



### Comment aborder une expérience ?

- Se munir d'un surligneur (voire 2), lire une première fois l'expérience en surlignant les points essentiels. Moi je surlignais une première fois en jaune et lors de la deuxième lecture je resurlignais avec une autre couleur sur les points réellement importants. (car on a souvent tendance à avoir la folie des surligneurs et à trop vouloir surligner)
- Avoir une feuille de brouillon pour faire un lien entre chaque cas et les éléments du texte.

Par exemple M1 = malade = insulino-résistant, IRS lié à la calmoduline, forte concentration de calcium intracellulaire...

L'insuline est une hormone hypoglycémiante, c'est-à-dire qu'en se fixant à ses récepteurs sur les cellules de l'organisme, elle provoque le passage du glucose du sang à la cellule. La liaison insuline-récepteur est à l'origine des effets biologiques variés de cette hormone modulés par l'activité tyrosine kinase du récepteur.

L'insulino-résistance est un problème provoquant la perte d'effet de l'insuline sur la cellule.

Après fixation de l'insuline sur son récepteur, s'en suit une cascade de réactions chimiques avec les molécules IRS qui sont à la base de la première voie de signalisation intracellulaire de l'insuline. Ces molécules sont capables d'interagir avec la calmoduline.

**NB** : On parle ici de la calmoduline, et comme par hasard dans votre cours on en parle aussi → MAGIQUE c'est dans la partie du FRET intracellulaire et on y parle aussi de calcium

L'insulinémie et la glycémie étant respectivement le taux d'insuline et le taux de glucose dans le sang, on compare trois sujets : deux sujets insulino-résistants, noté M1 et M2 ; et un sujet sain, dit sujet témoin, noté T.

**NB** : Il faut bien avoir en tête quel patient est le témoin, et distinguer les deux malades. Car la c'est simple pour le moment mais vous verrez qu'il est très très facile de s'embrouiller avec le blabla habituel de Gilson. Donc surligner et noter sur un brouillon les différents cas.

IRS lié signifie que l'IRS est liée à la calmoduline. La calmoduline et le signe (-) indique une faible liaison, à l'inverse du signe (+).

[Ca<sup>2+</sup>] indique la concentration intracellulaire de calcium. Lorsque le Calcium est lié à la calmoduline, il n'est pas détecté.

**NB** : là on comprend bien que si la concentration de calcium intracellulaire est faible cela ne veut pas dire qu'il y a forcément un déficit en calcium, mais qu'il est possible qu'il interagisse avec la calmoduline et ne soit alors pas détecté. C'est une des choses les plus dures à comprendre dans l'expérience. C'est faire ce lien entre IRS lié et calcium peu concentré dans la cellule → là vous pouvez maudire les tut de biocell.

	Insulinémie	Glycémie	[Ca <sup>2+</sup> ]	IRS lié
T	4g.L <sup>-1</sup>	1g.L <sup>-1</sup>	2,4mmol.L <sup>-1</sup>	-
M1	5,7g.L <sup>-1</sup>	2,8g.L <sup>-1</sup>	5,5mmol.L <sup>-1</sup>	+
M2	5,4g.L <sup>-1</sup>	2,6g.L <sup>-1</sup>	2,2mmol.L <sup>-1</sup>	-

Figure n°1

**QCM1 : Concernant les résultats du tableau 1, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :**

- A) Il est logique de constater une augmentation de glycémie chez le sujet atteint d'insulino résistance tel que le sujet M1.
- B) L'expérience démontre que la calcémie augmente car l'insuline est un facteur pro-calcique puissant.
- C) On peut supposer que l'insuline augmente pour palier à l'augmentation de la glycémie.
- D) L'expérience suggère que la liaison de l'IRS avec la calmoduline inhibe la liaison entre la calmoduline et le calcium chez le sujet M1.
- E) Aucune de ces propositions n'est exacte

**QCM2 : Concernant les résultats du tableau 1, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :**

- A) Les résultats suggèrent que l'insulino résistance est toujours due à un dysfonctionnement de IRS.
- B) L'expérience démontre qu'en présence d'une forte concentration glucidique dans le sang, les sujets atteints ont une insulino-résistance.
- C) L'expérience démontre que le dysfonctionnement de M2 est différent de celui de M1 car la glycémie et l'insulinémie sont légèrement inférieurs.
- D) La calmoduline a la faculté d'émettre spontanément une fluorescence en présence de calcium
- E) Aucune de ces propositions n'est exacte

**2<sup>ème</sup> Expérience...**

Par la suite, sont prélevées des cellules des **sujets T et M1**. On sépare les cellules des deux sujets. On décide, alors, de pratiquer une seconde expérience.

**NB** : On se rappelle bien des deux cas, il serait bête de s'appuyer sur les mauvais sujets, et de faire une comparaison entre les deux malades, qui ne donnerait pas forcément les mêmes résultats

Des **protéines de calmoduline** sont modifiées de sorte qu'à chaque extrémité, → on pense direct à l'exemple de la sonde calcique, avec la position rapprochée ou étendue et le FRET.

**Deux fluorochromes différents** sont greffés : d'un côté la **GFP**, de l'autre la **rhodamine**.

→ Remember :

- **GFP** : excité par le bleu et émet dans le vert
- **Rhodamine** : excité par le vert et émet dans le rouge
- On se souvient donc que s'il y a FRET, la lumière émise par la GFP va exciter la rhodamine et on observera uniquement une fluorescence rouge (non radiatif)  
A l'inverse, s'il n'y a pas de FRET, on observera une fluorescence verte de la GFP uniquement
- **Rappel** : les deux conditions du FRET = les spectres se chevauchent, et les molécules sont à moins de 10nm

Une fois la calmoduline ainsi transformée, on l'intègre dans les cellules des deux sujets par **électroporation**.

Une fois la membrane des cellules reconstituée, on observe au microscope optique à fluorescence :

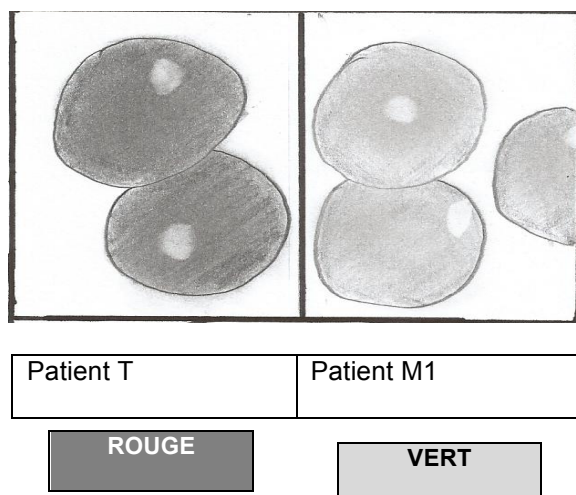


Figure 2

D'après ce schéma on observe

- Une fluorescence rouge pour le patient témoin = patient T ce qui veut dire qu'il y a eu FRET, on se souvient ensuite que la calmoduline interagit avec le calcium dans le cas de la sonde calcique et qu'il permet de rapprocher les deux fluorochromes et donc de faire un FRET intracellulaire = configuration rapprochée ici
- Une fluorescence verte pour le patient M1 qui est insulino résistant, IRS est lié à la calmoduline, d'où la concentration plus élevée de calcium intracellulaire. Le calcium ne se fixe plus à la calmoduline & la fluorescence est verte = il n'y a donc PAS de FRET

**QCM3 : Concernant le tableau 2, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :**

- A) L'expérience suggère que le taux de calcium sanguin est supérieur pour le sujet M1.
- B) Dans les cellules du patient M1, nous assistons à un FRET intra moléculaire.
- C) Si l'on remplaçait la rhodamine par de la fluorescéine, nous pourrions observer les mêmes résultats.
- D) L'expérience est compatible avec l'hypothèse selon laquelle l'IRS masquerait les sites de fixation du calcium sur la calmoduline.
- E) Aucune des propositions n'est exacte

**NB** : il arrive souvent qu'on ait à utiliser les informations de la première expérience pour répondre aux QCM de la seconde expérience et utiliser nos connaissances en plus...

C'est vraiment corsé le truc ^^