Qa6 : Parmi les acides aminés suivants, lequel est prépondérant dans les molécules de collagène? *(cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)*

A. Ala **B.** Glu **C.** His **D.** Phe **E.** Asp **F.** Gly

Qa7 : Combien de sous-unités contient une molécule de laminine ? *(cochez le chiffre correspondant à la bonne réponse)*

Qa8 : Quel est le nom des récepteurs membranaires permettant la fixation des cellules à la laminine ? *(codez le nom correspondant)*

Qa9 : Quel est l'ordre de grandeur de la taille d'une molécule de fibronectine ?

A. 5 kDa **B.** 50 kDa **C.** 500 kDa **D.** 5000 kDa

Qa10 : Quelle sorte de collagène forme le collagène de type II ? *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)*

A. Fibrillaire **B.** Associé aux fibrilles **C.** Branchement

Qa11-15 : On s'intéresse dans la Figure 1 au rôle de la molécule Hes1 dans l'hématopoïèse. Les chercheurs ont créé une lignée de souris mutantes pour Hes1 (*Hes1*$^{\Delta MxCre}$), et étudient l'effet de la mutation sur les cellules souches hématopoïétiques, qui expriment les marqueurs membranaires CD117 et Sca1.

Qa11 : La Figure 1a présente la liste des réactifs disponibles pour marquer les cellules par cytométrie de flux. Indiquez le ou les réactifs que vous allez choisir pour détecter **de façon optimale** le marqueur CD117 **dans le double marquage**. *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)*

Qa12 : De même, indiquez le ou les réactifs que vous allez choisir pour détecter **de façon optimale** le marqueur Sca1 **dans le double marquage**. *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)*

Qa13 : D'après la Figure 1b, quel est le pourcentage de cellules exprimant Sca1 dans les souris contrôle (Ctrl) ? *(Cochez le ou les chiffres du nombre correspondant à la réponse).*

Qa14 : D'après la figure 1b, quel est le pourcentage de cellules exprimant CD117 dans les souris mutantes *Hes1*$^{\Delta MxCre}$? *(Cochez le ou les chiffres du nombre correspondant à la réponse).*

Qa15 : La mutation *Hes1*$^{\Delta MxCre}$ affecte-t-elle les cellules souches hématopoïétiques? *(Répondez par oui ou non)*

a.

Réactifs disponibles:

A. Anticorps de lapin anti-CD117
B. Anticorps de souris anti-Sca1 biotinylé
C. Anticorps de lapin anti-Sca1
D. Anticorps de souris anti-Sca1 couplé FITC
E. Anticorps de souris anti-Sca1
F. Anticorps de lapin anti-CD117 couplé PE
G. Streptavidine-Alexa Fluor 488
H. Anticorps de chèvre anti-lapin couplé FITC
I. Anticorps de lapin anti-souris couplé PE

Propriétés des fluorochromes:

Fluoro-chrome	Absorbance max. (nm)	Emission max. (nm)
Alexa Fluor 488	495	519
FITC	490	525
PerCP	490	675
PE	490	578

b.

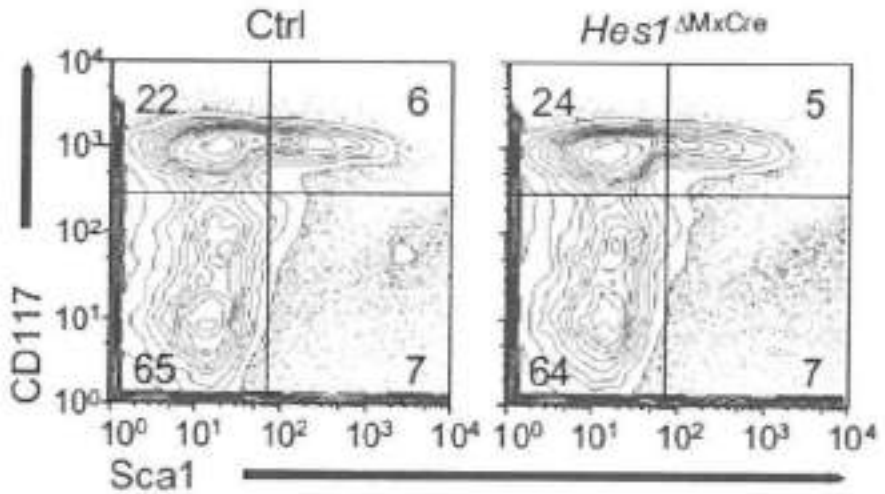


Figure 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA VIE

Licence Sciences du Vivant 2ème année
2012-2013,
Intitulé UE : Dynamique et Régulations Cellulaires
Contrôle Continu N°2
Durée : 1 heure
Enseignant : AC SCHMIT

UNIVERSITE DE STRASBOURG

N° d'anonymat : _____

L'usage des téléphones portables est interdit *pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.*
Aucune calculatrice *n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.*

Cochez les réponses justes ou répondez à la question

1. La GFP (green fluorescent protein)
   a. ☐ est un heptapeptide fluorescent
   b. ☐ est un marqueur que l'on peut associer à un anticorps secondaire
   c. ☐ une protéine de 26 kDa
   d. ☐ possède un domaine de liaison au microtubule
   e. ☐ colore le noyau et le cytoplasme lorsqu'elle est exprimée dans une cellule transgénique
   f. ☐ permet de suivre une protéine fusionnée avec elle dans la cellule vivante.

2. Le DAPI est :
   a. ☐ une petite protéine
   b. ☐ une molécule chimique
   c. ☐ utilisable pour révéler les noyaux
   d. ☐ inutilisable pour révéler de l'ADN bactérien
   e. ☐ un marqueur de localisation de sa protéine de fusion
   f. ☐ un marqueur de localisation de nucléotides

3. l'iodure de propidium :
   a. ☐ marque les noyaux des cellules vivantes
   b. ☐ marque les noyaux des cellules mortes
   c. ☐ marque les parois végétales des cellules vivantes
   d. ☐ marque les parois végétales des cellules mortes
   e. ☐ marque les membranes plasmiques des cellules vivantes
   f. ☐ ne marque pas les membranes plasmiques

4. Quel nom donne-t-on à une petite molécule fluorescente qui interagit directement avec une cible spécifique ?

   _____

5. On réalise un simple immunomarquage indirect pour
   a. ☐ marquer une cible dans le plus grand nombre de cellules d'un échantillon fixé
   b. ☐ révéler tous les antigènes d'une cellule
   c. ☐ éviter de tuer les cellules que l'on veut marquer
   d. ☐ suivre la cinétique de localisation d'un type spécifique de protéines cellulaires
   e. ☐ révéler la localisation d'antigènes dirigés contre une cible spécifique
   f. ☐ pouvoir observer où une protéine d'intérêt est localisée

6. On peut observer la GFP au microscope à fluorescence

   a. ☐ avec un jeu de deux filtres adéquats
   b. ☐ avec un jeu de trois filtres adéquats
   c. ☐ en utilisant un rayonnement d'excitation de 350 à 400nm (UV)
   d. ☐ en utilisant un rayonnement d'excitation de 500 à 550 nm (vert)
   e. ☐ en observant la lumière émise filtrée entre 500 à 550 nm
   f. ☐ en observant la lumière émise filtrée au dessus de 510 nm

7. Qu'utilise-t-on sur cellules fixées pour perméabiliser la membrane plasmique ?

_____

8. Une pointe de racine d'*Arabidopsis thaliana*
   a. est un tissu riche en cellules en division
   b. est un tissu naturellement fluorescent
   c. peut être utilisée pour révéler la lignine des vaisseaux en bleu grâce au DAPI
   d. peut être utilisée sans marquage pour observer la chlorophylle en fluorescence
   e. nécessite une étape de perméabilisation pour révéler la fluorescence des chloroplastes par immunomarquage
   f. est un tissu adéquat pour révéler des cibles avec un fluorochrome vert
   g. est un tissu adéquat pour révéler des cibles avec un fluorochrome rouge
   h. est un tissu adéquat pour révéler des cibles avec un fluorochrome bleu

9. Une plante d'*Arabidopsis thaliana* est transformée avec la construction promoteur 35S::MBD-GFP::terminateur. La fluorescence verte révèle:
   a. ☐ une cible intranucléaire
   b. ☐ une cible cytoplasmique
   c. ☐ les chloroplates
   d. ☐ les microtubules
   e. ☐ le fuseau mitotique
   f. ☐ les filaments d'actine

10. A partir de cellules transgéniques exprimant de la tubuline fusionnée à la GFP on peut :
   a. ☐ appliquer un protocole pour révéler l'actine par rhodamine-phalloïdine
   b. ☐ les fixer et immunomarquer les filaments d'actine
   c. ☐ suivre *in vivo* la condensation/décondensation de la chromatine
   d. ☐ directement évaluer la durée de la mitose
   e. ☐ directement évaluer la ploïdie des cellules de l'échantillon
   f. ☐ mesurer les paramètres de l'instabilité dynamique ?
   g. ☐ réaliser chacune des propositions de a à f
   h. ☐ ne réaliser aucune des propositions de a à f

11. Comment se nomment les complexes de nucléation des microtubules ?

_____

12. Où se localisent les complexes de nucléation des microtubules dans la cellule végétale en interphase ?
   a. ☐ le long de microtubules précédemment assemblés
   b. ☐ aux deux pôles de la cellule
   c. ☐ au contact de la membrane plasmique
   d. ☐ à la surface du tonoplaste
   e. ☐ à la surface de l'enveloppe nucléaire
   f. ☐ au centrosome

13. Un chercheur souhaite observer et suivre en fluorescence le processus de la mitose *in vivo*. Quel matériel peut-il utiliser ?

a. ☐ des cellules animales confluentes (fibroblatses) exprimant de la tubuline-RFP
b. ☐ des cellules végétales en culture juste après repiquage
c. ☐ des cellules transgéniques en culture exprimant une histone-YFP et prélevées entre deux repiquages
d. ☐ des cellules cyclantes exprimant une tubuline-GFP
e. ☐ des cellules méristématiques immunomarquées avec des anticorps anti-GFP et du DAPI
f. ☐ des tissus en croissance dans les racines de lignées transgéniques exprimant une histone-GFP et MBD-RFP.

14. Proposez une méthode permettant de révéler en fluorescence sur du matériel fixé et perméabilisé :

a. l'ADN _____

b. la F-actine _____

c. les chloroplastes _____

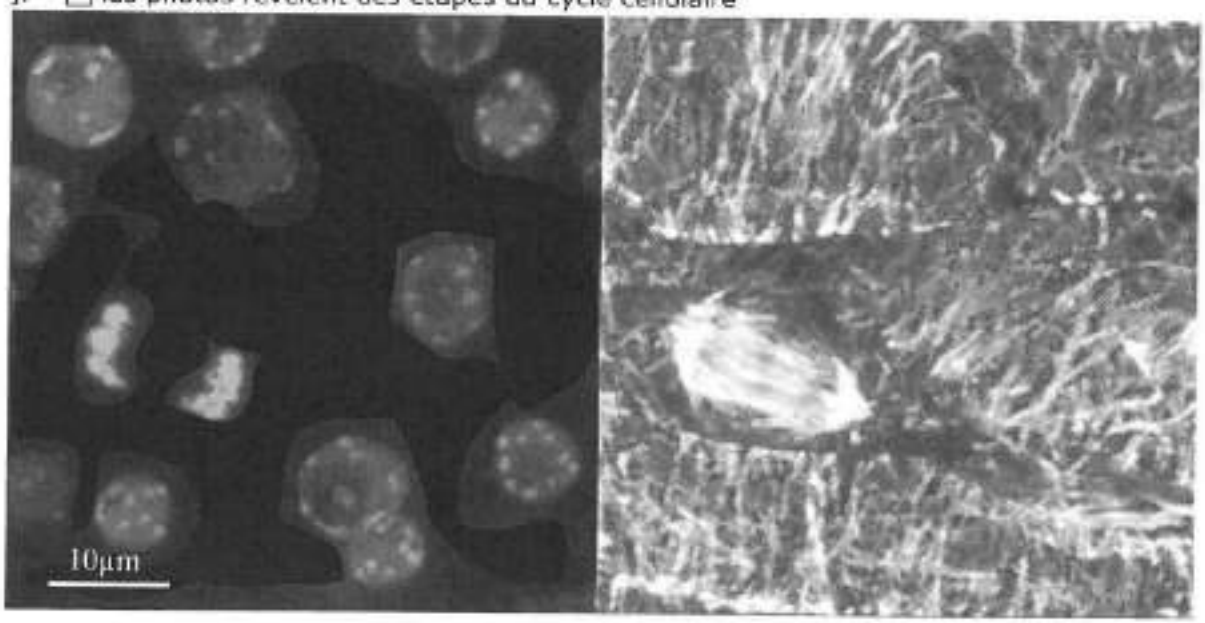
d. les mitochondries _____

e. les microtubules _____

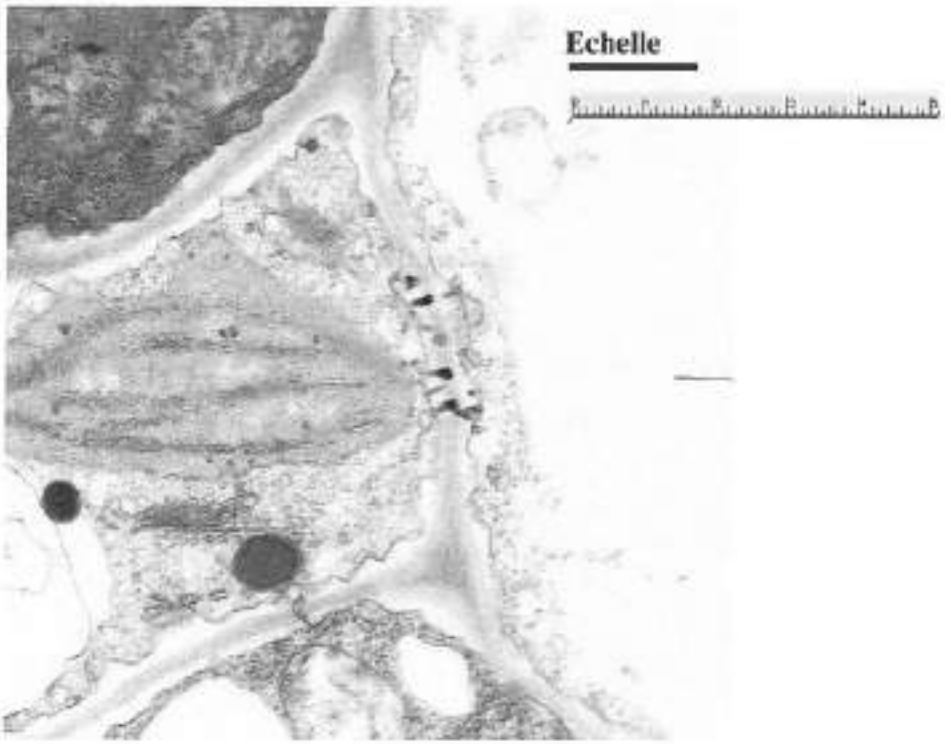
f. la paroi végétale _____

15. Analysez les photos de cellules d'*Arabidopsis thaliana* et cochez les phrases justes

a. ☐ il s'agit de deux groupes différents de cellules
b. ☐ on suit une des cellules à deux temps successifs de sa mitose
c. ☐ il peut s'agir de cellules vivantes transformées co-exprimant une histone-GFP
d. ☐ il peut s'agir de cellules mortes avec double immunomarquage
e. ☐ une seule des deux structures correspond à un marquage spécifique
f. ☐ des anticorps anti-tubuline ont pu être utilisé
g. ☐ des filaments d'actine sont visibles
h. ☐ des filaments intermédiaires sont révélés
i. ☐ les parois sont invisibles mais des limites de cellules sont visibles
j. ☐ les photos révèlent des étapes du cycle cellulaire



16. Le cliché ci-dessous a été réalisé à l'aide d'un microscope électronique à transmission (MET). L'échantillon traité pour l'observation est un morceau de feuille d'*Arabidopsis thaliana*. Le grossissement mis en oeuvre est de 70 000x.

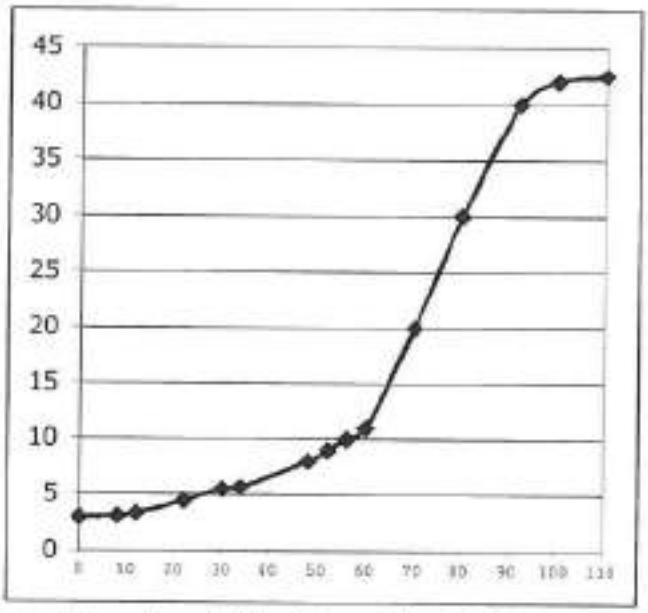


16a - Quel est le pouvoir de résolution d'un MET ?
16b - En sachant que l'image a été réduite de moitié, complétez le document en calculant la taille de la barre d'échelle ? Détaillez votre calcul.
16c - Indiquez à l'aide d'une **flèche annotée** (directement sur le document) toutes les structures cellulaires qui permettent d'identifier cette cellule comme étant une cellule végétale.

Licence Sciences du Vivant 2ème année
2012-2013,
Intitulé UE : Dynamique et Régulations Cellulaires
Contrôle Continu N°3
Durée : 30 min
Enseignant : AC SCHMIT

L'usage des téléphones portables est interdit *pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.*
Aucune calculatrice *n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.*

1. Analyse d'une culture de cellules animales L929.
Les cellules ont été mises en culture et leur croissance a été suivie par l'évolution de la densité de cellules par unité de surface (axe des ordonnées ; 10^4 cellules par cm^2) en fonction de la durée d'incubation (axe des abscisses ; heures).



a- Pour étudier les caractéristiques du déroulement du cycle cellulaire des cellules L929, sur quelle partie de la courbe pouvez-vous travailler ? Justifier votre réponse.

L'analyse d'un échantillon de 1000 cellules permet d'établir la distribution dans les différentes phases du cycle cellulaire : 30 prophases, 20 prométaphases, 20 métaphases, 10 anaphases, 20 télophases ainsi que 900 cellules en interphase dont 400 ont un niveau d'ADN 2N, 200 cellules un niveau d'ADN 4N et 300 cellules présentent un niveau intermédiaire. Une analyse complémentaire a permis de déterminer que le déroulement de la phase G2 nécessite 4 heures.
b- Estimez la durée totale du cycle cellulaire ? Justifier votre réponse.
c- Quelle est la proportion de cellules dans les phases G1-S-G2 et M ?
d- Estimez la durée de la phase M ? Justifier votre réponse
e- Redessiner cette courbe de croissance en associant une deuxième courbe qui montre l'évolution de l'index mitotique sur la durée de la culture.

2. A partir d'une culture de cellules végétales (cellules de tabac BY-2) **détaillez une seule** des méthodes possibles pour déterminer la proportion de cellules vivantes et mortes dans cette population, par une analyse en microscopie photonique. Indiquez l'expérience que vous réalisez, ce que vous observez, comment vous l'observez et ce que vous comptez.

FACULTE DES SCIENCES DE LA VIE

L2- Semestre 1
Année 2015/16 Sujet du CC1
UE Microscopie et Environnement Cellulaire
Durée 45 min
Enseignant référant : AC Schmit

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Encodez ou cochez la ou les bonnes réponses aux questions suivantes :

Q1. Une loupe est formée d'une lentille :

a) convexe b) concave
c) biconvexe d) convergente

Q2. La distance focale de la lentille d'une loupe :

a) se mesure du centre de la lentille au point de croisement des rayons horizontaux l'illuminant.
b) est la distance entre le centre de la lentille et le foyer objet
e) dépend de l'intensité lumineuse utilisée pour observer l'échantillon
d) s'étend du centre de la loupe au centre du cristallin de l'observateur
c) est la distance entre l'objet observé et le centre de la lentille
f) dépend de la position de l'échantillon observé par rapport à la loupe

Q3. La microscopie photonique :

a) nécessite un bombardement d'électrons
b) utilise une source lumineuse
c) nécessite un éclairement de particules à propagation ondulatoire
d) ne peut être éclairé par des LED

Q4. Un globule rouge peut se détecter :

a) à l'œil nu b) avec un microscope à faible grossissement
c) avec une loupe d) seulement en microscopie électronique

Q4. Un microscope inversé à

a) sa platine au dessus du condenseur b) le condenseur entre les objectifs et les oculaires
c) les objectifs sous la platine c) Les oculaires plus proches des objectifs que du condenseur

Q5. L' ouverture numérique est réglable

a) sur chaque objectif b) sur chaque oculaire
c) sur le condenseur d) en modifiant un diaphragme

Q6. En microscopie confocale, l'illumination peut provenir :

a) d'un laser b) d'une ampoule à vapeur de mercure
c) d'une LED d) d'une lampe halogène

Q7. Avec un microscope bien réglé, plus l'ouverture numérique de la lentille de l'objectif est grande,

a) plus le cône de lumière qui peut traverser cet objectif est grand
b) plus l'image observée est résolue
c) plus la distance de travail augmente
d) plus le pouvoir grossissant de cet objectif diminue

Q8. En traversant un échantillon biologique, la lumière peut :

a) changer de sens de propagation b) être accélérée
c) être réfléchie d) être ralentie

Q9. La gamme de photons visibles par l'œil humain

a) a une longueur d'onde de 400 à 700 nm
b) a une longueur d'onde de 500 à 800 nm
c) a une longueur d'onde supérieure à 500nm
d) a une longueur d'onde inférieure à 500nm
e) s'observent sous forme de rayonnements colorés
f) s'étend des UV aux IR

Q10. Dans le cas de la EGFP (enhanced green fluorescent protein), le chromophore

a) est une partie d'un fluorophore
b) est un fluorochrome
c) est un groupe restreint d'amino-acides
d) est situé en périphérie de la molécule
e) est excitable en lumière bleue
f) est à l'origine de la luminescence de la protéine

Q11. Une substance chimique de type fluorochrome se caractérise par :

a) un spectre d'extinction b) des pics d'excitation et d'émission
d) son rendement quantique e) sa séquence spécifique de bases

Q12. Encodez les lettres du type de microscopie photonique auquel appartient la microscopie à fond noir.

Q13. Encodez le terme utilisé pour illustrer la propriété d'un échantillon lumineux en lumière polarisée/analysée.

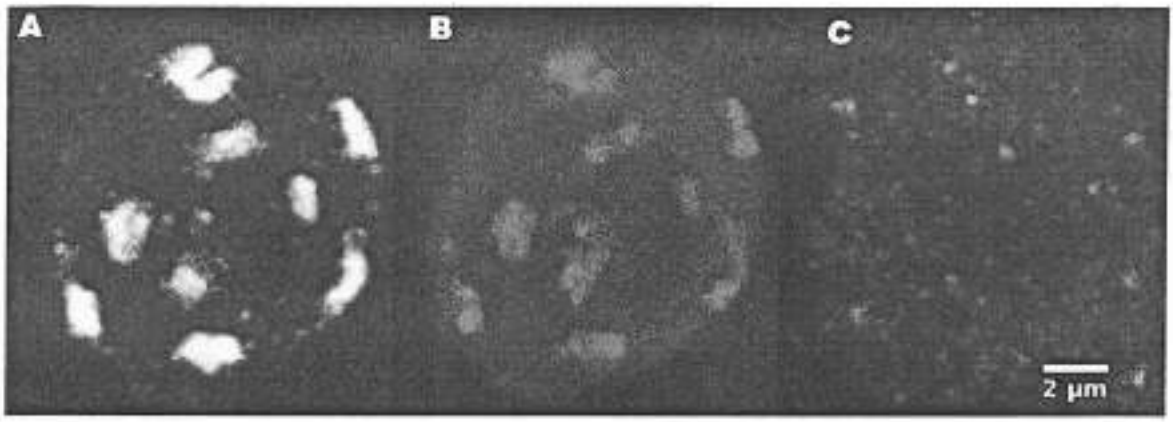
Q14. Les différentes couleurs des ondes lumineuses dans le vide se distinguent par :

a) des fréquences différentes b) des longueur d'ondes différentes
c) des vitesses différentes d) des intensités différentes

Q15. Quand un rayon lumineux traverse un échantillon :

a) sa fréquence est modifiée b) sa longueur d'onde diminue
c) sa phase est retardée d) sa vitesse de propagation est augmentée

Les images ci-dessous correspondent à un noyau d'*Arabidopsis thaliana* coloré au DAPI (A) et révélant simultanément deux protéines par immunomarquage (B, C).



Q16. Les images ci-dessus ont été prises

a) en microscopie à épi-illumination
b) en fond noir
c) en microscopie à fluorescence
d) en microscopie à polarisation

Q17. Encodez les lettres du diamètre du noyau exprimé en micromètres (chiffre entier) ?

Q18. Encodez la (es) lettre(s) des images ci-dessous qui ont été obtenues en microscopie à fond noir ?

Q19. Parmi les indications gravées sur un objectif on peut lire :

a) la distance séparant l'objectif de l'échantillon
b) si l'objectif est incompatible avec un milieu d'immersion
c) l'épaisseur des lamelles de verre à utiliser
d) les longueurs d'ondes optimales d'utilisation

Q20. La réflexion de la lumière sur l'échantillon a pour conséquence

a) de modifier le sens de propagation du rayon lumineux
b) d'éclairer le fond du champ observé
c) d'induire des rayons diffractés par l'échantillon
d) de générer un fond noir

L2- Semestre 1
Année 2015/16 Sujet 1 du CC2
UE Microscopie et Environnement Cellulaire
Durée 30 min
Enseignant référant : JL IMLER

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Cochez la ou les bonnes réponses aux questions suivantes

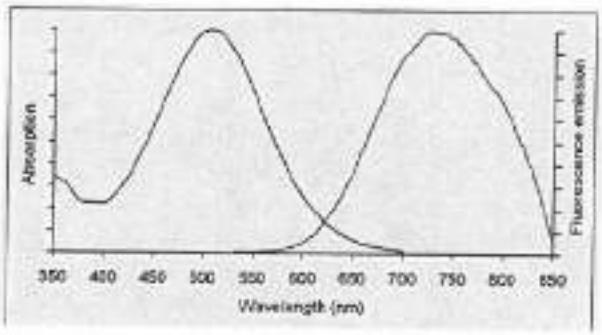
Q1. L'iodure de propidium peut servir à révéler en microscopie à fluorescence :
a) si une cellule végétale est vivante ou morte
b) les parois pectocellulosiques des cellules mortes
c) les membranes des cellules mortes
d) les noyaux des cellules mortes

Q2. La microscopie confocale peut être utilisée pour :
a) observer des anticorps secondaires marqués à l'or colloïdal dans des échantillons morts, fixés avec des produits chimiques
b) suivre le déplacement de protéines de fusion fluorescentes *in vivo* au cours du temps
c) analyser la distribution de marqueurs fluorescents sur une coupe histologique
d) observer des cellules limitées par une membrane plasmique, mais est inappropriée pour observer des cellules à parois

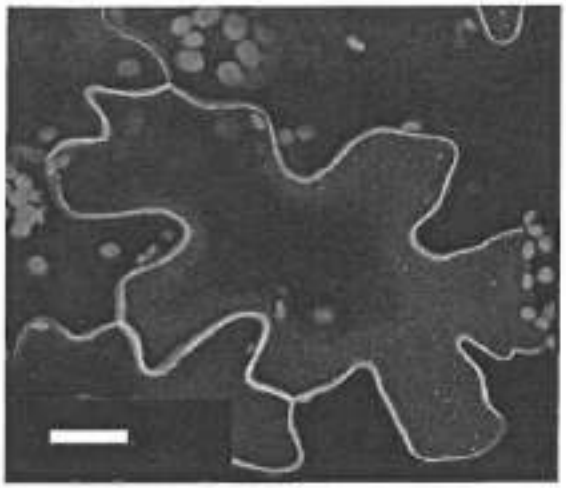
Q3. Le DAPI est :
a) une sonde fluorescente
b) spécifique de l'ARN végétal
c) une protéine fluorescente
d) un marqueur de la chromatine
e) un marqueur d'acides nucléiques
f) un marqueur des histones

Q4. Après incubation avec un anticorps monoclonal de souris anti-alpha tubuline, l'antigène ciblé peut être révélé avec :
a) un anticorps secondaire de mouton anti-IgG de souris marqué avec l'Alexa 568
b) un anticorps secondaire anti-alpha tubuline de souris fluorescent
c) un anticorps secondaire de chèvre anti-IgG de souris marqué à la GFP
d) des immunoglobulines de lapin anti-IgG de souris marquées à l'Alexa 488
e) des anticorps polyclonaux de lapin anti-IgG de souris
f) des anticorps polyclonaux de chèvre anti-IgG de souris marqués à la rhodamine

Q5. D'après les spectres d'excitation et d'émission du FM4-64, quelle est la molécule, dans la cellule végétale, susceptible d'interférer avec le signal capté en microscopie à épifluorescence ? Encoder la réponse.



Q6. L'image ci-dessous a été observée au microscope à épifluorescence après marquage de la membrane plasmique. Calculer le grossissement utilisé pour réaliser le cliché. Barre d'échelle = 25 µm. Encoder la réponse de la valeur du grossissement en lettres.



Q7. L'image ci-dessus a été obtenue au microscope à épifluorescence et permet d'observer la membrane plasmique d'une cellule pavimenteuse de l'épiderme de tabac à l'aide de la fusion NtAQP1::RFP (Nt = Nicotiana tabacum, AQP1 = aquaporine, RFP : Red Fluorescent Protein).

a) l'observation a été réalisée avec le bloc filtre Ex :330-380 nm et Em : 420-480nm
b) l'observation a été réalisée avec le bloc filtre Ex : 460-500 nm et Em : 510-530nm
c) l'observation a été réalisée avec le bloc filtre Ex : 528-552 nm et Em : 578-632 nm
d) l'observation est incompatible avec un co-marquage au FM4-64
e) l'observation est compatible avec un co-marquage mannosidase-eGFP
f) l'observation est compatible avec un co-marquage à l'iodure de propidium

Q8. Les protoplastes :

a) sont des organites de la cellule végétale qui peuvent aussi être appelés proplastes
b) sont des cellules obtenues après digestion de la paroi
c) sont des organites spécialisés des cellules animales
d) peuvent être visualisés lors d'un test de viabilité au FDA (fluorescéine diacétate)

Q9. L'intérêt d'un immunomarquage réalisé en 2 étapes avec des anticorps primaires puis des anticorps secondaires couplés à un fluorochrome est :

a) de pouvoir révéler l'antigène d'intérêt en cellules vivantes
b) de permettre une amplification du marquage spécifique
c) d'avoir à disposition dans le commerce de nombreux anticorps secondaires différents
d) d'éviter l'étape de fixation des cellules

Q10. Il serait préférable d'équiper une tourelle d'objectifs d'un microscope à épifluorescence avec un objectif 40x à immersion à huile plutôt qu'avec un 40x classique car :

a) c'est un équipement moins cher
b) il possède une ouverture numérique plus grande
c) un objectif classique ne permet pas de visualiser de la fluorescence
d) il permet la détection de signaux faibles ou réfractés, non visibles avec un objectif classique

FACULTE DES SCIENCES DE LA VIE

L2- Semestre 1
Année 2015/16- CC 2_Novembre 2015
UE Microscopie et Environnement Cellulaire
Durée 15'
Questions 11-20
Enseignant référant : J.-L. Imler

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.
Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

- Le sujet comporte **10** questions numérotées de **11** à **20**.
- Les réponses sont à porter sur la **même feuille de codage que les questions 1-10**, à remettre à la fin de l'épreuve. **Ecrivez** votre **numéro d'anonymat** et **codez**-en les chiffres dans les cases prévues.

- Réponse juste : **1 point par question**; *pas de réponse* : **0 point**; *une décote sera effectuée en cas de réponse multiple (par exemple si la bonne réponse est A et que vous cochez la lettre A seulement vous aurez un point ; si vous cochez une autre lettre que A vous aurez 0 points ; si vous cochez A et une autre lettre, vous aurez 0,5 points (pénalité de 0,5 points) ; si vous cochez A et au moins deux autres lettres vous aurez 0 points).*

- ***Conseils aux étudiants*** : lisez **attentivement** chaque question et prenez le temps d'y **réfléchir calmement**. Faites en sorte de remettre une copie propre et **claire**.

Qa11-15 : Complétez le schéma de la Figure 1 *(codez les noms correspondants)*

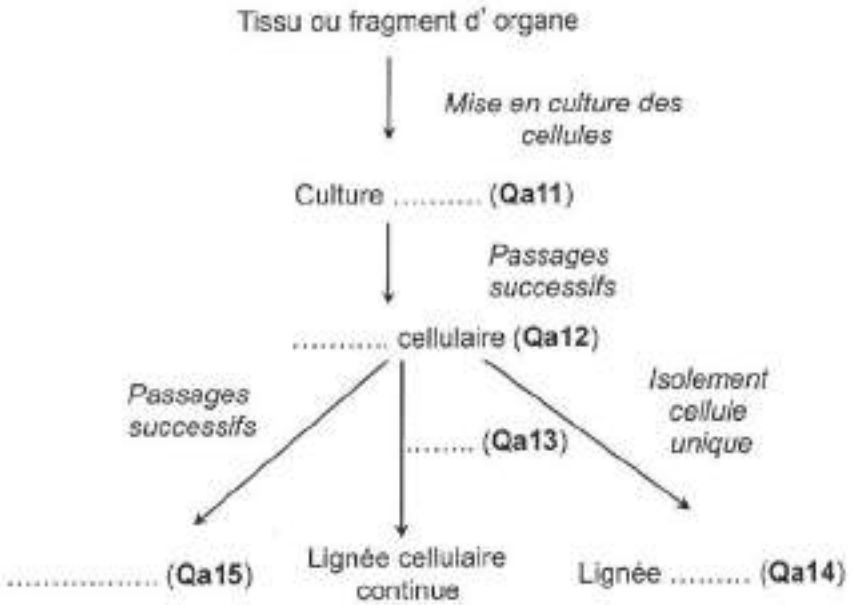


Figure 1

Qa16 : Parmi les plasmides représentés dans la Figure 2, lequel ou lesquels permet (permettent) l'expression de l'insuline dans une lignée de fibroblastes ? *(cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)*

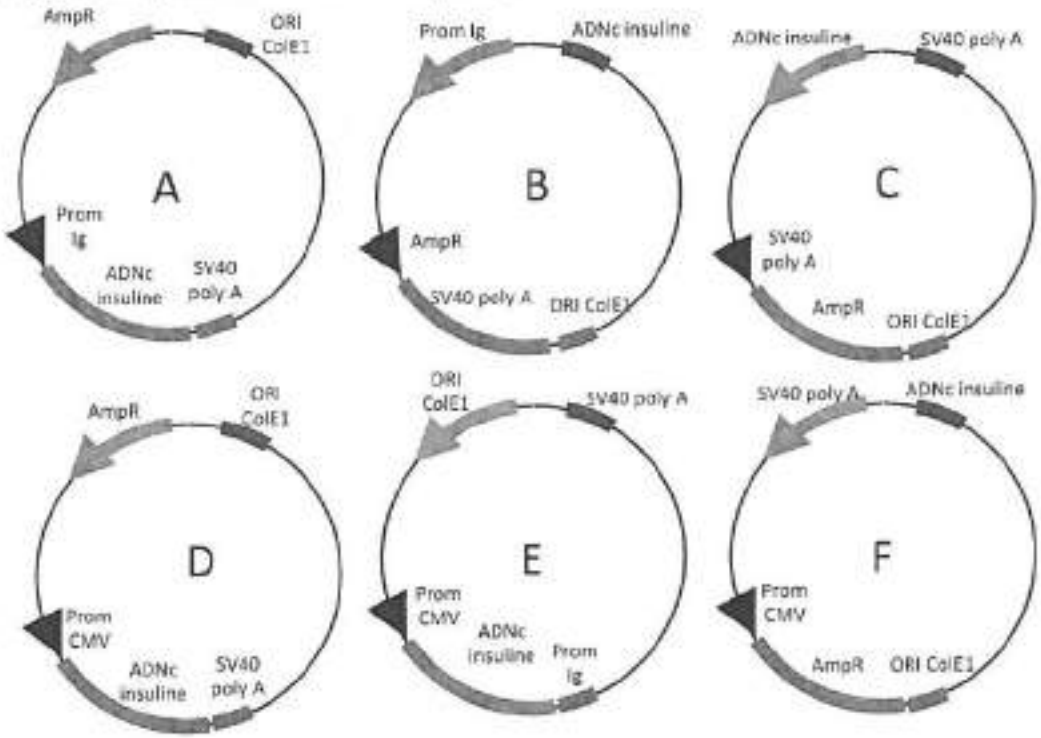


Figure 2. Prom : promoteur ; AmpR : gène de résistance à l'ampicilline ; Ig : immunoglobuline. ORI : origine de réplication.

Qa17 : Parmi les plasmides représentés dans la Figure 2, lequel ou lesquels permet (permettent) l'expression de l'insuline dans la bactérie *Escherichia coli*? *(cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)*

Qa18 : Quelle est l'origine des cellules NIH3T3 ? *(cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)*
(**A**) fibroblastes de souris ; (**B**) cellules cancéreuses humaines ; (**C**) cellules embryonnaires humaines ; (**D**) globules blancs humains ; (**E**) cellules cancéreuses de souris

Qa19 : Qu'est-ce que le diméthyl sulfoxyde ? *(cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)*
(**A**) un agent chélateur ; (**B**) un cation divalent ; (**C**) un anion divalent ; (**D**) un agent cryoprotecteur ; (**E**) une molécule d'adhésion

Qa20 : Combien de passages faut-il effectuer pour obtenir une lignée cellulaire à partir d'une culture primaire? *(cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)*
A. 0 B. 1 C. 5 D. 10 E. 50

FACULTE DES SCIENCES DE LA VIE

L2- Semestre 1
Année 2015/16 Sujet du CC1 substitution
UE Microscopie et Environnement Cellulaire
Durée 45 min
Enseignant référant : AC Schmit

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Cochez la ou les bonnes réponses aux questions suivantes :

Q1. La couleur des chloroplastes d'un parenchyme foliaire :

☐ est visible en fond clair
☐ est visible en contraste de phase
☐ est visible en contraste interférentiel-différentiel
☐ est visible en fluorescence

Q2. Un microscope inversé à

☐ sa platine au dessus du condenseur
☐ le condenseur entre les objectifs et les oculaires
☐ les objectifs sous la platine
☐ Les oculaires plus proches des objectifs que du condenseur

Q3. Pour voir de façon nette une image grossie d'un objet à l'aide d'une loupe, cet objet est placé

☐ sur le plan focal de la lentille
☐ au delà du plan focal de la lentille
☐ entre la lentille et son plan focal
☐ sans précision particulière en relation avec le plan focal de la loupe

Q4. Une bactérie de 2,5 µm peut se détecter :

☐ en microscopie électronique
☐ avec une loupe composée d'1 lentille Gx10
☐ en microscopie photonique
☐ à l'œil nu

Q5. Pour observer une image agrandie avec une loupe on utilise une lentille :

☐ divergeante ☐ convergente
☐ concave ☐ biconvexe

Q6. La microscopie électronique :

☐ nécessite un bombardement d'électrons
☐ utilise une source lumineuse
☐ nécessite un éclairement de particules à propagation ondulatoire
☐ ne peut utiliser une source LED

Q7. Une cellule bactérienne (*E. coli*) peut se détecter :

- ☐ en microscopie électronique
- ☐ avec un microscope photonique (Gx40)
- ☐ avec une loupe (Gx10)
- ☐ à l'œil nu

Q8. On règle l'ouverture numérique

- ☐ au niveau des objectifs
- ☐ au niveau du condenseur
- ☐ au niveau des oculaires
- ☐ en modifiant un diaphragme

Q9. Le contraste de phase :

- ☐ permet de suivre une dynamique *in vivo*
- ☐ accentue le contraste en générant des interférences de phases
- ☐ n'est pas utilisable pour observer des coupes
- ☐ n'est pas adapté à l'observation de structures diffractant la lumière

Q10. Pour observer en microscopie à épi-illumination

- ☐ l'échantillon doit être fluorescent
- ☐ on ouvre au maximum le diaphragme du condenseur
- ☐ la source lumineuse peut être une lampe à vapeur de mercure
- ☐ on met en place le dispositif "fond noir" du condenseur

Q11. La résolution d'un objectif x 100, d'ouverture numérique 1,0 utilisé sous rayonnement jaune (500nm) avec une distance de travail de 2mm et un champ d'observation de 0,04mm^2 est de :

☐ 250 nanomètres ☐ 305 nanomètres ☐ 0,40 micromètre ☐ 0,61 micromètre

Q12. La lumière qui traverse un milieu transparent peut :

- ☐ être réfléchie
- ☐ être accélérée
- ☐ être ralentie
- ☐ changer de sens de propagation

Q13. Avec un microscope bien réglé, plus l'ouverture numérique de la lentille de l'objectif est grande,

- ☐ plus la distance de travail augmente
- ☐ plus le cône de lumière qui peut traverser cet objectif est grand
- ☐ plus l'image observée est résolue
- ☐ plus le pouvoir grossissant de cet objectif augmente

Q14. La gamme de photons visibles par l'œil humain

- ☐ est bornée par les UV et les IR
- ☐ a une longueur d'onde inférieure à 500nm
- ☐ a une longueur d'onde de 400 à 700 nm
- ☐ a une longueur d'onde supérieure à 500nm
- ☐ a une longueur d'onde de 500 à 800 nm
- ☐ s'observe sous forme de rayonnements colorés

Q15. Dans le cas de la GFP sauvage (green fluorescent protein), le fluorophore

- ☐ est une partie d'un chromophore
- ☐ est un ensemble de fluorochromes
- ☐ est un groupe restreint d'amino-acides
- ☐ est situé en périphérie de la molécule
- ☐ est excitable par les ultra-violets
- ☐ est à l'origine de la luminescence de la protéine

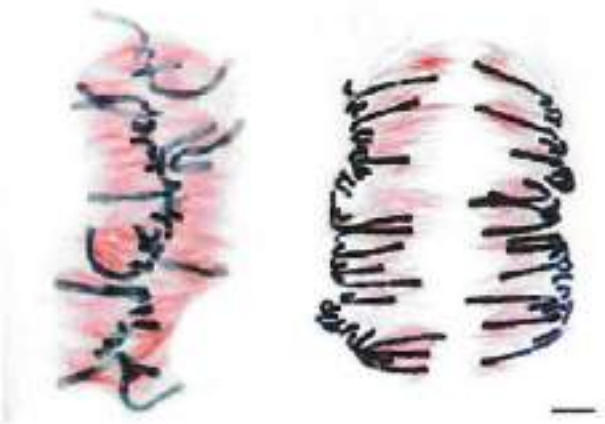
Q16. Une substance chimique fluorescente comme le FITC se caractérise par :

- ☐ son spectre d'extinction
- ☐ sa séquence spécifique de bases
- ☐ son rendement quantique
- ☐ des pics d'excitation et d'émission

Q17. Dans le vide la lumière bleue et la lumière rouge se propagent obligatoirement :

- ☐ à des longueurs d'ondes différentes
- ☐ à des vitesses différentes
- ☐ avec des intensités différentes
- ☐ à des fréquences différentes

Les images ci-dessous correspondent à une cellule d'*Haemanthus katherinae* en métaphase et en anaphase dont le cytosquelette microtubulaire a été immunomarqué.



Q18. Les images ci-dessus ont été prises

- ☐ en microscopie à trans-illumination
- ☐ en microscopie à fond clair
- ☐ en contraste de phase
- ☐ en microscopie à polarisation

Q19. Comment les chromosomes ont-ils été rendus visibles ?

_____

Q20. Comment les microtubules ont ils été révélés ?

_____

_____

_____

_____

L2- Semestre 1
Année 2015/16_ Session 2
UE Microscopie et Environnement Cellulaire
Durée 1h
Enseignant référant : J.-L. Imler

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.
Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Partie 1 (10 points). Cochez la ou les bonnes réponses aux questions suivantes sur la fiche de réponse.

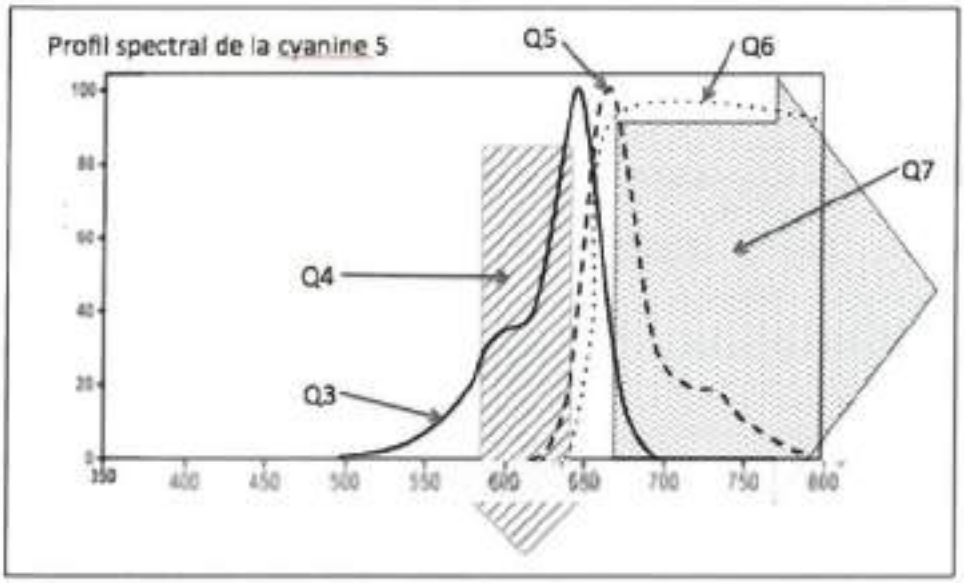
Q1. Sur un objectif de microscopie, la gravure 40X/1.10 signifie :
(a) que l'image observée sur l'écran sera grandie quarante fois ;
(b) que la résolution de cet objectif dépasse 1.10 µm ;
(c) que l'ouverture numérique supérieure à 1 ;
(d) que le grossissement de 40 fois est associé à une ouverture numérique de 1,10 ;
(e) que l'oculaire grossit 40 x pour une épaisseur de lamelle de 1,10 mm ;
(f) que la résolution avec un éclairage de 500 nm est de 2,7 µm

Q2. La gravure visible sur l'objectif ci-contre indique :

(a) qu'il corrige des aberrations chromatiques ;
(b) qu'il faut utiliser un milieu d'immersion aqueux ;
(c) qu'il est prévu pour un microscope à fluorescence
(d) que pour une observation en lumière bleue, il possède une résolution optimale
(e) qu'illuminé à 410nm sa résolution est de 200nm ;
(f) qu'il correspond à un des meilleurs objectifs de microscopie électronique

Q3. Quand la lumière traverse un échantillon biologique, elle peut être :
(a) réorientée dans une autre direction ;
(b) ralentie ;
(c) accélérée ;
(d) réfléchie

Q4-8. Annoter la figure ci-dessous.
(a) bloc filtre ; **(b)** déplacement de Stokes ; **(c)** filtre BP ; **(d)** filtre d'arrêt ; **(e)** filtre d'émission ; **(f)** filtre d'excitation ; **(g)** filtre LP ; **(h)** filtre SP ; **(i)** miroir dichroïque ; **(j)** spectre d'absorption ; **(k)** spectre d'émission ; **(l)** spectre d'excitabilité.

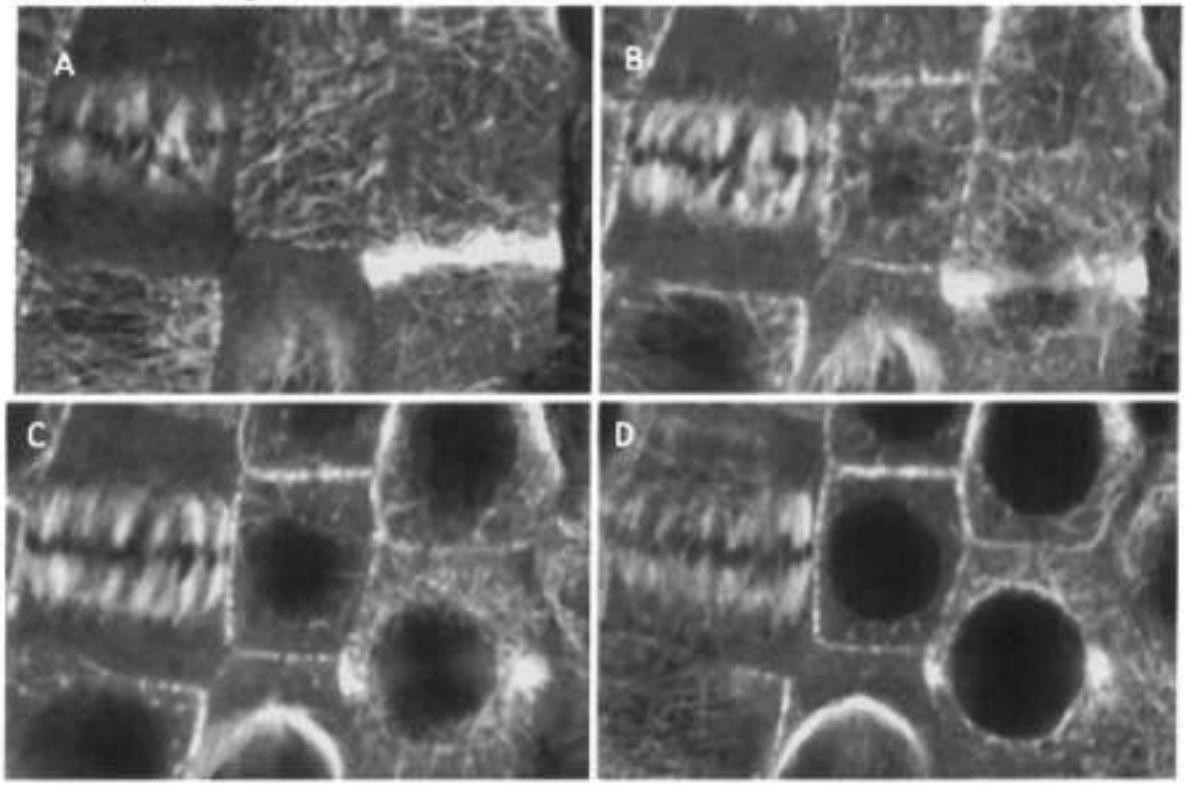


Q9. Encodez le nom abrégé d'une protéine fluorescent en rouge qui dérive d'une protéine d'*Aequorea victoria*, et dont l'intensité a été améliorée par génie génétique.

Q10. Parmi les composés ci-dessous, lesquels permettent directement en une étape de mettre en évidence les noyaux de cellules mortes.
(a) Alexa 488 ; **(b)** Cyanine 3 ; **(c)** DAPI ; **(d)** Encre de chine ; **(e)** Iodure de propidium ; **(f)** Lugol ; **(g)** Noir Congo ; **(h)** Rhodamine phalloidine ; **(i)** Rouge neutre ; **(j)** Rouge Soudan IV ; **(k)** Vert d'iode.

Q11. Vous voulez observer des microtubules dans des cellules végétales vivantes. Parmi les méthodes suivantes laquelle (lesquelles) permet(ent) d'y arriver ?
(a) exprimer de la "yellow fluorescent protein" par transgenèse ;
(b) faire un immunomarquage indirect avec des anticorps primaires anti-tubuline et des anticorps secondaires marqués à l'or colloïdal ;
(c) utiliser des cellules exprimant la construction p35S::Tubuline alpha::GFP ;
(d) utiliser un système de microscopie à contraste de phase ;
(e) observer des cellules d'albumen d'*Haemanthus* en microscopie à polarisation ;
(f) monter en chambre humide des cellules exprimant MAP4-Dsred

Q12. Les 4 images ci-dessous correspondent au même champ. Les microtubules sont visibles. Il peut s'agir :



(a) de cellules mortes immunomarquées et révélées en fluorescence
(b) de cellules vivantes suivies dans le temps à intervalles de 10 minutes entre chaque prise de vue
(c) de cellules vivantes révélées par des anticorps fluorescents anti-tubuline
(d) de cellules mortes exprimant de la tubuline alpha-fluorescente
(e) de cellules vivantes exprimant de la GFP-beta-tubuline
(f) de cellules mortes dont les microtubules sont révélés par de l'or colloïdal 20 nm.

Q13. Des plantes transgéniques exprimant de la glucuronidase (GUS) ont été fixées, le substrat chromogénique X-gluc a été incubé et les cellules ont été observées. Les sites d'expression de l'enzyme peuvent apparaître :

(a) en blanc (microscopie à contraste de phase)
(b) en bleu (microscopie à fond clair)
(c) en rose (microscopie à fond noir)
(d) en vert (microscopie à fluorescence)

Q14. Pour faire un immunomarquage des microtubules, visible en fluorescence, on peut incuber les cellules végétales :

(a) directement avec de la tubuline couplée à la GFP
(b) avec un premier anticorps anti-tubuline puis avec un anticorps secondaire marqué à l'or colloïdal 20 nm
(c) directement avec un anticorps primaire fluorescent en rouge
(d) par un marquage indirect finissant par l'utilisation d'un anticorps secondaire couplé à de l'Alexa 568

Q15. Comment s'appelle l'élément du microscope le plus proche des yeux quand on fait une observation ?

Partie 2 (10 points). Représentez sur un schéma propre et annoté le fonctionnement d'un cytomètre de flux. Décrivez de façon synthétique les applications de cet appareil.