

On fait des expériences de double immunofluorescence avec des anticorps primaire de souris dirigés contre la protéine de méduse GFP et des anticorps primaires de lapin dirigés contre la protéine Myc.

QCM1: Parmi ces propositions concernant ce type de marquage fluorescent, quel est le groupement de propositions appropriées 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) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à la rhodamine et des anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris couplés à la rhodamine.

Lors de la mise en place du muscle squelettique, les myoblastes, cellules précurseurs des fibres musculaires, fusionnent entraînant la formation de cellules multinuclées: les myotubes. Au cours de ce processus, les myoblastes sortent définitivement du cycle cellulaire, répriment l'expression des gènes responsables de sa progression et expriment un programme de différenciation, comportant de nombreux gènes spécifiques. Les familles de facteurs de transcription MyoD et MEF2 sont responsables de l'activation de ces gènes. Des co-activateurs transcriptionnels comme les histones acétyl-transférases p300/CBP et P/CAF se fixent à ces protéines lors de la différenciation. Mais dans les myoblastes on trouve ces co-activateurs associés à des histones désacétylases. Or on trouve aussi parmi les facteurs importants pour le bon déroulement de la différenciation musculaire, la protéine du rétinoblastome (pRb) connue dans la plupart des types de cellules pour son contrôle de la progression du cycle cellulaire. pRb aussi peut s'associer à des histones désacétylases. pour mieux comprendre les mécanismes de la différenciation musculaire, on a étudié les changements qui s'opèrent pour ces protéines lors de la transition entre prolifération et différenciation musculaire chez les souris.

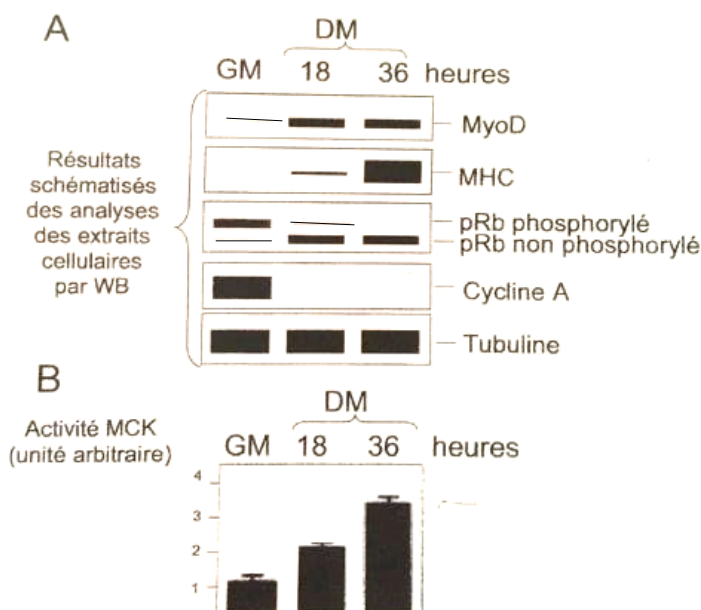


Figure 1:

Des myoblastes de souris sont cultivés en milieu de croissance (GM, contenant 20% de sérum de veau foetal) ou en milieu de différenciation (DM, contenant 2% de sérum de cheval) pendant 18 ou 36h. On prépare alors des extraits cellulaires dont la composition protéique est analysée par immuno-détection après transfert d'un gel de polyacrylamide-SDS sur une membrane (technique appelée Western Blot ou WB). Ainsi, la présence de diverses protéines a été étudiée: le facteur de transcription MyoD, la chaîne lourde de la myosine (MHC), la protéine du rétinoblastome pRb, la cycline A et la tubuline. Une représentation schématisée des résultats du WB est montrée dans la partie A de la figure 1. On mesure de plus dans ces extraits l'activité de la créatine kinase du muscle (appelé MCK) spécifiquement exprimée lors de la phase tardive de la différenciation du muscle squelettique, tout comme la MHC. Les résultats sont montrés dans la partie B de la figure 1.

QCM2: Parmi ces propositions concernant la figure 1, quel est le groupement de propositions exactes?

- A) Les résultats de la figure 1 démontrent que la tubuline est exprimée exclusivement dans les cellules musculaires.
- B) Les variations de la quantité de cycline A entre les différentes conditions suggèrent que la différenciation musculaire s'accompagne d'une modification du cycle cellulaire.
- C) L'accroissement de la quantité de MyoD en DM est corrélé avec l'augmentation de l'expression de MHC, de la phosphorylation de pRb et de l'activité de MCK
- D) Les résultats de la figure 1 démontrent que l'augmentation de l'activité MCK est responsable de la différenciation musculaire
- E) Les résultats de la figure 1 suggèrent que l'expression de MHC est activée par MyoD

La protéine Myc est un régulateur transcriptionnel clef pour le contrôle de la croissance cellulaire. La quantité de Myc dans la cellule est très bien régulée, aussi bien au niveau de la transcription et la traduction de la protéine que de sa stabilité dans la cellule. On a étudié la localisation subcellulaire de Myc dans une lignée de cellules COS-7 (dérivées de cellules de rein de singes d'Afrique). Dans un premier, la localisation de Myc a été déterminé par immunofluorescence indirecte avec des anticorps secondaires marqués au FITC (figure 2).

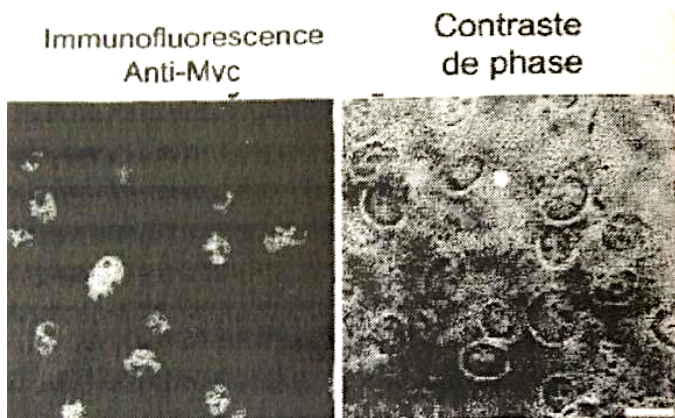


Figure 2:

Observations d'un même champ de cellules COS-7 en contraste de phase (à droite) et en microscopie à fluorescence (à gauche) (longueur d'onde d'excitation : 470/40 nm filtre FITC). La barre blanche représente 20 micromètre. Les zones claires de la photographie de gauche représentent la fluorescence émise par FITC. Les tâches sombres à l'intérieur des noyaux de la photographie de droite représentent les nucléoles.

QCM3: Parmi les propositions suivantes concernant la figure 2, quelles sont les propositions exactes?

- A) L'observation est compatible avec une localisation principalement nucléaire de Myc
- B) La figure 2 montre que Myc est exprimé dans toutes les cellules observées
- C) La figure 2 démontre que Myc est localisé préférentiellement en périphérie du noyau
- D) Les cellules de la figure 2 sont vivantes
- E) Les résultats de la figure 2 suggèrent que Myc n'est pas une protéine du nucléole