

Expérience Gilson séance de révision

Tutorat 2014-15

QCM 1: D'après vos connaissances

- A) Les cellules multipotentes peuvent former un organisme entier;
- B) Les cellules iPS sont des cellules souches pluripotentes;
- C) Les cellules souches sont incapables d'autorenouvellement;
- D) Les cellules souches sont incapables de former des tumeurs;
- E) A, B, C et D sont fausses.

Le glioblastome est une tumeur du cerveau de très mauvais pronostic. La chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie n'augmentent que très légèrement la survie des patients du fait de la résurgence de tumeurs très agressives. Des travaux récents ont mis en évidence l'existence de cellules souches du glioblastome (appelée SCG) qui sont présentes en faible nombre dans les tumeurs et sont particulièrement résistantes au traitement.

Ces CSG sont isolées grâce à l'expression d'un antigène de surface appelé CD133 et ensuite mises en culture. Les lignées SCG montrent une forte résistance à la chimiothérapie et forment des tumeurs très agressives une fois greffées dans le cerveau de souris immunosupprimées.

Ces CSG sont souvent mutées pour la protéine p53 et sur-expriment la protéine Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) et la protéine REST (repressor element 1 silencing transcription Factor). La protéine REST a été découverte dans les cellules souches du cerveau normal de l'adulte où il agit comme un facteur de répression de la transcription de gènes neuronaux impliqués dans la différenciation morphologique et fonctionnelle des neurones (par exemple β -tubulin, BDNF and L1CAM).

QCM 2: D'après ces informations et vos connaissances :

- A) Les mutations de p53 dans les CSG sont des mutations "gain de fonction";
- B) La surexpression de Bcl-2 peut rendre les CSG sensibles à l'apoptose;
- C) Toutes les protéines de la famille Bcl-2 sont pro-apoptotiques;
- D) La surexpression de REST peut maintenir les CSG dans un état indifférencié;
- E) A, B, C et D sont fausses.

La protéine TRF2 est une sous-unité du complexe shelterine qui se fixe de manière spécifique sur l'ADN télomérique pour empêcher que les extrémités naturelles des chromosomes ne soient reconnues comme une cassure double brin de l'ADN par les facteurs de la réponse au dommage à l'ADN (ou DDR pour DNA damage Response).

La protéine TRF2 est surexprimée dans de nombreuses tumeurs humaines, quelque soit leur origine tissulaire. La diminution de son expression par interférence ARN diminue la capacité de cellules cancéreuses humaines de former des tumeurs une fois greffées dans des souris immunosupprimées.

En plus de ses fonctions télomériques, TRF2 interagit avec la protéine REST ce qui a pour conséquence d'empêcher REST d'être poly-ubiquitinylé et d'être dégradé par le protéasome.

QCM 3: D'après ces informations et vos connaissances :

- A) La protéine TRF2 est une sous-unité de la télomérase;
- B) La surexpression de TRF2 dans des cellules cancéreuses peut diminuer la quantité de protéines REST;
- C) L'utilisation des souris immunosupprimées se justifie pour éviter l'élimination des cellules greffées par le système immunitaire de la souris;
- D) Le DDR peut être à la fois pro- et anti-oncogénique;
- E) A, B, C et D sont fausses.

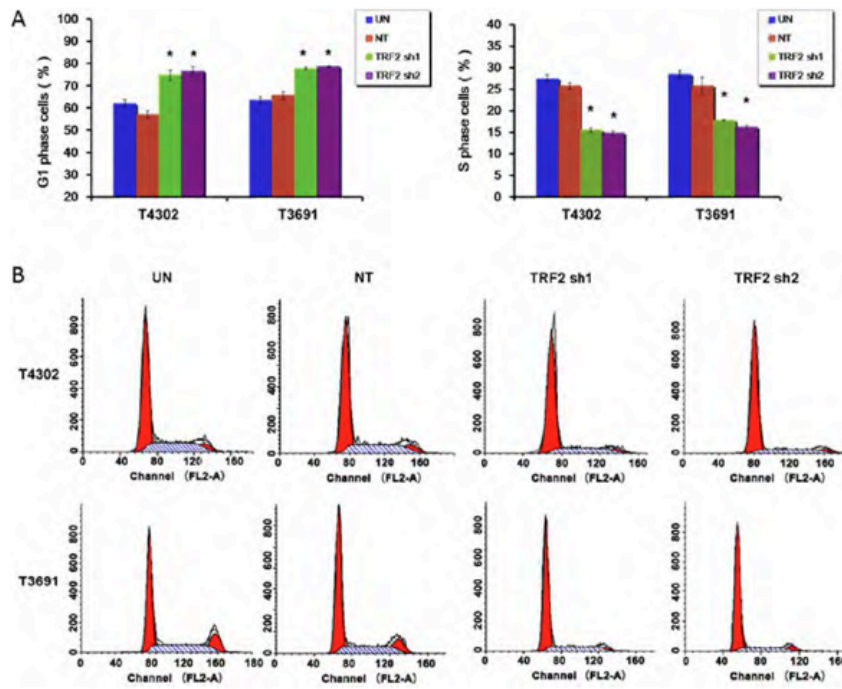


Figure 1: Les deux lignées de CSG T4302 et T3691 ont été infectées avec un vecteur rétroviral qui exprime les ARN interférant dirigés contre l'ARNm de TRF2 appelés TRF2 sh1 et TRF2 sh2. UN = cellules non infectées ; NT = cellules infectées avec un vecteur exprimant un ARN interférant qui n'est pas dirigé contre TRF2. Les cellules ont ensuite été fixées et colorées à l'iodure de propidium. La distribution de fluorescence a été étudiée par cryométrie.

QCM 4: D'après la figure 1:

- A) La fixation permet de perméabiliser les cellules
- B) Une réduction de l'expression de TRF2 entraîne un blocage des cellules en G2/M;
- C) Les deux lignées de SCG ne se comportent pas de la même manière;
- D) TRF2 contribue à la prolifération des SCG;
- E) A, B, C et D sont fausses.

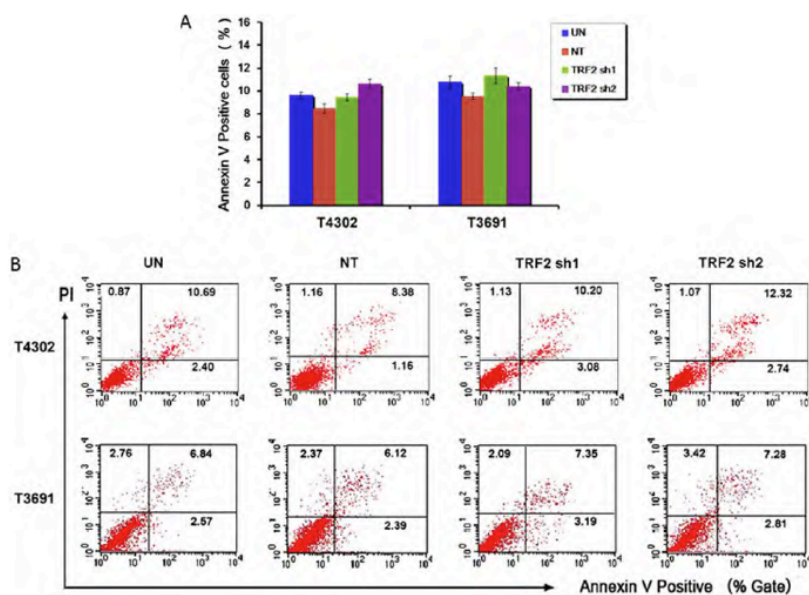


Figure 2: les différentes cellules de la Figure 1 ont été étudiées en cytométrie par un double marquage : iodure de propidium sans fixation préalable des cellules (PI) (en ordonnée dans le panel B) et annexine V (en abscisse dans le panel A)

QCM 5: D après la figure 2

- A) Les cellules Annexine V +/PI+ sont apoptotiques ;
- B) Chaque point des graphes du panel B représente une cellule ;
- C) La réduction de l'expression de TRF2 ne change pas significativement le nombre de cellules nécrotiques
- D) TRF2 est un régulateur négatif de l'apoptose dans les SCG ;
- E) A, B, C et D sont fausses.

Le caractère souche des cellules neurales est principalement étudié *in vitro*, à l'aide d'un système de culture appelé test des *neurosphères*. Les cellules sont mises en culture et forment alors:

- soit des neurosphères, un regroupement de cellule de forme sphérique - ce qui indique un certain potentiel neurogénique,
- soit un tapis de cellules différenciées - ce qui indique une absence probable de cellule souche dans la population cellulaire étudiée.

Les neurosphères formées sont constituées de populations hétérogènes, dont des cellules souches neurales à division lente (1 à 5 %) et une grande majorité de cellules progénitrices nestine-positives, à division rapide. Le nombre total de ces progéniteurs (à divisions lente et rapide) détermine le diamètre des neurosphères. Ainsi, une disparité dans la taille des sphères entre deux populations cellulaires peut refléter des différences de caractéristiques de prolifération, de survie et/ou de différenciation. Par exemple, la délétion de la $\beta 1$ -intégrine n'empêche pas la formation de neurosphères mais diminue significativement leurs diamètres : en effet, l'absence de $\beta 1$ -intégrine augmente la mort cellulaire et diminue la prolifération.

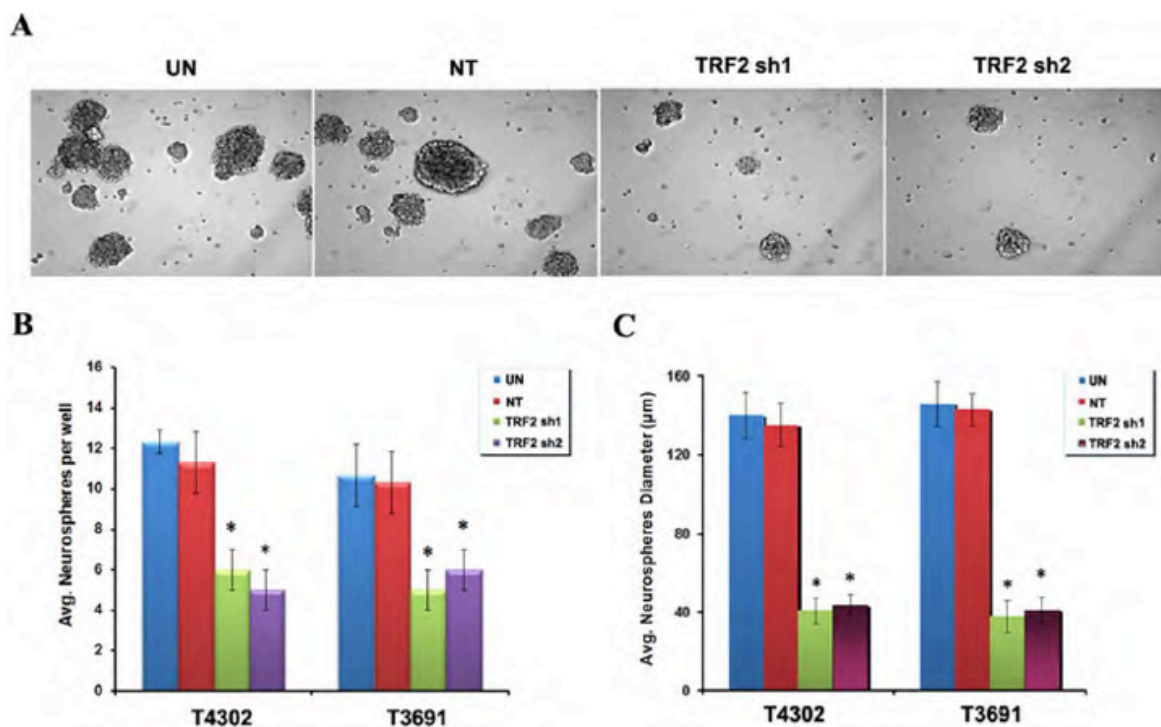


Figure 3: 100 cellules correspondant aux différents types cellulaires de la figure 1 ont été étalées dans des puits et ont été cultivées pendant 7 jours. Ensuite, les neurosphères formées par ces cellules ont été comptées par puit (exemple de neurosphère dans le panel A). Le graphe du panel B montre le nombre moyen de neurosphère par puit tandis que le graphe du panel C montre le diamètre moyen des neurosphères.

QCM6: Les résultats de la figure 3 démontrent que:

- A) TRF2 inhibe le caractère souche des SCG;
- B) Une réduction de l'expression de TRF2 diminue le diamètre des neurospheres;
- C) La réduction de l'expression de TRF2 induit la différenciation des SCG;
- D) la réduction de l'expression de TRF2 augmente la prolifération des SCG;
- E) A, B, C et D sont fausses.

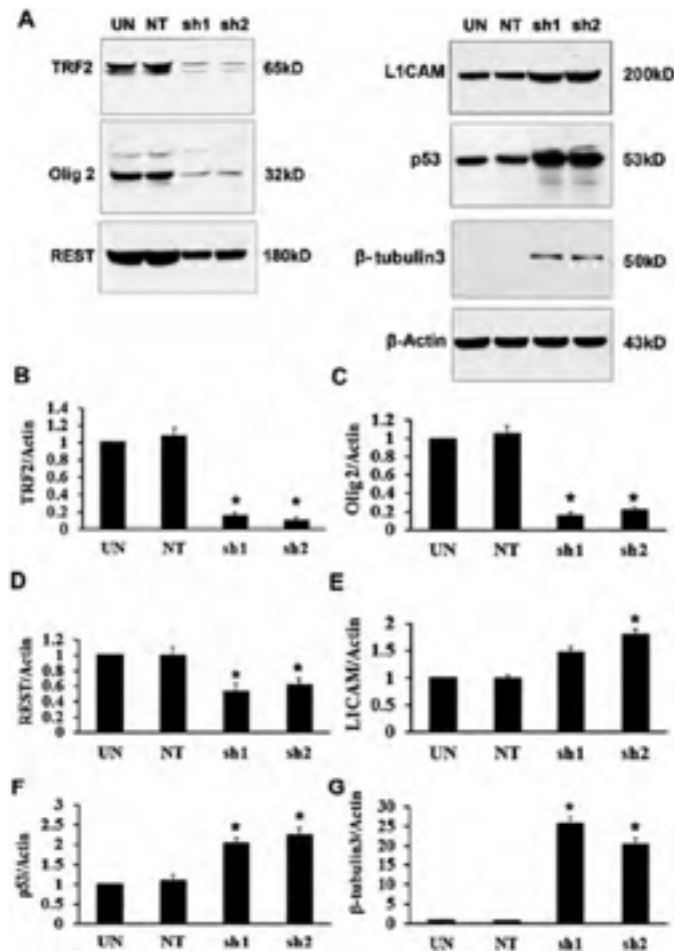


Figure 4: L'expression de différentes protéines a été quantifiée à partir d'immunoblot de type «Western» dans la lignée T4302. Olig2 est une protéine impliquée dans l'autorenouvellement des cellules pro génitrices neuronales tandis que L1CAM and β 3-tubulin sont des protéines impliquées dans la différenciation des neurones et la croissance des axones dont les gènes sont réprimés par REST.

QCM7: Les résultats de la figure 4 démontrent que:

- A) TRF2 réprime l'autorenouvellement des SCG;
- B) TRF2 réprime l'expression d'olig2;
- C) La réduction de l'expression de TRF2 réduit la transcription de REST;
- D) les deux ARN interférant sh1 et sh2 sont tous les deux efficaces pour diminuer l'expression de TRF2;
- E) A, B, C et D sont fausses.

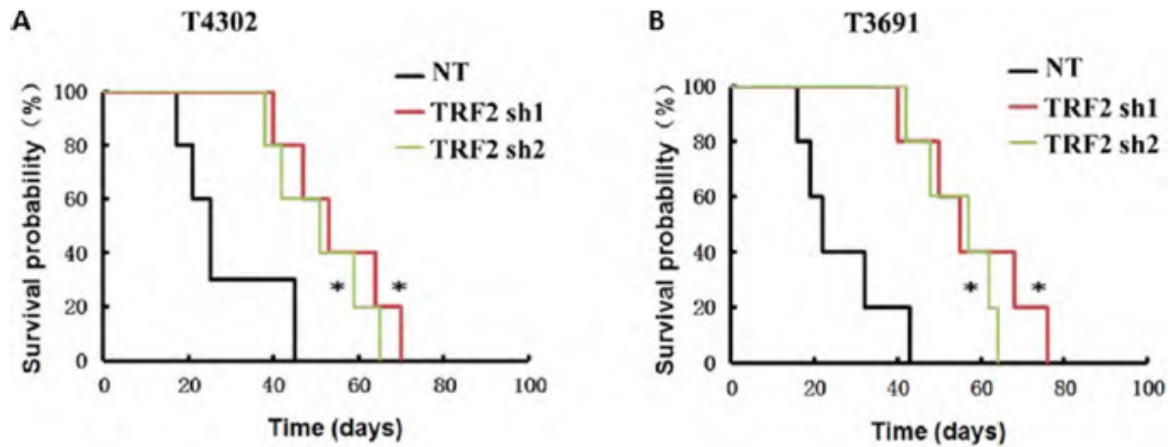


Figure 5: Les CSG indiquées dans la figure ont été transplantées dans le lobe frontal de souris immunosupprimées. La survie des souris a été déterminée et exprimée en fonction du temps (représentation de Kaplan-Meier).

QCM8: Les résultats de la figure 5:

- A) démontrent que TRF2 augmente la survie des souris après transplantation des CSG;
- B) suggèrent que TRF2 puisse être une cible thérapeutique intéressante pour traiter les glioblastomes;
- C) démontrent que TRF2 diminue l'immunosurveillance des cancers;
- D) démontrent que l'inhibition de TRF2 diminue le volume des tumeurs intracrâniennes ;
- E) A, B, C et D sont fausses.

QCM9: A propos de la progression des glioblastomes humains, l'ensemble des figures 1-5 :

- A) démontrent que TRF2 y contribue en diminuant l'expression de REST;
- B) suggère que TRF2 diminue le nombre de CSG dans les tumeurs;
- C) démontre que l'inhibition de TRF2 augmente la différenciation des cellules tumorales;
- D) excluent que l'augmentation de la survie des souris due à l'inhibition de TRF2 résulte d'une augmentation de l'apoptose;
- E) A, B, C et D sont fausses.