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 consulter tous nos sujets d'annales et corrigés du BTS BioRP, veuillez visiter :
btsbiorp.fr/annales-sujets-et-corriges

BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR

BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous-épreuve de Biologie Cellulaire

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

SESSION 2012

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :
- dictionnaire anglais/français, 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.

Aspects cellulaires de l'organogenèse du système nerveux

Lors du développement embryonnaire, les organes se forment, s'individualisent et se différencient. L'organogenèse du système nerveux repose sur différents processus cellulaires :

- la prolifération des cellules souches,
- la différenciation en précurseurs neuronaux,
- leur migration dans les futures aires cérébrales,
- la mise en place de nombreuses connexions,
- l'élimination apoptotique des neurones non utilisés.

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

1. Obtention des souris transgéniques GAD65-eGFP (4,5 points)

La transgénèse est un outil qui a largement facilité les études sur l'organogenèse.
Un laboratoire a obtenu des souris transgéniques exprimant l'eGFP (enhanced Green Fluorescent Protein) exclusivement dans certains neurones. L'expression exclusive de l'eGFP dans le cytoplasme des neurones synthétisant le neuromédiateur GABA (neurones GABA-ergiques) est sous le contrôle du promoteur du gène GAD (Glutamic Acid Decarboxylase). Ce gène code pour une enzyme essentielle de la voie de synthèse du GABA (Acide γ-amino-butyrique).

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

L'expérimentation animale est soumise aux lois de la bio-éthique. Le **document 1** présente la règle dite des trois R (« Reduce, Refine, Replace »).

1.2. Indiquer la correspondance entre les trois termes anglo-saxons et les recommandations A, B et C.

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

La qualité de la transgénèse est vérifiée par l'observation de coupes de tissus cérébraux en microscopie à fluorescence. Un extrait du protocole est donné dans le **document 2**.

1.4. Indiquer le rôle des composés suivants : paraformaldéhyde, DAPI.

1.5. Définir les propriétés spectrales d'un fluorochrome.

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

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

2. Prolifération et différenciation (6 points)

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

2.2 Le « MPF » est un élément clé de la régulation du cycle cellulaire.

2.2.1. Donner la signification du sigle « MPF ».

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

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

2.3 Le « NGF » (Nerve Growth Factor) est un facteur de croissance protéique majeur des neurones. Il permet leur survie, leur différenciation et agit après liaison au récepteur TrkA. La voie de transduction est donnée dans le **document 3**.

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**, et indiquer les légendes correspondantes.

La structure de la molécule du phosphatidyl inositol diphosphate (PIP2), substrat de la phospholipase C (PLC) s'apparente à celle d'un phospholipide.

2.3.2. Donner une représentation schématique et légendée du PIP2. Localiser le site de coupure de la phospholipase C.

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

3. Étude de la migration neuronale *ex vivo* (8,5 points)

La migration neuronale est testée sur une suspension cellulaire préparée à partir de cerveaux de souris transgéniques. Le système innovant présenté ici permet de tester le pouvoir chimiotactique ou inhibiteur de molécules pharmaceutiques. Le **document 4** présente le test de migration et le matériel utilisé.

La chambre de migration est représentée dans le **document 4a**.
La membrane poreuse en PET (polyéthylène téréphtalate) présente la particularité d'arrêter les longueurs d'onde comprises entre 490 et 700 nm. Elle stoppe donc les longueurs d'onde d'excitation et d'émission des deux fluorochromes utilisés : eGFP et DAPI.

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

3.2. Compléter le tableau de la manipulation présentée dans le **document 4b** en donnant le titre des étapes I, II, III et l'objectif des étapes IIa, IIb, IIIa, IIIb, IIIc (répondre sur la copie).

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

La manipulation réalisée et les résultats obtenus sont présentés dans le **document 4c**

3.4. Le **document 4c** montre que « les résultats de mesure de fluorescence sont normalisés ». Donner la signification de cette expression.

3.5. Indiquer la composition du puits contrôle. Préciser son rôle.

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

La mobilité cellulaire est dépendante du cytosquelette.
La migration cellulaire débute par l'émission de prolongements cytoplasmiques (lamellipodes) comme événement initiateur de la migration, et le déplacement est sous la dépendance d'un mécanisme contractile.

3.7. Citer les trois types de filaments du cytosquelette en précisant la ou les protéine(s) constitutive(s).

3.8. Indiquer lequel des trois filaments est majoritairement impliqué dans la mobilité cellulaire. Préciser la propriété de ce filament.

4. Apoptose des neurones sous utilisés ou non utilisés (1 point)

Au cours de l'organogenèse du système nerveux central, après migration neuronale et établissement des connections entre cellules nerveuses, les neurones sous ou pas utilisés sont éliminés par apoptose. L'apoptose repose sur l'apparition d'activité caspase.

4.1 Définir l'apoptose.

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

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Document 1 : Règle des « 3 R »

Russel et Burch formulèrent en 1952 un ensemble de recommandations concernant les moyens à mettre en œuvre pour réduire l'utilisation des animaux.

Recommandation A :
Chaque fois que cela est possible, remplacer les expériences sur animal par des expériences *in vitro* ou sur cellules ; remplacer les expériences sur des animaux "sensibles" (primates, chien, chat) par des expériences sur des animaux "moins sensibles" (rongeurs, poissons, insectes).

Recommandation B :
Par l'amélioration des techniques opératoires, prendre en compte la souffrance et le stress de l'animal tout en obtenant des résultats de meilleure qualité qui n'auront pas à être répétés ; le développement des techniques d'exploration fonctionnelle *in vivo* (PETscan, scanner, IRM, mesures télémétriques), encore freiné par le coût des installations, devrait limiter la pénibilité des expériences subies par l'animal de laboratoire.

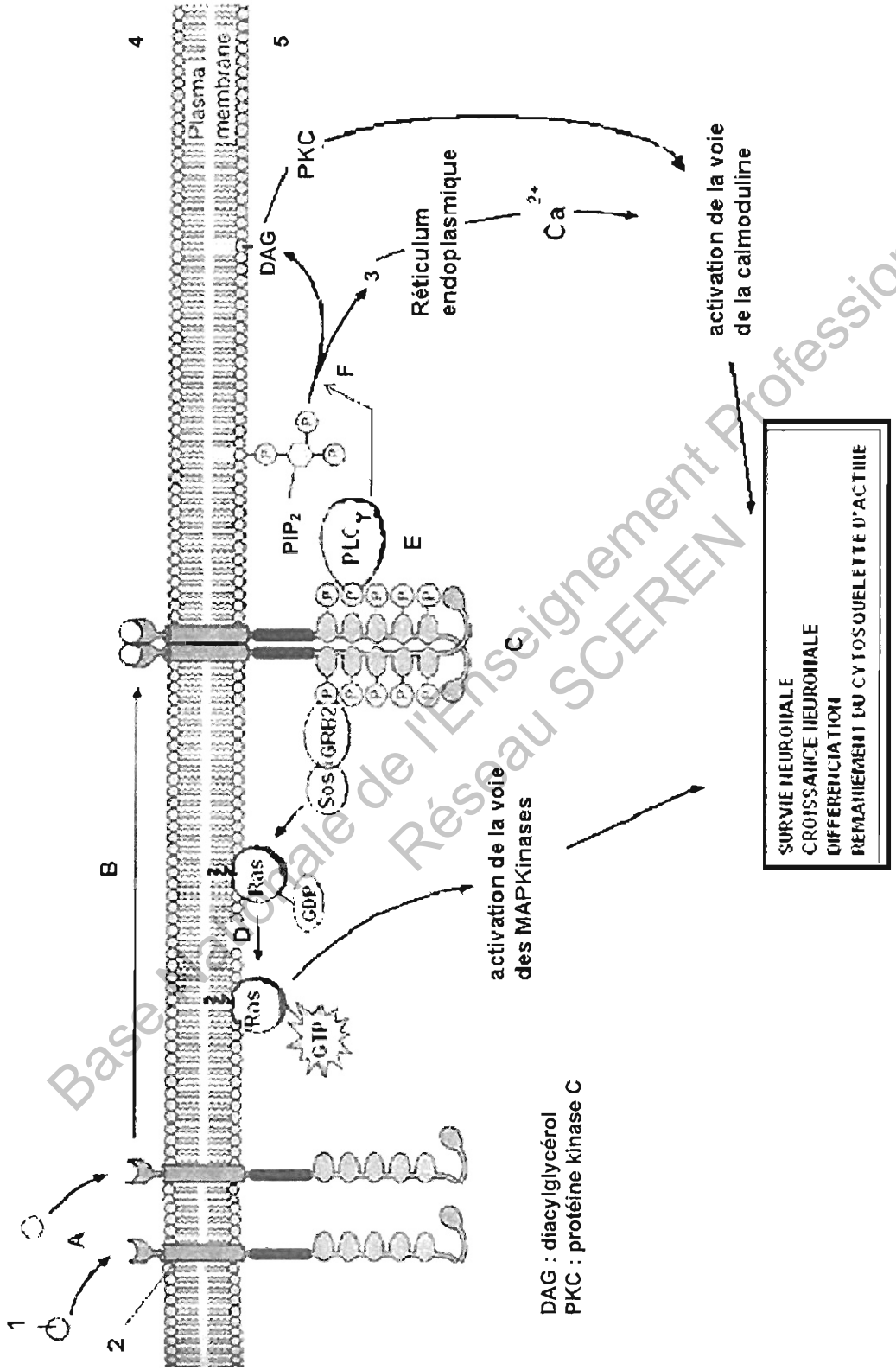
Recommandation C :
Par une planification rigoureuse des expériences, réduire au minimum indispensable le nombre d'animaux utilisés ; par exemple, en utilisant des lots d'animaux homogènes (animaux consanguins) ou en utilisant un animal comme son propre témoin, on réduira la variabilité interindividuelle et donc la taille du lot à étudier.

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Document 2 : Histology and fluorescence

Brains were removed from mice at postnatal day (PN) 7 and PN14. Brains were block fixed in 4% paraformaldehyde for 24 hr and a Vibratome® series 1000 was used to cut 50 µm parasaggital sections. Sections were counterstained with DAPI (0.5 µg/mL) for 20 min in Phosphate-Buffered Saline, 0.2% Triton X-100 (PBS-T), rinsed and [...] mounted in aqueous mounting medium.
Two images were obtained with both a 350 nm excitation and 460nm emission and a 485 nm excitation filter and a 525 nm emission filter on a Zeiss Axiovert microscope with ACHROMAT 5X, NA 0.12 objective.

Document 3 : Transduction du signal de NGF dans les cellules neuronales

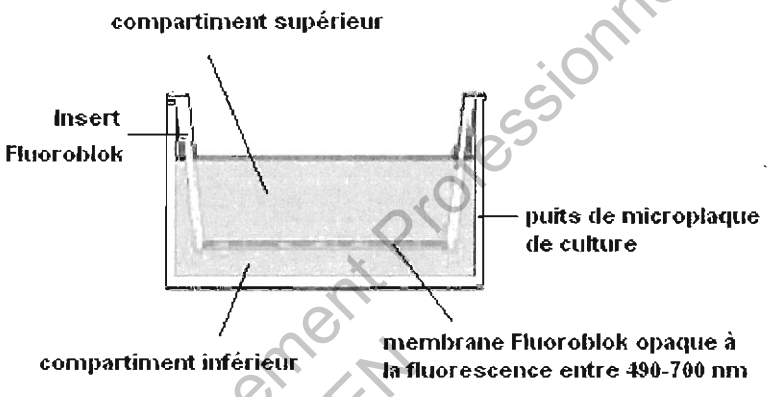


Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

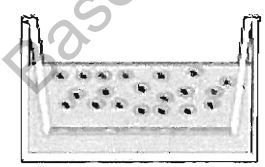
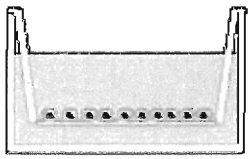
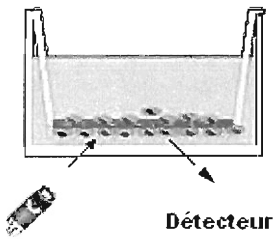
Document 4 : Test de migration cellulaire.

Document 4a : Chambre de migration : BD falcon fluoroblok™

Le système de mobilité cellulaire « BD BioCoat FluoroBlok » s'adapte sur des plaques de culture et se compose d'inserts portant une membrane de porosité connue (8µm de diamètre) en PET (polyéthylène téréphtalate) traitée pour bloquer la transmission des longueurs d'onde comprises entre 490 et 700 nm.



La suspension de cellules fluorescentes est introduite dans le compartiment supérieur, une substance chimiotactique est ensuite placée dans le compartiment inférieur, la boite est alors incubée. Les cellules adhèrent sur la face supérieure de la membrane puis colonisent la face inférieure en franchissant les pores.
La fluorescence est mesurée sous les cupules par un lecteur de microplaques.

Introduction de cellules marquées	Adhésion cellulaire	Migration cellulaire et détection
		

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Document 4b

Title	Protocol	Role
I.	Postnatal mice (PN6-7) were euthanized with Fluorane®, cerebella removed and collected in Minimum Essential Medium on ice.	
II.	The tissue was rinced and placed in 0.25% trypsin, 10 mM EDTA. Cells were dissociated for 20 min at 37°C in a shaking water bath.	II.a
	Cells were centrifuged at 800*g* for 5 min and resuspended in DMEM (25 mM glucose, pyruvate), 2 mM glutamine, 1% fetal bovine serum, 2% B27 supplement, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin (all from Invitrogen, Carlesbad, CA).	II.b
III.	Cells were diluted to 2.5 to 5 × 10^5 in 300 µL and this suspension was plated in the upper chamber. Plating medium (700 µL) was added to the bottom chamber and cells were allowed to recover in the incubator at 37°C, 5% CO_2 and incubated for 2 hours.	III.a
	After 2 hrs, the medium in the bottom chamber was replaced with the same medium formulation containing the motogen*	III.b
	Migrating cells were examined by quantification of fluorescence over the first several hours or at 24 and 48 hr; 48 hr data are presented	III.c

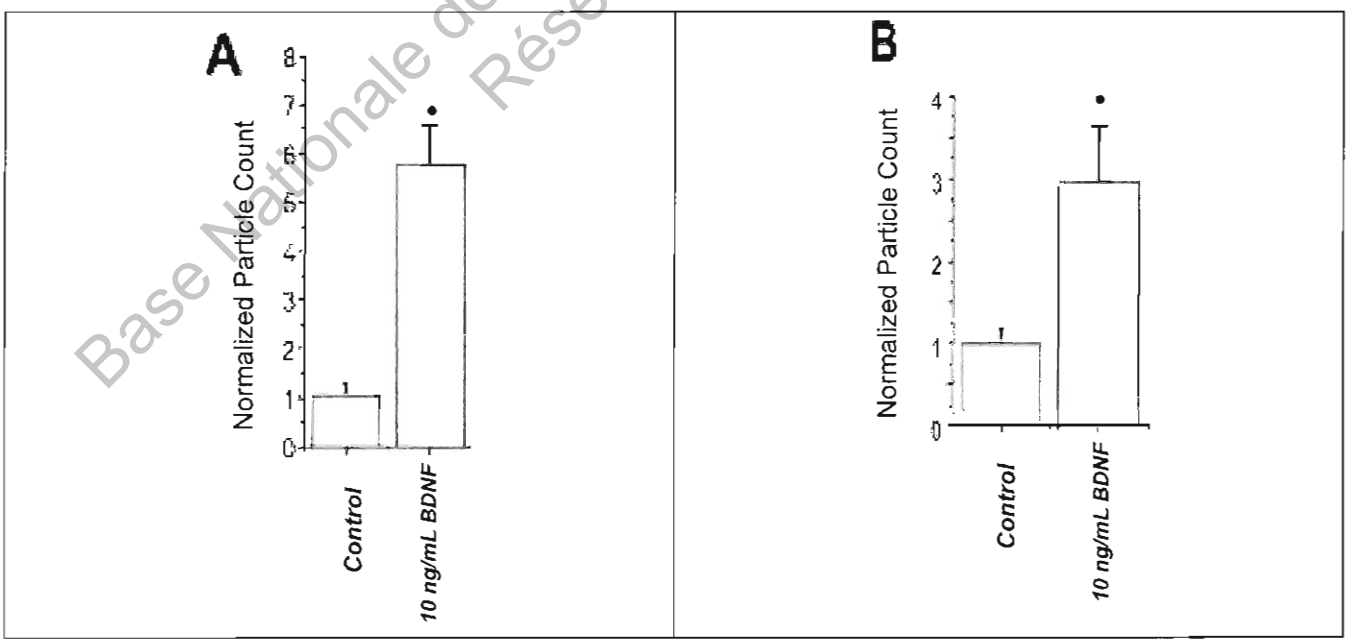
*Motogen : substance chimiotactique pour cellules neuronales

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Document 4c : Quantification of fluorescence.

The motogen (BDNF) is added or not (control) to the bottom chamber.
Then, the fluorescence is quantified.

- A : Quantification of cytoplasmic eGFP **- B : Quantification of DAPI**



Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

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.