

QCM 1 : Des expériences de double immunofluorescence ont été conduites avec des anticorps primaires de souris dirigés contre la protéine p53 et des anticorps primaires de lapin dirigés contre la protéine Myc. Laquelle de ces combinaisons d'anticorps secondaires vous paraît appropriée(s) pour visualiser séparément dans les mêmes cellules les deux anticorps primaires

- 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) ABCD fausses

QCM 2 : Concernant la mise en culture des fibroblastes primaires, donnez la/les vraie/s :

- A) Les fibroblastes de culture primaire peuvent effectuer un nombre illimité de divisions, à condition de remplacer suffisamment de souvent le milieu de culture adéquat
- B) Un avantage de travailler avec des cellules en culture est de travailler avec un contenu cellulaire plus homogène qu'un tissu
- C) Aucune cellule humaine mise en culture n'est capable de 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) ABCD fausses

QCM 3 : Parmi les propositions suivantes concernant la mitose, quel est (sont) celle(s) qui sont exactes ?

- A) L'attachement correct des chromosomes au fuseau mitotique est indispensable au déclenchement de la métaphase
- B) Dans une mitose fermée, la rupture de l'enveloppe nucléaire se fait en début de prométaphase
- C) Au cours de la mitose, il y a inhibition du transport vésiculaire
- D) Les chromosomes non attachés au fuseau bloquent la séparation des chromatides-sœurs
- E) ABCD fausses

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes concernant la chromatine, quel est (sont) celle(s) qui sont exactes ?

- A) L'immunoprécipitation de chromatine est une technique permettant d'étudier les modifications post-traductionnelles des histones dans les cellules
- B) La méthylation des lysines de l'histone H3 est toujours associée à la répression de la transcription
- C) Les gènes actifs sont présents dans des domaines sensibles à la DNaseI
- D) Il y a effet de position quand l'activité d'un élément génétique dépend de son contexte chromosomique
- E) ABCD fausses

QCM 5 : Il existe un groupe de maladies génétiques caractérisées par des défauts de biogénèse 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 glycérophospholipides. L'activité DHAP-AT mesurée dans des 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 (appelés RCDP, ZS1, ZS2, ZS3, IRD, HPA et NALD) 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 unité 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 généralement entre 60 et 90%. Trois jours après la fusion, toutes les cultures de cellules expriment une activité entre 7 et 10 unités.

Concernant les mutations des 7 patients PBDs, donnez la/les vraie/s :

- 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) ABCD fausses

QCM 6 : 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	HAP	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

D'après le tableau I, laquelle ou lesquelles de ces propositions est (sont) correcte(s)

- A) RCDP et ZS1 appartiennent au même groupe de complémentation
B) Les 7 patients appartiennent à 5 groupes de complémentation
C) Les fibroblastes ZS1 et IRD sont probablement mutés dans le même gène
D) Il existe un groupe de complémentation comprenant 3 patients
E) ABCD fausses

QCM 7 : La digitonine perméabilise la membrane plasmique mais pas ou peu la membrane peroxysomale. De ce fait, plus de 200 $\mu\text{g/ml}$ 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 ($\mu\text{g/ml}$) nécessaire à libérer la catalase à l'extérieur des hétérocaryons est donnée dans le tableau II.

	RCDP	ZS1	ZS2	ZS3	IRD	HPA	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

Tableau II

D'après les résultats du tableau II, laquelle ou lesquelles de ces propositions est (sont) correcte(s)

- A) La catalase n'est pas exprimée dans les cellules du patient RCDP
B) L'intégrité des peroxysomes est altérée dans le patient ZS1
C) La localisation de la catalase dans les peroxysomes des 7 patients est altérée
D) ZS1 et ZS2 appartiennent au même groupe de complémentation
E) ABCD fausses

QCM 8 : La distribution d'enzymes du cytosol (lactate déshydrogénase), des peroxysomes (uricase) et des lysosomes (hexosaminidase) a été déterminée le long d'un gradient de densité 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 hexosaminidase présentent le même profil le long du gradient que celui déterminé à partir des 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 fusions 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'hexominidase.

D'après ces résultats, laquelle ou lesquelles de ces propositions est (sont) correcte(s)

- 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 peroxysomes dans les cellules des patients ZS1

E) ABCD fausses

QCM 9 : L'ensemble des 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 suggèrent que :

- 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 biogenèse des peroxysomes
- E) ABCD fausses

QCM 10 : Les localisations dans les cellules normales et malades de la catalase et de l'uricase ont été étudiées par immunofluorescence indirecte en utilisant des anticorps primaires de lapin dirigés contre la catalase ou contre l'uricase humaine et anticorps secondaires de chèvre anti-immunoglobulines 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 1 représente les deux types d'image qui ont été obtenus (type A et type B)

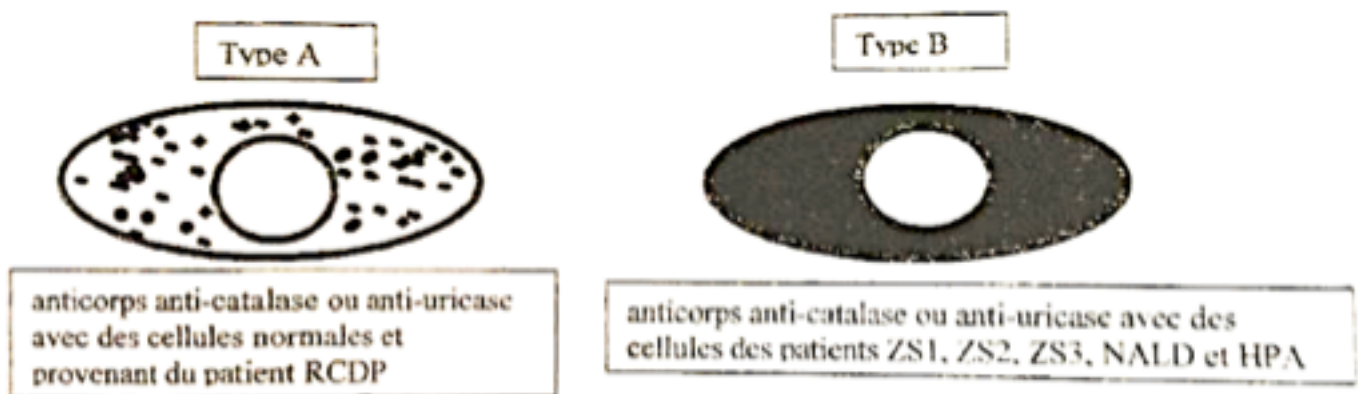


Figure 1 La fluorescence est indiquée en noir et les membranes plasmiques et nucléaires en traits gris. La coloration grise homogène indique la présence d'une fluorescence diffuse.

Les mêmes expériences d'immunofluorescence ont ensuite été effectuées mais en remplaçant le Triton X100 par de la digitonine à 30 µg/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 2, type C)

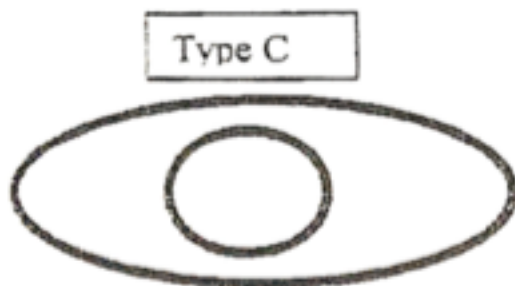


Figure 2 Les membranes plasmiques et nucléaires en traits gris. Aucune fluorescence n'est visible

D'après l'ensemble des résultats précédents, donnez la/les vraie/s

- A) La catalase et l'uricase sont localisées à l'intérieur des peroxysomes des cellules normales
- B) Il n'y a pas de peroxysomes 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 peroxysomes
- E) ABCD fausses

QCM 11 : Des expériences d'immunofluorescence indirectes ont été effectuées en utilisant des anticorps primaires de lapin anti-PMP70, une protéine de la membrane peroxysomale. Les cellules normales et les cellules de tous les patients présentent une coloration de type A (cf. figure 1)

Avec laquelle ou lesquelles des propositions suivantes ces données sont-elles compatibles ?

- A) Des structures aberrantes de type peroxysome existent dans les cellules du patient ZS1
- B) Le gène muté du patient ZS1 est indispensable à la formation des membranes des peroxysomes.

- C) La localisation cytosolique de la catalase dans les cellules du patient ZS1 est due à un défaut de son importation du cytoplasme vers la matrice des peroxysomes
 D) L'intégrité de la membrane peroxysomale est préservée dans les cellules de tous les malades
 E) ABCD fausses

QCM 12 : Des expériences d'immunolocalisation avec anticorps anti-PMP70 associés à des particules d'or ont permis de visualiser par microscopie électronique des structures membranaires sphériques avec peu ou pas de contenu dans des coupes de cellules du patient ZS1. Dans des expériences de double immunofluorescence sur des cellules ZS1 avec des anticorps anti-PMP70 révélés à la fluorescéine (émission dans le vert) et des anticorps anti-LAMP-2 révélés à la rhodamine (émission dans le rouge), une coloration de type A (cf figure 1) est observée. Lorsque les images obtenues pour la fluorescence verte et rouge sont superposées les signaux fluorescents ne se chevauchent pratiquement pas : la majorité des signaux est soit rouge soit vert, avec une minorité de signaux jaunes

Sachant que LAMP-2 est une protéine de la membrane des lysosomes et que le jaune peut provenir de la superposition de signaux verts et rouges, laquelle ou lesquelles de ces propositions est (sont) correct(s)

- A) Les structures aberrantes de type peroxysome des cellules ZS1 font parties du compartiment lysosomal
 B) Les structures aberrantes de type peroxysome des cellules ZS1 peuvent être dégradées par autophagie
 C) LAMP-2 et PMP70 colocalisent systématiquement
 D) Des anticorps associés à des particules d'or sont denses aux électrons ce qui permet de visualiser des particules spécifiques en microscopie électronique
 E) ABCD fausses

QCM 13 : De nouvelles expériences d'immunofluorescence indirectes ont été effectuées en utilisant du Triton X100 et des anticorps primaires de lapin anti-thiolase, une autre enzyme peroxysomale. Les cellules normales et celles du patient NALD présentent une coloration de type A quand les cellules sont perméabilisées au Triton X100 (cf figure 1) et de type C quand elles sont perméabilisées à la digitonine (cf figure 2) ; les cellules des patients ZS1, ZS2, ZS3, IRD, HPA et RCDP présentent une coloration de type B (cf figure 1), que ce soit avec le Triton X100 ou la digitonine

A propos de ces résultats, laquelle ou lesquelles de ces propositions est (sont) correcte(s)

- A) Les cellules du patient NALD sont altérées dans une voie d'importation des protéines peroxysomales qui est différente de celle affectée dans les cellules du patient RCDP
 B) Le patient ZS1 présente des défauts au niveau de plusieurs voies d'importation des protéines peroxysomales
 C) La voie d'importation de la thiolase et de la catalase est identique
 D) La digitonine empêche l'importation de la thiolase dans les peroxysomes des cellules normales
 E) ABCD fausses

QCM 14 : Les séquences en acides aminés des polypeptides catalase, uricase et thiolase ont été déterminées. Elles sont très différentes les unes des autres l'exception d'un tripeptide de séquence SKL (Sérine-Lysine-Leucine) localisé à l'extrémité C-terminale des protéines catalase et uricase. Ce tripeptide est appelé PTS1. Il est absent de la thiolase. Ces observations ont conduit les chercheurs à étudier le rôle de PTS1 dans l'importation des protéines dans les peroxysomes. A cette fin, ils ont modifié la phase codante du gène déterminant la synthèse de la catalase en fusionnant la partie N-terminale de son ADNc à l'étiquette myc. Ce nouveau gène *myc-CAT* ainsi qu'une version délétée des trois derniers codons déterminant la synthèse du peptide SKL (*myc-CAT-SKL*) ont été introduits dans un vecteur permettant leur expression à partir du promoteur CMV. Les vecteurs recombinants ainsi obtenus s'appellent *CMV-myc-CAT* et *CMV-myc-CAT-SKL*. Ces constructions ont été transfectées dans des fibroblastes normaux et dans des fibroblastes provenant du patient ZS1. Des expériences de double immunofluorescence indirecte en utilisant du Triton X100 comme détergent et des anticorps primaires anti-myc révélés à la fluorescéine et anti-PMP70 révélés à la rhodamine ont été effectuées trois jours après les transfections. Les résultats après des expériences de microscopie et superposition des images des signaux fluorescents émis dans le rouge et dans le vert sont présentés dans le tableau III

ADN transfecté	Cellule transfectée	Type des signaux jaunes (c.f. Fig. 1 et 2)
<i>CMV-myc-CAT</i>	normale	Type A
<i>CMV-myc-CAT-SKL</i>	normale	Type C
<i>CMV-myc-CAT</i>	ZS1	Type C
<i>CMV-myc-CAT-SKL</i>	ZS1	Type C

Tableau III

Les résultats du tableau III :

- A) Montrent que la présence de PTS1 est nécessaire et suffisante pour le transport de la catalase du cytosol dans les peroxysomes

- B) Montrent que les fibroblastes du patient ZS1 sont incapables d'importer l'uricase dans les peroxysomes
- C) Indiquent que les protéines chimères myc-CAT sont exprimées dans les fibroblastes normaux et dans ceux du patient ZS1
- D) Suggèrent que PTS1 est impliqué dans l'importation des protéines peroxysomales
- E) ABCD fausses

QCM 15 : Des gènes recombinants ont été construits dans lesquels la phase codante de la GFP est modifiée de telle sorte que les trois derniers acides aminés correspondent à la séquence SKL. Ce gène, appelé *GFP-PTS1*, est introduit en aval du promoteur CMV permettant son expression dans des cellules animales. Ce vecteur, appelé *CMV-GFP-PTS1* a été transfecté. Des expériences de double immunofluorescence indirecte en utilisant du Triton X100 comme détergent et des anticorps primaires anti-GFP révélés à la fluorescéine et anti-PMP70 révélés à la rhodamine ont été effectués trois jours après les transfections. Les résultats après des expériences de microscopie et superposition des images signaux fluorescents émis dans le rouge et dans le vert sont présentés dans le tableau IV

ADN transfecté	Cellule transfectée	Type des signaux jaunes (c.f. Fig. 1)
<i>CMV-GFP</i>	normale	Type C
<i>CMV-GFP-PTS1</i>	normale	Type A
<i>CMV-GFP</i>	ZS1	Type C
<i>CMV-GFP-PTS1</i>	ZS1	Type C
<i>CMV-GFP</i>	ZS2	Type C
<i>CMV-GFP-PTS1</i>	ZS2	Type C
<i>CMV-GFP</i>	RCDP	Type C
<i>CMV-GFP-PTS1</i>	RCDP	Type A
<i>CMV-GFP</i>	NALD	Type C
<i>CMV-GFP-PTS1</i>	NALD	Type C

Tableau IV

Les données des tableaux III et IV :

- A) Suggèrent fortement que la protéine GFP peut être importée dans les peroxysomes
- B) Montrent que le patient RCDP est normal pour l'import des protéines contenant PTS1
- C) Démonstrent que PTS1 est nécessaire à l'expression de la GFP
- D) Montrent que PTS1 est suffisant pour importer un polypeptide dans les peroxysomes
- E) ABCD fausses