

TD Cours Biologie Cellulaire

Pr. Eric Gilson

2008-2009

Révisions pour les QCM du sujet de concours

Chaque question comporte 5 propositions, numérotées de A à E.

Cocher la ou les propositions justes s'il y en a. Il peut y avoir de 0 à 5 propositions vraies pour chaque question.

ATTENTION!, pour l'épreuve officielle du concours, il y aura une seule bonne réponse possible

Question 1 :

- A. Il existe trois voies d'endocytose : la pinocytose, l'endocytose par récepteur interposé et la phagocytose.**
- B. L'exocytose permet l'élimination de cellules sénescents ou apoptotiques**
- C. L'endocytose par récepteur interposé est un mode d'endocytose non spécifique.**
- D. Le manteau de clathrine est constitué d'une association de triskèles**
- E. Le rôle principal de la phagocytose est le renouvellement de la membrane cellulaire.**

Question 2 :

- A. Lors de la pinocytose, les macrophages émettent des pseudopodes.**
- B. Le contenu des vésicules d'endocytose est toujours dégradé.**
- C. Lors de la transcytose, le contenu des vésicules d'endocytose est dégradé à pH acide puis éliminé au pôle cellulaire opposé par exocytose.**
- D. Les vésicules de stockages sont alimentées par le processus de transcytose.**
- E. Les anticorps du lait maternel sont transmis au nouveau-né grâce au processus d'endocytose par récepteur interposé puis par pinocytose**

Question 3 :

- A. Les peroxysomes sont des organelles à pH acide contenant de nombreuses hydrolases.**
- B. Le pH des endosomes augmente au cours de la maturation des endosomes précoces vers les endosomes tardifs.**
- C. La V-ATPase permet de coupler l'hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi à l'import de protons dans les lysosomes.**
- D. Les protéases lysosomales sont actives à un pH de 7.**
- E. Les phagosomes résultent de la phagocytose des auto-anticorps.**

Question 4:

- A. Les vésicules de recyclage produites à partir des endosomes précoces permettent de recycler une partie du contenu des vésicules d'endocytose avant qu'elles ne soient dégradées.**
- B. La fusion des vésicules de recyclage avec la membrane cellulaire est un processus non contrôlé**
- C. Des molécules t-SNARE sont présentes sur la membrane des vésicules d'exocytose.**
- D. Des molécules v-SNARE sont présentes sur la membrane des vésicules d'exocytose.**
- E. La fusion des vésicules d'exocytose avec la membrane cellulaire passe successivement par 3 étapes : assemblage, ancrage, bourgeonnement et recyclage.**

L'hémochromatose héréditaire est une pathologie caractérisée par une surcharge en fer. Dans ce type de pathologie, l'excès de fer sérique non lié par la transferrine (ou ferritransferrine) s'accumule dans des tissus internalisant le fer de façon ferritine indépendant, comme les hépatocytes, les cardiomyocytes ou les cellules des îlots β du pancréas. Ainsi, les patients atteints développent différentes pathologies : cirrhose, cancer du foie, cardiomyopathie, diabète...

Question 5 : Question concernant la transferrine:

- A. La transferrine est un récepteur membranaire qui lie le fer sérique.**
- B. Après transcytose, le récepteur de la transferrine située dans la membrane du pôle apicale des entérocytes passe au pôle basale où le fer est éliminé au niveau de la lumière intestinale.**
- C. Après endocytose par récepteur interposé, la transferrine est recyclée et le récepteur de la transferrine dégradé.**
- D. Après endocytose par récepteur interposé, la transferrine et son récepteur sont recyclés, seul le fer reste au niveau des endosomes.**
- E. La transferrine permet le transport sérique du fer ferrique.**

Question 6. Propositions concernant la culture des cellules en laboratoire :

- A- les fibroblastes issus d'une biopsie de peau d'un individu ne présentant aucune pathologie sont incapables de se multiplier dans des boîtes de Pétri en présence d'un milieu de culture adéquat;**
- B- les cellules humaines peuvent se multiplier indéfiniment en laboratoire à condition de renouveler régulièrement leur milieu de culture ;**
- C- les cellules issues des tumeurs humaines ne peuvent pas se diviser en laboratoire ;**
- D- on peut immortaliser des cellules humaines normales en les infectant avec un virus oncogène ;**
- E- les cellules en sénescence sont métaboliquement inactives.**

Question 7. Propositions concernant la chromatine :

- A- tous les nucléosomes d'une même cellule sont identiques;**
- B- les nucléosomes inhibent la transcription;**
- C- l'histone H1 est indispensable pour que les facteurs de la transcription trouvent leur cible;**
- D- les éléments insulateurs segmentent les chromosomes en domaines indépendants de régulation de la transcription;**
- E- la localisation spatiale des gènes dans le noyau constitue une information régulatrice.**

Des fibroblastes humains obtenus à partir d'une biopsie de peau d'un individu exempt de pathologie connue ont été transfectés avec un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF). Les mêmes fibroblastes humains ont été

cultivés d'abord en absence (culture A) puis remis en présence de SVF (culture B). Les cellules ont ensuite été étudiées par différentes techniques. Une partie des cellules a été mélangée avec du X-Gal un substrat chromogénique (bleu) de la beta-galactosidase dans des conditions de pH acide (Figure 1). Une autre partie des cellules a été incubée pour 24 heures avec du 5-bromodeoxyuridine (BrdU). L'incorporation de BrdU dans les cellules, qui se fait lors de la réplication, a été révélée par immunofluorescence indirecte avec des anticorps anti-BrdU (Figure 2). Une troisième partie des cellules a été étudiée par immunofluorescence indirecte avec des anticorps dirigés contre la forme phosphorylée du variant d'histone H2AX (figure 3A) ou avec des anticorps dirigés contre la protéine d'hétérochromatine HP1g et contre la forme acétylée de l'histone H3 en lysine 9 (Ac-H3K9) (figure 3B). Pour une quatrième partie, les noyaux ont été purifiés, la chromatine extraite en absence de sel et la composition protéique de cette chromatine étudiée par électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS (Figure 4).

Question 8. Les images de microscopie optique schématisées dans la figure 1 démontrent que :

- A- l'expression de RasV12 permet aux cellules de croître sans SVF;**
- B- l'activité bêta-galactosidase est réprimée par le SVF ;**
- C- la morphologie des cellules dépend uniquement du temps passé en culture ;**
- D- la bêta-galactosidase induit un arrêt de la croissance des cellules ;**
- E- RasV12 immortalise les fibroblastes.**

Question 9. Propositions concernant la figure 2 :

- A- l'immunofluorescence indirecte permet de visualiser une protéine dans des cellules vivantes ;**
- B- les cellules incorporent le BrdU dans le noyau ;**
- C- les anticorps secondaires utilisés en immunofluorescence indirecte sont couplés à un fluorochrome ;**
- D- l'incorporation de BrdU se fait au cours de la réplication de l'ADN nucléaire ;**
- E- Les anticorps secondaires utilisés dans l'expérience d'immunofluorescence anti-BrdU sont nécessairement dirigés contre les immunoglobulines humaines.**

Question 10. Les résultats des figures 1 et 2 :

- A- sont compatibles avec une stimulation de la prolifération induite par RasV12 ;**
- B- suggèrent que l'absence de sérum induit la sénescence des cellules ;**
- C- démontrent que l'expression de RasV12 induit un arrêt réversible de la prolifération des cellules ;**

- D- démontrent que la croissance en absence de sérum empêche les cellules non transfectées de rentrer en sénescence ;**
- E- suggèrent que l'entrée en sénescence est déterminée par le temps chronologique passé en culture.**

La figure 3A schématise le marquage nucléaire le plus significatif obtenu par une expérience d'immunofluorescence indirecte dirigée contre la forme phosphorylée du variant d'histone H2AX (γ H2AX) qui est un marqueur des cassures accidentelles de la double hélice d'ADN.

Question 11. Les résultats des figures 1, 2 et 3A :

- A- démontrent que la phosphorylation d'H2AX déclenche l'activation de la béta-galactosidase ;**
- B- suggèrent que la béta-galactosidase est un bon marqueur des cellules quiescentes ;**
- C- suggèrent une corrélation entre la phosphorylation d'H2AX et la réplication des cellules ;**
- D- sont compatibles avec l'hypothèse que RasV12 induit un dommage de l'ADN non réparé ;**
- E- montrent que γ H2AX est une protéine du nucléole.**

La figure 3B schématise le marquage nucléaire le plus significatif obtenu par des expériences de double immunofluorescence avec des anticorps primaires de souris dirigés contre la l'histone H3 acétylé en K9 et des anticorps primaires de lapin anti-HP1 γ .

Question 12. Propositions concernant les combinaisons appropriées d'anticorps secondaires utilisables pour les expériences de la figure 3B :

- A- anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris ;**
- B- anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris ;**
- C- anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de chèvre ;**
- D- anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin et des anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de souris ;**
- E- anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin et des anticorps de cheval anti-immunoglobuline de souris.**

Question 13. Les résultats des figures 1, 2 et 3 :

- A- montrent une accumulation d'HP1 γ dans les cellules sénescences ;**
- B- suggèrent que l'acétylation de l'histone H3 en K9 puisse être nécessaire à la réplication de l'ADN ;**
- C- suggèrent qu'un arrêt irréversible de la prolifération s'accompagne d'une augmentation de la quantité d'hétérochromatine ;**
- D- démontrent une colocalisation entre HP1 γ et l'histone H3 acétylée en K9 dans les noyaux des cellules sénescences ;**
- E- montrent que HP1 γ induit la sénescence.**

Question 14. Les résultats de la figure 4 :

- A- sont en accord avec ceux de la figure 3B pour les cellules qui expriment RasV12 mais pas pour les cellules cultivées sans sérum ;**
- B- suggèrent que le profil d'expression des histones est identique pour les cellules cultivées avec ou sans SVF ;**
- C- suggèrent que l'expression de RasV12 induit l'expression de deux nouvelles protéines (appelées bande 1 et bande 2) qui pourraient avoir un rôle dans la structure de la chromatine des cellules quiescentes;**
- D- montrent que l'acétylation de l'histone H3 en K9 permet la prolifération des cellules exprimant RasV12 ;**
- E- éliminent l'hypothèse selon laquelle la diminution de l'acétylation de l'histone H3 en K9 résulte de la diminution de l'expression de l'histone H3.**

Les protéines présentes dans les bande 1 et bande 2 ont été microséquencées par spectrométrie de masse. De nombreux peptides correspondant à la protéine HMGA1 (bande 1) et HMGA2 (bande 2) ont été trouvés. Les résultats d'une double immunofluorescence dirigée contre HP1 γ et HMGA1 sont représentés dans la figure 5.

Question 15. Les résultats de la figure 5 :

- A- montrent qu'HMGA1 est localisée de manière diffuse dans le nucléoplasme des cellules quiescentes ;**
- B- montrent qu'HMGA1 est colocalisée avec l'histone H3 acétylée en K9 dans les cellules sénescences ;**
- C- suggèrent qu'HMGA1 est une protéine de l'euchromatine ;**
- D- montrent que tous les foyers HMGA1 colocalisent avec HP1 γ ;**
- E- sont compatibles avec un rôle important d'HMGA1 dans l'entrée en sénescence.**

Question 16. Propositions concernant la figure 6 :

- A- les images de la figure 6 sont compatibles avec les résultats de la figures 5 ;**
- B- la figure 6 suggère qu'HMGA1 est une protéine localisée dans le nucléole ;**
- C- la figure 6 montre une grande concentration d'HMGA1 dans une zone faiblement opaque aux électrons ;**
- D- les anticorps sont associés à des particules d 'or ;**
- E- en microscopie électronique à balayage, le faisceau d'électrons traverse la préparation traitée aux sels de métaux lourds.**

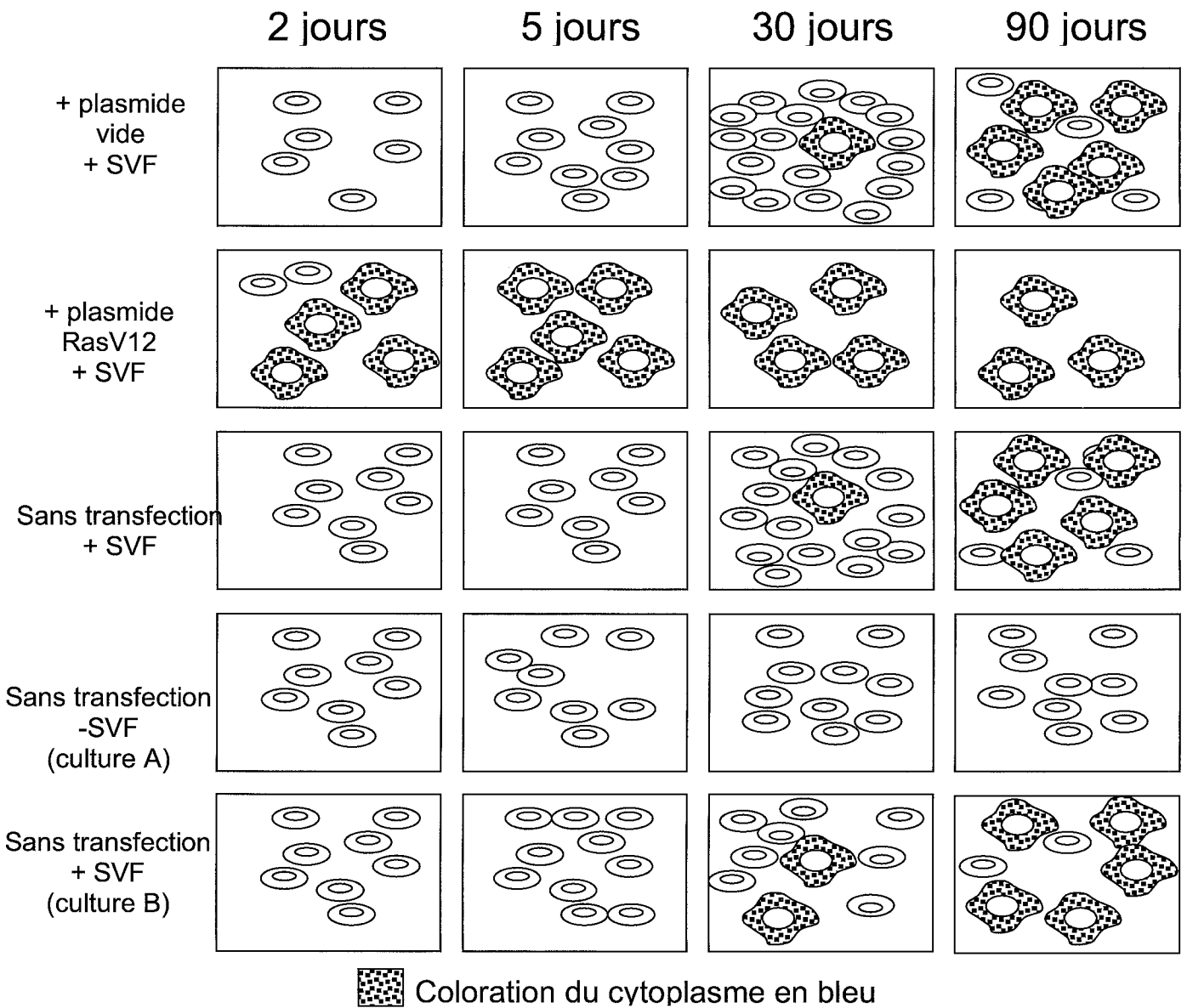


Figure 1 Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence de SVF. Le nombre de jours passés en culture après la transfection est indiqué en haut de la figure. Les fibroblastes humains non transfectés ont également été cultivés en absence de SVF (culture A) puis remis en culture 90 jours en présence de SVF (culture B). La figure représente une représentation schématique des images représentatives obtenues par microscopie optique après coloration des cellules avec du X-Gal un substrat chromogénique (bleu) de la beta-galactosidase dans des conditions de pH acide.

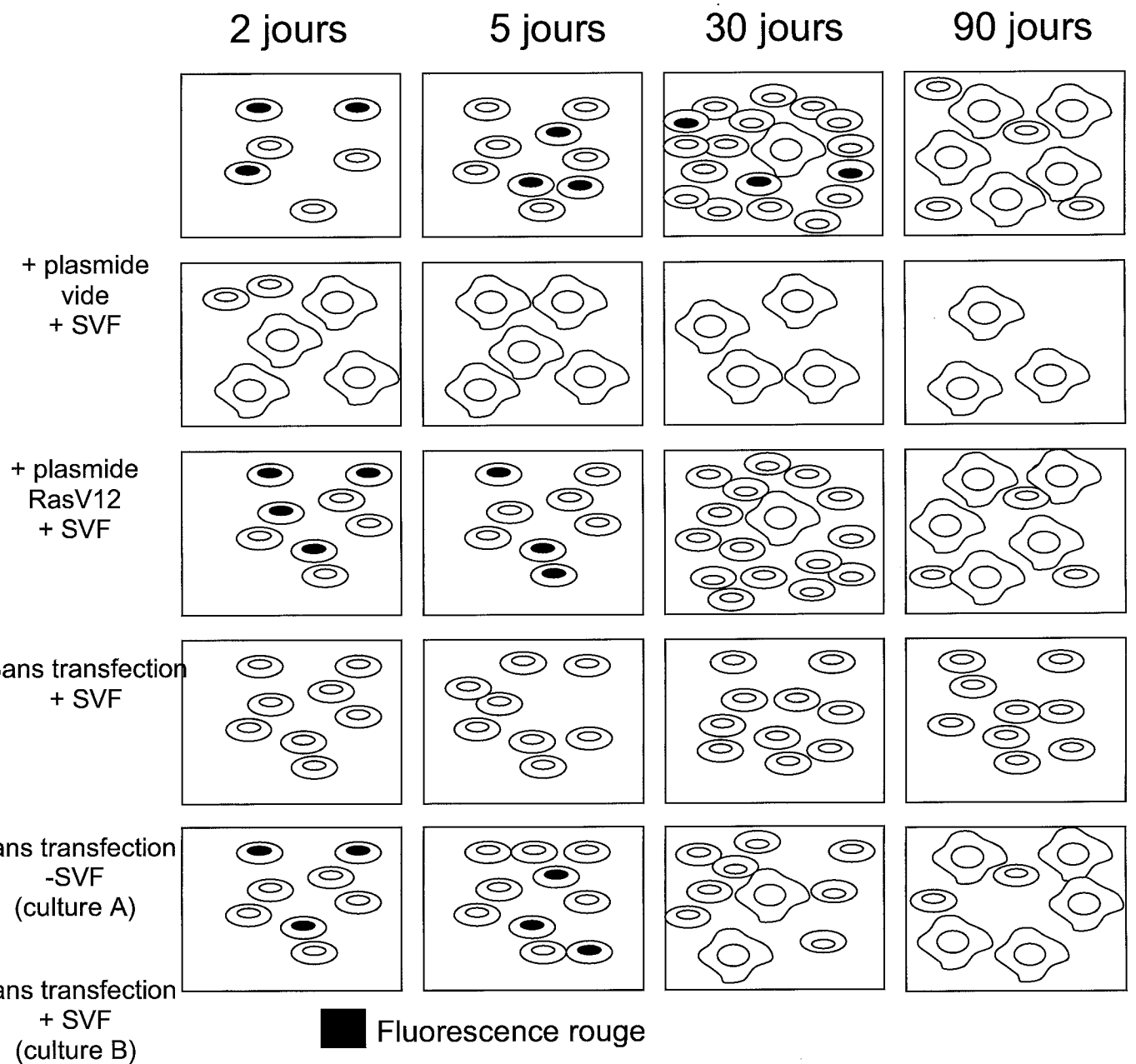


Figure 2 Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence de SVF. Le nombre de jours passés en culture après la transfection est indiqué en haut de la figure. Les fibroblastes humains non transfectés ont également été cultivés en absence de SVF (culture A) puis remis en culture 90 jours en présence de SVF (culture B). La figure représente une représentation schématique des images représentatives obtenues par microscopie à fluorescence après 24 heures d'incubation avec du 5-bromodeoxyuridine (BrdU). Le BrdU dans les cellules a été révélées par immunofluorescence avec des anticorps anti-BrdU couplés à la rhodamine.

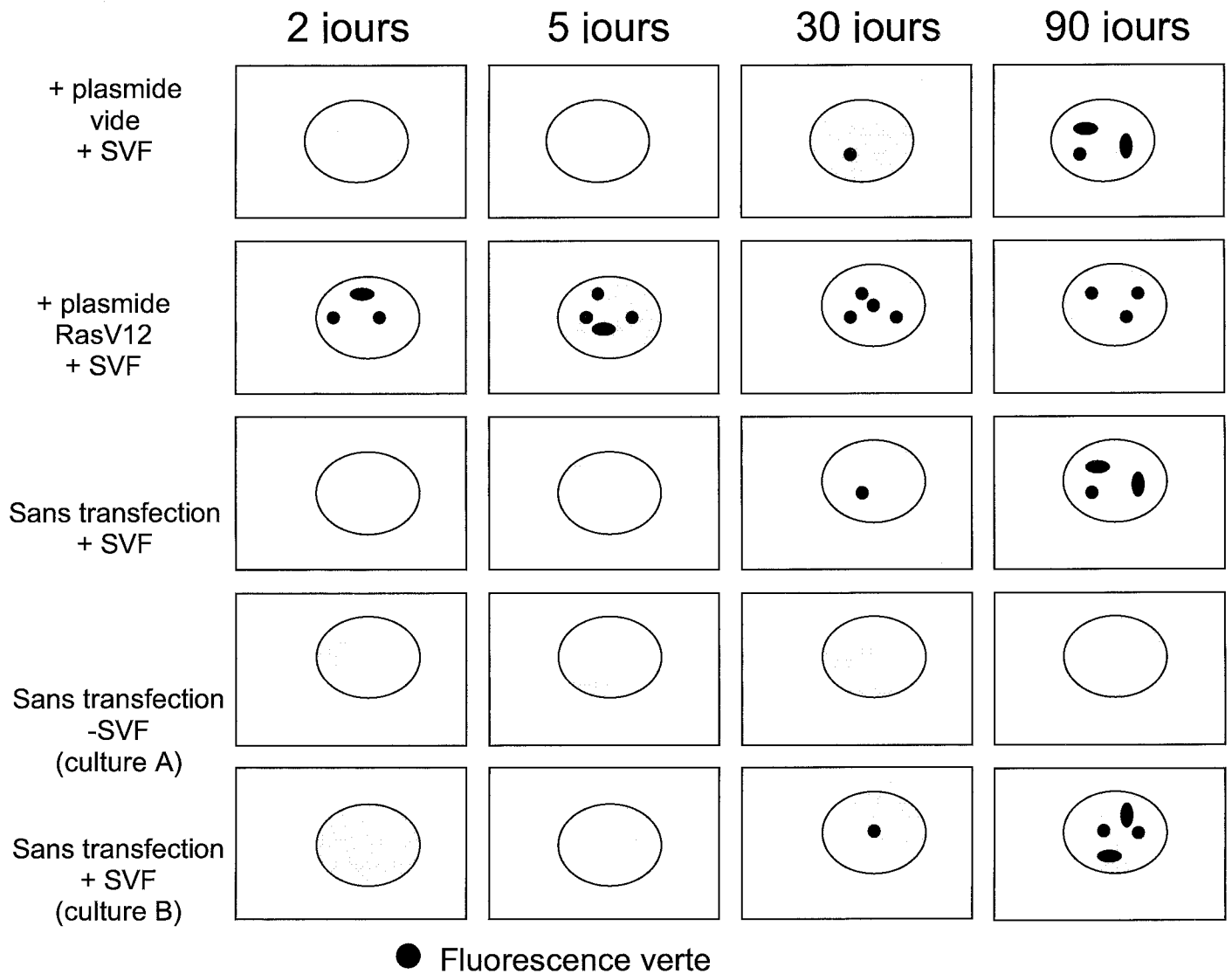


Figure 3A Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégié en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence de SVF. Le nombre de jours passés en culture après la transfection est indiqué en haut de la figure. Les fibroblastes humains non transfectés ont également été cultivés en absence de SVF (culture A) puis remis en culture 90 jours en présence de SVF (culture B). La figure représente une représentation schématique d'un noyau représentatif obtenue par microscopie à fluorescence après immunofluorescence indirecte avec des anticorps primaires dirigés contre la forme phosphorylée du variant d'histone H2AX et des anticorps secondaires couplés à la fluoresceine.

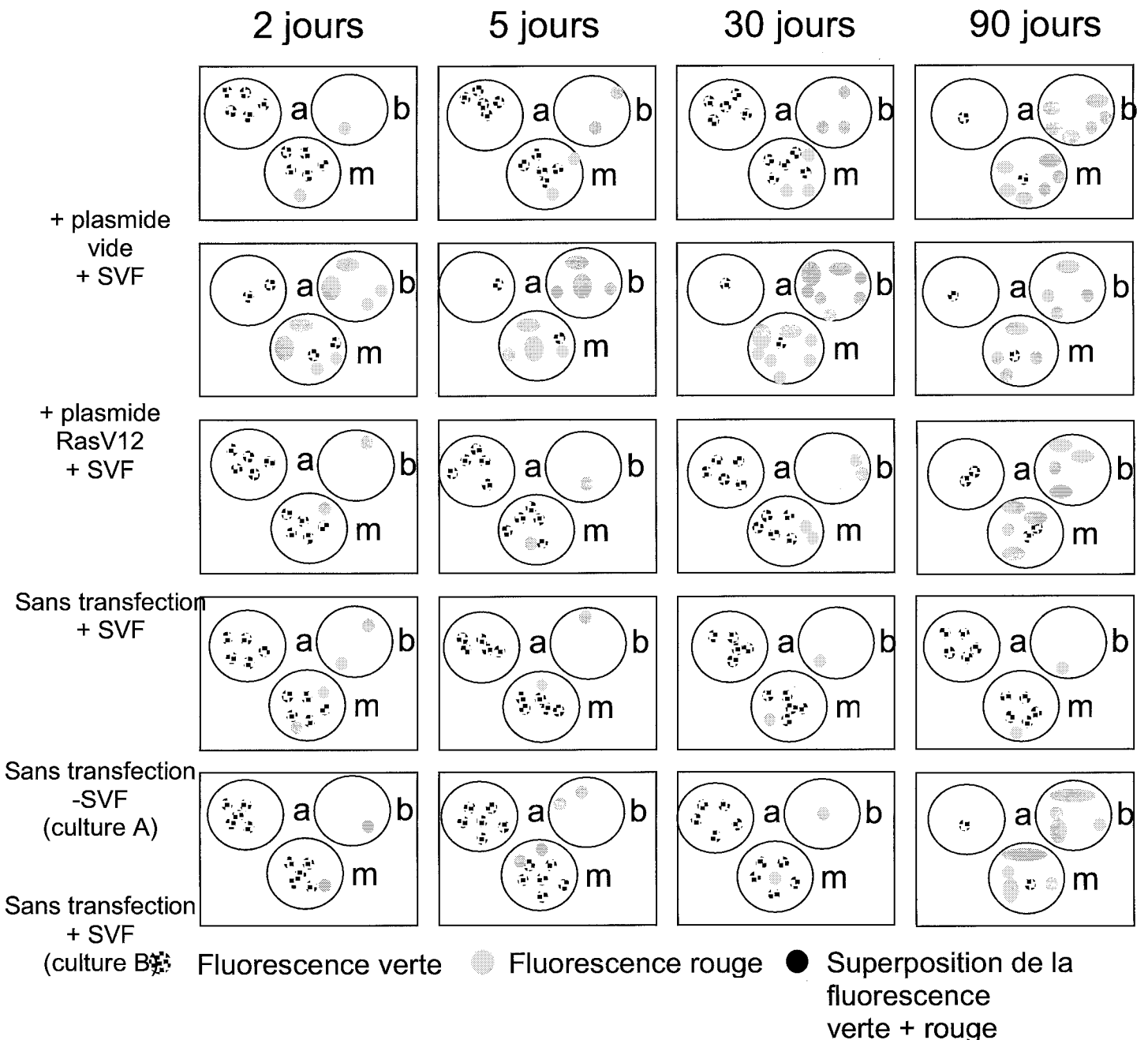


Figure 3B Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence de SVF. Le nombre de jours passés en culture après la transfection est indiqué en haut de la figure. Les fibroblastes humains non transfectés ont également été cultivés en absence de SVF (culture A) puis remis en culture 90 jours en présence de SVF (culture B). La figure est une représentation schématique des images représentatives d'un même champ d'observation nucléaire obtenu par microscopie à fluorescence après une double immunofluorescence indirecte avec des anticorps primaires dirigés contre la forme acétylée de l'histone H3 en lysine 9 (Ac-H3K9) (fluorescence verte, images notées a) et la protéine d'hétérochromatine HP1γ et (fluorescence rouge, images notées b). La superposition des images a et b est notée m.

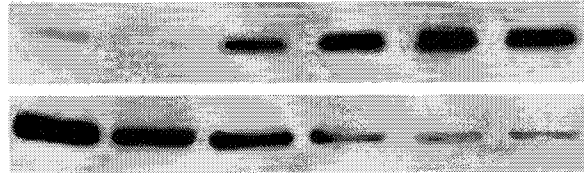
Nombre de jours

après RasV12 : 0 0 1 2 5 10

SVF : - + + + + +

Anti-HP1 γ

Anti-Ac H3K9



Représentation
schématique
du gel après
coloration de toutes
les protéines de
l'extrait
au bleu
de Coomassie

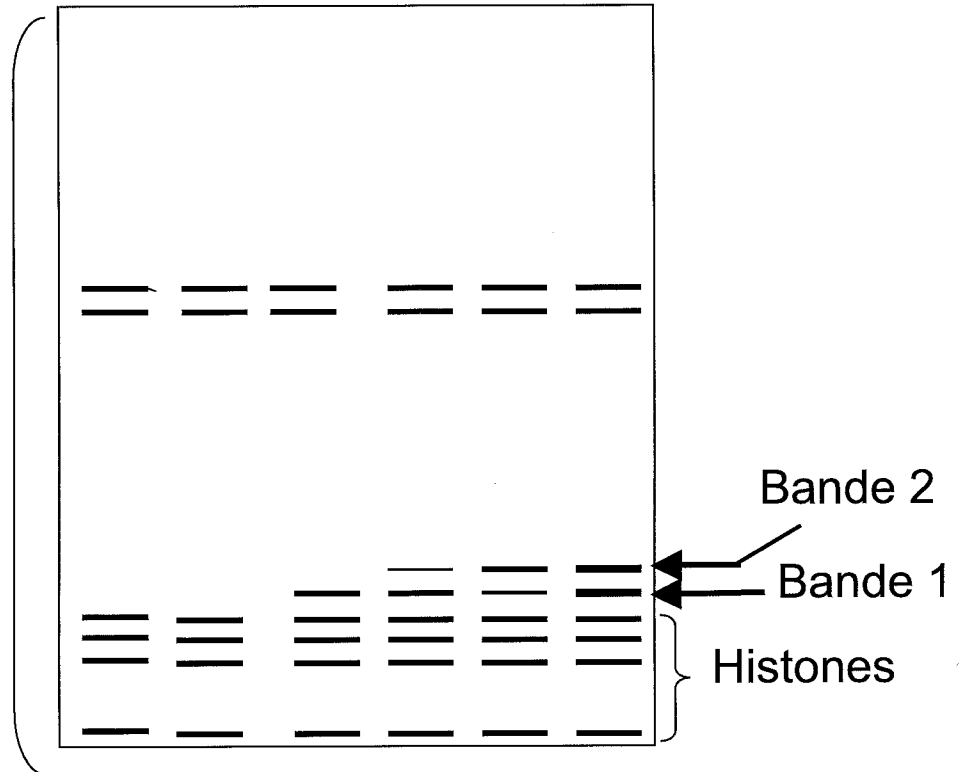


Figure 4 Profil protéique des extraits de chromatine obtenus à partir de cellules cultivées dans différentes conditions (après transfection par un plasmide codant pour RasV12, les cellules ont été cultivées avec ou sans SVF sur différentes durées (de 0 à 10 jours). Après séparation sur gel de polyacrylamide-SDS (observé après coloration au bleu de Coomassie), les protéines sont transférées sur une membrane, puis une immunodétection est réalisée avec des anticorps contre HP1 γ et contre la forme acétylée en K9 de l'histone H3 (Ac H3K9). Les flèches montrent l'emplacement des bandes 1 et 2. Les bandes colorées en bleu de Coomassie correspondant aux quatre protéines histones (H2A, H2B, H3 et H4) sont indiquées (Histones). La bande du haut est l'histone H3.

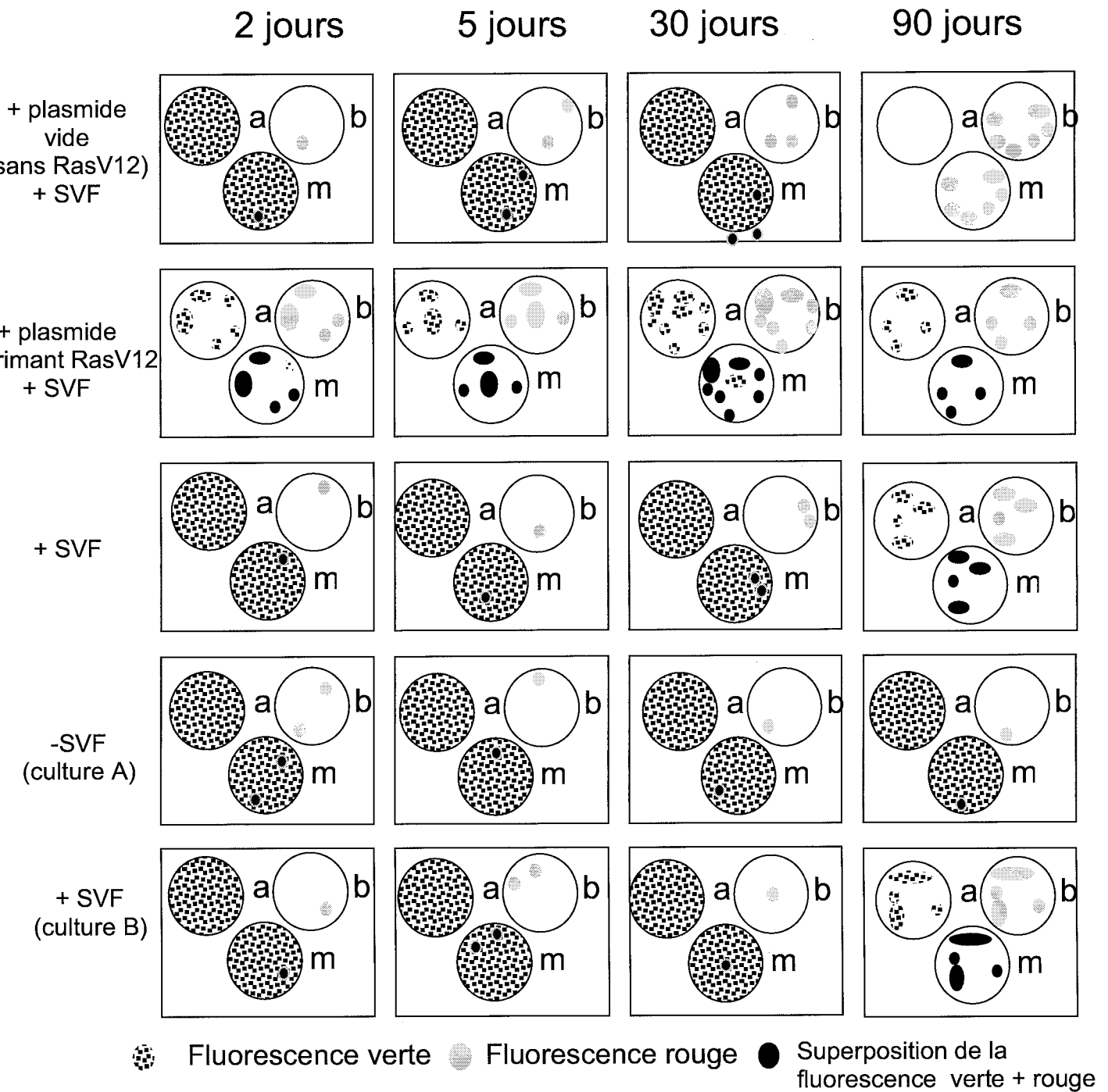


Figure 5 Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégié en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence de SVF. Le nombre de jours passés en culture après la transfection est indiqué en haut de la figure. Les fibroblastes humains non transfectés ont également été

cultivés en absence de SVF (culture A) puis remis en culture 90 jours en présence de SVF (culture B). La figure est une représentation schématique des images représentatives d'un même champ d'observation nucléaire obtenues par microscopie à fluorescence après une double immunofluorescence indirecte avec des anticorps primaires dirigés contre HMGA1 (fluorescence verte, images notées a) et la protéine d'hétérochromatine HP1 γ et (fluorescence rouge, images notées b). La superposition des images a et b est notée m.

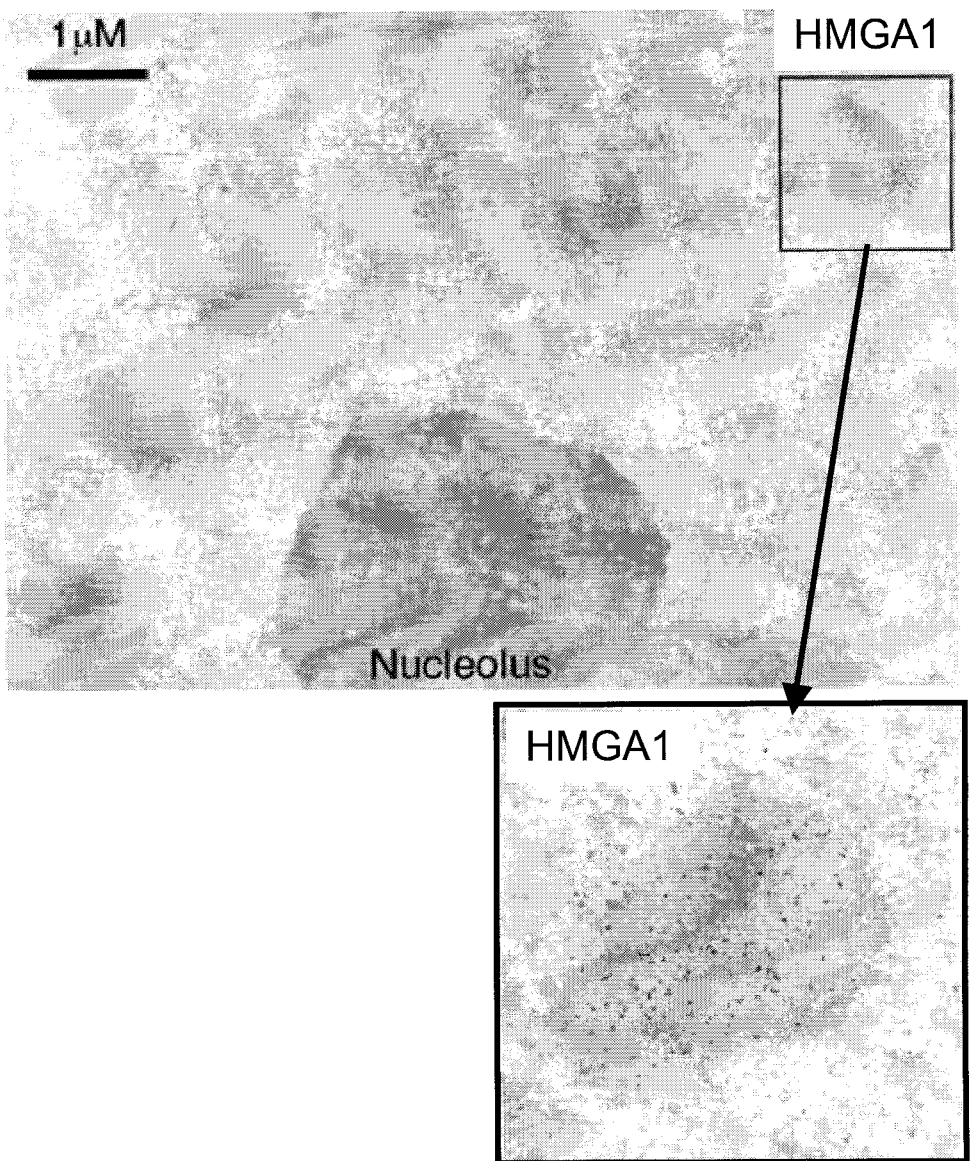


Figure 6 Images de microscopie électronique montrant des coupes ultra-fines de noyaux de fibroblastes après 30 jours d'expression de RasV12. La protéine HMGA1 est marquée par des anticorps couplés à des particules d'or. Le nucléole (Nucleolus) est indiqué. L'image du bas est un agrandissement d'une partie de l'image du haut.

Le syndrome de retard mental lié au chromosome X est une pathologie très hétérogène impliquant des facteurs environnementaux et génétiques. Le gène SMCX est le plus fréquemment muté chez les patients atteints de cette pathologie. La protéine SMCX a été produite dans des bactéries et purifiée à homogénéité. Elle a été incubée avec des peptides synthétiques dont la séquence est représentative des différentes lysines pouvant être méthylées dans les histones (par exemple le peptide H3K4 correspond à la séquence comprenant la quatrième lysine de l'histone H3). Ces peptides sont utilisés sous forme mono-, di- ou tri-méthylée. Jusqu'à présent, 13 mutations de SMCX ont été identifiées chez les patients atteints de retard mental. Une de ces mutations a été étudiée en détail et la forme mutante correspondante (appelée SMCXmut) a été produite, purifiée et incubée avec des peptides tri-méthylés. Après leur incubation avec SMCX ou SMCXmut, les peptides ont été analysés en spectrométrie de masse. Les résultats de ces analyses sont montrés dans le tableau 1. Une éventuelle variation de masse des peptides est indiquée par un signe - ou un signe +, suivant que, respectivement, la masse diminue ou augmente.

Tableau 1

Type de peptide	H3K4	H3K9	H3K27	H3K36	H4K20
Mono-méthyl peptide + SMCX	pm	pm	pm	pm	pm
Di-méthyl peptide +SMCX	-14Da	pm	pm	pm	pm
Tri-méthyl-peptide + SMCX	-14 Da	pm	pm	pm	pm
Tri-méthyl-peptide + SMCXmut	pm	pm	pm	pm	pm

t

pm = pas de modification

Da = dalton

Question 17. Les résultats du tableau 1 suggèrent que :

- A- SMCX est une histone méthyle transférase;**
- B- SMCX désacétyle la lysine 27 de l'histone H3;**
- C- SMCX déméthyle la cytosine 4 de l'histone H3;**
- D- SMCX permet de convertir le peptide H3K4 tri-méthylé en peptide non-méthylé;**
- E- SMCXmut est une forme avec gain de fonction.**

Des neurones de rat nouveau-nés ont été mis en culture primaire. Ils ont ensuite été transfectés avec un ARN qui inhibe l'expression de SMCX ou de la protéine de méduse GFP. Dans les deux types de transfection, la survie des neurones n'est pas modifiée. Par contre, seule la transfection avec l'ARN anti-SMCX entraîne une diminution du nombre de dendrites. Les mêmes transfections ont été conduites dans des neurones surexprimant la protéine anti-apoptotique Bcl-x1 et des résultats identiques concernant la survie et le nombre de dendrite ont été obtenus.

Question 18. Ces résultats suggèrent que :

- A- SMCX induit l'apoptose neuronale;**
- B- la diminution du nombre de dendrite résulte d'une augmentation de l'apoptose des neurones;**
- C- SMCX diminue la taille des axones;**
- D- SMCX joue un rôle dans la morphogenèse des dendrites;**
- E- la GFP régule l'expression de SMCX.**

Question 19. L'ensemble de ces résultats ne permet pas d'exclure que :

- A- la diminution du nombre de dendrite est causée par une histone acétyltransférase;**
- B- SMCX est une protéine kinase;**
- C- SMCX est cytoplasmique;**
- D- SMCX interagit avec H3K9;**
- E- SMCX est exprimée dans des cellules hépatiques.**

Question 20. Propositions concernant les régulations épigénétiques :

- A- toutes les cellules d'un même individu contiennent un épigénome identique;**
- B- la séquence de l'ADN du génome contient toutes les informations héritables d'une cellule animale;**
- C- la méthylation du promoteur d'un gène entraîne généralement la répression de l'expression du gène correspondant;**
- D- les éléments insulateurs segmentent les chromosomes en domaines de régulation;**

E- l'empreinte parentale conduit à une expression biallélique d'un nombre restreint de gènes du génome humain.

Question 21 : Propositions sur les cellules souches:

- A. Toutes les cellules souches adultes sont totipotentes.**
- B. Les cellules pluripotentes peuvent reconstituer un tissu.**
- C. Le potentiel de différenciation des cellules souches adultes est plus important que celui des cellules souches embryonnaires.**
- D. Jusqu'au stade morula, les cellules sont totipotentes.**
- E. Les cellules souches de l'épiderme sont unipotentes.**

Question 22 :

- A. La technique de Southern-blot permet d'évaluer le niveau de transcription d'un gène**
- B. La technique de Northern-blot permet d'évaluer le niveau de traduction d'un ARNm**
- C. La technique de Western-blot permet de visualiser des protéines spécifiques ;**
- D. La technique de Northern-blot nécessite l'utilisation d'anticorps dirigés contre la protéine étudiée;**
- E. La technique du Western-blot permet de visualiser des complexes entre protéine et ADN.**