

Université Claude Bernard



Lyon 1



Tutorat Lyon Est

Année Universitaire 2023 – 2024

Unité d'Enseignement 5 – Biologie cellulaire

Annale 2022-2023

Correction détaillée

AIMARD-GAILLOT Lilou
KARAMAN Emre
PENIN Thomas

Correction rapide

<u>Questions</u>	<u>Réponses</u>
1	ABCD
2	AE
3	ABCE
4	BDE
5	ABDE
6	ABCE
7	ACDE
8	ACE
9	D
10	AC
11	ACDE
12	ABC
13	BD
14	D
15	BCE
16	ABE
17	BDE
18	ABCE

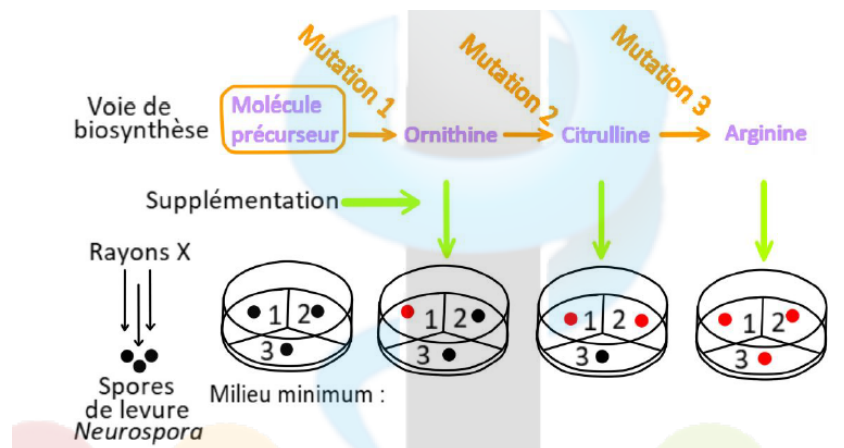
Question 1 : ABCD

A propos de l'ADN, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Les bactéries peuvent acquérir des gènes à partir d'ADN purifié ajouté à leur culture.
- B. Les rayons X induisent des mutations dans le génome.
- C. Les séquences 3' UTR (UnTranslated Regions) des gènes sont transcrites.
- D. La réplication de l'ADN a lieu pendant l'interphase.
- E. La quantité d'hétérochromatine est constante pour une cellule donnée.

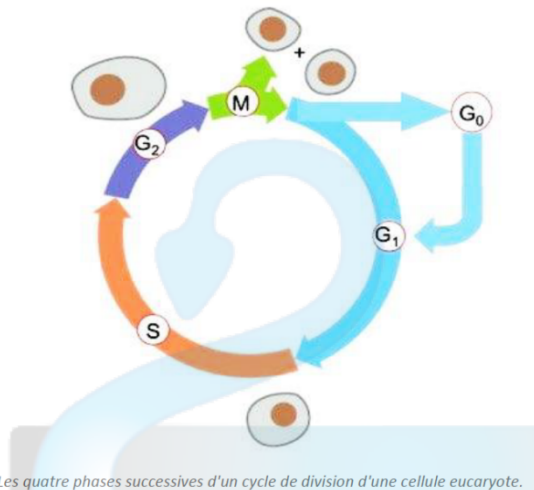
A VRAI En effet, les bactéries ont la capacité d'incorporer via les plasmides (fragments d'ADN extra-chromosomiques circulaires qui correspondent à des systèmes moléculaires développés par les bactéries) des gènes (humains par exemple), ce qui permet une grande réplication, et même le transfert de l'information génétique entre les bactéries (transfert de plasmides par la conjugaison). Ces plasmides sont donc des **vecteurs** en **génie génétique**.

B VRAI En effet, les rayons X sont bien mutagènes, et ont notamment servi à nous rendre compte grâce à des expériences où l'on induisait des mutations aléatoires qu'une **atteinte génomique** pouvait avoir une **conséquence** au niveau **protéique**. L'exemple pris dans le cours par le professeur est une voie métabolique connue chez certaines levures, et en fonction de l'enzyme altérée (donc de la mutation de son gène), certaines levures ne poussaient plus car l'enzyme était devenue non-fonctionnelle, bloquant la voie métabolique à l'étape nécessitant l'action de l'enzyme en question (les levures ne poussent plus).



C VRAI Les régions 5'UTR et 3'UTR sont bien des régions transcrites mais non traduites ! Ces sont des exons non-codants.

D VRAI La réplication de l'ADN a effectivement lieu durant l'interphase, et plus précisément durant la phase S de cette dernière. Pour rappel, le cycle cellulaire est constitué de la division (phase M = mitose + cytotélerèse) et de l'interphase (G1, S(synthèse d'ADN), G2).



E FAUX La chromatine n'est pas une structure fixe ! Donc en fonction des conditions, de l'environnement, de l'activité (par exemple la division), et de bien d'autres facteurs, la chromatine pourra se condenser (hétérochromatine, rendant la transcription du gène difficile) ou se décondenser (euchromatine, permettant la transcription facilitée du gène). La chromatine est en perpétuel remaniement d'où le fait que nous ne puissions pas dire que la quantité d'**hétéro**chromatine est constante pour une cellule donnée.

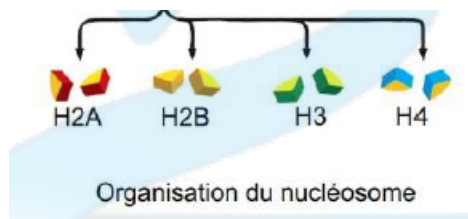
Question 2 : AE

A propos de l'ADN, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. L'ADN maintient l'assemblage des protéines histones dans le nucléosome.
- B. Le nucléosome est formé des histones H1, H2, H3 et H4.
- C. Chaque gène contient une origine de réplication.
- D. Le nombre de chromosomes est constant chez les mammifères.
- E. Les plasmides sont des épisomes.

A VRAI En effet, le nucléosome est la structure de base de la chromatine (uniquement chez les eucaryotes), et ce dernier est composé d'un octamère d'histones (donc 8 protéines histones) et d'environ 150 paires de bases s'enroulant environ deux fois autour de l'octamère. Dans un premier temps, l'ADN fixe les histones puis dans un second temps les histones s'assemblent et le tout forme le nucléosome. On peut donc bien dire que c'est l'ADN qui maintient l'assemblage des histones.

B FAUX Attention, les histones composant le nucléosome sont les suivantes (présentes en deux fois chacune) : (**H2A, H2B, H3 et H4**). H1 n'est pas présent au sein des histones du nucléosome !



C FAUX Attention, il ne faut **pas confondre l'origine de réplication** (sert à la synthèse d'ADN) **avec le promoteur** (en amont de chaque gène, utile à la transcription du gène) ! On ne trouve qu'une seule origine de réplication chez les procaryotes, et nous en trouvons

plusieurs chez les eucaryotes (sinon la synthèse de toute l'information génétique durerait 1 mois), mais elles ne sont absolument pas en amont de chaque gène.

D FAUX Attention, il n'y a aucun lien entre le nombre de chromosomes et le fait d'être un mammifère. A titre d'exemple, le chien possède 39 paires de chromosomes, alors que l'Homme n'en possède que 23. Pour rappel, la taille du génome ou encore le nombre de chromosomes n'est aucunement lié avec la complexité de l'organisme.

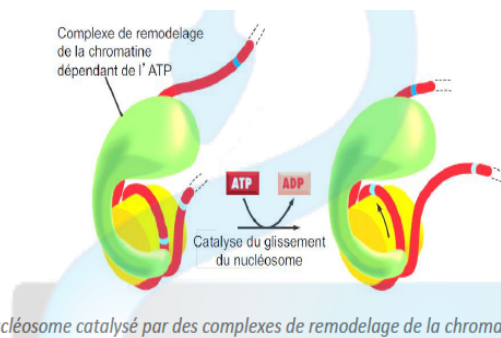
E VRAI Effectivement, plasmide et épisode désignent la même chose, à savoir un fragment d'ADN extra-chromosomique circulaire qui correspond à un système moléculaire développé par les bactéries (définition du cours à bien avoir en tête !).

Question 3 : ABCE

A propos de la chromatine, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

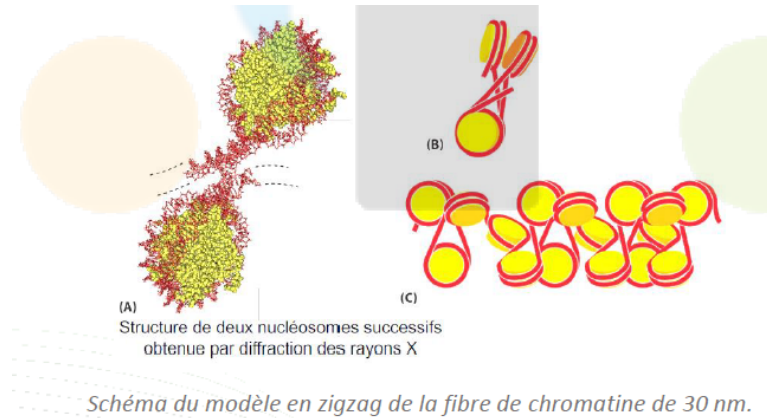
- A. Les complexes de remodelage de la chromatine utilisent de l'ATP.
- B. Les complexes de remodelage de la chromatine peuvent faire glisser les nucléosomes sur l'ADN.
- C. La fibre de 30nm se forme grâce à un empilement des nucléosomes de type « zig zag ».
- D. Les kinétochores se forment au niveau des télomères.
- E. On peut visualiser les boucles d'ADN des chromosomes dans les ovocytes d'amphibiens.

A VRAI En effet, les complexes de remodelage de la chromatine utilisent bien l'hydrolyse de l'ATP comme source d'énergie pour fonctionner.

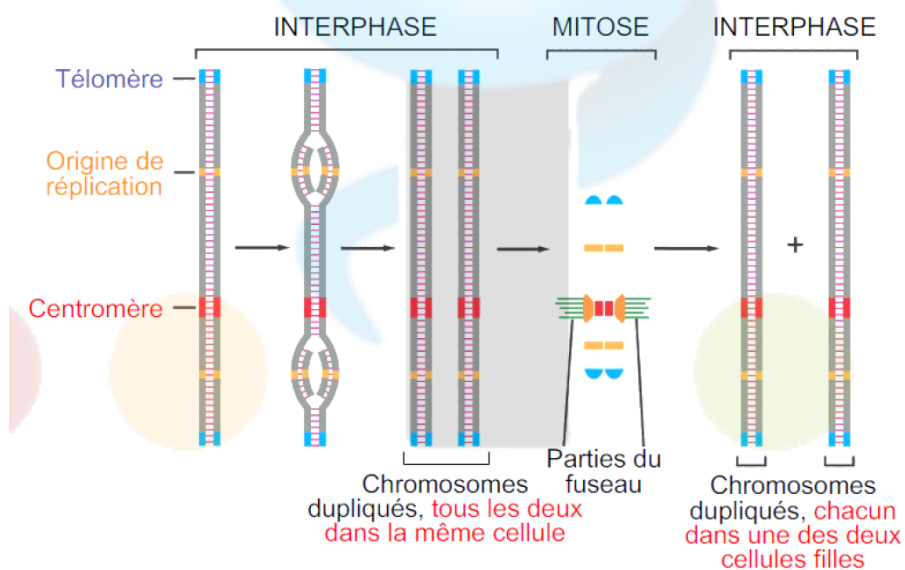


B VRAI C'est le principe des complexes de remodelage de la chromatine ! Leur principe d'action va être de se fixer devant le nucléosome et de le pousser pour dérouler l'ADN (permettant ainsi l'accès pour l'expression, la réparation etc. des séquences enroulées autour du nucléosome).

C VRAI C'est effectivement l'**empilement des nucléosomes** (pour rappel, le nucléosome seul fait environ 11 nm de diamètre) de **type zig-zag** qui permet d'obtenir la **fibre de chromatine de 30 nm** de diamètre (état de compaction supérieur par rapport au nucléosome de 11 nm de diamètre).

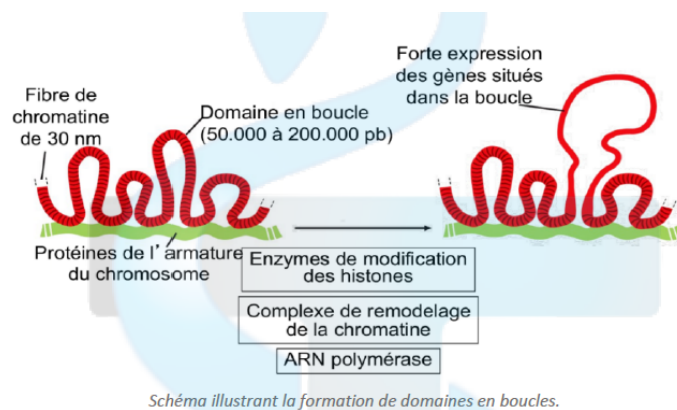


D FAUX Attention, ne pas confondre les télomères (extrémités du chromosome) avec le centromère (qui sépare le bras long et le bras court du chromosome). En effet, le kinétochore se forme au niveau du CENTROMERE des chromosomes.



(On voit au niveau de la colonne «mitose» que les parties du fuseau (via le kinétochore) s'attachent bien au niveau du centromère.)

E VRAI Effectivement, l'ovocyte d'amphibien est l'exemple pris par le professeur dans son cours pour illustrer les boucles d'ADN. Il est donc possible en microscopie optique et avec un réactif fluorescent d'observer les boucles d'ADN (présentes à une fréquence d'environ 10 000 boucles par chromosome).



Question 4 : BDE

A propos des ARN, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Les cohésines sont monomériques.
- B. L'ARN polymérase 2 est la seule à produire des ARN messagers.
- C. Le nucléole est une structure homogène visible en microscopie électronique.
- D. Les snoRNA sont impliqués dans la maturation des ARN ribosomiques.
- E. L'hybridation in situ permet de visualiser les territoires occupés par les chromosomes.

A FAUX Absolument pas ! Bien avoir en tête que les **cohésines** (servent à maintenir ensemble les chromatides sœurs d'un même chromosome après la réplication) sont constituées de **4 sous-unités**, à savoir **un dimère de SMC et un dimère de SCC**.

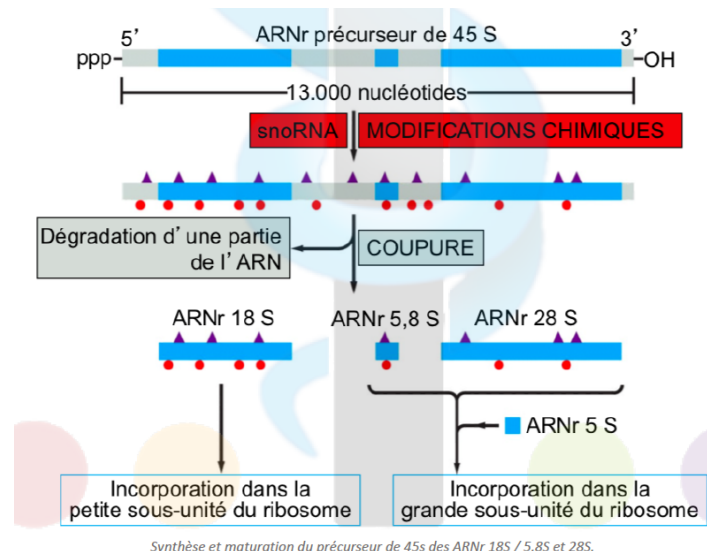
B VRAI C'est juste :) . Je vous remets le tableau du cours à bien avoir en tête indiquant quels sont les types d'ARN transcrits par chaque ARN polymérase. L'**ARN polymérase II** est bien **la seule à produire des ARNm** (=ARN messagers).

ARN polymérase	ARN transcrit
ARN polymérase I	ARN ribosomiques (sauf le 5S) (ARNr 5.8 S, 18 S et 28 S)
ARN polymérase II	ARN messenger (ARNm) microARN (miARN) <i>small interfering RNA</i> (siARN) <i>small nucleolar RNA</i> (snoARN) Certains snARN
ARN polymérase III	ARN de transfert (ARNt) ARN ribosomique 5S (ARNr 5S) <i>small nuclear RNA</i> (snARN) Autres petits ARN

C FAUX Le **nucléole** n'est **pas homogène** attention ! Bien avoir en tête que le nucléole comporte **différents composants** ayant chacun un rôle différent (voir le tableau ci-dessous). Ces différents composants sont distinguables en microscopie électronique.

Composant fibrillaire dense, centre fibrillaire	Composant granulaire
Synthèse des ARNr	Formation et maturation des ribosomes

D VRAI Effectivement, bien avoir en tête qu'après la production de l'ARNr 45S par l'ARN polymérase I, il y a nécessité de maturation de cet ARNr pour obtenir l'ARNr 5,8S, l'ARNr 18S et l'ARNr 28S. Pour cela, **les snoARN interviennent en attirant des enzymes servant à cliver** cet **ARNr 45S** à des endroits spécifiques pour obtenir les 3 ARNr que l'on vient de citer.



E VRAI C'est effectivement le cas :). Cette technique permet, grâce à des sondes d'acides nucléiques complémentaires des régions cibles, d'aller se fixer sur des régions de chromosomes voire des chromosomes entiers pour visualiser leur emplacement dans le noyau. Cette méthode a permis, entre autres, de déterminer que lorsqu'un gène est exprimé il change sa localisation dans le noyau, auparavant périphérique et regroupée avec son chromosome, pour se mettre dans une région plus distante du chromosome et plus centrale, qui permet une plus forte expression du gène.

Question 5 : ABDE

A propos des méthodes et techniques en biologie cellulaire et moléculaire, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Deux protéines distantes de 100 nm apparaîtront colocalisées en microscopie confocale.
- B. Le terme « palindrome » désigne une séquence de lettres dont l'ordre reste le même qu'on la lise de gauche à droite ou de droite à gauche.
- C. On peut utiliser un faisceau d'électrons pour exciter un fluorophore.
- D. Dans le CRISPR, les ARN guides contiennent deux parties.
- E. L'ARN guide du CRISPR recrute la protéine cas9.

A VRAI D'abord bien avoir en tête que la microscopie confocale est un type de microscopie optique :). Ensuite, bien se souvenir que la distance de résolution (distance séparant deux points en-dessous de laquelle ils apparaissent confondus) en microscopie optique est de 200 nm. Or, 100 nm est une distance bien inférieure à 200 nm soit à la limite de résolution donc les deux protéines séparées de 100 nm apparaîtront co-localisées en microscopie confocale.

B VRAI C'est la définition d'un palindrome (les séquences CRISPR qu'on retrouve chez les bactéries sont des palindromes par exemple).

C FAUX Attention, bien avoir en tête qu'**en microscopie électronique** on ne distingue **pas les couleurs** (image en noir et blanc en fonction du passage ou non des électrons à travers la structure) donc il n'y a **aucun intérêt** à utiliser de **la fluorescence**. Le piège était donc sur la **confusion électron/photon** (le photon étant utilisé en microscopie optique et pouvant contrairement à l'électron, exciter un fluorophore).

D VRAI Effectivement, l'ARN guide (sgARN) est formé de crARN (complémentaire à la séquence cible) et de tracrARN (sert à recruter l'endonucléase Cas9).

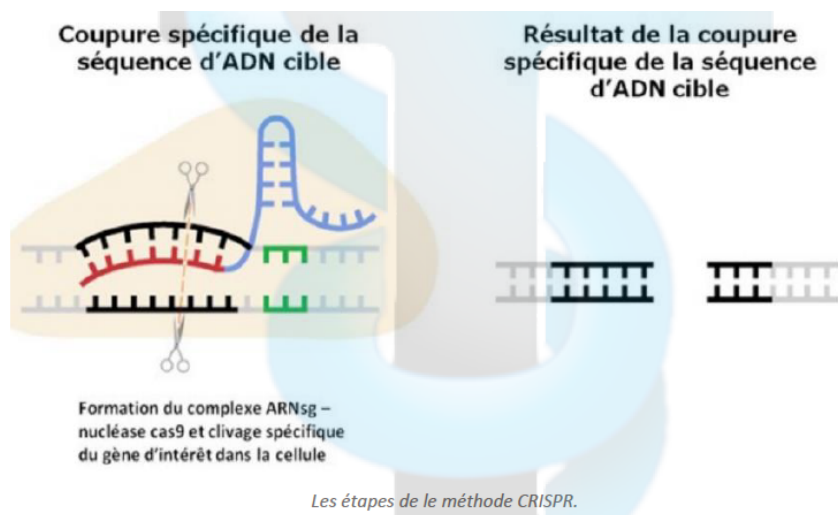
E VRAI Comme dit plus haut, tracrARN (donc une partie de l'ARN guide) sert à recruter l'endonucléase Cas9.

Question 6 : ABCE

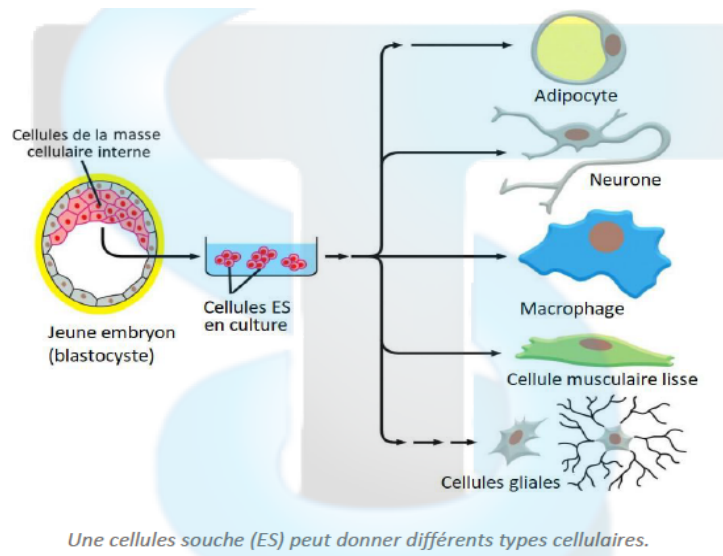
A propos des méthodes et techniques en biologie cellulaire et moléculaire, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Dans la méthode CRISPR, une nucléase coupe l'ADN.
- B. Les cultures de cellules ES permettent de générer différents types cellulaires.
- C. Les cellules iPS sont obtenues par reprogrammation de cellules différenciées.
- D. L'inhibition de contact est une caractéristique des cellules transformées.
- E. La cytométrie de flux permet de mesurer la proportion de cellules en phase S dans une population cellulaire.

A VRAI Encore une fois, il y a recrutement par tracrARN de l'endonucléase Cas9 qui viendra couper les deux brins de l'ADN au niveau de la séquence cible.



B VRAI Les **cellules souches embryonnaires en culture** (cellules **ES**) permettent effectivement de générer différents types cellulaires puisque ces dernières sont capables de **donner tous les types cellulaires de l'organisme SAUF LES ANNEXES** (elles sont donc pluripotentes). Pour cela, il suffit de mettre dans les boîtes de culture les molécules spécifiques entraînant vers la voie de différenciation que l'on souhaite faire prendre aux cellules (neurone, adipocyte...).



C VRAI Effectivement, les **cellules iPS (cellules souches pluripotentes induites)** sont issues de **cellules** qui étaient **au départ différenciées** (cellule sanguine, neurone etc.), mais qui ont été **dé-différenciées**, pour être **reprogrammées en cellules souches pluripotentes**, grâce à 4 facteurs de transcription (Oct4, klf4, sox2, cMyc (noms pas à retenir)). Puisqu'on obtient des cellules pluripotentes, on pourra obtenir au final tous les types cellulaires de l'organisme sauf les annexes !

D FAUX Au contraire, les cellules transformées (=mutées) acquièrent des avantages par rapport aux cellules saines, comme le fait de pouvoir «ignorer» l'inhibition de contact (normalement, lorsque la culture est pleine, les cellules arrêtent de se diviser à cause d'un signal qu'elles se transmettent lorsqu'elles se touchent pour éviter une prolifération excessive), permettant ainsi leur prolifération excessive (inhibition de contact perdue dans beaucoup de cancers).

E VRAI Le fait de pouvoir mesurer la proportion de cellules en phase S est un exemple d'utilisation de la cytométrie de flux. En effet, en utilisant des agents intercalants de l'ADN, on peut mesurer la quantité d'ADN et donc en déduire dans quelle phase du cycle cellulaire la cellule se trouve (on peut donc voir le nombre de cellules ayant doublé leur quantité d'ADN, c'est-à-dire en train de se multiplier).

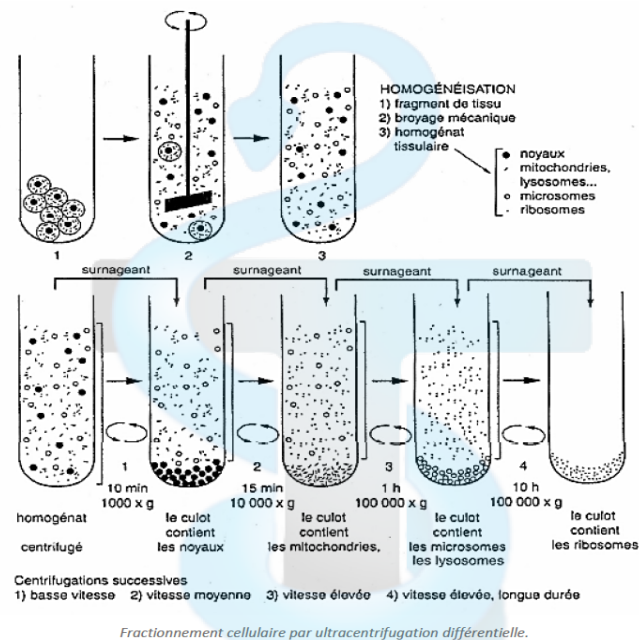
Question 7 : ACDE

A propos des méthodes et techniques en biologie cellulaire et moléculaire, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

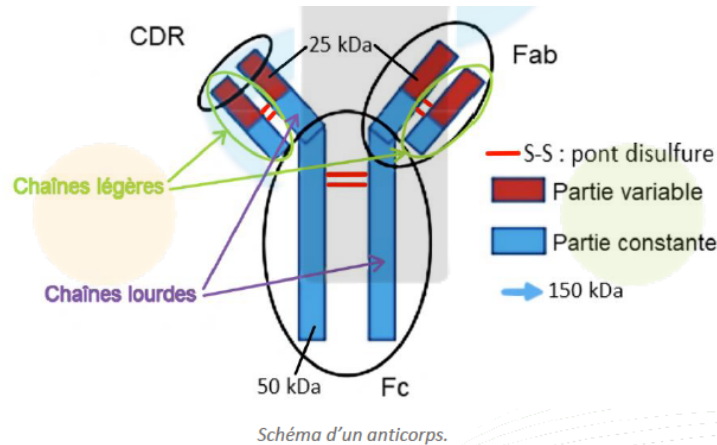
- A. Par centrifugation différentielle d'un extrait cellulaire on peut séparer les mitochondries des ribosomes.
- B. Les anticorps sont composés de deux polypeptides de 75 kDa reliés par des ponts disulfure.
- C. Un anticorps monoclonal provient du sérum d'un seul animal.
- D. En microscopie, le contraste de phase permet de mieux visualiser les phases liquides et solides.
- E. L'hybridation in situ fluorescente permet de visualiser la localisation de gènes dans le noyau.

A VRAI Effectivement, en centrifugation on peut séparer les constituants cellulaires selon leur taille et leur forme (plus le constituant est gros, plus il se retrouvera vite dans le culot,

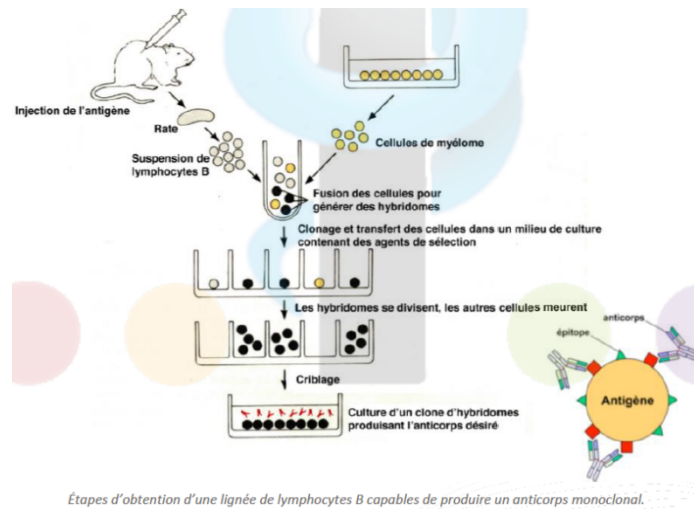
par exemple le noyau se retrouvera dans le culot avant les mitochondries). Les **ribosomes** étant les **constituants les plus petits pouvant être sédimentés et isolés par centrifugation**, ils se retrouveront **dans le culot après les mitochondries**. On peut donc par centrifugation différentielle séparer les mitochondries des ribosomes.



B FAUX Attention, les anticorps sont composés de deux chaînes lourdes de 50kDa chacune et de deux chaînes légères de 25kDa chacune liées entre elles par des ponts disulfures !



C VRAI Pour produire un **anticorps monoclonal**, il faut que l'on obtienne une colonie de cellules dérivant du **même lymphocyte B** (pour rappel un anticorps monoclonal provient d'un même lymphocyte B originel). Pour cela, on immunise l'animal contre la protéine qu'on souhaite détecter, puis on lui prélève sa rate (qui contient les lymphocytes B) et on fait fusionner ces lymphocytes B avec des cellules de myélome (cellules cancéreuses) pour obtenir des hybridomes (permet aux cellules de se multiplier très rapidement et par conséquent de produire beaucoup d'anticorps). Au final on obtient bien des anticorps **MONOCLONAUX**, et ce provenant d'**UN MÊME ANIMAL** !



D VRAI Effectivement, c'est l'intérêt du microscope à contraste de phase, qui permet aux rayons lumineux d'adopter des phases différentes selon la composition du milieu cellulaire traversé (donc par exemple à travers des milieux liquides et solides, ce qui permettra de mieux les distinguer et les différencier que sans contraste de phase).

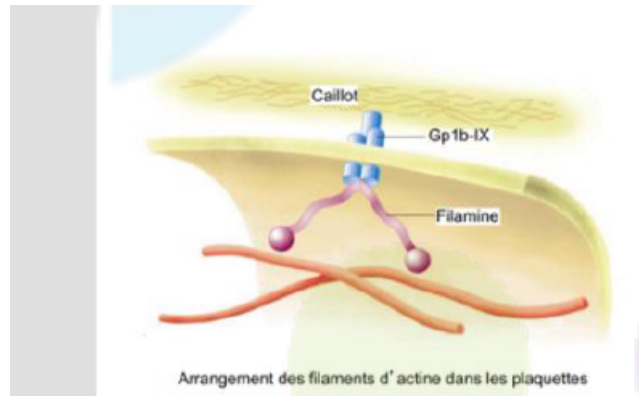
E VRAI Comme expliqué un peu avant, en hybridation in situ on utilise une sonde d'acide nucléique complémentaire du gène/de la séquence qui nous intéresse, et lorsque l'on marque par fluorescence ces sondes complémentaires, on effectue la technique de FISH (hybridation in situ fluorescente), qui nous permet notamment de détecter une fluorescence dans le noyau correspondant à la localisation du gène complémentaire de la sonde que nous avons injecté. En FISH, on peut donc bien observer la localisation de gènes dans le noyau :).

Question 8 : ACD

A propos du cytosquelette, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

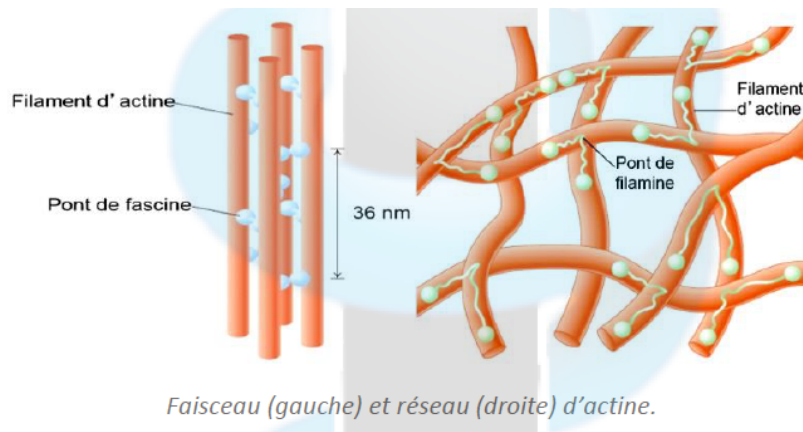
- A. Les filaments d'actine donnent leur forme aux plaquettes sanguines au cours des étapes de la coagulation.
- B. Les filaments d'actine sont impliqués dans le transport des protéines.
- C. Les filaments d'actine peuvent s'organiser sous forme de faisceaux, de réseaux plans ou de gels.
- D. Les filaments d'actine sont polarisés avec une extrémité plus et une extrémité moins.
- E. L'actine α et l'actine β interagissent grâce à une molécule d'ATP.

A VRAI C'est un des exemples pris par le professeur pour illustrer les rôles des filaments d'actine :). Les plaquettes peuvent changer de conformation très rapidement, ce qui nécessite la présence de filaments d'actine (ils auront pour rôle d'aplatir la cellule ce qui bouchera la plaie).



B FAUX Attention de ne pas confondre les rôles des filaments d'actine (forme/structure de la cellule, déplacements) avec les rôles des microtubules (transport des organites, des protéines grâce aux moteurs moléculaires, séparation des chromosomes durant la mitose et la méiose). Le transport des protéines est donc le rôle des MICROTUBULES.

C VRAI Effectivement, le faisceau (linéaire), le réseau plan (deux dimensions), et le gel (trois dimensions) sont les 3 modes d'organisation de l'actine :).



(Sur ces schémas, on ne voit que 2 des 3 organisations possibles avec les faisceaux et le réseau plan).

D VRAI Tout comme les microtubules, les filaments d'actine sont polarisés ! A l'extrémité +, l'actine est très dynamique et c'est ici que se fera la croissance des filaments d'actine. L'extrémité - quant à elle est beaucoup moins dynamique !

E FAUX L'actine α et l'actine β n'existent évidemment pas, le professeur a voulu vous faire confondre avec la **tubuline α** et la **tubuline β** , qui composent le microtubule ! Cependant l'actine (sous forme G) lie bien l'ATP, contrairement aux tubulines α et β qui lient le GTP.

Question 9 : D

A propos du cytosquelette, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

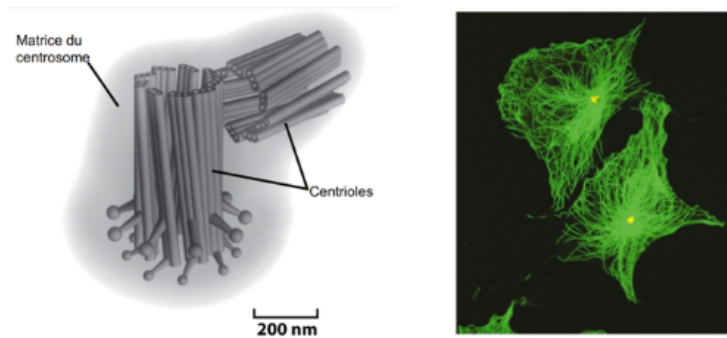
- A. L'actine et les microtubules constituent le cytosquelette.
- B. Les microtubules confèrent la résistance mécanique aux cellules.
- C. Les centrioles sont constitués de microtubules et d'actine.
- D. Le MTOC contient de la tubuline γ .

E. Les villosités se forment grâce à des faisceaux de microtubules.

A FAUX Bien avoir en tête que le cytosquelette n'est pas composé seulement d'actine et de microtubules, et qu'il contient aussi les **FILAMENTS INTERMÉDIAIRES** (d'environ 10 nm de diamètre), indispensables pour la résistance mécanique de la cellule. **Actine, microtubules et filaments intermédiaires** sont donc les trois composants principaux du **cytosquelette**.

B FAUX Comme nous venons de le dire dans l'item précédent, la résistance mécanique de la cellule est due aux filaments intermédiaires.

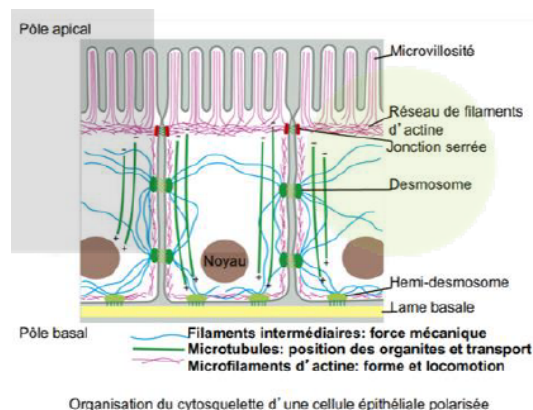
C FAUX Le **centriole** est effectivement **formé de microtubules**, mais il **ne contient pas d'actine** ! Au sein du centriole, les microtubules s'organisent en **9 triplets de protofilaments**. Le microtubule est donc le seul élément du cytosquelette à composer le centriole.



Deux centrioles perpendiculaires l'un à l'autre dans le centrosome à gauche, le MTOC mis en évidence par fluorescence grâce à une protéine de fusion de la tubuline γ (fluorescence rouge au centre, apparence jaune car superposition de vert et de rouge) et une protéine de fusion des tubulines α et β (vert).

D VRAI Effectivement, le MTOC contient de la tubuline γ , servant au démarrage de la polymérisation des microtubules (pour rappel, la polymérisation des microtubules démarre au niveau des centrioles (2 centrioles = 1 centrosome)). Le centrosome (=MTOC) est donc composé de tubuline γ .

E FAUX Attention, sous les microvillosités on trouve des filaments d'ACTINE et non des microtubules. Pour rappel, l'actine se trouve sous la membrane plasmique et permet de modifier la forme de la cellule (pour former les microvillosités par exemple).

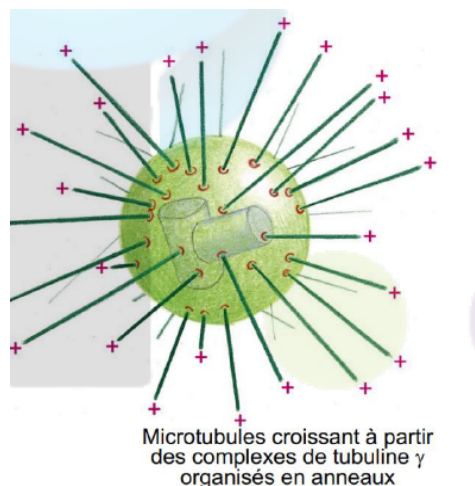


Question 10 : AC

A propos de la mitose, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

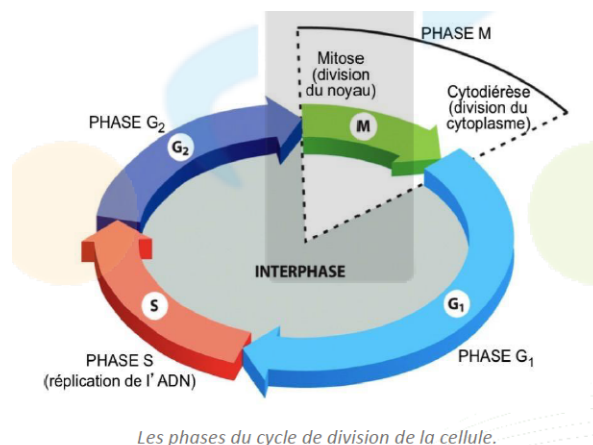
- A. L'extrémité moins des microtubules se trouve du côté du centrosome.
- B. La phase M du cycle cellulaire peut se résumer par une action de division du noyau.
- C. La réplication des chromosomes a lieu au cours de l'interphase.
- D. Pour former le fuseau mitotique la paire de centriole se sépare pour que chaque centriole se place de part et d'autre du noyau.
- E. Les microtubules des pôles se fixent au kinétochore.

A VRAI C'est juste :). L'extrémité - des microtubules est orientée vers le centrosome, c'est-à-dire l'origine des microtubules.



B FAUX Attention, pour rappel, la phase M du cycle cellulaire se compose de la mitose (division du noyau, en 5 étapes) et de la cytotérièse (division du cytoplasme). La phase M (6 étapes) ne se compose donc pas d'uniquement la division du noyau !

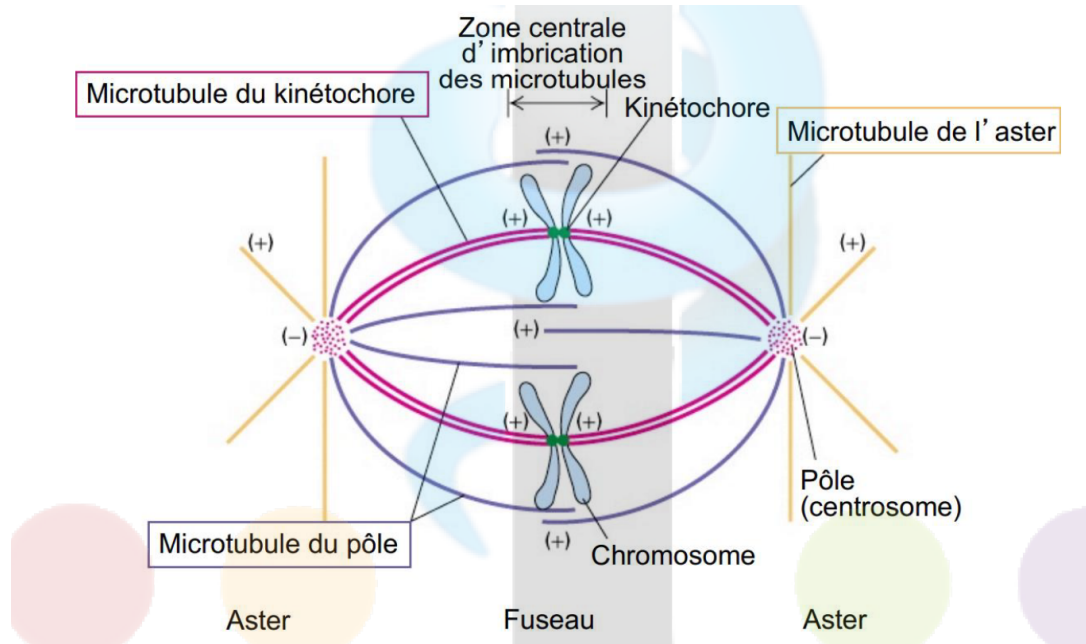
C VRAI En effet, la réplication des chromosomes a lieu durant l'interphase, et plus précisément durant la phase S (pour rappel, l'interphase est composée de la phase G₁, S et G₂).



D FAUX Bien avoir en tête que le centrosome se duplique en phase S et contient donc 4 centrioles avant la division. Puis lors de la formation du fuseau mitotique, il y a **séparation DES DEUX PAIRES de centrioles** pour former **deux MTOC distincts à chaque pôle de la cellule**. Il n'y a donc pas séparation de la paire de centrioles mais séparation des deux

paires de centrioles pour obtenir 2 centrioles (soit 1 MTOC) à chaque pôle de la cellule lors de la formation du fuseau de division.

E FAUX Les microtubules qui s'accrochent au kinétochore sont, par définition les microtubules des kinétochores. Les microtubules des pôles quant à eux, rencontrent les microtubules du pôle de l'autre MTOC et écartent les centrosomes l'un de l'autre grâce à des moteurs moléculaires. Voir le schéma suivant pour que cela soit plus clair :

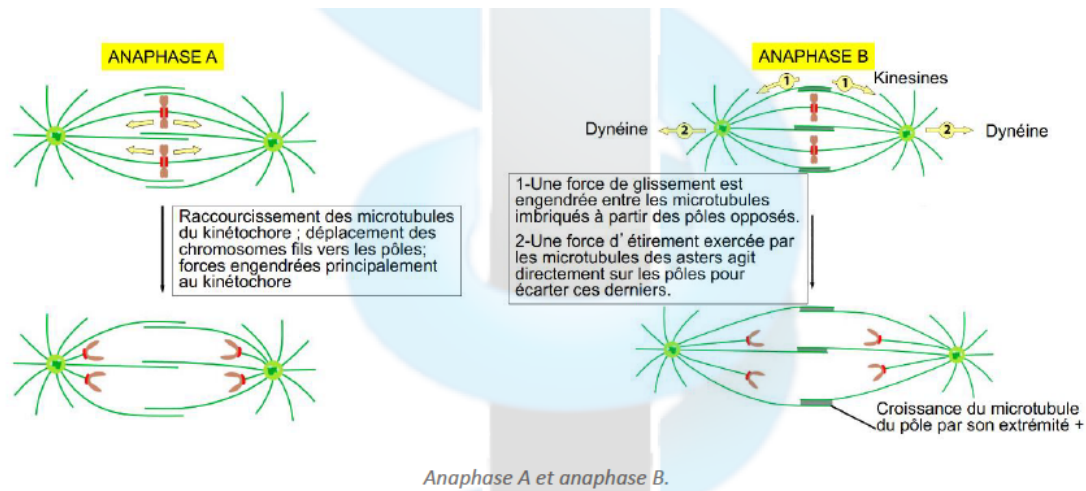


Question 11 : ACDE

A propos de la mitose, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Les dynéines et les kinésines participent à l'anaphase.
- B. Les microtubules des asters se fixent au kinétochore.
- C. La séparation des chromatides sœurs implique la dépolymérisation des microtubules.
- D. Trois types de microtubules constituent le fuseau mitotique.
- E. La cytotéière implique la myosine.

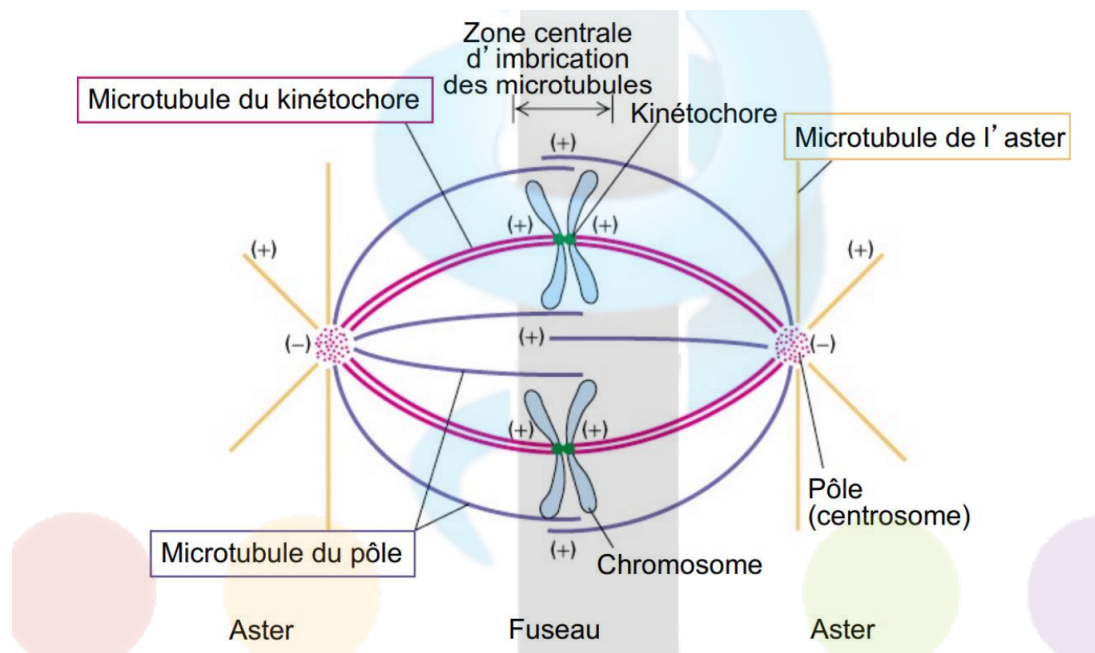
A VRAI Bien avoir en tête que l'anaphase se divise en deux «sous-étapes», à savoir l'anaphase A et l'anaphase B. Durant l'anaphase A, il y a un raccourcissement des microtubules des kinétochores, et il faut bien avoir en tête que les **microtubules du fuseau (= du kinétochore)** sont **attachés aux chromosomes par** une molécule de **kinésine**. Ensuite, durant l'anaphase B, il y a un **allongement des microtubules des pôles, attachés entre eux par** une molécule de **kinésine** (les kinésines vont écarter les microtubules des pôles, c'est la force de glissement de l'anaphase B). Également durant l'anaphase B, il y a un **raccourcissement des microtubules des asters, attachés à la membrane par** une molécule de **dynéine**, c'est la force d'étirement de l'anaphase B. On peut donc bien dire que **la dynéine et la kinésine interviennent durant l'anaphase**.)



B FAUX Comme nous l'avons précisé juste au dessus, les microtubules des asters s'attachent A LA MEMBRANE PLASMIQUE par le biais d'une dynéine. Ce sont les microtubules des kinétochores qui s'attachent au kinétochore.

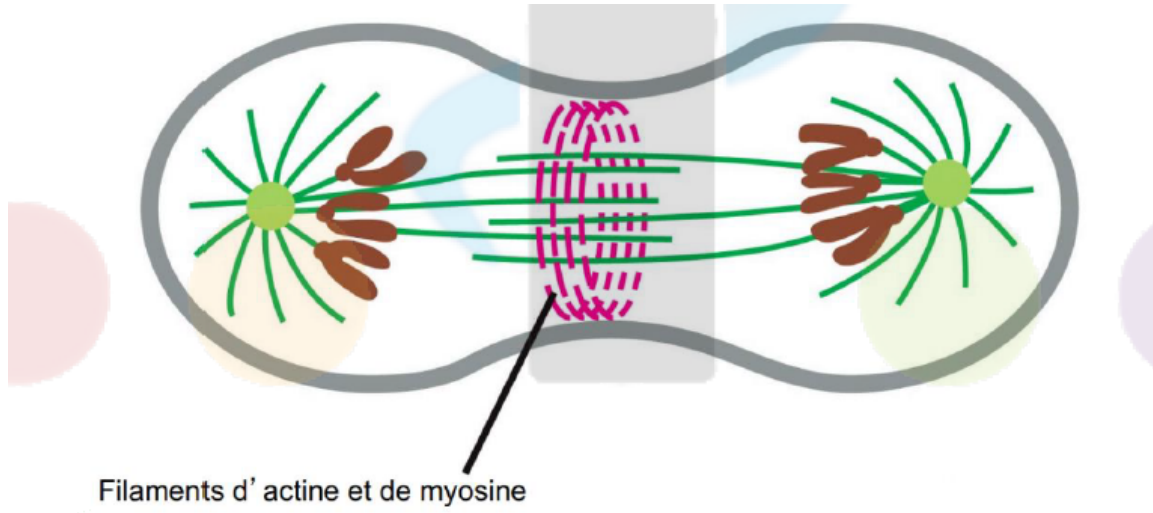
C VRAI Effectivement, pour permettre la séparation des chromatides soeurs, il y a nécessité de raccourcir les microtubules des kinétochores, ce qui implique une dépolymérisation à leur pôle + (du côté des chromosomes, puisque pour rappel le pôle - se trouve au niveau des centrosomes).

D VRAI Bien connaître les trois types de microtubules, à savoir les microtubules de l'aster (reliés à la membrane par une dynéine, permettent de rapprocher les centrosomes de la membrane plasmique), les microtubules du kinétochore (reliés par une kinésine aux centromères des chromosomes, permettant le déplacement des chromosomes sur la plaque équatoriale) et les microtubules des pôles (reliés entre eux par une molécule de kinésine, permettant l'écartement des deux pôles puisque ce sont les microtubules qui relient indirectement les deux centrosomes).



E VRAI Effectivement, la **cytodiérèse** implique la myosine puisqu'un **anneau de contraction (formé d'actine et de myosine)** se forme **sous la membrane** pour permettre la division du cytoplasme. Il y a glissement de l'actine sur la myosine à l'aide du

calcium et d'ATP. Ceci permet la contraction de la membrane plasmique et la rupture de la membrane en deux, pour former deux cellules filles.

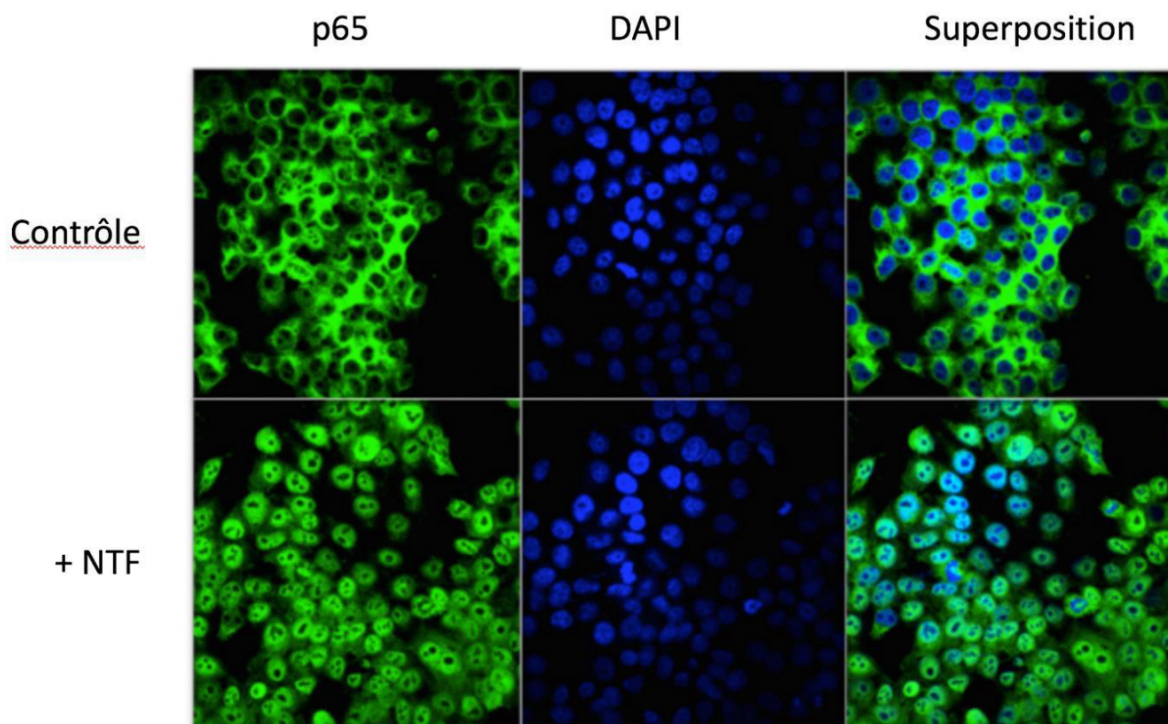


Énoncé commun pour les questions 12 à 18 :

TDP43 est une ribonucléoprotéine nucléaire hétérogène (hnRNP) dont on a découvert un rôle important dans les maladies neurodégénératives. TDP43 semble interagir avec l'activité du facteur NF- κ B, un facteur de transcription qui cible des centaines de gènes. On s'intéresse aux relations entre ces deux protéines.

Question 12 : ABC

On cultive in vitro une lignée de cellules dans lesquelles on peut activer les gènes dépendant de NF- κ B en ajoutant dans le milieu de culture le facteur protéique NTF, normalement sécrété par certains neurones au cours du développement. On dispose d'un anticorps polyclonal reconnaissant spécifiquement la sous-unité principale de NF- κ B appelée p65. On réalise un marquage par immunofluorescence des cellules non traitées (Contrôle) et traitées par le NTF. On marque également les cellules avec du DAPI, un colorant fluorescent qui a une forte affinité pour l'ADN. Les cellules marquées sont visualisées en microscopie confocale à fluorescence.



Indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Cette expérience a nécessité la fixation des cellules.
- B. Cette expérience a nécessité la perméabilisation des cellules.
- C. Cette expérience montre que le NTF provoque la translocation de p65 dans le noyau.
- D. Cette expérience montre que p65 contient un signal de localisation nucléaire.
- E. Cette expérience montre que p65 s'associe à l'ADN.

A VRAI Forcément puisqu'ici elles sont observées en microscopie or pour que des cellules soient correctement observables en microscopie et pour que leur organisation spatiale soit préservée dans le temps, elles doivent être fixées.

B VRAI On a ici une immunofluorescence sur des constituants qui se présentent à l'intérieur de la cellule or qui dit immunofluorescence dit anticorps mais si notre membrane plasmique (notamment) n'est pas perméabilisée alors nos anticorps ne pourront pas entrer à l'intérieur de la cellule. Il faut donc la perméabiliser afin de faire des « trous » dans celle-ci et laisser passer les anticorps qui vont nous informer (ou non) de la présence de constituants de la cellule.

C VRAI En effet, dans la situation Contrôle (donc sans NTF), on observe notre p65 qui se situe plutôt en périphérie du noyau : dans la colonne « Superposition » la fluorescence verte et la fluorescence bleue sont bien distinctes et ne se mélangent pas or la fluorescence bleue correspond au DAPI donc révèle l'ADN qui se trouve dans le noyau, donc p65 en situation Contrôle ne se situe pas dans le noyau. Cependant en présence de NTF, dans la colonne « Superposition » on observe que le bleu et le vert sont mélangés et que donc p65 (la sous unité de NF- κ B) est présent dans le noyau ce qui signe qu'il s'est transloqué dans le noyau (on voit bien que le bleu du DAPI est bien plus rétréci en raison de la fluorescence verte de p65).

D FAUX Rien dans cette expérience nous montre cela, la seule chose qui différencie les deux situations, pour l'instant, est l'ajout de NTF. On ne connaît même pas la taille de p65, peut être qu'elle n'a même pas besoin des caryophérines comme l'importine.

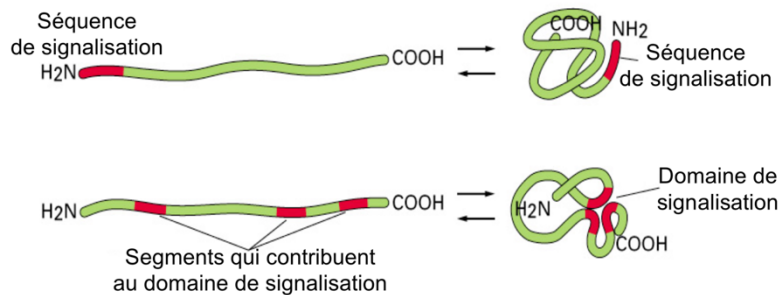
E FAUX Attention, l'expérience ne nous montre pas ça non plus, la seule chose qu'on peut déduire avec cette expérience est que p65 a été transloqué dans le noyau grâce au NTF mais on ne sait pas si p65 s'associe à l'ADN dans ce noyau ou pas grâce à cette expérience.

Question 13 : BD

Indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Les signaux de localisation nucléaire (NLS) sont situés à l'extrémité N-terminale des protéines.
- B. Les signaux de localisation nucléaire (NLS) interagissent avec des importines.
- C. Les protéines du noyau sont transportées dans des vésicules.
- D. Le facteur d'activation des protéines Ran catalyse la fixation de GTP sur la protéine RAN.
- E. Le GTP est la source d'énergie utilisée par les kinésines.

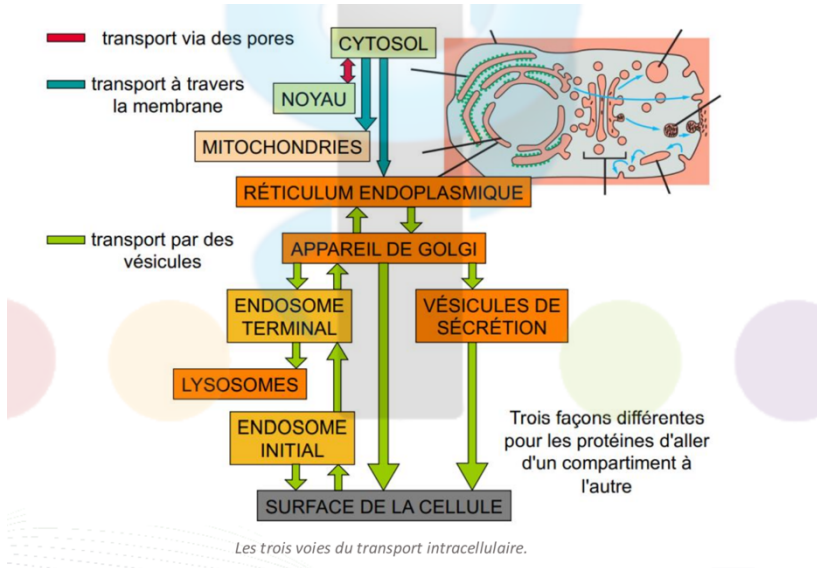
A FAUX ATTENTION ++++++ NON !! Le NLS et le NES peuvent se situer n'importe où dans la protéine, il peut même être « décomposé » en plusieurs morceaux dans la protéine et une fois qu'elle se replie elle forme un NLS/NES (Voir schéma ci-dessous). Mais attention à ne pas confondre avec le peptide signal (qui désigne le peptide d'adressage au RE) qui lui est **toujours** en N-terminal (confirmé par le professeur lors d'une question) !!!



Deux façons de construire une séquence de signalisation

B VRAI Tout à fait et le NES interagit avec l'exportine.

C FAUX Les protéines du noyau ne nécessitent pas de transport vésiculaire, elles passent soit à travers les **pores** du noyau, librement si leur poids moléculaire leur permet (inférieur à 5000 Da voir 30 000 Da) ou alors grâce à des importines/exportines (caryophérines) mais sûrement pas grâce à des vésicules ! (Voir schéma ci-dessous)

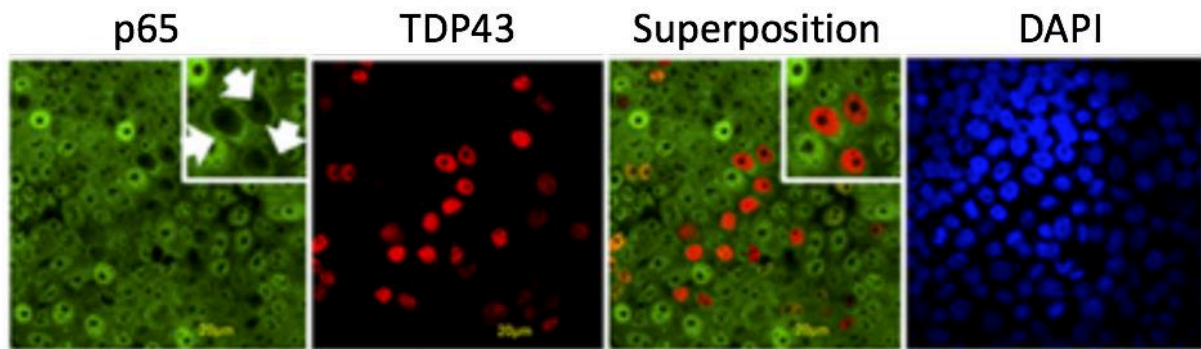


D VRAI Oui ! Ici ce n'est pas explicité mais quand on parle du « facteur d'activation des protéines de Ran » on parle de Ran GEF (c'est elle qui permet d'avoir Ran sous forme active), il catalyse bien la fixation du GTP sur RAN à la place du GDP pour rendre/maintenir Ran actif. Ici on ne parle pas de l'activation de l'activité GTPase de Ran faite pas Ran-GAP !

E FAUX ATTENTION ! Les moteurs moléculaires comme les kinésines et les dynéines utilisent de l'ATP et pas du GTP.

Question 14 : D

On transfecte les cellules avec un vecteur permettant l'expression d'une fusion entre TDP43 et la protéine mCherry qui fluoresce dans le rouge. 48 heures après transfection, on traite les cellules avec du NTF et on réalise les mêmes colorations que dans l'expérience précédente. Dans la figure ci-dessous, un détail de l'image est présenté à plus fort grossissement dans l'encart en haut à droite.



Indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Ces résultats montrent que la lignée cellulaire utilisée n'exprime pas TDP43.
- B. Ces résultats montrent que le NTF permet la translocation de TDP43 dans le noyau des cellules.
- C. Ces résultats montrent que TDP43 est présente dans le nucléole.
- D. La détection de la protéine de fusion TDP43-mCherry est possible dans des cellules vivantes.
- E. Ces résultats montrent que dans les conditions de détection utilisées, la fluorescence de la mCherry bloque la détection de p65.

A FAUX On ne peut pas dire cela, ici on transfecte les cellules avec un vecteur permettant l'expression d'une fusion entre TDP43 et la protéine mCherry, donc on ajoute aux cellules du matériel génétique pour produire TDP43. Ces cellules vont donc produire TDP43 (fusionné à mCherry) et ici de manière artificielle (on la repère grâce au rouge). Donc elles expriment bien TDP43 grâce à notre manipulation cependant on a aucun moyen de savoir si elles expriment TDP43 de manière naturelle. Donc faux car ici elles l'expriment bien (même si de manière artificielle) et l'expression naturelle de TDP43 est impossible à déduire avec cette expérience.

B FAUX Attention ! Ici on a SEULEMENT la condition NTF et pas la condition Contrôle dans le cadre de l'étude de TDP43. On observe bien grâce à la colonne « Superposition » et DAPI que TDP43 est localisé dans le noyau en présence de NTF MAIS ATTENTION **ne pas conclure que TDP43 s'est donc transloqué dans le noyau grâce à NTF**, car nous n'avons pas la condition témoin, **sans NTF**, donc on ne sait pas si sans NTF TDP43 est bien dans le cytosol ou non. En effet, peut-être être qu'elle est déjà dans le noyau même sans NTF donc comme on n'a pas notre condition « Contrôle » on ne peut pas déduire que le NTF permet la translocation de TDP43.

C FAUX On peut déduire que TDP43 se situe dans le noyau comme dit précédemment mais on ne peut pas dire qu'il se situe dans le nucléole car si on regarde bien les coins haut-droit des photos qui montrent une partie zoomée de l'image, on observe dans « Superposition » qu'une partie du noyau reste grisée voir noire, on a une sorte de point à travers le vert et le rouge des cellules. Ce « point » représente le nucléole et il n'est pas coloré en rouge (ni en vert d'ailleurs c'est bien du gris, noir) donc pas de TDP43 dans le nucléole.

D VRAI Oui ! Car on n'utilise pas d'anticorps pour détecter mCherry ! La protéine de mCherry est comme la GFP, une protéine qui va nous permettre de localiser les constituants cellulaires en fusionnant sa séquence avec la séquence de la protéine d'intérêt (ici TDP43) pour avoir une protéine de fusion qui va émettre de la fluorescence. Donc pas besoin de perméabiliser et donc de tuer des cellules, il suffit juste de les transfecter avec un vecteur.

E FAUX Pas du tout. On observe quelques cellules en orange ce qui signifie que l'on a détecté de la fluorescence dû aux anticorps anti-p65 (vert) ET dû à mCherry (rouge). Donc mCherry ne bloque pas la détection de p65 !

Question 15 : BCE

Indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Les protéines qui résident dans le cytosol sont exclues du noyau car elles contiennent un signal d'export nucléaire (NES).
- B. Le pH est identique à l'intérieur du noyau et dans le cytosol.
- C. Le pH est plus élevé dans la matrice mitochondriale que dans le cytosol.
- D. Le pH est plus élevé dans les endosomes que dans le cytosol.
- E. L'ouverture des canaux perméables au calcium présents dans la membrane du réticulum endoplasmique provoque une élévation de la concentration des ions calciques libres dans le noyau.

A FAUX Pas forcément. Il peut y avoir des protéines cytosoliques qui sont exclues du noyau car elles ont un NES mais TOUTES les protéines cytosoliques n'ont pas de NES, certaines ont un diamètre tellement grand qu'elles ne passeront de toute façon pas par les pores du noyau.

B VRAI Le cytosol et le noyau sont en continuité par des pores donc leur pH est identique !

C VRAI Oui ! On a des protons (H^+) qui sont relargués dans l'espace inter-membranaire de la mitochondrie (grâce à la chaîne respiratoire, voir schéma) mais beaucoup moins de protons dans la matrice mitochondriale (en gris dans le schéma). On a un gradient de proton de part et d'autre de la membrane interne, donc entre l'espace inter-membranaire et la matrice mitochondriale. Or qui dit H^+ diminué dit moins d'acidité (pH haut), donc la matrice mitochondriale a un pH plus basique que l'espace inter-membranaire. OR la membrane externe est très perméable donc le cytosol et l'espace inter-membranaire ont un pH équivalent donc le cytosol (comme l'espace inter-membranaire) est plus acide que la matrice mitochondriale qui a donc un pH plus élevé (basique).

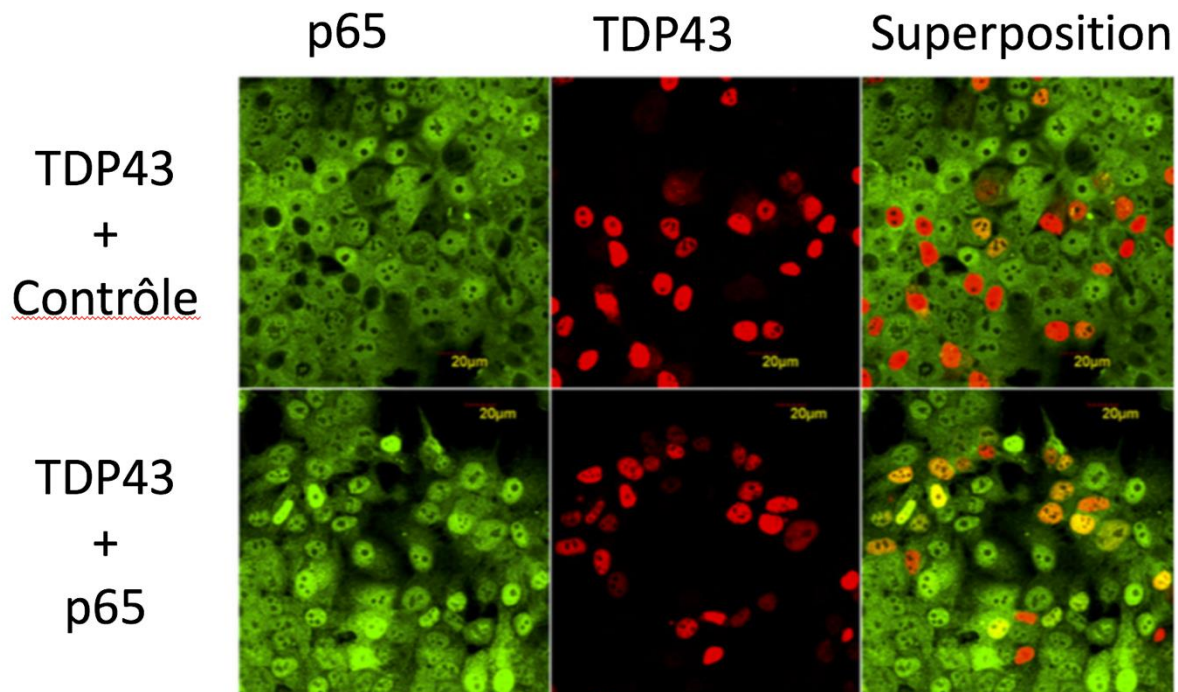
ci-dessous). Or le RE possède énormément de calcium donc l'ouverture de ces canaux va entraîner la fuite du calcium vers le cytosol et va donc augmenter la concentration calcique du cytosol et donc aussi celle du noyau comme les deux sont en continuité.

		Concentration intracellulaire (mM)	Concentration extracellulaire (mM)
Cations	Na ⁺	<u>5-15</u>	<u>145</u>
	K ⁺	<u>140</u>	<u>5</u>
	Mg ²⁺ (libre)	0,5	1-2
	Ca ²⁺ (libre)	<u>10⁻⁴</u>	<u>1-2</u>
	H ⁺	7.10 ⁻⁵ (ou 10 ^{-7,2} ou pH = 7,2)	4.10 ⁻⁵ (10 ^{-7,4} ou pH = 7,4)
Anions	Cl ⁻	5-15	110

Le REL est un lieu de séquestration du Ca²⁺ donc important dans la signalisation cellulaire.

Question 16 : ABE

Pour tester l'interaction entre TDP43 et p65, on transfecte des cellules soit avec le vecteur d'expression TDP43-mCherry et un plasmide qui ne permet pas l'expression de protéines (ligne TDP-43 + Contrôle), soit le vecteur d'expression TDP43-mCherry et un vecteur d'expression de p65 (ligne TDP-43 + p65). Les cellules sont ensuite traitées comme dans l'expérience précédente.



Indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Pour exprimer TDP43 à partir d'un plasmide, il n'est pas nécessaire d'utiliser le promoteur du gène TDP43.
- B. Les ARN messagers exprimés à partir des plasmides transfectés sont transcrits dans le noyau.

- C. Les images montrent que pour détecter TDP43 exprimé à partir des plasmides transfectés, il a fallu fusionner TDP43 à la GFP.
- D. Ces résultats montrent que la protéine TDP43 est systématiquement envoyée dans le noyau quand elle est exprimée à partir d'un plasmide.
- E. L'ensemble des résultats obtenus dans les expériences présentées sont compatibles avec une compétition entre TDP43 et p65 au niveau de la machinerie impliquée dans le trafic nucléocytoplasmique.

A VRAI Pour exprimer TDP43 on ne doit **pas forcément** utiliser le promoteur de TDP43 mais on peut utiliser un autre promoteur « plus fort » qui va permettre d'exprimer TDP43 dans les cellules !

B VRAI On transcrit toujours dans le noyau chez les eucaryotes même quand l'information génétique provient d'un plasmide ! (Ici les cellules sont eucaryotes, elles ont bien un noyau que l'on a pu voir avec les autres expériences).

C FAUX Rien à voir, on n'a mentionné la GFP nulle part, ici c'est mCherry qui a été fusionné à TDP43. (Et c'est bien mieux comme ça car la GFP donne une fluorescence verte qui pourrait être confondue avec la fluorescence des anticorps anti-p65, ici mCherry permet la fluorescence rouge.)

D FAUX Dans cette expérience elle se trouve bien dans le noyau mais on ne peut pas savoir avec cette expérience si elle va aller ou non dans le noyau lorsqu'elle n'est pas exprimée à partir d'un plasmide, donc exprimée « naturellement ». Peut-être qu'elle va quand même aller dans le noyau si on ne l'exprime pas à partir d'un plasmide. Lien de causalité entre l'utilisation du plasmide et la translocation de TDP43 dans le noyau ne peut pas être établi avec cette expérience.

E VRAI On observe dans cette expérience qu'en condition « TDP43 + Contrôle » donc sans expression de p65, on retrouve beaucoup plus de fluorescence rouge, donc beaucoup plus de TDP43, dans les noyaux des cellules que dans la condition « TDP43 + p65 » où p65 est exprimée et où l'on retrouve moins de TDP43 et plus de p65 par rapport à la condition précédente. On sait que les deux protéines peuvent être présentes dans le noyau grâce aux expériences précédentes. Il y a donc une compétition entre TDP43 et p65 au niveau de la machinerie impliquée dans le trafic nucléocytoplasmique.

Question 17 : BDE

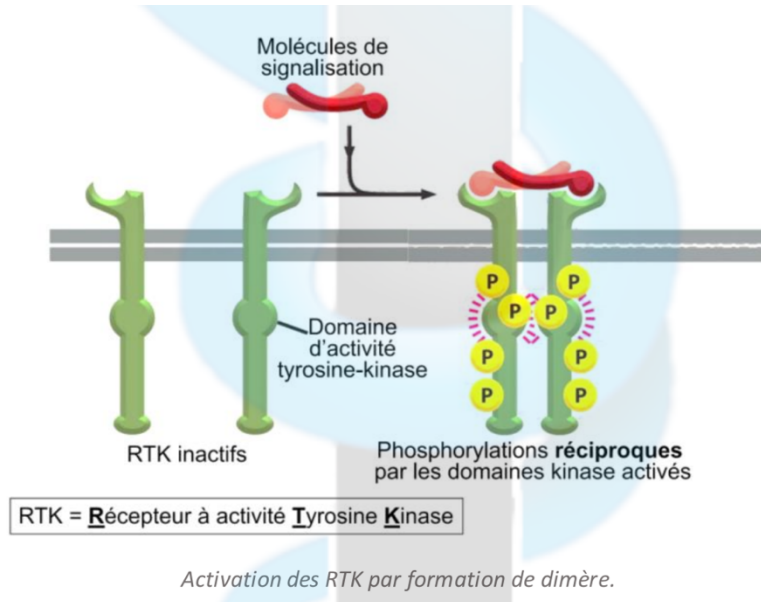
Le facteur NTF utilisé pour activer le facteur NF- κ B se fixe sur un récepteur transmembranaire à activité tyrosine-kinase appelé NTF-R. Sur la base de vos connaissances des propriétés générales de la superfamille des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase, indiquez la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

- A. Le facteur NTF peut stimuler l'activité tyrosine-kinase de NTF-R en diffusant à travers la membrane plasmique.
- B. La liaison du NTF sur son récepteur provoque la dimérisation de NTF-R.
- C. La liaison du NTF sur son récepteur provoque la dissociation de la protéine G trimérique associée à NTF-R.
- D. Le domaine kinase de NTF-R est capable de phosphoryler des tyrosines présentes dans la région intracellulaire de la protéine NTF-R.
- E. L'activation de NTF-R peut conduire à la phosphorylation d'une sérine de la protéine p65.

A FAUX Non justement NTF est en dehors de la cellule et il va se fixer sur le récepteur transmembranaire NTF-R qui lui se trouve dans la membrane plasmique. C'est le principe

des récepteurs transmembranaires : permettre à un ligand extra cellulaire d'activer une signalisation intracellulaire quand ce ligand se fixe sur un domaine du récepteur situé en extra-cellulaire.

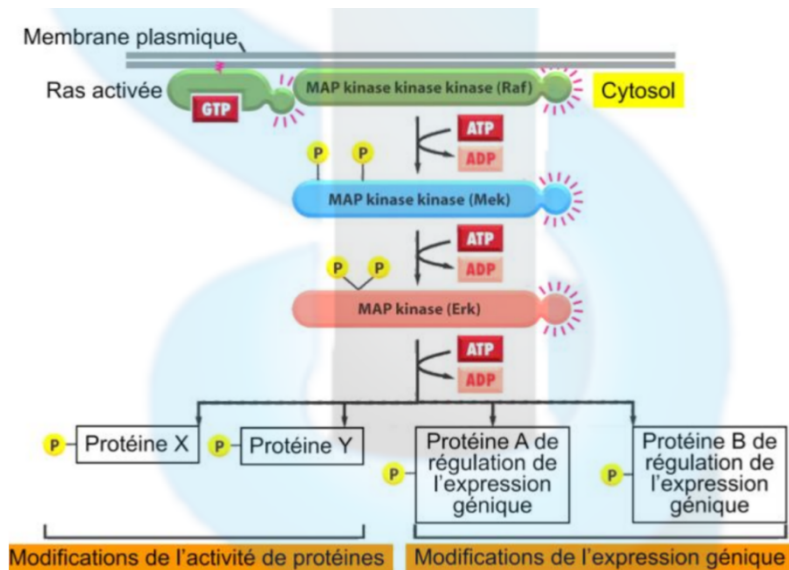
B VRAI Tout à fait, c'est ce qu'on retrouve dans les récepteurs à activité tyrosine-kinase : en réponse à la fixation du ligand, les récepteurs se dimérisent pour ensuite avoir une auto-phosphorylation.



C FAUX ATTENTION, pas tout confondre ! Ici on parle de récepteurs à activité tyrosine-kinase, elles n'ont pas de protéine G ! C'est les récepteurs couplés à la protéine G (récepteurs à 7 passages transmembranaires) qui ont cette protéine G trimérique et provoquent la dissociation de celle-ci en réponse à la fixation du ligand.

D VRAI Oui, après fixation du ligand et dimérisation des récepteurs, les récepteurs vont se phosphoryler de manière réciproque. Ensuite un récepteur pourra phosphoryler les tyrosines de ses autres sites dans la région intra-cellulaire (auto-phosphorylation).

E VRAI L'activation du récepteur à activité tyrosine-kinase NTF-R va permettre une cascade de phosphorylation qui peut donner lieu à une phosphorylation d'une sérine de p65 pour potentiellement l'activer. (On voit une cascade de phosphorylation dans ce schéma ci-dessous, avec des protéines qui peuvent être finalement phosphorylées ce qui va avoir un impact).



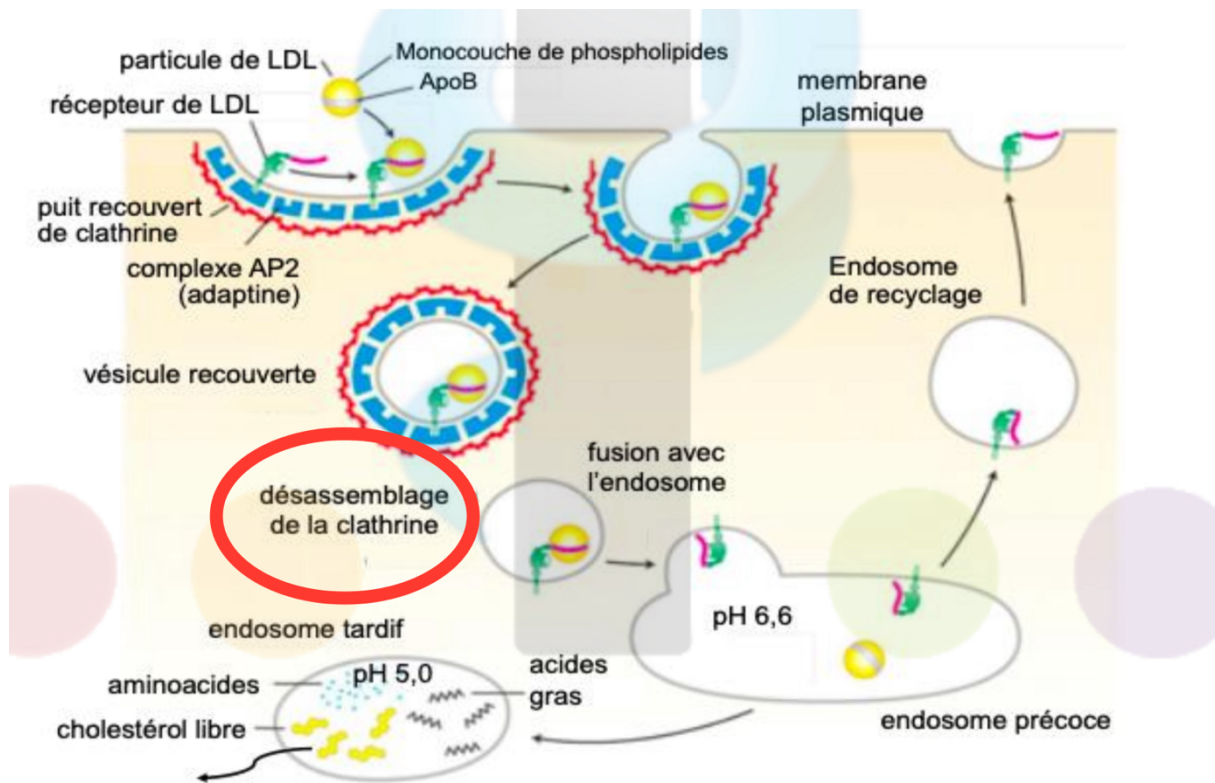
Voie de phosphorylation par des MAP-kinases activées par Ras.

Question 18 : ABCE

On observe que la fixation du NTF sur son récepteur provoque son endocytose. Sur la base de vos connaissances générales, indiquez-la ou les affirmations correctes parmi les propositions suivantes :

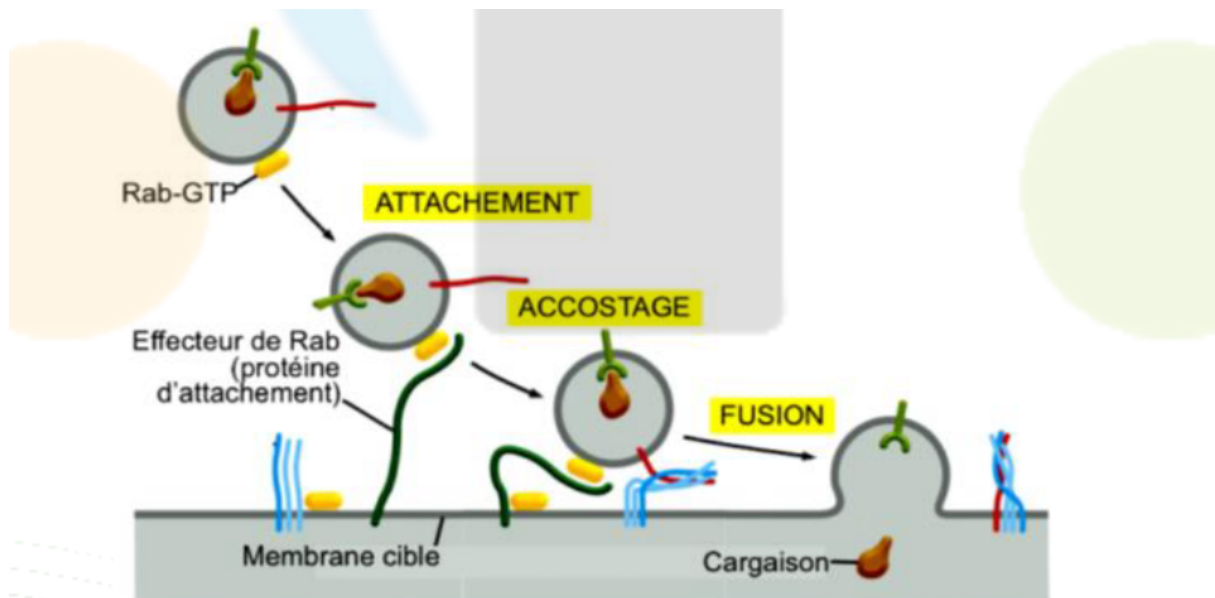
- A. La fusion des vésicules d'endocytose avec les endosomes précoces nécessite le désassemblage du manteau de clathrine.
- B. La fusion des vésicules d'endocytose avec les endosomes précoces nécessite des protéines de la famille des protéines SNARE.
- C. L'endocytose du NTF-R ne conduit pas nécessairement à sa dégradation.
- D. Après endocytose, les protéines de la membrane plasmique sont dégradées par le protéasome.
- E. Les transporteurs de type V utilisent de l'ATP comme source d'énergie pour acidifier le contenu des lysosomes.

A FAUX Oui ! Avant la fusion avec l'endosome précoce on désassemble le manteau de clathrine. C'est ce qu'on voit dans les étapes d'une endocytose par récepteurs interposé comme avec le récepteur des LDL donné en exemple dans le cours (voir schéma ci-dessous).



Voie d'endocytose qui conduit à l'internalisation des LDL.

B VRAI Oui, la fusion de la vésicule et de l'endosome précoce nécessite une fusion des deux membranes et cela se fait en partie grâce aux protéines SNARE (en bleu et rouge sur le schéma ci-dessous).



Attachement d'une vésicule à la membrane cible.

C FAUX Après l'endocytose il y a trois voies : la dégradation, le recyclage et la transcytose. Le récepteur peut très bien être recyclé ou alors être exposé de l'autre côté de la cellule par transcytose, il n'est pas nécessairement dégradé.

D VRAI Non, après endocytose on a bien vu que les protéines endocytées peuvent être dégradées mais elles seront amenées au lysosome pas au protéasome ! Les protéines endocytées se dirigent vers le lysosome si elles doivent être dégradées, l'endosome tardif va fusionner avec le lysosome pour donner l'endolysosome.

E VRAI Vrai voir le cours ! (je suis grave sympa je vous mets le schéma ci-dessous avec les trois types de transporteurs du cours et les 3 consomment bien de l'ATP ;)).

