



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 SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES**

**ÉPREUVE E3 – UNITÉ U33
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE
ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE**

SESSION 2014

Durée : 2 heures
Coefficient : 3

Calculatrice non autorisée.

Dictionnaire Français-Anglais autorisé.

Documents à rendre avec la copie :

- Documents 4 et 5..... page 6/7

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 7 pages, numérotées de 1/7 à 7/7.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse	Code : BAE3BC	Page : 1/7

ÉTUDE D'UN BIOCIDÉ NATUREL

Les moustiques sont considérés comme source de nuisance pour l'homme, puisqu'ils peuvent être des vecteurs de maladies (paludisme, fièvre jaune...).

Dans les campagnes de lutte anti-moustique, la plupart des insecticides sont composés de matières actives de synthèse très efficaces sur les moustiques, mais qui présentent plusieurs inconvénients (coût élevé, problèmes environnementaux, développement de résistance...).

La lutte en faveur d'une gestion durable de l'environnement a favorisé la mise en place d'études sur les substances naturelles à large spectre d'action, comme des bactéricides, des fongicides et des insecticides de substitution.

Les extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis*) sont utilisés comme biocide naturel par certaines populations d'Afrique pour limiter le nombre de moustiques. Les connaissances sur le biocide sont encore réduites. Les principales études en cours portent sur :

- l'évaluation de la toxicité du biocide sur des larves de moustique ;
- son mode d'action ;
- les modalités de culture, *in vitro*, du plant de ricin.

1 - Étude de la toxicité du biocide (21 points)

1.1 - Des tests de toxicité sont réalisés sur deux espèces de larves de moustiques à partir d'extraits de feuilles de ricin.

Les résultats sont consignés dans le **document 1**.

1.1.1 - Définir le sigle et le terme DL 50.

1.1.2 - Déterminer la DL 50 obtenue pour chaque espèce de larve de moustique.

1.1.3 - Conclure sur l'efficacité des extraits de feuille de ricin comme anti-larvaire pour les espèces de moustiques testées.

1.2 - Des tests de toxicité ont aussi été réalisés sur des cultures de cellules de moustique en suspension.

Les cultures de cellules d'insecte sont réalisées en milieu supplémenté en SVF et dans un incubateur à 25°C (5% CO₂ et 100% H₂O).

Plusieurs dilutions du biocide sont testées sur des cultures cellulaires contenant chacune 5.10⁶ cellules/mL. Après 24 heures, une mesure est réalisée par cytométrie en flux.

1.2.1 - Indiquer les rôles du SVF. Préciser les problèmes posés par son utilisation.

1.2.2 - Argumenter l'incubation en présence de CO₂.

1.2.3 - Préciser le rôle de la cytométrie en flux.

1.3 - Chez la souris, les tests de toxicité se sont révélés négatifs, même après une grande absorption du biocide. La partie toxique est transportée par voie sanguine essentiellement sous forme libre, et très peu sous forme liée.

L'évolution de la concentration plasmatique de la molécule toxique en fonction du temps permet de déterminer un T_{max} d'environ 1 heure et un T_{1/2} inférieur à 4 heures.

L'élimination rénale est très rapide car le foie réalise des biotransformations de phase I et II de la molécule toxique.

1.3.1 - Donner un exemple de transporteur sanguin.

1.3.2 - Définir T_{max} et T_{1/2}.

1.3.3 - Décrire les biotransformations hépatiques de type I et II. Préciser leur importance physiologique.

2 - Étude du mode d'action du biocide (20 points)

2.1 - Au niveau digestif, différentes études ont montré que le biocide ingéré par les larves pénètre dans les enterocytes par transport actif de type symport couplé aux ions Na^+ . La molécule traverse la membrane basale par diffusion simple et atteint la circulation sanguine avant d'être disséminée dans tout l'organisme de la larve.

2.1.1 - Indiquer les caractéristiques du transport actif de type symport couplé au Na^+ .

2.1.2 - Quelles sont les différences entre un transport actif et une diffusion simple ?

2.2 - Au niveau cellulaire, le biocide s'associe à une protéine membranaire pour former un complexe. Le **document 2** présente un protocole de Western blot (aussi appelé immuno-empreinte) qui a permis de déterminer que la zone de la feuille qui fixe le plus de biocide est le limbe.

2.2.1 - Étudier le protocole du **document 2** et schématiser l'édifice moléculaire issu des **étapes 7 à 11**. En déduire le type de dosage mis en jeu pour détecter le complexe protéique.

2.2.2 - Analyser les résultats du western blot présentés dans le **document 3** et déterminer la zone de la feuille qui fixe le plus de biocide. Estimer la masse moléculaire du complexe protéique.

2.3 - Au niveau intra cellulaire, la molécule toxique agirait sur la traduction.

2.3.1 - Indiquer la structure d'un ribosome eucaryote et préciser le lieu de formation des sous unités.

2.3.2 - Décrire brièvement les trois principales étapes de l'élongation de la traduction.

3 - Étude de la multiplication *in vitro* de la plante de ricin (19 points)

3.1 - Des études de multiplication *in vitro* ont montré que seule la zone située autour de la nervure principale permet d'obtenir des plantes dans 100 % des cas.

3.1.1 - Renseigner le **document 4 (à rendre avec la copie)** représentant une feuille de ricin.

3.1.2 - Indiquer les particularités ultrastructurales des cellules végétales par rapport aux cellules animales.

3.1.3 - Titrer et annoter le **document 5 (à rendre avec la copie)** représentant un organite présent en très grande quantité dans les feuilles de ricin. Préciser son rôle dans la cellule.

3.2 - Pour déterminer la concentration optimale de deux phytohormones (NAA et BA) à utiliser pour la culture *in vitro* du ricin, des fragments de feuille ont été mis en culture en présence de concentrations variables en ces deux hormones dans le milieu de culture.

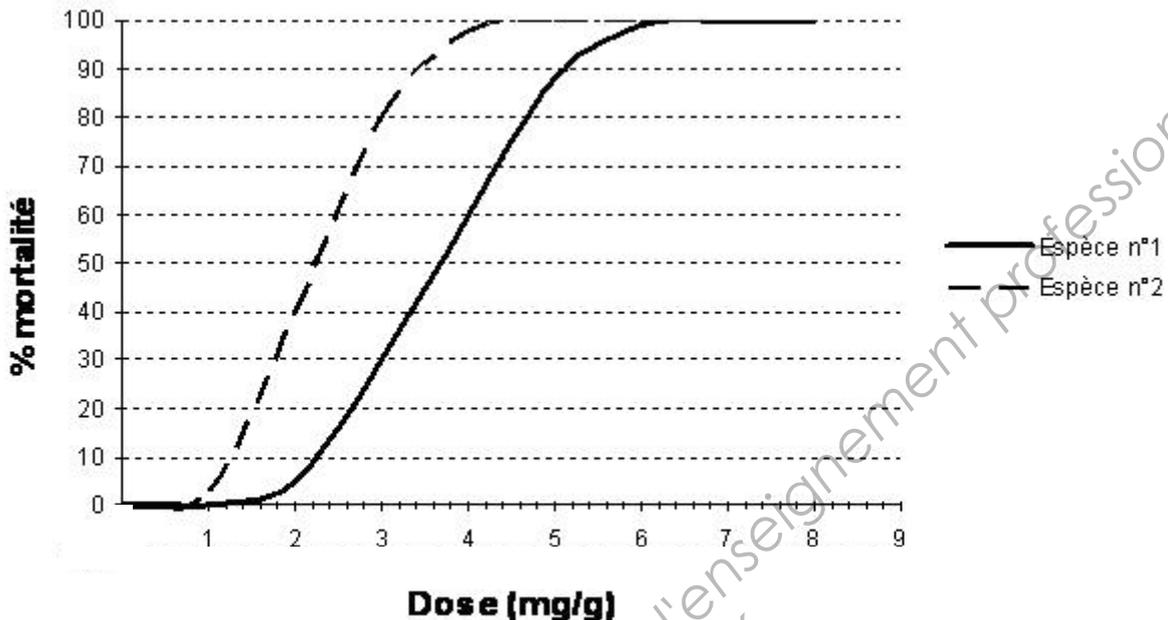
3.2.1 - Définir le terme phytohormone.

3.2.2 - À partir des résultats obtenus (**document 6**), analyser l'influence des concentrations en phytohormones NAA et BA associées sur la morphogenèse végétative.

3.2.3 - Décrire de façon concise les étapes de la culture *in vitro* mise en œuvre à partir des fragments de feuilles afin d'orienter la culture vers la calogénèse.

DOCUMENT 1

Résultats des tests de toxicité effectués sur des larves de moustiques d'espèces différentes



DOCUMENT 2 :

Protocole du western blot :

Technique de transfert sur membrane de protéines à partir d'un gel de polyacrylamide

❖ Transfert sur membrane :

- 1- Load the samples in the wells of an 1X SDS-polyacrylamide gel (use a pre-stained molecular weight marker to determine the end-point of the electrophoresis).
- 2- Run the apparatus at 160V during 30 minutes.
- 3- Pre wet the PVDF (*) membrane using 100% methanol for 10 seconds and immerse in distilled H₂O, and soak the filter pads in PVDF transfer buffer.
- 4- Assemble the membrane and the filters in the tank with the gel.
- 5- Run the transfer protocol at 0,1 A overnight.
- 6- After completing electrophoretic transfer, block the membrane in 5% non fat dry milk bath for 2 hours.

❖ Immuno - empreinte :

- 7- Incubate the membrane with the mouse primary antibody for 16 hours at 4°C.
- 8- Remove the antibody and perform 3 room temperature washes (10 minutes of rotation each) with TBS (Tris, NaCl, pH=7,5 plus Tween 20).
- 9- Incubate the membrane with anti-mouse alkaline phosphatase conjugated antibody for 30 minutes at room temperature.
- 10- Remove the antibody and perform 3 room temperature washes (10 minutes of rotation each) with TBS.
- 11- Put into developer: BCIP-T (5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate, p-toluidine salt) and NBT (Nitro Blue Tetrazolium).

Reaction product is purple, and appears in a few minutes; can incubate for up to an hour if the signal is weak. Watch development of reaction and stop with water. Some of background disappears on drying.

(*) PVDF : Polyvinylidene fluoride.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse	Code : BAE3BC	Page : 4/7

DOCUMENT 3

Résultats du western blot



- 1 : marqueur de masse moléculaire
- 2 : extrait de feuille entière
- 3 : extrait de limbe
- 4 : extrait de pétiole
- 5 : extrait de nervure principale
- 6 : extrait de nervures secondaires

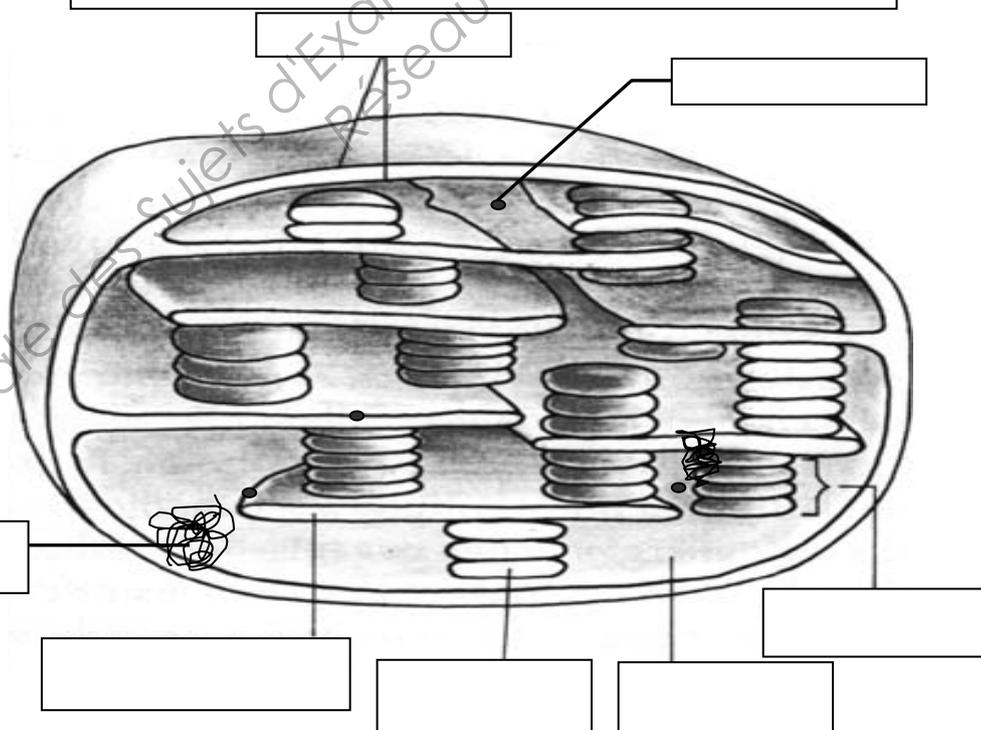
DOCUMENT 4
(à rendre avec la copie)
Feuille palmée du *Ricinus communis*



DOCUMENT 5
(à rendre avec la copie)

www.bio.vobs.at

Titre :



DOCUMENT 6

Résultats de la culture *in vitro* des fragments de feuille du ricin

Expérience	A	B	C
[NAA] µg/mL	0,01	1	3
[BA] µg/mL	2	1	0,02
Observations	Formation de tiges feuillées	Formation d'un cal	Formation de racines

NAA : α -Naphthalen Acetic Acid (Auxine de synthèse)

BA : N-Benzyl Adenine (Cytokinine de synthèse)

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