

## **CORRECTION OFFICIEUSE: biocell 2013-2014 :)**

**"Ça va aller"** Éric Gilson, le 20/12/13 à la sortie de l'épreuve

Bonjour à tous !

On vous a concocté une petite correction officielle :)

Oui, il y avait très peu de cours.

Oui, on sentait bien qu'il allait se faire plaisir, vu comment il avait kiffé la séance de révision

Oui, il y avait le début de l'expé dans les anathèmes

Oui, c'était très long

MAIS:

Non, ce n'était pas si difficile, comparé aux expériences des deux années précédentes

Non, ce n'était pas siiii très long en soi, mais combiné à l'album photo que vous a servi Philip, c'est devenu vachement limite

La question existentielle demeurant surtout dans l'existence du somitocoele (l'un des nombreux "traumatismes" de cette épreuve d'UE2), on vous suggère de ne pas trop passer vos nerfs sur ce cher Éric :)

C'est quand même mieux d'avoir l'opportunité d'être "trié" sur de la compréhension plutôt que sur du par coeur pur :)

(enfin vous avez le droit de ne pas partager cet avis XD)

Par rapport à l'expérience, on a mis en forme avec énoncé / méthode / résultats, ça habituera ceux qui veulent tenter l'inserm l'an prochain (d'ailleurs n'hésitez pas à me contacter par mp si ça vous intéresse, je vous redirigerai vers les personnes qui ont les bonnes informations, rock speaking)

### **QCM 1: E**

Ouais l'item D est faux parce qu'il faudrait mettre "poney" à la place de "cheval", les poneys sont supérieurs.

(oui, c'est bien l'item D la réponse juste, c'était pour rigoler hein, pas de crise cardiaque)

### **QCM 2: BD**

A) Non, ils finiront pas entrer en sénescence de toute façon ;)

C) Si, les fibroblastes peuvent ! Ils peuvent tout faire, ils sont trop forts !

### **ÉNONCÉ**

"Il existe un groupe de maladies génétiques caractérisées par des défauts de biogenèse des peroxyosomes appelé PBD (Peroxisome Biogenesis Disorder). les patients atteints de PBD présentent une série de défauts des enzymes paroxysmales dont l'absence d'activité dihydroxyacetonéphosphate 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 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."

### **MÉTHODE**

Donc qu'est-ce qui se passe ? Les cigognes ont des ailes !

1) On décrit les conséquences cellulaires engendrées par la maladie PBD, notamment l'absence d'activité DHAP-AT dans les cellules mutées (en bleu)

2) On compare les taux d'activité DHAP-AT de fibroblastes normaux et de fibroblastes mutés (vert vs rouge)

3) On réalise un test de récessivité (en jaune)

### **RÉSULTATS**

Le problème ici est une mutation qui correspond à un défaut de biogenèse des peroxyosomes. 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

### **QCM 3: E**

A) D'où sortiriez-vous une telle information ? On n'a pas encore fait de test de complémentation donc on n'en sait rien !

B) Même combat !

C) Et pourquoi ? Parce qu'on mesure la même activité DHAP-AT pour les patients ZS1/ZS2/ZS3 (1 unité) et pour les patients RCDP/ NALD (2 unités) ? C'est farfelu ! On n'en sait rien !

D) Si elles l'étaient, on mesurerait des activités DHAP-AT extrêmement faibles dans nos hétérocaryons, or ce n'est pas le cas ! Au stade hétérocaryon on retrouve une activité normale, ce qui montre la récessivité de la mutation.



### ÉNONCÉ

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.

### MÉTHODE

Là on fait un test de complémentation ! C'est dans la suite logique, on le voyait venir à deux mètres XD

### RÉSULTATS

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]

Pour le détail de l'analyse du tableau de complémentation on vous a mis une petite fiche toute mignonne qui détaille bien tout ça !!!

### QCM 4: BCD

A) Non, on regarde dans le tableau, et on voit que ces deux mutations complètent, donc elles appartiennent à deux groupes de complémentation différents.

B) Effectivement

C) Tout à fait

D) Oui, celui-là [ZS1/IRD/HPA]

### ÉNONCÉ

La digitonine perméabilise la membrane plasmique mais pas ou peu la membrane péroxysomale. De ce fait, plus de 200 µg/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 péroxysomes.

La quantité de digitonine nécessaire à libérer la catalase à l'extérieur des hétérocaryons est donnée dans le tableau II.

### MÉTHODE

Maintenant, on va "ouvrir" nos cellules, on va "ouvrir" les péroxysomes et quantifier leur activité catalase.

Ensuite, on réalise un deuxième test de complémentation !

### RÉSULTATS

On utilise la digitonine qui permet de perméabiliser la membrane péroxysomale à partir d'une quantité de 200µg/mL

La catalase étant une enzyme péroxysomale, 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 péroxysome.

=> 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

### QCM 5: B

A) Ben si ! Dans la case RCDP/RCDP vous trouvez du 200microg/mL, ce qui est la valeur normale ! On observe bien une activité catalase !

B) Oui, car 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 péroxysomes. C'est donc que soit la membrane des péroxysomes a des trous, soit la catalase n'est pas adressée au péroxysome (bon là on anticipe un peu, mais comme on peut y penser dès ce moment-là, on le met maintenant).

C) Pas dans le patient RCDP !

D) Nooon ! Ils complètent donc appartiennent à deux groupes différents ;)

### ÉNONCÉ

La distribution d'enzymes du cytosol (lactate déshydrogénase), des péroxysomes (uricase) et des lysosomes (hexoaminidase) 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'hexoaminidase. À partir d'homogénat des fibroblastes malades, les activités lactate désydrégénase 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 désydrégénase. Pour les cellules du patient RCDP, l'uricase sédimente entre les pics de lactate désydrégénase et d'hexoaminidase, comme dans le gradient obtenu à partir d'homogénat de cellules normales. À partir d'homogénat de cellules fusionnées provenant des ZS1 et IRD, l'uricase co sédimente avec la lactate déshydrogénase. Un résultat comparable est obtenu avec les hétérocaryons provenant de la fusion entre les cellules ZS1, ZS2, ZS3, NALD et HPA qui ne présentaient pas de complémentation pour l'activité DHAP-AT ou pour la libération de catalase par la digitoxine. À partir d'hétérocaryons provenant de ZS1 et ZS3, l'uricase sédimente entre les pics de lactate déshydrogénase et d'hexoaminidase.

### MÉTHODE

On va se servir de la compartimentation des enzymes dans la cellule pour marquer les différents compartiments: la densité de sédimentation de la lactate déshydrogénase reflète le compartiment cytoplasmique, celle de l'uricase reflète le péroxysome, celle des hexoaminidase reflète le lysosome.



On va comparer les densités de ces enzymes de nos cellules normales et de nos cellules mutées.  
Puis on fait encore un test de complémentation !

#### RÉSULTATS

- Cytosol = Lactate Déshydrogénase
- Péroxyosome = 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 !!!)

#### QCM 6: ABC

- A) Oui, elle sédimente avec la lactase déshydrogénase qui "marque" le compartiment cytoplasmique !
- B) Oui
- C) En effet, quand on les fusionne on obtient des valeurs anormales (ça ne complémente pas, ils sont sur le même gène ;)
- D) Ah ! Ah bon ? Ben si il y en a ! Petit farceur ce Gigi !

#### QCM 7: BCD

- A) Non ! Si on prend le patient RCDP, ses peroxyosomes contiennent l'uricase, pourtant il a 2 unités d'activité de DHAP-AT, donc c'est complètement faux !
- B) Oui, c'est la suite de l'item B du qcm 6 ;) En comparant les tableaux, on remarque la corrélation des valeurs obtenues
- C) En effet, on peut le suggérer ! L'uricase n'est pas au bon endroit, elle co-sédimente avec l'enzyme cytosolique.
- D) Oui, on peut aussi suggérer le problème de ce côté-là, c'est dans l'énoncé du début et c'est compatible avec les résultats !

#### ÉNONCÉ

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 des 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 peroxyosomes. 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. Les cellules des individus normaux ou celles du patient RCDP ne sont pas fluorescentes (type C).

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

#### MÉTHODE

On utilise du triton qui perméabilise tout et la digitonine qui ne perméabilise que la membrane plasmique: on compare la localisation de ces enzymes dans les cellules normales et dans les cellules mutées.

#### RÉSULTATS

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 peroxyosome
- 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 NALD

Digitonine:

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

#### QCM 8: AD

- A) Oui, si elles étaient dans le cytoplasme, on aurait obtenu un type B, or on observe bien une figure de type A
- B) Si si, il a osé le refaire XD
- C) Ah ben ouais, et j'ai un lama à la maison tant qu'on y est ! Joli caca de poneys à paillettes, ça n'a absolument rien à voir avec la choucroute !
- D) Oui, la preuve, les cellules normales et RCDP ont bien leur catalase et uricase localisées dans les peroxyosomes !

#### ÉNONCÉ

Des expériences d'immunofluorescence indirecte ont été effectuées en utilisant des anticorps anti-PMP70, une protéine de la membrane peroxyosomale. Les cellules normales et les cellules de tous les patients présentent une coloration de type A.

#### MÉTHODE

Expérience d'immunofluo indirecte avec des lapins des poneys des pikachu, des chlorofyl .... L'éclate quoi ^^

#### RÉSULTATS

PMP70 = Protéine de la membrane du peroxyosome

On observe une coloration de type A pour TOUTES les cellules !!!!! (cool non ?) Ca veut dire que toutes les cellules possèdent une membrane peroxyosomale intacte :)



### QCM 9: ACD

- A) Oui, on sait que les péroxysomes ne marchent pas très bien mais on obtient des images de type A donc on peut bien dire que les images sont compatibles avec cet item .... Phrase magique "En vrai c'est faux mais c'est compatible"
- B) Non car on observe une fluorescence de type A
- C) Oui, la fluorescence étant de type A, on sait que le problème de compartimentation n'est pas dû à un problème de membrane, donc un suggère que c'est un problème d'importation !!
- D) Oui, 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 péroxysome 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.

### ÉNONCÉ

Des expériences d'immunolocalisation avec des 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-LAMP2 révélés à la rhodamine (émission dans le rouge), une coloration de type A 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.

### MÉTHODE

On observe une structure membranaire avec très peu de contenu en couplant des particules d'or à des anticorps anti-PMP70 (protéine de la membrane péroxysomale), donc en gros on observe des péroxysomes avec peu d'enzymes (des péroxysomes caca quoi !!).

Ensuite on fait une double immunofluorescence pour regarder la localisation des péroxysomes et des lysosomes dans les cellules ZS1.

### RÉSULTATS

On observe des sacs chelous dans les cellules ZS1, qui ne contiennent pratiquement pas de protéines, c'est pour ça que c'est chelou, un sac c'est fait pour contenir des choses (des levures, des tartes...) (des tartes aux levures) (sauce citron).

- Rouge: anti-LAMP2 (marqueur de la membrane du lysosome) = LYSOSOME : Coloration de type A
- Vert: anti-PMP70 = PEROXYSOME : Coloration de type A
- Jaune: Vert + Rouge !

### QCM 10: BD

- A) Non, dans ce cas là on aurait du Jaune partout
- B) Oui, les lysosomes servent à dégrader par autophagie et on obtient bien une petite quantité de coloration jaune montrant qu'on a à certains endroit, des péroxysomes dans des lysosomes pour se faire... dévorer !
- C) Non, on n'a pas "systématiquement " du jaune !!!!!
- D) Oui, c'est du cours les gars, c'est du cours ! Genre en mode j'avais plus d'idée pour l'item D :p

### ÉNONCÉ

De nouvelles expériences d'immunofluorescence indirecte ont été effectuées en utilisant du triton X100 et des anticorps primaires de lapin anti-thiolase, une autre enzyme péroxysomale. Les cellules normales et celles du patient NALD présentent une coloration de type A quand les cellules sont perméabilisées au triton X100 et de type C quand elles sont perméabilisées à la digitoxine; les cellules des patients ZS1, ZS2, ZS3, IRD, HPA et RCDP présentent une coloration de type B, que ce soit avec le triton X100 ou la digitoxine.

### MÉTHODE

À ce moment-là (on est content parce qu'il ne reste que trois QCM d'expérience XD), on veut visualiser une autre enzyme du péroxysome, pour voir si le problème ne vient pas d'une mauvaise compartimentation des enzymes péroxysomales.

### RÉSULTATS

Thiolase: enzyme du péroxysome

- Cellules normales et NALD :

Avec triton: coloration de type A = Thiolase localisée dans les péroxysomes

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

- Autres cellules malades:

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

### QCM 11: AB

- A) Oui, on voit ici que la thiolase est bien péroxysomale, comme dans des cellules sauvages, alors que la catalase est cytosolique
- B) Oui, dans le cas de ZS1 la thiolase est cytosolique et la catalase aussi
- C) Non, pour NALD l'importation de la thiolase se fait correctement mais pas celle de la catalase
- D) Non, Caca Bouseux (ça c'est du Gilson tout craché !!)

### ÉNONCÉ

Les séquences en acides aminés des polypeptides catalase, uricase et thiolase ont été déterminées. Elles sont très différentes les une des autres à l'exception d'un tripeptide de séquence SKL (Sérine-Lysine-Leucine) localisé à l'extrémité C-term 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 péroxysomes. À cette fin, ils ont modifiés la phase codante du gène déterminant la synthèse de la catalase en fusionnant la partie N-term de son ANDc à l'étiquette myc. Ce nouveau gène myc-CAT ainsi qu'une version déléetée 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.

#### MÉTHODE

On essaie de comprendre le rôle de PTS1, donc on crée des chimères (= hybrides) avec et sans PTS1. L'étiquette myc permet la visualisation par immunofluorescence. Le promoteur CMV permet d'assurer la transcription des gènes hybrides après leur transfection.

#### RÉSULTATS

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 (comme dans la mythologie):

- 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 péroxysome

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

Cellules Normales <3 <3 :

- CMV-myc-CAT: Signaux jaunes = Coloration de type A (normale). On a bien notre protéine synthétisée et toute choupinette !
- CMV-myc-CAT-SKL: Signaux Jaunes = Coloration de type C. On n'a plus les trois codons 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 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 signal 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

#### QCM 12: D

A) Non, on ne peut rien démontrer du tout avec une protéine chimère (c'est une protéine hybride en fait !!)

B) Non, on ne parle nulle part d'uricase ici, seulement de catalase (et en plus on est toujours avec une chimère, ça démontre mes fesses ...)

C) Non, on a une coloration de type C dans les cellules ZS1 donc les protéines myc-CAT n'y sont pas exprimées

D) Oui, 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

#### ÉNONCÉ

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 les cellules animales. Ce vecteur, appelé CMV-GFP-PTS1 a été transfecté dans des fibroblastes d'individus normaux ou des patients ZS1, ZS2, NALD et RCDP. En contrôle, la construction CMV-GFP a également été transfectée. 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 des signaux fluorescents émis dans le rouge et dans le vert sont présentés dans le tableau IV.

#### MÉTHODE

On cherche à déterminer si le signal PTS1 est nécessaire et suffisant pour adresser n'importe quelle protéine dans le péroxysome. Alors quitte à prendre n'importe quelle protéine autant en prendre une fluorescente !

#### RÉSULTATS

On change la GFP de façon à lui faire exprimer la séquence PTS1 (= SKL). Ça va nous permettre de voir si elle est importée ou non dans le péroxysome (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 péroxysomes

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 péroxysomes
- CMV-GFP-PTS1 : Coloration de type A = Va dans le péroxysome

Cellules ZS, ZS2, NALD :

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



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

**Cellules RCDP**

- CMV-GFP : Coloration de type C = La GFP toute seule ne va pas dans les péroxysomes

- CMV-GFP-PTS1 : Coloration de type A = Va dans le péroxysome

Ici, tout va bien, le patient RCDP n'a pas de défaut de compartimentalisation (attention, il est quand même malade, hein, bon osf).

**QCM 13: BD**

A) Faux, Triple faux, Archi faux, Artichaud !! La CMV-GFP n'est pas insérée dans le péroxysome (coloration de type C)

B) Vroui, avec PTS1 on obtient bien une coloration de type A montrant que la protéine (ici la GFP) est importée !!

C) Faux : CACA !!

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

*Le retour du cours ! Pour notre plus grand plaisir :)*

**QCM 14: CD**

A) Pas en métaphase ! En anaphase XD

B) Non, ça c'est en mitose ouverte

C) Oui, on se concentre sur nos chromosomes

D) Yes

**QCM 15: ACD**

A) Ja

B) Ach nein ! Pas toujours ;) Toujours c'est toujours faux sauf des fois !

C) Effectivement

D) Again, yes !

*Voilouuuu en espérant que la matière (et le professeur :p) vous ont plu, on vous souhaite évidemment bon courage pour le S2 mais avant tout... de bonnes vacances !!*

*love.sex.poutou.paillettes.poney.vomi (Pin's et cigogne)*