

<b>1/</b>	D	<b>2/</b>	BD	<b>3/</b>	BCD	<b>4/</b>	ACD	<b>5/</b>	E	<b>6/</b>	BCD	<b>7/</b>	B
<b>8/</b>	ABC	<b>9/</b>	BCD	<b>10/</b>	AD	<b>11/</b>	ACD	<b>12/</b>	BD	<b>13/</b>	AB	<b>14/</b>	D
<b>15/</b>	BD												

**QCM 1 : D**

- A) Faux : On a besoin de 4 espèces différentes pour pouvoir visualiser notre montage  
 B) Faux : On n'a ici que 3 espèces différentes et on utilise le même fluorochrome, cela ne peut donc pas fonctionner  
 C) Faux : On utilise encore ici que 3 espèces différentes  
 D) Vrai  
 E) Faux

**QCM 2 : BD**

- A) Faux : Les cellules normales sont limitées à une cinquantaine de divisions et cela indépendamment des conditions de cultures  
 B) Vrai  
 C) Faux : Les cellules humaines poussent sur un support solide  
 D) Vrai  
 E) Faux

**QCM 3 : BCD**

- A) Faux : Cet attachement est indispensable au déclenchement de l'anaphase  
 B) Vrai  
 C) Vrai  
 D) Vrai  
 E) Faux

**QCM 4 : ACD**

- A) Vrai  
 B) Faux : Pas toujours, par exemple une méthylation de K4H3 est associée à une transcription active  
 C) Vrai  
 D) Vrai  
 E) Faux

**QCM 5 : E**

**Le problème ici est une mutation qui correspond à un défaut de biogenèse des peroxysomes. Elle est caractérisée par l'absence d'activité de DHAP-AT (biosynthèse de glycérophospholipides: les glycérophospholipides se retrouvent au niveau des membranes).**

**- Activité normale DHAP-AT: 10 unités**

**- Patients malades:**

RCDP	ZS1	ZS2	ZS3	IRD	HPA	NALD
2 unités	1 unité	1unité	1 unité	0.1 unités	0.2 unité	2unités

**Avec la fusion on remonte entre 7 et 10 unités c'est à dire que tout redeviens "normal", donc les mutations ne sont PAS DOMINANTES**

- A) Faux : On n'a pas encore fait de test de complémentation, on n'en sait rien  
 B) Faux : Voir A  
 C) Faux : Ce n'est pas parce qu'on mesure la même activité de DHAP-AT que s'en est vrai pour autant  
 D) Faux : Au stade hétérocaryons on retrouve une activité normale, ce qui montre la récessivité de la mutation  
 E) Vrai

**QCM 6 : BCD**

**Ici on complète le tableau pour avoir quelque chose de plus compréhensible (genre plus comme on connaît !!) On met un (-) quand le chiffre obtenu est aux alentours de 0/1, c'est-à-dire qu'il n'y a pas complémentation et un (+) quand on obtient un chiffre proche de 8/9/10, c'est-à-dire que le phénotype sauvage est restauré et qu'il n'y a pas complémentation !**

	RCDP	ZS1	ZS2	ZS3	IRD	HPA	NALD
RCDP	2 / -						
ZS1	8.8 / +	1 / -					
ZS1	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 / +	2.1 / -

**Au final on a cinq groupes de complémentation: RCDP, ZS1/IRD/HPA, ZS2, ZS3 et NALD**

- A) Faux : Ces deux mutations complémentent, donc elles appartiennent à deux groupes de complémentations différents  
 B) Vrai  
 C) Vrai  
 D) Vrai  
 E) Faux

#### **QCM 7 : B**

On utilise la digitonine qui permet de perméabiliser la membrane peroxysomale à partir d'une quantité de 200µg/mL. La catalase étant une enzyme peroxysomale, si on observe une activité catalase à l'extérieur de la cellule pour une quantité de digitonine largement inférieure à 200µg/mL (ici <40), cela veut dire qu'il y a un problème de compartimentation de la catalase ou de membrane du peroxysome.

⇒ **Remarque: De ce tableau là on peut déduire que RCDP n'a pas de problème de compartimentation mais seulement un problème d'activité DHAP-AT**

- A) Faux : Dans la case RCDP/RCDP on trouve 200µg/mL ce qui est la valeur normale, il y a donc bien une activité catalase  
 B) Vrai : Il suffit d'une quantité infime de digitonine pour libérer l'activité. La catalase est donc dans le cytoplasme des cellules ZS1, alors qu'elle devrait être dans les peroxysomes. C'est donc que soit la membrane des peroxysomes a des trous, soit la catalase n'est pas adressée au peroxysome.  
 C) Faux : Pas dans le patient RCDP  
 D) Faux : Ils complémentent donc appartiennent à deux groupes différents de complémentation  
 E) Faux

#### **QCM 8 : ABC**

- Cytosol = Lactate Déshydrogénase
- Peroxysome = Uricase
- Lysosome = Hexosaminidase (ça c'est du nom hein ?!?)

**Cellule normale : enzymes bien localisées sur le gradient de densité => Compartimentation OK**

**Cellule RCDP : enzymes bien localisées => Compartimentation OK**

**Autres cellules : l'uricase co-sédimente avec la lactate déshydrogénase => Mauvaise compartimentation, l'uricase est dans le cytosol**

**Si on fusionne les cellules qui ne complémentaient pas on observe une mauvaise compartimentation (ça ne complémente toujours pas !!!)**

- A) Vrai : Elle sédimente avec la lactate déshydrogénase qui « marque » le compartiment cytoplasmique  
 B) Vrai  
 C) Vrai : Lorsqu'on les fusionne on obtient des valeurs anormales, cela ne complémente pas donc on est sur le même gène  
 D) Faux  
 E) Faux

#### **QCM 9 : BCD**

- A) Faux : Si on prend le patient RCDP, ses peroxysomes contiennent l'uricase, pourtant il a 2 unités d'activité de DHAP-AT  
 B) Vrai  
 C) Vrai : L'uricase n'est pas au bon endroit, elle co-sédimente avec l'enzyme cytosolique  
 D) Vrai  
 E) Faux

#### **QCM 10 : AD**

##### **Triton X100:**

- **Type A** : pleins de petits points, donc pour les patients NORMAUX et RCDP, la catalase et l'uricase sont bien localisées dans le peroxysome

- **Type B** : la fluorescence est diffuse donc les enzymes sont présentes dans le cytosol pour les cellules de type ZS1, ZS2, ZS3, IRD, HPA et NADL

##### **Digitonine:**

- **Type C**: pas de fluorescence, donc pas de catalase ou d'uricase dans le cytosol des cellules normales et des cellules RCDP

A) Vrai : Si elles étaient dans le cytoplasme on aurait obtenu un type B or on observe bien une figure de type A

B) Faux

C) Faux

D) Vrai : Les cellules normales et RCDP ont bien leur catalase et uricase localisées dans les peroxysomes

E) Faux

#### **QCM 11 : ACD**

**PMP70 = Protéine de la membrane du peroxysome** On observe une coloration de type A pour TOUTES les cellules ! Cela veut dire que toutes les cellules possèdent une membrane peroxysomale intacte

A) Vrai : On sait que les peroxysomes ne fonctionnent pas bien, mais on obtient des images de type A donc on peut dire que les images sont compatibles avec cet item

B) Faux : On observe une fluorescence de type A

C) Vrai : La fluorescence est de type A prouvant que l'intégrité de la membrane de ces cellules est préservée

D) Vrai : on observe bien une fluorescence de type A, prouvant que l'intégrité de la membrane de ces cellules est préservée ! Ce n'est pas contradictoire avec l'item B du qcm 5, où on parlait du peroxysome dans son ensemble (le sac et le contenu). Là, on dit qu'il n'y a pas de problème du sac, donc on va s'orienter vers un problème de contenu

E) Faux

#### **QCM 12 : BD**

**On observe des sacs bizarres dans les cellules ZS1, qui ne contiennent pratiquement pas de protéines, c'est pour ça que c'est étrange, un sac c'est fait pour contenir des choses.**

- **Rouge**: anti-LAMP2 (marqueur de la membrane du lysosome) = **LYSOSOME** : Coloration de type A

- **Vert**: anti-PMP70 = **PEROXYOSOME** : Coloration de type A

- **Jaune**: Vert + Rouge

A) Faux : Dans ce cas la on aurait eu du jaune de partout

B) Vrai : Les lysosomes servent à dégrader par autophagie et on obtient bien une petite quantité de coloration jaune montrant qu'on a à certains endroits des peroxysomes dans des lysosomes pour se faire dévorer

C) Faux : On n'a pas « systématiquement » du jaune

D) Vrai

E) Faux

#### **QCM 13 : AB**

**Thiolase: enzyme du peroxysome**

- **Cellules normales et NALD** :

**Avec Triton: coloration de type A = Thiolase localisée dans les peroxysomes**

**Avec digitonine (à basses doses même si c'est pas vraiment précisé): coloration de type C = La thiolase est bien dans le peroxysome**

- **Autres cellules malades:**

**Coloration de type B au triton ET à la digitonine = La localisation de la thiolase est bien cytosolique**

A) Vrai : On voit ici que la thiolase est bien peroxysomale, comme dans des cellules sauvages, alors que la catalase est cytosolique

B) Vrai: Dans le cas de ZS1 la thiolase est cytosolique ainsi que la catalase

C) Faux: Pour NALD l'importation de la thiolase se fait correctement pas celle de la catalase

D) Faux

E) Faux

#### **QCM 14 : D**

**Pour la catalase et l'uricase on retrouve une séquence SKL identique appelée PTS1, mais elle n'est pas retrouvée chez la thiolase.**

On va créer des chimères:

- On met une étiquette Sur la catalase et on l'appelle CMV-myc-CAT
- On crée une autre protéine avec la même étiquette sur la catalase, et on fait en sorte que le peptide SKL ne soit pas synthétisé : CMV-myc-CAT-SKL

On utilise toujours du Triton pour pouvoir observer le contenu du peroxysome

- Fluorescence VERTE = étiquette myc
- Fluorescence ROUGE = anti-PMP70

Cellules Normales :

- CMV-myc-CAT: Signaux jaunes = Coloration de type A (normale). On a bien notre protéine synthétisée et normale
- CMV-myc-CAT-SKL: Signaux Jaunes = Coloration de type C. On n'a plus les trois codon SKL (PTS1) et là on n'observe plus notre protéine, on n'a pas de transport de la catalase dans le peroxysome

Cellules ZS1: On obtient quoi qu'il arrive une coloration jaune de type C, avec ou sans codon SKL (PTS1). Le fait d'ajouter ou d'enlever le codon SKL (PTS1) ne change rien: donc ZS1 n'a pas de mutation pour le tripeptide SKL. Comme on sait que c'est un problème d'importation, si le problème ne vient pas du peptide signal, alors il vient du récepteur au peptide signal. Là on va plus loin que l'expérience, hein, mais c'est pour que vous compreniez comment on peut avoir un problème d'importation sans avoir une séquence signale défectueuse.

Donc pour les gens qui aiment s'arracher les neurones:

Mauvaise compartimentalisation: problème de membrane / problème d'importation

Problème d'importation : problème de peptide signal / problème de récepteur au peptide signal

A) Faux: On ne peut rien démontrer du tout avec une protéine chimère

B) Faux: On ne parle nulle part d'uricase ici, seulement de la catalase

C) Faux: On a une coloration de type C dans les cellules ZS1 donc les protéines myc-CAT n'y sont pas exprimées

D) Vrai: Si on enlève SKL chez une cellule normale on se retrouve avec une coloration de type C alors qu'avec SKL on a une coloration de type A

E) Faux

#### **QCM 15 : BD**

On change la GFP de façon à lui faire exprimer la séquence PTS1 (= SKL). Ca va nous permettre de voir si elle est importée ou non dans le peroxysome (et évidemment on rajoute le promoteur CMV)

- On insère notre gène GFP-PTS1 dans des cellules normales et les malades ZS1, ZS2, NALD, RCDP.

- On insère aussi la protéine GFP toute seule qui va nous servir de témoin histoire de vérifier qu'elle ne va pas toute seule dans les peroxysomes

VERT : Anticorps GFP

ROUGE : Anticorps PMP70

JAUNE: superposition (on observe au final la distribution des signaux JAUNES)

Cellules normales :

- CMV-GFP : Coloration de type C = La GFP toute seule ne va pas dans les peroxysomes
- CMV-GFP-PTS1 : Coloration de type A = Va dans le peroxysome

Cellules ZS, ZS2, NALD :

- CMV-GFP : Coloration de type C = la GFP toute seule ne va pas dans les peroxysomes
- CMV-GFP-PTS1 : Coloration de type C = Ne va pas dans le peroxysome
- 

Malgré la présence de PTS1, la protéine ne va pas dans le peroxysome, ce qui induit un problème de compartimentalisation.

Cellules RCDP :

- CMV-GFP : Coloration de type C = La GFP toute seule ne va pas dans les peroxysomes
- CMV-GFP-PTS1 : Coloration de type A = Va dans le peroxysome

Ici, tout va bien, le patient RCDP n'a pas de défaut de compartimentalisation

A) Faux: La CMV-GFP n'est pas insérée dans le peroxysome (coloration de type C)

B) Vrai : Avec PTS1 on obtient bien une coloration de type A montrant que la protéine (ici GFP) est importée

C) Faux

D) Vrai : Quand il n'est pas là on n'a pas d'import (coloration de type C) et quand on rajoute PRS1 (et uniquement PTS1), on se retrouve avec des protéines importées

E) Faux