

ANNEE D' ETUDES : P.C.E.M. 1

EPREUVE DE MAI

EPREUVE DE : BIOLOGIE CELLULAIRE

Date : Mardi 30 mai 2006

Heure : de 09H30 à 11H00

Enseignant Responsable : Professeur Eric GILSON

TYPE D' EPREUVE : **QCM**

Durée de l'épreuve : 1 Heure et 30 minutes

Coefficient / Notation : S/10

Le fascicule comporte 15 pages, numérotées de la page 1 à 15  
(Dernière page numérotée 15 blanche)

Nom du candidat : .....

Prénom : .....

Numéro de place : .....

SIGNATURE

INSTRUCTIONS POUR L'EPREUVE

Usage de la calculatrice  oui  
 non

1. Les questions QCM sont sans patron de réponses. Chaque question comporte cinq propositions.
2. **Vous devez cocher sur la grille de réponse uniquement les propositions exactes (de 0 à 5 possibilités par question).**
3. Toute marque qui apparaît en dehors des emplacements qui vous sont réservés peut motiver un zéro à votre épreuve.
4. Communications : depuis l'instant où vous aurez reçu votre cahier d'épreuves jusqu'à celui où vous aurez rendu la grille de réponse optique, **toute communication est interdite** quel qu'en soit le prétexte ou la nature. En cas de besoin, adressez-vous exclusivement aux surveillants présents dans la salle.
5. Rendre le fascicule des questions avec la fiche-réponse

**Attention !**

Vos réponses portées sur la grille de réponse QCM seront lues par un procédé optique qui implique obligatoirement que les cases correspondantes soient franchement et entièrement noircies et non pas seulement très légèrement ou partiellement crayonnées.

**Question 1.** La grippe est une maladie épidémique qui se développe, en France, sous un mode annuel hivernal. La maladie est due à un virus de la famille des orthomyxoviridae. C'est un virus à ARN monocaténaire segmenté à polarité négative. C'est un virus enveloppé à symétrie hélicoïdale. Il existe un vaccin.

- A- L'enveloppe porte des glycoprotéines à sa surface. Celles-ci sont impliquées dans la phase d'attachement du virus à la cellule hôte.
- B- Le vaccin antigrippal doit sa spécificité aux antigènes constitués par les protéines de la capsid du virus.
- C- La segmentation est un facteur qui explique la variabilité du génome viral.
- D- La production d'exotoxine est le principal mécanisme responsable de l'expression clinique de la grippe.
- E- Le mode principal de contamination est un contact rapproché avec des oiseaux ou volailles infectés.

**Question 2.** Il existe 2 types de virus herpès simplex qui se distinguent par leur pouvoir pathogène, leur épidémiologie et par la localisation des manifestations cliniques. Ce sont des virus enveloppés à capsid icosaédrique et à ADN bicaténaire.

- A- Ce sont des virus résistants dans le milieu extérieur.
- B- Les unités de structure formant l'icosaèdre sont des capsomères.
- C- Les unités de structure s'empilent en colimaçon et l'acide nucléique est enroulé entre les spires.
- D- La fixation des virus sur les récepteurs cellulaires se fait par l'intermédiaire des protéines de la capsid.
- E- Ces virus peuvent être latents et des réactivations peuvent survenir plusieurs fois dans la vie d'un sujet.

**Question 3.** *Haemophilus influenzae* type b est un bacille à Gram négatif responsable de méningite du nourrisson et de l'enfant. C'est une bactérie capsulée et certaines souches sont résistantes aux bêta-lactamines.

- A- La capsule est un facteur de virulence.
- B - La capsule est de nature protéique.
- C- Les propriétés antigéniques de la capsule permettent son usage comme agent vaccinant.
- D- Il se distingue des bactéries à Gram positif par la structure de sa paroi qui apparaît homogène en microscopie électronique.
- E- Pour expliquer la résistance des souches de cette espèce aux bêta-lactamines, il faudra mettre en évidence une mutation sur un gène codant pour une protéine provoquant une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour celle-ci ou mettre en évidence la production bactérienne d'enzymes inactivants.

**Question 4** : Propositions concernant les récepteurs à activité tyrosine kinase.

- A- Leur activation passe par une étape de phosphorylation.
- B- Les composants du sérum, utilisé en culture cellulaire, peuvent activer ces récepteurs.
- C- Les protéines à domaines SH2 peuvent lier les résidus tyrosines phosphorylés des récepteurs activés.
- D- Ces récepteurs peuvent activer à la fois la voie des MAP-kinases et la voie des phosphoinositides.
- E- Les domaines intracellulaires de ces récepteurs se fixent à la molécule signalétique.

**Question 5** : Propositions concernant la protéine Ras.

- A- Ras est une protéine G couplée à certains récepteurs membranaires.
- B- L'activation de cette protéine passe par un facteur qui échange l'ADP lié à Ras contre un ATP.
- C- Le gène codant pour Ras est un gène suppresseur de tumeur car la délétion de ses deux allèles est fréquemment identifiée dans les cancers.
- D- Ras active directement les récepteurs à activité tyrosine kinase.
- E- Seuls les récepteurs à activité tyrosine kinase peuvent activer Ras.

Une culture primaire de kératinocytes d'origine humaine a été transfectée par un ADN permettant l'expression de formes mutantes de la protéine Ras (RasN17 et RasV12). Les mêmes cellules ont également été transfectées avec un ADN permettant la synthèse du produit du gène bactérien *LacZ*. Dans certaines expériences, les cellules sont mises en présence du facteur de croissance EGF ("Epidermal Growth Factor").

Le lendemain de la transfection, des extraits bruts ont été préparés à partir des cellules et incubés avec des billes de sépharose sur lesquelles ont été greffée la protéine Raf (appelées Raf-Seph). Les billes "contrôles" dépourvues de Raf sont appelées Seph. Après lavage, les billes ont été incubées avec un tampon contenant le détergent ionique SDS puis centrifugées. Les extraits et les surnageants ont ensuite été analysés par électrophorèse en gel de polyacrylamide dénaturant, transfert sur membrane et immunodétection (technique dite du "Western"). Les anticorps utilisés sont dirigés contre Ras et contre l'actine. Les résultats sont montrés sur la figure 1.

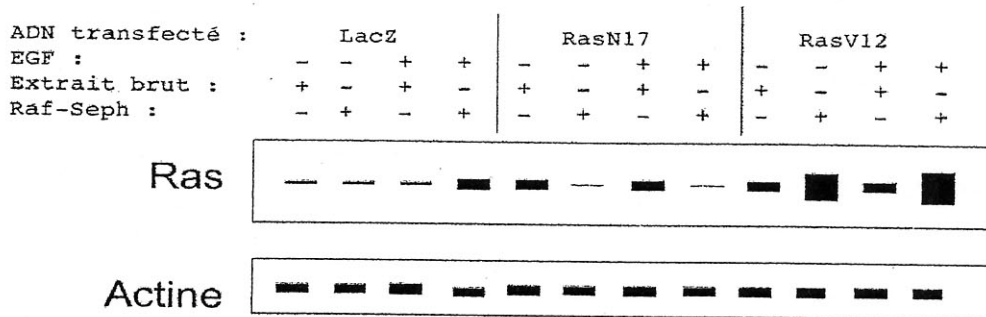


Figure 1 : Des kératinocytes primaires, traités ou non avec de l'EGF, ont été transfectés avec des vecteurs d'expression exprimant le gène bactérien *LacZ*, le gène *RasN17* ou le gène *RasV12*. Après 24 heures, un extrait protéique a été préparé (appelé extrait brut, colonnes marquées +) et incubé avec des billes Raf-Seph. Les protéines associées à ces billes après lavage ont été analysées (colonnes marquées +). Les protéines Ras et Actine ont été détectées grâce à des anticorps spécifiques après une expérience dite de "Western".

**Question 6.** Les résultats de la figure 1 montrent qu' EGF :

- A- induit la dépolymérisation de l'actine;
- B- induit l'expression de Ras dans les fibroblastes;
- C- induit l'expression de Raf dans les kératinocytes;
- D- inhibe la formation de complexes entre Ras et Raf;
- E- inhibe la division des kératinocytes.

**Question 7.** Les résultats de la Figure 1 montrent que l'expression de RasN17 :

- A- inhibe l'expression de Raf;
- B- inhibe l'activité de Ras;
- C- insensibilise les kératinocytes à l'action d'EGF;
- D- diminue la quantité de protéine Ras;
- E- s'accompagne de la formation de complexes entre Ras et RasN17.

**Question 8.** Les résultats de la Figure 1 montrent que l'expression de RasV12 :

- A- inhibe l'expression de Ras;
- B- active constitutivement Raf;
- C- coopère avec Raf pour inhiber l'expression de l'actine;
- D- active constitutivement la voie Akt;
- E- active la prolifération des kératinocytes.

Des lignées de souris transgéniques ont été obtenues après injection dans l'ovocyte d'un ADN comprenant soit le gène *RasV12* soit le gène *RasN17* fusionnés à la phase codante du gène *GFP*. Ces gènes, appelés *RasV12-GFP* et *RasN17-GFP*, sont placés sous le contrôle du promoteur K14 qui s'exprime dans les cellules basales indifférenciées de l'épiderme ou du promoteur HK1 qui s'exprime dans les cellules suprabasales différenciées de l'épiderme. Les caractéristiques de ces lignées sont décrites dans le tableau I.

**Question 9 : Propositions concernant cette expérience et les résultats du tableau I.**

**A- La technique utilisée est le Knock-In (KI) car le gène endogène codant pour Ras a été remplacé par le gène *RasV12-GFP* ou par *RasN17-GFP*.**

**B- Le nombre de transgènes qui se sont intégrés dans le génome a été déterminé en quantifiant les ARNm comprenant la séquence du gène *GFP*.**

**C- Les analyses du nombre de transgènes intégrés dans le génome auraient pu être réalisées sur des cellules isolées à partir du foie des souriceaux.**

**D- La détection de l'expression de la protéine GFP est possible en microscopie à phosphorescence.**

**E- L'expression de la GFP est découplée de celle du transgène.**

Tableau I

Transgène	Promoteur	Numéro de la lignée	Phénotype cutané	Viabilité	Nombre de transgènes intégrés dans le génome des souris	Expression de la GFP dans l'épiderme (d'une échelle allant de ++++ (très exprimée) à + (faiblement exprimée))
RasN17-GFP	K14	#41	Epiderme très aminci	Mort à la naissance	3	++++
RasN17-GFP	K14	#52	Epiderme aminci Nombreuses érosions cutanées Cicatrisation difficile	viable	50	++
RasN17-GFP	K14	#60	Epiderme très aminci	Mort à la naissance	6	++++
RasN17-GFP	K14	#57	Epiderme très aminci	Mort à la naissance	1	++++
RasN17-GFP	K14	#58	Quelques érosions cutanées Problèmes de cicatrisation	viable	17	+
RasN17-GFP	K14	#56	Epiderme aminci Nombreuses érosions cutanées Cicatrisation difficile	viable	4	++
RasN17-GFP	K14	#53	Epiderme très aminci	Mort à la naissance	6	++++
RasN17-GFP	K14	#54	Quelques érosions cutanées Problèmes de cicatrisation	viable	34	++
RasN17-GFP	K14	#55	Epiderme très aminci	Mort à la naissance	45	++++
RasN17-GFP	HK1	#4	Normal	viable	4	++
RasN17-GFP	HK1	#7	Normal	viable	7	+
RasN17-GFP	HK1	#14	Normal	viable	2	++++
RasN17-GFP	HK1	#19	Normal	viable	6	++
RasN17-GFP	HK1	#21	Normal	viable	9	++++
RasV12-GFP	K14	#1	Hyperplasie cutanée avec absence de différenciation des cellules basales	Mort des souris 3 jours après la naissance	9	++
RasV12-GFP	HK1	#2	Peau normale Développement de cancers cutanées après blessure	viable	10	+++

**Question 10.** Les résultats du tableau I :

- A- montrent que l'expression de la GFP dépend du nombre de transgènes intégrés dans le génome des souris;
- B- suggèrent que l'expression des transgènes est soumise à des effets de position chromosomique;
- C- suggèrent que, pour une lignée donnée, les transgènes sont intégrés à l'intérieur du même chromosome;
- D- excluent la possibilité d'une expression des transgènes dans l'épithélium intestinal;
- E- montrent que les promoteurs HK1 et K14 sont spécifiquement activés dans les cellules de l'épiderme.

La mort des cellules épithéliales par apoptose a été étudiée en comptant le nombre de cellules positives après un test TUNEL. Cependant aucune augmentation du nombre de cellules positives en TUNEL n'a pu être observée dans l'épiderme des animaux transgéniques exprimant l'allèle RasN17.

**Question 11.** Combinés à ceux de la figure 1 et du tableau I, ces résultats :

- A- montrent que Ras agit sur la balance homéostatique des cellules épithéliales;
- B- suggèrent que Ras agit préférentiellement sur la différenciation des cellules suprabasales;
- C- suggèrent que Ras stimule la prolifération de cellules basales de l'épiderme;
- D- montrent que Ras stimule le renouvellement des cellules épithéliales;
- E- suggèrent une corrélation positive entre l'inhibition de Ras dans les cellules basales et la mort des kératinocytes.

Des kératinocytes d'origine humaine ont été transfectés avec le gène déterminant la synthèse de l'antigène T du virus oncogène SV40 (appelé protéine LT). La protéine LT inhibe l'activité de la protéine p53 qui joue un rôle essentiel dans la réponse des cellules au stress en inhibant leur prolifération. Ces kératinocytes, ainsi que des kératinocytes contrôles qui n'expriment pas LT, ont ensuite été transfectés avec les gènes *LacZ*, *RasN17* ou *RasV12*, puis étalés à faible densité sur des boîtes de Pétri. Le pourcentage de microcolonies très faiblement prolifératives (inférieure à 32 cellules) est donné dans le tableau II.

Tableau II

% microcolonies	Kératinocytes contrôles	Kératinocytes LT
LacZ	12	14
RasN17	85	85
RasV12	90	12

**Question 12.** Les résultats de la Figure 1 et du tableau II :

A- suggèrent que Ras est impliqué dans les capacités prolifératives des kératinocytes;

B- montrent qu'une inhibition de Ras diminue la prolifération des kératinocytes;

C- suggèrent qu'une activation constitutive de Ras est ressentie comme un stress par les kératinocytes;

D- suggèrent que p53 protège les cellules contre une activation anormale de Ras;

E- suggèrent qu'une des propriétés oncogéniques de LT est de permettre la prolifération de cellules contenant une mutation constitutive de Ras.

Un allèle conditionnel de Ras a été généré par la construction *in vitro* d'un gène hybride codant pour une protéine de fusion entre la partie N-terminale du gène *Ras* et le domaine d'interaction avec le ligand du récepteur aux oestrogènes (ER). En présence de quantité croissante de 4-hydroxytamoxifène (4OHT), un ligand du récepteur aux oestrogènes, il a été étudié l'expression d'un marqueur de différenciation des kératinocytes (K1) et de la protéine MAPK phosphorylée et non phosphorylée (Figure 2).

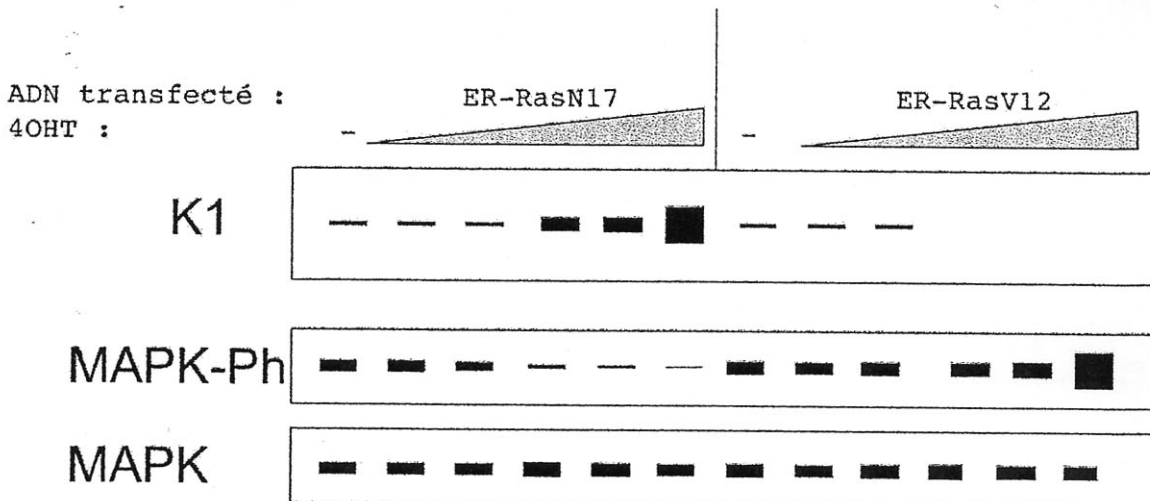


Figure 2 : Des kératinocytes primaires ont été transfectés avec des vecteurs d'expression exprimant le gène *ER-RasN17* ou le gène *ER-RasV12*. Après 24 heures, un extrait protéique a été préparé analysé par la technique du "Western" avec des anticorps spécifiques du marqueur de différenciation des kératinocytes appelé K1, de la protéine MAPK phosphorylée (MAPK-Ph) et de la protéine MAPK non phosphorylée.

**Question 13.** Les résultats de la figure 2 montrent que:

- A- le récepteur aux oestrogènes peut contrôler l'activité des protéines RasN17 et RasV12;
- B- le 4OHT stimule la prolifération des kératinocytes;
- C- l'expression conditionnelle de RasV12 inhibe la différenciation des kératinocytes;
- D- l'activation de RasN17 diminue l'expression de MAPK;
- E- l'inhibition de Ras induit la différenciation des kératinocytes.

L'action de Ras s'effectue par un contact direct avec les protéines initiateuses de trois voies effectrices : Raf pour la voie des MAP kinases, RalGDS pour la voie RalGEF et PI3K pour la voie Akt. Il existe des allèles de RasV12 qui n'activent qu'une de ces voies : RasV12C40, RasV12S35 et RasV12G37. Les conséquences de la transfection de ces gènes dans des kératinocytes primaires humains sur l'expression de différentes protéines cellulaires sont montrées sur la figure 3.

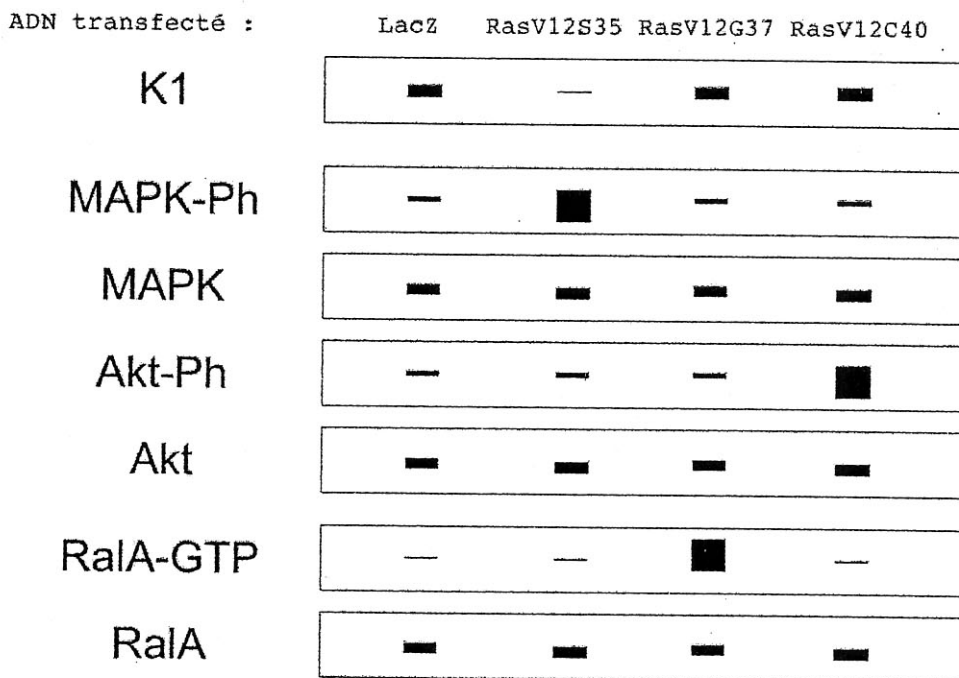


Figure 3 : Des kératinocytes primaires ont été transfectés avec des vecteurs d'expression exprimant les gènes LacZ, RasV12S35, RasV12G37 et RasV12C40. Après 24 heures, un extrait protéique a été préparé analysé par la technique du "Western" avec des anticorps spécifiques du marqueur de différenciation des kératinocytes appelé K1, de la protéine MAPK phosphorylée (MAPK-Ph) et non phosphorylée, d'Akt phosphorylée (Akt-Ph) et non phosphorylée et RalA. Pour mesurer la quantité de RalA-GTP, il a été procédé à une purification par affinité de RalA-GTP sur une colonne greffée avec RalBP1 suivie d'une immunodétection avec des anticorps anti-RalA.

**Question 14.** Les résultats de la figure 3 montrent que:

- A- l'allèle RasV12S35 active sélectivement la voie Akt;
- B- RasV12G37 augmente l'expression de RalA;
- C- l'activation de la voie Akt inhibe la différenciation des kératinocytes;
- D- l'expression de MAPK corrèle avec la différenciation des kératinocytes;
- E- MAPK active Akt.

**Question 15 :** Propositions concernant les propriétés acquises par les cellules cancéreuses.

- A- Prolifération en l'absence de facteur de croissance.**
- B- Résistance à l'apoptose.**
- C- Perte de la capacité à entrer en sénescence.**
- D- Inhibition de l'angiogenèse.**
- E- Aptitude à former des tumeurs lorsqu'on injecte ces cellules à une souris.**

Une lignée de cellules embryonnaires humaines d'origine rénale (appelée HEK) a été modifiée de manière à obtenir des cellules exprimant LT et la sous-unité catalytique de la télomérase (hTERT). Cette lignée est appelée HEK-TLT. Différents gènes, seuls ou en combinaison, ont été transfectés dans les cellules HEK-TLT. Il s'agit des différents allèles de Ras présentés précédemment mais aussi d'un allèle de Raf qui active constitutivement la voie des MAP kinases (Raf22W) et d'un allèle de PI3K qui active constitutivement la voie Akt (p110-CAAX). Le gène *ER-PTEN* correspond à la fusion du récepteur aux oestrogènes (ER) à la phase codante du gène *PTEN* dont le produit inhibe la voie PI3K-Akt. En absence de 4OHT, la protéine fusion n'est pas détectable et est incapable d'inhiber la voie PI3K. Par contre, l'activation de PI3K par Ras est inhibée en présence de 4OHT. Les cellules obtenues ont été injectées par voie sous-cutané dans des souris immunodéficientes. Le nombre de souris développant des tumeurs a ensuite été déterminé. Dans certaines expériences, les cellules ont été traitées avec du 4OHT avant leur injection et les souris ont reçues une dose quotidienne de 4OHT. Dans ces expériences, le traitement quotidien du 4OHT a été stoppé dès l'apparition d'une tumeur palpable. Les résultats sont montrés dans le Tableau III. Il faut noter que des cellules ont été isolées à partir de tumeurs exprimant ER-RasV12 et p110-CAAX après l'arrêt du traitement au 4OHT. Lorsque ces cellules sont injectées à nouveau dans une souris immunodéprimée, aucune tumeur ne se forme en absence de 4OHT.

Tableau III

Gène transfecté	Traitement des cellules et des souris au 4OHT	Nombre de souris injectées	Nombre de souris ayant développées une tumeur	Nombre de souris montrant une diminution du volume tumoral après l'arrêt du traitement au 4OHT.
LacZ	-	10	0	
RasV12	-	10	10	
RasV12C40	-	15	0	
RasV12C40 + RasV12S35	-	10	0	
RasV12S35	-	12	0	
RasV12G37	-	10	0	
RasV12G37 + Raf22W	-	10	8	
RasV12G37 + p110-CAAX	-	10	5	
RasV12G37 + Raf22W + p110-CAAX	-	12	12	
ER-RasV12	-	15	0	
ER-RasV12	+	10	10	10
ER-RasV12 + RasV12C40	+	16	16	0
Er-RasV12 + RasV12S35	+	10	10	10
Er-RasV12 + RasV12G37	+	10	10	10
ER-RasV12 + Raf22W	-	10	0	
ER-RasV12 + p110-CAAX	-	10	0	
ER-RasV12 + Raf22W	+	14	14	14
ER-RasV12 + p110-CAAX	+	10	10	0
RasV12 + ER-PTEN	-	10	10	
RasV12 + ER-PTEN	+	10	2	0

**Question 16.** Les résultats de la Figure 3 et du tableau III montrent :

A- que l'expression de LT et de la télomérase est suffisante pour transformer une cellule humaine normale en cellule tumorigène;

B- qu'il faut inhiber Ras dans les cellules HEK-TLT pour former une tumeur;

C- qu'une activation des trois voies effectrices de Ras est indispensable à la formation des tumeurs;

D- que la voie RafGEF peut coopérer avec la voie Akt pour rendre tumorigène une cellule HEK-TLT;

E- que l'activation de la voie RafGEF est suffisante pour transformer les cellules HEK-TLT en cellules tumorales.

**Question 17.** Les résultats de la Figure 3 et du tableau III :

- A- montrent que l'activation de la voie RalGEF est indispensable pour former une tumeur mais n'est pas nécessaire à sa maintenance;
- B- suggèrent qu'une tumeur, une fois formée, est dépendante de l'activation constitutive de Ras;
- C- montrent que l'activation de la voie RalGEF est nécessaire pour empêcher une tumeur de régresser;
- D- suggèrent que l'activation de la voie Akt est suffisante pour initier la formation d'une tumeur;
- E- sont compatibles avec l'hypothèse que l'expression de p110-CAAX rend l'activation de ER-RasV12 indépendante de 4OHT.

**Question 18.** Les résultats de la Figure 3 et du tableau III :

- A- montrent que l'inhibition de la voie PI3K empêche la prolifération des cellules tumorales;
- B- suggèrent que la formation et la maintenance des tumeurs ne dépendent pas des mêmes voies de signalisation;
- C- suggèrent que les tumeurs provenant des cellules HEK-TLT transfectées par RasV12 et ER-PTEN en présence de 4OHT correspondent à la sélection de cellules qui bloquent l'activation d'ER-PTEN par le 4OHT;
- D- ne permettent d'éliminer la possibilité que les cellules transfectées par ER-RasV12 et p110-CAAX, et qui forment des tumeurs en présence de 4OHT, ont acquises une mutation qui permettent la croissance tumorale en absence de RasV12;
- E- suggèrent que l'activation de PI3K est nécessaire pour maintenir la croissance des tumeurs déjà formées.

**Question 19.** Des souris immunodéprimées ont été injectées avec un mélange de deux types cellulaires : l'un exprimant HEK-TLT et RasV12, l'autre exprimant p110-CAAX et LacZ. Les tumeurs obtenues croissent beaucoup plus rapidement que des tumeurs provenant de l'injection d'un autre mélange de deux types cellulaires, l'un exprimant RasV12 et l'autre exprimant LacZ et Raf22W. Les tumeurs ont été excisées et des coupes ont été traitées avec du 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (X-gal) qui colore en bleu les cellules exprimant le produit du gène *LacZ*. Environ 30% des cellules des tumeurs provenant du mélange avec les cellules exprimant p110-CAAX sont bleues alors que seulement 1% des cellules des tumeurs provenant du mélange avec les cellules exprimant Raf22W sont bleues. Le nombre de cellules bleues trouvées dans les tumeurs exprimant p110-CAAX est significativement supérieur au nombre de cellules injectées. Enfin, les cellules exprimant LacZ ont été isolées des tumeurs et réinjectées dans des souris immunosupprimées. Aucune tumeur n'a été obtenue.

Cette expérience :

**A-** suggèrent l'existence d'une signalisation paracrine de PI3K dans les tumeurs provenant du mélange de cellules exprimant RasV12 et de cellules exprimant p110-CAAX;

**B-** ne permet pas d'éliminer l'hypothèse d'une activation des voies MAP kinases et RalGEF dans les tumeurs déjà formées;

**C-** suggèrent que l'expression de p110-CAAX dans les cellules HEK-TLT est suffisante pour induire la formation de tumeur;

**D-** permet d'éliminer la possibilité, qu'en absence de 4OHT, l'activité résiduelle d'ER-RasV12 est suffisante pour coopérer avec p110-CAAX et maintenir un certain niveau de croissance tumorale;

**E-** montrent qu'une activation autocrine de la voie PI3K-Akt est insuffisante pour permettre la croissance des tumeurs provenant des cellules HEK-TLT.

**Question 20.** Les tumeurs provenant des cellules transfectées avec ER-RasV12 et p110-CAAX ont été utilisées après l'arrêt du traitement au 4OHT pour préparer des extraits et analyser leur contenu en protéine. Il a ainsi été trouvé qu'Akt et la MAPK étaient phosphorylés et que le niveau de Ral1-GTP était élevé. Ces résultats montrent :

**A-** que l'activation de la voie des MAP kinases est importante pour la maintenance des tumeurs;

**B-** que la voie RalGEF est activée dans les tumeurs maintenue par la voie PI3K;

**C-** que l'activation d'Akt inhibe la voie des MAP kinase;

**D-** que pendant la croissance tumorale la voie RalGEF n'est pas importante;

**E-** qu'il existe une activation de la voie des MAP kinases dans les tumeurs qui sont indépendantes de Ras.

**Question 21.** Les cellules HEK-TLT exprimant RasV12 ont été transfectées avec le gène ER-MEKDN qui code pour une protéine fusion entre le récepteur des oestrogènes et un allèle dominant-négatif de la MAP kinase kinase MEK. En absence de 4OHT, cette protéine est exprimée très faiblement, l'empêchant d'inhiber la voie des MAP kinases. En présence de 4-OHT, cette protéine est exprimée abondamment et abolit la voie des MAP kinases. Ces cellules ont été injectées dans 8 souris immunodéprimées. Une fois les tumeurs formées, quatre souris ont reçu une dose quotidienne de 4OHT. Les tumeurs des souris non traitées au 4OHT continuent de croître tandis que la croissance des tumeurs des souris traitées est inhibée.

Cette expérience :

**A-** montre que l'activation de la voie des MAP kinase est dépendante de Ras;

**B-** suggère qu'Akt est sous le contrôle du 4OHT;

**C-** montre que l'activation de la voie des MAP kinases est requise pour la maintenance des tumeurs;

**D-** suggère que le 4OHT peut être utilisé en chimiothérapie anti-cancéreuse chez l'homme;

**E-** montre que la voie PI3K peut activer MEK.

**Question 22.** L'ensemble de ces expériences suggère :

- A-** que l'activation oncogénique de la voie PI3K-Akt est insuffisante pour permettre la croissance des tumeurs un fois qu'elles sont formées;
- B-** que les cellules cancéreuses peuvent perdre en partie leur dépendance à la version oncogénique de Ras;
- C-** que l'hétérogénéité cellulaire rencontrée dans de nombreuses tumeurs humaines provient de la croissance de cellules non cancéreuses mais qui ont activées la voie PI3K-Akt;
- D-** que la voie Akt est une cible de choix pour des chimiothérapies anti-cancéreuses;
- E-** que Ras doit activer les même voies de signalisation lors de la formation et de la maintenance des tumeurs.