

QCM 1 : Parmi les propositions suivantes concernant la mise en culture des fibroblastes primaires, quelles sont les propositions exactes ?

- A) Les fibroblastes de cultures primaires peuvent effectuer un nombre illimité de divisions, à condition de remplacer suffisamment souvent le milieu de culture adéquat
- B) Un avantage d'étudier des cellules en culture est de travailler avec un contenu cellulaire plus homogène qu'un tissu
- C) Aucune cellule humaine mise en culture ne peut pousser directement sur le plastique des boîtes de pétri
- D) Des lignées immortelles peuvent être obtenues de manière spontanée, mais il s'agit d'un phénomène très rare pour les cellules humaines
- E) La mise en culture primaire de fibroblastes de peau nécessite de les traiter avec des virus

QCM 2 : Parmi ces propositions concernant la microscopie à fluorescence, donnez les vraies

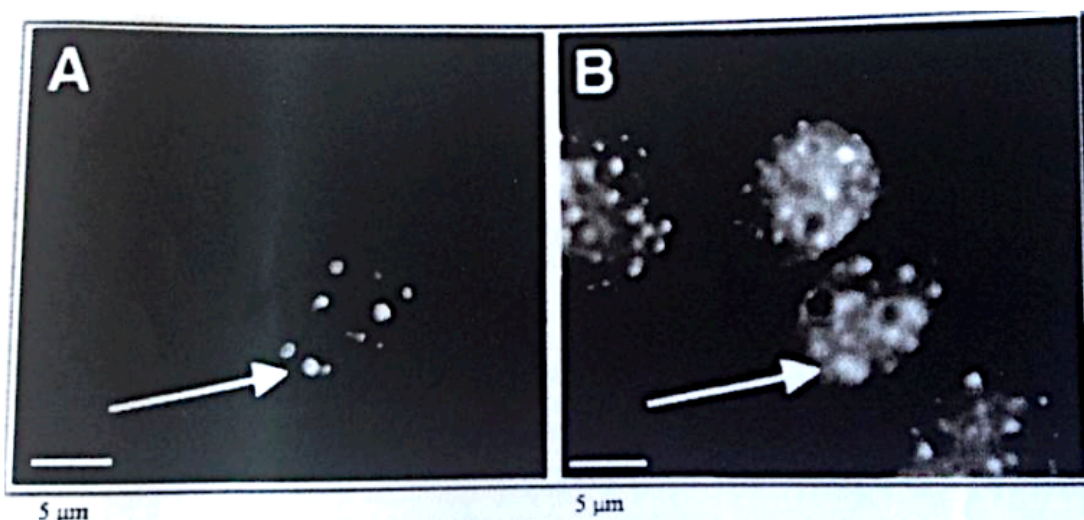
- A) Les fluorochromes sont des molécules caractérisées par une longueur d'onde d'excitation et une longueur d'onde d'émission
- B) Pour réaliser un double marquage fluorescent, il faut utiliser de fluorochromes avec des spectres d'émission différents
- C) Si deux protéines, marquées avec des fluorochromes différents qui émettent dans le rouge et dans le bleu, sont localisées au même endroit de la cellule, on n'observera que la couleur rouge
- D) La bioluminescence naturelle de la GFP peut être utilisée pour visualiser des protéines spécifiques dans des cellules vivantes
- E) En immunofluorescence, pour réaliser un co-marquage, les anticorps primaires doivent provenir d'espèces différentes

QCM 3 : Le syndrome Townes-Brocks (abrégié en STB) est une maladie génétique qui est caractérisée par des anomalies dans le développement urogénital et ano-rectal et par des malformations des mains et des oreilles. Des mutations dans le gène SALL1 sont la cause de la maladie. L'ADNc du gène SALL1 humain a été purifié à partir des cellules d'une personne non malade (appelé ADNc WT) et à partir des cellules d'un patient STB (appelé ADNc STB). La phase codante de l'ADNc WT a été fusionnée avec celle du gène déterminant la synthèse de la protéine GFP. On rappelle que la GFP est une molécule issue d'une méduse qui absorbe le bleu (395nm) et émet une fluorescence verte (510nm) et que l'ADNc, ou ADN complémentaire, correspond à l'ADN d'un gène débarrassé des introns.

L'ADN du nouveau gène SALL1GFP a été placé sous le contrôle du promoteur eucaryote CMV. L'ADN recombinant ainsi obtenu s'appelle CMV-SALL1GFP. Cet ADN a été transfecté dans les cellules d'une lignée murines. Des expériences de microscopie en fluorescence ont été effectuées sur les cellules transfectées

Figure1:

Analyse en microscopie à fluorescence des cellules transfectées par l'ADN CMV-SALL1GFP et colorées au DAPI. Les zones blanches des photographies représentent la fluorescence observée. Les images A et B représentent le même groupe de cellules mais dans deux conditions d'observation: (image A) fluorescence verte émise par la GFP/ (image B) fluorescence bleue émise par le DAPI lorsque celui-ci est complexé à l'ADN.



Parmi les propositions suivantes concernant la Figure 1, quelles sont les propositions exactes ?

- A) La figure 1 suggère que le gène SALL1 détermine la synthèse d'une protéine mitochondriale
- B) La figure 1 montre que toutes les cellules expriment la protéine GFP
- C) La figure 1 démontre que la fluorescence due à la protéine GFP est diffuse et homogène dans le nucléoplasme
- D) Les deux images de la figure 1 nécessitent d'être superposées pour démontrer une éventuelle colocalisation de la GFP et de la coloration au DAPI
- E) La figure 1 démontre que la protéine GFP est localisée dans le noyau des cellules de méduse

QCM 4 : Il existe un groupe de maladies génétiques caractérisées par des défauts de biogenèse des peroxysomes appelé PBD (Peroxisome biogenesis disorder). Les patients atteints de PBD présentent une série de défauts des enzymes peroxysomales dont l'absence d'activité dihydroxyacetonephosphate acyltransférase (DHAP-AT) qui intervient dans la biosynthèse de certains glycerophospholipides. Dans les formes les plus sévères, les patients PBD souffrent de désordres neurologiques et hépatiques progressifs, d'anomalies caractéristiques du développement de la face et généralement décèdent au cours de la première année. Dans les formes moins sévères, les enfants peuvent atteindre, voir dépasser, l'adolescence. L'activité DHAP-AT mesurée dans les fibroblastes de peau mis en culture primaire à partir d'individus normaux est d'environ 10 unités. On estime que le taux d'erreur de mesure de cette enzyme n'excède pas 20%. Des fibroblastes de 7 patients PBDs ont été mis en culture primaire et l'activité DHAP-AT mesurée est de 2 unités pour le patient RCDP, 1 unité pour le patient ZS1, 1 unité pour le patient ZS2, 1 unité pour le patient ZS3, 0,1 unité pour le patient IRD, 0,2 unités pour le patient HPA et 2 unités pour le patient NALD. Des hétérocaryons entre ces fibroblastes malades et des fibroblastes normaux ont été générés. L'efficacité de la fusion a été estimée comme le pourcentage de cellules multinucléées et se situe à environ 90%. Trois jours après la fusion, toutes les cultures de cellules expriment une activité comprise entre 8,8 et 10 unités

Parmi les propositions suivantes concernant les mutations des 7 patients PBDs quelles sont les propositions exactes ?

- A) Les mutations sont toutes portées par le même gène
- B) Les mutations forment 7 groupes de complémentation
- C) Les mutations des patients ZS1, ZS2 et ZS3 sont portées par le même gène et les mutations RCDP et NALD par un autre gène
- D) Les mutations sont dominantes
- E) Les mutations sont complémentées par le génome des fibroblastes normaux

QCM 5 : Les fibroblastes des patients sont maintenant fusionnés deux à deux et les résultats d'activité DHAP-AT (trois jours après la fusion) sont donnés dans le tableau I.

	RCDP	ZS1	ZS2	ZS3	IRD	HPA	NALD
RCDP	2						
ZS1	8,8	1					
ZS2	9	9,8	1,1				
ZS3	8,6	9	10	1			
IRD	11	0,7	11,4	10	0,1		
HPA	10,5	1	8,3	9	0,3	0,2	
NALD	10	8,9	9	8	10	10,7	2,1

Parmi les propositions suivantes concernant le tableau I, quelles sont les propositions exactes ?

- A) RCDP et ZS1 appartiennent au même groupe de complémentation
- B) Les 7 patients appartiennent à 5 groupes de complémentation différents
- C) Les fibroblastes ZS1 et IRD sont probablement mutés dans le même gène
- D) Il existe un groupe de complémentation comprenant 3 patients
- E) Le génome des fibroblastes NALD complémente la mutation RCDP

QCM 6 : La digitonine est un détergent qui forme des complexes stoechiométriques avec le cholestérol, ce qui perméabilise la membrane plasmique mais peu la membrane peroxysomale. De ce fait, plus de 200mg/mL de digitonine est nécessaire pour libérer à l'extérieur des cellules normales la totalité de l'activité catalase, une enzyme présente dans la matrice des peroxysomes. La quantité de digitonine (mg/mL) nécessaire à libérer la catalase à l'extérieur des hétérocaryons est donnée dans le tableau II.

	RCDP	ZS1	ZS2	ZS3	IRD	HAP	NALD
RCDP	200						
ZS1	200	< 40					
ZS2	200	200	< 40				
ZS3	200	200	200	< 40			
IRD	200	< 40	200	200	< 40		
HPA	200	< 40	200	200	< 40	< 40	
NALD	200	200	200	200	200	200	< 40

Parmi ces propositions concernant le tableau II, quelles sont les propositions exactes ?

Parmi ces propositions concernant le tableau II, quelles sont les propositions exactes ?

- A) La catalase n'est pas exprimée dans les cellules du patient RCDP
- B) L'intégrité des peroxysomes est altérée chez le patient ZS1
- C) Pour les 7 patients, la localisation de la catalase dans les peroxysomes est altérée
- D) ZS1 et ZS2 appartiennent au même groupe de complémentation
- E) La concentration de cholestérol est augmentée dans les membranes plasmiques des cellules malades ZS1

QCM 7 : Une autre façon d'étudier la fonctionnalité des peroxysomes est d'utiliser la méthode de centrifugation à l'équilibre en gradient de densité. La distribution d'enzyme du cytosol (lactate déshydrogénase), des peroxysomes (uricase) et des lysosomes (hexosaminidase) a été déterminée le long d'un gradient de percoll à partir d'homogénats de cellules fibroblastiques. Pour les cellules normales, on trouve que l'activité uricase est localisée entre le pic de lactate déshydrogénase et celui d'hexosaminidase. A partir d'homogénat des fibroblastes malades, les activités lactate déshydrogénase et hexoaminidase présentent le même profil le long du gradient que celui déterminé à partir des cellules normales. Par contre, pour les patients ZS1, ZS2, ZS3, IRD, HPA et NALD, le pic d'uricase est déplacé et co-sédimente avec celui de la lactate déshydrogénase. Pour les cellules du patient RCDP, l'uricase sédimente entre les pics de lactate déshydrogénase et l'hexosaminidase, comme dans le gradient obtenu à partir d'homogénat de cellules normales. A partir d'homogénat de cellules fusionnées provenant des patients ZS1 et IRD, l'uricase co-sédimente avec la lactate déshydrogénase. Un résultat comparable est obtenu avec les hétérocaryons provenant des fusion entre les cellules ZS1, ZS2, ZS3, NALD et HPA qui ne présentaient pas de complémentation pour l'activité DHAP-AT (tableau I) ou pour la libération de catalase par la digitonine (tableau II). A partir d'hétérocaryons provenant de ZS1 et ZS3, l'uricase sédimente entre les pics de lactate déshydrogénase et d'hexosaminidase.

Parmi les propositions suivantes concernant ces résultats, quelles sont les propositions exactes ?

- A) L'uricase des cellules malades ZS1 est cytosolique
- B) Les altérations de l'intégrité des peroxysomes révélées par les expériences à la digitonine sont compatibles avec celles révélées par les expériences en gradient de sédimentation
- C) Les mutations responsables du défaut de localisation intracellulaire de l'uricase dans les cellules ZS1 et IRD sont probablement présentes dans le même gène
- D) Il n'y a pas de peroxysome dans les cellules des patients ZS1
- E) Dans les fibroblastes normaux, la densité des peroxysomes est inférieure à celle des lysosomes

QCM 8 : Parmi les propositions suivantes, quelles sont les propositions compatibles avec les analyses précédentes concernant la mesure de l'activité DHAP-AT, la libération de la catalase par le traitement à la digitonine et la sédimentation des peroxysomes

- A) La présence de peroxysomes contenant de l'uricase est suffisante pour permettre l'expression de l'activité DHAP-AT
- B) L'expression de l'activité catalase dans les cellules dépend de la présence d'activité DHAP-AT
- C) Des problèmes d'importation des protéines dans les peroxysomes existent pour les patients ZS1, ZS2 et NALD
- D) La mutation responsable de la perte d'activité DHAP-AT dans les cellules ZS1 est localisée dans un gène nécessaire à la biogénèse des peroxysomes
- E) La mutation responsable de la perte d'activité DHAP-AT dans les cellules ZS1 est localisée dans un gène nécessaire au transport des protéines du cytosol à l'intérieur des peroxysomes

QCM 9 : La localisation de la catalase et de l'uricase dans les cellules normales et malades a été étudiée par immunofluorescence indirecte en utilisant des anticorps primaires de lapin dirigés contre la catalase ou contre l'uricase humaine et des anticorps secondaires de chèvre anti-immunoglobuline de lapin et couplés à la fluorescéine. Pour permettre l'entrée des anticorps, les cellules ont été perméabilisées avec du Triton X100, un détergent qui perméabilise à la fois la membrane plasmique et la membrane des peroxysomes. La figure 2 représente les deux types d'images qui ont été obtenues (type A et type B)

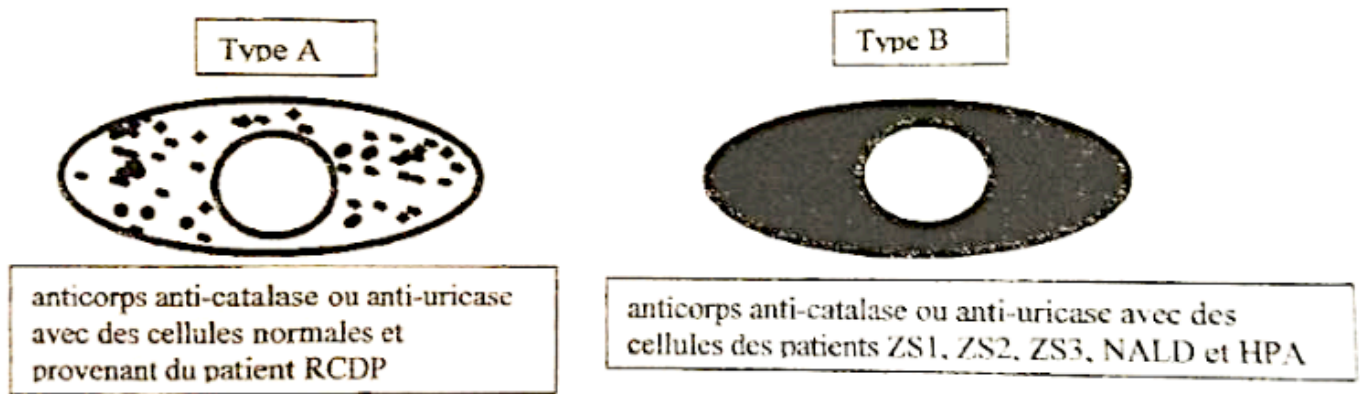


Figure 2:

La fluorescence est indiquée en noir et les membranes plasmiques et nucléaires en traits gris. La coloration grise homogène indique la présence d'une fluorescence diffuse.

Parmi les propositions suivantes, quelles sont les propositions exactes ?

- A) L'immunofluorescence indirecte permet de visualiser une protéine dans des cellules vivantes.
- B) Il n'y a pas de peroxyosome dans les cellules des patients ZS1, ZS2, ZS3 et NALD
- C) Les anticorps secondaires sont couplés à un fluorochrome
- D) Les résultats d'immunofluorescence sont en accord avec les résultats des expériences avec la digitonine pour les cellules ZS1 mais pas pour les cellules RCDP
- E) Les anticorps secondaires utilisés dans l'expérience d'immunofluorescence anti-catalase décrite ci-dessus sont dirigés contre des immunoglobulines humaines

QCM 10 : Les mêmes expériences d'immunofluorescence ont ensuite été effectuées mais en remplaçant le Triton X100 par de la digitonine à 30 mg/mL. Les patients ZS1, ZS2, ZS3, NALD et HPA présentent une coloration de type B (cf figure 1). Les cellules des individus normaux ou celles du patient RCDP ne sont pas fluorescentes (figure 3, type C).

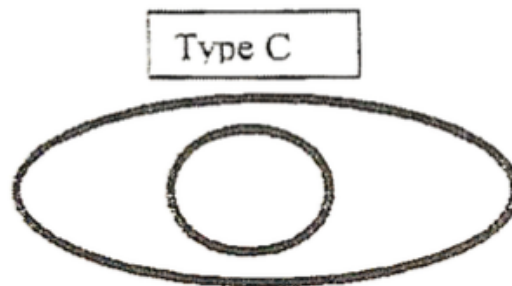


Figure 3:

Les membranes plasmiques et nucléaires en traits gris. Aucune fluorescence n'est visible.

Parmi les propositions suivantes, quelles sont les propositions exactes ?

- A) La catalase et l'uricase sont localisées à l'intérieur des peroxyosomes des cellules normales
- B) Il n'y a pas de peroxyosome dans les cellules du patient RCDP
- C) La digitonine empêche les anticorps de rentrer dans les cellules
- D) La catalase et l'uricase sont capables d'être importées dans les peroxyosomes
- E) La catalase est traduite à l'intérieur des peroxyosomes dans les cellules normales

QCM 11 : Parmi les propositions suivantes concernant les flux de vésicules membranaires dans la cellule, citer les trois propositions exactes

- A) La dynéine participe à l'importation de vésicules depuis le golgi vers le réticulum
- B) La kinésine participe à l'importation de vésicules depuis la membrane plasmique vers le golgi
- C) La dynéine participe au flux d'endocytose depuis la membrane plasmique vers le golgi
- D) La kinésine participe au transport rétrograde du golgi vers le réticulum
- E) La kinésine participe au flux d'exocytose depuis le golgi vers la membrane

QCM 12 : En phase G du cycle cellulaire, les microtubules croissent à partir des sites de nucléation du centromère

parce que

L'hydrolyse du GTP lié aux monomères de β -tubuline rompt la liaison d'association du dimère de tubuline α - β

- A) Le fait et la raison sont exacts et liés
- B) Le fait et la raison sont exacts mais non liés
- C) Le fait est exact, la raison est fausse
- D) Le fait est faux, la raison est exacte
- E) Le fait et la raison sont faux

QCM 13 : Pendant la mitose, les microtubules jouent un rôle important pour la réparation chromosomique et la réparation des matériels cellulaires partagées pour la division cellulaire. Dans les propositions suivantes, lesquelles sont exactes ?

- A) Les microtubules kinétochoriens sont liés à l'hétérochromatine centromérique
- B) Le centrosome organisateur des microtubules reste unique alors que les centrioles se dédoublent
- C) Les microtubules polaires polymérisent et se développent à partir des asters
- D) Le traitement de cellules en culture par de la colchicine empêche le déroulement de la mitose
- E) Les microtubules astériens sont polarisés, leur croissance se fait vers le centre de la cellule