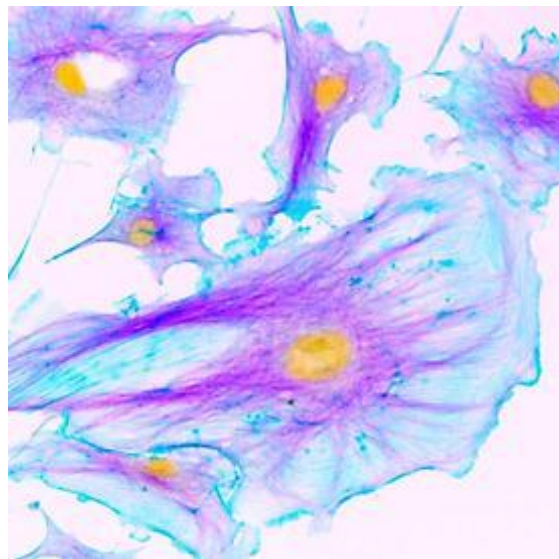


ANNATUT'

Biologie Cellulaire

UE2

[Année 2012-2013]



- ⇒ Qcm issus des Tutorats, classés par chapitre
- ⇒ Correction détaillée

SOMMAIRE

1. Introduction à la Biologie Cellulaire	3
Correction : Introduction à la Biologie Cellulaire	4
2. Méthodes d'étude de la cellule	5
Correction : Méthodes d'étude de la cellule	15
3. Compartiments membranaires de la cellule eucaryote	18
Correction : Compartiments membranaires de la cellule eucaryote	20
4. Le cytosquelette et la mitochondrie	21
Correction : Le cytosquelette	22
5. La mitose	23
Correction : La mitose	24
6. Structure et organisation fonctionnelle du noyau	25
Correction : Structure et organisation fonctionnelle du noyau	26
7. La mort cellulaire	27
Correction : La mort cellulaire	28
8. La signalisation cellulaire	29
Correction : La signalisation cellulaire	30
9. Items et expériences croisées	31
Correction : Items et expériences croisées	33
10. Annales Gilson Lyon	34
Correction : Annales Gilson Lyon	45

1. Introduction à la Biologie Cellulaire

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

QCM 1 : A propos de l'origine des cellules

- A) L'endosymbionte se forme par fusion de l'archae bactérie et de la Bactérie.
- B) Les archae bactéries sont plus proches des eucaryotes que des procaryotes.
- C) Dans l'hypothèse du monde à ARN il y a d'abord ARN puis les protéines, puis l'ADN.
- D) Il y a couplage entre la traduction en ARNm et la transcription en protéines chez les procaryotes, c'est la traduction co-transcriptionnelle.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 2 : Généralités. Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Il y a plus de cellules que de bactéries dans le corps humain.
- B) Les lymphocytes sont un parfait exemple de sénescence avant leur activation (donc leur division) lors de la réponse immunitaire.
- C) L'Augmentation de la capacité de division, ou l'inhibition de la capacité de mort (processus d'apoptose par exemple) sont des exemples de perturbation de l'homéostasie dans les cancers.
- D) Lors du passage de la cellule en quiescence ou sénescence, le cycle cellulaire passe en phase G0 immédiatement après la phase M.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 3 : Généralités. Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Levures et bactéries se cultivent de la même façon (milieux semi solides, boîte de pétri) car ce sont toutes deux des cellules procaryotes.
- B) L'utilisation des IPS pose des problèmes éthiques.
- C) Il n'y a pas de création d'embryon avec les IPS, on met des gènes de la pluripotence sur des fibroblastes pour revenir à des cellules souches.
- D) Dans l'immuno fluorescence indirecte, c'est l'anticorps secondaire qui a été rendu fluorescent.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 4 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) La traduction est co-transcriptionnelle dans la cellule procaryote
- B) L'endosymbionte découle de la fusion de l'archae-bactérie et de la bactérie
- C) La transition G1-S dans le cycle cellulaire est appelé point start
- D) Les cellules souches pluripotentes peuvent donner toutes les cellules mais pas un organisme entier.
- E) Toutes ces propositions sont fausses

Correction : Introduction à la Biologie Cellulaire

2011 – 2012

QCM 1 : Réponses A,B,CA) VraiB) VraiC) Vrai

D) Faux : ATTENTION, TRANSCRIPTION = ADN==>ARN, TRADUCTION = ARNm==> protéines. On parle de **traduction co-transcriptionnelle**.

QCM 2 : Réponse CA) Faux : 10 fois plus de bactéries que de cellules dans le corps humain

B) Faux : de **quiescence** car la **sénescence est irréversible**, les cellules ne peuvent plus se diviser. Ensuite il y a apoptose pour le retour à la normale du nombre de lymphocytes

C) VraiD) Faux : après G1**QCM 3 : Réponses C,D**A) Faux: La levure est **eucaryote** ! Attention**QCM 4 : Réponses A,B,C,D**

Tout est juste, c'est du cours, et c'est cadeau !

2. Méthodes d'étude de la cellule

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

QCM 1 :

a) Après modification de la séquence ADN d'une cellule eucaryote, on a créé un gène hybride cadhérine-GFP ce qui permettra de former une protéine cadhérine-GFP. On observe les cellules en microscopie optique. On observe une coloration verte sur les complexes membranaires de jonction.

- A) La microscopie photonique a une meilleure résolution que la microscopie électronique
- B) On a démontré que la protéine cadhérine-GFP est localisée au niveau des complexes membranaires de jonction

b) On réalise la même expérience avec une enzyme permettant la synthèse de la DiHydroTestostérone (DHT) à partir de la testostérone : la 5-alpha-réductase.

On effectue un dosage de la Testostérone et de la DHT sur une culture A de cellules témoins et sur la culture B de cellules avec le gène hybride 5-alpha-réductase-GFP (Les conditions de culture sont rigoureusement les mêmes).

Les résultats sont en moyenne identiques dans les deux cultures.

- C) On suggère fortement que la fonction de la 5-alpha-réductase n'est pas altérée par le marquage à la GFP
- D) On peut donc extrapoler avec certitude sur la localisation de la 5-alpha-réductase dans la cellule.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 2 : A propos des cultures cellulaires

- A) Les fibroblastes issus d'une biopsie de peau d'un individu ne présentant aucune pathologie sont incapables de se multiplier dans des boîtes de Pétri en présence d'un milieu de culture adéquate.
- B) Les cellules en sénescence sont métaboliquement inactives.
- C) Les cellules humaines peuvent se multiplier indéfiniment en laboratoire à condition de renouveler régulièrement leur milieu de culture.
- D) On peut immortaliser des cellules humaines normales en les infectant avec un virus oncogène.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 3 : A propos de la fluorescence :

- A) Il faut modifier la GFP pour qu'elle garde ses propriétés de fluorescence en dehors de la méduse.
- B) Lorsqu'on irradie par photobleaching, les protéines GFP disparaissent.
- C) Dans l'immuno fluorescence indirecte, les anticorps secondaires sont des anticorps anti «anticorps de l'espèce».
- D) Lors d'un FRAP, on observe les molécules qui redeviennent fluorescentes, cela permet de mettre en évidence leur mobilité.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 4 : A propos de la microscopie

- A) Le FISH nécessite toujours une étape préalable de dénaturation.
- B) Il existe des anticorps qui reconnaissent une séquence spécifique de l'ADN (un gène).
- C) Avec un microscope confocale, on ne peut pas faire de microcinéma (ou microscopie time lapse).
- D) Le microscope à super résolution est un microscope électronique inventé pour lutter contre les problèmes de diffraction d'une onde.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 5 : A propos de l'analyse du contenu cellulaire

- A) La sélection négative de la purification sur support est préférentielle mais souvent plus coûteuse.
- B) Dans la cytométrie de flux on a d'abord le tri des cellules, et ensuite l'analyse.
- C) FACS (Fluorescent Activated Cell Sorting) = tri des cellules, c'est la dernière étape de la cytométrie
- D) Dans la partie analytique de la cytométrie de flux, il est possible de déterminer le pourcentage de cellules mortes et vivantes.
- E) Aucune de ces propositions n'est juste.

QCM 6 : Immunofluorescence

On souhaite étudier la localisation de l'aminocyl-ARNt synthétase (enzyme fixant l'acide aminé sur l'ARN transfert) ainsi que celle des ARN ribosomiaux.

On utilise la microscopie à fluorescence en couplant des anticorps primaires de souris contre l'aminocyl-ARNt synthétase et des anticorps primaires d'ornithorynque contre les ARN ribosomiaux.

Avec l'utilisation d'anticorps secondaires, comment fait-on pour visualiser séparément l'aminocyl ARNt synthétase et les ARN ribosomiaux ?

- A) Anticorps de chamois anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine et anticorps de chat anti-immunoglobuline d'ornithorynque couplés à la rhodamine.
- B) Anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris couplés à la GFP et anticorps de kangourou anti-immunoglobuline d'ornithorynque couplés à la fluorescéine.
- C) Anticorps de crapauds anti-immunoglobuline de chacal couplés à la fluorescéine et anticorps de moineau anti-immunoglobuline de lama couplés à la rhodamine.
- D) Anticorps de souris anti-immunoglobuline d'ornithorynque couplés à la GFP et anticorps d'ornithorynque anti-immunoglobuline de souris couplés à la rhodamine.
- E) Aucune réponse n'est juste.

QCM 7 : Sonde calcique

On étudie les variations de concentration cytoplasmique en calcium (Ca^{2+}) dans une culture cellulaire.

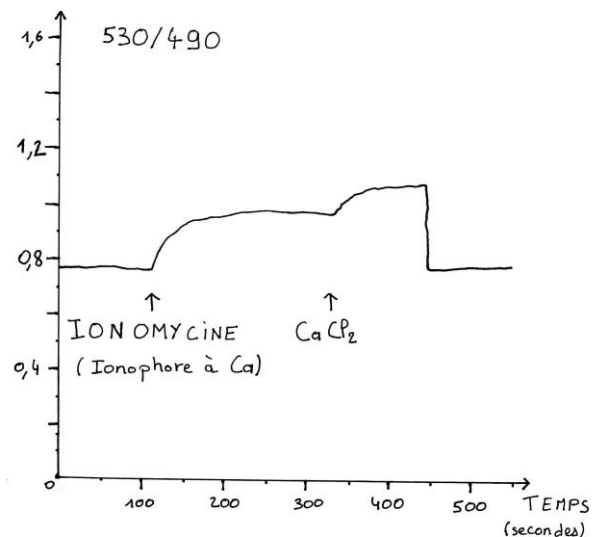
On utilise la sonde calcique Calmoduline, marquée avec 2 fluorochromes.

CFP : absorbe dans le violet à 430nm et émet dans le bleu à 490nm.

YFP : absorbe dans le bleu à 490nm et émet dans le vert à 530 nm.

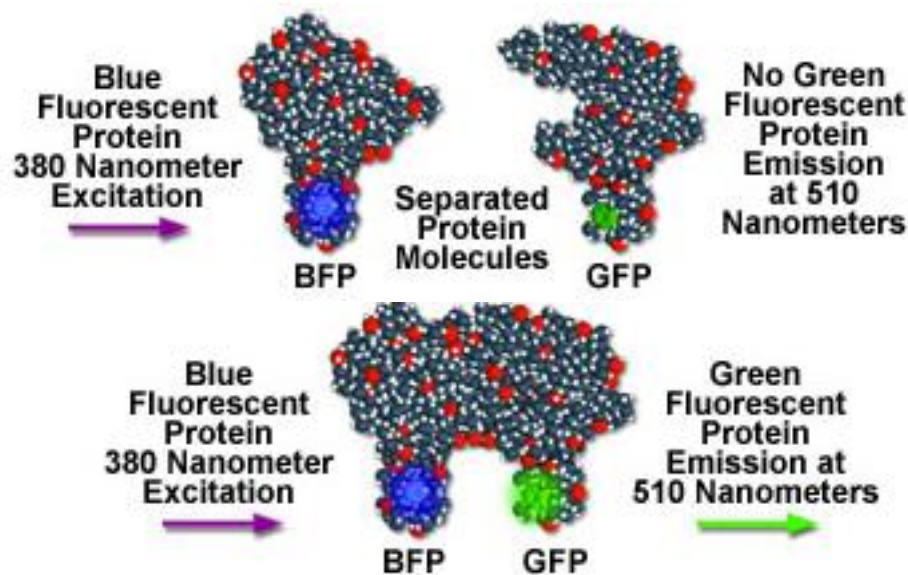
Lorsque le calcium se fixe à la calmoduline cette dernière change de configuration en rapprochant les 2 fluorochromes à moins de 10 nm.

On a calculé en ordonnée (530/490) le rapport entre la quantité de lumière émise à 530nm et la quantité de lumière émise à 490nm.



Ionophore : molécule hydrophobe qui s'insère dans la membrane plasmique et augmente la perméabilité de la cellule aux ions.

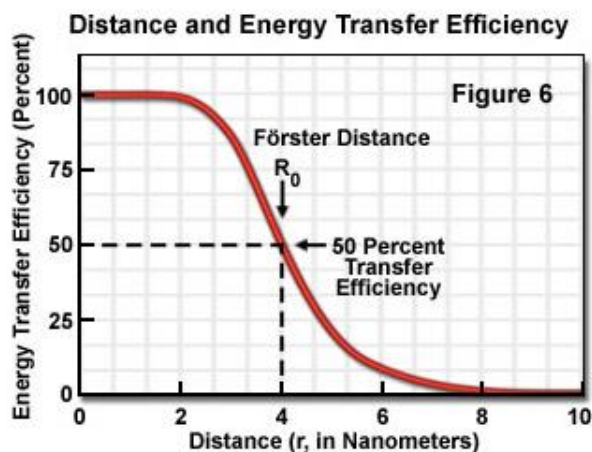
- A) Ici, on réalise un FRET intermoléculaire.
- B) Lors d'un phénomène de fluorescence, la longueur d'onde d'émission est plus faible que la longueur d'onde d'absorption.
- C) A T=400secondes, le phénomène de FRET est moins observé sur la calmoduline qu'à T=120 secondes.
- D) La concentration de calmoduline à T=350secondes est supérieure à la concentration de calmoduline à T=0secondes.
- E) Aucune de ces réponses n'est juste.

QCM 8 : Comprendre des schémas / Tableaux / images**Figure 1**

a) A propos de la figure 1 :

A) On schématise ici une réaction de FRET intermoléculaire

b) A propos des figures 2 et 3 :

**Figure 2**

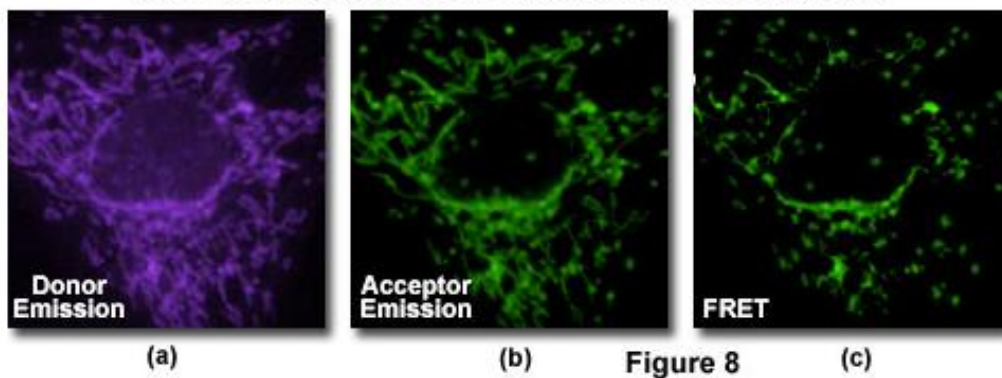
Rhodamine 6G	Malachite Green	0.1
B-Phycoerythrin	Cy5	7.2
Cy5	Cy5.5	>8.0

Figure 3 : Distance (= R_0 = Förster distance) entre 3 couples de fluorochromes (Rhodamine 6G/Malachite Green ; B-Phycoerythrin/Cy5 ; Cy5/Cy5.5) dans une cellule.

B) D'après les figures 2 et 3, on peut suggérer que le FRET se ferait (si on envoie la lumière qui excite le donneur) à plus de 50 % pour les couples B-Phycoerythrin / Cy5 et Rhodamine / Malachite Green

C) Ces figures (2 et 3) suggèrent fortement que le spectre d'émission de Cy5 ne recouvre pas (ou très peu) le spectre d'absorption de Cy5.5

Mitochondrial Protein-Protein Association with FRET



Les couleurs observées sur les images b et c sont identiques (vert)
La coloration de (a) est violette

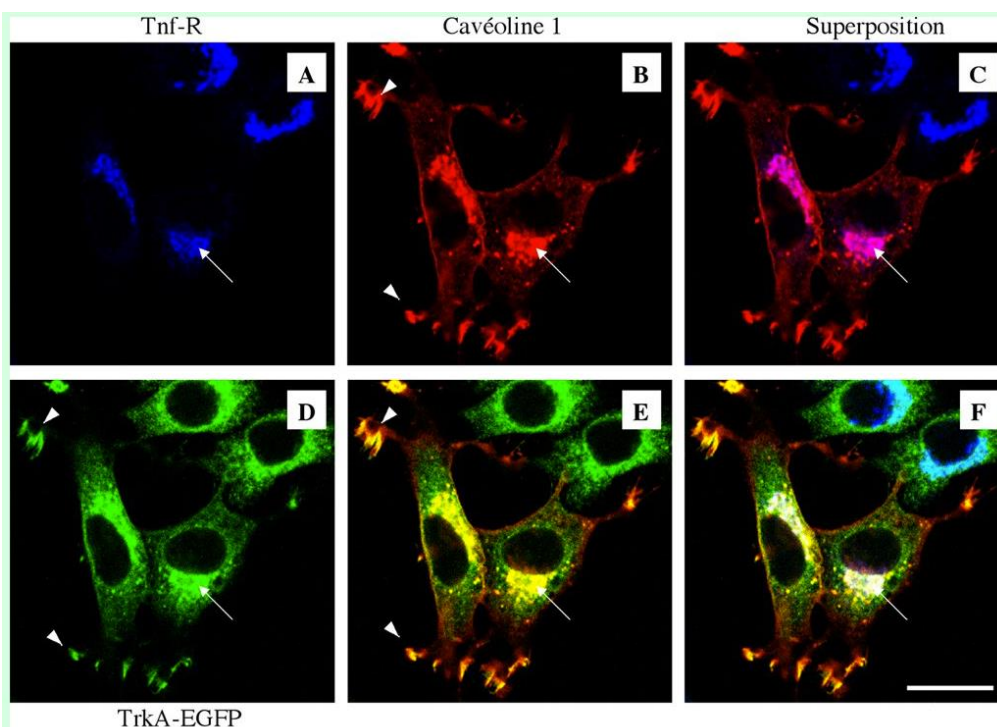
c) A propos de la figure 8 :

D) Cette expérience de FRET suggère que les molécules «donneurs» et «accepteurs» sont toutes co-localisées dans la cellule

E) Toutes les propositions sont fausses

QCM 9 :

La microscopie confocale permet d'étudier la localisation de différentes protéines dans les cellules. Des cellules PC12 (lignée tumorale dérivée de la crête neurale, chez le Rat) ont été transfectées pour exprimer la cavéoline 1 (protéine permettant de former des vésicules sur les membranes) et TrkA (récepteur du NGF=Nerve Growth Factor). TrkA a la particularité d'être fusionné à la GFP (Green Fluorescent Protein), ce qui permet de le localiser par fluorescence verte. La cavéoline 1 est détectée par un anticorps de lapin suivi d'un anticorps secondaire anti-lapin couplé à un fluorochrome rouge. Elle apparaît donc en rouge. Le récepteur à la transferrine est détecté par un anticorps de souris suivi d'un anticorps secondaire anti-souris couplé à un fluorochrome bleu. Il apparaît donc en bleu.



NB : toutes les images représentent le même endroit de la culture cellulaire (on regarde les mêmes cellules)

(A) Le marquage du compartiment endosomal par le récepteur à la transferrine (Tnf-R) apparaît en bleu.

(B) Marquage de la cavéoline 1 en rouge.

A) Pour localiser le TrkA on utilise l'immunofluorescence indirecte

B) Les anticorps et les fluorochromes ont été judicieusement choisis, et il va être possible de faire une double visualisation (Cavéoline 1 + Transferrine)

C) Pour visualiser les la TrkA, la cavéoline et la transferrine en même temps, l'anticorps secondaire qui permet de localiser la cavéoline peut être un anticorps de chèvre ou un anticorps de souris

On remarque que 2 cellules ne sont pas fluorescentes (en haut à droite) dans l'image B.

D) On peut émettre l'hypothèse « cet absence de fluorescence est due à la non transfection du gène de la cavéoline dans ces 2 cellules » (la transfection d'une population de cellules n'est jamais efficace à 100%).

E) La cavéoline et le récepteur à la transferrine sont nucléaires alors que le TrkA est cytoplasmique.

QCM 10 : Les techniques de fluorescence:

A) La technique du FRET repose sur un transfert radiatif d'énergie entre 2 fluorochromes dont les spectre d'émission et d'absorption se chevauchent

B) Ondine veut étudier la dynamique des protéines membranaire, TROP COOL! Du coup elle entreprend un FRAP. C'est pourquoi elle place sa cellule marquée à la GFP sous un laser branché en continu et observe ce qui se passe à un autre endroit de la cellule. Trop forte Majorette!

C) Les techniques du FRAP et du FISH utilisent un laser pour réaliser un photoblanchiment ou photobleaching.

D) Le FISH permet d'étudier la cinétique des protéines membranaire

E) Aucune de ces réponses

QCM 11 : L'hypercholestérolémie familiale:

L'hypercholestérolémie familiale est une maladie génétique autosomale dominante où la présence à l'état hétérozygote d'une mutation sur les gènes codant le récepteur au LDL produit un déficit de capture des particules LDL. Elle entraîne, entre autre, la formation de plaque d'athérome dans le sang à l'origine d'infarctus du myocarde. On va hybrider le gène codant pour les récepteurs à la LDL avec la séquence codant pour la GFP, fluorochrome provenant de cellule de méduse, dans une cellule d'un sujet malade et une d'un sujet en bonne santé. On obtient les images suivante en microscopie optique:



Cellule saine



Cellule malade

Les croix représentent la fluorescence verte

A) La fluorescence verte suggère que ces cellules sont des cellules de méduse.

B) Les photos démontrent que la protéine hybride est une protéine de la membrane plasmique

C) Les résultats démontrent que la cellule malade comporte autant de récepteur-LDL hybridé GFP sur sa membrane que la cellule saine

D) La synthèse de ces clichés démontre que la maladie ne provient pas d'une diminution du nombre de récepteurs mais d'une perte de fonction de ces récepteurs.

E) Aucune de ces réponses

QCM 12 : Fluorescence

Expérience 1 : On met une culture de fibroblaste en présence d'iodure de propidium. On observe les cellules au microscope à fluorescence, aucune fluorescence n'est détectée.

On effectue ensuite une électroporation sur ces mêmes fibroblastes en présence d'iodure de propidium. Au microscope à fluorescence on observe une coloration nucléaire.

Expérience 2 : On décide de différencier les cellules nécrotiques des cellules apoptotiques dans une culture cellulaire (différente de la première). Lors de la nécrose, la membrane cellulaire éclate alors qu'elle reste intacte durant le phénomène d'apoptose. On met nos cellules en présence d'iodure de propidium (intercalant de la double hélice d'ADN). On observe ensuite les résultats au microscope à fluorescence.

A) Seules les cellules nécrotiques seront fluorescentes

B) Toutes les cellules seront fluorescentes

Grâce à d'autres techniques, on évacue les cellules nécrotiques et apoptotiques de notre culture cellulaire. On ajoute un détergent et du iodure de propidium pour visualiser les différents niveaux de condensation de l'ADN dans le noyau des cellules.

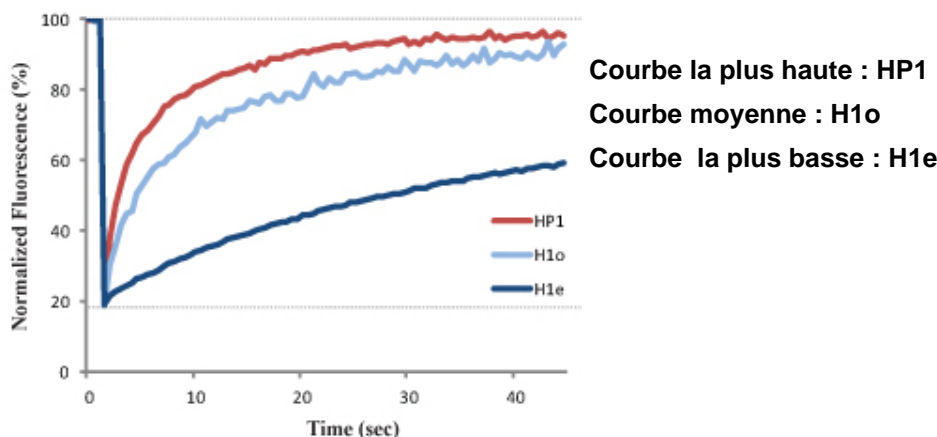
C) Toutes les cellules seront fluorescentes

D) On observe, dans les noyaux des cellules fluorescentes, des zones d'intense fluorescence témoignant de la présence d'euchromatine, des zones de fluorescence moindre témoignant de la présence d'hétérochromatine et une zone du noyau non fluorescente témoignant de la localisation du nucléole

E) Aucune de ces propositions n'est exacte

QCM 13 : Méthode d'étude de la cellule

Expérience : Dans une cellule, on marque avec 3 fluorochromes différents les protéines HP1, H1o et H1e qui interagissent avec la chromatine dans le noyau. On irradie au laser transitoirement une zone nucléaire dans une cellule. On observe ensuite la cellule au microscope à fluorescence. Les résultats sont résumés par le schéma ci-contre.



A) Ici, on a réalisé un FLIP

B) Le but de l'expérience est de mettre en évidence la proximité (distance inférieure à 10nm) des 3 protéines

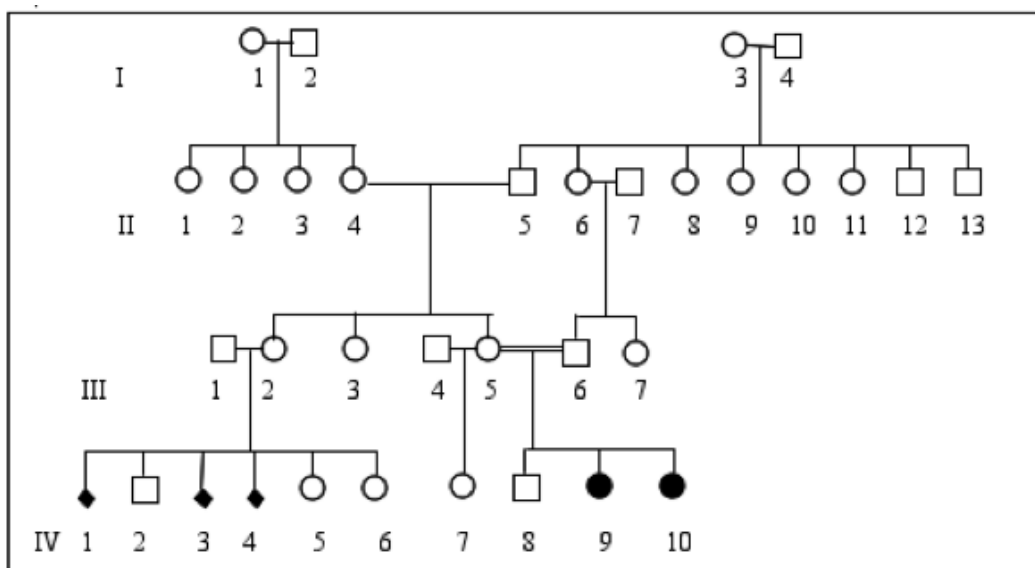
C) Les deux protéines H1 sont moins mobiles que les protéines HP1

D) Le rapprochement de ces protéines à moins de 10 nm permet l'observation de fluorescence

E) Aucune de ces propositions n'est exacte

Expérience : Xeroderma pigmentosum

C'est une maladie humaine qui se manifeste principalement par une tendance accrue à développer des cancers de la peau, particulièrement en s'exposant au soleil (rayons UV).



Interprétation de l'arbre généalogique :

Il présente deux individus atteints, de la même fratrie (IV-9 et 10, ce qui exclut la mutation de novo) et dont les parents sont sains. Les parents doivent donc être porteurs sains et [XP] est récessif devant [sain].

type de cellules	nb de grains d'argent	type de cellules	nb de grains d'argent
sauvage	100	XP7BE	27
XP1LO	<2	XP8BE	15
XP1BE	20	XP10BE	13
XP2BE	15	XP11BE	6
XP3BE	12	XP12BE	<2
XP5BE	38	XP KMSF	<2
XP6BE	47		

Les cellules de sujets sains ou atteints de XP peuvent être mises en culture et se distinguent par leur capacité à intégrer des nucléotides (que l'on choisit marqués pour les repérer) après exposition des cultures aux rayons UV. Une autoradiographie révèle la quantité de radioactivité retenue (proportionnelle au nombre de grains d'argent impressionnés).

QCM 14 : Ces premières données

- A) Indiquent que les 2 allèles des gènes responsables de la maladie sont mutés chez les patients IV-9 et iV-10
- B) Démontrent que Les cellules XP3BE sont difficilement capables d'intégrer des nucléotides à la suite d'une lésion due aux UV
- C) Suggèrent que XP1LO, XP12BE XPKMSF et XP11BE sont des mutations du même gène
- D) Suggèrent que les gènes sont impliqués dans le système de réparation de l'ADN (On rappelle que les UV créent des dommages à l'ADN, normalement réparés par la machinerie cellulaire)
- E) Toutes les propositions sont fausses

QCM 15 : On va faire un test de complémentation

- A) Un test de complémentation ne peut se faire qu'avec des mutations dominantes
- B) La complémentation d'une mutation récessive c'est l'habilité à restaurer une fonction en combinant dans une même cellule deux gènes dont au moins un est muté.
- C) A cause du cas exceptionnel de la suppression intragénique, on ne peut que suggérer que 2 mutations sont allèles d'un même gène lorsqu'il n'y a pas complémentation
- D) Former un noyau hybride peut être utile dans le cas d'un gène qui est traduit dans le nucléoplasme.
- E) Toutes les propositions sont fausses

Grâce à la culture cellulaire on dispose d'un dispositif expérimental. Les cellules qui sont mises en culture sont diploïdes. On sait les obliger à fusionner et on obtient ainsi des tétraploïdes, qui ont en commun les gènes des deux cellules parentales.

Lorsque les cellules sont prélevées sur un malade, puisque la maladie est récessive devant le phénotype sain, elles sont homozygotes. Lorsqu'elles proviennent d'un sujet sain, étant donné la rareté des malades, le plus probable est qu'elles soient homozygotes pour un allèle sain. (Considérez donc qu'on fait un test de complémentation normal, enfin, ne vous prenez pas la tête avec ça).

Pour classer les malades par gène muté on va donc effectuer des tests de complémentation entre cultures de cellules issues de ces malades.

Dans la ligne «Référence» on a effectué un croisement entre le phénotype sauvage et chacune des mutations.

cellule 2n	1BE	2 BE	3 BE	5 BE	6 BE	7 BE	8 BE	10 BE	11 BE	12 BE	1LO	KMSF
Référence	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 BE	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
2 BE		-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
3 BE			-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
5 BE				-	-	-	+	+	+	+	+	+
6 BE					-	-	+	+	+	+	+	+
7 BE						-	+	+	+	+	+	+
8 BE							-	-	+	+	+	+
10 BE								-	+	+	+	+
11 BE									-	+	+	+
12 BE										-	-	-
1LO											-	-
KMSF												-

QCM 16 : Groupes de complémentation

- A) La ligne «référence» sert à prouver que ces mutations sont récessives devant le phénotype sauvage, et permettent donc de faire le test de complémentation
- B) Ces résultats démontrent que 8BE et 2BE sont allèles d'un même gène
- C) Ces résultats démontrent que 5BE 6BE et 7BE appartiennent à un même groupe de complémentation.

Alexis et Guillaume ont classé les mutations en 4 groupes de complémentation :

gène A	gène B	gène C	gène D
1BE	5BE	11BE	12BE
2BE	6BE	10BE	1LO
3BE	7BE		KMSF
8BE			

- D) Ces garçons sont vraiment trop forts, ils ont tout bon !
- E) Toutes les propositions sont fausses

QCM 17 : A propos de la sélection des anticorps monoclonaux :

- A) Il est préférable de faire de l'immunofluorescence indirecte avec des anticorps monoclonaux.
- B) Un lymphocyte en milieu HAT rendu négatif pour l'enzyme HGPRT ne peut pas se diviser
- C) Lorsqu'on transfère sur milieu HAT les cellules fusionnées (lymphocytes spléniques + cellules de myélome de souris), seules les cellules non fusionnées peuvent se diviser.
- D) Les anticorps monoclonaux sont très utiles pour la chromatographie d'affinité.
- E) Toutes ces propositions sont fausses

QCM 18 : A propos de la transgénèse:

- A) L'expression transitoire d'un transgène, c'est l'expression de ce gène pendant quelque temps avant que ce dernier ne soit perdu par "dilution" au cours des divisions
- B) L'expression transitoire est le résultat d'une recombinaison dite illégitime
- C) Le KO d'un gène est l'invalidation de ce gène par un transgène à la suite d'une recombinaison illégitime ou légitime
- D) Le KO d'un gène codant pour une protéine permet de suivre cette protéine par fluorescence une fois qu'elle est traduite dans le cytoplasme.
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

QCM 19 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) La durée entre la lumière d'excitation et d'émission est extrêmement rapide
- B) L'énergie de la lumière d'émission est supérieure à l'énergie de la lumière d'absorption
- C) Le miroir dichroïque réfléchit uniquement certaines longueurs d'onde
- D) Les fluorochromes peuvent être associés directement ou indirectement à la structure cellulaire à étudier
- E) La GFP est un marqueur très utilisé en biologie de par son caractère universel

QCM 20 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) La GFP émet dans le bleu
- B) C'est en modifiant l'extrémité Nt de la GFP que l'on obtient des variants comme la BFP
- C) Il y a intérêt à utiliser simultanément la GFP et la Fluorescéine pour localiser simultanément deux molécules
- D) La micro-injection est une technique peu utilisée car elle est très lente
- E) L'électroporation crée des trous définitifs dans la membrane de la cellule

QCM 21 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) En fusionnant le gène de la GFP à une autre protéine, on pourra prouver la localisation de cette protéine par la microscopie à fluorescence
- B) Le FRET est un transfert d'énergie non-radiatif
- C) Le FRET est un phénomène physique qui nécessite que le spectre de la lumière d'émission de la première molécule couvre le spectre de la lumière d'absorption de la deuxième molécule et que les deux molécules soient à moins de 10 nm
- D) Lorsque l'intensité de lumière envoyée sur une molécule fluorescente est très élevée, la molécule peut perdre définitivement sa capacité d'émission de lumière. C'est le principe du photoblanchiment
- E) La réapparition rapide de la fluorescence suite au photoblanchiment se fait grâce à la synthèse de nouvelles molécules fluorescentes

QCM 22 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Hoescht et DAPI sont fluorescents lorsqu'ils se fixent sur les bases A-T
- B) Avec la coloration au DAPI, les zones de faibles coloration correspondent au nucléole
- C) Les lymphocytes qui nous intéressent pour l'immunofluorescence indirecte sont les LT
- D) Si on veut visualiser simultanément deux protéines, il faut des anticorps primaires provenant de deux espèces différentes.
- E) Pour utiliser l'immunofluorescence indirecte, il faut au préalable fixer la structure à étudier

QCM 23 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Le FISH permet uniquement la visualisation de l'ADN
- B) Le principe du FISH est l'hybridation d'une sonde d'ADN fluorescente à un autre brin complémentaire non-fluorescent
- C) On observera le noyau avec la technique du FISH-ARNm
- D) La microscopie confocale permet de visualiser en haute résolution des échantillons épais en 3D
- E) La microscopie confocale permet d'obtenir des images de section optique en éliminant les signaux dans le champ focal grâce à un diaphragme ou pin-hole

QCM 24 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Le microscope nano-microscopique ou à super-résolution permet de distinguer deux molécules à une distance inférieure à 200 nm
- B) Avec la microscopie électronique, on a un gain de résolution d'un facteur 100 par rapport à la microscopie optique
- C) Dans la microscopie électronique, le faisceau d'électrons traverse toujours la préparation
- D) Les métaux lourds sont opaques aux électrons et servent d'agents de contrastes dans la microscopie électronique
- E) Il est préférable d'utiliser des conditions sous vide dans la microscopie optique

QCM 25 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) La structure observée est d'autant plus foncée qu'elle est dense aux électrons
- B) Dans la coloration à l'or, on utilise un antigène
- C) Dans la coloration par ombrage, on observe uniquement la réplique de la structure
- D) Le plan de fracture d'une cellule correspond aux zones de fortes résistances de la membrane
- E) Dans la microscopie à balayage, la résolution est plus forte que la microscopie à transmission

QCM 26 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Dans l'AFM, plus la pointe est fine, meilleure est la résolution
- B) La déflexion est un phénomène essentiel dans l'AFM
- C) Pour éliminer la matrice extra-cellulaire et les contacts intercellulaires, on peut utiliser des protéases ou des chélateurs du Ca²⁺
- D) La purification sur support et la cytométrie correspondent à des méthodes physiques pour la séparation cellulaire
- E) Dans la purification sur support, la sélection négative est la solution la plus avantageuse biologiquement

QCM 27 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Le FACS sépare lentement les cellules en fonction de leur fluorescence
- B) La cytométrie permet de quantifier l'ADN selon l'état du cycle cellulaire
- C) Un des avantages de la culture cellulaire est la présence de mutants
- D) Un secteur correspond à une partie de la boîte de Pétri où sont apparus les mutants
- E) On cultive souvent les cellules animales sur un support plastique

QCM 28 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Le sérum est indispensable pour bloquer la division des cellules animales
- B) Au bout d'une cinquantaine de divisions, une cellule d'une culture primaire meurt
- C) Si on introduit la télomerase dans une cellule, on obtiendra une lignée immortelle de cette cellule
- D) La lyse cellulaire consiste à libérer le contenu de la cellule dans un tube à essai
- E) Les éléments les moins denses vont sédimenter plus vite que les autres

QCM 29 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Au dessus de 10 000g, on parle d'ultracentrifugation
- B) La dernière partie restant après les différentes étapes de centrifugation est le cytosol
- C) Dans la centrifugation à l'équilibre, ou centrifugation en gradient de densité ou iso pycnique, les éléments les plus denses sont au fond du tube à essai
- D) Le syndrome de Zellweger est un problème de compartimentation enzymatique
- E) Grâce au NGS, on peut séquencer plusieurs gigabases en quelques jours

QCM 30 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Dans le principe de la biopuce, l'ADNc s'hybride avec les gènes présents sur la biopuce
- B) Il y a environ 50% des gènes d'une cellule qui sont transcrits
- C) La spectrométrie de masse permet de calculer le rapport masse/charge
- D) Le phénotype dépend du génotype
- E) Un organisme diploïde a une copie de chaque chromosome

QCM 31 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Un allèle dominant complémente une mutation récessive
- B) Les mutations changement de fonction suggèrent fortement que la mutation est dominante
- C) Pour que le test de complémentation soit représentatif, il faut que les mutations soient dominantes
- D) La complémentation est l'habilité à restaurer le phénotype sauvage en combinant deux gènes dont au moins un est normal
- E) S'il y a complémentation entre deux mutations, on dit qu'elles appartiennent à deux groupes distincts de complémentation

QCM 32 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) S'il y a complémentation entre deux mutations, il est impossible qu'elles soient allèles d'un même gène
- B) Dans le cas de la suppression intra-génique, les deux mutations appartiennent au même gène
- C) Si on fait un test de complémentation entre deux cellule diploïdes, on peut déjà tirer les conclusions définitives au stade d'hétérocaryon
- D) Dans le cas des mutations thermosensibles, on dit que la température est permissive lorsque la mutation s'exprime
- E) La morphologie des levures est caractéristique de la phase du cycle cellulaire. Par exemple, la levure présente un petit bourgeon en phase S

QCM 33 : Donner la ou les proposition(s) vraie(s)

- A) Très souvent, le transgène est intégré dans le génome de la cellule transgénique par recombinaison
- B) L'intégration par recombinaison illégitime est une intégration au hasard
- C) En remplaçant un gène endogène par un gène inactif par une intégration ciblée, on dit que le gène est invalidé ou KO
- D) Les gènes de sélection permettent de vérifier si la recombinaison a bien eu lieu
- E) Dans les souris mosaïques, toutes les cellules murines expriment le transgène

Correction : Méthodes d'étude de la cellule**2011 – 2012****QCM 1 : Réponses B,C**

- A) Faux : la microscopie électronique a une résolution allant jusqu'à 0,2nm, c'est seulement 200 nm pour la microscopie optique.
- B) Vrai : si on parle de la protéine cadhérine-GFP on peut démontrer le résultat (l'observation microscopique ne ment pas, si c'est membranaire, c'est pour de vrai). En revanche ATTENTION si on parle de la protéine cadhérine (TOUT COURT) on ne peut que SUGGERER notre résultat!
- C) Vrai, attention, fonction différent de localisation
- D) FAUX ! on ne peut que suggérer !

QCM 2 : Réponse D

- A) Faux
- B) Faux
- C) Faux
- D) Vrai

QCM 3 : Réponse C

- A) Faux : c'est justement l'avantage de la GFP
- B) Faux : elles ne disparaissent pas, elles perdent seulement leur propriété fluorescente.
- C) Vrai
- D) Faux : les molécules ne redeviennent pas fluorescentes, mais d'autres molécules fluorescentes vont venir à l'endroit qui a été photoblanchi. C'est la zone observée qui redevient fluorescente.

QCM 4 : Réponse E

- A) Faux : pas avec l'ARN qui est simple brin
- B) Faux : pas d'anticorps spécifiques de l'ADN
- C) Faux : on peut ! (Youhouuu)
- D) Faux : c'est un microscope optique !

QCM 5 : Réponses A,C,D

- B) Faux : d'abord l'analyse

QCM 6 : Réponse A

- A) Vrai
- B) Faux : les 2 fluorochromes émettent à la même longueur d'onde (ils ont la même couleur).
- C) Faux
- D) Faux : il faut 4 animaux différents : si on a Ac_A = souris, Ac_B = ornito comme Ac primaires et qu'on balance des Ac secondaires de souris se fixant sur l'ornito, on aura en surface plus que des Ac de souris (à la fois sur les Ac_A et les Ac_B). Du coup si on balance après des Ac secondaires d'ornito se fixant sur des Ac de souris, on ne visualisera que de l'ornito (couplé au fluorochrome) en surface. Pire ! Si on balance les 2 Ac secondaires en même temps, on aura des Ac secondaires d'ornito sur nos Ac_A et nos Ac_B et des Ac secondaires de souris sur nos Ac_A et nos Ac_B . Du coup on visualisera 2 couleurs différents qui ne correspondront pas à nos 2 protéines, mais qui correspondront à un peu de l'une et un peu de l'autre.

QCM 7 : Réponse E

- A) Faux : on réalise un FRET intramoléculaire.
- B) Faux : longueur d'onde d'émission > longueur d'onde d'absorption
Energie d'émission < énergie d'absorption. (**Par cœur !!**)
- C) Faux : S'il y a plus de calcium, il y aura plus de lumière émise à 530nm et moins de lumière émise à 490nm (car il y aura plus de FRET), donc le rapport 530/490 augmente. Il y a donc plus de calcium à $T=400s$, donc plus de calmoduline avec CFP et YFP proches (car elle a fixé du calcium) que de calmoduline avec CFP et YFP éloignés (sans fixation de calcium), donc plus de FRET qu'à $T=120s$.
- D) Faux : c'est la concentration de calcium à $T=350s$ qui est supérieure à la concentration en calcium à $T=0s$. La calmoduline c'est notre sonde, on en met une certaine quantité au début et on n'y touche plus, elle va nous servir à mesurer la concentration de calcium.

QCM 8 : Réponse A

- A) Vrai (cadeau de Noël anticipé) C'est écrit sur le schéma «SEPARATED PROTEIN MOLECULE» Et ne vous faites pas avoir, c'est pas parce que sur le dessin du bas les 2 protéines sont collées que c'est une seule molécule !
- B) Faux ! Ces deux couples sont à une distance de plus de 4nm, donc d'après la courbe, le FRET va fonctionner à moins de 50 %
- C) Faux ! Ici le problème c'est pas du tout le spectre d'absorption / d'émission, mais la DISTANCE entre les 2 fluorochromes ! attention ! Ces résultats ne nous apportent pas d'informations sur les spectres
- D) Faux : Non pas toutes, juste certaines parce que le FRET a fonctionné, mais on voit bien que dans l'image (c) il y a beaucoup moins de fluorescence que dans (a) et (b) donc cette expérience montre qu'une partie des molécules donneur et accepteur est colocalisée dans cette cellule

QCM 9 : Réponses B,D

- A) Faux ! là il suffit de lire le texte !
- B) Vrai : ils sont pas bêtes ...
- C) Faux ! voir le cours, on peut pas utiliser un anticorps secondaire de souris sachant que l'anticorps primaire pour localiser le récepteur à la transferrine est un anticorps de souris
- D) Vrai ! ça colle parfaitement, on nous dit dans le texte qu'on a transfecté la cavéoline, donc il est tout à fait possible que ça n'ait pas marché pour ces deux cellules là.
- E) Faux : Euh ... pas du tout !

QCM 10 : Réponse E

- A) Faux : car le transfert est non radiatif
- B) Faux : Oh mon dieu Ondine s'est grave planté de technique!! elle a confondu le FLIP et le FRAP. Sacré Ondine!
- C) Faux : les techniques du FRAP et du FLIP
- D) Faux : Rien à voir, la technique du FISH consiste à faire une sonde complémentaire d'un brin d'ADN ou d'ARN.

QCM 11 : Réponses BC

- A) Faux : rien à voir
- B) Vrai : on parle de la protéine hybride
- C) Vrai
- D) Faux : ça ne démontre pas, ça ne fait que suggérer et encore, il y aurait d'autres hypothèses.

QCM 12 : Réponses A,C

- B) Faux : Seules les cellules qui ont des « trous » dans la membrane (donc les cellules nécrosées dont la membrane est altérée) ont pu laisser rentrer l'iodure de propidium qui s'est ensuite intercalé dans la double hélice d'ADN et est devenu fluorescent.
- D) Faux : euchromatine = ADN peu condensé = fluorescence faible ! Hétérochromatine = ADN très condensé = fluorescence forte.

QCM 13 : Réponse C

- A) Faux : c'est un FRAP !
- B) Faux : Ça c'est du grand n'importe quoi (gnark gnark...)
- C) Vrai
- D) Faux : Ça c'est du grand n'importe quoi...

QCM 14 : Réponses A,B,D

- A) Vrai : Oui ! C'est une mutation récessive, les 2 parents sont porteurs sains et chacun a donné à l'enfant l'allèle muté (pas de chance ...)
- B) Vrai : Oui, ce sont les résultats du tableau qui nous le montre
- C) Faux : Non pas du tout
- D) Vrai : Oui ! Et en plus je crois que Gilson l'a dit en cours

QCM 15 : Réponse B

QCM de cours !

- A) Faux : récessives
- B) Vrai : C'est la définition textuelle de la récession

C) Faux : Attention, c'est un item où il faut bien avoir compris le fonctionnement du truc!

→ PAS complémentation = On DEMONTRE que c'est allèle

→ Complémentation = On SUGGERE que c'est PAS allèle (mais ça peut l'être à cause de la suppression intragénique)

D) Faux ! Piège un peu vicieux. mais Gilson a BEAUCOUP INSISTE sur le fait que TOUTES LES PROTEINES SONT TRADUITES DANS LE CYTOPLASME. Les protéines de localisation nucléaire rejoindront ensuite le noyau par les pores nucléaires

QCM 16 : Réponses A,B,C

A) Vrai ! très important, on ne peut faire le test de complémentation QUE si les mutations sont récessives

B) Vrai car il n'y a PAS complémentation (-)

C) Vrai ! On voit que 5-6 ne se complémentent pas, idem pour 6-7 et 5-7. Ils appartiennent donc bien au même groupe de complémentation.

D) Faux ! Le 10BE devrait être dans la colonne du gène A !

QCM 17 : Réponses A,B,D

C'est du cours.

QCM 18 : Réponse A

A) Vrai : c'est la définition

B) Faux : attention, lors d'une recombinaison, même si elle est illégitime, on a une intégration de notre transgène dans l'ADN. Ce transgène va donc être répliqué et ne sera pas "dilué" au cours des divisions.

C) Faux : seulement légitime

D) Faux : rien à voir

QCM 19 : Réponses A,C,D,E

QCM 20 : Réponse D

QCM 21 : Réponses B,C,D

QCM 22 : Réponses A,D,E

QCM 23 : Réponses B,D (E faux, c'est les signaux hors champ qu'on enlève...)

QCM 24 : Réponses A,B,D

QCM 25 : Réponses A,B,C

QCM 26 : Réponses A,B,C,E

QCM 27 : Réponses B,D,E

QCM 28 : Réponses C,D

QCM 29 : Réponses B,C,D,E

QCM 30 : Réponses A,C,D

QCM 31 : Réponses A,B,E

QCM 32 : Réponses B,E

QCM 33 : Réponses B,C,D

3. Compartiments membranaires de la cellule eucaryote

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

QCM 1 : A propos de l'endocytose et de l'exocytose

- A) Les anticorps du lait maternel subissent une pinocytose dans l'entérocyte du nourrisson
- B) Le pH augmente de l'endosome précoce au lysosome secondaire.
- C) Un endosome précoce est un endosome qui n'a pas encore reçu de matériel à digérer
- D) L'apotransferrine est une glycoprotéine qui a fixé des atomes de Fer
- E) Toutes les propositions sont fausses

QCM 2 : A propos de l'insertion des protéines dans les membranes.

La protéine X est une enzyme protéolytique du réticulum endoplasmique (RE). Elle intervient dans les processus de maturation post-traductionnels des protéines.

Au fur et à mesure des expériences, on s'est rendu compte que l'insertion de la protéine dans le RE est co-traductionnelle.

D'autre part, on sait que la protéine X une fois dans le RE est plus petite que lorsqu'elle vient d'être traduite dans le cytosol.

On suppose donc la présence d'un peptide P qui serait clivé lors de l'entrée de la protéine dans le RE.

On cherche à connaître le rôle de ce peptide dans le phénomène d'adressage de la protéine au RE.

Dans une des expériences précédentes, on a mis un gène codant pour la protéine X radioactive en présence de RE et des éléments nécessaires à la transcription et à la traduction. On a observé une radioactivité provenant du RE.

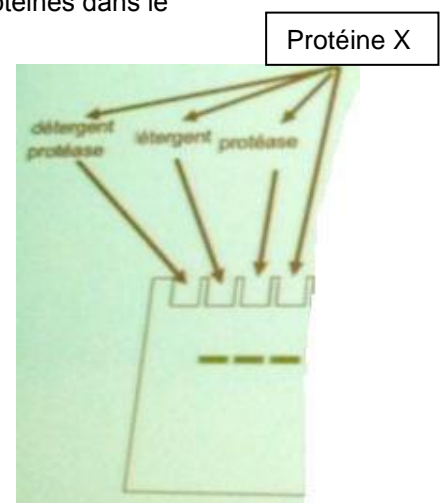
Nouvelle expérience :

On prépare en laboratoire un transgène qui code pour la protéine X radioactive sans le peptide P.

- a) On met le gène en présence des éléments nécessaires à la transcription et à la traduction. Une fois la protéine traduite, on insère un réticulum dans la préparation. On observe une radioactivité périphérique au RE.
- b) On met le gène en présence de RE et des éléments nécessaires à la transcription et à la traduction. On observe une radioactivité périphérique au RE.
- A) Comme on sait que l'insertion de la protéine dans le RE est co-traductionnelle, les résultats de l'expérience b) étaient prévisibles
- B) Cette expérience démontre que le peptide signal est suffisant à l'insertion des protéines dans le RE

On cherche à savoir si la protéine X est transmembranaire ou si elle se situe entièrement dans la lumière du RE. On fait alors une expérience d'électrophorèse : On fait migrer la protéine après différentes étapes résumées sur le schéma.

- C) Cette expérience démontre que la protéine X est située intégralement dans la lumière du RE
- D) Cette expérience ne prouve rien puisque détergents ou protéases dénaturent la protéine.
- E) Aucune de ces propositions n'est exacte.



QCM 3 : A propos des lipides membranaires

On cultive des fibroblastes en laboratoire. On visualise par immunofluorescence indirecte les phosphatidylsérines membranaires. On s'intéresse ici aux phosphatidylsérines de la membrane plasmique. Les phosphatidylsérines sont majoritaires sur le feuillet interne de la membrane plasmique en conditions normales.

On réalise un FRAP spécifiquement ciblé sur une zone de la membrane interne :
On observe la réapparition progressive de la fluorescence après quelques instants.

- A) Cette réapparition de fluorescence peut être expliquée par l'action des floppases
- B) Cette réapparition de fluorescence peut être expliquée par les translations passives des lipides à l'intérieure d'un même feuillet de membrane

Après un certain temps (on a terminé le FRAP depuis longtemps et tout est redevenu normal), on observe sur certaines cellules une externalisation des phosphatidylsérines sur le feuillet externe de la membrane plasmique.

- C) Ceci peut être dû à l'action de la flippase qui est très spécifique des phosphatidylsérines et qui les externalise en cas d'apoptose
- D) On peut aussi observer une externalisation des phosphatidylsérines lors de la coagulation sanguine
- E) Aucune de ces propositions n'est exacte

QCM4 : A propos du complexe enzymatique E1/E2/E3 et du protéasome:

- A) E1, E2 et E3 sont en permanence liés entre eux
- B) E1 interagit directement avec le protéasome
- C) Une protéine doit être ubiquitinisée au moins 4 fois pour être prise en charge par le protéasome
- D) Une protéine ubiquitinisée est vouée à la dégradation par le protéasome
- E) Le protéasome a besoin d'une pompe à proton pour diminuer le pH et ainsi dégrader les protéines

QCM5 : A propos des V-ATPase et F-ATPase:

- A) La V-ATPase est présente sur le lysosome car elle permet, par hydrolyse d'ATP, de faire rentrer des protons dans le lysosome et ainsi de faire chuter le pH
- B) La F-ATPase est présente sur la mitochondrie car elle permet la production d'ATP à partir d'ADP en utilisant un gradient de protons
- C) La V-ATPase fait tourner le rotor permettant ainsi le transport des protons en déformant la sous unité gamma.
- D) La F-ATPase crée de l'ATP à partir d'ADP grâce à la déformation de la sous unité gamma
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

Correction : Compartiments membranaires de la cellule eucaryote**2011 – 2012****QCM 1 : Réponse E**

- A) Faux : transytose
- B) Faux : il y a acidification donc DIMINUTION du pH
- C) Faux : ça c'est pour les lysosomes
- D) Faux : c'est la Ferritransferrine qui a fixé le Fer.

QCM 2 : Réponse C

- A) Faux : les résultats de l'expérience **a)** étaient prévisibles
- B) Faux : **NECESSAIRE** et pas suffisant !! Revoir les différentes expériences à la fin de la ronéo 5.
- C) Vrai
- D) Faux : rien à voir. Même si on avait eu une protéine transmembranaire, oui les protéases auraient dénaturé la protéine puisqu'elles auraient digéré toute sa partie à l'extérieure du RE, mais c'est le but de l'expérience ! C'est pour voir des différences de migration sur le gel.

QCM 3 : Réponses B,D

- A) Faux : par les **flippases** ! Les floppases font le transfert des lipides du feuillet interne vers le feuillet externe. Donc ils n'auraient pas pu ramener des protéines fluorescentes depuis la membrane externe vers la membrane interne.
- B) Vrai : comme on a fait le FRAP que sur une certaine partie de la membrane interne c'est possible.
- C) Faux : les flippases font la réaction inverse : feuillet externe vers feuillet interne.
- D) Vrai

QCM 4 : Réponse C

- A) Faux : E1 est libre dans le cytosol, c'est elle qui va aller activer l'ubiquitine et la transférer à E2.
- B) Faux : Pas du tout confère A
- C) Vrai
- D) Faux : Ce n'est pas un mécanisme courant mais une ubiquitination peut être nécessaire à l'assemblage protéique.
- E) Faux : le protéasome utilisent des protéases pour "découper" les protéine en morceaux de 6-8 aa.

QCM 5 : Réponses A,B,C,D

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai : Et ça c'est fou =D.

4. Le cytosquelette et la mitochondrie

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

QCM 1 : A propos de la mitochondrie:

- A) Elle possède son propre génome ce qui lui permet d'être totalement indépendante du reste de la cellule par rapport à la production de ses protéines
- B) Bien que la division des mitochondries soit régulée par le cycle cellulaire, elle peuvent augmenter leur population par 10 en cas d'effort de l'organisme
- C) C'est elle qui produit l'énergie de la cellule grâce à la création d'un gradient électro-chimique d'électron de part et d'autre de sa membrane.
- D) Dans une cellule vieillissante les mitochondries vont devenir de plus en plus défectueuse et se mettre à oxyder et donc détruire les protéines de leur environnement
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

QCM 2 : A propos du cytosquelette

- A) Intégrines, cadhérines, sélectines, et immunoglobulines d'adhérences constituent les 4 superfamilles de la classe des protéines CAM (Cell Adhesion Molecule)
- B) Lors de l'exocytose, le calcium a un rôle important dans le phénomène de « dissolution » du réseau cortical de microfilaments d'actine
- C) La bactérie *Listeria monocytogenes* impliquée dans certaines intoxications alimentaires fabrique elle-même les microfilaments d'actine qu'elle dispose en queue de comète pour pouvoir se déplacer
- D) La tubuline gamma permet de nucléer la partie distale des microtubules à partir du matériel pér centriolaire.
- E) L'association de molécules de tubulines en microtubules nécessite de l'ATP

Correction : Le cytosquelette

2011 – 2012

QCM 1 : Réponses B,D

- A) Faux : elle ne peut se passer de certaines protéines qui proviennent du génome nucléaire
- B) Vrai
- D) Faux: un gradient électro-chimique de protons
- D) Vrai

QCM 2 : Réponses A,B

- A) Vrai
- B) Vrai : il permet à la gelsoline d'agir.
- C) Faux : elle ne fabrique pas les microfilaments, elle utilise ceux de la cellule qu'elle a envahie.
- D) Faux : elle est utilisée dans la partie proximale des MTs, au niveau des centrosomes !
- E) Faux : Ca nécessite du GTP. Oui, c'est un peu méchant, désolé...^^

5. La mitose

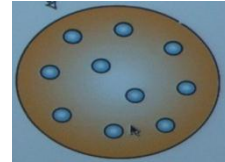
2011 – 2012 (Pr.Gilson)

QCM 1 : Division cellulaire et cytosquelette

Dans une culture cellulaire, On réalise un immunomarquage à la rhodamine des protéines de myosine II et un immunomarquage à la fluorescéine des protéines de myosine. On observe ici la phase de mitose.

- A) Il y a une corrélation entre la position de la myosine II et son action durant la cytokynèse.
- B) Cette image démontre que la myosine II est nécessaire à la division des cellules.

On réalise une expérience dans laquelle on transfecte un ADN K.O. pour le gène de la myosine II. On obtient ce type de cellules après quelques jours :



- C) Cette expérience démontre que la myosine II est nécessaire à la division des cellules

Item de cours :

- D) La myosine II forme un anneau contractile autour des cellules durant la mitose alors que la myosine I est plutôt impliquée dans les processus de locomotion ou d'extension des lamellipodes (souvent phase G0, G1, S ou G2).
- E) Toutes les propositions sont fausses

QCM 2 : A propos de la mitose :

On étudie la méiose des ovocytes de Xénope. La progestérone permet la maturation des ovocytes de la phase G2 de méiose 1 à la phase M de méiose 2. Là, les ovocytes se bloquent. C'est l'activation par un spermatozoïde qui permet ensuite la fin de la méiose 2 puis la constitution d'une cellule-œuf.

Expérience 1 : In-vitro, on fait des cultures d'ovocytes sans progestérone. Ils restent bloqué en G2 de méiose 1. On injecte un extrait cytoplasmique d'un ovocyte bloqué en phase M de méiose 2 dans les ovocytes de notre culture bloqués en G2 de méiose 1.

- A) Cette expérience démontre que l'extrait cytoplasmique d'œuf mature non fertilisé contient de la progestérone qui est nécessaire et suffisante à la maturation des ovocytes de la phase G2 de méiose 1 à la phase M de méiose 2
- B) Cette expérience démontre qu'il existe une (ou plusieurs) molécule(s) présentes dans l'extrait cytoplasmique d'œuf mature non fertilisé qui est (ou qui sont) nécessaire(s) et suffisante(s) à la maturation des ovocytes de la phase G2 de méiose 1 à la phase M de méiose 2

Le facteur MPF (Facteur Promoteur de la Mitose) a été purifié et identifié en temps que facteur nécessaire et suffisant à la maturation des ovocytes de la phase G2 de méiose 1 à la phase M de méiose 2.

Il a une activité sérine/tréonine kinase. Il phosphoryle notamment l'histone H1 qui est un très bon substrat de cette enzyme

Expérience 2 : On étudie la phosphorylation de l'histone H1 au cours de la méiose de l'ovocyte puis des premiers cycles de la cellule-œuf.

- C) La phosphorylation de l'histone H1 est un bon reflet de l'activité du MPF
- D) Cette expérience suggère que le MPF disparaît après chaque mitose
- E) Cette expérience démontre que le MPF disparaît après chaque mitose

QCM 3 : A propos de la mitose

- A) Une fois le checkpoint passé, la fixation de Mad2 sur le complexe APC-Cdc20 permet l'entrée en anaphase
- B) La poussée d'éjection polaire qu'effectuent les microtubules permet la séparation des chromosomes en 2 chromatides
- C) Le facteur MPF est impliqué dans l'entrée en mitose
- D) APC a un rôle dans la sortie de mitose, notamment dans la dégradation de la cycline B du facteur CDK-Cycline B entraînant la perte d'activité de ce facteur
- E) Aucune de ces réponses n'est correcte

Correction : La mitose

2011 – 2012

QCM 1 : Réponses A,C,D

- A) Vrai : C'est comme quand Gilson prend l'ascenseur avec sa secrétaire, ya anguille sous roche! :-p
B) Faux : Non, rien ne démontre ici ! C'est expliqué dans le cours.
C) Vrai
D) Vrai

QCM 2 : Réponses B,C,D

- A) Faux : ça ne démontre pas, on pourrait avoir un autre facteur qui fonctionne aussi. En plus la progestérone est nécessaire mais rien ne nous dit qu'elle est suffisante.
B) Vrai
C) Vrai : « Il phosphoryle notamment l'histone H1 qui est un **très bon substrat** de cette enzyme »
D) Vrai
E) Faux : il pourrait simplement arrêter de phosphoryler H1. Vous avez vu en bioch que les enzymes ne sont pas toujours actives (régulation blabla... ^^)

QCM 3 : Réponses C,D

- A) Faux : Après le checkpoint, Mad2 n'est plus produite
B) Faux : ça aligne les chromosomes au centre de la cellule

6. Structure et organisation fonctionnelle du noyau

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

QCM 1 : Parmi ces propositions, quelles sont les éléments qui font parti du contrôle proximal de la transcription

- A) Les enhancers
- B) Le complexe d'initiation
- C) Les médiateurs
- D) Les insulateurs
- E) Les silencers

Correction : Structure et organisation fonctionnelle du noyau

2011 – 2012

QCM 1 : Réponses BCContrôle proximal :

- Complexe d'initiation (Pol2 + GTFs)
- Facteurs de transcriptions + co-activateurs sur l'élément de réponse
- Médiateurs

Contrôle distal :

- Enhancers
- Silencers

7. La mort cellulaire

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

Correction : La mort cellulaire

2011 – 2012

8. La signalisation cellulaire

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

Correction : La signalisation cellulaire

2011 – 2012

9. Items et expériences croisées

2011 – 2012 (Pr.Gilson)

EXPERIENCE 1 : La maladie de Wilson:

La maladie de Wilson est une maladie génétique secondaire (mutation autosomique récessive) liée à **une accumulation de cuivre dans les cellules de l'organisme**. Elle se manifeste par des atteintes du foie, du système nerveux et de l'oeil.

Un des marqueurs biochimiques (dosé dans le milieu de culture) principaux de cette maladie est la ceruloplasmine sécrétée par les hépatocytes.

La ceruloplasmine est une enzyme du métabolisme du fer qui utilise comme cofacteur le cuivre intracellulaire (elle est produite proportionnellement à la quantité de cuivre qui arrive dans l'appareil de Golgi). Elle est ensuite excrétée dans la bile (milieu extracellulaire).

En pathologie, on observe une diminution très importante voire un effondrement de sa sécrétion.

Des troubles psychiques peuvent apparaître les premiers et consistent en un certain désintérêt de l'activité scolaire ou professionnelle, des modifications du caractère avec une hyperémotivité et une grande labilité de l'humeur, des syndromes dépressifs, des états de psychose. Ils contrastent avec la conservation des fonctions intellectuelles.

On décrit aussi des atteintes hépatiques: hépatite chronique arrivant au stade de cirrhose.

Le symptôme le plus caractéristique sont les anneaux de Kayser-Fleischer consistant en une discrète coloration marron clair du pourtour extérieur de la cornée secondaire aux dépôts de cuivre.

Expérience A :

On cultive une colonie d'hépatocytes sains Hc.

On a deux patients A et B atteints de cette maladie. On entreprend une culture d'hépatocytes pour chacun d'eux : HcA et HcB.

On entreprend un test de complémentation avec formation d'une colonie d'hétérocaryon HcA/B.

Les résultats:

(unité arbitraire)	Hc	HcA	HcB	HcA/B
conso O2	2,34	2,04	2,01	3,40
prod ceruloplasmine	1,02	0,07	0,09	1,11
conso glucose	3,32	2,90	2,77	3,61

QCM 1 : A propos de l'hétérocaryon:

- A) Un hétérocaryon se fait toujours à partir d'hépatocytes
- B) L'hétérocaryon résulte de la fusion cytoplasmique puis nucléaire de 2 cellules
- C) Cet hétérocaryon est parfait pour étudier la mutation d'une protéine nucléaire
- D) Qu'il y ai complémentation ou pas au terme de l'expérience, on pourra conclure
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

QCM 2 : A propos de l'expérience:

- A) La complémentation a eu lieu, on a donc démontré que les gènes étudiés appartiennent au même groupe de complémentation.
- B) On a démontré que les gènes touchés ne sont pas allèles
- C) Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse que les protéines défectueuses de HcA et HcB "s'assemblent" dans le cytoplasme pour donner "une protéine saine".
- D) Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse que les protéines défectueuses de HcA et HcB sont impliquées dans la production de la céruloplasmine.
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

Expérience B:

On a repéré à la suite de nombreuses études, des gènes susceptibles de nous intéresser dans le cadre de la maladie de Wilson.

On va cultiver 3 premières colonies d'hépatocytes où l'on va effectuer un KO du gène Ctr1, ATP7B et HAH1 codant respectivement pour Ctr1p (protéine), ATP7Bp et HAH1p appelées respectivement Hc (Ctr1 -), Hc (ATP7B -) et Hc (HAH1 -).

On cultive 2 autres colonies d'hépatocytes où l'on va cette fois faire une mutation activatrice (entraîne la surexpression du gène en question) des gènes Ctr1 et ATP7B noté respectivement Hc (Ctr1 +), Hc (ATP7B +).

On fait enfin, une dernière colonie où l'on KO ATP7B et où l'on surexprime Ctr1 nommée Hc (Ctr1 +/ATP7B -).

On va pouvoir suivre la concentration de cuivre à l'intérieur des cellules grâce à un isotope radioactif du cuivre. On effectue une culture test en présence de Cu normal, les autres se font exclusivement avec du cuivre radioactif.

Le tableau suivant résume les résultats expérimentaux (unité arbitraire):

	culture en présence de Cu* radioactif à [C] saturante	[Cu*] intracellulaire	production de ceruloplasmin e
Hc	non		1,02
Hc	oui	+	1,02
Hc (Ctr1 -)	oui	- - -	0,1
Hc (ATP7B -)	oui	+++	0,08
Hc (HAH1 -)	oui	+++	0,09
Hc (Ctr1 +)	oui	+++	1,60
Hc (ATP7B +)	oui	- -	2,7
Hc (Ctr1 +/ATP7B -)	oui	+++++	0,08

QCM 3 : L'expérience 2 :

- A) démontre que le cuivre radioactif n'a aucune influence sur la quantité de ceruloplasmine produite.
- B) démontre que ATP7Bp est un facteur de rétention cellulaire du cuivre
- C) démontre que HAH1p est un facteur de rétention cellulaire du cuivre
- D) suggère que Ctr1p est un transporteur permettant l'entrée du cuivre extracellulaire dans la cellule
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

QCM 4 : L'expérience 2 suggère que

- A) ATP7Bp est une enzyme catalysant la réaction de formation de la ceruloplasmine
- B) ATP7Bp est un transporteur qui permet l'entrée du cuivre dans le Golgi ce qui enclenche la production de ceruloplasmine à l'intérieur de ce dernier
- C) HAH1p est une protéine nucléaire
- D) ATP7B est une protéine nucléaire
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

QCM 5 : L'expérience 2 est compatible avec l'hypothèse que les cellules de A ou B:

- A) Ont des mutations similaires à Hc (ATP7B -)
- B) Ont des mutations similaires à Hc (HAH1 -)
- C) Ont des mutations similaires à Hc (Ctr1+)
- D) Ont des mutations similaires à Hc (Ctr1+ / ATP7B -)
- E) Aucune de ces réponses n'est juste

QCM 6 : Items en vrac !

- A) La formation du couple Cycline A-Cdk2 va permettre à la cellule d'entrer en phase G2.
- B) Le cholestérol diminue la fluidité des membranes.
- C) La sphingomyéline est retrouvée majoritairement sur le feuillet externe de la membrane plasmique.
- D) Les dynéines sont impliquées dans le transport des vésicules vers le centre de la cellule (pôle (-)).
- E) Les intégrines font partis de la classe des CAM (Cell Adhesion Molecule) et peuvent avoir un rôle de transduction du signal.

Correction : Items et expériences croisées

2011 – 2012

QCM 1 : Réponse E

- A) Faux
- B) Faux : l'hétérocaryon ne provient que de la fusion cytoplasmique. Si on arrive à fusionner les noyaux, il s'agit alors d'un hybride
- C) Faux : si les protéines mutées sont nucléaires et que l'on a 2 noyaux, on se retrouvera avec 2 noyaux défectueux.
- D) Faux : il s'agit d'une suite de la C.

QCM 2 : Réponses C,D

- A) Faux : ce sont des groupes différents
- B) Faux : cela ne fait que suggérer
- C) Vrai : C'est une hypothèse possible
- D) Vrai : C'est possible aussi

QCM 3 : Réponses A,D

- A) Vrai : Les deux premières lignes nous le confirment
- B) Faux : On voit que le **KO** de ce gène entraîne la rétention de Cu
- C) Faux : Même chose que pour la B
- D) Vrai : mais ne fait que suggérer, on pourrait être dans le cas d'une protéine cytosolique qui permet de garder le Cu à l'intérieur de la cellule.

QCM 4 : Réponses A,B

- A) Vrai : L'avant dernière ligne nous permet de l'imaginer
- B) Vrai : Cette même dernière ligne peut nous le faire penser aussi.
- C) Faux : rien à voir avec ce que l'on fait
- D) Faux : rien à voir non plus

QCM5 : Réponses A,B,D

Dans cette question, il suffit de faire le parallèle avec la première expérience: On sait que les cellules A et B sont "bourrées" de Cu car elles sont atteintes par la maladie. De plus on voit que la production de céruloplasmine dans ces deux cultures est nettement altérée.

L'item C) est faux car on voit que, bien que le Cu soit en quantité élevée dans ces cellules, il y a une production plus élevée que la normale de céruloplasmine.

QCM 6 : Réponses A,B,C,D,E

10. Annales Gilson Lyon

2010 – 2011 (Pr.Gilson)

SUJET 1 : Concours 2008-2009 Lyon

c-Myc est un régulateur transcriptionnel clef pour le contrôle de la croissance cellulaire. La quantité de c-Myc dans la cellule est très bien régulée, aussi bien au niveau de la transcription et de la traduction de la protéine que de sa stabilité dans la cellule.

On a étudié la localisation subcellulaire de c-Myc dans une lignée de cellules : COS-7 (dérivées de cellules de rein de singe vert d'Afrique). Dans un premier temps, la localisation de c-Myc a été étudiée par une double immunofluorescence indirecte en utilisant des anticorps primaires de souris dirigés contre la protéine c-Myc et des anticorps primaires de lapin dirigés contre la protéine histone H2A. Les résultats de l'expérience ont montré que la fluorescence émise par les anticorps primaires anti-c-Myc et celle émise par les anticorps primaires anti-H2A étaient localisées dans le noyau.

QCM 1 : Propositions concernant l'utilisation d'anticorps secondaires pour visualiser séparément c-Myc et H2A dans les mêmes cellules.

- A) Anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine.
- B) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à la fluorescéine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine.
- C) Anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de chèvre couplés à la fluorescéine.
- D) Anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de souris couplés à la fluorescéine.
- E) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris couplés à la rhodamine.

Par la suite, on a transfecté transitoirement les cellules COS-7 avec un ADN correspondant à un vecteur d'expression codant pour la protéine c-Myc-GFP. c-Myc-GFP est une protéine de fusion constituée dans sa partie N-terminale de la protéine c-Myc et dans sa partie C-terminale de la protéine GFP. Trois jours après la transfection, la visualisation des cellules par un microscope à fluorescence montre que 10% des cellules émettent une fluorescence correspondant à l'excitation de la GFP dans le noyau. Les autres cellules n'émettent aucune fluorescence.

QCM 2 : Propositions concernant cette expérience de transfection transitoire.

- A) Le vecteur d'expression contenait obligatoirement un gène conférant la résistance à un antibiotique
- B) Au moins 20% des cellules ont été transfectées avec l'ADN du vecteur d'expression.
- C) L'ADN du vecteur d'expression s'est nécessairement intégré dans l'ADN génomique de 10% des cellules.
- D) La protéine c-Myc-GFP ne peut pas s'exprimer à partir du vecteur d'expression.
- E) L'addition d'une étiquette GFP à c-Myc n'empêche pas la protéine c-Myc de se localiser dans le noyau

L'expérience suivante a consisté à photoblanchir par irradiation une zone de fluorescence dans le nucléoplasme des cellules COS-7 exprimant c-Myc-GFP (après transfection). Après un photoblanchiment d'une seconde, une photo est prise immédiatement puis toutes les secondes.

Dans cette expérience, la restauration de la fluorescence au niveau de la zone photoblanchie est tellement rapide qu'il est impossible d'en mesurer la vitesse.

QCM 3 : Propositions concernant cette expérience de photoblanchiment

- A) La réaction normale de fluorescence est de réémettre l'énergie absorbée sous forme de photons de longueur d'onde plus petite que celle qui a servi à l'excitation.
- B) Le photoblanchiment résulte d'un transfert d'énergie non radiatif entre deux protéines fluorescentes
- C) L'expérience de photoblanchiment démontre que la vitesse de diffusion de la protéine c-Myc-GFP est très lente
- D) La restauration de fluorescence provient nécessairement de molécules c-Myc-GFP traduites après le photoblanchiment
- E) L'expérience de photoblanchiment démontre que l'addition d'une étiquette GFP à c-Myc immobilise la protéine c-Myc dans le noyau

Dans une autre expérience, dont les résultats sont présentés dans la figure 1, on a cette fois photoblanchi de façon répétée une zone du cytoplasme et suivi en vidéo microscopie l'effet de ce photoblanchiment sur le signal de fluorescence de la cellule concernée.

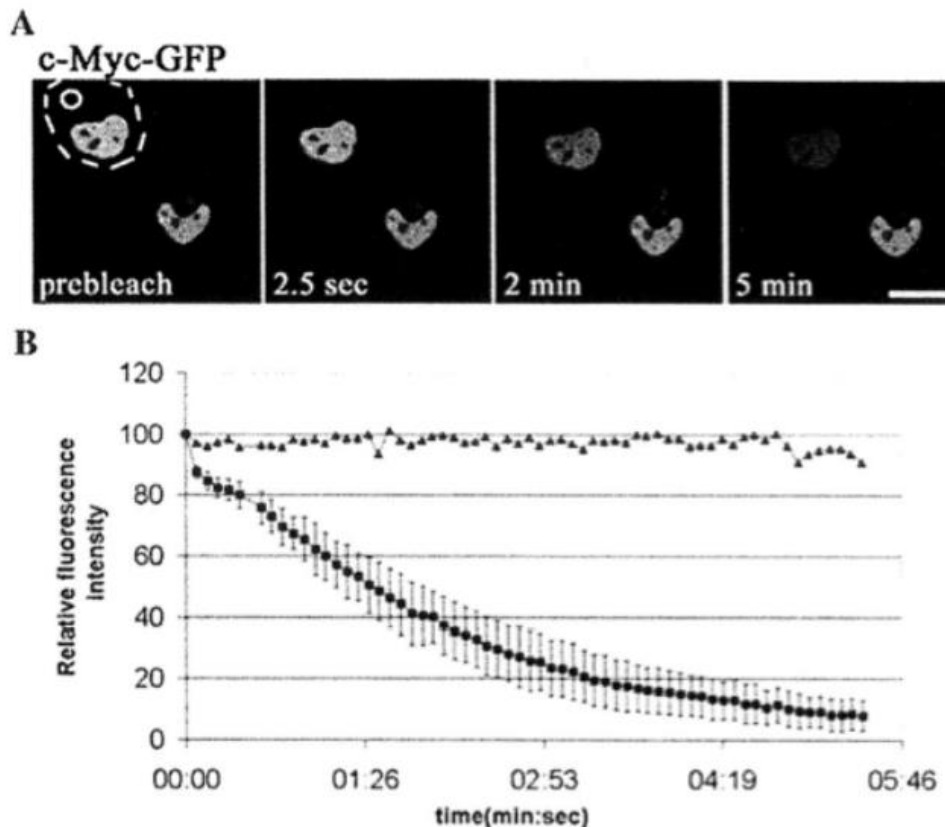


Figure 1 : Analyses de l'intensité de fluorescence de c-Myc-GFP lors de l'extinction d'une zone du cytoplasme dans les cellules COS-7 exprimant c-Myc-GFP (après transfection transitoire)

A : Images séquentielles réalisées entre 2 pulses de photoblanchiment avec un microscope confocal (longueur d'onde d'excitation 470/40nm, filtre GFP). La zone irradiée de manière répétée est délimitée par un cercle blanc et le cytoplasme de cette cellule est délimité par des pointillés.

Prebleach = image prise avant le photoblanchiment. Le temps écoulé depuis le début de l'irradiation et la prise de la photographie est indiquée : 2,5 sec = 2,5 secondes ; 2min = 2 minutes, 5min = 5 minutes. La barre blanche représente 20µm

B : Comparaison de la perte de fluorescence dans la cellule située en haut de la figure 1A qui a subi l'irradiation répétée de son cytoplasme (carré noirs) avec la perte de fluorescence dans la cellule « non irradiée » en bas à droite (triangles noirs). En ordonnée : intensité relative de fluorescence (Relative fluorescence intensity) et en abscisse : temps en minute : seconde (time (min : sec))

QCM 4 : Les résultats de la figure 1 :

- A) suggèrent que c-Myc-GFP est capable d'être transférée d'une cellule à une autre
- B) suggèrent que c-Myc-GFP est localisée dans le nucléole
- C) Démontre que c-Myc-GFP sort du noyau en moins de deux minutes
- D) suggèrent que la durée de vie de c-myc-GFP dans le noyau est inférieure à deux minutes
- E) Sont compatibles avec l'hypothèse que l'irradiation induit la synthèse d'une ubiquitine ligase qui va modifier c-Myc-GFP et entraîner sa dégradation par le protéasome

QCM 5 : Propositions concernant la microscopie électronique

- A) La cryofracture a l'avantage d'éviter la fixation chimique et donc de limiter les risques de dénaturation
- B) la cryofracture est une technique de choix pour visualiser les reliefs du nucléole
- C) Le microscope électronique en transmission permet de séparer deux points distants de 0,2 nm
- D) Dans la microscopie en transmission, l'objet est balayé par un faisceau d'électrons qui excitent la surface de l'objet émettant des électrons secondaires recueillis par un détecteur.
- E) La coloration à l'or permet de visualiser une protéine particulière

Une lignée de fibroblastes humains, appelée LF, a été obtenue à partir de la mise en culture primaire de biopsie de peau. Les cellules de cette lignée sont cultivées in vitro dans des boîtes de Pétri contenant un milieu nutritif complété avec 10% de sérum de veau fœtal (ou SVF).

Les modifications accompagnant la sénescence cellulaire sont recherchées en fonction du nombre de doublement de la population de cellules (appelé DP pour Doublement de la Population). Ces modifications sont l'expression de β -galactosidase acide (appelée β -GalA) et une modification de leur morphologie avec un aplatissement des cellules sur le plastique de la boîte de Pétri.

Dans certaines expériences, à 30 DP ou à 55 DP, les cellules sont transférées dans un milieu dépourvu de SVF pendant 5 jours (appelées cellules LF30-SVF ou LF55-SVF, respectivement) puis remises en présence de 10% de SVF pour 24 heures (appelées cellules LF30-SVF+ et LF55-SVF+, respectivement).

Dans d'autres expériences, à 5 DP, des cellules sont transfectées par des vecteurs qui expriment soit l'ADNc de la sous-unité catalytique de la télomérase (hTERT) soit l'ADNc de l'antigène T du virus oncogène SV40. Les cellules transfectées et exprimant ces transgènes sont appelées LF(hTERT) et LF(AgT) dans le tableau 1. Il est rappelé que l'antigène T de SV40 inhibe les voies de surveillance du génome dépendant de p53 et de Rb.

D'autres cellules LF, après 12 DP, ont été transfectées avec un vecteur exprimant la forme oncogénique de Ras, appelés RasV12. Cette forme de Ras induit une activation constitutive des voies effectrices de Ras. Ces cellules sont appelées LF (Ras V12).

Dans une autre série d'expériences, des cellules LF, après 12 DP, ont été transfectées simultanément avec un vecteur exprimant RasV12 et des vecteurs exprimant soit hTERT soit AgT. Ces cellules sont appelées LF(RasV12-hTERT) et LF(RasV12-AgT), respectivement.

Tableau 1

Type de cellules	Nombre de DP	% de cellules exprimant β -GalA	% cellules avec une morphologie aplatie	Taille moyenne des télomères (en kilobase ou kb)	% cellules en G1	% de cellules en S	% de cellules G2/M
LF	9	0	0	8,5	40	45	15
LF	12	0	0	8	nd	nd	nd
LF	30	15	10	7	47	40	13
LF	55	80	80	5,7	89	5	6
LF	60	85	85	5	nd	nd	nd
LF30-SVF	30	5	5	7	90	0,5	9,5
LF55-SVF	55	20	25	5,5	97	0	3
LF30-SVF+	30	18	17	6,8	31	60	9
LF55-SVF+	55	80	70	5,3	88	7	5
LF(hTERT)	30	0	0	8	47	40	13
LF(hTERT)	55	0	0	9	47	40	13
LF(AgT)	30	0	0	7	nd	nd	nd
LF(AgT)	55	0	0	5,5	nd	nd	nd
LF(RasV12)	12	80	85	8	90	4	6
LF(RasV12-hTERT)	12	82	79	8	90	3	7
LF(RasV12-AgT)	12	0	0	8	40	42	18
LF(RasV12-AgT)	55	0	0	5,5	45	45	10

nd = non déterminé

QCM 6 : Propositions concernant la culture de fibroblastes humains normaux

- A) Les fibroblastes ne peuvent pas croître sans adhérer à un support
- B) La présence d'une source de carbone et d'acides aminés n'est pas suffisante pour permettre aux cellules de se diviser
- C) Les fibroblastes peuvent se diviser sans limites à condition d'ajouter des facteurs de croissance dans le milieu de culture
- D) La sénescence cellulaire est déclenchée lorsque les cellules sont privées de sérum
- E) Les cellules sénescents sont métaboliquement actives

QCM 7 : On ajoute du SVF dans les cultures de cellules humaines pour :

- A) éviter la contamination des cellules avec des levures
- B) fournir une source de carbone
- C) fournir une source d'acide aminé
- D) stimuler leur croissance
- E) les immortaliser

QCM 8 : Les résultats du tableau 1 démontrent que :

- A) La taille des télomères augmente avec le nombre de divisions des cellules
- B) la télomérase empêche les cellules de rentrer en mitose
- C) la télomérase empêche le raccourcissement des télomères
- D) la télomérase empêche les cellules de rentrer en sénescence
- E) la sénescence est immédiatement déclenchée lorsque la télomérase s'exprime

QCM 9 : Les résultats du tableau 1 démontrent que :

- A) l'expression de RasV12 empêche les cellules de mourir
- B) la sénescence résulte nécessairement du raccourcissement des télomères
- C) la télomérase empêche RasV12 d'induire un blocage de l'entrée en phase S
- D) RasV12 bloque les cellules en phase G1
- E) la sénescence s'accompagne du blocage des cellules à la transition G1-S

QCM 10 : Les résultats du tableau 1 démontrent que :

- A) La sénescence est inhibée en absence de facteur de croissance
- B) Le raccourcissement des télomères des cellules LF30-SVF+ et LF55-SVF+ en réponse à la stimulation mitogénique est la cause de leur entrée en sénescence
- C) Les télomères de cellules dépourvues de télomérase se raccourcissent lorsqu'elles sont privées de sérum
- D) la stimulation mitogénique coopère avec l'absence de télomérase pour induire la sénescence
- E) des télomères de taille inférieure à 5 kb n'induisent pas la sénescence si les cellules reçoivent un stimulus mitogénique

QCM 11 : Les résultats du tableau 1 suggèrent que :

- A) La sénescence est un mécanisme suppresseur de tumeur
- B) La présence de SVF induit la prolifération des cellules
- C) La sénescence est réversible en absence de sérum
- D) Le niveau d'expression des inhibiteurs du cycle cellulaire présents dans les cellules sénescents est suffisant pour contrebalancer la stimulation mitogénique causée par le SVF
- E) toutes les cellules bloquées en G1/S sont sénescents

QCM 12 : Propositions concernant l'endocytose

- A) Il existe trois voies d'endocytose : la pinocytose, l'endocytose par récepteur interposé et la phagocytose
- B) L'exocytose permet l'élimination de cellules sénescents ou apoptotiques
- C) L'endocytose par récepteur interposé est un mode d'endocytose non spécifique
- D) Le manteau de clathrine est constitué d'une association de triskèles
- E) Le rôle principal de la phagocytose est le renouvellement de la membrane cellulaire

QCM 13 : Propositions concernant l'endocytose

- A) Lors de la pinocytose, les macrophages émettent des pseudopodes
- B) Le contenu des vésicules d'endocytose est toujours dégradé
- C) Lors de la transcytose, le contenu des vésicules d'endocytose est dégradé à pH acide puis éliminé au pôle cellulaire opposé par autophagie
- D) Les vésicules de stockages sont alimentées par le processus d'exocytose
- E) Les anticorps du lait maternel sont transmis au nouveau-né grâce au processus d'endocytose par récepteur interposé puis par pinocytose

QCM 14 : Propositions concernant le système membranaire

- A) Les peroxysomes sont des organelles à pH acide contenant de nombreuses hydrolases
- B) Le pH des endosomes augmente au cours de la maturation des endosomes précoces vers les endosomes tardifs
- C) La V-ATPase permet de coupler l'hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi à l'import de protons dans les lysosomes
- D) Les protéases lysosomales sont actives à un pH optimal de 7
- E) Les autophagosomes résultent de la phagocytose des auto-anticorps

SUJET 2 : Concours 2004-2005 Lyon

La protéine p53 a été découverte en 1979 grâce à sa propriété de former un complexe avec l'antigène T du virus oncogène à ADN, SV40. Depuis, cette protéine a été identifiée comme une protéine ubiquitaire exprimée à des taux variables selon le type cellulaire et les conditions physiologiques de croissance.

QCM 15 : Propositions concernant la culture des cellules en laboratoire

- A) Les fibroblastes issus d'une biopsie de peau d'un individu ne présentant aucune pathologie sont incapables de se multiplier dans les boîtes de Pétri
- B) Les cellules humaines peuvent se multiplier indéfiniment en laboratoire à condition de renouveler régulièrement leur milieu de culture
- C) Les cellules issues des tumeurs humaines ne peuvent pas se diviser en laboratoire
- D) On peut immortaliser des cellules humaines normales en les infectant avec un virus oncogène
- E) Les cellules en sénescence sont métaboliquement inactives

QCM 16 : La protéine p53 est présente en grande quantité dans de nombreuses lignées de cellules issues de tumeurs humaines. Ce résultat démontre que p53 :

- A) a une fonction oncogène
- B) est nécessaire à la sénescence
- C) est un facteur pro-apoptotique
- D) est phosphorylée dans les cancers
- E) régule la prolifération cellulaire

On dit qu'une cellule adhérente est transformée lorsqu'elle est capable de croître *in vivo* en trois dimensions (par exemple dans une surcouche d'agar mou) et en absence de sérum. On dit qu'une cellule est tumorigène lorsqu'elle est capable d'induire la formation d'une tumeur une fois injectée par voie sous-cutanée dans des souris immunodéprimées.

QCM 17 : Proposition concernant la transformation et la tumorigénicité des cellules

- A) Le fait de croître en absence de sérum implique une signalisation mitogénique autocrine
- B) Les cellules transformées sont incapables de croître sans support d'ancrage
- C) Le sérum est une source de facteurs de croissance pour les cellules en culture
- D) Les cellules transformées sont bloquée à la transition G1/S du cycle cellulaire
- E) On utilise des souris immunodéprimées pour empêcher les cellules injectées d'être éliminées par le système immunitaire

Lorsque des fibroblastes non transformés de souris sont transfectés avec un gène *ras* muté, codant pour une forme constitutivement activée de Ras, il n'y a pas d'augmentation du nombre de cellules pouvant croître dans une surcouche d'agar mou.

Lorsque ce gène *ras* muté est transformé avec le gène déterminant la synthèse de l'antigène T du virus SV40, on observe une augmentation du nombre de colonies pouvant se former dans de l'agar mou et les cellules sont capables de proliférer dans le sérum.

Lorsque l'ADNc du gène *p53*, isolé à partir de cellules humaines normales, est transfecté dans les fibroblastes de souris, exprimant ou non le gène *ras* muté, il n'y a pas transformation cellulaire.

Par contre, l'ADNc du gène *p53* isolé à partir de cellules d'un carcinome du colon (appelé *p53c*) est capable de transformer les fibroblastes de souris seulement lorsqu'il est cotransfecté avec le gène *ras* muté. La cotransfection de *p53c* et du gène de l'antigène T ne permet pas de transformer les cellules.

Enfin, des réarrangements inactivateurs du gène *p53* apparaissent au cours de l'induction des leucémies murines par le virus d'érythroleucémie de Friend.

QCM 18 : Ces résultats :

- A) suggèrent que *p53* est un gène suppresseur de tumeur
- B) démontrent que les gènes *ras* muté et *antigène T* coopèrent pour transformer les cellules
- C) démontrent que *ras* muté et *p53* coopèrent pour transformer les cellules
- D) suggèrent une dominance de la fonction de *p53c* sur *p53*
- E) démontrent une interaction entre les produits des gènes *p53c* et *antigène T*

QCM 19 : De plus, ces résultats :

- A) démontrent que *p53c* est tumorigène
- B) sont incompatibles avec une structure oligomérique de la protéine p53
- C) suggèrent que l'antigène T inactive p53
- D) démontrent que *ras* muté peut contribuer à la transformation cellulaire
- E) montrent que toutes les cellules transformées sont tumorigènes

QCM 20 : Enfin, ces résultats :

- A) suggèrent que *ras* muté et *p53c* coopèrent pour transformer les cellules
- B) démontrent que l'activation constitutive de Ras est suffisante pour transformer les cellules
- C) suggèrent que la transformation cellulaire peut nécessiter plusieurs événements
- D) démontrent que les produits des gènes *p53c* et *ras* muté interagissent
- E) suggèrent que les séquences des gènes *p53* et *p53c* sont différentes

QCM 21 : Les résultats de la figure 1 démontrent :

- A) qu'après traitement UV, il y a augmentation de la quantité de protéine p53
- B) que la phosphorylation de p53 en Ser 18 entraîne sa stabilisation
- C) que les radiations ionisantes entraînent l'acétylation de p53 sans affecter sa stabilité
- D) que les modifications post-traductionnelles de p53 sont différentes suivant le type de rayonnement
- E) la protéine p53 est phosphorylée après traitement aux radiations ionisantes

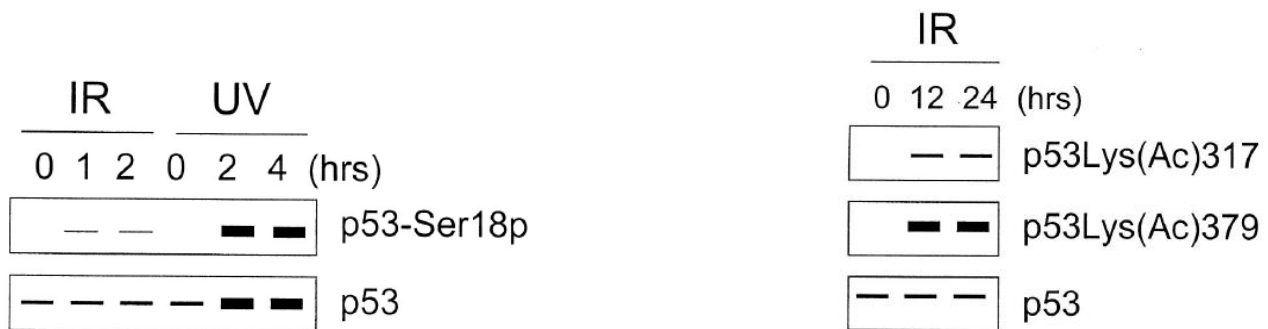


Figure 1 : Expériences de détection immunologique de protéines après migration sur gel dénaturant (technique dite de l' "immunoblot") révélant des formes modifiées de p53 grâce à des anticorps spécifiques. P53 = anticorps dirigés contre p53 ; p53-Ser18p = anticorps dirigés contre la Ser 18 phosphorylée de p53 ; p53Lys(Ac)317/379 = anticorps dirigés contre p53 acétylé en Lys 317 ou 379 ; IR = radiation ionisante ; UV= rayonnement ultraviolets ; hrs = nombre d'heures après l'exposition aux IR ou UV.

L'étude de la séquence du gène p53 chez l'homme a permis d'observer qu'un allèle de ce gène est délété dans les cellules sanguines de certains patients atteints de cancers colorectaux.

Dans les cellules tumorales de ces patients, un des allèles est délété comme dans les cellules sanguines et le deuxième allèle a subi des mutations ponctuelles qui ne sont pas retrouvées dans les cellules sanguines.

Ces patients possèdent souvent des membres de leur famille ayant développé un cancer colorectal.

QCM 22 : Ces résultats suggèrent :

- A) que la délétion de p53 correspond à une mutation germinale
- B) que les mutations ponctuelles retrouvées dans les cellules tumorales entraînent un gain de fonction de la protéine p53
- C) qu'un des allèles du gène p53 a subi des mutations somatiques au cours de la maladie cancéreuse
- D) qu'un des deux allèles de p53 est sujet à des épimutations
- E) qu'une délétion germinale de p53 protège contre l'apparition de cancers

Afin de préciser les rôles de p53 dans l'apparition des tumeurs, des modèles transgéniques murins ont été établis. L'allèle p53- désigne une délétion du gène p53. Des fibroblastes embryonnaires issus de souris p53+/+, p53+/- et p53-/- ont été mise en culture et leur devenir suite à une exposition à des radiations ionisantes (γ IR) a été étudiée (Figure 2).

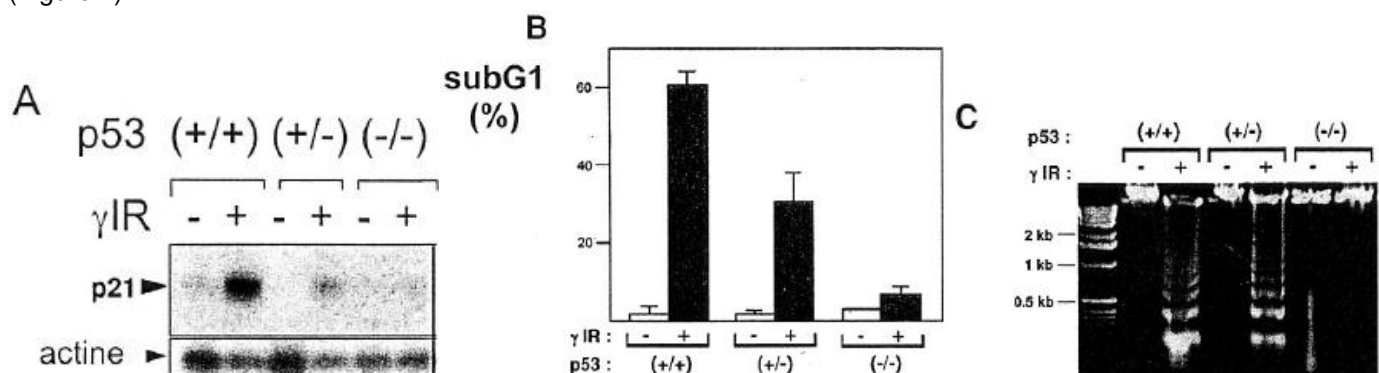


Figure 2 : Des fibroblastes de souris sauvages (p53 +/+), homozygotes pour une délétion de p53 (p53-/-) et hétérozygote pour p53 (p53+/-) ont été exposées (+) ou non (-) à des radiations ionisantes (γ IR).

A : expériences d'immunodétection à partir d'un gel dénaturant ("immunoblot") de la protéine p21 qui appartient à la famille des inhibiteurs de CDK et de l'actine.

B : le pourcentage de cellules en subG1 a été déterminé par cytométrie de flux.

C : photographie d'un gel d'agarose coloré au bromure d'éthidium après migration de l'ADN génomique des fibroblastes.

QCM 23 : Propositions concernant les méthodes de détection de l'apoptose

- A) Les cellules en subG1 sont celles qui échappent à l'apoptose
- B) Les cellules en subG1 ont un contenu en ADN inférieur à celui des cellules en phase G2
- C) La fragmentation de la chromatine est une des caractéristiques des cellules en apoptose
- D) Le test TUNEL permet de mesurer l'activation des caspases effectrices
- E) La structure des membranes plasmiques n'est pas modifiée dans les cellules en apoptose

QCM 24 : Proposition concernant la mort cellulaire

- A) La sénescence correspond à la mort des cellules âgées
- B) L'apoptose et la nécrose nécessitent l'hydrolyse de molécules d'ATP
- C) Les cellules nécrotiques condensent leur chromatine
- D) Les cellules nécrotiques peuvent être visualisées par un marquage à l'annexine V
- E) Les cellules apoptotiques sont perméables à tous les colorants de l'ADN

QCM 25 : Propositions compatibles avec les résultats de la figure 2

- A) p53 est une protéine de réparation de l'ADN endommagé
- B) p53 est un régulateur transcriptionnel de l'expression de p21
- C) p53 est un inhibiteur de l'apoptose induite par les radiations ionisantes
- D) p21 est une cible des caspases effectrices
- E) p53 modifie la structure de la chromatine

QCM 26 : Les résultats de la figure 2 démontrent que :

- A) La protéine p53 est impliquée dans l'apoptose induite par des dommages à l'ADN
- B) p21 est une molécule pro-apoptotique
- C) La transcription du gène de l'actine est réprimée par p53
- D) L'effet du gène *p53* sur l'expression de la protéine p21 est dépendant du nombre de gènes *p53* dans le génome des cellules
- E) Les fibroblastes irradiés sont bloqués à la transition G1/S du cycle cellulaire

Les souris transgéniques pour p53 ont été croisées avec des souris invalidées pour le gène *mdm2* (*mdm2*^{-/-}) ou pour le gène codant la partie ARN matrice de la télomérase appelé *TR* (*TR*^{-/-}).

Les croisements avec les souris de génotype *TR*^{-/-} ont été effectués avec des animaux issus de la première génération après l'invalidation du gène *TR* (appelés souris G1) ou avec des animaux issus de la quatrième génération après l'invalidation de *TR* (appelés souris G4).

La radiosensibilité a été évaluée par le temps moyen de survie d'une population de souris soumise à une dose létale de radiations ionisantes (7Grays). La longévité est évaluée par l'âge moyen (en mois) correspondant à la mort de 50% d'une population de souris. L'apparition spontanée de tumeurs a été déterminée au cours du vieillissement des souris. Les résultats de ces analyses phénotypiques pour une série de souris transgéniques sont donnés dans le tableau 1.

Tableau 1

Génotype	Viabilité	Cancers spontanés	Radiosensibilité	Longévité (mois)
sauvage	viable	aucun	normale	24
<i>p53</i> ^{+/-}	viable	quelques sarcomes	augmentée	18
<i>p53</i> ^{-/-}	viable	nombreux lymphomes et sarcomes	très augmentée	< 10
G1	viable	aucun	augmentée	24
G4	viable	aucun	augmentée	20
<i>p53</i> ^{+/-} G1	viable	quelques sarcomes	Non déterminé	18
<i>p53</i> ^{+/-} G4	viable	quelques sarcomes et nombreux carcinomes	Non déterminé	16
<i>p53</i> ^{-/-} G1	viable	très nombreux lymphomes et sarcomes	Non déterminé	<10
<i>p53</i> ^{-/-} G4	viable	très nombreux lymphomes et sarcomes	Non déterminé	<10
<i>mdm2</i> ^{+/-}	viable	aucun	diminuée	20
<i>mdm2</i> ^{-/-}	mort à 5 jours de vie embryonnaire	Non déterminé	Non déterminé	Non déterminé
<i>mdm2</i> ^{-/-} <i>p53</i> ^{-/-}	viable	Nombreux lymphomes et sarcome	très augmentée	<10
<i>mdm2</i> ^{-/-} <i>p53</i> ^{+/-}	viable	aucun	normale	24

QCM 27 : Les résultats du tableau 1 démontrent que :

- A) La taille des télomères des cellules des souris G4 est plus longue que celle des souris G1
- B) La télomérase est indispensable au développement embryonnaire
- C) Les chromosomes des souris G4 sont instables
- D) La protéine p53 active l'expression de la télomérase
- E) La télomérase est impliquée dans la réparation des cassures de la double hélice de l'ADN

QCM 28 : De plus, les résultats du tableau 1 démontrent que :

- A) L'absence de télomérase augmente la radiosensibilité des cellules
- B) L'absence de télomérase est suffisante pour augmenter la susceptibilité de développer des cancers
- C) Le gène *p53* agit comme un gène suppresseur de tumeur
- D) L'irradiation induit l'apparition de lymphomes dans les souris *p53*^{-/-}
- E) Les souris âgées développent plus de sarcomes

QCM 29 : Propositions pouvant expliquer l'apparition de carcinomes dans les souris *p53*^{+/-} G4 mais pas dans les souris *p53*^{-/-} G4

- A) *p53* est un oncogène
- B) Des mécanismes, indépendants de la télomérase, pouvant augmenter la taille des télomères sont activées par la présence du gène *p53*
- C) Les carcinomes apparaissent préférentiellement chez des souris âgées de plus de 12 mois
- D) Les cellules épithéliales en cours de transformation maligne meurent par une apoptose dépendante du gène *p53*
- E) Les cellules des souris *p53*^{+/-} sont plus susceptibles d'être inactivées complètement pour les fonctions de *p53* que celles des souris *p53*^{+/+}

QCM 30 : Propositions pouvant expliquer le sauvetage de la viabilité des souris *mdm2*^{-/-} par l'introduction d'au moins un allèle délété de *p53*

- A) Le gène *mdm2* est essentiel au développement embryonnaire
- B) Le gène *mdm2* est suppresseur de tumeur
- C) Le produit du gène *mdm2* inhibe la protéine *p53*
- D) Le dosage de la protéine *p53* est important pour le développement embryonnaire
- E) La protéine *p53* active l'expression du gène *mdm2*

QCM 31 : Les résultats du tableau 1 suggèrent :

- A) que la surproduction de Mdm2 est oncogénique
- B) qu'un dosage supra-physiologique de *p53* bloque le développement embryonnaire
- C) que les produits des gènes *mdm2* et *p53* interagissent
- D) que le gène *mdm2* contrôle la quantité de protéine *p53*
- E) que la diminution de la taille des télomères peut favoriser l'apparition de carcinomes

QCM 32 : Proposition d'expériences pertinentes pour analyser les effets du gène *mdm2* sur l'expression de *p53*

- A) Analyse par la technique du double-hybride de l'interaction de la protéine Mdm2 avec l'ADN du promoteur du gène *p53*
- B) Quantification de l'ARNm *p53* par RT-PCR quantitative dans des cellules issues de souris *mdm2*^{+/-} et *mdm2*^{+/+}
- C) Quantification de l'expression de la protéine *p53* dans des cellules issues des souris G1 et G4
- D) Quantification des formes phosphorylées de *p53* dans des cellules issues de souris *mdm2*^{+/-} et *mdm2*^{+/+}
- E) Inhibition de l'expression du gène *mdm2* par une approche utilisant l'ARN interférence et mesure de l'expression de la protéine *p53*

Des souris transgéniques surexprimant le gène *p53* (soit à partir d'un promoteur hétérologue viral, soit par insertion d'un troisième allèle avec le propre promoteur *p53*) ont été préparées et appelées souris "p53 super"

QCM 33 : En vous basant sur les résultats de la figure 2 et du tableau 1, propositions concernant les phénotypes attendus des souris "p53 super"

- A) Diminution de la fréquence des tumeurs spontanées
- B) Augmentation de la longévité
- C) Augmentation de la radiosensibilité
- D) Diminution de l'apoptose induite par des dommages à l'ADN
- E) Augmentation de l'expression de *p21*

QCM 34 : Propositions concernant la chromatine et la régulation de l'expression génique

- A) Des modifications post-traductionnelles des histones régulent l'expression des gènes
- B) Certains facteurs de transcription modifient la structure de la chromatine
- C) Tous les nucléosomes sont fonctionnellement équivalents
- D) La régulation de l'expression des gènes s'effectue de manière identique quel que soit leur localisation dans le nucléoplasme
- E) Les gènes sensibles à la DNase I sont toujours transcrits

Mdm2 est une protéine comportant une activité ubiquitine ligase qui catalyse l'ubiquitination des histones, ce qui entraîne une répression transcriptionnelle du gène *p21*

QCM 35 : Ces résultats sont compatibles avec :

- A) une ubiquitination de p53 catalysée par Mdm2
- B) Le phénotype embryonnaire létal des souris *mdm2* $-/-$
- C) un antagonisme entre les gènes *p53* et *mdm2*
- D) une répression de la transcription du gène *p21* indépendante de *p53*
- E) une action de *mdm2* indépendante de *p53*

La lignée cancéreuse Hela (biopsie fournie par la patiente Helen Lacks) provient d'un carcinome du col utérin associé à la présence de virus du papillome humain (HPV). La protéine oncogénique E6 de ce virus s'associe à p53 et favorise sa dégradation. L'inactivation dans les cellules Hela de l'expression du gène codant pour E6 par la technique de l'ARN interférence entraîne une mort massive des cellules par apoptose.

QCM 36 : Ces résultats suggèrent que la transformation à l'origine de la lignée des cellules Hela :

- A) est associée à une déficience en sénescence
- B) provoque la surproduction de Mdm2
- C) provient d'une mutation dans un gène suppresseur de tumeur
- D) peut s'expliquer par une dégradation excessive de p53
- E) peut être bloquée par une approche de type ARN interférence

QCM 37 : Propositions concernant la réponse des cellules à l'endommagement de l'ADN

- A) La progression du cycle cellulaire peut être bloquée en réponse à un stress génotoxique
- B) Les kinases effectrices peuvent être activées par différents types de dommage à l'ADN
- C) Après avoir subi un dommage, les cellules restent bloquées dans le cycle cellulaire de manière irréversible
- D) Des cassures de la double hélice entraînent des réarrangements chromosomiques si les cellules sont déficientes en kinases effectrices
- E) Certaines des protéines impliquées dans la réponse au dommage à l'ADN jouent également un rôle dans d'autres fonctions cellulaires

Le gène *p53* est fréquemment muté dans les cancers de la prostate et particulièrement dans les formes avancées de la maladie.

Il a été procédé à l'inhibition par ARN interférence de l'expression du gène *ATM* dans les cellules déficientes pour *p53* de la lignée PC3 issues d'un cancer de la prostate.

Il est rappelé que le gène *ATM* détermine la synthèse d'une kinase impliquée dans la reconnaissance de l'ADN endommagé et la phosphorylation des kinases effectrices.

L'inhibition d'*ATM* entraîne une accélération de la transition G1/S, une augmentation de l'activité du facteur de transcription E2F et de la quantité de la protéine PCNA impliquée dans la réplication de l'ADN. De plus, ces cellules deviennent plus sensibles à l'action de la doxorubicine qui est un agent génotoxique utilisé en chimiothérapie anti-cancéreuse.

Des expériences similaires d'inhibition d'*ATM* dans les cellules de la lignée LNCaP, issue d'un autre cancer de la prostate que PC3 et qui possède un gène *p53* fonctionnel, n'induit pas de sensibilisation à la doxorubicine.

QCM 38 : Ces résultats

- A) suggèrent un lien entre le contrôle du cycle cellulaire et la sensibilité à la doxorubicine
- B) démontrent que l'absence d'*ATM* dans les cellules PC3 modifie le contrôle de la progression du cycle cellulaire
- C) nécessiterait, comme contrôle, d'inhiber l'expression de *p53* dans LNCaP pour démontrer la coopération entre *p53* et *ATM* dans la sensibilité à la doxorubicine
- D) suggèrent que l'élimination des cellules déficientes pour *p53* pourrait avoir un impact dans le traitement du cancer de la prostate
- E) suggèrent une stratégie sélective d'élimination des cellules tumorales déficientes en *p53* en combinant chimiothérapie et inhibition d'*ATM*

Correction : Annales Gilson Lyon**QCM 1 : Réponse D**

Ce qu'il faut comprendre et retenir de ce texte de 10 lignes : - Visualisation de **c-Myc** par des **anticorps primaires de souris** - Visualisation de **H2A** par des **anticorps primaires de lapins**

A) Faux : C'est toujours le même piège, on peut pas avoir des anticorps secondaires (= anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin) qui sont de la même espèce que les anticorps primaires de l'autre protéine qu'on veut visualiser.

B) Faux : car les fluorochromes sont identiques

C) Faux

D) Vrai : Les animaux et les fluorochromes concordent

E) Faux : ce sont les même fluorochromes

QCM 2 : Réponse E

A) Faux : Pas forcément. Ici la lignée COS-7 est une lignée de cellules rénales de singe, donc aucun intérêt de la résistance à l'antibiotique, ça pourra pas nous servir à sélectionner les cellules qui ont été transfectées

B) Faux

C) Faux : si on en croit la ronéo 5 (2011-2012) « **L'expression transitoire** : Donc notre gène étranger va être incorporé dans le noyau. Dans la **plupart du temps**, si on introduit artificiellement une molécule d'ADN, l'ADN va bien être incorporé dans le noyau, cependant, il ne s'insèrera pas au milieu du génome de la cellule hôte) et au bout de quelques divisions il va être perdu. Cependant, ces quelques divisions peuvent constituer un temps suffisant pour que l'expérimentateur puisse étudier l'effet de ce transgène, surtout au niveau de son expression. (L'expression, c'est la fabrication d'une protéine ou d'un ARN correspondant au gène qu'on étudie. [la protéine venant bien sûr de l'ARN]). Cette expression transitoire est **extrêmement utilisée** parce que c'est assez commode ! On prend n'importe quel ADN avec des signaux d'expression et on peut **voir pendant quelques jours l'expression d'une protéine**. Ça peut être suffisant pour faire des études de microscopie ou pour regarder l'effet immédiat d'un gène sur la physiologie d'une cellule. » Donc on a sûrement affaire à une **expression transitoire**.

L'expression permanente est très très rare, (1/1000)

D) Faux : elle peut, la preuve, on observe de la fluorescence !

E) Vrai : d'après le texte de l'énoncé « 10 % des cellules émettent une fluorescence correspondant à l'excitation de la GFP dans le noyau »

QCM 3 : RIEN

Ce qu'il faut avoir compris : On fait un **FRAP** sur notre protéine nucléaire c- Myc-GFP

A) Faux : **energie inférieure et longueur d'onde supérieure**

B) Faux : c'est la définition du FRET et pas du photoblanchiment. La ronéo 2 dit : « Le photoblanchiment (photobleaching) consiste à irradier les molécules fluorescentes avec une lumière de très forte intensité, on tue à la fluorescence de manière irréversible, la molécule existe toujours et garde ses propriétés biologiques, mais la fluorescence est irrémédiablement tuée. »

C) Faux : au contraire, si la réapparition de la fluorescence est très rapide, c'est que les molécules bougent très vite, : c-Myc-GFP va vite

D) Faux : ça peut être des protéines c-Myc-GFP qui étaient à un autre endroit du nucléoplasme, déjà traduites, et qui ont bougé ensuite, et une traduction c'est beaucoup trop lent !

E) Faux : C'est n'importe quoi ...

QCM 4 : Réponses C,E

Ce qu'il faut avoir compris : On fait un **FLIP**. On a 2 cellules, L'irradiation se fait **en continu** dans le cytoplasme alors que la fluorescence est dans le noyau d'une seule des 2 cellules. On observe une perte de fluorescence progressive au cours du temps dans le noyau de la cellule irradiée. On n'observe pas de perte de fluorescence dans le noyau de la cellule non irradiée.

A) Faux : car il n'y a pas de perte de fluorescence (ou du moins de perte **significative**) dans le noyau de la 2ème cellule

B) Faux : dans le noyau !

C) Vrai : Car sur la courbe B, on voit que dès 1 minute on a plus que 60% de fluorescence, donc il a fallu moins de 2 minutes pour la protéine pour sortir

D) Faux : c'est pas la durée de vie ! On étudie les mouvements de la protéine pas sa durée de vie

E) Vrai ! Même si c'est absurde, et qu'on est quasi sûr que c'est pas ce qu'il se passe en vrai, c'est COMPATIBLE !!!!

QCM 5 : Réponses A,C,EA) Vrai

B) Faux : car le nucléole est constitué **d'une monocouche** !! Piège méchant, donc pas possible de couper entre les 2 membranes ! La cryofracture est une méthode de choix pour visualiser les **organites** et le nucléole **n'est pas un organite**.

C) Vrai : c'est la résolution maximale de la microscopie électroniqueD) Faux : c'est la définition de la microscopie à balayageE) Vrai : c'est comme de l'immunofluorescence.**QCM 6 : Réponses A,B,E**

Ce qu'il faut avoir compris : On regarde des fibroblastes humains dans des bonnes conditions de culture. On étudie l'expression de la β -galactosidase et la modification morphologique des fibroblastes (= 2 marqueurs de la sénescence) en fonction du nombre de division (= nombre de dédoublement de la population)

On crée plusieurs lignées : - LF30-SVF : On attend 30 DP (dédoublements de population, considérez que c'est une échelle de temps) puis on met les cellules 5 jours sans SVF - LF50-SVF : On attend 50 DP puis on met les cellules 5 jours sans SVF - LF30-SVF+ : On attend 30 DP puis on met les cellules 5 jours sans SVF, puis on les remet 24 heures en présence de SVF - LF50-SVF+ : On attend 50 DP puis on met les cellules 5 jours sans SVF, puis on les remet 24 heures en présence de SVF

- LF(hTERT) : Cellules transfectées avec le gène de la sous unité catalytique de la télomérase après 5 DP

- LF(AgT) : Cellules transfectées avec le gène de l'antigène T du virus oncogène SV40 après 5 DP

- LF(RasV12) : Cellules transfectées avec un vecteur exprimant RasV12 (version oncogène de Ras) après 12 DP

- LF(RasV12-hTERT) Exprimant RasV12 ET la télomérase après 12 DP - LF(RasV12-AgT) Exprimant RasV12 ET gène de l'antigène T du virus oncogène SV40 après 12 DP

A) Vrai !B) Vrai : Les cellules eucaryotes ont besoin de signaux pour se diviserC) Faux ! A cause de la sénescence, les cellules humaines normales ne peuvent pas se diviser à l'infini

D) Faux ! On le voit en observant la lignée LF30-SVF (donc privée de sérum pendant 5 jours) et on voit qu'il n'y a que 5% des cellules sur lesquelles on observe les marqueurs de la sénescence.

E) Vrai ! VRAI VRAI ET RE-RE VRAI !!!! +++**QCM 7 : Réponse D**A) FauxB) FauxC) FauxD) VraiE) Faux**QCM 8 : Réponses C,D**

LF	9	0	0	8,5
LF	12	0	0	8
LF	30	15	10	7
LF	55	80	80	5,7
LF	60	85	85	5

A) Faux : Là, on a juste à regarder les 5 premières colonnes du tableau, et on voit que **c'est l'inverse**, la taille des télomères diminue

B) Faux : là on regarde ça :

LF(hTERT)	30	0	0	8	47	40	13
LF(hTERT)	55	0	0	9	47	40	13

Et on voit que les proportions de cellules en G1/S/G2 sont les mêmes que pour les LF normales à ce stade de division, donc c'est faux

C) Vrai ! On peut démontrer car on sait que les cellules expriment les transgènes et que mis à part l'introduction du transgène dans la cellule, rien d'autre n'a été modifié. On voit que Quand la télomérase est exprimée les télomères sont plus grands que quand la télomérase n'est pas exprimée

LF	30	15	10	7
LF	55	80	80	5,7
VS				
LF(hTERT)	30	0	0	8
LF(hTERT)	55	0	0	9

D) Vrai : aussi car tous les marqueurs de la sénescence (**βgal et morphologie**) sont absents dans la cellules exprimant la télomérase

E) Faux : N'importe quoi !

QCM 9 : Réponses D,E

A) Faux : rien ne nous dit ça !

B) Faux ! La preuve, avec ça :

LF(RasV12)	12	80	85	8
------------	----	----	----	---

Les cellules sont très sénescents (80 et 85) et pourtant on a des télomères encore longs !

C) Faux : la preuve par ça :

LF(RasV12)	12	80	85	8	90	4	6
LF(RasV12-hTERT)	12	82	79	8	90	3	7

On voit que avec ou sans la télomérase; on est toujours bloqué en G1 dans le cycle cellulaire.

D) Vrai

E) Vrai : Si on regarde toutes les cellules qui sont sénescents à au moins 80 %, elles ont toutes en commun d'avoir des très hauts pourcentages de cellules bloqués en G1.

QCM 10 : Réponses (A)D

A) Vrai : l'absence de facteurs de croissance empêche la division, et si il n'y a pas de division, il n'y a pas de sénescence... On peut regarder les lignes LF 30 et LF 55 et les comparer avec les lignes LF30-SVF et LF55-SVF (sans SVF pendant 5 jours) => Les signes de sénescence diminuent. On peut aussi re-comparer avec les lignes LF30-SVF+ et LF55-SVF+ (sans SVF pendant 5 jours puis de nouveau en présence de SVF) => Les signes de sénescence ré-augmentent.

B) Faux : on ne peut pas le démontrer, même si ça semble être vrai

C) Faux : Déjà c'est pas très plausible parce que si il n'y a pas de division (et c'est le cas car il n'y a pas de facteurs de croissance et qu'on voit que le cycle cellulaire est bloqué) il n'y a pas de diminution de la taille des télomères. Et en plus il ne faut pas oublier que les lignées LF30 et LF55 sont restées 5 jours sans SVF avant qu'on fasse les observations pour les résultats du tableau. Donc en 5 jours, il n'y a pas eu de raccourcissement des télomères par rapport aux cellules avec SVF.

D) Vrai : (Nb : Stimulation mitogénique = SVF) c'est ce qu'on observe dans la lignée LF

E) Faux : On ne sait pas

QCM 11 : Réponses B,C,D

A) Faux, (en fait c'est vrai, vous le verrez après, sauf que le tableau ne nous le dit pas)

B) Vrai

C) Vrai D'APRES LE TABLEAU ! Donc attention, il faut oublier les connaissances pour se concentrer que sur les données du tableau !

D) Vrai ! Par exemple dans les cellules LF à 60 divisions, on a toujours stimulation mitogénique (car on a toujours du SVF) pourtant il n'y a plus de division, ça suggère bien que les inhibiteurs du cycle cellulaire sont suffisants pour contrebalancer ...

E) Faux : exemple les LF30-SVF qui sont **quiescentes**

QCM 12 : Réponse A,D

A) Vrai

B) Faux : N'importe quoi !

C) Faux : spécifique

D) Vrai !

E) Faux : c'est le rôle de la pinocytose

QCM 13 : Rien

- A) Faux : c'est la phagocytose
B) Faux : peut être stocké, ou il peut y avoir transytose ...
C) Faux : c'est du cours
D) Faux : d'endocytose
E) Faux : par transytose, c'est à dire endocytose par récepteur interposé puis EXOCYTOSE

QCM 14 : Réponse C

- A) Faux : c'est la définition **du lysosome**
B) Faux : il **diminue** !
C) Vrai !!!
D) Faux : à un pH beaucoup plus acide!
E) Faux

QCM 15 : Réponse D

- A) Faux : ils peuvent !
B) Faux : Au bout d'environ 50 divisions elles rentrent en senescence
C) Faux
D) Vrai !
E) Faux : les cellules sénescents sont métaboliquement actives !

QCM 16 : RIEN

La seule donnée qu'on a pour l'instant c'est : p53 est présente en grande quantité dans de nombreuses lignées de cellules issues de tumeurs humaines. Et on cherche à DEMONTRER.

- A) Faux : on en sait rien (et en plus c'est pas le cas)
B) Faux : On n'en sais rien non plus
C) Faux : Non plus
D) Faux : Non plus
E) Faux : On pourrait penser que oui, mais il n'y a pas que la prolifération dans les cancers comme problèmes, il y a aussi l'angiogenèse (création de néo-vaisseaux) ou la mobilité (pour les métastases etc). Donc la minuscule information qu'on nous donne n'est pas suffisante pour affirmer ça.

QCM 17 : Réponses A,C,E

- A) Vrai : une cellule a besoin de facteurs pour enclencher la division, si il y a pas de sérum, c'est qu'elle produit elle même ses signaux (= autocrine)
B) Faux : «une cellule adhérente est transformée lorsqu'elle est capable de croître en trois dimension dans une surcouche d'agar mou en absence de sérum». L'agar mou n'est pas un support d'ancrage !! Cf le test de l'agar mou
C) Vrai : on utilise surtout le SVF : Serum de Veau Foetal
D) Faux : puisqu'elles se divisent. C'est un item qui dit n'importe quoi pour nous induire en erreur.
E) Vrai

QCM 18 : Réponses A,B

Ce qu'il faut avoir compris :

- Mutation de Ras (constitutivement actif) = Les fibroblastes ne sont pas transformés (ils ne croissent pas sur de l'agar mou) - Mutation de Ras ET de l'antigène T du virus SV40 = cellules transformées
- p53 + Ras muté = les cellules ne sont pas transformées - p53 + Ras normal = les cellules ne sont pas transformées - p53c (gène p53 d'un carcinome du colon) + Ras muté = Transformation des fibroblastes de souris - p53c + SV40 : pas de transformation

- A) Vrai : car Ras + SV40 transforme les cellules (les «cancérigénise») et quand on ajoute P53, elles sont décancérigénisées. C'est suffisant pour **suggérer** que p53 est suppresseur de tumeurs.
B) Vrai : cf : « Mutation de Ras ET de l'antigène T du virus SV40 = cellules transformées». Alors que Ras tout seul ne transforme pas les cellules. Il a besoin de SV40.
C) Faux : cf: «p53+Rasmuté=les cellules ne sont pas transformées»
D) Faux : Hésitation. On voit que p53c + Ras = transformation alors que p53 + Ras = pas transformation (alors que p53 est là car c'est une transfection)
E) Faux : cf : « p53c + SV40 : pas de transformation»

QCM 19 : Réponse D

- A) Faux : on a pas fait la démonstration de ça
- B) Faux : oligomère = fragment court d'ADN OU formé de plusieurs oligomères. Dans les 2 cas c'est possible (si c'est un fragment court d'ADN, ça marche nickel vu que il y a des acétylations et des méthylations ce qui fait penser à de la chromatine)
- C) Faux : car « Par contre, l'ADNc du gène *p53* isolé à partir de cellules d'un carcinome du colon (appelé *p53c*) est capable de transformer les fibroblastes de souris seulement lorsqu'il est cotransfecté avec le gène *ras* muté. La cotransfection de *p53c* et du gène de l'antigène T ne permet pas de transformer les cellules. » S'il y avait eu transformation des cellules après cotransfection de *p53c* avec l'antigène T, on aurait pu dire que l'antigène T avait inactivé *p53*, ce qui n'est pas le cas.
- D) Vrai : surtout que c'est gentil car on a «**peut contribuer**».
- E) Faux : car on les a pas injecté dans un animal immunodéprimé, on ne peut pas savoir

QCM 20 : Réponses A,C,E

- A) Vrai !
- B) Faux : la mutation de Ras SEUL ne donne pas de cellules transformées
- C) Vrai : plusieurs événements car plusieurs facteurs qui rentrent en jeu
- D) Faux : Non on a rien démontré, on ne sait pas si ça INTERAGIT
- E) Vrai : car les 2 gènes n'entraînent pas les mêmes phénotypes.

QCM 21 : Réponses A,C,D,E

- A) Vrai : ce genre de questions c'est facile, on a juste à regarder l'épaisseur du trait. On voit que plus on expose les cellules aux UV, plus le trait est épais. Donc on a augmentation de *p53*
- B) Faux : on voit une augmentation de la quantité de *p53* associée à sa phosphorylation
- C) Vrai : car *p53* reste en quantité identique
- D) Vrai !
- E) Vrai : même si ce n'est qu'un petit peu.

QCM 22 : Réponses A,C,(D)

Ce qu'il faut avoir compris :

- On a une mutation germinale qui est une délétion d'un allèle du gène de *p53* (il n'est qu'en un exemplaire) donc qu'on retrouve dans les cellules sanguines qui n'ont rien à voir avec notre cancer
- Dans les cellules cancéreuses, on a en plus une mutation ponctuelle dans l'autre allèle (le seul qui marchait, vu que l'autre est délété). => La mutation germinale donne une prédisposition au cancer colo-rectal, car il suffit que un des 2 allèles soit muté pour que il y ait les problèmes, en effet, on aura pas l'autre allèle pour nous sauver, comme ça aurait été le cas dans des cellules qui n'avaient pas cette délétion. Donc c'est une mutation RECESSIVE

- A) Vrai : car «certains membres de la famille» nous oriente direct vers une mutation GERMINALE
- B) Faux : Une mutation récessive est généralement une perte de fonction
- C) Vrai ! en plus de la mutation germinale qu'il avait déjà
- D) Hésitation : ça serait juste si c'était «est compatible avec» et là ... mystère ! Personnellement je la mettrais quand même vraie.
- E) Faux : au contraire, est un facteur prédisposant à l'apparition de cancers !

QCM 23 : Réponses A,B,C,D

- A) Vrai : Celles qui sont en sénescence
- B) Vrai : car la réplication se fait en phase S et que G1 est avant la phase S, G2 après la phase S
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux : il y a modification de la répartition des lipides membranaires

QCM 24 : Réponse D

- A) Faux : la sénescence n'est PAS la mort. La cellule est toujours métaboliquement active !
- B) Faux : la nécrose ne nécessite pas l'hydrolyse de l'ATP
- C) Faux ! nécrose = absence de condensation de la chromatine
- D) Vrai : car l'annexine V traverse la membrane plasmique et marque les sérines qui sont sur la membrane interne. (Elle marque aussi les apoptotiques avec les sérines sur la membrane externe (car externalisation des phosphatidyl sérines dans l'apoptose))
- E) Faux : pas l'iodure de propidium car l'apoptose il y a pas «perçage de la membrane»

QCM 25 : Réponses B,E

- A) Faux : cf dans les cellules p53+/+ avec irradiation
B) Vrai ! Car on voit que quand p53 est +/- et qu'on met des IR, p21 est exprimé ++, et que quand on a p53 -/- il n'y a pas de p21
C) Faux : c'est pas un inhibiteur ! Au contraire, un activateur. On le voit sur le C, quand p53 est +/- il y a **fragmentation de l'ADN** qui est un marqueur de l'apoptose. Alors que p53 -/- ne donne pas de fragmentation = pas d'apoptose.
D) Faux : car p21 est exprimé dans les cellules p53 +/- après irradiation donc apoptotiques
E) Vrai : c'est compatible

QCM 26 : Réponses A,D

- A) Vrai : ce sont les IR qui donnent des dommages à l'ADN, et p53 **est impliquée** dans l'apoptose qui suit
B) Faux : rien ne le démontre, on sait pas si c'est p21 ou p53 par exemple. p21 pourrait être pro-senescence.
C) Faux : l'actine c'est juste le témoin dans l'expérience
D) Vrai : On voit que quand on a p53 +/- on a moins de p21 exprimé
E) Faux : pas tous, par exemple pas ceux qui sont -/-

QCM 27 : Rien

- A) Faux : On en sait rien ! Surtout que là on doit DEMONTRER
B) Faux : puisque 4 générations après, il y a toujours une descendance ! C'est que ça a marché !
C) Faux : surtout que c'est démontre
D) Faux
E) Faux

QCM 28 : Réponses A,C,D

- A) Vrai : cf les lignées G1 et G4, où il n'y a pas de télomérase, et où la radiosensibilité est augmentée. C'est écrit dans le tableau
B) Faux : La preuve, pas de cancers pour les lignées G1 et G4
C) Vrai : On voit que dès qu'il y a un p53 - on a des cancers. A chaque fois ! sauf dans le sauvage où on a p53 + / +. Même dans la dernière ligne du tableau p53 +/- => PAS de cancer !
D) Vrai : c'est écrit dans la 3ème ligne p53 -/-, ici vous avez juste à savoir lire un tableau.
E) Faux : le tableau : les cellules p53 -/- G1 vivent moins de 10 mois avec de nombreux lymphomes et sarcomes

QCM 29 : Réponses A,B,C

On parle de propositions compatibles ! Attention, souvent c'est n'importe quoi ! mais il faut que ça puisse concorder !

- A) Vrai : C'est une proposition **compatible** si on exclut tout le reste et qu'on ne se concentre que sur les 2 lignes du tableau dont on parle. p53 est l'oncogène qui s'exprime à l'état hétérozygote
B) Vrai : ça marche aussi ! ça explique que quand on a p53 +/- on a les mécanismes qui font grandir les télomères, ce qui fait que il y a développement de cancers. Alors que p53 -/- pas de croissance des télomères et pas de carcinomes
C) Vrai : (et ça commence à être probable) p53 +/- permet de vivre plus longtemps, et donc de développer des cancers qui n'ont pas le temps d'arriver quand on a p53 -/- et qu'on vit moins de 10 mois
D) Faux : dans ce cas là, ça serait l'inverse, p53 +/- donnerait moins de cancers
E) Faux : ça n'a rien à voir

QCM 30 : Réponses C,D

Ce qu'il se passe en vrai.

- p53 est suppresseur de tumeurs
 - mdm2 est oncogène
 - mdm2 agit en bloquant l'activité de p53 (l'envoie au protéasome).
- Donc il inhibe un suppresseur de tumeur, donc c'est un activateur de la prolifération

- A) Faux : ça n'a rien à voir et c'est faux
B) Faux : Rien à voir
C) Vrai : c'est compatible, pourquoi ? parce que quand il y a p53 +/- il y a moins de répression de la division. donc moins d'inhibition = + d'activation
D) Vrai : Si on reformule : «le dosage de la protéine p53 est importante dans le développement embryonnaire, ce qui peut expliquer le sauvetage de la viabilité des souris mdm2 -/- par l'introduction d'au moins un allèle délété de p53.»
E) Faux

QCM 31 : Réponses B ,C,D,E

- A) Faux : on sait pas, on a pas de case mdm2 +/-
B) Vrai : C'est la case mdm2 -/- : blocage du cycle cellulaire et du développement embryonnaire par un dosage supra-physiologique de p53 (il y a pas assez d'inhibiteur de p53 vu qu'on a mdm2 -/-)
C) Vrai
D) Vrai
E) Vrai : cf la ligne p53 +/- G4 comparé à p53 +/- G1

QCM 32 : Réponses A,B,E

On recherche les effets de mdm2 sur l'expression de p53

- A) Vrai
B) Vrai
C) Faux : rien à voir avec mdm2
D) Faux : c'est pas l'expression de p53 c'est les modifications post-traductionnelles
E) Vrai

QCM 33 : Réponses A,B,E

- A) Vrai : car c'est un suppresseur de tumeurs
B) Vrai : si on compare les lignes p53 +/- et p53 -/- c'est toujours plus longéviste (:P) avec p53 +/-
C) Faux
D) Faux
E) Vrai

QCM 34 : Réponse A,B

- A) Vrai : c'est du cours fastoche
B) Vrai : quasiment tous en fait
C) Faux : car il y a les modifications post-traductionnelles
D) Faux : cf le début de la ronéo 12
E) Faux : par exemple les gènes compétents

QCM 35 : Réponse A,B,C,D,E

- A) Vrai : C'est compatible ! Résultat p53 ne peut pas activer l'expression de p21 (et ça on sait que c'est vrai)
B) Vrai : pas assez d'inhibition de p53
C) Vrai
D) Vrai : si on prend que les 2 petites lignes du dessus
E) Vrai

QCM 36 : Réponses D,E

- A) Faux : d'apoptose ! pas de sénescence
B) Faux : hs
C) Faux : il n'y a pas de mutation ici
D) Vrai
E) Vrai : On a toutes les réponses juste en lisant les 4 lignes de texte juste avant le QCM.

QCM 37 : Réponses A,B,E

- A) Vrai
B) Vrai
C) Faux : il peut y avoir des réparations, et ça repart
D) Hésitation : justement, s'il n'y a pas de kinases effectrices elles ne peuvent pas effectuer les réarrangements chromosomiques ? Faux ?
E) Vrai

QCM 38 : Réponses B,E