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

Session 2010

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES

ÉPREUVE E5 :
Travaux pratiques de biotechnologies

Durée de l'épreuve : 8 heures
Coefficient : 4

SOUS-ÉPREUVE U.54

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE CELLULAIRE

Durée de la sous-épreuve : 2 H 00

Coefficient : 1

Le sujet comporte 3 pages numérotées de 1/3 à 3/3

L'utilisation de la calculatrice est autorisée.

CRDP Aquitaine

Evaluation de la toxicité de la protéine LYC sur des cellules en culture *in vitro*

Un laboratoire cherche à connaître les effets d'une protéine d'intérêt LYC sur des cellules animales. Pour cela, il doit d'abord entretenir des cultures cellulaires (cellules animales adhérentes cultivant en monocouche dans du milieu DMEM additionné de 10 % v/v de sérum de veau fœtal), en réalisant un repiquage des cellules et une numération de la suspension cellulaire.

Afin de tester l'effet toxique éventuel de la protéine LYC, les cellules sont cultivées sur des lamelles déposées dans des puits, en absence et en présence de la protéine LYC. Elles sont ensuite fixées, colorées au DAPI, et observées au microscope à fluorescence.

1. Matériel et réactifs

En plus du matériel courant de laboratoire et de culture cellulaire sont fournis :

- 1 flacon de la culture cellulaire de 25 cm^2
- 1 tube de bleu de Funk à 0,4 % « **BF** »
- 1 tube de tampon PBS sans calcium stérile « **PBS** » : 6 mL
- 1 tube de trypsine stérile « **trypsine** » : 2,5 mL
- 1 flacon de milieu DMEM stérile additionné de glutamine de 10% v/v de SVF et d'antibiotiques « **DMEM+** » : 12 mL
- 1 flacon de culture stérile de 25 cm^2
- 1 hématimètre (Malassez ou Neubauer)
- 1 tube à hémolyse
- 1 lame comportant une lamelle recouverte de cellules cultivées« **avec LYC** » et colorées au DAPI
- 1 lame comportant une lamelle recouverte de cellules cultivées « **sans LYC** » et colorées au DAPI
- 1 microscope à fluorescence

2. Protocole

2.1. Observation de la culture cellulaire à repiquer

Réaliser un examen macroscopique et un examen microscopique de la culture cellulaire.

Un champ microscopique sera présenté à un examinateur.

2.2. Repiquage des cellules

Cette partie est réalisée sous PSM en présence d'un examinateur.

CRDP Aquitaine

À partir du flacon de culture :

- éliminer le milieu de culture
- laver le tapis cellulaire avec 5 mL de « PBS »
- introduire 2 mL de solution de trypsine et laisser agir à température ambiante en surveillant attentivement l'action de la trypsine
- introduire 5 mL de milieu DMEM+ et homogénéiser
- prélever un aliquot de la suspension en tube à hémolyse
- transférer 1,5 mL de suspension dans un nouveau flacon stérile. Compléter à 5 mL avec le milieu DMEM+
- placer le flacon à l'étuve à 37°C en atmosphère air + 5 % CO_2.

2.3. Numération des cellules viables de la suspension cellulaire

À partir de l'aliquot prélevé :

- diluer la suspension au 9/10ème dans du bleu de Funk
- compter au cytomètre les cellules viables (2 essais).

Le remplissage du cytomètre sera réalisé devant un examinateur.
La numération sera contrôlée par un examinateur (sur une unité de comptage).

2.4. Évaluation de la toxicité de la protéine LYC sur les cellules

Observer au microscope à fluorescence les deux préparations « avec LYC » et « sans LYC ».

Un champ microscopique correspondant à chacune des deux préparations sera présenté à un examinateur.

3. Compte rendu

- Justifier l'étape d'observation macroscopique et microscopique de la culture cellulaire.
- Présenter le résultat de ces observations.
- Calculer le nombre de cellules viables par mL de suspension cellulaire et le pourcentage de viabilité.
- En déduire le nombre de cellules viables introduites dans le nouveau flacon de culture.
- Décrire et interpréter les observations réalisées au microscope à fluorescence.

CRDP Aquitaine

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.

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.