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 :
formav.co/explorer

BTS BIORP • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioRP

Biologie des procaryotes et des eucaryotes - Sous-épreuve de Biologie Cellulaire

Session 2012 • Code sujet : **BOE4BC** • Durée : **2h00** • Coefficient : **1**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Obtention des souris transgéniques GAD65-eGFP (7 questions) **Page 3**

2. Prolifération et différenciation (6 questions) **Page 6**

3. Étude de la migration neuronale ex vivo (8 questions) **Page 9**

4. Apoptose des neurones sous-utilisés ou non utilisés (2 questions) **Page 12**

5. Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 13**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbiorp.fr/assets/annales/bts-biorp/E4 - Expertise technologique pour la recherche au laboratoire de biologie/2012/BTS BioRP - E4 - Expertise technologique pour la recherche au laboratoire de biologie - Session 2012 - 3-Sujet.pdf

1. Obtention des souris transgéniques GAD65-eGFP

L'étude porte sur des souris transgéniques exprimant l'eGFP dans le cytoplasme des neurones GABAergiques, sous le contrôle du promoteur GAD. Les documents présentent la règle bioéthique des 3 R ainsi qu'un protocole d'histologie et d'observation par fluorescence.

Question 1.1. Justifier le choix du promoteur GAD pour l'obtention d'animaux transgéniques adaptés à cette étude.

Le promoteur GAD commande normalement l'expression du gène codant la glutamate décarboxylase, enzyme nécessaire à la synthèse du GABA. Son activité caractérise donc les cellules qui produisent ce neuromédiateur. Placé en amont du gène eGFP, il dirige l'expression de la protéine fluorescente dans les neurones GABAergiques plutôt que dans toutes les cellules. Ces neurones peuvent ainsi être repérés et suivis au cours de l'organogenèse du système nerveux.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le promoteur GAD dirige l'expression de l'eGFP dans les neurones GABAergiques et permet de les repérer spécifiquement.

Question 1.2. Indiquer la correspondance entre les trois termes anglo-saxons de la règle des 3 R et les recommandations A, B et C du document 1.

Terme anglais	Recommandation	Principe
Replace	A	Remplacer l'animal par une méthode alternative ou choisir une espèce moins sensible.
Refine	B	Améliorer les techniques afin de limiter la douleur et le stress.
Reduce	C	Réduire le nombre d'animaux au minimum nécessaire.

La recommandation A concerne la substitution, B l'amélioration des procédures et C la réduction des effectifs. La correspondance découle directement des principes décrits dans le document 1.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Replace : A ; Refine : B ; Reduce : C, selon les principes de substitution, d'amélioration et de réduction.

Question 1.3. Citer deux méthodes classiques d'obtention de souris transgéniques.

Une première méthode consiste à injecter le transgène dans le pronoyau d'un zygote fécondé, puis à transférer l'embryon chez une femelle porteuse. Une seconde consiste à modifier génétiquement des cellules souches embryonnaires, puis à les introduire dans un blastocyste. Les animaux chimères obtenus sont ensuite croisés afin d'établir une lignée transmettant le transgène à sa descendance.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Micro-injection pronucléaire dans un zygote ; modification de cellules souches embryonnaires puis injection dans un blastocyste.

Question 1.4. Indiquer le rôle du paraformaldéhyde et du DAPI dans le protocole présenté.

Le protocole utilise le paraformaldéhyde pour fixer les cerveaux avant la réalisation des coupes. Cette fixation stabilise les constituants cellulaires et préserve l'organisation du tissu. Le DAPI est ajouté ensuite comme contre-colorant fluorescent. Il se lie à l'ADN et marque les noyaux, ce qui permet de visualiser les noyaux dans les coupes au microscope à fluorescence.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Paraformaldéhyde : fixation et préservation de l'organisation tissulaire. DAPI : marquage fluorescent de l'ADN des noyaux.

Question 1.5. Définir les propriétés spectrales d'un fluorochrome.

Les propriétés spectrales d'un fluorochrome correspondent aux longueurs d'onde qu'il absorbe pour être excité et à celles qu'il émet ensuite sous forme de fluorescence. Elles sont décrites par un spectre d'excitation et un spectre d'émission, chacun ayant un maximum. L'émission se fait généralement à une longueur d'onde supérieure à celle de l'excitation. Ces caractéristiques permettent de choisir les filtres adaptés à son observation.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Un fluorochrome est défini par ses spectres d'excitation et d'émission, caractérisés par des longueurs d'onde propres.

Question 1.6. Préciser l'intérêt de l'observation des deux types de fluorescence, eGFP et DAPI.

Les deux marquages renseignent sur des éléments différents de la coupe :

- L'eGFP, présente dans le cytoplasme des neurones GABAergiques, révèle leur présence et leur distribution.
- Le DAPI marque les noyaux des cellules et situe les neurones fluorescents dans le tissu.

La comparaison des signaux permet donc de repérer les cellules exprimant l'eGFP parmi l'ensemble des cellules observées.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'eGFP repère les neurones GABAergiques ; le DAPI marque les noyaux et les situe dans le tissu cérébral.

Question 1.7. Justifier l’utilisation de deux couples de filtres lors des observations.

Chaque fluorochrome doit être observé avec un couple de filtres adapté à ses longueurs d’onde d’excitation et d’émission. Le couple 350 nm en excitation et 460 nm en émission sélectionne le signal du DAPI. Le couple 485 nm en excitation et 525 nm en émission sélectionne celui de l’eGFP. Ces deux réglages permettent de distinguer les signaux et de limiter leur chevauchement lors des observations.

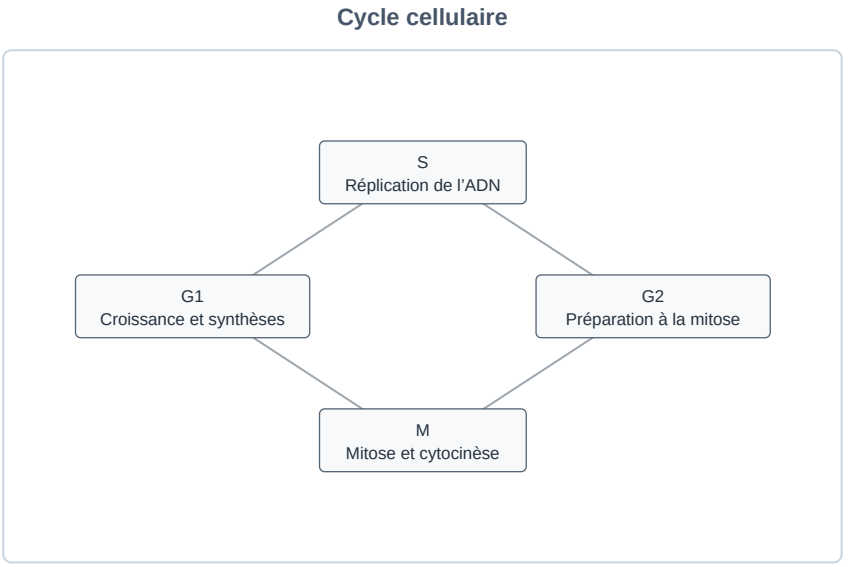
> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> DAPI : excitation à 350 nm et émission à 460 nm ; eGFP : excitation à 485 nm et émission à 525 nm.

2. Prolifération et différenciation

Cette partie aborde les phases du cycle cellulaire et leur régulation par le MPF. Elle étudie aussi la transduction du signal du NGF dans les neurones via TrkA et demande de représenter le PIP2, substrat de la phospholipase C.

Question 2.1. Réaliser un schéma du cycle cellulaire présentant l'enchaînement des différentes phases et préciser brièvement le rôle de chaque phase.

Le cycle cellulaire s'enchaîne ainsi : G_1 → S → G_2 → M. En G_1, la cellule croît et synthétise des constituants. En phase S, elle réplique son ADN. En G_2, elle poursuit sa croissance et se prépare à la mitose. La phase M comprend la séparation des chromosomes, puis la division du cytoplasme par cytocinèse.



Enchaînement des phases et rôle principal de chacune.

✓ RÉPONSE À RETENIR

G_1 : croissance → S : réplication de l'ADN → G_2 : préparation → M : mitose et cytocinèse.

MPF

Question 2.2.1. Donner la signification du sigle « MPF ».

MPF signifie *M-phase promoting factor*, c'est-à-dire facteur promoteur de la phase M. L'appellation historique *maturation-promoting factor* est également utilisée, car ce facteur a été identifié lors de la maturation des ovocytes. Dans le cycle cellulaire, son activité permet notamment le déclenchement de l'entrée en mitose.

✓ RÉPONSE À RETENIR

MPF : *M-phase promoting factor*, facteur promoteur de la phase M.

Question 2.2.2. Nommer les composants du couple de protéines qui régule les transitions de phase du cycle cellulaire.

Le MPF est un complexe protéique formé par la cycline B et la kinase dépendante des cyclines CDK1, également appelée Cdc2. La cycline B s'associe à CDK1 et en régule l'activité. Le complexe ainsi activé intervient notamment dans la transition de G_2 vers la mitose.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le MPF associe la cycline B et la kinase CDK1, aussi appelée Cdc2.

Question 2.2.3. Expliciter le type de réaction catalysée par ce couple de protéines.

CDK1 est une kinase sérine/thréonine. Au sein du MPF actif, elle transfère un groupement phosphate de l'ATP sur des résidus sérine ou thréonine de protéines cibles. Cette phosphorylation modifie l'activité de ces protéines et déclenche des événements caractéristiques de la mitose.

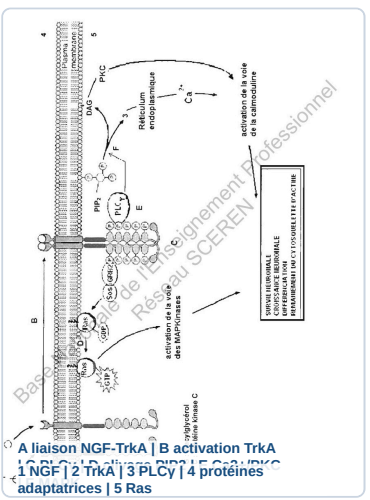
> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le MPF catalyse la phosphorylation ATP-dépendante de protéines cibles sur des résidus sérine ou thréonine.

NGF

Question 2.3.1. Reporter sur la copie les lettres de A à F représentant des étapes et les numéros de 1 à 5 du document 3, puis indiquer les légendes correspondantes.

Le NGF se lie à TrkA, provoquant l'activation du récepteur. Le signal se répartit ensuite entre la voie PLCγ, qui hydrolyse le PIP_2 et active notamment la voie Ca^{2+}/PKC, et la voie Ras-MAPK, qui transmet le signal jusqu'au noyau. Les numéros identifient les molécules ou protéines indiquées sur le document 3.

Document 3 : légendes de la signalisation du NGF



Base de travail de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

✓ RÉPONSE À RETENIR

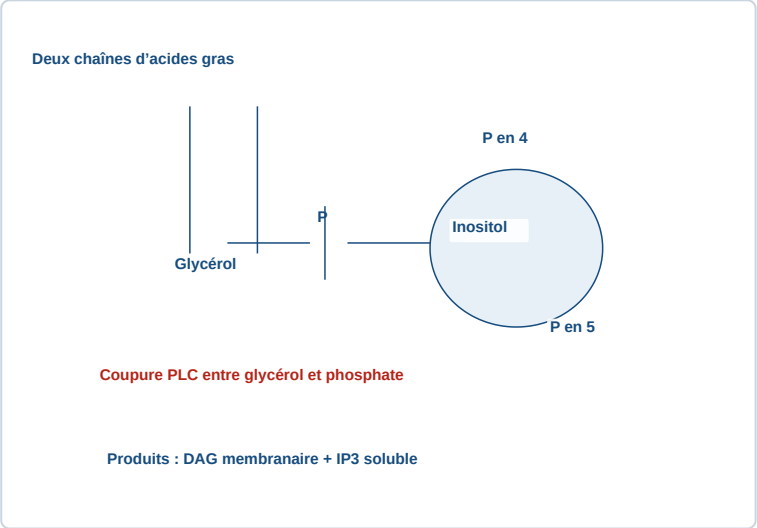
A : liaison NGF-TrkA ; B : activation de TrkA ; C : activation de PLCγ ; D : hydrolyse du PIP_2 ; E : voie Ca^{2+}/PKC ; F : voie MAPK. 1 : NGF ; 2 : TrkA ; 3 : PLCγ ; 4 : protéines adaptatrices ; 5 : Ras.

PIP2 et PLC

Question 2.3.2. Donner une représentation schématique et légendée du PIP2, puis localiser le site de coupure de la phospholipase C.

Le PIP_2, ou phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, comprend un glycérol portant deux chaînes d'acides gras, relié par un phosphate à un inositol. L'inositol porte deux phosphates supplémentaires en positions 4 et 5. La phospholipase C coupe la liaison entre le glycérol et le phosphate reliant la tête inositol au lipide. Le clivage forme du DAG membranaire et de l'IP_3 soluble.

Structure schématique du PIP2 et coupure par la PLC



✓ RÉPONSE À RETENIR

PIP_2 : diacylglycérol-phosphate-inositol-4,5-bisphosphate. Coupure PLC : entre le glycérol et le phosphate de la tête inositol.

3. Étude de la migration neuronale ex vivo

La migration de cellules cérébelleuses issues de souris transgéniques est étudiée dans une chambre à membrane poreuse FluoroBlok, avec ou sans BDNF dans le compartiment inférieur. Les documents décrivent le protocole, les mesures de fluorescence eGFP et DAPI, et les bases cytosquelettiques de la mobilité cellulaire.

Question 3.1. Indiquer ce que mesure la fluorescence dans le compartiment situé en dessous de la membrane en PET.

La membrane PET bloque les longueurs d'onde d'excitation et d'émission : le signal mesuré en dessous provient donc des cellules situées sur sa face inférieure, après franchissement des pores de 8 µm. La fluorescence eGFP renseigne sur les cellules GABAergiques marquées dans leur cytoplasme. La fluorescence DAPI renseigne sur les cellules dont le noyau est marqué. Dans les deux cas, le signal reflète la présence des cellules ayant migré, et non celles restées au-dessus de la membrane.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La fluorescence quantifie les cellules ayant traversé les pores et atteint la face inférieure de la membrane.

Question 3.2. Compléter le tableau du document 4b en donnant le titre des étapes I, II et III et l'objectif des étapes IIa, IIb, IIIa, IIIb et IIIc.

Étape	Titre proposé	Objectif
I	Prélèvement des cervelets	Prélever et conserver les tissus sur glace dans le milieu indiqué.
II	Préparation de la suspension cellulaire	IIa : dissocier le tissu par digestion enzymatique. IIb : récupérer les cellules par centrifugation et les remettre en suspension dans le milieu de culture.
III	Test de migration	IIIa : déposer les cellules et les laisser récupérer. IIIb : introduire le motogène dans le compartiment inférieur. IIIc : quantifier la fluorescence des cellules migrées.

Les trois étapes correspondent ainsi au prélèvement, à la préparation cellulaire, puis à la mesure de migration.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> I : prélèvement des cervelets. II : préparation de la suspension cellulaire. III : test de migration.

Question 3.3. Justifier l'ajout de pénicilline et de streptomycine.

La pénicilline et la streptomycine sont ajoutées au milieu de culture pour limiter la prolifération de bactéries contaminantes. Leur présence est utile après le prélèvement et pendant l'incubation des cellules dans un milieu nutritif, à 37 °C. La prévention de cette contamination protège la préparation cellulaire et évite que des bactéries ne perturbent la survie des cellules ou ne faussent la mesure de leur migration.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Elles limitent les contaminations bactériennes de la préparation pendant la culture.

Question 3.4. Donner la signification de l'expression « les résultats de mesure de fluorescence sont normalisés » utilisée dans le document 4c.

Normaliser les mesures consiste à les exprimer par rapport à une référence commune plutôt qu'en intensité brute. Dans le document 4c, le contrôle constitue cette référence et sa valeur est ramenée à environ 1. Les valeurs obtenues avec le BDNF sont donc relatives au contrôle. Cette présentation facilite la comparaison des deux conditions, mais ne fournit pas directement un nombre absolu de cellules migrées.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les mesures sont exprimées relativement au contrôle, utilisé comme référence.

Question 3.5. Indiquer la composition du puits contrôle et préciser son rôle.

1. Le compartiment supérieur contient la suspension cellulaire, comme dans la condition traitée.
2. Le compartiment inférieur contient le même milieu de culture, mais sans BDNF.

Les autres conditions du test restent identiques. Ce puits témoin permet de mesurer la migration spontanée des cellules en l'absence de motogène. La comparaison de sa fluorescence avec celle du puits contenant du BDNF révèle l'effet associé à l'ajout de ce facteur.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Contrôle : cellules en haut, milieu sans BDNF en bas. Il mesure la migration spontanée.

Question 3.6. Analyser les résultats des expériences A et B, puis conclure.

Dans l'expérience A, le signal eGFP normalisé est d'environ 1 pour le contrôle et près de 6 avec 10 ng/mL de BDNF. Dans l'expérience B, le signal DAPI passe d'environ 1 à environ 3. L'eGFP suit les cellules GABAergiques, tandis que le DAPI marque les noyaux des cellules. Les deux mesures augmentent avec le BDNF : celui-ci favorise la migration cellulaire et l'augmentation est particulièrement marquée pour le signal des neurones GABAergiques.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le BDNF augmente la migration cellulaire, avec une hausse particulièrement marquée du signal eGFP.

Question 3.7. Citer les trois types de filaments du cytosquelette en précisant la ou les protéines constitutives de chacun.

Les trois familles de filaments du cytosquelette se distinguent par leurs protéines constitutives. Les microfilaments sont formés d'actine. Les filaments intermédiaires sont constitués de protéines variables selon le type cellulaire, notamment des protéines de neurofilament dans les neurones. Les microtubules sont des assemblages de dimères de tubuline α et β. Ces réseaux contribuent à l'organisation et au fonctionnement de la cellule.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Microfilaments : actine. Filaments intermédiaires : protéines spécifiques, notamment neurofilaments dans les neurones. Microtubules : tubulines α et β.

Question 3.8. Indiquer lequel des trois types de filaments est majoritairement impliqué dans la mobilité cellulaire et préciser une propriété de ce filament.

Les microfilaments d'actine sont majoritairement impliqués dans la mobilité cellulaire. Leur polymérisation au bord avant participe à la formation des lamellipodes, tandis que l'interaction de l'actine avec la myosine contribue à la contraction et au déplacement. Ces filaments sont dynamiques : ils peuvent s'assembler et se désassembler rapidement. Ce renouvellement permet de remodeler les prolongements cytoplasmiques au cours de la migration.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les filaments d'actine interviennent surtout dans la mobilité et se remodèlent rapidement par assemblage et désassemblage.

4. Apoptose des neurones sous-utilisés ou non utilisés

Cette partie replace l'apoptose après la migration neuronale et l'établissement des connexions dans l'organogenèse du système nerveux central. Elle demande de définir ce processus et d'en donner un exemple concret dans l'organisme.

Question 4.1. Définir l'apoptose.

L'apoptose est une mort cellulaire programmée et contrôlée, reposant notamment sur l'activation de caspases. Elle provoque des modifications caractéristiques : rétrécissement de la cellule, condensation puis fragmentation de l'ADN, et formation de corps apoptotiques éliminés par phagocytose. Elle se distingue de la nécrose, qui entraîne généralement une inflammation. Dans le système nerveux en développement, elle élimine notamment les neurones sous-utilisés ou qui n'établissent pas de connexions fonctionnelles suffisantes.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'apoptose est une mort cellulaire programmée, contrôlée par des caspases, qui élimine les cellules sans inflammation généralement.

Question 4.2. Donner un exemple concret illustrant le rôle de l'apoptose dans l'organisme.

Lors du développement embryonnaire, les cellules situées entre les ébauches des doigts sont éliminées par apoptose. Leur disparition remodèle le tissu et sépare les doigts. Cet exemple illustre le rôle morphogénétique de la mort cellulaire programmée : elle contribue à façonner les organes en éliminant des cellules devenues inutiles au cours du développement.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'apoptose des cellules interdigitaires sépare les doigts et participe à la morphogenèse de la main pendant le développement embryonnaire.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2012)

Bilan de l'épreuve : Cette épreuve de BTS Biotechnologies, sous-épreuve de Biologie Cellulaire, relève de la session 2012. Le sujet BOE4BC dure 2h00 et a un coefficient 1. Il explore l'organogenèse du système nerveux à travers les souris GAD65-eGFP, le cycle cellulaire, la signalisation du NGF, la migration neuronale ex vivo et l'apoptose, en évaluant l'analyse de protocoles, de schémas et de résultats.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- Le promoteur GAD dirige l'expression de l'eGFP vers les neurones qui synthétisent le GABA.
- Un fluorochrome absorbe à une longueur d'onde d'excitation et émet une fluorescence à une longueur d'onde généralement supérieure.
- La phospholipase C coupe le PIP2 et produit des seconds messagers intracellulaires, dont le DAG et l'IP3.
- Les filaments d'actine contribuent à la formation des lamellipodes et à la mobilité cellulaire.

Points de vigilance & attentes du jury

- Pour les 3 R, distinguer remplacement des modèles animaux, réduction du nombre d'animaux et raffinement des procédures.
- Sur le schéma du document 3, reporter séparément et sans omission les lettres A à F et les numéros 1 à 5.
- Pour analyser les graphiques, comparer les mesures eGFP et DAPI au contrôle et tenir compte de ce que marque chaque fluorochrome.
- Respecter les étapes du protocole et distinguer les titres des phases des objectifs des sous-étapes; soigner aussi la rédaction, évaluée sur 1 point.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment distinguer les fluorescences eGFP et DAPI dans ce sujet ?

L'eGFP est exprimée dans le cytoplasme des neurones ciblés par le promoteur GAD, tandis que le DAPI marque les noyaux. Les couples de filtres adaptés à leurs spectres permettent d'observer séparément ces deux signaux.

Q : Que mesure la fluorescence sous la membrane FluoroBlok ?

La membrane bloque les longueurs d'onde d'excitation et d'émission des fluorochromes utilisés. La fluorescence mesurée dans le compartiment inférieur renseigne donc sur les cellules fluorescentes qui ont traversé les pores et atteint la face inférieure.

Q : Comment organiser son temps pour cette épreuve de deux heures ?

Répartissez votre temps en fonction des barèmes des quatre parties, puis gardez quelques minutes pour relire la copie. Les consignes évaluent aussi la clarté, la rigueur de l'expression et la présentation générale.

Q : Quels critères de rédaction sont explicitement évalués par le jury ?

Un point est consacré à la clarté et à la rigueur de l'expression écrite. Le sujet cite la justesse du vocabulaire, l'orthographe, la grammaire, la présentation générale de la copie et la fluidité de lecture.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbiorp.fr/assets/annales/bts-biorp/E4 - Expertise technologique pour la recherche au laboratoire de biologie/2012/BTS BioRP - E4 - Expertise technologique pour la recherche au laboratoire de biologie - Session 2012 - 3-Sujet.pdf
Ressources BTS BioRP : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

Ce document a été élaboré par FormaV® avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV®, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV® se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.