

Chapitre 4 : Les méthodes en biologie cellulaire

Question 1 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. Un vecteur est un moyen de faire rentrer de l'information génétique dans le noyau d'une cellule hôte afin que cette information soit utilisée par la cellule ; les virus et les plasmides sont utilisés comme vecteurs.
- B. Pour des raisons éthiques, les cellules humaines ne sont jamais utilisées en biologie cellulaire.
- C. En transgénèse classique, on injecte de l'ADN linéaire dans un ovocyte fécondé.
- D. La recombinaison homologe a été développée grâce à un système de défense endogène des bactéries.
- E. Une souris chimère est une souris dont seulement une partie des cellules est porteuse d'une mutation.

Question 2 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. L'utilisation d'un plasmide comme vecteur permet de produire une grande quantité de vecteur en peu de temps, grâce à la multiplication des bactéries.
- B. Pour qu'un vecteur soit pris en charge par les mécanismes de transcription endogènes de la cellule, il doit comporter un codon start et un codon stop.
- C. En biologie cellulaire, on priorise l'injection directe de protéines pour éviter le biais de synthèse induit par l'utilisation de vecteurs.
- D. La cytométrie de flux est une méthode quantitative et qualitative.
- E. Plus la taille d'un constituant cellulaire est grande, plus il faudra de cycles de centrifugation pour le récupérer.

Question 3 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. Le SDS-PAGE permet la séparation de molécules en fonction de la charge.
- B. Le SDS permet de rompre les ponts disulfures.
- C. Le bleu de Coomassie permet de révéler les protéines totales.
- D. On peut révéler des protéines grâce à des anticorps sur un gel d'agarose ou de polyacrylamide.
- E. Le Western Blot est une méthode quantitative qui permet de comparer les quantités de deux protéines différentes

Question 4 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. Les anticorps secondaires sont uniquement utilisés lorsque l'on cherche à amplifier un signal très faible, sinon cette technique est trop complexe et coûteuse.
- B. Un sérum d'anticorps polyclonal est spécifique d'un antigène.
- C. Dans l'ELISA indirect, le but est de doser un anticorps, alors que l'ELISA par immunocapture permet de doser un antigène.
- D. Une co-immunoprécipitation ne permet jamais de prouver une interaction directe
- E. Pour révéler la présence d'une protéines grâce à un anticorps, il est nécessaire de fixer et de perméabiliser nos cellules, sauf si ces dernières ont un domaines extra-membranaire

Question 5 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. En microscopie électronique, plus une structure est dense, moins elle laisse passer les électrons, et apparaîtra donc blanche
- B. En microscopie confocale, comme on réduit le flou par rapport à la microscopie à épifluorescence, la résolution peut être meilleure que 200nm.
- C. Le FRAP se réalise sur cellules fixées.
- D. La microscopie électronique se fait sur cellules fixées, donc mortes.
- E. La GFP est une protéine de fusion très utilisée en biologie cellulaire.

Question 6 – Indiquez la ou les affirmation(s) correcte(s) :

- A. CRISPR est une endonucléase découverte récemment et permettant de cibler et de modifier n'importe quel gène.
- B. On peut utiliser un virus pour injecter de l'ADN dans une cellule.
- C. En transgénèse classique, on ne peut pas contrôler le lieu d'insertion du gène dans l'ADN de la cellule hôte.
- D. Afin d'étudier l'effet du génotype sur le phénotype, on peut utiliser le principe de mutagenèse aléatoire suivi d'un séquençage de l'ADN.
- E. En cytométrie en flux, afin de déterminer en quelle phase du cycle cellulaire est notre cellule, on détecte la quantité d'ADN de la cellule qui passe devant le détecteur.

Question 7 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

Au sujet du matériel utilisé :

- A. L'enzyme transcriptase inverse est utilisé dans certaines méthodes comme la RT-CPR, cette enzyme existe dans les rétrovirus.
- B. La transgénèse par recombinaison homologe se réalise en injectant de l'ADN linéaire dans un ovocyte fécondé afin qu'il soit incorporé aléatoirement dans le génome.
- C. Il est possible de réaliser un KO en transgénèse classique.
- D. Un KO consiste à l'inactivation d'un gène par une lyse de l'ADN.
- E. Les gènes rapporteurs sont ces gènes facilement repérables microscopiquement et macroscopiquement, placés sous le promoteur du gène dont nous souhaitons connaître le lieu et le moment d'expression.

Question 8 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

Votre tuteur de bio cell a les idées un peu embrouillées, et n'arrive pas à remettre dans l'ordre les étapes de déroulement de la méthode CRISPR-CAS9. Heureusement, les petits P1, prêt à tout se proposent bien gentiment de l'aider :

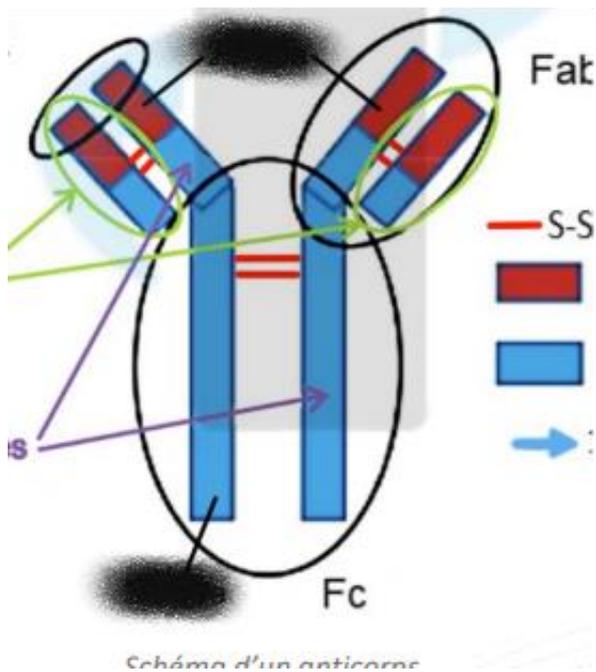
1. ACas9 reconnaît la séquence cible par complémentarité avec l'ARN guide et la séquence PAM sert d'adaptateur.
2. L'ARNsg recrute la nucléase Cas9 via le tracrRNA.
3. Cas9 coupe les deux brins de l'ADN au sein de la séquence cible.
4. Formation d'un ARNsg (ARN single guide) constitué d'ARN complémentaire à la séquence cible (crRNA) ainsi que de tracrRNA.

- A. 1234
- B. 1243
- C. 4213
- D. 2134
- E. 4123

Question 9 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. Le WB permet de comparer les quantités de différentes protéines placées dans les mêmes conditions.
- B. Les colonnes correspondent à la lignée cellulaire et les lignes à la protéine.
- C. Il s'agit d'un SDS-PAGE électrotransféré sur une membrane, SDS pour dodécyl-sulfate de sodium et PAGE pour indiquer qu'il est réalisé sur gel de polyacrylamide.
- D. Dans un WB seuls les protéines voulues sont révélées de manière spécifique grâce aux anticorps.
- E. Il doit y avoir un contrôle qui prouve qu'autant d'extraits protéiques ont été déposés dans chaque colonne.

Question 10 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :



- A. La partie bleue de l'anticorps correspond à la partie variable.
- B. La partie entourée en vert pèse 25Da.
- C. La partie en rouge est spécifique à chaque anticorps.
- D. La notation Fc contient une séquence d'acides aminés spécifique d'une espèce.
- E. Les anticorps sont insensibles aux agents réducteurs.

Question 11 – Parmi les affirmations suivantes, cochez la ou les réponses justes :

- A. Pour les méthodes de séparation, nous allons principalement utiliser des cellules entières.
- B. La centrifugation est une méthode qui permet de séparer tous les constituants cellulaires selon leur taille, leur forme, et leur granulosité comme pour la cytométrie en flux.
- C. Les plus petits constituants cellulaires pouvant être sédimentés et isolés par centrifugation sont les lysosomes.
- D. L'électrophorèse est une méthode fondée sur la migration différentielle des macromolécules sous l'influence d'un champ électrique, les molécules les plus lourdes migreront le moins vite.
- E. La présence de beta mercaptoéthanol permet une homogénéisation des charges des protéines qui seront donc toutes chargées négativement.

Question 12 – culture cellulaire :

Au sujet des cultures :

- A. Une cellule immortelle en biologie cellulaire est une cellule qui ne meurt jamais.
- B. Une cellule transformée devient indépendante du support mais elle reste toujours dépendante des facteurs de croissance trouvés dans le milieu de culture.
- C. Les cellules mises en culture vont se diviser jusqu'à ce que leurs télomères deviennent trop raccourcis ce qui induit la sénescence cellulaire.
- D. Les cellules immortalisées continuent de se développer pour former une lignée cellulaire continue.
- E. La plupart des cellules de culture se développent sur un support et vont se diviser en monocouche, la croissance en hauteur est réservée aux cellules transformées.

Question 13 – Les méthodes, il y a que ça de vrai :

Au sujet des méthodes de biologie cellulaire :

- A. La co-immunoprécipitation permet de prouver une interaction directe entre deux protéines.
- B. La méthode ELISA par immunocapture permet de capturer et doser un anticorps.
- C. Pour produire ces anticorps secondaires anti-espèce, il suffit d'inoculer les anticorps visés à une autre espèce qui produit en retour des anticorps contre les anticorps qui lui ont été inoculés.
- D. La méthode FISH permet de montrer la localisation d'un gène lors de son expression par exemple.
- E. La colocalisation de protéines pouvant être mise en évidence par microscopie à épifluorescence implique donc une interaction entre elles.

Question 14 – Encore et toujours des méthodes :

- A. La méthode FRET utilise des sondes d'acides nucléiques et permet donc de cibler des régions très précises de l'ADN.
- B. Mais non enfin, la méthodes FRET utilise des protéines de fusion pour son fonctionnement.
- C. Les bactéries et organiques sont détectables en microscopie optique.
- D. La production d'anticorps monoclonaux se fait à partir d'une colonie de cellules dérivant d'un même lymphocyte B.
- E. Pour la production d'un anticorps monoclonal, nous avons besoin d'immuniser l'animal utilisé.

Énoncé commun aux questions 15 et 16 :

Parmi les affirmations suivantes, cochez-la ou les réponse(s) juste(s) :

On étudie deux protéines de fusion, une protéine A qui absorbe du bleu et émet du vert et une protéine B qui absorbe du vert et émet du rouge. En éclairant notre échantillon en bleu, on obtient une image rouge, que peut-on en déduire ?

Question 15 – la réponse va te FRAPper :

- A. Cette méthode est appelée FRAP.
- B. Cette méthode est appelée FRET.
- C. Les deux protéines n'interagissent pas ensemble.
- D. On ne peut pas déterminer si les protéines interagissent ensemble à cause de la limite de résolution de la microscopie optique.
- E. Les deux protéines interagissent directement.

Question 16 – EH OH c'est pas le Western ici :

- A. Les deux protéines interagissent indirectement.
- B. Western Blot du produit d'une co-immunoprécipitation est très pratique pour démontrer une interaction entre les protéines.
- C. Il est possible de démontrer une interaction entre ces deux protéines malgré la limite de résolution de la microscopie optique.
- D. Si ces protéines interagissent de manière directe, nous pouvons observer une émission verte.
- E. Réaliser une FRET après une co-immunoprécipitation permet de déterminer quel type d'interaction il y a entre les protéines.

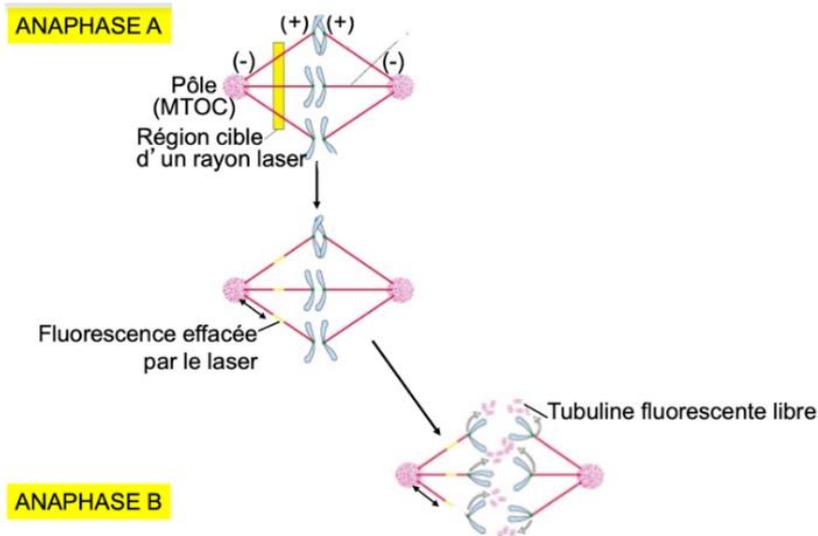
Question 17 – Drop the MIC-croscopie :

Au sujet de la microscopie :

- A. La limite de détection de la microscopie optique est de 200 nm.
- B. La microscopie à contraste de phase permet de mettre en évidence les contours de la cellule.
- C. Une des protéines phosphorescentes les plus courantes est la GFP (Green Fluorescent Protein), elle a été retrouvée chez des méduses fluorescentes et produit une lumière verte lorsqu'elle est illuminée par du bleu.
- D. Tout ce qui est plus petit que 200 nm en microscopie optique apparaîtra comme mesurant 200 nm.
- E. La taille minimale nécessaire à la détection est bien inférieure à celle de la résolution.

Question 18 – blanchir de l'argent c'est mal, photoblanchir une cellule c'est génial :

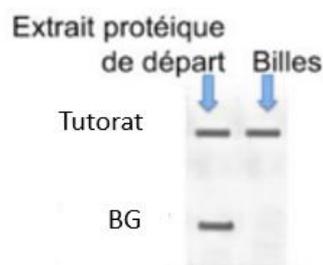
A partir du schéma ci-dessous :



- A. Cette expérience correspond à un FRET.
- B. Cette expérience permet de mettre en évidence une dépoliarisation au pôle positif
- C. Mais non, elle permet de mettre en évidence une dépoliarisation au pôle négatif
- D. Le retour de la fluorescence dans cette technique est due à la restitution par réparation de la fluorescence par les cellules, le photoblanchiment est donc un évènement réversible.
- E. Cette technique met en évidence des notions de cinétique au sein de la cellule comme par exemple la vitesse de synthèse ou de migration.

Question 19 – Les liaisons dangereuses :

Vous êtes en présence d'un mélange de 2 protéines tutorat et BG. Une immunocapture est réalisée pour ces 2 protéines et le résultat par WB vous est communiqué et, étant des pros de la matière, on vous demande de l'interpréter, voici les résultats ci-dessous :



- A. Il est possible que ces 2 protéines interagissent mais vous ne pouvez pas le prouver.
- B. Il est impossible que ces 2 protéines interagissent selon les résultats que vous observez.
- C. Ces 2 protéines interagissent directement.
- D. Grâce à ces résultats, nous pouvons en déduire que c'est la protéine BG qui est lié aux billes de révélation.
- E. Cette méthode utilise des anticorps.

Question 20 – Allez, c'est bientôt les CT, il faut arrêter de glander :

Vous observez une coupe tissulaire de glandes au microscope optique avec une coloration hématoxyline éosine:

- A. La limite de résolution de cette microscopie est de 200 nm.
- B. Les cellules que vous observez sont mortes car vous avez dû au préalable fixer votre échantillon
- C. Avec ce même microscope, 2 points séparés par une distance de 180 nm apparaîtront comme confondus.
- D. D. les bactéries et les organites pourront être distingués clairement grâce à cette technique
- E. Avec cette technique, une protéine de 190 nm pourra être détectée.

Question 21 – FISH and chips :

- A. La souris est un animal massivement utilisé dans les laboratoires.
- B. Le dodécylsulfate de sodium est utilisé dans le SDS-PAGE pour charger les protéines négativement.
- C. Le soufre 35 est un radioisotope utilisé pour marquer les protéines et l'ADN.
- D. Nous pouvons utiliser des cellules vivantes dans la microscopie optique classique.
- E. Le retour de la fluorescence dans les zones photo blanchies dans la technique du FRAP est due à une réparation de la fluorescence chez les protéines touchées.

Question 22 – Travailles tes méthodes, ça fera plaisir à Gilles Rhodes :

- A. La technique ELISA indirect permet le dosage d'un anticorps.
- B. La Co immunoprécipitation est incapable de prouver s'il y a une interaction directe entre 2 protéines d'un même complexe.
- C. La microscopie classique a une limite de détection de 200nm.
- D. La technique FISH permet entre autres de mettre en évidence des régions précises de l'ARN et d'explorer des territoires d'expression de gènes.
- E. La technique FRET est incapable de prouver une interaction directe entre 2 protéines d'un même complexe.

