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 DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous-épreuve de Biologie Cellulaire

SESSION 2014

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00

COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

Dictionnaire français/anglais, ..., 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.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

La mitochondrie : un organite singulier

Les mitochondries sont des organites présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception de certains parasites unicellulaires (*Trichomonas*). Visualisées en microscopie photonique dès la fin du XIX^{ème} siècle, leur rôle premier a été mis en évidence au cours des années 40 : les mitochondries assurent la respiration cellulaire et fournissent l'énergie permettant la production de 95 % de l'ATP des cellules.
Depuis, il a été prouvé que les mitochondries jouaient un rôle dans d'autres processus cellulaires dont l'apoptose.
De par leur structure, leur origine endosymbiotique et leurs fonctions variées, les mitochondries sont sans aucun doute les organites les plus singuliers de la cellule.

1. Structure et renouvellement des mitochondries (6 points)

1.1. Proposer un schéma structural annoté d'une mitochondrie en localisant la chaîne respiratoire.

L'étude du transport des protons à partir de l'espace intermembranaire a permis d'obtenir le résultat présenté dans le **document 1**.

1.2. A partir de l'analyse de ce résultat, déduire le mode de transport des protons au niveau de la membrane interne mitochondriale.

1.3. Rappeler le rôle du transport des protons dans la respiration cellulaire et préciser le complexe membranaire impliqué.

La mitochondrie, comme toute structure cellulaire, est soumise à renouvellement. Les cellules eucaryotes utilisent deux moyens principaux pour éliminer les organites et molécules devenus inutiles ou nocifs : l'autophagie et le système ubiquitine-protéasome.

1.4. Expliquer le fonctionnement du système ubiquitine-protéasome.

1.5. Indiquer si les mitochondries peuvent être éliminées par le système ubiquitine-protéasome. Justifier la réponse.

Le **document 2** schématise l'autophagie d'une mitochondrie.

1.6. Annoter le **document 2** en reportant les lettres A, B, C, D, et E sur la copie.

1.7. Expliquer chacune des trois étapes.

2. Obtention et purification de la fraction mitochondriale (9 points)

Les mitochondries sont le siège de la respiration cellulaire. Afin d'étudier ce métabolisme, on souhaite purifier des mitochondries à partir d'une lignée de cellules épithéliales pulmonaires MRC-5. La fiche technique est présentée dans le **document 3**.

2.1. Etude de la lignée MRC5.

2.1.1. Répertorier les mesures de prévention liées aux risques de l'utilisation de cette lignée ; justifier.

2.1.2. Préciser, à l'aide du **document 3,** si la lignée MRC5 est continue. Justifier la réponse.

2.1.3. Indiquer les principaux rôles du sérum de veau fœtal.

2.1.4. Justifier le choix d'une stérilisation par filtration pour le sérum de veau fœtal.

Base Nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

2.2. Entretien de la lignée MRC-5.

2.2.1. Décrire et justifier la morphologie des cellules observées sur la photographie du **document 3**.

2.2.2. A l'aide du **document 3**, expliquer le rôle de l'étape 2 du protocole.

2.2.3. Expliquer les rôles de la trypsine et de l'EDTA utilisés dans l'étape 3 du **document 3**. Préciser l'intérêt de incubation à 37°C.

2.2.4. Indiquer pourquoi l'étape 3 (**document 3**) ne peut excéder 15 minutes.

2.3. Conservation de la lignée du MRC-5 par congélation.

2.3.1. Citer et expliquer l'origine des altérations subies par les cellules lors de leur congélation.

2.3.2. Indiquer l'intérêt du DMSO dans le processus de congélation.

2.4. Obtention d'une suspension de mitochondries.

Le principe de l'obtention de fractions cellulaires est détaillé dans le **document 4**.

2.4.1. Nommer la technique permettant l'obtention des fractions cellulaires.

2.4.2. Dégager l'utilité de l'étape 1 de ce protocole.

2.4.3. Citer une autre technique possible pour réaliser cette étape.

2.4.4. A l'aide du **document 5**, identifier la fraction dans laquelle se trouvent les mitochondries.

2.4.5. Indiquer la composition exacte de la fraction identifiée précédemment. Justifier la réponse.

Afin de purifier la suspension de mitochondries, la fraction d'intérêt est centrifugée sur un gradient de densité continu de saccharose.

2.4.6. Expliquer le principe de cette technique.

2.4.7. A l'aide du **document 6**, représenter le tube après centrifugation en localisant les différents organites séparés et le gradient de concentration.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

3. Mitochondries et apoptose (3 points)

L'étude des mitochondries a permis de préciser les mécanismes cellulaires de l'apoptose.

3.1. Définir l'apoptose.

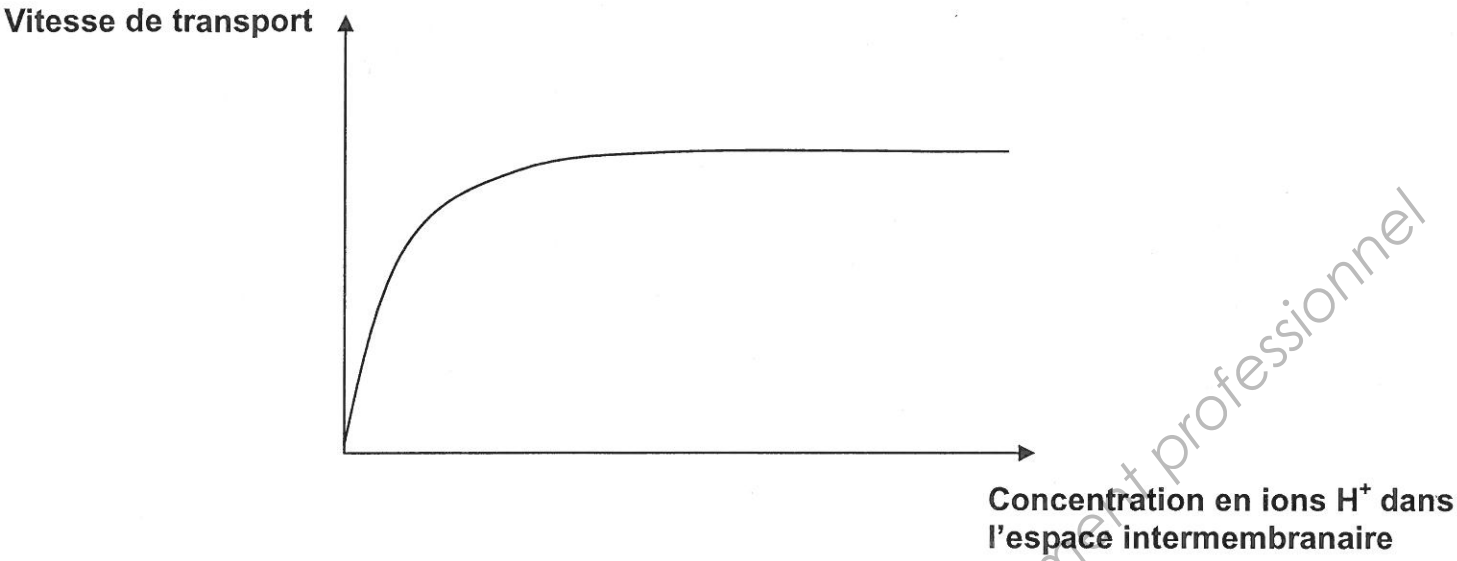
3.2. Citer deux exemples de facteurs pouvant déclencher l'apoptose cellulaire.

3.3. À partir du schéma présenté dans le **document 7**, décrire les étapes de la voie intrinsèque de l'apoptose et indiquer les noms des molécules A, B et C.

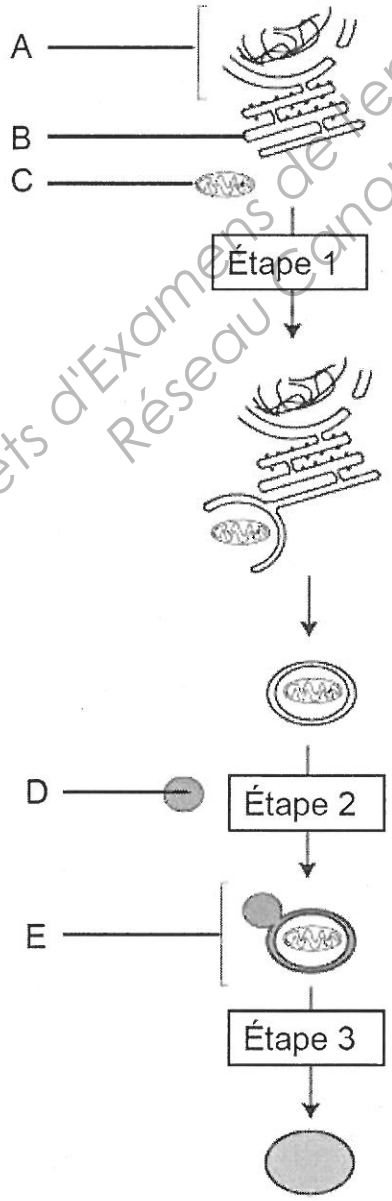
Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points) Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 1 **Etude du transport des protons au niveau de la mitochondrie**



Document 2 **Mécanisme de l'autophagie d'une mitochondrie.**



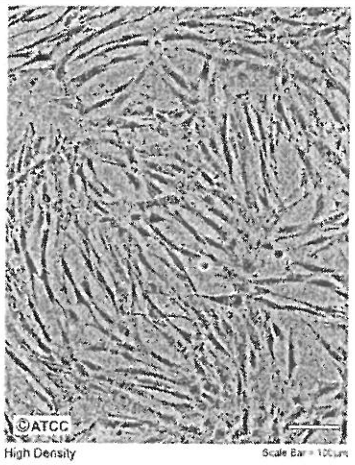
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 3 Fiche technique de la lignée cellulaire MRC-5

Organism:	*Homo sapiens* (human) Male – Caucasian 14 weeks gestation
Source:	**Organ:** lung **Cell type:** fibroblast **Disease:** normal

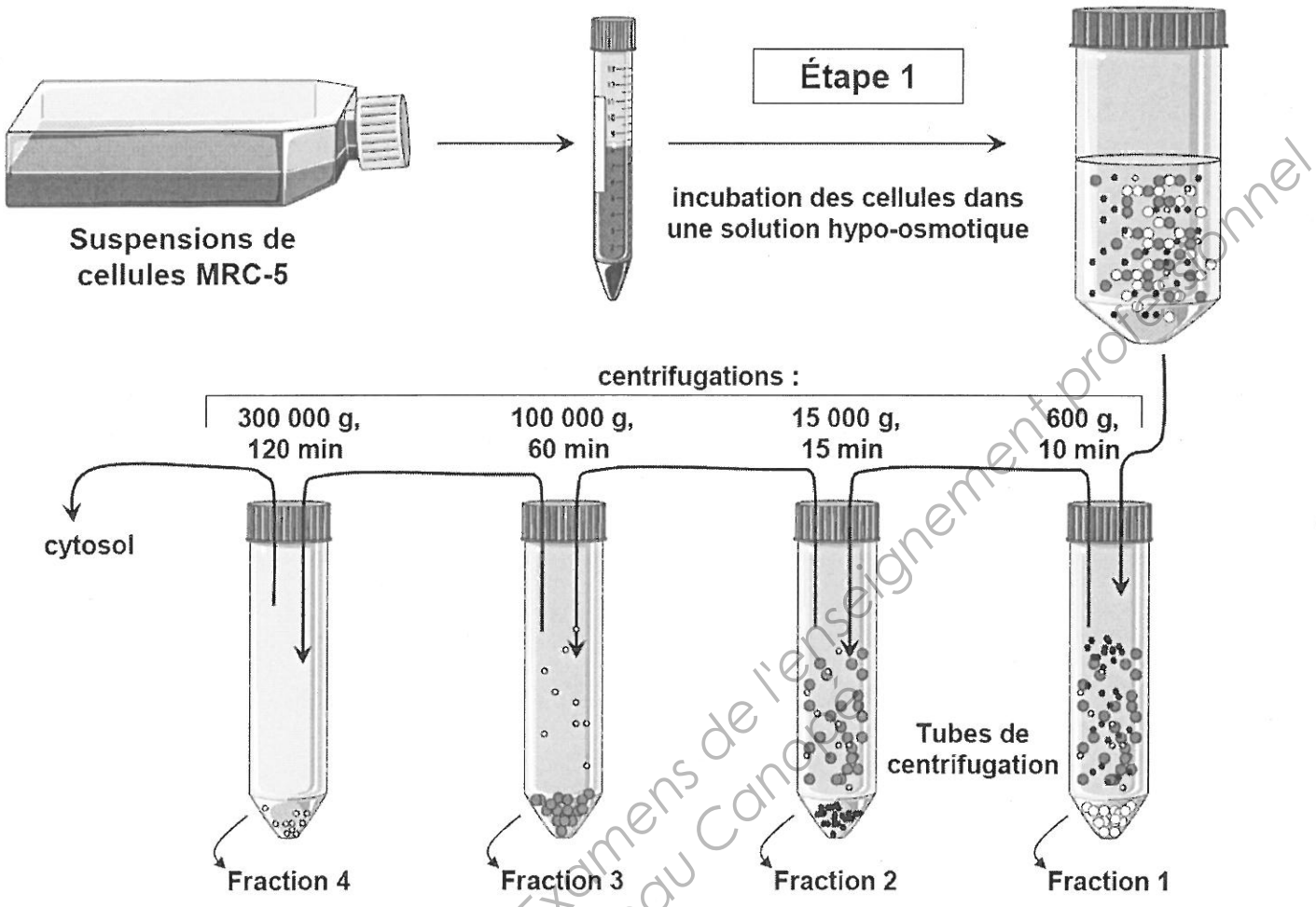
Comments:	The MRC-5 cell line was derived from normal lung tissue of 14-week-old-male fetus by J.P. Jacobs in September of 1966. The cell are capable of 42 to 46 population doublings before the onset of senescence. **ATCC complete growth medium:** the base medium for this cell line is ATCC-formulated Eagle's Minimum Essential Medium, catalog No. 30-2003. To make the complete growth medium, add the following components to the base medium: fetal bovine serum to a final concentration of 10%. **Temperature:** 37.0°C

Propagation: **Subculturing:**	**Protocol:** 1- Remove and discard culture medium. 2- Briefly rinse the cell layer with 0.25% (w/v) Trypsin-0.53 mM EDTA solution to remove all traces of serum which contains trypsin inhibitor. 3- Add 2.0 to 3.0 mL of Trypsin-EDTA solution to flask and observe cells under an inverted microscope until cell layer is dispersed (usually within 5 to 15 minutes). Note: To avoid clumping do not agitate the cells by hitting or shaking the flask while waiting for the cells to detach. Cells that are difficult to detach may be placed at 37°C to facilitate dispersal. 4- Add 6.0 to 8.0 mL of complete growth medium and aspirate cells by gently pipetting. 5- Add appropriate aliquots of the cell suspension to new culture vessels. 6- Incubate cultures at 37°C. **Subcultivation ratio:** A subcultivation ratio of 1:2 to 1:5 is recommended.
Preservation:	**Medium renewal:** 1 to 2 times per week **Freeze medium:** Complete growth medium 95%; DMSO 5%. **Storage temperature:** liquid nitrogen vapor temperature.



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 4 **Protocole de séparation des constituants cellulaires à partir d'une suspension de cellules MRC-5**



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

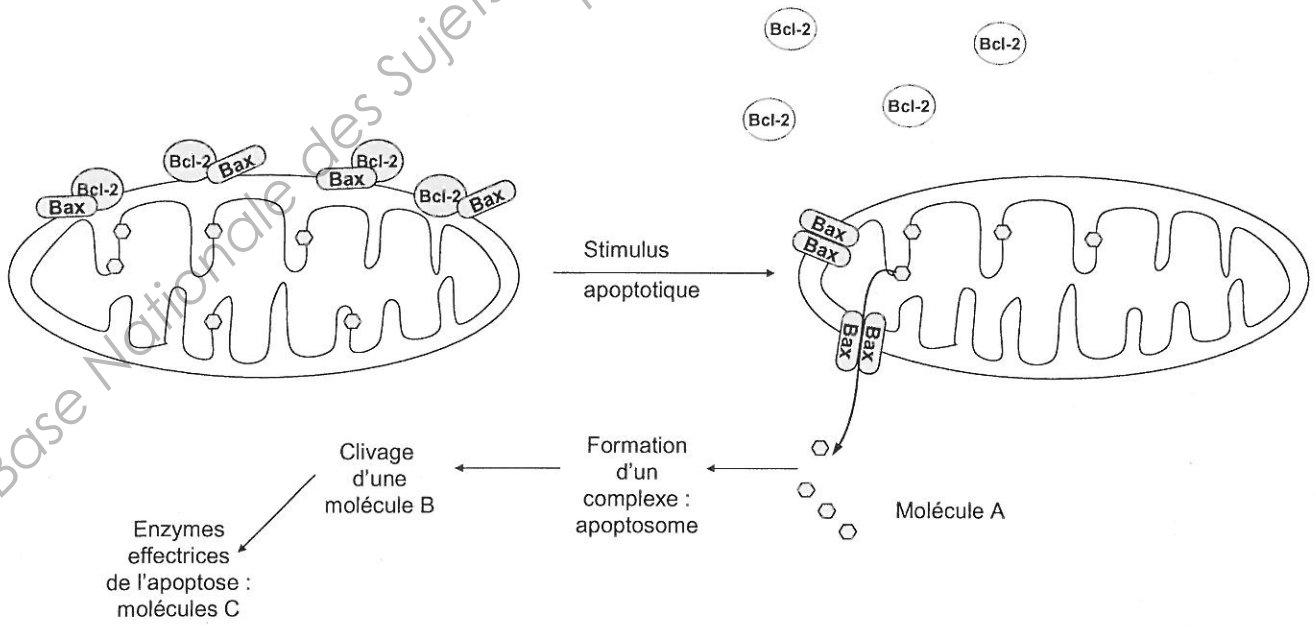
Document 5 **Vitesse et temps permettant la séparation des constituants cellulaires**

Organite	Accélération (g)	Temps de centrifugation (min)
Noyau cellulaire	400 à 600	10
Mitochondrie	5 000 à 15 000	10
Lysosome	8 000 à 15 000	10
Peroxysome	8 000 à 15 000	10
Membrane plasmique	80 000 à 100 000	45
Fragment du réticulum	80 000 à 100 000	45
Petites vésicules	90 000 à 100 000	45
Fraction microsomale	95 000 à 100 000	45
Ribosomes	250 000 à 300 000	90
Macromolécules	250 000 à 300 000	90

Document 6 **Densité des différents organites cellulaires**

Organite	Densité en g/cm^3
Mitochondrie	1,18
Lysosome	1,12
Peroxysome	1,20
Membrane plasmique	1,22
Fragment du réticulum endoplasmique rugueux	1,30
Vésicule de Golgi	1,24
Ribosomes	1,41

Document 7 **Schéma des principales étapes de la voie intrinsèque de l'apoptose**



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé