

DM Pré-Expérience TTR

Tutorat 2019-2020 : 5 QCMS- 4 Expériences de Biologie Cellulaire

Expérience n°1

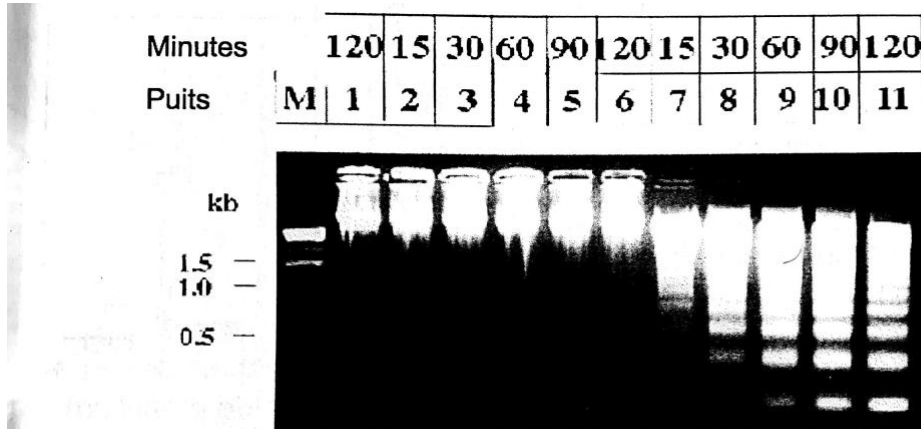


Figure 2

Expérience montrant un gel d'agarose après migration de l'ADN génomique. Les cellules des puits 1 et des puits 7-11 ont été traitées pendant des temps croissants (en minutes) par de la staurosporine, un antibiotique induisant l'apoptose.

Les cellules des puits 2-6 n'ont pas été traitées par la staurosporine.

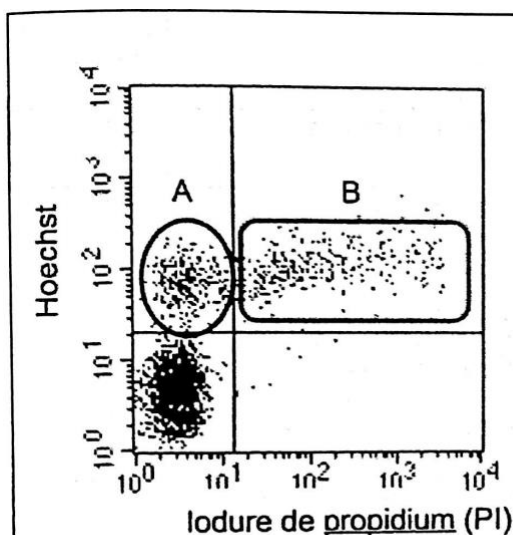
Dans l'expérience du puits 1, les cellules ont aussi été transfectées avec un ARN interférant (siRNA) dirigé contre l'ARNm du gène codant pour la caspase-3. M = marqueurs de poids moléculaires.

Figure 1

QCM 1 : Donnez la/les vraies concernant la figure 1 ci-dessus :

- A) Les résultats démontrent que l'apoptose est accompagnée par une dégradation de l'ADN génomique
- B) Les résultats démontrent que la caspase-3 est une nucléase (détruit l'ADN génomique)
- C) Les résultats démontrent que les nucléosomes ne sont pas détruits lors de l'apoptose
- D) Les résultats suggèrent que l'apoptose induit la réplication de l'ADN
- E) ABCD fausses

Expérience n°2



Expérience de cytométrie de flux où des cellules non perméabilisées sont traitées à l'iodure de propidium (PI) et par l'Hoechst, deux composés devenant fluorescent lorsqu'il est fixé à l'ADN. Contrairement à l'Hoechst, le PI est incapable de traverser la membrane plasmique.

La quantité de fluorescence incorporée par les cellules provenant du Hoechst et du PI est indiquée en ordonnée et en abscisse, respectivement. Chaque point est une cellule analysée.

QCM 2 : Donnez la/les vraies concernant la figure 2 ci-dessus :

- A) L'intégrité des membranes plasmiques des cellules en B est conservée
- B) Les cellules en A incorporent du Hoechst mais pas du PI
- C) Les cellules nécrotiques ne peuvent pas incorporer du PI
- D) Les cellules en A sont forcément mortes
- E) ABCD fausses

Expérience n.3

Un modèle murin de carcinogénèse hépatique consiste à transplanter dans le foie de souris des cellules progénitrices embryonnaires (hépatoblastes) qui ont été transduites in vitro par des vecteurs rétroviraux exprimant l'allèle oncogénique de la protéine Ras (RasV12) et un ARN interférant inhibant l'expression du gène p53 (shp53).

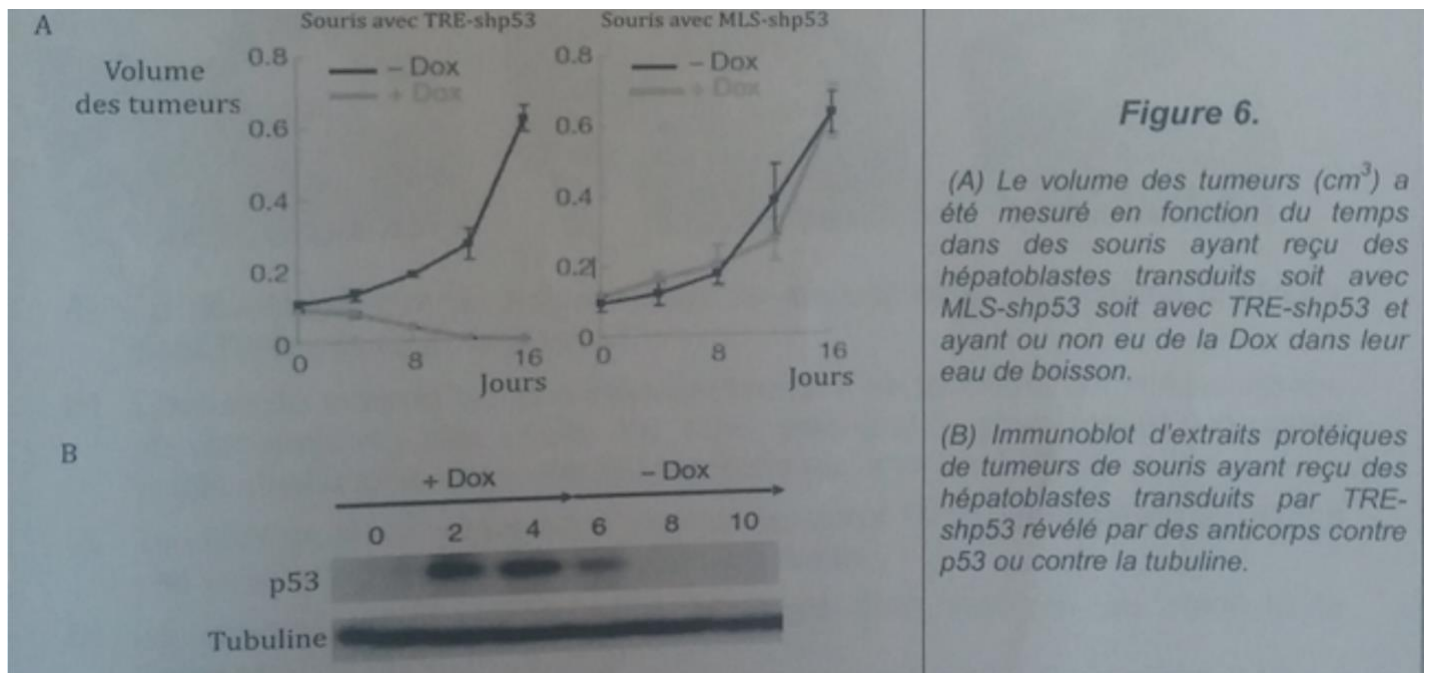
Dans un type de vecteur (TRE-shp53), l'expression de l'ARN interférant shp53 est réprimée par ajout de doxycycline (Dox) dans l'eau de boisson des souris.

Dans l'autre type de vecteur (MLSshp53) l'expression du shp53 est constitutive et ne dépend pas de Dox.

Après transplantation des hépatoblastes transduits soit avec TRE-shp53 ou avec MLSshp53 des hépatocarcinomes invasifs sont rapidement formés.

Dès que ces tumeurs apparaissent, les souris sont divisées en deux groupes : celles qui boivent de l'eau sans Dox et celles qui boivent de l'eau avec Dox (jour 0).

Au cours du temps, le volume des tumeurs (en cm³) et l'expression tumorale de la protéine p53 (par la technique de l'immunoblot) sont mesurés. Les résultats sont montrés à la figure 6



QCM 3 : Laquelle ou lesquelles de ces conclusions est (sont) démontrée(s) par les résultats de la figure 6 ci-dessus?

- A) p53 doit être surexprimé pour la formation d'un hépatocarcinome
- B) L'absence de p53 est nécessaire pour initier la formation d'un hépatocarcinome mais n'est pas nécessaire pour la progression de la tumeur
- C) Inactiver p53 diminue la taille des tumeurs
- D) Dox est une molécule pouvant avoir un intérêt thérapeutique contre les hépatocarcinomes
- E) ABCD fausses

Expérience n°4

Le gène TSPYL5 fait partie d'une région du chromosome 8 fréquemment impliqué dans le cancer du sein.

Sa fonction reste inconnue mais sa surexpression est un marqueur de mauvais pronostic vis-à-vis de la progression de la maladie.

Une analyse par spectrométrie de masse après immunoprécipitation de la protéine TSPYL5 a révélé qu'elle interagit avec la protéine USP7.

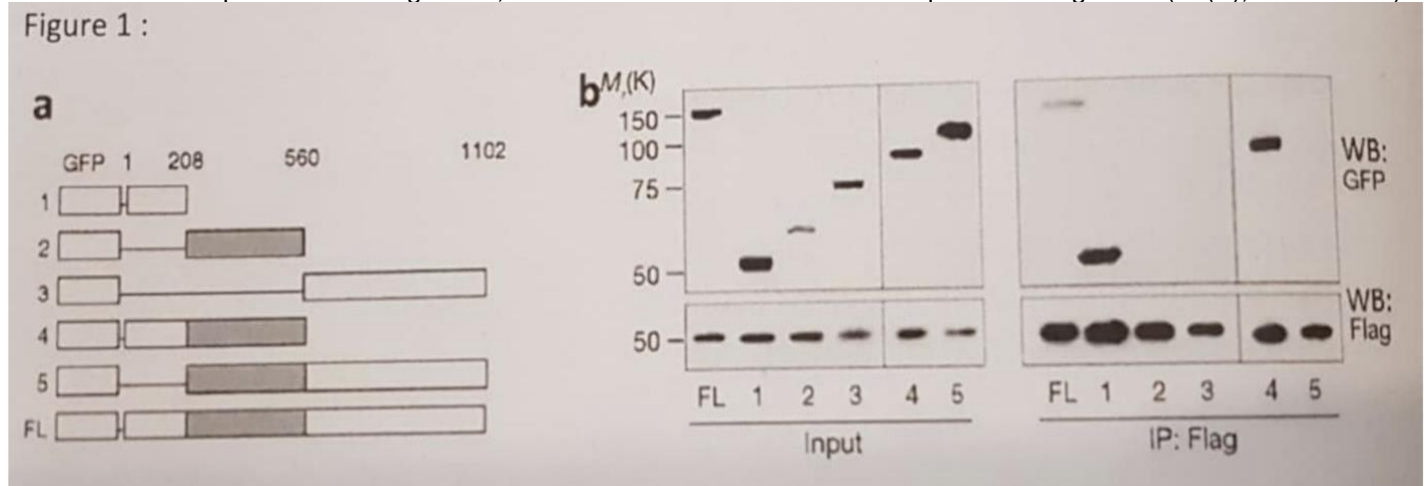
USP7 est une protéase de 1102 acides aminés qui hydrolyse l'ubiquitine (« déubiquitinase ») sur de nombreuses cibles limitant ainsi leur destruction par le protéasome.

Afin de préciser la nature de l'interaction entre TSPYL5 et USP7 ainsi que son rôle, les chercheurs réalisent des protéines de fusion entre la GFP et tout (FL) ou fragments (1 à 5) de USP7 (Figure 1a, la position des acides aminés est indiquée en haut) qu'ils co-expriment chacune dans une lignée de cellules humaines avec une seconde protéine de fusion entre l'étiquette Flag et TSPYL5 (Flag-TSPYL5).

Des extraits cellulaires sont alors préparés et on réalise une immunoprécipitation (IP) avec des anticorps anti-Flag.

Les extraits d'origine (Input) ainsi que les immunoprécipitats (IP : Flag) sont ensuite analysés par immunoblot (WB) avec des anticorps anti-GFP ou anti-Flag.

Les résultats sont présentés en Figure 1b, les masses moléculaires étant indiquées sur la gauche (Mr(K), en kdaltons).



QCM 4 : À propos de la figure 1 ci-dessus, indiquez la ou les propositions(s) exacte(s) ?

- A) Toutes les combinaisons possibles des 3 domaines de USP7 indiquées en figure 1a ont été réalisées en fusion avec la GFP.
- B) La partie gauche de la figure 1b permet de vérifier les niveaux d'expression des différentes protéines de fusion dans l'Input.
- C) La partie droite de la figure 1b permet de déterminer quelles protéines de fusion ne s'expriment pas en présence de Flag-TSPYL5.
- D) L'utilisation de la protéine FL sert de témoin positif dans l'expérience en figure 1b.
- E) ABCD fausses

QCM 5 : À propos de la figure 1 ci-dessus, indiquez la ou les propositions(s) exacte(s) ?

- A) La figure 1b montre que seules les protéines de fusion comportant le domaine 1-208 ne sont pas dégradées.
- B) La figure 1b montre que le domaine 208-560 est nécessaire à l'expression des protéines de fusion.
- C) La figure 1b montre que le domaine 1-208 est nécessaire et suffisant à l'interaction d'USP7 et TSPYL5.
- D) Les résultats de la figure 1b n'excluent pas que le domaine 560-1102 puisse avoir un rôle modulateur de l'interaction entre TSPYL5 et USP7.
- E) ABCD fausses

Courage <3