

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

EPREUVE DE MAI

EPREUVE DE : BIOLOGIE CELLULAIRE

Date : Mardi 20 mai 2008

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

Fascicule « figures » de 12 pages + 1 feuille rose en fin de fascicule (figures n° 1 à 10).

Le fascicule « questions » comporte 9 pages, numérotées de la page 1 à 9 + 1 feuille bleue en fin de fascicule.

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**
6. Vous pouvez conserver le fascicule « figures »

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.

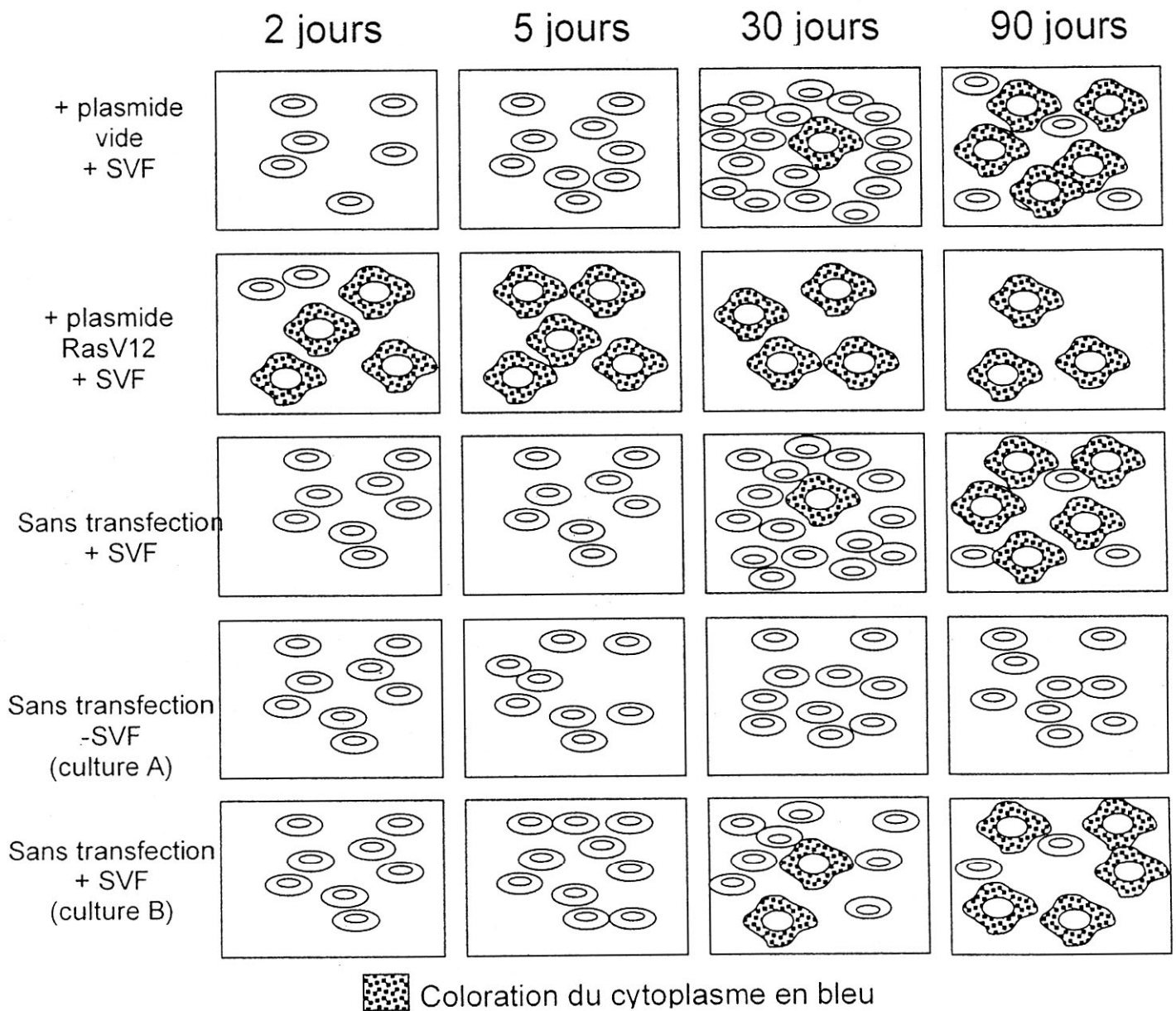


Figure 1 Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence 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 β -galactosidase dans des conditions de pH acide.

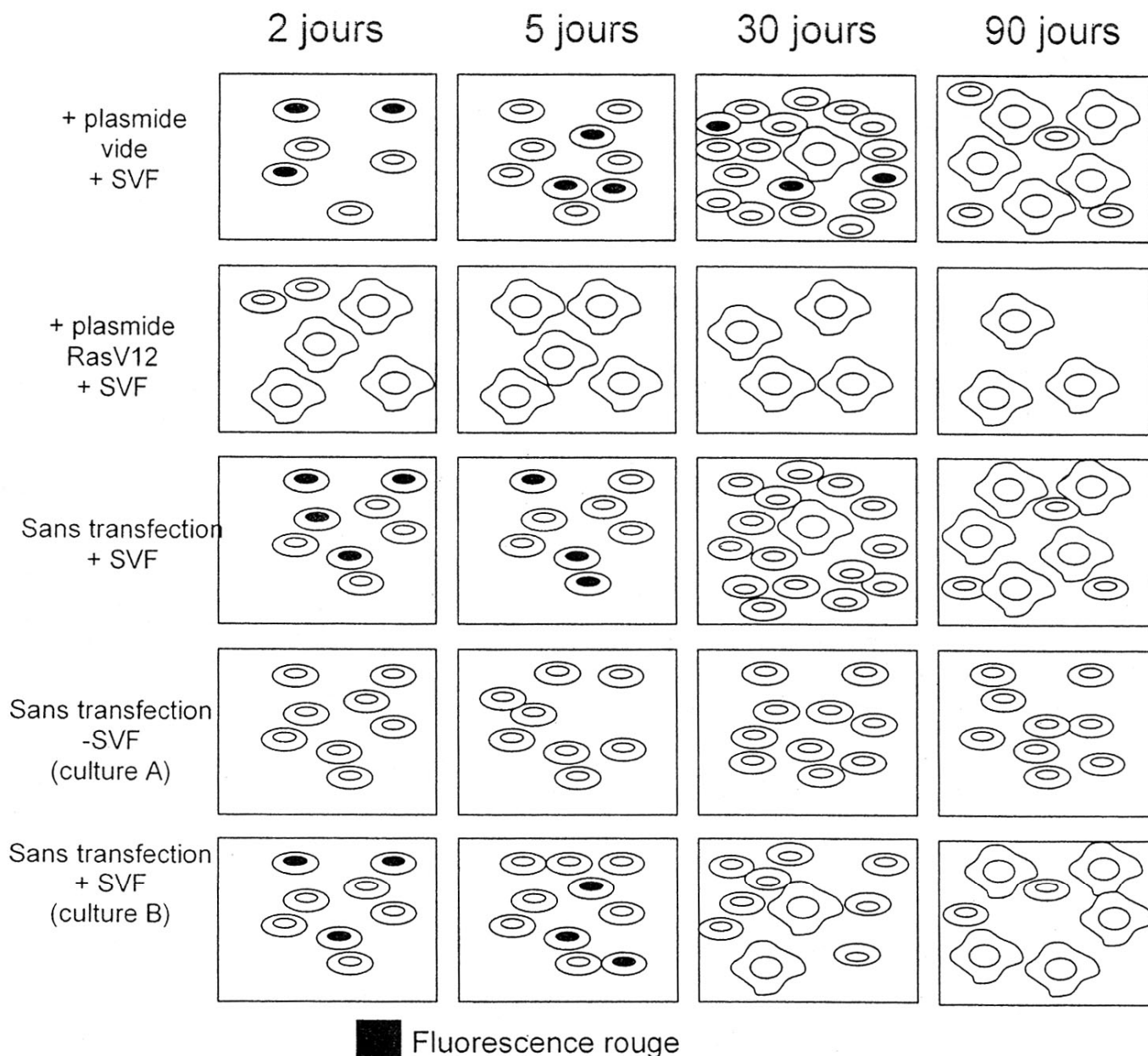


Figure 2 Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence 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.

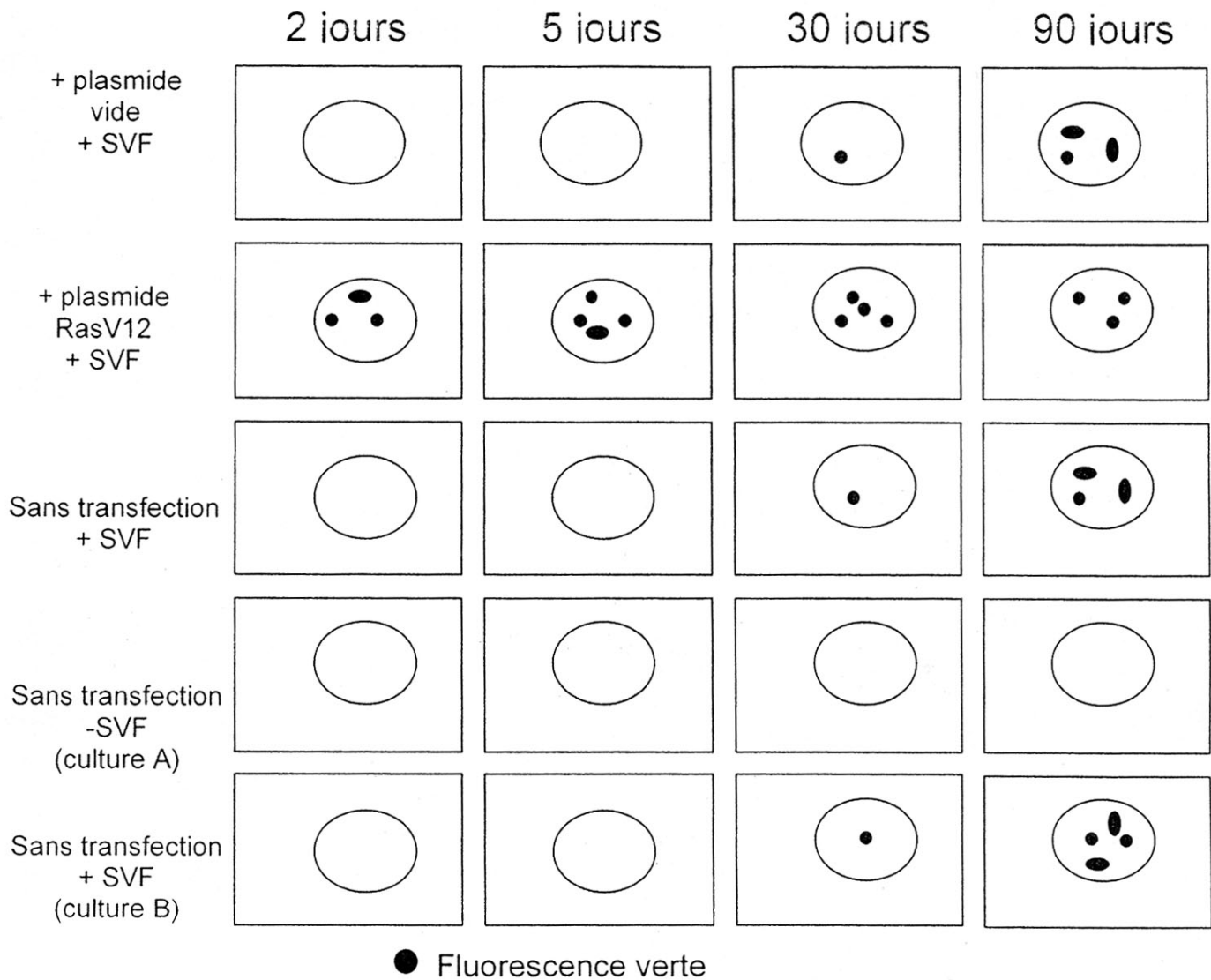


Figure 3A Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence 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 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.

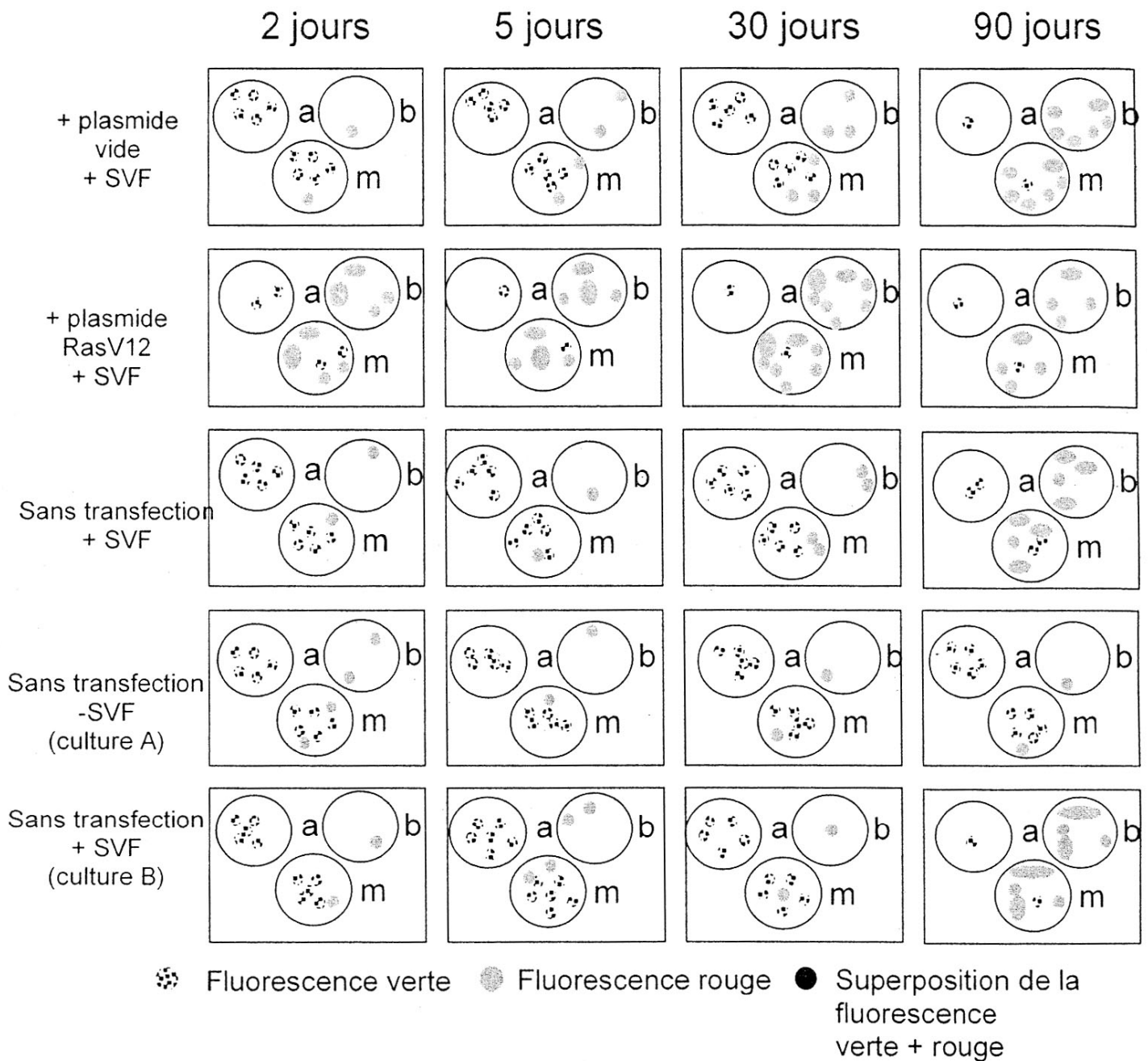


Figure 3B Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fétal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence 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.

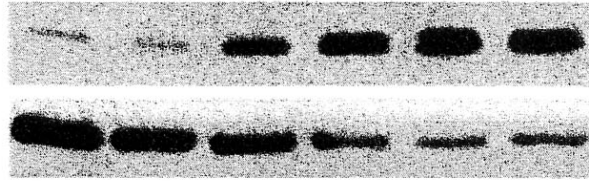
Nombre de jours

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

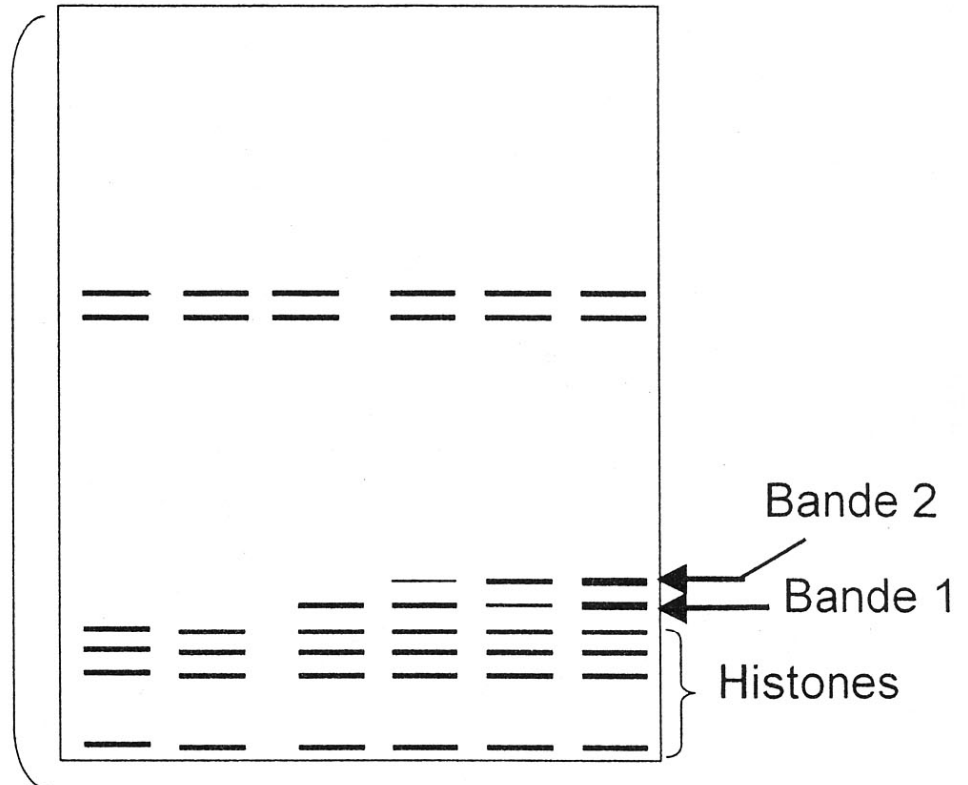


Figure 4 Profil protéique des extraits de chromatine obtenus à partir de cellules cultivées dans différentes conditions (après transfection par un plasmide codant pour RasV12, les cellules ont été cultivées avec ou sans SVF sur différentes durées (de 0 à 10 jours). Après séparation sur gel de polyacrylamide-SDS (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.

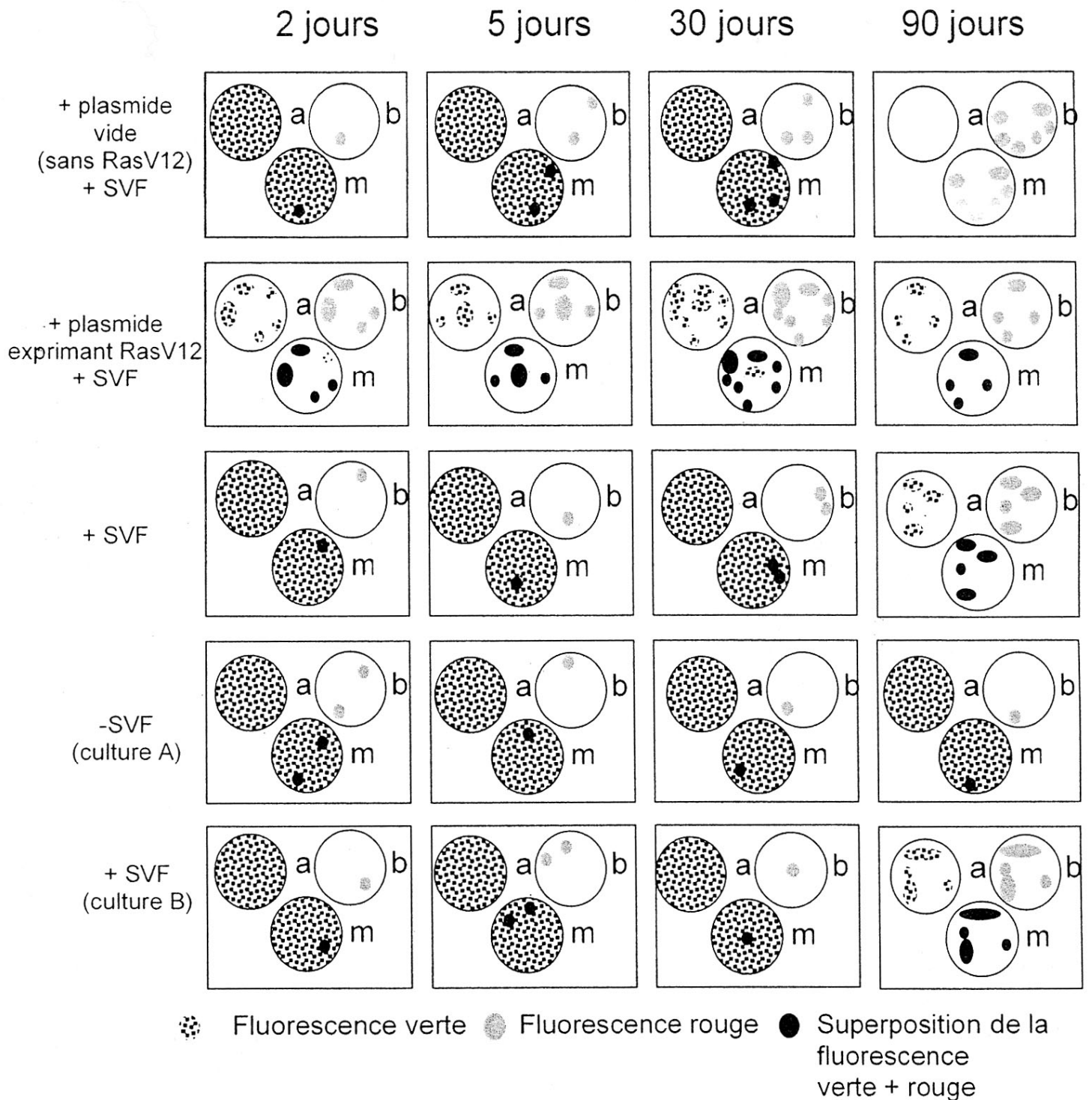


Figure 5 Des fibroblastes humains ont été transfectés avec un plasmide contrôle (plasmide vide) ou par un plasmide exprimant l'allèle oncogénique RasV12 (plasmide RasV12) puis cultivés en présence d'un milieu contenant du sérum de veau fœtal (abrégé en SVF) ou mis en culture sans transfection en présence 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 obtenues par microscopie à fluorescence après une double immunofluorescence indirecte avec des anticorps primaires dirigés contre HMGAl (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.

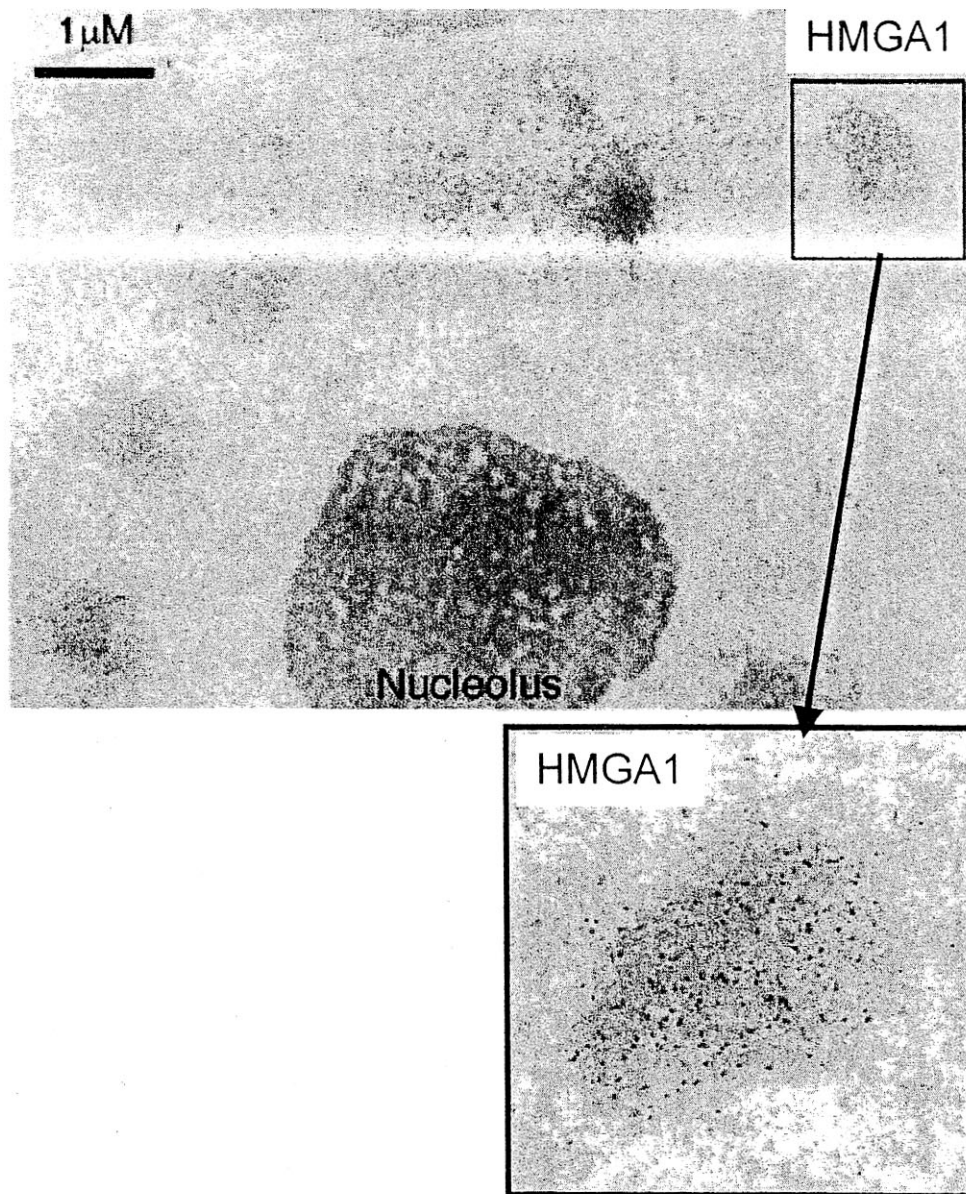


Figure 6 Images de microscopie électronique montrant des coupes ultra-fines de noyaux de fibroblastes après 30 jours d'expression de RasV12. La protéine HMGA1 est marquée par des anticorps couplés à des particules d'or. Le nucléole (Nucleolus) est indiqué. L'image du bas est un agrandissement d'une partie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

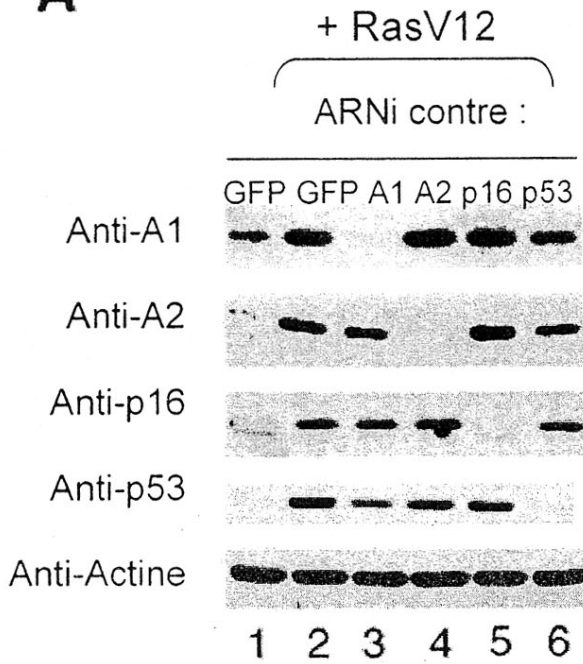
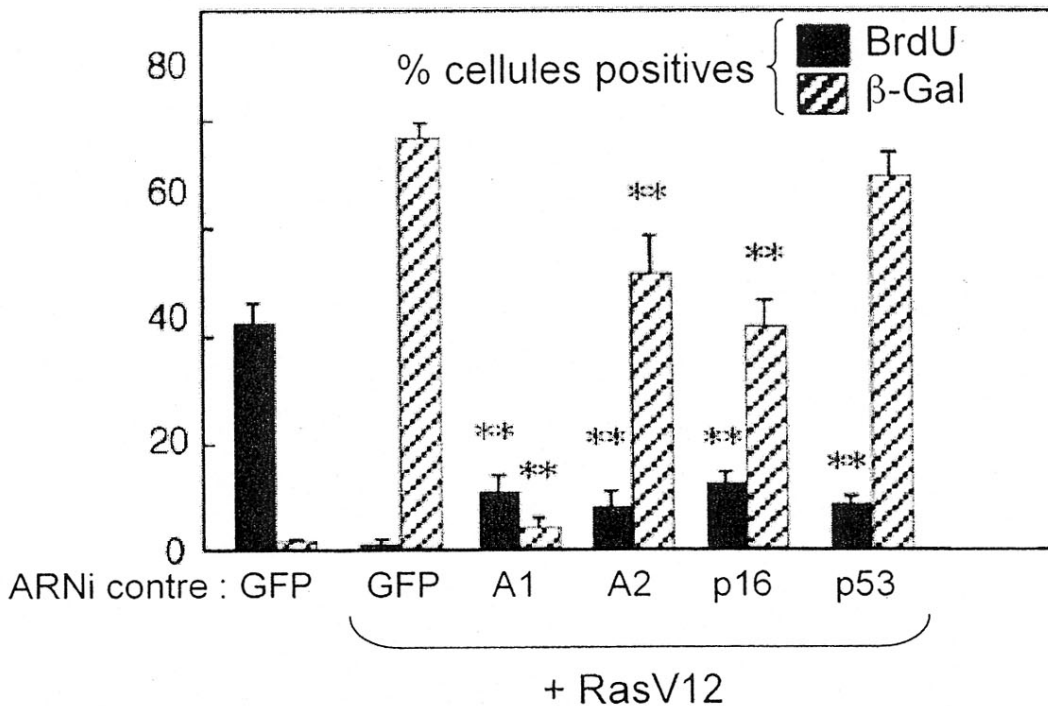
A**B**

Figure 7A Des fibroblastes ont été transfectés avec l'ARNi indiqué (A1 = HMGA1, A2 = HMGA2) puis les cellules indiquées ont été transfectées avec le plasmide exprimant RasV12. L'expression des protéines indiquées a été étudiée par immunodétection après migration dans un gel de polyacrylamide-SDS.

Figure 7B. Les populations cellulaires décrites dans la figure 7A ont été étudiées vis-à-vis de l'incorporation de BrdU et de la coloration β -galactosidase acide. Les valeurs représentent la moyenne \pm erreur standard pour au moins trois expériences indépendantes. ** indique une valeur statistiquement significative par rapport à celle obtenue pour des transfections d'ARNi contre la GFP après transfection par RasV12.

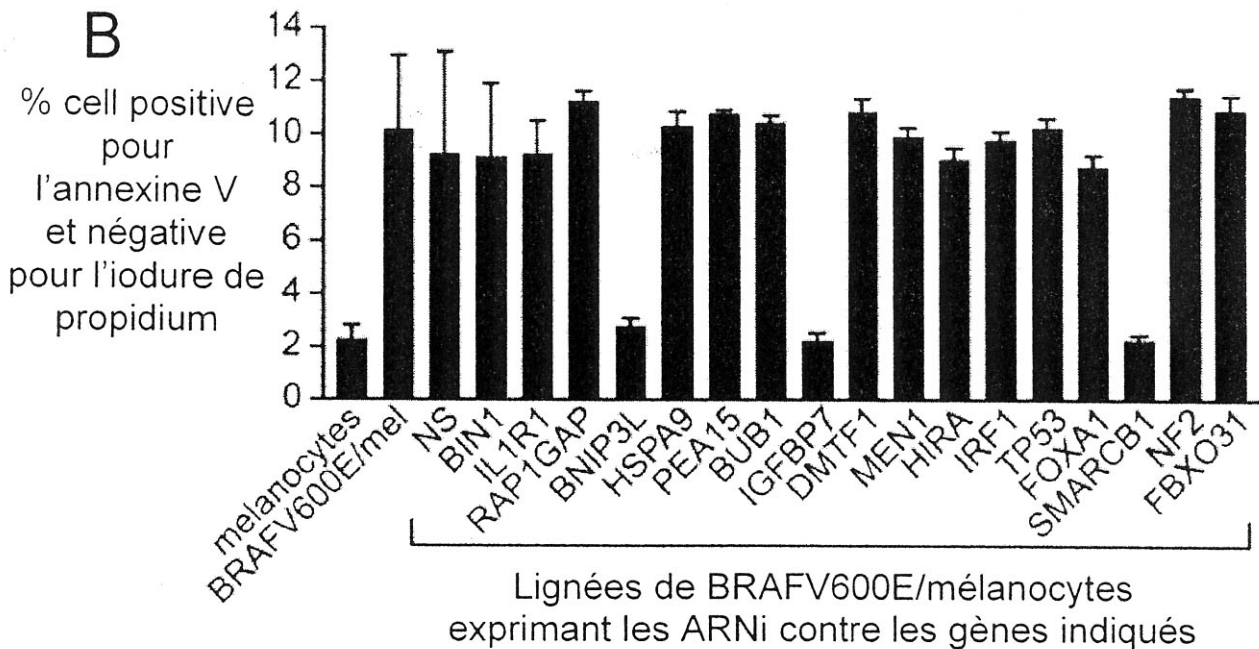
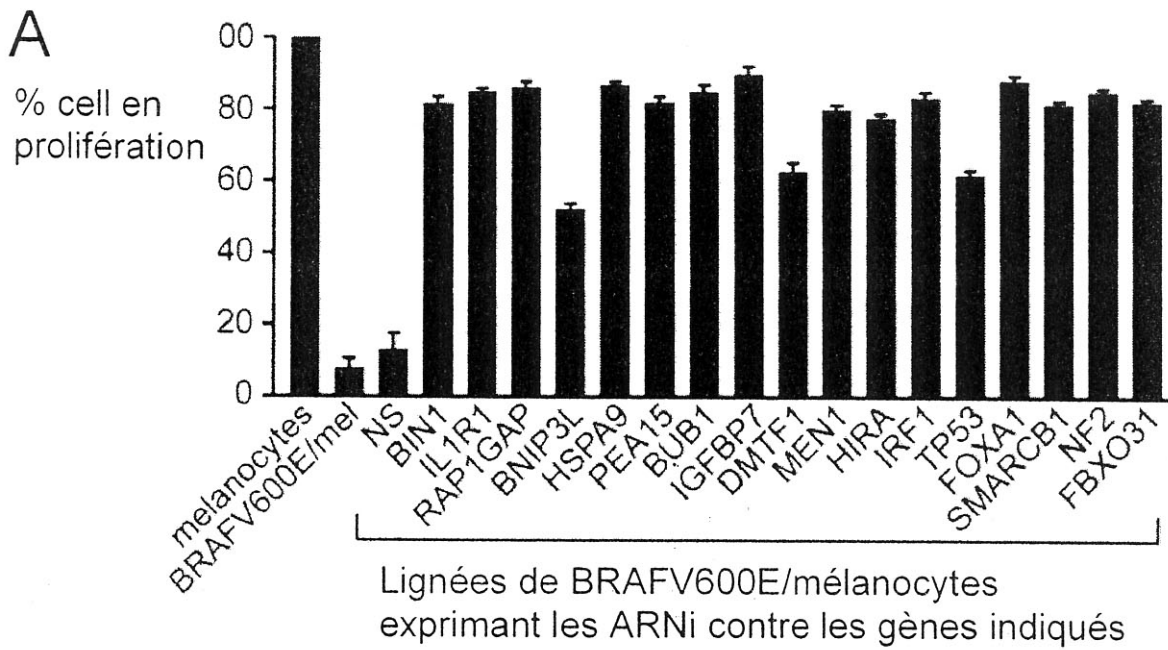


Figure 8A Tests quantitatifs de prolifération de mélanocytes, de mélanocytes exprimant BRAFV600E (BRAFV600E/mel) et de cellules BRAFV600E/mel transfectées par un ARNi dirigés contre les gènes indiqués. NS = ARNi non spécifique. Les valeurs des lignées transfectées sont normalisées par rapport à la valeur obtenue pour des mélanocytes transfectés par le même ARNi.

Figure 8B Tests de marquage des cellules à l'annexine V et à l'iodure de propidium sur les populations de cellules de la figure 8A.

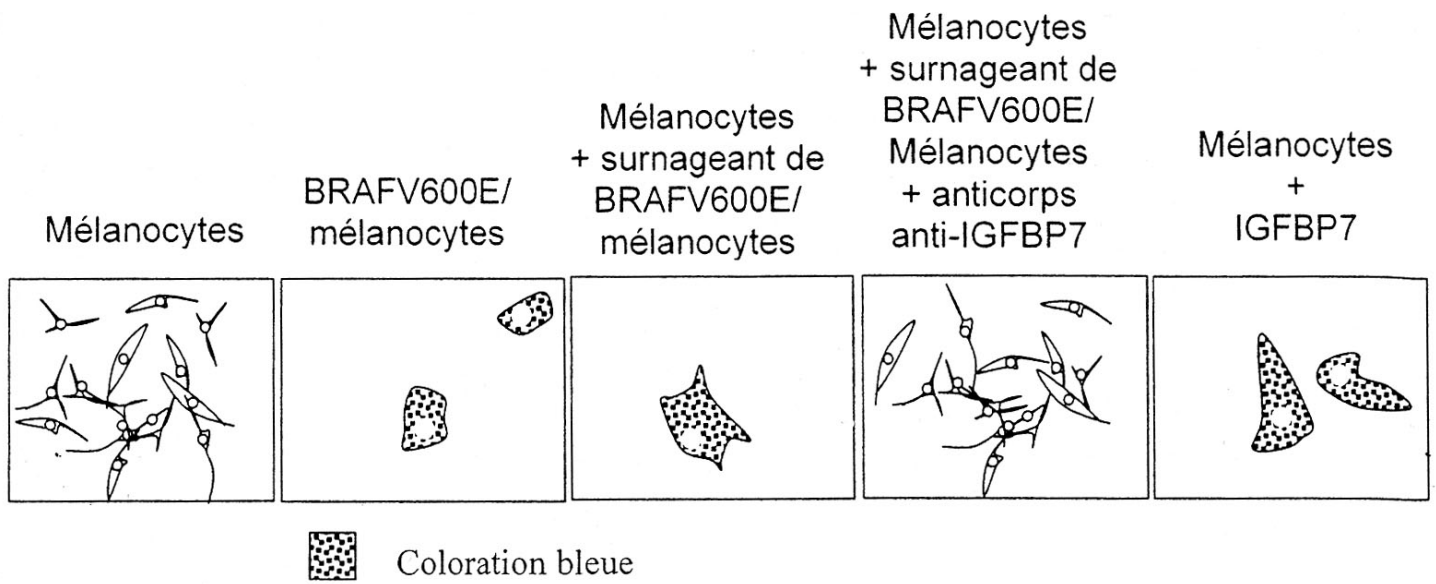


Figure 9 Représentation schématique d'images représentatives de microscopie optique de cellules colorées au X-Gal. L'anticorps anti-IGFBP7 inhibe l'action de l'IGFBP7 soluble.

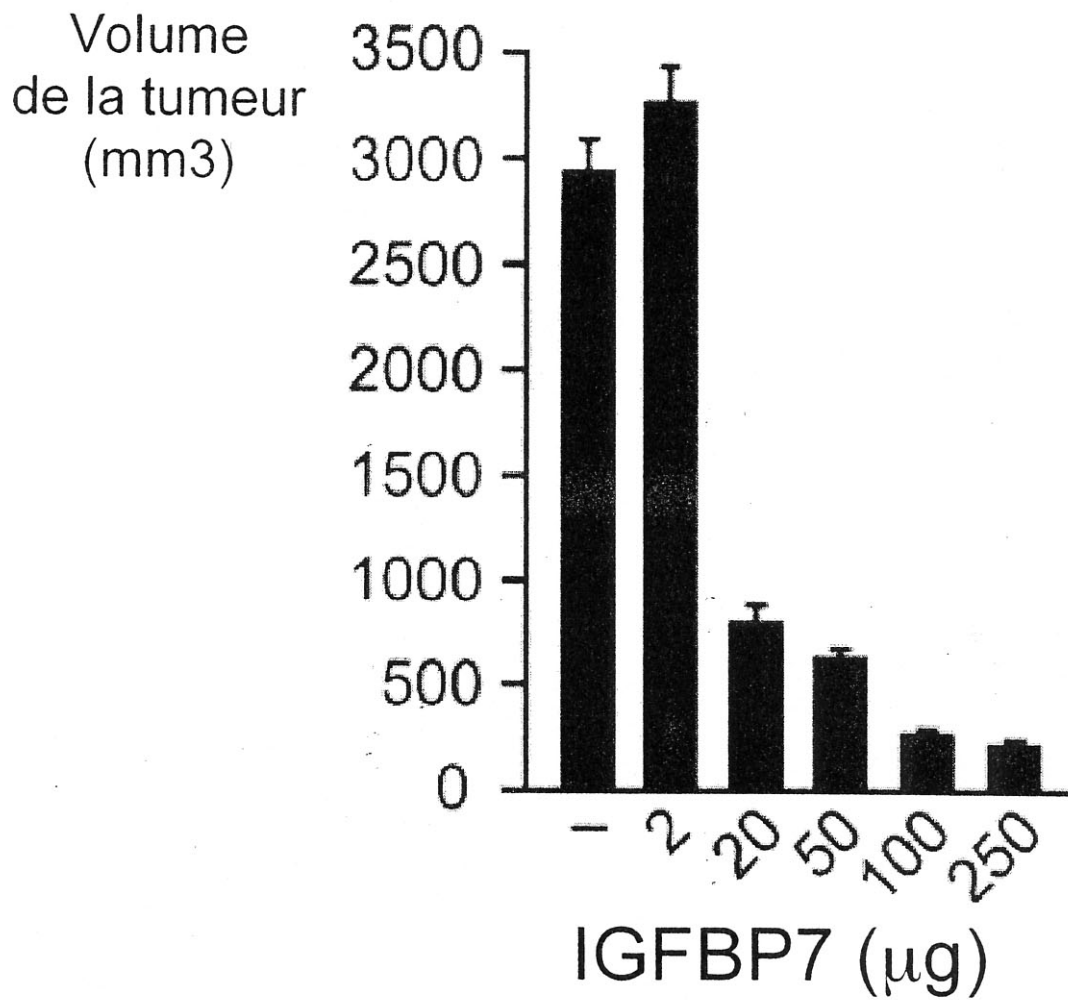


Figure 10 Volume tumoral mesuré dans des souris immunosupprimées et xénotreffées après injection intraveineuse, aux doses indiquées, de la protéine IGFBP7 purifiée.