

La voie des MAP kinases est une voie mitogène impliquant les oncogènes RAS et RAF.

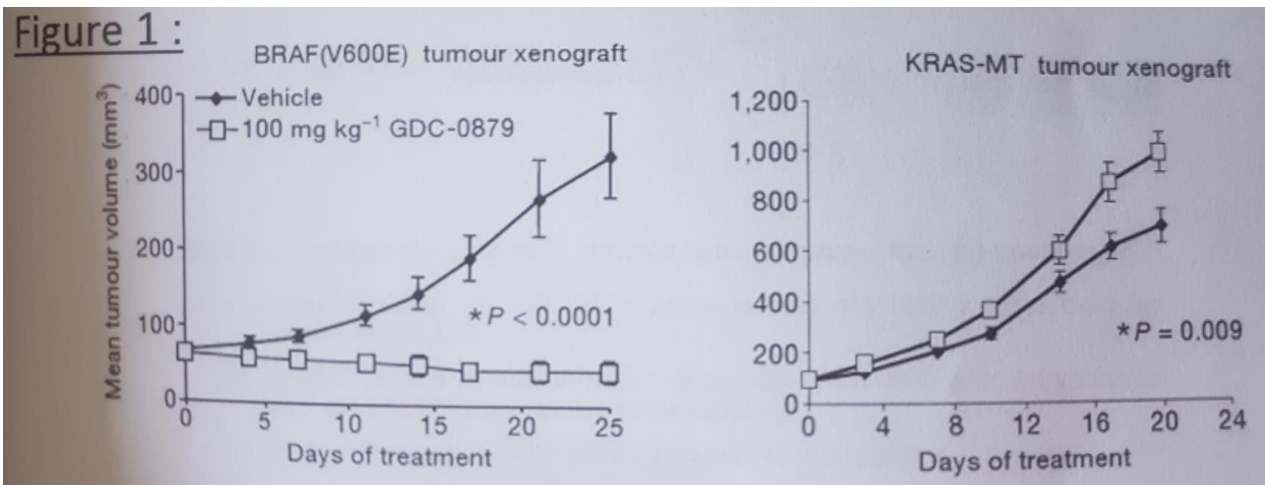
Des mutations activatrices de K-RAS (KRAS-MT mutation activant constitutivement l'isoforme K de l'oncogène RAS) et de B-RAF (BRAF(V600E) : mutation activant constitutivement l'isoforme B de l'oncogène RAF) sont présentes respectivement dans 30% des tumeurs humaines et 40% des mélanomes,

Des inhibiteurs de RAF sont une piste thérapeutique pour les chercheurs.

Les inhibiteurs de RAF donnent cependant des résultats contradictoires concernant la croissance tumorale.

Ainsi, dans la Figure 1, l'effet de l'inhibiteur de RAF nommé GDC-0879 sur la croissance tumorale est testé dans des expériences de xéno greffes chez la souris de 2 lignées cellulaires portant respectivement les mutations BRAF(V600E) ou KRAS-MT.

NB : Vehicle = solvant de l'inhibiteur seulement (témoin) ; Tumor xenograft = xéno greffe tumorale ; Days of treatment = jours de traitement.

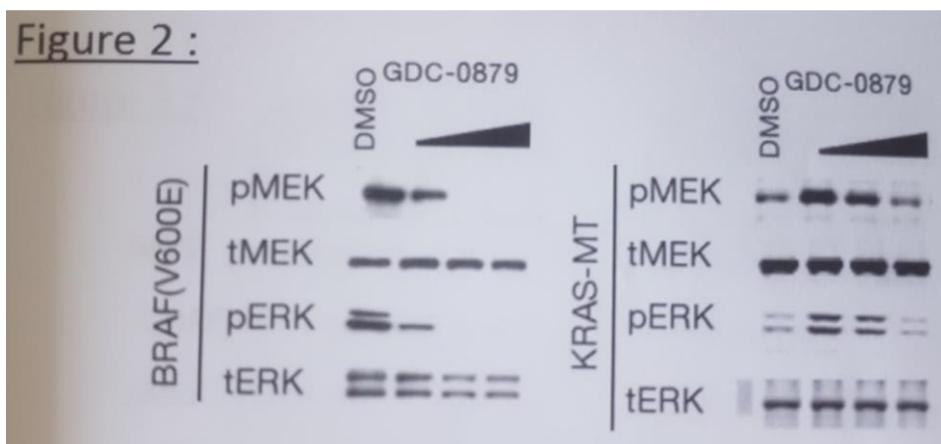


QCM 1 : A propos de la Figure 1, donnez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Ces résultats montrent que le solvant (Vehicle) favorise la croissance tumorale.
- B) Ces résultats montrent que le GDC-0879 favorise la croissance tumorale des cellules KRAS-MT.
- C) Ces résultats montrent que le GDC-0879 défavorise la croissance tumorale quelle que soit la mutation considérée.
- D) Le GDC-0879 semble être une piste thérapeutique intéressante pour les cancers portant la mutation BRAF(V600E).
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

On soumet les 2 lignées mutantes en culture à 1 heure de traitement avec le solvant (DMSO) ou 3 doses croissantes de l'inhibiteur de RAF GDC-0879 avant de lyser et de réaliser un immunoblot (Western Blot) détectant les quantités totales (t) ou phosphorylées (p) des protéines MEK et ERK (appartenant aussi à la voie des MAP kinases).

Les résultats sont figurés dans la Figure 2.

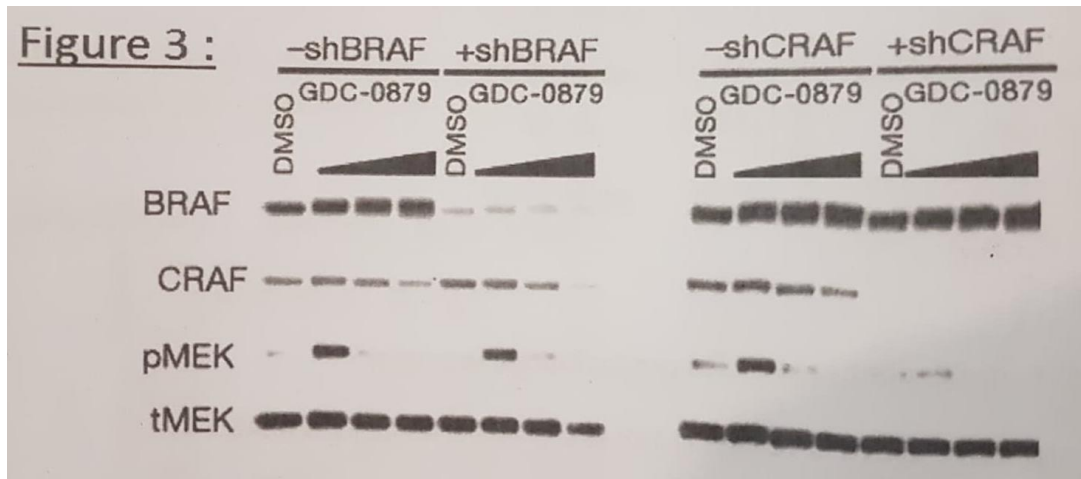


QCM 2 : A propos de la Figure 2, donnez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) A faibles doses, le GDC-0879 active la voie des MAP kinases dans les cellules KRAS-MT.
- B) Le GDC-0879 a un effet inhibiteur dose-dépendant de la phosphorylation de MEK et ERK dans les cellules BRAF(V600E).
- C) On en déduit que le GDC-0879 a une activité phosphatase.
- D) Les quantités totales de MEK et ERK ne varient pas au cours de l'expérience, on en déduit donc que la voie des MAP kinases n'est pas impliquée.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

Dans une lignée cellulaire KRAS-MT seulement, on réalise la même expérience mais dans des contextes de réduction par interférence ARN (un shRNA est une molécule d'ARN double brin par repliement en épingle) de l'expression des isoformes B ou C de RAF (notés BRAF ou B-RAF et CRAF ou C-RAF dans la suite des expériences).

« +shBRAF » indique qu'on cible spécifiquement l'expression de l'isoforme B de RAF avec un vecteur exprimant un shRNA et « -shBRAF » indique que l'on utilise le vecteur témoin négatif qui n'a pas de cible spécifique.



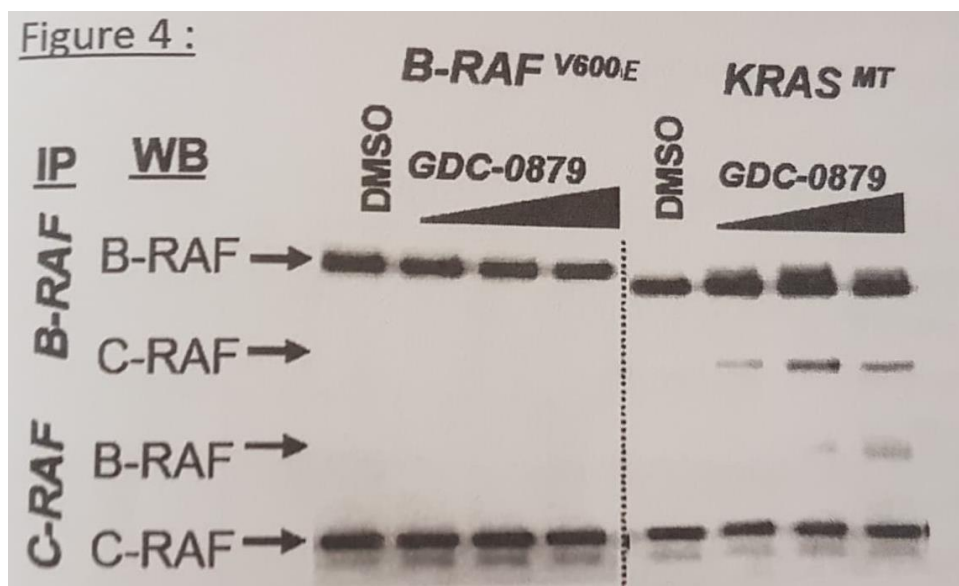
QCM 3 : A propos de la Figure 3, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les détections de BRAF et de CRAF permettent ici de vérifier l'efficacité et la spécificité des shRNA.
- B) Ces résultats montrent que BRAF est nécessaire à l'effet activateur de faibles doses de GDC-0879 dans les cellules KRAS-MT.
- C) Ces résultats montrent que l'effet activateur de faibles doses de GDC-0879 dans les cellules KRAS-MT est dépendant de CRAF.
- D) L'utilisation de l'interférence ARN a induit la dégradation spécifique par le complexe RISC des protéines issues du gène cible.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

Dans les 2 lignées mutantes traitées avec le GDC-0879, on réalise maintenant des immunoprécipitations en conditions non dénaturantes (IP, les cibles des anticorps utilisés sont indiquées en-dessous) de BRAF ou de CRAF.

Les fractions précipitées sont ensuite analysées par immunoblot (WB, les cibles des anticorps sont indiquées en-dessous).

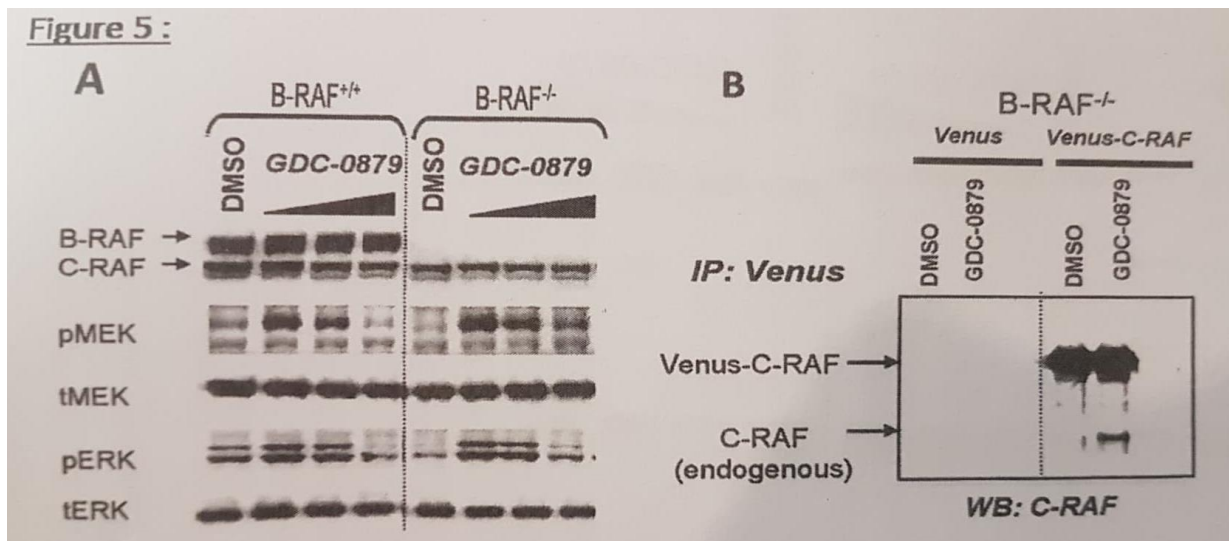
La figure 4 en présente les résultats.



QCM 4 : A propos de la Figure 4, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les résultats suggèrent que les cellules B-RAF(V600E) n'expriment pas BRAF et CRAF en même temps.
- B) Dans la fraction immunoprécipitée par l'anticorps dirigé contre BRAF, la détection par immunoblot de BRAF sert de témoin de charge et de témoin d'efficacité de l'immunoprécipitation.
- C) Ces résultats suggèrent que BRAF et CRAF interagissent et forment des hétérodimères dans les cellules KRAS-MT traitées au GDC-0879.
- D) Ces résultats montrent que dans les cellules B-RAF(V600E) BRAF et CRAF sont sous formes d'homodimères uniquement.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

On étudie à présent par immunoblot les niveaux d'expression de ces protéines au cours du traitement par les inhibiteurs de RAF dans deux lignées cellulaires KRAS-MT, la seconde présentant une délétion des allèles de B-RAF (Figure 5A). On réalise dans celle-ci la surexpression de la protéine fluorescente Venus ou de sa fusion traductionnelle avec C-RAF (Venus-C-RAF) et, après traitement par les inhibiteurs de RAF, une immunoprécipitation des protéines liées à Venus et leur analyse par immunoblot sont pratiquées avec un anticorps spécifique de C-RAF (Figure 5B). (NB : C-RAF (endogenous) = protéine C-RAF non modifiée endogène)



QCM 5 : A propos de la Figure 5, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les résultats de la figure 5A montrent que l'effet du GDC-0879 sur la voie des MAP kinases dans les cellules KRAS-MT est indépendant de B-RAF.
- B) Les résultats de la partie gauche de la figure 5B permettent d'exclure l'hypothèse d'une interaction non spécifique entre Venus et B-RAF.
- C) Les résultats de la figure 5B montrent que le GDC-0879 permet l'expression de la forme endogène de C-RAF.
- D) Les résultats de la figure 5B suggèrent que le GDC-0879 favorise la formation d'homodimères de C-RAF.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

Des expériences de double immunofluorescence ont été conduites avec des anticorps primaires de souris dirigés contre la protéine TRF2 et des anticorps primaires de lapin dirigés contre la protéine Myc.

QCM 6 : Parmi ces propositions concernant ce type de marquage fluorescent, quelle(s) est (sont) celle(s) qui est (sont) exacte(s) pour visualiser séparément dans les mêmes cellules les deux anticorps primaires ?

- A) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à de la fluorescéine et des anticorps de rat anti-immunoglobuline de souris couplés à de la rhodamine.
- B) Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de lapin couplés à de la fluorescéine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de cheval couplés à de la fluorescéine.
- C) Anticorps de souris anti-immunoglobuline de lapin couplés à de la rhodamine et des anticorps de lapin anti-immunoglobuline de souris couplés à de la fluorescéine.
- D) Anticorps de cheval anti-immunoglobuline de lapin couplés à de la rhodamine et des anticorps de chèvre anti-immunoglobuline de souris couplés à de la fluorescéine.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 7 : Parmi les propositions suivantes concernant le trafic cellulaire, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les lysosomes forment un compartiment qui contient des hydrolases fonctionnant à pH basique.
- B) L'endocytose par récepteur interposé est un mode d'endocytose spécifique.
- C) Le réticulum endoplasmique granulaire est le lieu de synthèse des protéines secrétées.
- D) Le protéasome sert à transférer les protéines dans la lumière du réticulum endoplasmique.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 8 : Parmi les propositions suivantes concernant la microscopie, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Afin de distinguer deux molécules fluorescentes, il faut nécessairement que leurs spectres d'excitation soient distincts.
- B) La microscopie à force atomique utilise une pointe afin de visualiser à l'échelle nanométrique la surface d'un échantillon biologique.
- C) La microscopie électronique en transmission permet de suivre des événements dynamiques dans les cellules humaines vivantes.
- D) La microscopie confocale permet de diminuer le bruit de fond généré par la diffusion de fluorescence à partir des plans non-focaux.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 9 : Parmi les propositions suivantes concernant la culture de fibroblastes primaires, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les fibroblastes de cultures primaires ne peuvent effectuer qu'un nombre limité de divisions même si on remplace souvent leur milieu de culture suppléments en facteurs de croissance.
- B) Contrairement aux cellules humaines, les cellules de souris s'immortalisent spontanément assez fréquemment.
- C) On peut immortaliser des cultures primaires humaines en les traitant avec des virus oncogènes.
- D) Un inconvénient de travailler avec des cellules en culture est que l'on perd l'influence du contexte tissulaire.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 10 : Parmi les propositions suivantes concernant l'étude des mutants, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Une mutation récessive peut être complétée par un allèle sauvage.
- B) Une mutation dominante est nécessairement présente sur les deux allèles d'un organisme diploïde de phénotype mutant.
- C) L'avantage d'une mutation conditionnelle est de pouvoir contrôler le moment d'induction du phénotype mutant.
- D) L'avantage d'utiliser la levure *Saccharomyces cerevisiae* dans l'étude de mutations est que l'on peut en faire la culture à l'état haploïde comme à l'état diploïde.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 11 : Parmi les propositions suivantes concernant la chromatine, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) L'acétylation des histones provoque la décondensation de la chromatine par ajout d'un excès de charges positives qui induit leur répulsion électrostatique mutuelle.
- B) La méthylation des lysines de l'histone H3 est toujours associée à la répression de la transcription.
- C) Tous les nucléosomes sont fonctionnellement équivalents.
- D) La régulation de l'expression des gènes s'effectue de manière identique quelle que soit leur localisation dans le nucléoplasme.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 12 : Parmi les propositions suivantes concernant le cytosquelette, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les molécules de myosine sont nécessaires à la locomotion des fibroblastes.
- B) Le GTP est nécessaire au fonctionnement de la myosine.
- C) Les kinésines sont des moteurs spécifiques aux microfilaments.
- D) L'équilibre polymérisation-dépolymérisation des microfilaments est régulé par des protéines se fixant sur la tubuline.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 13 : Parmi les propositions suivantes concernant le cycle cellulaire, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les transitions entre les phases du cycle sont contrôlées par différents couples cycline-CDK.
- B) La transition G1-S nécessite de nombreux gènes activés par le facteur de transcription pRb.
- C) Les origines de réplication restent les mêmes au cours du développement.
- D) L'ubiquitinylation de pRb permet le passage de la phase G1 à la phase S.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 14 : Parmi les propositions suivantes concernant la mitose, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Les microtubules polaires maintiennent à distance les deux centrosomes qui constituent les pôles du fuseau mitotique.
- B) Le point de contrôle mitotique vérifie l'alignement des chromosomes à l'équateur du fuseau mitotique lors de l'anaphase.
- C) La migration des chromosomes à une chromatide vers les pôles du fuseau est uniquement dépendante de la dépolymérisation des microtubules.
- D) La cytokinèse est dépendante de la myosine.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.

QCM 15 : Parmi les propositions suivantes concernant l'apoptose et le cancer, indiquez la ou les proposition(s) exacte(s) ?

- A) Ras et pRb sont souvent mutés dans les cellules cancéreuses : ce sont donc des oncogènes.
- B) La perte de fonction d'un gène suppresseur de tumeur favorise le développement du cancer.
- C) Les cellules apoptotiques condensent et fragmentent leur chromatine.
- D) L'apoptose est un phénomène physiologique impliqué dans le développement.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses.