

Correction du TD 2009 Pr Gilson

Question 1:

- A - Vrai.
- B - Faux.
- C - Faux, *au contraire, le récepteur est spécifique d'un élément à internaliser.*
- D - Vrai.
- E - Faux.

Question 2:

- A - Faux.
- B - Faux
- C - Faux, *les anticorps maternels qui traversent les entérocytes par transcytose ne sont pas dégradés.*
- D - Faux.
- E - Faux.

Question 3:

- A - Faux, définition des lysosomes.
- B - Faux, le pH diminue des endosomes précoces aux endosomes tardifs, *permettant la dégradation du contenu des vésicules d'endocytose.*
- C - Vrai, *consommation d'énergie pour acidifier la lumière lysosomale par rapport au cytosol.*
- D - Faux, les hydrolases lysosomales sont actives à pH acide.
- E - Faux.

Question 4:

- A - Faux, question ambiguë car il est encore possible de recycler à partir des endosomes tardifs.
- B - Faux, la fusion des membranes (vésicule de recyclage-membrane plasmique) est contrôlée par un couple v-SNARE/t-SNARE spécifique.
- C - Faux, t = target (*donc membrane du compartiment accepteur*), v = vesicle.
- D - Vrai.
- E - Faux, pas de bourgeonnement.

Question 5:

- A - Faux, la transferrine est un transporteur du fer.
- B - Faux. Le pôle apical correspond à la lumière intestinale.
- C - Faux, la transferrine est recyclée avec le récepteur.
- D - Vrai.
- E - Vrai.

Question 6:

- A - Faux, les fibroblastes se multiplient facilement en laboratoire.
- B - Faux, *les cellules humaines deviennent sénescents après plusieurs divisions à cause du raccourcissement de leurs télomères (= sénescence répllicative).*
- C - Faux, pas obligé mais c'est possible.
- D - Vrai. A savoir: une cellule immortalisée peut se diviser de multiples fois sans entrer en sénescence. Une lignée est dite immortelle après quelques mois de divisions sans entrée en sénescence.
- E - Faux. *Les cellules sénescents sont toujours « vivantes » donc métaboliquement actives même si elles ne se diviseront plus jamais.*

Question 7:

- A - Faux, modifications post-traductionnelles.
- B - Vrai.
- C - Faux, l'histone H1 aide à la condensation de la chromatine.
- D - Vrai.
- E - Vrai.

Vous le reverrez lors du cours sur les cellules cancéreuses, on constate pour les cellules sénescents:

- une forte activité β -galactosidase = forte activité lysosomale des cellules sénescents.
- pas d'incorporation BrdU = incorporée dans le noyau lors de la réplication de l'ADN.
- phosphorylation du variant d'histone H2AX = marqueur de la réponse aux dommages de l'ADN.

Figure 1:

On constate:

- Culture A: En l'absence de SVF, les cellules ne se multiplient pas. Normal, on sait que les cellules de mammifères ne prolifèrent pas en l'absence de facteurs de croissance (que contient le SVF). Mais une fois mises en culture avec du SVF (culture B), elles reprennent leurs divisions => Les cellules de la culture A sont quiescentes.
- La transfection par un plasmide vide donne les mêmes résultats que la culture B => pas d'influence de la transfection en elle-même. S'il y a une différence entre cellules transfectées par RasV12 et cellules non transfectées, elle sera uniquement due à l'expression de RasV12.

Question 8: Figure 1. Démonstrations ?

- A - Faux, les cellules ne poussent pas sans SVF. Et on n'a pas d'expérience de culture avec RasV12 et sans SVF qui pourrait nous démontrer l'item.
- B - Faux, les cellules cultivées en présence de SVF (ex. culture B) finissent par présenter une forte activité β -galactosidase. Par contre les cellules cultivées sans SVF (culture A) ne présentent pas d'activité β -galactosidase.
- C - Faux, en comparant les cultures A et B, on voit que les cellules de la culture A ont toujours la même morphologie à 90 jours, alors que celles de la culture B deviennent plus grosses vers le 30 jours.
- D - Faux, on ne sait pas s'il y a une relation de cause à effet: pas de démonstration.
- E - Faux. Une cellule immortalisée peut effectuer un nombre illimité de divisions en culture. Ici, les cellules transfectées par RasV12 ne se divisent plus.

Figure 2:

On constate:

- Une incorporation de BrdU au niveau du noyau des cellules qui se multiplient en présence de SVF.
- Pas d'incorporation de BrdU par les cellules quiescentes (culture A) et sénescents, normal puisque ces cellules ne répliquent pas leur ADN.

Question 9: Figure 2.

- A - Faux, car on a perméabilisé la cellule avec du détergent pour faire entrer les anticorps.
- B - Vrai.
- C - Vrai, définition de la technique.
- D - Vrai.
- E - Faux, il n'y a pas d'immunoglobulines (secondaires ? parce qu'il est dit dans le texte à côté de la figure que les anticorps anti-BrdU sont directement couplés au fluorochrome sans passer par des anticorps secondaires ?) En tout cas, on n'utilise pas d'immunoglobuline humaine en immunofluorescence indirecte.

Question 10: Figures 1 et 2.

- A - Faux, les cellules transfectées avec RasV12 ne prolifèrent pas.
- B - Faux, les cellules cultivées en absence de sérum sont seulement quiescentes: remises en culture avec SVF (culture B), elles reprennent leurs divisions.
- C - Faux, pas de démonstration.
- D - ? Marqué vrai par les ronéoistes l'an dernier, marqué faux dans mes notes prises en cours.
- E - Faux, le temps de culture ne change rien, c'est la présence de SVF ou non qui va induire la sénescence. Après 90 jours les cellules de la culture A ne sont toujours pas entrées en sénescence, alors que dans toutes les cultures avec SVF on voit apparaître des cellules sénescents dès le 30^{ème} jour.

Figure 3A:

On constate la présence de la forme phosphorylée d'H2AX chez les cellules sénescences.

Question 11: Figures 1, 2 et 3A.

- A - Pas de démonstration d'une quelconque relation même si on retrouve phosphorylation d'H2AX et activité β -galactosidase chez les cellules sénescences.
- B - Faux, l'activité β -galactosidase marque nous permet ici de repérer les cellules sénescences et non quiescentes.
- C - Faux, pas de corrélation (c'est-à-dire de lien de cause à effet) parce qu'on ne constate pas de phosphorylation d'H2AX chez les cellules qui se répliquent (ex. cellules de la culture B).
- D - Vrai, on ne sait pas, il n'y a pas démonstration du contraire.
- E - Faux, pas de démonstration.

Figure 3B:

On constate:

- Que la fluorescence verte (présence d'histone H3 acétylée sur sa lysine 9) est plus importante dans le noyau des cellules quiescentes ou en division.
- Que la fluorescence rouge (présence de la protéine de l'hétérochromatine HP1 γ) est plus importante dans le noyau des cellules sénescences.
- Qu'Ac-H3K9 et HP1 γ ne sont pas colocalisées (pas de superposition des fluorescences vertes et rouges).

Question 12:

- A - Faux.
- B - Faux.
- C - Faux.
- D - Vrai.
- E - Vrai.

Question 13: Figures 1, 2 et 3.

- A - Vrai.
- B - Faux puisque dans les cellules quiescentes qui ne se répliquent pas il y a présence de H3K9 acétylé.
- C - Vrai, présence importante d'HP1 γ chez les cellules sénescences.
- D - Faux.
- E - Faux, pas de démonstration.

Figure 4:

On constate:

- Que la chromatine des cellules cultivées sans transfection par RasV12 contient plus d'HP1 γ que d'Ac-H3K9.
- Que la chromatine des cellules cultivées après transfection par RasV12 contient plus d'HP1 γ que d'Ac-H3K9.
- Que la chromatine des cellules cultivées après transfection par RasV12 contient deux protéines non présentes dans la chromatine des cellules cultivées sans transfection (bandes 1 et 2).

Question 14: Figure 4.

- A - Faux, les cellules cultivées sans SVF expriment Ac-H3K9 de manière importante et peu HP1 γ , sur la figure 3B comme sur la 4.
- B - Vrai, même profil pour les cellules cultivées avec ou sans SVF s'il n'y a pas de transfection par rasV12.
- C - Faux, cellules sénescences.
- D - Faux, pas de démonstration.
- E - Vrai, la bande représentant H3 est identique pour tous les profils.

Figure 5:

On constate:

- Dans le noyau des cellules quiescentes ou en division: expression importante d'HMGA1 (fluorescence verte) à l'intérieur de l'ensemble du nucléoplasme, expression faible d'HP1 γ (fluorescence rouge).
- Dans le noyau des cellules sénescences: expression importante d'HP1 γ et faible expression d'HMGA1.

Question 15:

- A - Vrai.
- B - Faux.
- C - Faux, plutôt l'inverse
- D - Faux, pas tous.
- E - Vrai, on ne sait pas, c'est possible.

Question 16: Figure 6.

- A - Vrai.
- B - Faux.
- C - Faux, zone dense aux électrons.
- D - Vrai, principe de la technique.
- E - Faux.

Question 17: Tableau 1.

- A - Faux, perte de poids du di-méthyl et tri-méthyl-peptide. Si SMCX était une histone-méthyl-transférase, il y aurait un gain de poids.
- B - Faux, le tableau ne suggère pas qu'elle ait une activité désacétylase.
- C - Faux, pas de cytosine (base azotée) à l'intérieur des peptides étudiés.
- D - Faux, perte d'un seul méthyl. *En tout cas, même perte de poids que le di-méthyl-peptide qui ne peut pas perdre trois résidus méthyls.*
- E - Faux, pas de modification du poids moléculaire du tri-méthyl-peptide en contact avec SMCXmut => mutation perte de fonction.

Question 18:

- A - Faux, *c'est dit dans l'énoncé: pas de modification de la survie des cellules.*
- B - Faux.
- C - Faux.
- D - Vrai.
- E - Faux, aucun sens, la GFP est une protéine de méduse.

Question 19:

- A - Vrai, il existe peut-être un autre contrôle que celui exercé par SMCX.
- B - Vrai, on ne peut pas l'exclure.
- C - Vrai, pourquoi pas ?
- D - Vrai, rien ne l'interdit.
- E - Vrai, peut-être, on ne sait pas.

Question 20:

- A - Faux.
- B - Faux, les informations épigénétiques sont aussi hérissables bien que non codées par le génome.
- C - Vrai.
- D - Vrai.
- E - Faux, empreinte parentale = expression monoallélique.

Question 21:

- A - Faux.
- B - Vrai.
- C - Faux, il y a restriction.
- D - Vrai.
- E - Vrai.

Question 22:

Le southern-blot permet d'étudier l'ADN, le northern-blot permet l'étude des ARN, le western-blot celle des protéines.

- A - Faux, pour étudier le niveau de transcription (obtention d'ARN), il faut un northern-blot.
- B - Faux, pour évaluer le niveau de traduction (obtention de protéines), il faut un western-blot.
- C - Vrai.
- D - Faux, le northern-blot concerne l'ARN, on utilise donc des sondes d'acides nucléiques.
- E - Faux, seulement les protéines.