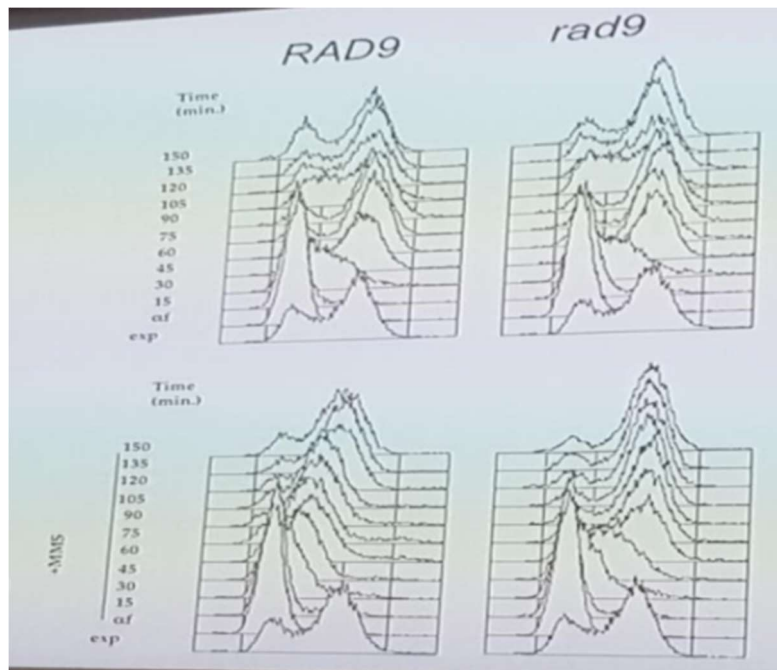


### Expérience 1 :

Nous étudions 2 colonies de cellules, la première est une colonie de cellules où le gène RAD 9 est sauvage (RAD9). La seconde colonie (rad9) est mutée pour ce gène. Nous avons regardé l'évolution de la quantité de fluorescence dans les cellules (en abscisse) en fonction du temps (en ordonnées) avant et après avoir traité ces colonies avec un agent alkylant, le MMS. Un agent alkylant rajoute un résidu alkyl sur l'ADN, empêchant la progression de la fourche de réplication durant la phase S, bloquant la cellule. Il faut savoir que la quantité d'ADN varie en fonction de la phase du cycle cellulaire dans laquelle on se situe, nous avons nADN en G1 et 2nADN en G2, en effet c'est durant la phase de réplication que l'ADN se duplique et donc que la quantité double.

Cellules en l'absence de MMS



Cellules en présence de MMS

**QCM 1** : A propos de l'expérience proposée, on peut dire que :

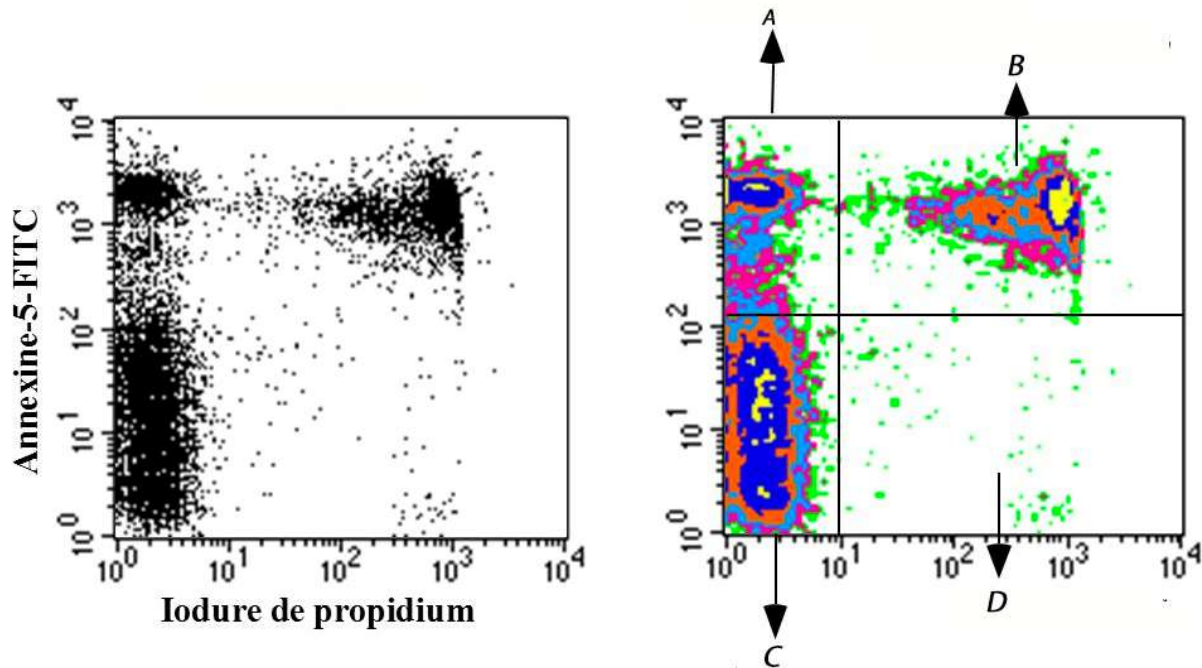
- A) Sans MMS, les deux colonies de cellules (mutée ou non) ont le même comportement.
- B) Après traitement, les deux colonies de cellules (mutée ou non) ont le même comportement.
- C) Les cellules sauvages, avec et sans MMS ont le même comportement.
- D) Les cellules mutées, avec et sans MMS ont le même comportement.
- E) Les réponses A, B, C, et D sont fausses.

**QCM 2** : A propos de l'expérience proposée :

- A) On déduit qu'à t=75min, la colonie mutée exposée au MMS est morte.
- B) La colonie sauvage traitée au MMS a une courbe anormale, on peut conclure que la cellule a des gènes mutés.
- C) Les cellules sauvages font une pause avant de se dupliquer grâce au check-point.
- D) Les cellules mutées font une pause avant de se dupliquer grâce au check-point, donc le gène Rad9 n'est pas impliqué dans ce check-point.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses.

## Expérience 2 :

On a réalisé un double marquage puis une expérience de cytométrie de flux où des cellules non perméabilisées sont traitées à l'iodure de propidium et à l'annexine V, deux composés qui deviennent fluorescents une fois fixés à l'ADN. La quantité de fluorescence incorporée par les cellules provenant de l'annexine V et de l'iodure de propidium est indiquée respectivement en abscisse et en ordonnée. Chaque point correspond à une cellule analysée.



Figures : Résultat de l'expérience de cytométrie de flux ; les deux figures de gauche et de droite sont strictement identiques, celle de droite étant juste divisée de sorte à reconnaître les différents types de cellules.

### Aides à la résolution :

- ✓ L'iodure de propidium ne peut pas traverser la membrane plasmique.
- ✓ La nécrose est caractérisée par un gonflement de la cellule puis son explosion ce qui mène à la rupture de la membrane plasmique et à la libération de son contenu.
- ✓ L'apoptose est caractérisée par une condensation de la cellule, ainsi qu'une externalisation de la phosphatidylsérine (PS).

### QCM 3 : A propos de l'expérience proposée : (Attention item E)

- A) Les cellules en A sont nécrotiques.
- B) L'intégralité des membranes plasmiques des cellules en B est conservée.
- C) Les cellules en B sont alors apoptotiques.
- D) L'annexine va se fixer sur les cellules apoptotiques et nécrotiques.
- E) Les cellules en C sont intactes.

### Expérience 3 :

Les syndromes cancéreux familiaux causent une augmentation du risque pour des types spécifiques de cancer. Ils ne représentent que 5-10% de tous les cancers, mais dans certains cas, ils peuvent permettre de comprendre les mécanismes généraux de la carcinogenèse.

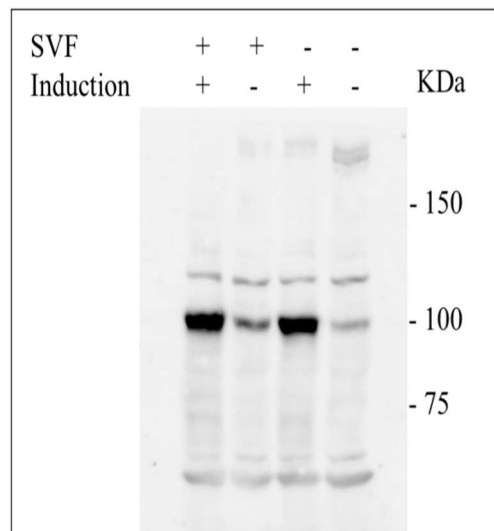
Les néoplasies endocriniennes multiples (NEM) sont des syndromes héréditaires rares et complexes, résultant de l'activation ou inactivation de différents gènes impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire. Les principales NEM sont celles de type 1 (NEM1) et 2 (NEM2), le syndrome de von Hippel- Lindau, la neurofibromatose type 1 et le complexe de Carney, classées selon les glandes affectées.

Le gène *MEN1* code pour, au moins, une protéine de 610 acides aminés, la Menin.

Les fonctions attribuées à la Menin (régulation de la transcription, réplication et/ou réparation de l'ADN et contrôle de la progression du cycle cellulaire) sont cohérentes avec sa localisation majoritairement nucléaire, bien qu'il semble que la Menin puisse migrer entre le noyau et le cytoplasme. Par contre, il y a peu d'information concernant la structure de la Menin et ses activités biochimiques.

Pour pouvoir explorer la relation entre fonction et structure de la Menin, nous avons décidé de produire cette protéine dans trois systèmes différents : un système eucaryote en cellules S2 de drosophile, un système procaryote dans *E.coli* et en alternative, la production de TAT-Menin dans *E.coli*.

Les résultats sont obtenus par Western Blot, en utilisant un anticorps anti-Menin M23C reconnaissant les 23 aminoacides C-terminaux de la protéine. Différentes conditions ont été essayées : temps de transfection, temps d'induction, métaux lourds utilisés et milieu de culture supplémenté ou non de SVF. La Menin est produite comme une protéine de fusion contenant la fraction Fc d'une immunoglobuline.



**Figure 21.** Expression de Menin dans les cellules S2. Ici, la condition la plus favorable a été obtenue après 5h de transfection et une induction pendant 48h, en utilisant 1mM de CuSO<sub>4</sub>.

**QCM 4 :** D'après la figure 21, on peut dire que :

- A) Après induction, les résultats suggèrent que SVF forme des fragments de 100KDa.
- B) La figure suggère que le Menin a un poids moléculaire de 100KDa.
- C) La figure démontre qu'il n'y a pas d'induction après ajout de SVF.
- D) La figure démontre qu'il y a une forte induction après ajout de SVF.
- E) Aucune des réponses n'est correcte.

### Expérience 4 :

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

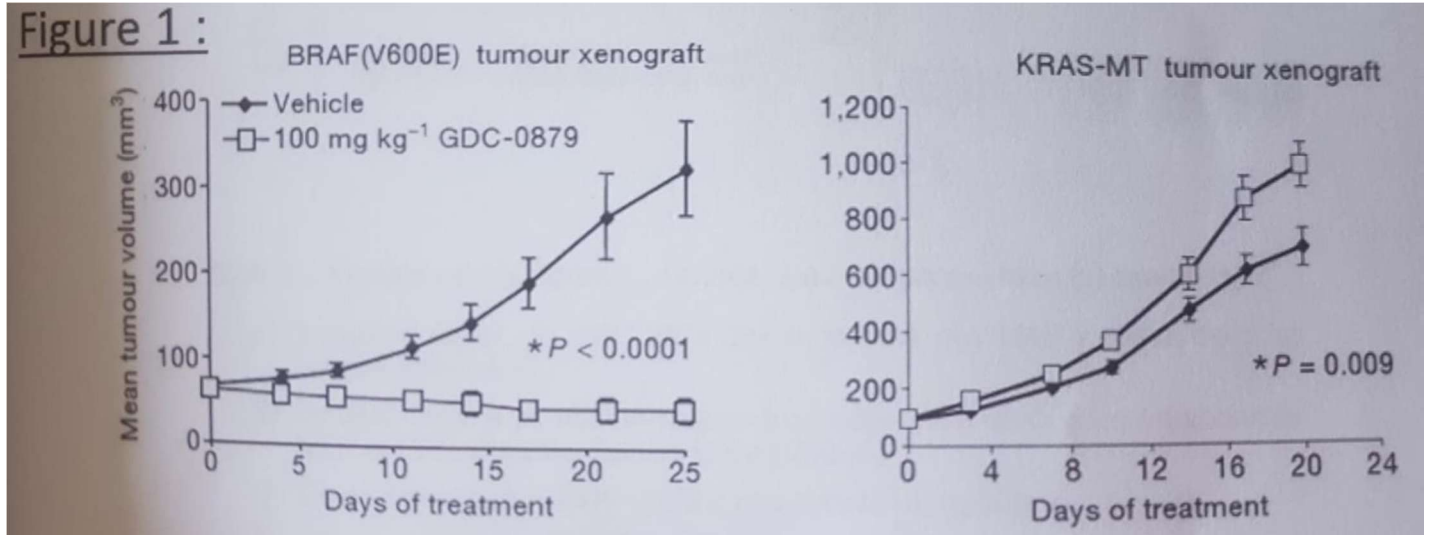
Des mutations activatrices de K-RAS (KRAS-MT mutation activant constitutivement l'isoforme K de l'oncogène RAS) et de B-RAF (BRAF(V600E) : mutation activant constitutivement l'isoforme B de l'oncogène RAF) sont présentes respectivement dans 30% des tumeurs humaines et 40% des mélanomes.

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 xénogreffes chez la souris de 2 lignées cellulaires portant respectivement les mutations BRAF(V600E) ou KRAS-MT.

NB : Vehicle = solvant de l'inhibiteur seulement (témoin) ; Tumeur xenograft = xénogreffe tumorale ; Days of treatment =



jours de traitement.

#### **QCM 5 : A propos de la Figure 1, donnez la ou les proposition(s) exacte(s) ?**

- A) Ces résultats suggèrent que le solvant (Vehicle) favorise la croissance tumorale.
- B) Ces résultats suggèrent que le GDC-0879 favorise la croissance tumorale des cellules KRAS-MT.
- C) Ces résultats démontrent 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.

*C'est terminé pour ce premier DM d'expériences, si vous avez trouvé ça un peu difficile c'est normal au début ! Sinon, vous êtes des champions ! Quel que soit votre cas, bravo à vous ! On espère avoir échauffés vos méninges, rendez-vous pour la séance d'application pour corriger tout ça ainsi que pour poser vos questions !!*

*Gilsonesquement vôtre,*

*Vos tutrices de Biocell' <3*