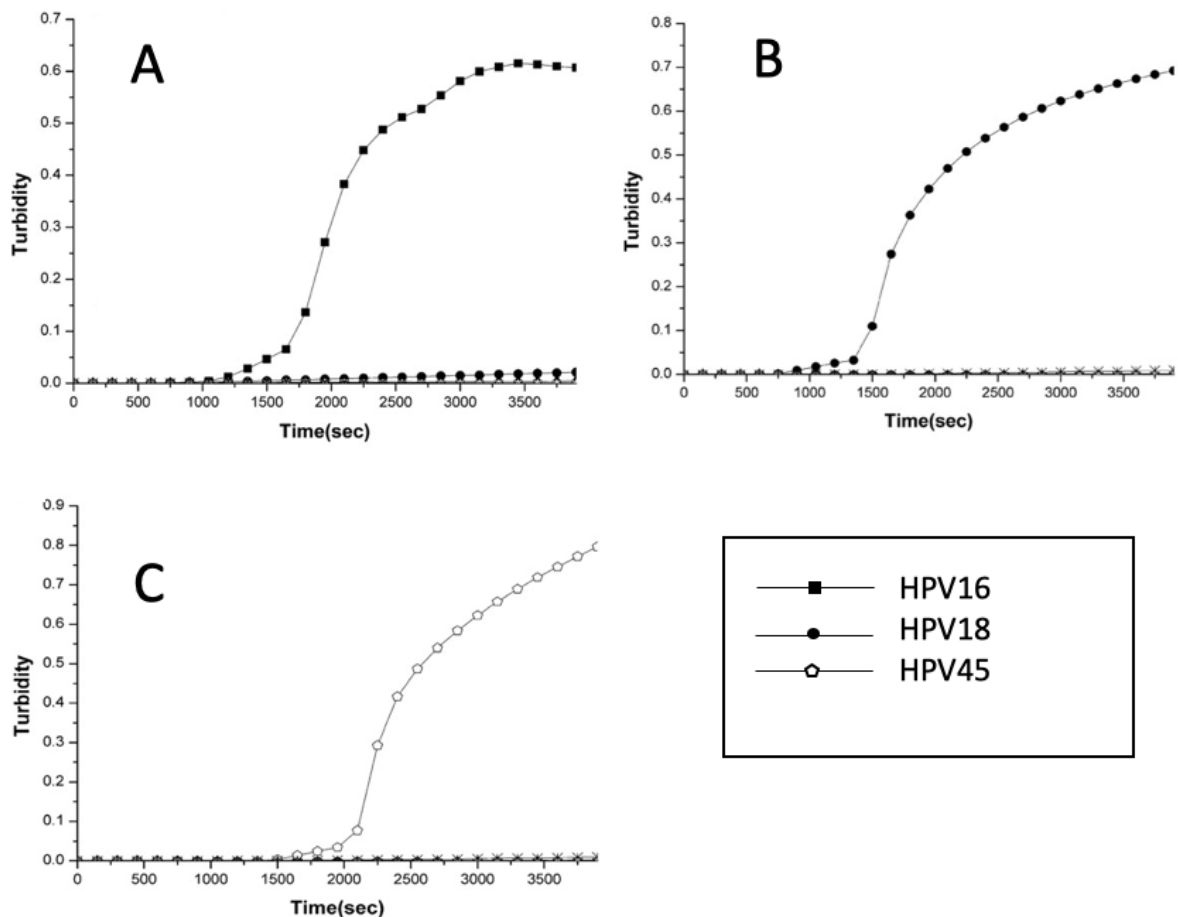
A. Spécificité de la technique LAMP

Pour déterminer la spécificité de la méthode LAMP, une série d'expériences a été effectuée avec différents ADN positifs pour HVP en présence des amorces à tester :

- (A) : ADN d'échantillons positifs pour HPV16, pour HPV18 ou pour HPV45 en présence des amorces HPV16
- (B) ADN d'échantillons positifs pour HPV16, pour HPV18 ou pour HPV45 en présence des amorces HPV18
- (C) ADN d'échantillons positifs pour HPV16, pour HPV18 ou pour HPV45 en présence des amorces HPV45

La détection de l'amplification est effectuée par mesure de turbidité.

Remarque : les courbes représentatives d'un résultat négatif sont superposées et ne sont pas toutes visibles.



Source : adapté de Luo L, et coll. J Clin Microbiol. 2011. doi: 10.1128/JCM.00930-11.


B. Méthode de détection de la technique LAMP

Les ions Mg^{2+} jouent un rôle essentiel en tant que cofacteurs pour l'enzyme Bst polymérase.


Au cours de la LAMP, une grande quantité d'ions pyrophosphate (PPi) est générée. Ces ions PPi réagissent avec les ions Mg^{2+} présents dans la solution pour former des précipités de pyrophosphate de magnésium (PPi- Mg^{2+}). À mesure que la réaction LAMP progresse, la concentration en ions Mg^{2+} diminue progressivement en raison de leur utilisation dans la formation des précipités de PPi- Mg^{2+} .

Le trouble formé par ces précipités est visible à l'œil nu, mais l'ajout de bleu d'hydroxynaphtol (HNB) dans le milieu réactif apporte une meilleure visibilité du résultat. En effet, lorsque la concentration de Mg^{2+} diminue, la couleur de la solution contenant du HNB évolue progressivement du violet au bleu.

Contrôle de la révélation de la fin de la réaction au HNB.










<ul style="list-style-type: none">- Tube a : 8 mM Mg^{2+} ions sans dNTPs- Tube b : 8 mM Mg^{2+} ions avec dNTPs- Tube c : 0 mM Mg^{2+} ions sans dNTPs	
--	---

Réalisation de la LAMP en présence de HNB

<p>La LAMP est réalisée dans deux conditions :</p> <ul style="list-style-type: none">- Tube 1, avec ADN cible- Tube 2, sans ADN cible <p>Chaque tube contient des quantités adaptées de Bst polymérase, dNTPs, amorces spécifiques, Mg^{2+}.</p> <p>La réaction est effectuée à 60 °C.</p>	
--	---

Source : adapté de **Goto M, et coll.**. *Biotechniques*. 2009 doi: 10.2144/000113072. PMID: 19317660.

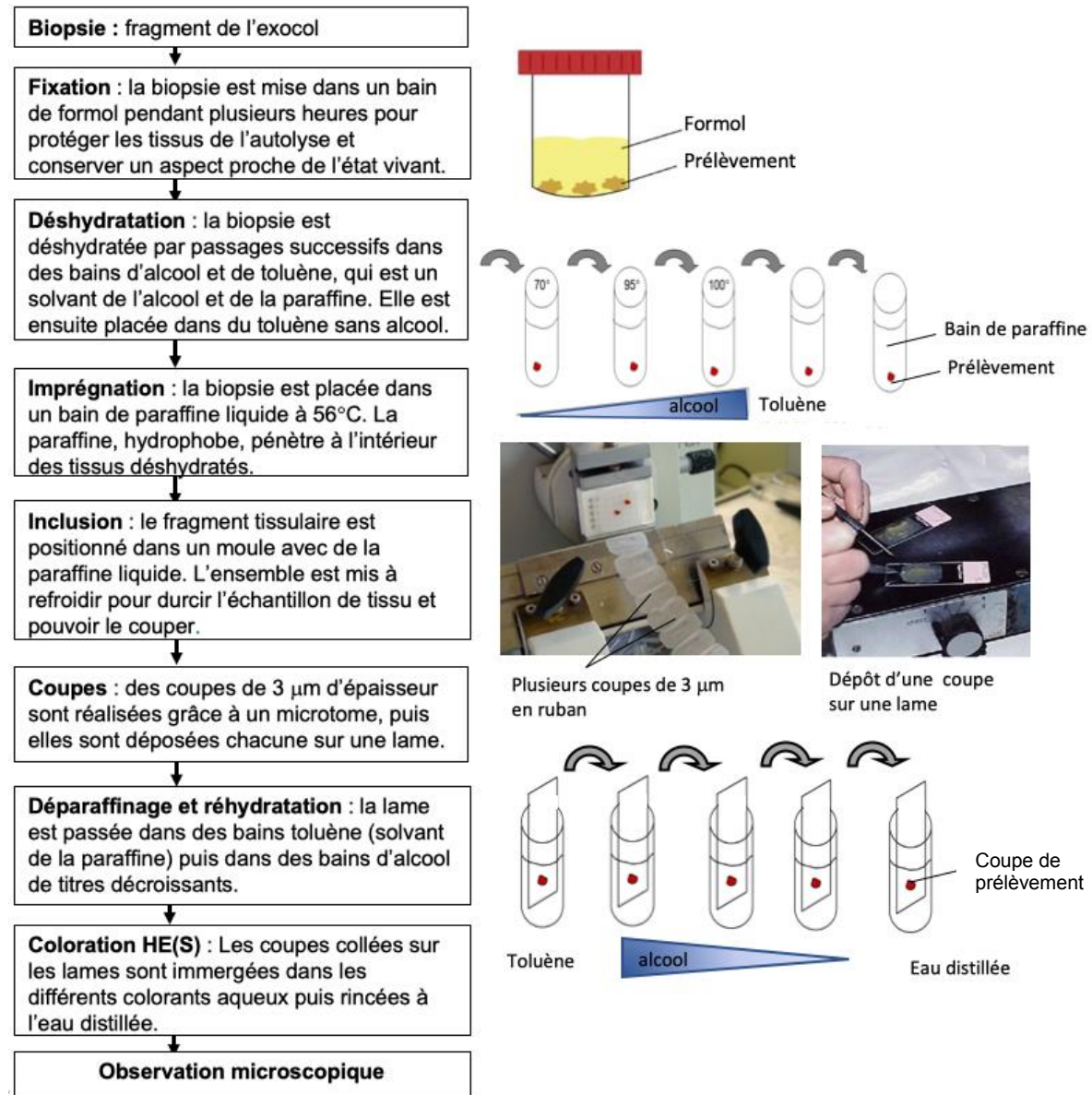
Document 8 : Résultats obtenus pour la patiente, par la technique LAMP

HPV16	HPV18	HPV31	HPV33	HPV45	HPV52	HPV58	Contrôle +	Contrôle -
								
Violet	Bleu	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet	Bleu	Violet

Source : adapté de **Luo L, et coll.**. *J Clin Microbiol*. 2011 doi: 10.1128/JCM.00930-11.

Document 9 : Traitement d'une biopsie en ACP

A. Les étapes de préparation d'une coupe histologique colorée



B. La coloration hématoxyline-éosine

La coloration HE (Hématoxyline- Éosine) est la coloration la plus utilisée pour le diagnostic médical. Les colorants utilisés sont l'hémalun et l'éosine.

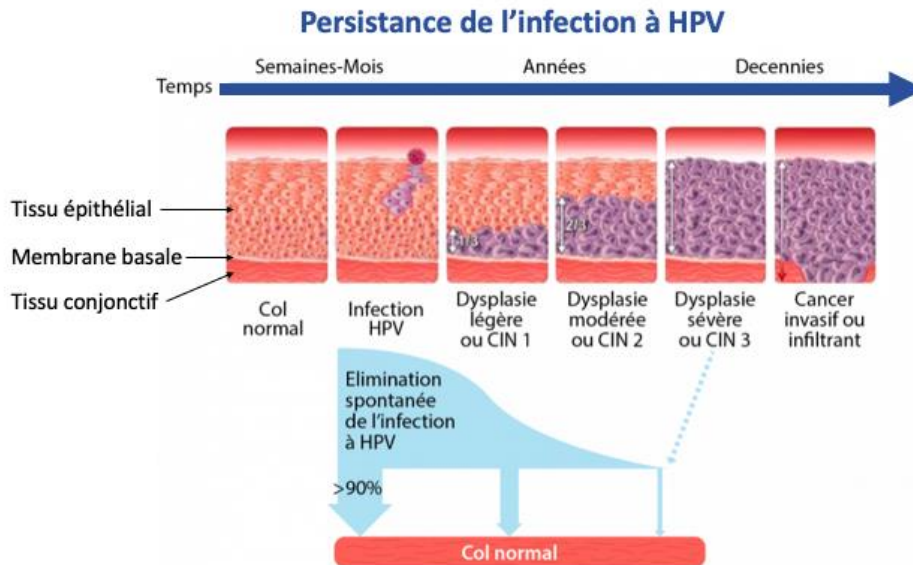
Le tableau ci-dessous indique les caractéristiques de chacun des colorants

Colorant	Couleur du colorant	Caractéristiques physico-chimique	Structures colorées
Hémalun	Bleu	Basique, hydrosoluble	Structures acides du noyau
Éosine	Rose	Acide, hydrosoluble	Structures basiques du noyau ou du cytoplasme

Document 10 : Histologie du col de l'utérus lors de l'infection par HPV

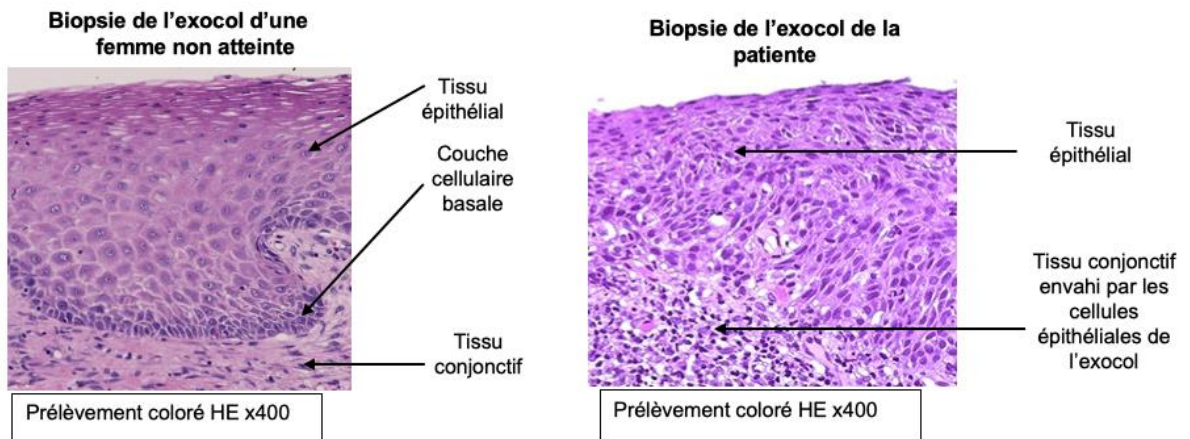
A. Évolution histologique de l'infection par HPV vers un cancer invasif du col de l'utérus

Une infection persistante par un papillomavirus humain à haut-risque (HPV-HR) est une condition nécessaire au développement du cancer du col de l'utérus.



Source : <https://medipath.fr/depistage/le-cancer-du-col-uterin/> consulté le 03/11/2023

B. Observation microscopique de la biopsie de l'exocol effectuée chez la patiente- Comparaison avec une biopsie normale, non infectée par HPV

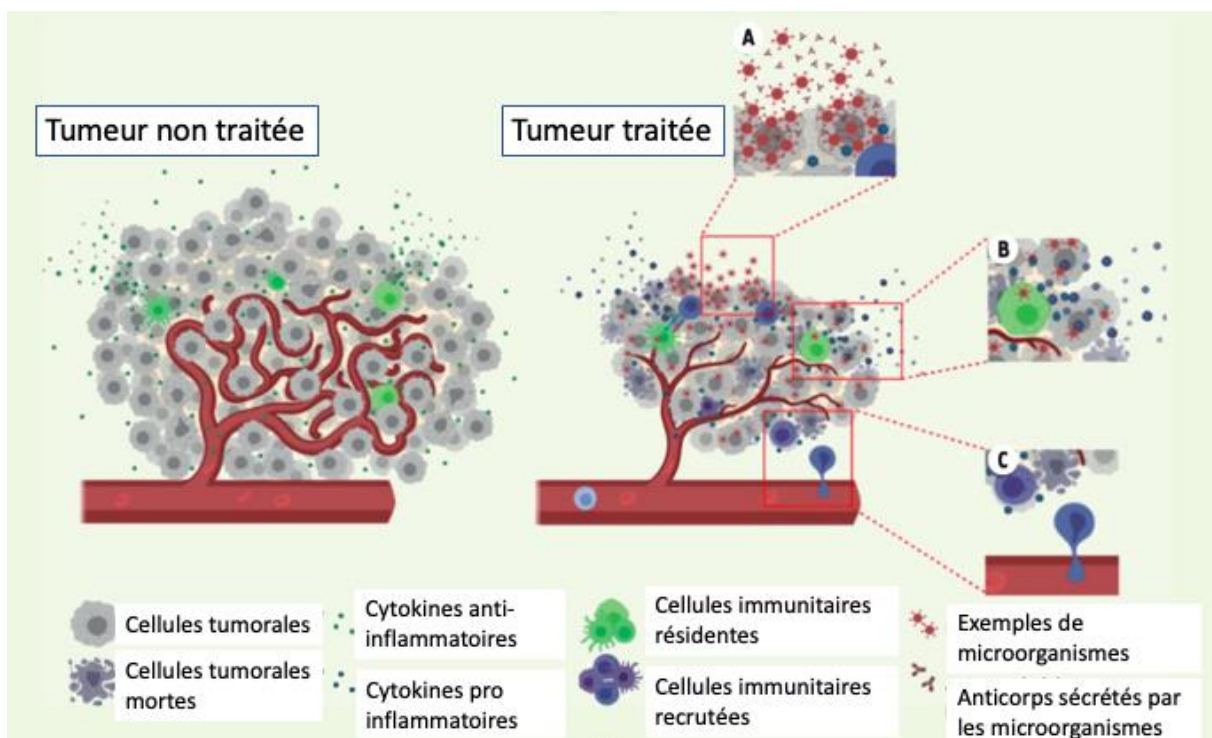


Source : d'après atlas numérique du centre international de recherche sur le cancer <https://doc-pedagogie.umontpellier.fr/medecine/histologieLV> et <https://webpath.med.utah.edu> consultés le 10/11/2023

Document 11 : Impact des microorganismes oncolytiques sur le microenvironnement d'une tumeur

Le traitement de tumeurs par des microorganismes oncolytiques repose sur différents mécanismes.

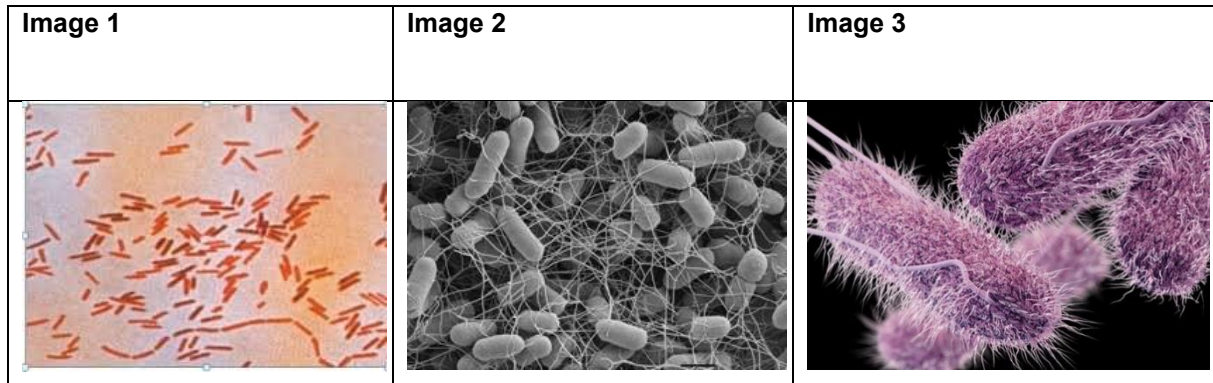
- Les microorganismes infectent les cellules tumorales et, par multiplication intracellulaire ou par accumulation, entraînent la destruction de la cellule tumorale-hôte. Certains microorganismes peuvent être génétiquement modifiés pour sécréter des anticorps afin d'augmenter l'efficacité de la destruction des tumeurs.
- La présence du microorganisme et des signaux de danger dans la tumeur stimulent les systèmes immunitaires inné et adaptatif, induisent le recrutement de cellules immunitaires au sein de la tumeur et potentialisent ainsi la réponse anti-tumorale.



Source : Lois Coënon et coll. médecine/sciences 2021. doi :10.1051/medsci/2020259

Document 12 : Images de *Salmonella Typhimurium*

Le document présente deux microphotographies obtenues à l'aide de deux microscopes différents et une « vue d'artiste » en image de synthèse.



Sources : Muhsin Özel, Gudrun Holland, Rolf Reissbrodt/RKI et <https://www.cdc.gov/orr/> consulté le 10/10/2023

Document 13 : Effet de l'infection par deux souches bactériennes sur des souris porteuses de tumeurs

Des souris porteuses de tumeur, réparties en 4 lots de 4 ou 5 souris, ont été infectées par injection intraveineuse de 2 souches bactériennes différentes :

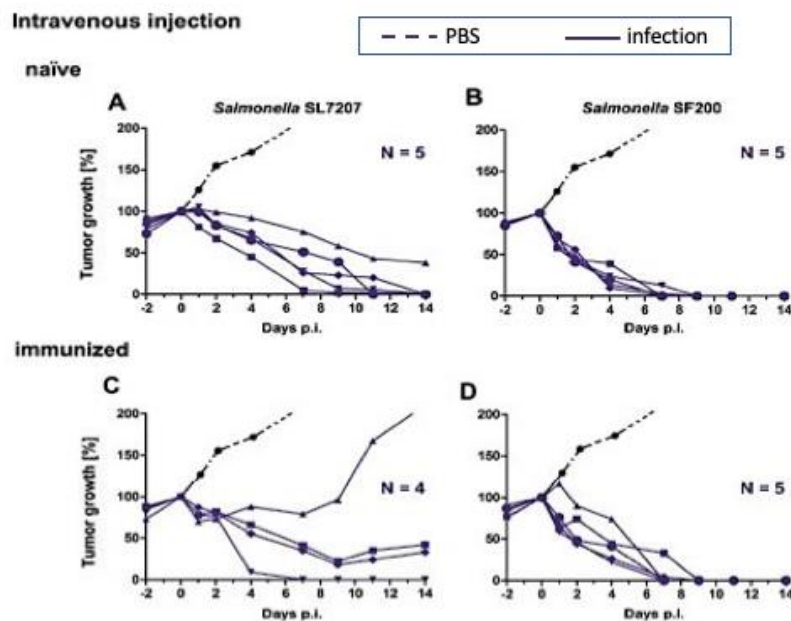
- *Salmonella* SL7207 : une souche de *S. Typhimurium* non modifiée génétiquement
- *Salmonella* SF200 : souche de *S. Typhimurium* modifiée génétiquement. Ce mutant possède des modifications au niveau du lipide A et de la synthèse de son flagelle.

Les lots de souris A et B sont des souris naïves qui n'ont jamais été en contact avec les souches bactériennes avant l'infection réalisée au cours de l'expérience.

Les lots de souris C et D ont été précédemment infectés par les souches de *Salmonella* de l'expérience.

Pour chaque souris, la taille de la tumeur est mesurée chaque jour et reportée sur un graphe ci-dessous : chaque courbe illustre la croissance tumorale pour une souris du lot.

Une souris porteuse de tumeur a été traitée par PBS, une solution isotonique non toxique pour les souris, sans être infectée par *Salmonella*. La courbe représentant la variation de la croissance tumorale en fonction du temps est reportée sur chaque graphe, en pointillés.

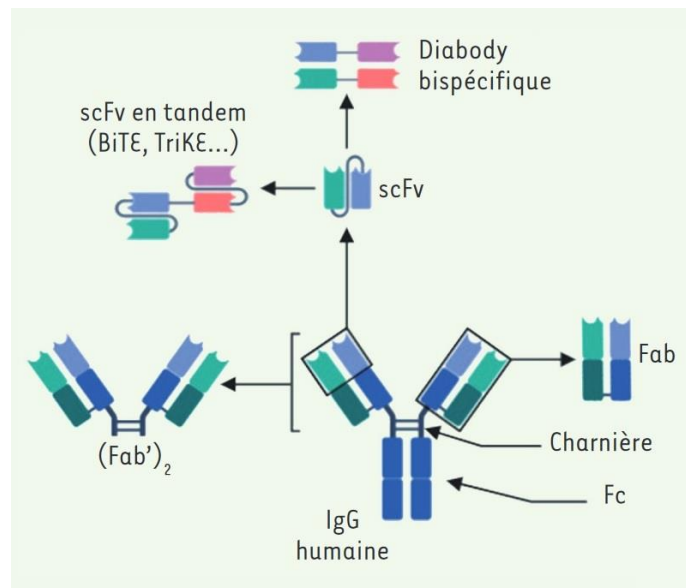


« Days p.i. » : nombre de jours après l'infection.

« N » indique le nombre de souris infectées par lot.

Source : Sebastian Felgner et coll. *Oncoimmunology*, 2018. doi:10.1080/2162402X.2017.1382791

Document 14 : Différents formats de fragments d'anticorps.



Le clivage de la région charnière permet d'obtenir les **fragments Fab** (*Fragment antigen binding*) et **F(ab)'₂**.

Le fragment scFv (*single-chain Fragment variable*) est obtenu en conservant uniquement les domaines variables, reliés entre eux par un lien peptidique.

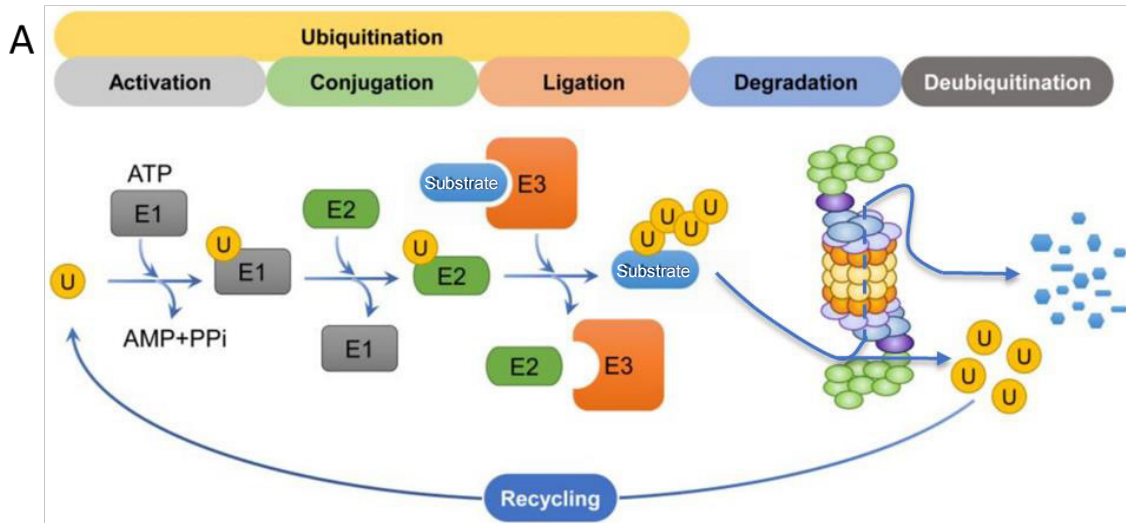
Il est possible d'associer, par génie génétique, deux scFv de deux anticorps différents pour obtenir une molécule bispécifique, comme les « **bispecific T cells engagers** » (BiTE). Ces protéines peuvent alors être produites par des microorganismes.

Un « *bispecific T cells engager* » est une protéine recombinante composée de deux scFv liés par un espaceur, l'un des scFv ciblant la molécule membranaire CD3* des lymphocytes T et l'autre ciblant un antigène membranaire exprimé par les cellules tumorales. La fixation de la protéine BiTE à ses deux ligands permet une reconnaissance de la cellule tumorale par le lymphocyte T et l'activation de ce dernier.

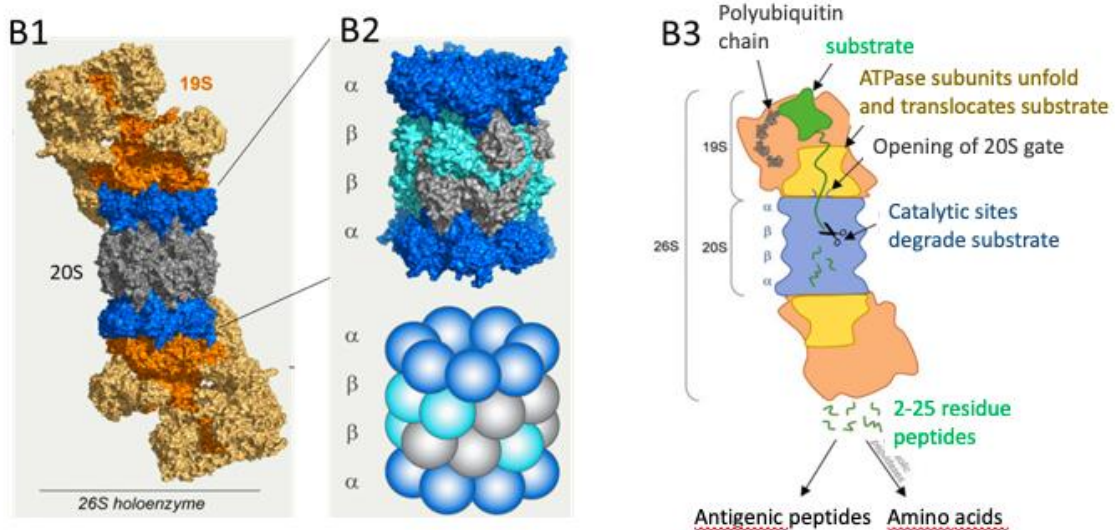
* : La protéine membranaire CD3 est associée au *T Cell Receptor* (TCR) du lymphocyte T.

Source : Loïs Coënon et coll. *médecine/sciences* 2021. doi :10.1051/medsci/2020259

Document 15 : Fonctionnement du système Ubiquitine-Protéasome



Source : adapté de H.H. Jang et coll., *Cells* 2023 <https://doi.org/10.3390/cells12141846>



Source : Smith and al. *Pharmacol Rev* 2019 <https://doi.org/10.1124/pr.117.015370>

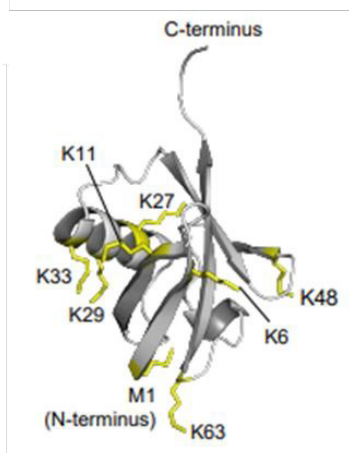
A. Représentation schématique des étapes du fonctionnement du système Ubiquitine-Protéasome. Les substrats à dégrader (= protéine cible = protéine à dégrader) sont étiquetés par une chaîne de polyubiquitine grâce à l'action successive de 3 enzymes E1, E2 et E3. Le protéasome reconnaît les chaînes de polyubiquitine et dégrade les protéines auxquelles elles sont fixées.

U=Ubiquitine

- C.** (B1) Le protéasome 26S est un macrocomplexe de 2,5MDa composé de deux sous-complexes, une particule cœur (20S) et deux particules régulatrices (19S).
 (B2) Le protéasome 20S est composé de 4 anneaux de 7 sous-unités : 2 anneaux de sous-unités α entourent 2 anneaux de sous-unités β . Les activités protéolytiques sont situées à l'intérieur du 20S et sont portées par 3 des 7 sous-unités β .
 (B3) La particule régulatrice (19S) assure la reconnaissance du substrat polyubiquitylé, le retrait et le recyclage de l'ubiquitine, le dépliement du substrat et son transfert dans la chambre catalytique du protéasome 20S où il sera dégradé.

Document 16 : Ubiquitine et ubiquitination

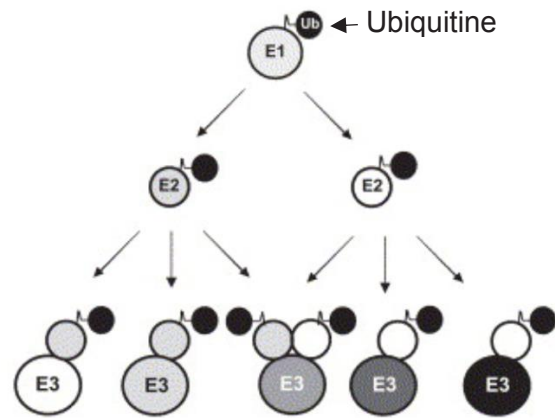
A- Structure tridimensionnelle et séquence protéique de l'ubiquitine humaine



(Nterm)₁ MQIVFKTLTGKTITLEVEPSDTI
 ENVKAKIQDKEGIPPDQQLIFAGKQLEDG
 RTLSDYNIQKESTLHLVLRRLGG₇₆ (Cterm)

Source: Veggiani et coll. Cells 2023.
<https://doi.org/10.3390/cells12162117>

B- Cascade d'ubiquitination



Il existe une ou deux enzymes E1 différentes, quelques dizaines d'enzymes E2 mais plusieurs centaines d'enzymes E3 différentes.

Source: Pickart and Eddins– Biochimica et biophysica acta Molecular Cell Research, 2004,
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2004.09.019>

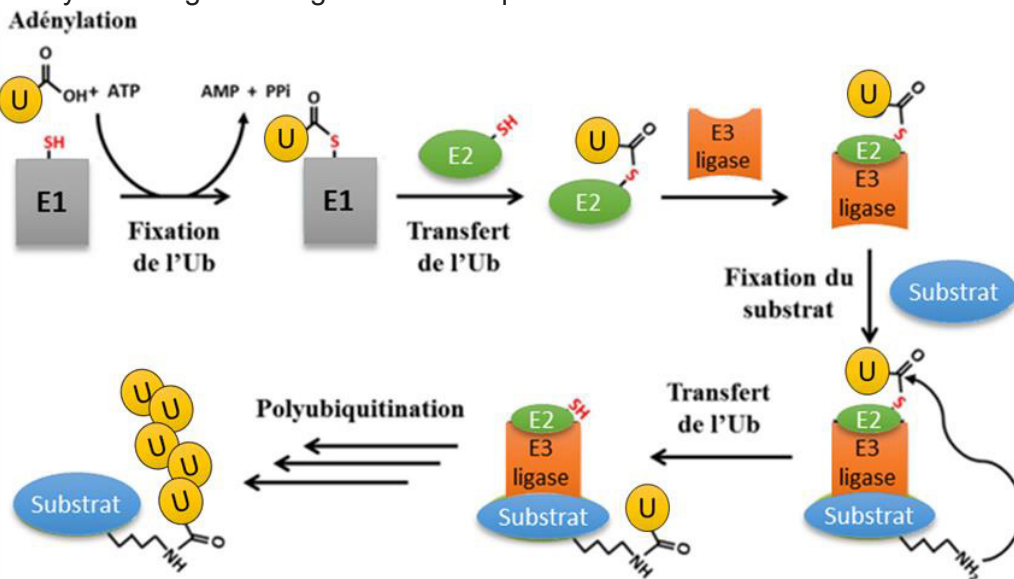
Code des acides aminés

G : Glycine - P : Proline - A : Alanine - V : Valine - L : Leucine - I : Isoleucine - M : Méthionine - C – Cystéine – F : Phénylalanine - Y : Tyrosine - W : Tryptophane - H : Histidine - K : Lysine - R : Arginine - Q : Glutamine – N : Asparagine - E : Acide glutamique – D : Acide aspartique - S : Sérine - T : Thréonine

C. Conjugaison de l'Ubiquitine au substrat

Cette réaction met en jeu l'action successives de 3 enzymes :

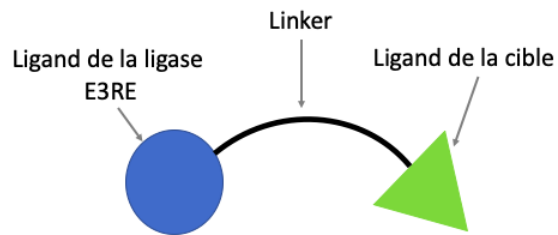
- l'enzyme d'activation de l'ubiquitine , E1
- l'enzyme de conjugaison de l'ubiquitine, E2
- l'enzyme E3-ligase de ligation de l'ubiquitine sur le substrat



Source: adapté de Maupin-Furlow, J. Nat. Rev. Microbiol. 2012 par Nicolas Kraupner

Document 17 : Le système PROTAC®

Représentation schématique d'une molécule PROTAC®



Les molécules PROTAC® sont constituées de 3 parties :

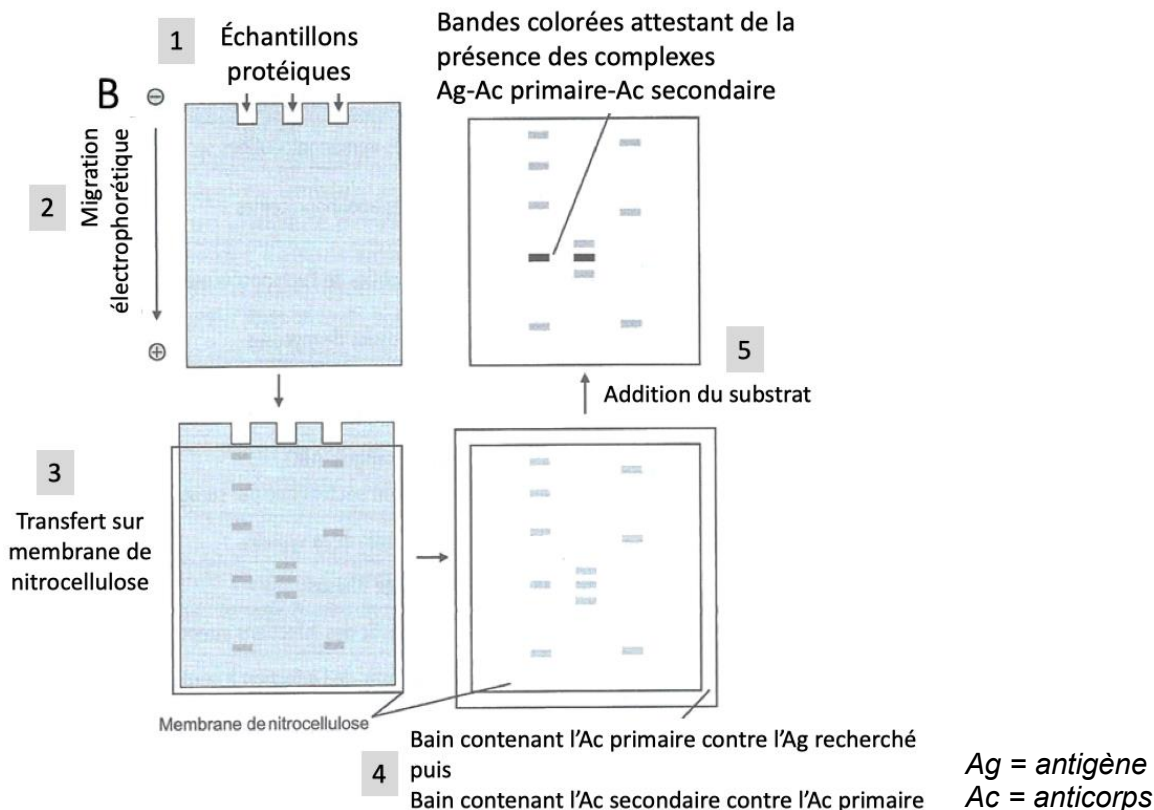
- une partie qui fixe la protéine cible à dégrader (ligand de la cible),
- un linker faisant le lien entre les 2 autres parties ,
- une partie qui fixe une ubiquitine ligase E3 (E3RE, *E3 recruiting element*).

Source : thèse de doctorat en pharmacie N. Kraupner, 2021

Document 18 : Étude de l'efficacité d'une PROTAC® ciblant la protéine HDAC3

Des cellules ont été traitées par différentes concentrations d'une molécule PROTAC® dirigée contre la protéine HDAC3. Les cellules ont ensuite été lysées pour en extraire les protéines. L'extrait protéique a été étudié par Western Blot.

A- Principe de la technique de Western Blot

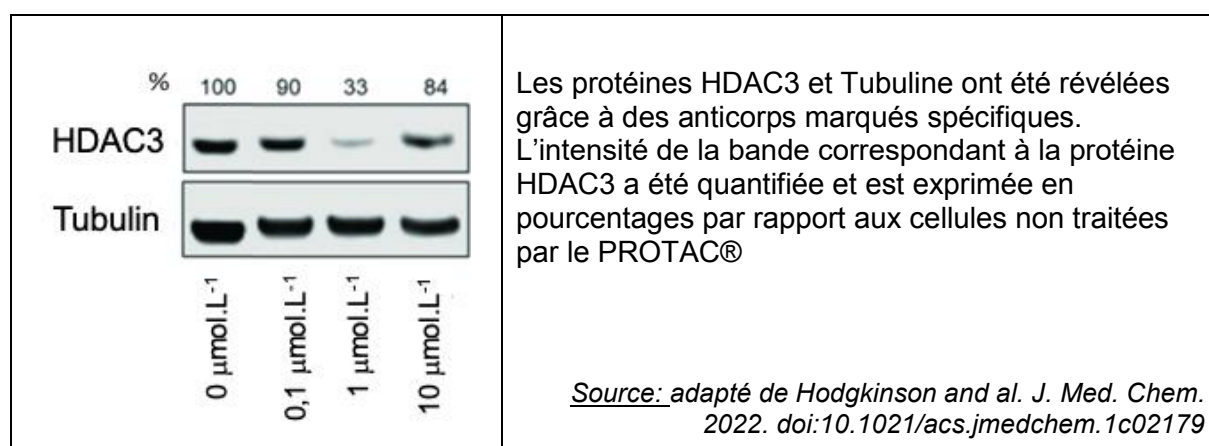


L'ensemble des protéines cellulaires (1) sont séparées par électrophorèse sur un gel (2) puis transférées sur une membrane de nitrocellulose ce qui conserve les distances de migration (3).

La membrane est incubée avec des anticorps primaires reconnaissant les protéines d'intérêt. Après lavage, la membrane est ensuite incubée avec des anticorps secondaires couplés à une enzyme, la peroxydase (4). Ces anticorps secondaires reconnaissent les anticorps primaires et permettent de révéler les bandes d'intérêt en présence de leur substrat (5).

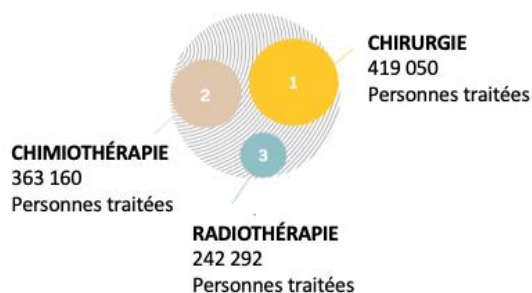
Source : Immunologie, E. Espinosa et P. Chillet, Ellipses

B- Résultats expérimentaux



Document 19 : Traitements conventionnels et émergents du cancer

A- Répartition des traitements anticancéreux en 2023



À côté de ces traitements conventionnels émergent les nouveaux traitements d'immunothérapie spécifique : en 2021, 62633 patients ont été traités par des inhibiteurs de points de contrôle (+21% par rapport à 2020) et 505 par des cellules CAR-T (+36% par rapport à 2020)

Source : *Panorama des cancers en France, INCa, 2023*

B- Traitement du cancer de l'utérus

La chirurgie, la radiothérapie externe, la radiochimiothérapie concomitante (suivies ou non d'une curiethérapie) et les traitements médicamenteux (chimiothérapie conventionnelle et/ou thérapies ciblées) sont les principaux traitements des cancers invasifs du col de l'utérus. Selon les cas, ils ont pour objectif de :

- supprimer la tumeur ou les métastases ou d'en réduire la taille ;
- ralentir le développement de la tumeur ou des métastases ;
- réduire le risque de récurrence ;
- prévenir et traiter les symptômes et les complications engendrés par la maladie et les traitements pour assurer la meilleure qualité de vie possible.

Source : *le traitement des cancers invasifs du col de l'utérus, INCa édition*

C- Radiochimiothérapie du cancer du col de l'utérus

La radiochimiothérapie concomitante associe une radiothérapie externe, une chimiothérapie et une curiethérapie.

- **La radiothérapie utilise des rayonnements ionisants pour détruire les cellules cancéreuses.** Elle consiste à diriger précisément ces rayonnements (appelés aussi rayons ou radiations) sur les cellules cancéreuses, tout en préservant le mieux possible les tissus sains et les organes avoisinants, dits « organes à risque ».
- **La curiethérapie est une technique de radiothérapie qui consiste à placer des éléments radioactifs** (de l'iridium ou du césium) directement à l'intérieur de l'organisme, soit au contact de la tumeur, soit dans la tumeur elle-même.
- **La chimiothérapie repose sur l'administration de médicaments anticancéreux.** Elle est aussi appelée traitement médical. C'est un traitement général (appelé aussi traitement systémique) qui agit dans l'ensemble du corps. Cela permet d'atteindre les cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation, même si elles sont isolées et n'ont pas été détectées lors du diagnostic. Les médicaments de chimiothérapie détruisent les cellules cancéreuses en agissant sur leurs mécanismes de division.
Autre forme de traitement médical, les thérapies ciblées ne sont actuellement utilisées, dans le cas des tumeurs du col de l'utérus, que dans le cadre d'essais cliniques.

Cette association a pour but de renforcer l'action respective de chacun des traitements. La chimiothérapie a sa propre action de destruction des cellules cancéreuses, mais elle les rend aussi plus sensibles aux rayonnements. L'action combinée de la radiothérapie externe et de la curiethérapie permet de cibler précisément la tumeur et de délivrer la dose de rayonnements optimale pour à la fois détruire le tissu cancéreux et préserver le mieux possible les tissus et les organes sains situés à proximité.

Source : <https://www.e-cancer.fr/> consulté le 31/10/23