

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 lumière visible se caractérise par :

- a) sa nature ondulatoire
- b) sa nature particulaire (électrons)
- c) sa fréquence de vibration proche 10^{15} Hertz
- d) sa longueur d'onde inférieure à 10^{-7} m

Q2. Quand la lumière traverse un échantillon biologique, elle peut être :

- a) réorientée dans une autre direction
- b) ralentie
- c) accélérée
- d) réfléchi

Q3. L'interférence de deux ondes lumineuses en phase se traduit par :

- a) un décalage d' $1/2 \lambda$
- b) un décalage d' $1/4 \lambda$
- c) une augmentation de l'intensité lumineuse
- d) aucun décalage de phase

Q4. Comment s'appelle la plus petite distance qui permet de séparer deux points en entités distinctes :

Encodez la réponse.

Q5. Le microscope droit :

- a) permet d'observer un échantillon dans une boîte de culture
- b) a le condenseur positionné au dessous de la platine
- c) ne permet pas d'observer un échantillon entre lame et lamelle
- d) a les objectifs positionnés au dessus de la platine

Q6. Les sources lumineuses utilisables en microscopie peuvent être :

- a) la lumière du soleil
- b) des lampes de type LED
- c) des lampes au tungstène
- d) des lasers

Q7. Une loupe est une lentille permettant de grossir une image nette quand on place l'objet :

- a) sur le plan focal de la lentille
- b) plus éloigné du plan focal de la lentille
- c) plus rapproché que le plan focal de la lentille
- d) sans précision particulière en relation avec le plan focal de la loupe

Q8. Une bactérie de 2,5 μm peut se détecter :

- a) à l'œil nu
- b) avec une loupe composée d'1 lentille Gx10
- c) en microscopie photonique
- d) en microscopie électronique

Q9. En microscopie fluorescence de type confocal, la source lumineuse peut être :

- a) une lampe à vapeur de mercure
- b) un système de LED
- c) un laser
- d) une lampe halogène

Q10. Sur un objectif, on peut trouver des informations sur :

- a) l'épaisseur optimale des lames à utiliser
- b) la distance de travail
- c) le grossissement
- d) la source lumineuse à utiliser

Q11. Comment s'appelle l'élément du microscope sur lequel on pose l'échantillon ?

Encodez la réponse.

Q12. Dans le vide, les ondes lumineuses de couleurs différentes ont ou peuvent avoir :

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

Q13. Après l'avoir calculée, cochez la résolution d'un objectif d'ouverture numérique 1,0 éclairé par une lumière de 500nm :

- a) 1,21 μm
- b) 0,22 μm
- c) 820 nm
- d) 305 nm

Q14. Un fluorochrome peut être :

- a) une molécule chimique
- b) une protéine
- c) une partie d'un chromophore
- d) une partie d'un fluorophore

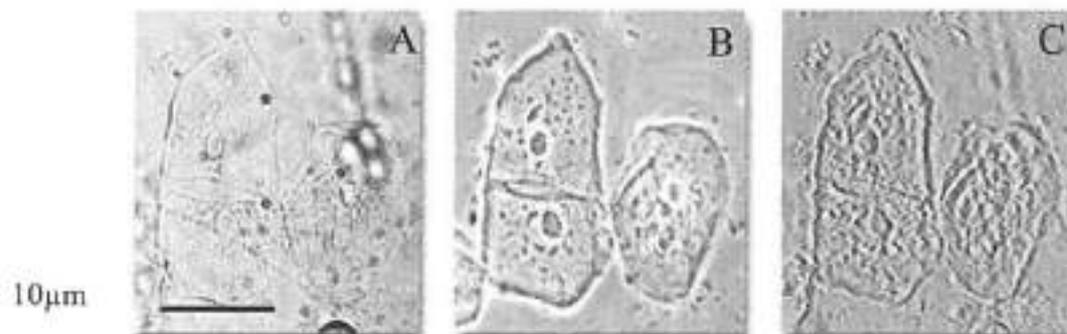
Q15. Un microscope confocal est équipé :

- a) De miroirs de balayage
- b) D'un prisme et de photomultiplicateurs
- c) De lampes HBO
- d) D'un condenseur à diaphragme d'ouverture réglable

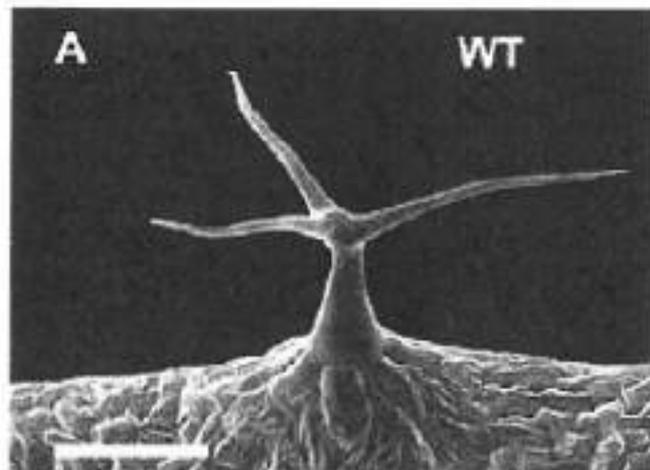
Q16 : L'ouverture numérique :

- a) d'un objectif 20x est toujours supérieure à 1
- b) d'un objectif 40x à sec peut être identique à celle d'un objectif 40x à immersion à huile
- c) indiquée sur un objectif augmente avec le grossissement de l'objectif
- d) indiquée sur un objectif a une valeur maximale de 1,40

Q17. Les trois images du même échantillon ci-dessous (A, B et C successivement) sont observées :



- a) en DIC (A), contraste de phase (B) et fond clair (C)
 b) en DIC (A), fond clair (B) et contraste de phase (C)
 c) en fond clair (A), DIC (B) et contraste de phase (C)
 d) en fond clair (A), contraste de phase (B) et DIC (C)



 règle graduée en centimètre

L'image A représente un trichome de la plante Arabidopsis (différenciation de cellules de l'épiderme de feuille)

WT = plante sauvage.

Q18 : Quelle technique de microscopie a permis de générer l'image A ci-dessus ?
 Encodez la réponse sans inclure le terme "microscopie"

Q19: Calculez le grossissement utilisé pour réaliser le cliché.

Barre d'échelle = 100 µm

Encoder la réponse de la valeur du grossissement en lettres

Q20 : Un trichome entier peut également être observé :

- a) en plaçant une feuille sans traitement préalable sous une loupe binoculaire
 b) sur une coupe histologique colorée au bleu de toluidine
 c) au microscope optique à fond clair
 d) au microscope électronique à transmission après réalisation d'une cryofracture sur un morceau de feuille

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 : Quelle est la hauteur moyenne d'une jonction adhérente? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. 5nm B. 50nm C. 500nm D. 5µm E. 50µm

C

Qa12 : quelle est l'origine des cellules HeLa ? (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

B

Qa13 : Quelle est la distance séparant les membranes plasmiques de deux cellules au niveau d'une jonction adhérente ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. 3nm B. 30nm C. 300nm D. 3µm E. 30µm

B

Qa14 : Les cellules d'une culture primaire constituent-elles une population homogène? (répondre par oui ou non)

NON

Qa15 : 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

B

Qa16-20 : exercice

La protéine RIG-I fait partie du système immunitaire et reconnaît les ARNs viraux présents dans le cytoplasme. Elle active alors le promoteur de l'interféron β (IFN- β), qui induit un état de défense antivirale dans les cellules. On sait que le virus de la grippe, bien qu'il s'agisse d'un virus à ARN, déclenche une induction faible d'IFN- β . On cherche à savoir si NS1, une protéine du virus de la grippe, peut inhiber la réponse IFN- β induite par RIG-I.

Pour étudier l'activité du promoteur de l'IFN- β , on transfecte les cellules avec les différents plasmides, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Vingt-quatre heures après, on ajoute aux cellules du poly I:C (un ARN synthétique double brin, mimant la présence de virus et permettant l'activation de RIG-I et par contrecoup l'induction du promoteur IFN- β).

Les plasmides utilisés sont les suivants :

1. promoteur IFN- β _Luciférase
2. promoteur ACT- β gal (Actine- β galactosidase)
3. promoteur CMV_vide ; NS1wt; NS1-N ; NS1-C
- 4.

Le plasmide CMV_NS1wt permet d'exprimer la protéine NS1 sauvage (entière).

Le plasmide CMV_NS1-N permet d'exprimer la moitié N-terminale de la protéine NS1.

Le plasmide CMV_NS1-C permet d'exprimer la moitié C-terminale de la protéine NS1.

Les résultats bruts de l'expérience sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Condition	Plasmides transfectés	Ajout de poly I:C	Analyse de l'activité luciférase (RLU)	Analyse de l'activité β galactosidase (DO)
1	pIFN- β -Luc pACT- β gal pCMV-vide	+	3 000 000	0,4
2	pIFN- β -Luc pACT- β gal pCMV-NS1wt	+	1 000 000	0,8
3	pIFN- β -Luc pACT- β gal pCMV-NS1-N	+	2 000 000	0,1
4	pIFN- β -Luc pACT- β gal pCMV-NS1-C	+	250 000	0,2

Qa16 : A quoi sert la condition 1 ? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. Elle permet de connaître l'expression basale de luciférase après traitement au poly I:C
- B. Elle permet de connaître l'activité basale du promoteur IFN- β après traitement au poly I:C
- C. C'est un témoin de transfection
- D. C'est l'échantillon référence
- E. Elle permet de connaître le nombre de cellules vivantes
- F. Elle est inutile dans le contexte de cette expérience

A, B, D

Q17 : A quoi sert le plasmide exprimant la β galactosidase ? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. C'est un témoin de transfection
- B. Il rend compte de l'efficacité de la transfection pour chaque condition
- C. Il rend compte de l'activité du promoteur IFN- β
- D. Il permet de normaliser les valeurs de luciférase
- E. Il permet de connaître le nombre de cellules vivantes
- F. Il permet de visualiser les cellules infectées par le virus de la grippe

A, B, D

Q18 : Est-ce que l'efficacité de transfection est identique pour toutes les conditions ? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. Oui
- B. Non
- C. Peut-être
- D. Je n'ai pas l'information pour répondre à cette question
- E. Cela dépend de l'infection par le virus de la grippe

B

Q19 : Quelles valeurs de RLU obtient l'on après normalisation ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

Condition	Réponse A	Réponse B	Réponse C	Réponse D
1	3 000 000	3 000 000	1 500 000	3 000 000
2	1 000 000	1 000 000	2 000 000	500 000
3	2 000 000	1 000 000	500 000	8 000 000
4	250 000	250 000	125 000	500 000

D

Q20 : Quelles conclusions pouvez-vous tirer de l'expérience ? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. NS1 n'a pas d'impact sur l'activité de RIG-I
- B. NS1 diminue fortement l'activité de RIG-I
- C. La partie active de NS1 correspond à sa moitié N-terminale
- D. La partie active de NS1 correspond à sa moitié C-terminale
- E. Un inhibiteur de NS1 aura un effet antigrippal

B, D, E

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. 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 **20** questions numérotées de **1** à **20**. Cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse pour chaque question.

-**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**.

Qa1-5: Annotez la Figure 1 en utilisant le code ci-dessous

A : bicouche lipidique ; **B :** N-CAM ; **C :** ICAM1 ; **D :** JAM ; **E :** Cadhérine-E ; **F :** Cadhérine-23 ; **G :** Cadhérine-N ; **H :** $\alpha 4\beta 6$; **I :** $\alpha 2\beta 1$; **J :** caténine- α ; **K :** caténine- β ; **L :** p120 caténine ; **M :** actine ; **N :** α -actinine ; **O :** tubuline ; **P :** desmine ; **Q :** vimentine ; **R :** vinculine ; **S :** taline ; **T :** fibronectine ; **U :** calcium ; **V :** magnésium

Qa6-10 : la figure 2 montre des fibroblastes NIH-3T3 transfectés avec un vecteur d'expression exprimant la forme sauvage ou un mutant de l'intégrine $\beta 3$ qui ne fixe pas la taline.

Qa6 : quel type de pathologie entraîne un dysfonctionnement de $\beta 3$?

A. paralysie ; **B.** surdité ; **C.** déficit en magnésium ; **D.** hémophilie ; **E.** myopathie ; **F.** déshydratation ; **G.** épidermolyse bulleuse

Qa7 : d'après la figure 2, quel est l'effet de la mutation Y747A dans la chaîne $\beta 3$?

A. inhibition de la prolifération cellulaire ; **B.** induction de la mort cellulaire ; **C.** inhibition de l'adhérence cellulaire ; **D.** inhibition de la croissance cellulaire ; **E.** induction de la prolifération cellulaire ; **F.** diminution du volume cellulaire.

Qa8 : Avec quelles autres molécules interagit la taline ?

A. vinculine ; **B.** actine ; **C.** cadhérine-N ; **D.** claudine ; **E.** α -actinine ; **F.** desmoplakine

Qa9 : Donnez une explication pour la différence observée entre les cellules $\beta 3$ -wt et $\beta 3$ -Y747A

A. l'interaction avec la taline stabilise le cytosquelette; **B.** l'interaction avec la taline maintient les cellules en vie; **C.** l'interaction avec la taline permet à $\beta 3$ de se fixer au support; **D.** l'interaction avec la taline regroupe les molécules de $\beta 3$ et augmente l'avidité de l'interaction au support (principe velcro); **E.** l'interaction avec la taline déclenche l'ouverture de canaux mécano-sensibles qui régulent le volume de la cellule; **F.** l'interaction avec la taline active l'oncogène *myc* et la prolifération cellulaire.

Qa10 : Si on observe ces cellules 48h plus tard, quelle population sera la plus nombreuse à votre avis?

A. $\beta 3$ -wt ; **B.** $\beta 3$ -Y747A ; **C.** pas de différences

Qa11-16 : exercice 1. L'immunité antitumorale est un facteur important de résistance au cancer. On essaie ici de comprendre comment les cellules du système immunitaire sont stimulées pour combattre une tumeur. Dans un premier temps, on cherche à savoir si les leucocytes peuvent envahir une tumeur pour la combattre. Des cellules issues d'une lignée tumorale (3LL : Lewis lung carcinoma) sont injectées sous la peau d'une souris. Après 14 jours, la tumeur est prélevée pour être analysée par cytométrie. Les leucocytes sont identifiés par le marqueur CD45.

Qa11. Quelles informations vous donnent la figure 3?

- A. Le seuil de détection pour visualiser les cellules CD45+
- B. Le seuil de détection est défini approximativement à 2.10^3
- C. Le seuil de détection est défini approximativement à 2.10^2
- D. L'autofluorescence émise par les cellules CD45-

Qa12. Analysez la figure 3

- A. Les cellules CD45+ représentent 50% des cellules totales
- B. Les cellules CD45- représentent 61,3% des cellules totales
- C. Les cellules CD45- représentent 38,7% des cellules totales
- D. Les cellules du système immunitaire représentent 38,7% des cellules totales

On cherche ensuite à déterminer quel type de leucocyte (macrophage, lymphocyte, granulocyte, etc...) a envahi la tumeur. On dispose pour cela de 4 marqueurs : CD11b, CD11c, F4/80 et Gr1 qui marquent différentes populations de globules blancs. Les résultats sont présentés dans la figure 4.

Qa13. Analysez le marqueur CD11b au niveau de la figure 4.

- A. Approximativement 20% des cellules CD45+ portent le marqueur CD11b
- B. Le pourcentage de cellule CD11b+ varie en fonction du second paramètre étudié
- C. Le nombre de cellules exprimant CD11b est supérieur au nombre de cellules exprimant CD11c
- D. Approximativement 80% des cellules CD45+ portent le marqueur CD11b

Qa14. Interprétez la figure 4

- A. 24,4% des leucocytes infiltrant la tumeur sont Gr+
- B. 27,3% des leucocytes infiltrant la tumeur sont F4/80+
- C. 27,3% des leucocytes infiltrant la tumeur sont F4/80+ ; CD11b+
- D. 1,29% des leucocytes infiltrant la tumeur sont CD11c+

Pour étudier l'impact antitumoral des leucocytes, on analyse la production par ces cellules d'une cytokine capables d'induire la mort cellulaire, le TNF α (tumor necrosis factor α). Pour induire la réponse immunitaire, les cellules tumorales sont injectées avec soit du tampon PBS (contrôle négatif), soit du poly I:C (inducteur de la réponse immunitaire). Les résultats sont présentés dans la figure 5.

Qa15. Quel(s) type(s) cellulaire(s) produit(s) du TNF α après stimulation par le poly I:C?

- A. Toutes les cellules CD45+
- B. Les cellules F4/80+
- C. Les cellules Gr1+
- D. Les cellules F4/80+ et les cellules Gr1+
- E. Les cellules CD45+ ; F4/80+
- F. Les cellules CD45+ ; Gr1+

Finalement, on étudie l'impact du TNF sur les cellules tumorales 3LL. Pour cela, on cultive ces cellules en présence ou en absence de TNF α pendant 5 jours en présence de CFSE.

Qa16. Interprétez les résultats présentés dans la figure 6

- A. Le nombre de division cellulaire sans traitement au TNF α est de 3
- B. Le TNF α a un impact sur la division cellulaire
- C. Le nombre de division cellulaire avec traitement au TNF α est de 3
- D. Le TNF α entraîne la mort cellulaire
- E. La cytométrie de flux ne permet pas de déterminer l'impact du TNF α dans la mort cellulaire

Qa17-20. Exercice 2

Les cellules endothéliales sont très difficiles à transfecter, avec un taux de transfection ne dépassant pas 25% avec des méthodes classiques. Une nouvelle méthode de transfection ne se basant pas sur l'utilisation des lipides cationiques a été mise au point. On teste ici son efficacité sur les cellules endothéliales. On analyse l'efficacité de transfection d'un plasmide exprimant le gène rapporteur de la GFP (Green Fluorescent Protein) par cytométrie. Voici les conditions de transfection :

Condition	Nom du plasmide	Protéine exprimée
1	pRK (vecteur vide)	Aucune
2	pGFP	GFP

La fluorescence émise par la GFP est détectée par le canal FL-1 grâce à un filtre passe bande 530/30 nm. Les résultats sont présentés dans la figure 7.

Qa17. Quelle est le rôle du vecteur vide ?

- A. C'est un témoin de transfection
- B. C'est l'échantillon de référence
- C. Il permet de connaître l'auto-fluorescence émise par les cellules
- D. Il permet de mettre en place le seuil de détection de la fluorescence
- E. Il ne sert à rien

Qa18. A quoi sert le détecteur SSC ?

- A. Il montre la complexité interne de la cellule
- B. Il rend compte de la taille de la cellule
- C. Il informe sur la granulosité de la cellule
- D. C'est un détecteur de fluorescence

Qa19. Le filtre passe bande 530/30 nm pour la GFP transmet des longueurs d'onde entre :

- A. 500 et 530
- B. 530 et 560
- C. 500 et 560
- D. 515 et 545

Qa20. Que pouvez-vous conclure de la figure 7 ?

- A. 70% des cellules sont GFP+
- B. 30% des cellules sont GFP+
- C. 70% des cellules sont GFP-
- D. Le taux de transfection est de 70%
- E. Cette méthode de transfection est moins efficace que les méthodes de transfection dites classiques

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 **20** questions numérotées de **1** à **20**.
- Les réponses sont à porter sur une feuille de codage à remettre à la fin de l'épreuve. **Ecrivez votre numéro d'anonymat et codez-en les chiffres dans les cases prévues.**
- Pour certaines questions, le choix est entre plusieurs réponses désignées par des lettres majuscules. Pour d'autres, vous devez coder un nom, en noircissant les cases des lettres composant le mot. Par exemple, le mot « réticulum endoplasmique » sera codé de la façon suivante :

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

- **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**.

Qa1. Pour observer correctement un objet avec une loupe, celui-ci doit être placé (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) sur le plan focal de la lentille
- B) au delà du plan focal de la lentille
- C) en de ça du plan focal de la lentille
- D) peu importe où car le cristallin accommode

Qa2. En microscopie à fluorescence, la source lumineuse utilisée peut être (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse):

- A) un système à LED
- B) une ampoule au tungstène
- C) une lampe HBO à vapeurs de mercure
- D) un laser
- E) un rayonnement de 546nm
- F) toutes les sources lumineuses citées de (a) à (d)

Qa3. Le microscope inversé (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) permet d'observer un échantillon dans une boîte de culture
- B) a les oculaires positionnés sous la platine
- C) ne permet pas d'observer un échantillon entre lame et lamelle
- D) a le condenseur positionné au dessus de la platine

Qa4. La résolution maximale d'un objectif Gx100, à immersion à huile et d'ouverture numérique de 1.4 est (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) 200 nm
- B) 0,2 μm
- C) 2 μm
- D) 200 μm

Qa5. En microscopie photonique on peut distinguer des structures comme (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) des acides aminés
- B) des bactéries
- C) des cellules animales en culture
- D) des protéines

Qa6. La lumière visible (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) est de nature électromagnétique
- B) à une propagation ondulatoire
- C) est constituée de photons
- D) s'étend de 400 à 800nm
- E) a un spectre de l'ultra violet à l'infra rouge

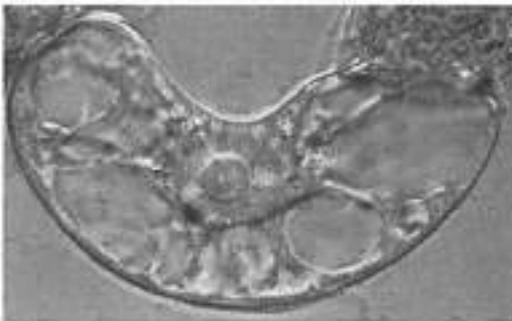
Qa7. Les informations gravées sur un objectif indiquent (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) le grandissement
- B) l'épaisseur de la lame
- C) les aberrations chromatiques
- D) d'autres paramètres
- E) aucun des paramètres A-C

Qa8. Encodez le terme utilisé pour désigner les éléments d'un microscope qui permettent de faire varier le champ d'observation ou l'ouverture numérique du condenseur.

Qa9. Calculez la largeur (en mm) de la cellule présentée ci-dessous. (Encodez les lettres correspondant à cette valeur chiffrée).

Grossissement : 1000x, image réduite au 1/2



Qa10. Avec quel microscope a été obtenue cette image ? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) Microscope électronique à transmission
- B) Microscope électronique à balayage
- C) Microscope photonique à contraste de phase
- D) Microscope photonique à contraste interférentiel différentiel
- E) Microscope photonique à fond noir
- F) Microscope photonique à fond clair

Qa11 : parmi les organismes suivants, lesquels contiennent des épithéliums ? (cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)

A. insectes B. plantes C. champignons D. nématodes E. mammifères

Qa12-14 : quelles sont les trois phases successives d'une culture de cellule ? (codez le nom des trois phases pour les questions Qa11, 12, et 13, dans l'ordre dans lequel elles se succèdent à partir de l'ensemencement des cellules)

Qa15 : Quelle est la hauteur moyenne d'une jonction étanche? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

A. 5nm B. 50nm C. 500nm D. 5 μ m E. 50 μ m

Qa16 : Quel est le nom des molécules qui permettent le transport paracellulaire dans les épithéliums ? (codez le nom correspondant)

Qa17 : Parmi les molécules suivantes, laquelle ou lesquelles sont exprimées au pôle apical des entérocytes? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

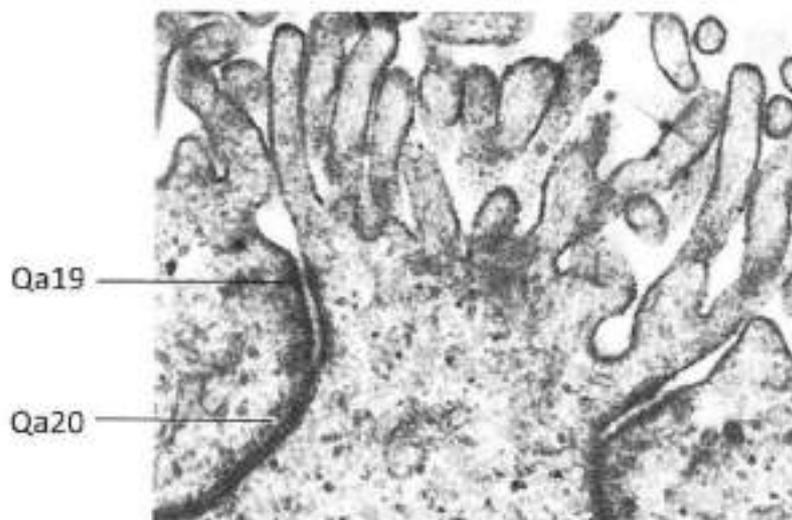
A. Récepteur EGF B. Cadhérine E C. Desmocoline D. Symport Na⁺-glucose
E. Occludine

Qa18 : quelle est l'origine des cellules HeLa ? (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

Qa19-20 : Le document de microscopie électronique ci-dessous montre un détail de l'épithélium de glande salivaire de lique. Annotez le document en utilisant le code suivant : (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse pour les annotations Qa19 et Qa20)

A. Jonction communicante B. Jonction adhérente C. Zonula occludens D. Desmosome
E. Jonction septée



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 **20** questions numérotées de **1** à **20**.
- Les réponses sont à porter sur une feuille de codage à remettre à la fin de l'épreuve. **Ecrivez votre numéro d'anonymat et codez-en les chiffres dans les cases prévues.**
- Pour certaines questions, le choix est entre plusieurs réponses désignées par des lettres majuscules. Pour d'autres, vous devez coder un nom, en noircissant les cases des lettres composant le mot. Par exemple, le mot « réticulum endoplasmique » sera codé de la façon suivante :

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

- **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**.

Qa1. Une modification du sens de propagation de la lumière est générée par: (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) réflexion
- B) réfraction
- C) diffraction
- D) polarisation
- E) biréfringence
- F) fluorescence

Qa2. Un retard d'1/4 de longueur d'onde se produit quand un rayon lumineux: (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse):

- A) entre dans un milieu aqueux
- B) traverse un échantillon organique
- C) pénètre dans de la matière biologique
- D) traverse une lame mince minérale
- E) passe en dehors d'une plaque de phase
- F) traverse l'anneau de phase

Qa3. En microscopie à contraste de phase, on distingue facilement; (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A) Les chromosomes d'une cellule en division
- B) Les microtubules du fuseau mitotique
- C) Les ribosomes en cours de traduction
- D) Les parois des cellules végétales

Qa4. Une image de microscopie photonique se caractérise par un fond noir, si la photographie a été prise en *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)* :

- A) microscopie à contraste de phase
- B) microscopie à contraste interférentiel différentiel
- C) microscopie à fond noir
- D) microscopie à fluorescence

Qa5. On peut améliorer la résolution d'une image *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)* :

- A) en diminuant la longueur d'onde utilisée pour éclairer l'échantillon
- B) en utilisant des composés diffractants (or colloïdal) de plus petite taille
- C) en diminuant l'ouverture numérique de l'objectif
- D) en utilisant un objectif de plus fort grossissement

Qa6. Comment s'appelle la séquence protéique de l'antigène reconnue par un anticorps *(encodez les lettres correspondant à la bonne réponse)*

Qa7. Un composant fluorescent comme la GFP *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)* :

- A) est utilisé comme marqueur en immunofluorescence
- B) possède un chromophore
- C) peut être une partie de protéine de fusion
- D) a une affinité pour les microtubules
- E) a initialement été trouvé chez une méduse
- F) a un spectre d'émission proche de celui de la chlorophylle

Qa8. Encodez le terme utilisé pour désigner un marqueur fluorescent reconnaissant spécifiquement un composé subcellulaire

Qa9. Pour observer des microtubules dans des cellules en division, on peut utiliser

- A) un microscope à fond clair, après un immunomarquage anti-tubuline et des anticorps secondaires fluorescents
- B) un microscope à fond noir, après un immunomarquage anti-tubuline et des anticorps secondaires fluorescents
- C) un microscope à fond noir, après un immunomarquage anti-tubuline et des anticorps secondaires marqués à l'or colloïdal 5nm
- D) un microscope à fond clair, après un immunomarquage anti-tubuline et des anticorps secondaires marqués à l'or colloïdal 20nm

Qa10. En microscopie à fluorescence, le miroir dichroïque : *(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)* :

- A) Permet de séparer la lumière d'excitation et la lumière d'émission du fluorochrome
- B) Se trouve dans le bloc filtre
- C) Envoie la lumière d'excitation à 90° de la source d'émission de lumière
- D) Sélectionne la longueur d'onde utilisée pour exciter l'échantillon
- E) Ne laisse pas passer la lumière d'émission du fluorochrome
- F) N'est utilisé que dans le cas d'un double marquage fluorescent

Qa11 : La dynamique d'une protéine fluorescente peut-être suivie en microscopie confocale dans une cellule épithéliale *(cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)*

- A) après expression d'une protéine transgénique puis immunomarquage fluorescent.
- B) après expression, dans la cellule, du transgène correspondant à la protéine fluorescente
- C) après immunomarquage de la cellule et révélation avec un marqueur fluorescent
- D) après microinjection de cette protéine dans la cellule

Qa12 : Calculez la résolution d'un microscope équipé d'un objectif x 40, ON= 1,0 illuminé par une lumière verte (550nm). *(cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)*

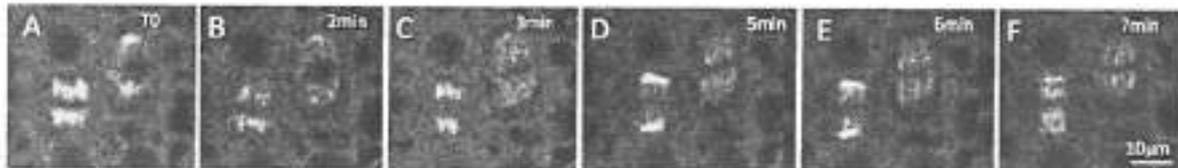
- A) 137,5 nm
- B) 220 nm
- C) 244 nm
- D) 335,5 nm

Qa13 : Lequel ou lesquels des filtres d'émission de fluorescence suivants entre(nt) dans la catégorie "Long Pass" ? (cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)

- A) entre 430 et 680nm
- B) entre 500 et 615 nm
- C) jusqu'à 415nm
- D) au delà de 515nm

Qa14 : Les images ci-dessous ont été prises en microscopie à fluorescence et révèlent une protéine d'intérêt localisée dans le fuseau mitotique. Elles ont été obtenues :

(cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)



- A) en microscopie à épi-illumination
- B) après un immunomarquage (avec usage d'un anticorps secondaire fluorescent)
- C) en microscopie à fond noir
- D) à partir de cellules transgéniques

Qa15 : En microscopie confocale :

(cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)

- A) on choisit le laser en fonction du fluorochrome à observer
- B) on peut reconstituer dans un volume la localisation du marqueur analysé
- C) on réduit la résolution par l'usage du "pinhole"
- D) on peut éteindre la fluorescence dans un domaine cellulaire
- E) on ne peut pas suivre 2 fluorochromes différents
- F) on peut enregistrer la dynamique d'un fluorochrome dans le temps
- G) on ne peut pas observer de cellules qui ont des parois pectocellulosiques
- H) on peut étudier une colocalisation mais pas une interaction entre deux protéine

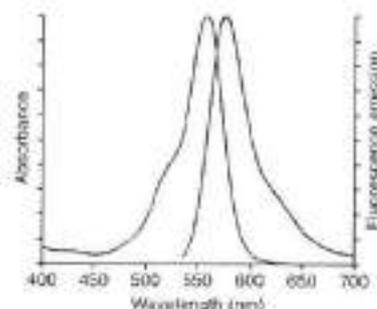
Qa16 : L'incubation de cellules eucaryotes avec la rhodamine phalloïdine permet de révéler :

(cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A) les réseaux de microtubules
- B) les microfilaments d'actine
- C) les filaments intermédiaires
- D) le réticulum endoplasmique
- E) l'appareil de Golgi
- F) les mitochondries

Qa17 : Pour visualiser le marquage à la rhodamine phalloïdine (voir spectres ci-dessous) avec un microscope à épi-fluorescence, quel bloc filtre pourra être choisi :

(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)



- A) avec filtre d'excitation BP330-380nm, md : 400nm, filtre d'émission BP420-480nm
- B) avec filtre d'excitation BP460-500nm, md : 505nm, filtre d'émission BP510-540nm
- C) avec filtre d'excitation BP530-550nm, md : 560nm, filtre d'émission BP 580-630nm
- D) avec filtre d'excitation BP530-550nm, md : 555nm, filtre d'émission LP 560nm

Abréviations : BP : band pass LP : long pass ; md : miroir dichroïque;

Qa18 : Quel matériel végétal sera privilégié pour un marquage à la rhodamine phalloïdine ?
(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A) cellules BY-2 cultivées à l'obscurité
- B) protoplastes préparés à partir de feuilles d'Arabidopsis
- C) pointes de racines d'Arabidopsis
- D) culture de cellules d'Arabidopsis à la lumière
- E) épiderme d'oignon
- F) fibroblastes en culture

Qa19 : Encodrez le nom générique du produit rajouté lors de l'étape de fixation, en plus des fixateurs, en vu de réaliser un immunomarquage des microtubules chez des cellules Eucaryotes.

Qa20 : La microscopie électronique :

(cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A) à un pouvoir de résolution de 2,2 nm
- B) utilise une source de photon
- C) nécessite toujours une fixation préalable des tissus
- D) nécessite toujours une inclusion préalable
- E) permet de voir les cellules vivantes
- F) permet de voir les cellules et le noyau

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 20 questions numérotées de 1 à 20.
- Les réponses sont à porter sur une feuille de codage à remettre à la fin de l'épreuve. **Ecrivez votre numéro d'anonymat et codez-en les chiffres dans les cases prévues.**
- Pour certaines questions, le choix est entre plusieurs réponses désignées par des lettres majuscules. Pour d'autres, vous devez coder un nom, en noircissant les cases des lettres composant le mot. Par exemple, le mot « réticulum endoplasmique » sera codé de la façon suivante :

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

- 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**.

Première partie (Qa 1-6) : caractérisation d'un mutant thermosensible (*cdc21*) de levure (*S. cerevisiae*)

Pour caractériser le point de blocage au niveau du cycle cellulaire, les expériences suivantes ont été réalisées.

Expérience 1 : les levures *cdc21* sont cultivées en présence d'hydroxyurée pendant 2 heures à 25°C puis elles sont transférées dans un milieu sans hydroxyurée et incubées à 37°C. Résultat = aucune division n'est observée.

Expérience 2 : les levures *cdc21* sont incubées à 37°C pendant 2 heures puis les cellules sont transférées dans un milieu contenant de l'hydroxyurée à 25°C. Résultat = aucune division n'est observée.

Qa1. Dans quelle phase du cycle cellulaire les levures sont-elles bloquées en présence d'hydroxyurée ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse) :

A. phase G B. début de phase S C. phase S D. phase G2 E. début de phase M
 F. phase M G. fin de phase M

Qa2. Dans quelle phase du cycle cellulaire les levures sont-elles bloquées en présence de colchicine ou d'oryzaline ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse) :

A. phase G1 B. phase S C. phase G2 D. phase M

Qa3. Comment des mutants de levures de type *cdc* ont-ils été générés ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse) :

A. mutagenèse par insertion d'ADN-T B. mutagenèse chimique par EMS C. mutagenèse par rayons X D. mutagenèse par rayonnement UV

Qa4. Après analyse des expériences 1 et 2, dans quelle phase du cycle cellulaire les mutants *cdc21* sont-ils bloqués quand on les place à température restrictive ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse) :

- A. phase G1 B. début de phase S C. phase G2 D. début de phase M E. fin de phase M

Qa5. Quelle est la forme des mutants *cdc21* si on les observe sous microscope photonique après culture à 37°C ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse) :

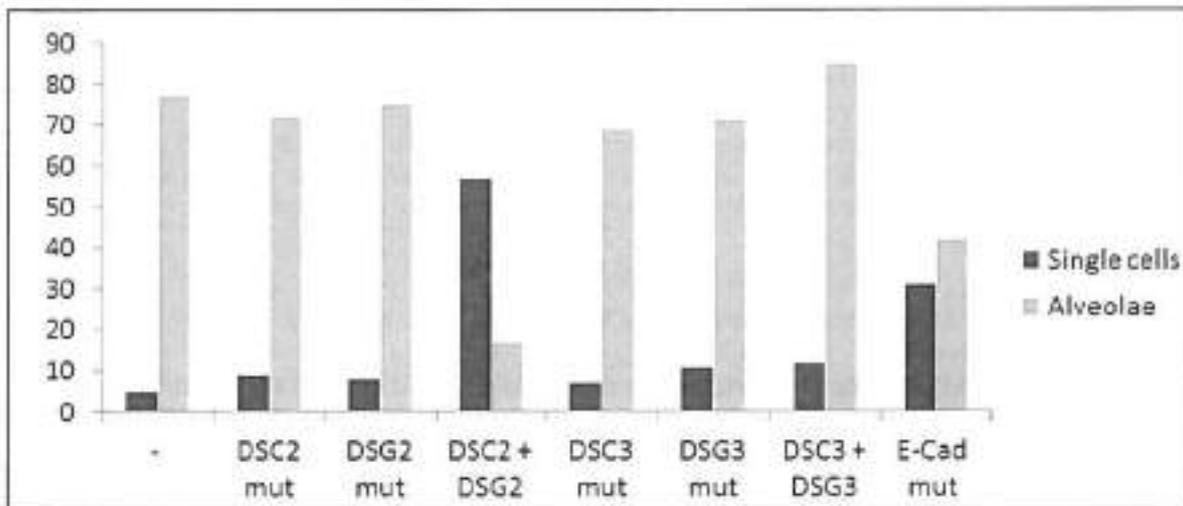
- A. forme allongée B. forme en bâtonnet C. forme sphérique D. forme bourgeonnante (à petit bourgeon) E. forme bourgeonnante (à grand bourgeon)

Qa6. Quelle(s) est(sont) la(les) forme(s) des mutants *cdc21* si on les observe sous microscope photonique après culture à 25°C ? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A. forme ronde B. forme allongée C. forme en bâtonnet D. forme bourgeonnante (à petit bourgeon) E. forme bourgeonnante (à grand bourgeon) F. toutes les formes décrites de A à E

Deuxième partie (Qa 7-10) : adhérence cellulaire

Pour analyser le mécanisme d'adhérence cellulaire dans la glande mammaire, les sites CAR de différentes protéines ont été mutés *in vitro*. Le diagramme ci-dessous montre la quantification des cellules de la glande mammaire:



Qa7. Pour quelle protéine codent les gènes DSC (cochez le nom correspondant à la bonne réponse).

- Qa8.** Les sites CAR sont (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :
 A. ancrés dans la desmoplakine B. les sites d'adhésion entre les cadhérines C. associés aux filaments intermédiaires D. associés au cytosquelette d'actine E. des peptides qui servent de témoin

Qa9. D'après le graphe ci-dessus, quelles sont les protéines impliquées dans l'adhérence des cellules de la glande mammaire ? (Encodez les lettres correspondant à cette valeur chiffrée).

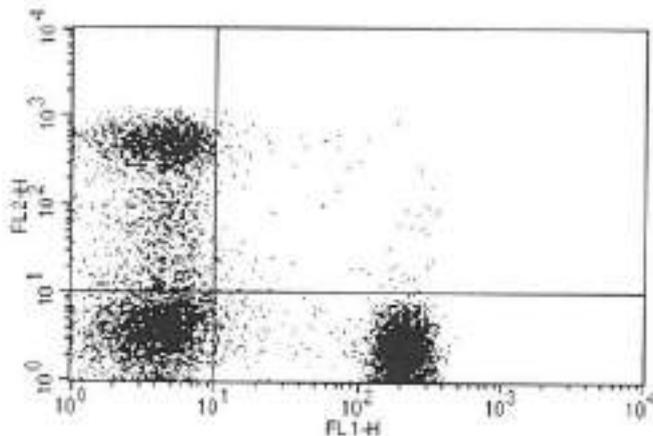
- A. DSC2 B. DSC3 C. DSG2 D. DSG3 E. Cadhérine E

Qa10. Le graphe ci-dessus montre clairement... (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse) :

- A. l'implication de DSC2 et DSG2 dans l'adhérence cellulaire
- B. la redondance entre DSC2 et DSG2
- C. qu'il faut DSG2 et DSC2 pour assurer l'adhérence cellulaire
- D. qu'il faut au moins DSC3 ou DSG3 pour assurer l'adhérence cellulaire
- E. l'implication de la Cadhérine-E dans l'adhérence cellulaire
- F. que les cellules de la glande mammaire forment des alvéoles par défaut

Troisième partie (Qa 11-17) : cytométrie de flux

Le diagramme ci-dessous présente une analyse des lymphocytes T par cytométrie de flux en utilisant des anticorps dirigés contre CD4 (FL1-H) et CD8 (FL2-H).



Qa11 : CD4 et CD8 sont des... (cochez la ou les lettre(s) correspondant à la bonne réponse)

- A. protéines de surface
- B. anticorps primaires
- C. anticorps secondaires
- D. granulocytes
- E. cadhérines atypiques

Qa12: Pour détecter CD4 et CD8, le cytomètre utilise principalement des filtres adaptés aux longueurs d'ondes... (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. d'excitation
- B. d'émission
- C. d'excitation et d'émission

Qa13 : La taille d'une cellule est détectée par le paramètre... (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. FL1
- B. FL2
- C. FL3
- D. FSC
- E. SSC
- F. SFC

Qa14 : Pour récupérer une longueur d'onde de 750 nm, on utilise idéalement... (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. un miroir dichroïque passe bas 700
- B. un miroir dichroïque passe long 700
- C. un filtre passe bande 700/25

Qa15 : Chaque point dans le diagramme ci-dessus correspond à... (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. une cellule
- B. une protéine
- C. une division cellulaire
- D. un anticorps
- E. un anticorps secondaire
- F. un fluorochrome

Qa16 : On analyse les résultats du diagramme de cytométrie ci-dessus. Laquelle de ses réflexions est fautive ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse) :

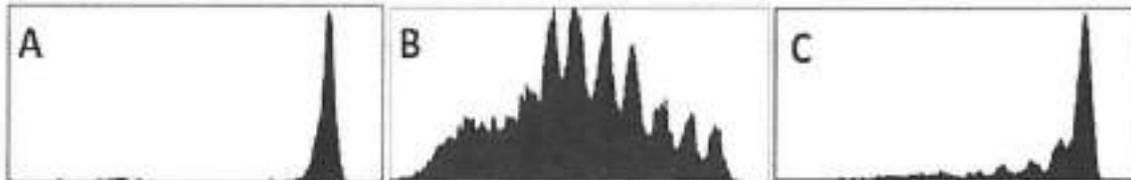
- A. Il y a environ un tiers de cellules CD4⁺CD8⁺
- B. Il y a environ un tiers de cellules CD4⁺CD8⁻
- C. Il y a environ un tiers de cellules CD4⁻CD8⁺
- D. Il y a environ un tiers de cellules CD4⁻CD8⁻

Qa17 : Vous pouvez conclure de l'expérience de cytométrie ci-dessus que... (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. l'anticorps contre CD4 n'a probablement pas marché
- B. l'anticorps contre CD8 n'a probablement pas marché
- C. il y a certains lymphocytes qui sont CD4⁺ et d'autres CD8⁺
- D. les cellules en bas à gauche sont probablement mortes

Quatrième partie (Qa 18-20) : cytométrie de flux

Vous avez établi une nouvelle lignée cellulaire et vous voulez savoir si les cellules se divisent bien. Pour cela, les cellules sont marquées au CFSE et analysées par cytométrie de flux. Les analyses sont réalisées 1, 2 et 5 jours après le marquage. On obtient les trois profils de cytométrie ci-dessous :



Qa18 : Quelles sont les paramètres des axes de ces histogrammes ? (cochez les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. taille des cellules en X
- B. taille des cellules en Y
- C. nombre des cellules en X
- D. nombre des cellules en Y
- E. fluorescence en X
- F. fluorescence en Y
- G. granulosité en X
- H. granulosité en Y

Qa 19 : Quelle est l'ordre chronologique des images ci-dessous? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. ABC
- B. ACB
- C. BAC
- D. BCA
- E. CAB
- F. CBA

Qa 20 : Que peut-on conclure des résultats? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. les cellules ne se divisent pas
- B. une grande partie des cellules ne se divise pas
- C. les cellules se divisent
- D. la majorité des cellules s'est divisé au moins 3 fois
- E. la majorité des cellules s'est divisé au moins 8 fois
- F. toutes les cellules se divisent à la même cadence
- G. certaines cellules se divisent plus rapidement que d'autres



L2- Semestre 1
 Année 2012/13-Contrôle Janvier 2013
 UE Dynamique et Régulation Cellulaire
 Épreuve Cours J.-L. Imler
 Durée 30 min
 Enseignant référent : 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.

- Le sujet comporte **15** questions. Les questions numérotées de **1 à 10** sont notées sur **0,5 point**, et les questions **11 à 15** sur **1 point**.
- Les réponses sont à porter sur une feuille de codage à remettre à la fin de l'épreuve. **Ecrivez votre numéro d'anonymat et codez-en les chiffres dans les cases prévues.**
- Pour certaines questions, le choix est entre plusieurs réponses désignées par des lettres majuscules. Pour d'autres, vous devez coder un nom, en noircissant les cases des lettres composant le mot. Par exemple, le mot « réticulum endoplasmique » sera codé de la façon suivante :

A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

- 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**.

Qa1 : Donnez le nom de la famille des protéines qui sont responsables de la formation des jonctions communicantes. (Codez le nom)

Qa2 : Combien de domaines transmembranaires contiennent ces protéines? (cochez le chiffre correspondant à la bonne réponse)

Qa3 : Quelle est la distance séparant les membranes plasmiques de deux cellules au niveau d'une jonction communicante ? (cochez la lettre correspondant à la bonne réponse)

- A. 3nm B. 30nm C. 300nm D. 3µm E. 30µm

Qa4 : Parmi les molécules suivantes, laquelle ou lesquelles peuvent diffuser à travers les jonctions communicantes dans un épithélium? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. AMPc B. Actine C. N-Acétyl Galactosamine D. Vimentine
 E. Alanine F. Calcium G. ARNt

Qa5 : Parmi les molécules suivantes, laquelle ou lesquelles peuvent diffuser à travers les plasmodesmes? (cochez la ou les lettres correspondant à la bonne réponse)

- A. AMPc B. Actine C. Galactosamine D. Vimentine
 E. Alanine F. Calcium G. ARNt