**M1 Sciences du médicament, UEM907  
La cellule : unité fonctionnelle du vivant : du fondamental à la physiopathologie**

**Contrôle continu de Biologie Cellulaire, 2022-2023**

Concernant les microtubules et les microfilaments d’actine

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Le nucléotide associé à la tubuline est \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_, alors que celui associé à l’actine est \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**b.** Le phénomène de treadmilling peut se produire lorsque la concentration en tubuline est \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ à la concentration critique du bout plus et \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ à la concentration critique du bout moins.

**c.** Les taxanes sont des agents stabilisateurs des microtubules Oui / Non

**d.** La kinésine doit être associée à la dynactine pour augmenter sa processivité. Oui / Non

**e.** Au cours de la dynamique des microtubules, la transition entre une phase de polymérisation et une phase de dépolymérisation est nommée \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Concernant les microtubules et les microfilaments d’actine

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Au cours de la migration cellulaire, le lamellipode est constitué de microfilaments d’actine associés en faisceaux parallèles serrés Oui / Non

**b.** Les protéines de la famille ERM interviennent dans la formation des cils et des flagelles

Oui / Non

**c.** L’activation de la protéine Rho favorise la formation des fibres de stress Oui / Non

**d.** La gelsoline est capable de \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ et de \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ les microfilaments d’actine.

**e.** Le complexe Arp2/3 permet la formation d’un réseau dendritique de microfilaments d’actine

Oui / Non

Concernant le cytosquelette de septines

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Les filaments de septines ont une appétence pour les membranes à courbure \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ et/ou riches en \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**b.** La phosphorylation des septines est un événement important pour le bon fonctionnement des synapses. Oui / Non

**c.** Les septines sont indispensables au maintien de l’intégrité du \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_, ainsi qu’à la nucléation des microtubules d’origine \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**d.** Traiter des cellules quelques heures par du paclitaxel suffit à induire la relocalisation des filaments de septines des fibres de stress vers les microtubules. Oui / Non

**e.** L’expression des septines est altérée dans de nombreux cancers. Oui / Non

Concernant les filaments intermédiaires

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** La progéria est une laminopathie caractérisée par un vieillissement \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ des patients.

**b.** Les lamines sont des filaments intermédiaires dont la perte peut entrainer des dommages à l’ADN.

Oui /Non

**c.** Des moteurs moléculaires spécifique des filaments intermédiaires transportent différents constituants cellulaires. Oui / Non

**d.** La simvastatin, une statine testée en clinique comme médicament anti-tumoral, perturbe les filaments intermédiaires appelés \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_, connus pour être exprimé dans les cellules métastatiques.

**e.** Les gènes codant pour les neurofilaments sont les gènes ancestraux de la famille des filament intermédiaires. Oui / Non

Concernant les mitochondries

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Les protéines Mfn1 et Mfn2 sont impliquées dans la \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_des mitochondries.

**b.** La cardiolipine est un phospholipide spécifique de le membrane externe mitochondriale Oui / Non

**c.** La séquence signal d’import mitochondrial se situe au niveau de l’extrémité C-terminale des protéines Oui / Non

**d.** Le complexe SAM permet l’insertion des protéines dans la membrane externe de la mitochondrie

Oui / Non

**e.** Les mitochondries endommagées sont éliminées par \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

Concernant les mitochondries et les peroxysomes

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Le complexe I (NADH déshydrogénase) prend en charge les électrons provenant de l’ubiquinol Oui / Non

**b.** Le \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ transfère les électrons du complexe III au complexe IV de la chaine respiratoire

**c.** L’ATP synthase du tissu adipeux brun participe à la production de chaleur Oui / Non

**d.** Les péroxysomes se forment à partir de la membrane externe des mitochondries Oui / Non

**e.** Les péroxysomes participent au métabolisme des acides gras à longue chaine Oui / Non

Concernant le stress du Réticulum Endoplasmique (RE)

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Une protéine chaperone protège les régions les plus hydrophobes des protéines clientes Oui / Non

**b.** La Calnexine reconnait un résidu Mannose terminal des N-glycoprotéines Oui / Non

**c.** La réponse IRE-1 contrôle une étape tardive du stress du RE Oui / Non

**d.** La réponse ATF6 présente une étape commune avec la régulation du métabolisme du cholestérol

Oui / Non

**e.** En cas de stress soutenu et prolongé, la cellule entre en apoptose après activation de la \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Concernant les lipides du Réticulum Endoplasmique (RE)

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** La biosynthèse des triglycérides a lieu spécifiquement sur le feuillet cytosolique du RE lisse Oui / Non

**b.** Les gouttelettes lipidiques sont entourées d’un seul feuillet provenant de la membrane du RE Oui / Non

**e.** Le RE peut échanger des phospholipides avec d’autres organites comme les\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**c.** Les gouttelettes lipidiques peuvent tamponner un excès de protéines mal conformées Oui / Non

**d.** Le cholestérol est un lipide très abondant dans la membrane du RE Oui / Non

Concernant la culture, le cycle cellulaire et la sénescence

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Un explant de tissu de peau peut être cultivé *in vitro*. Oui / Non

**b.** Les cellules souches induites pluripotentes (iPSCs) sont générées à partir de cellules \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ présentes dans la peau.

**c.** Les cellules en culture primaire sont plus représentatives du tissu d’origine que des lignées secondaires, mais elles se divisent moins facilement. Oui / Non

**d.** Au microscope, on observe que les cellules en culture s’arrondissent lors de la mitose. Oui / Non

**e.** La lignée cancéreuses HeLa est une culture primaire de cellules humaines. Oui / Non

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**



**a.** le papillomavirus HPV est un oncovirus. Oui / Non

**b.** Les gènes p53 et Rb sont des oncogènes. Oui / Non

**c.** La protéine E2F est un facteur de \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ qui lie l’ADN pour stimuler la transition G1/S.

**d.** La protéine p53 est normalement dégradée par le protéasome, mais elle est stabilisée en réponse à des dommages ADN, pour \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ transitoirement ou définitivement le cycle cellulaire.

**e.** Dans les cellules quiescentes/G0 et sénescentes, la protéine Rb séquestre E2F, car dans ce cas Rb n’est pas \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ par les complexes Cdk-cyclin.

Concernant l’adhérence, la polarité et la migration

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Les tissus conjonctifs contiennent de la \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ extracellulaire et des \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ qui la synthétise.

**b.** On trouve des protéines cadhérines atypiques au niveau des desmosomes. Oui / Non

**c.** Des mutations dans les protéines claudines affectent les barrières épithéliales, en perturbant les jonctions \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**d.** La transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) est caractéristique du développement embryonnaire, de la réparation des tissus, mais aussi du processus tumoral métastatique. Oui / Non

**e.** Des jonctions cellule-\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ sont conservées si l’EMT est incomplète.

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Lors de la migration des cellules mésenchymateuses, la direction de leur déplacement peut être influencée par la matrice extracellulaire. Oui / Non

**b.** Le noyau des cellules cancéreuses se déforme lors de l’intravasation, un processus où elles traversent l’endothélium (paroi des vaisseaux) Oui / Non

**c.** Des mutations dans les protéines claudines affectent les barrières épithéliales, en perturbant les jonctions \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**d.** La transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) est caractéristique du développement embryonnaire, de la réparation des tissus, mais aussi du processus tumoral métastatique. Oui / Non

**e.** Lors de la migration amiboïde en culture 3D, les cellules empruntent le chemin présentant le plus de résistance au niveau de la matrice extra-cellulaire. Oui / Non

Concernant les morts cellulaires

**Entourez la bonne réponse oui/non, positives/négatives**

**a.** La nécrostatine inhibe la nécrose. Oui / Non

**b.** Mises au contact d’iodure de propidium, des cellules nécrotiques sont positives/négatives pour cet agent intercalant de l’ADN fluorescent.

**c.** Le récepteur de mort TNFR est uniquement impliqué dans l’apoptose. Oui / Non

**d.** Les cellules apoptotiques ont une membrane plasmique intègre. Oui / Non

**e.** La protéine p53 favorise l’apoptose. Oui / Non

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Les caspases initiatrices clivent des substrats protéiques cellulaires variés. Oui / Non

**b.** Les deux voies de l’apoptose sont la voie \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ et la voie \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**c.** Le cytochrome c libéré de la mitochondrie au cours de l’apoptose participe à la formation de \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

**d.** Lorsqu’elles sont conjuguées aux lipides membranaires des autophagosomes, les protéines LC3 se trouvent sous leur forme LC3-II. Oui / Non

**e.** La dégradation des mitochondries dans les autophagosomes se nomme la \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

Concernant les mécanismes du trafic vésiculaire

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Les échanges nucléotidiques sur Arf nécessitent les protéines Arf-GEF Oui / Non

**b.** Les protéines de manteau COP-I sont utilisées pour le trafic des récepteurs KDEL Oui / Non

**c.** La dynamine est un moteur microtubulaire qui se dirige vers le centrosome Oui / Non

**d.** Les complexes vSNARE/tSNARE sont dissociés dans la membrane de l’accepteur par NSF Oui / Non

**e.** Le tri moléculaire dans le Golgi repose sur l’oligomérisation de récepteurs p24 Oui / Non

Concernant le trafic et les organites membranaires

**Complétez les phrases ou entourez la bonne réponse oui/non**

**a.** Dans le Golgi, l’agrégation de certains lipides avec le cholestérol et les protéines à \_\_\_\_\_\_\_\_\_ domaine transmembranaire constitue des \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ lipidiques

**b.** Les éléments de transition sont des régions \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ du réticulum endoplasmique rugueux spécialisées dans la production de vésicules recouvertes d’un manteau de \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**c.** La marque Mannose-6-P est acquise dans le cis-Golgi Oui / Non

**e.** La sécrétion régulée existe dans tous les types cellulaires différenciés Oui / Non

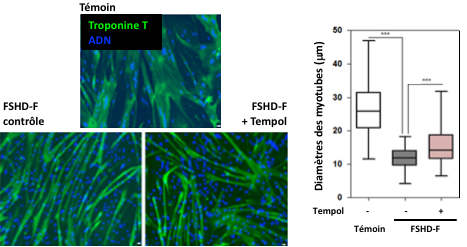
**d.** L’endosome tardif émet des vésicules dans le cytosol à destination du lysosome Oui / Non

**Examen de Biologie Cellulaire, 1ere session, 2022-2023**(14/28 points - 1h) **Les corrections sont en rouge**  
*Adapté de Dmitriev et al., Free Rad. Biol. & Mbd. (2016) et Kiseleva et al., J. Cell. Physio. (2022)*

La dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSHD) est une maladie génétique au cours de laquelle un facteur de transcription embryonnaire est anormalement réexprimé dans les cellules musculaires squelettiques adultes. Chez les patients, ces cellules accumulent des dommages à l’ADN et dégénèrent, alors qu’une inflammation et une fibrose s’installent.

*Remarques : Les cellules musculaires squelettiques sont dénommées les myoblastes dans leur état non différenciés. Ces myoblastes fusionnent pour générer les myotubes. Au niveau des muscles des patients, le recrutement de cellules souches mésenchymateuses (MSCs, provenant de la moelle osseuse) est en partie responsable des symptômes fibrotiques.*

**A.** Afin d’identifier la cause possible des dommages à l’ADN et de l’altération des cellules musculaires squelettiques observés chez les patients FSHD, des chercheurs ont tout d’abord utilisé une molécule anti-oxydante, le Tempol. Ce type d’agents diminue la quantité d’espèces réactives de l’oxygène (ROS), alors qu’un excès de ROS peut endommager l’ADN, les protéines et les lipides des cellules (oxydation).



**Figure 1** : Immunofluorescences de myotubes différenciés *in vitro* à partir de myoblastes primaires de donneurs sains (témoin) ou de patients (FSHD-F). Les cellules provenant de patients ont été traitées par 100M de Tempol (FSHD-F + Tempol) ou non (FSHD-F contrôle) pendant 48h puis marquées avec un anticorps anti-troponine T (marqueur musculaire) et du DAPI (ADN/noyau). Les diamètres des myotubes sont indiqués dans l’histogramme (\*\*\* t-test p-value < 0.001).

**A-Q1.** Citer un organite capable de produire des ROS.

Mitochondrie

**A-Q2.** Interprétez les résultats de l’histogramme de la figure 1. Quelle hypothèse peut-on faire sur l’effet attendu du Tempol chez les patients.

Chez les patients, la morphologie des myotubes est anormale, avec un diamètre significativement réduit.

L’anti-oxydant Tempol permet de restaurer partiellement, mais significativement, ce diamètre et donc la morphologie des myotubes.

Chez les patients FSHD, on s’attend à ce que le traitement anti-oxydant Tempol restaure la morphologie des myotubes. Ceci pourrait éventuellement améliorer la fonction musculaire chez ces patients.

**A-Q3.** Quelle hypothèse pouvez-vous faire à propos du rôle du stress oxydant (ROS) sur l’apparition de dommages à l’ADN et l’altération des myotubes chez les patients ?

Cette expérience suggère que la morphologie anormale des myotubes observée chez les patients est due à une accumulation d’espèces réactives de l’oxygène (ROS).

Comme un excès de ROS est connu pour endommager l’ADN (mais aussi les lipides et les protéines), cela pourrait expliquer une morphologie anormale des cellules.

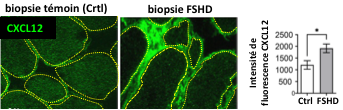
Dans les cellules musculaires on aurait donc :  
Accumulation de ROS 🡪 dommages de l’ADN (protéines et lipides aussi) 🡪 altération cellulaire 🡪 diminution diamètre myotubes

**B.** Les chercheurs ont ensuite voulu comprendre le rôle des myoblastes sur la migration des cellules souches mésenchymateuses (MSCs) et le développement de la fibrose dans la pathologie. Pour cela, ils se sont intéressés à la protéine CXCL12, une chimiokine (ou molécule chimio-attractante) sécrétée par les myoblastes.

**B-Q1.** D’après vos connaissances, dans quel compartiment cellulaire une protéine sécrétée (ici CXCL12) est-elle synthétisée, par quel(s) organite(s) transite-t-elle et quelle est sa destination finale ?

Comme CXCL12 est une protéine sécrétée, elle est traduite au niveau du réticulum endoplasmique rugueux (RE) et se retrouve dans la lumière de cet organite.

Son transit est ensuite le suivant :  
RE 🡪 appareil de Golgi 🡪 vésicules de sécrétion 🡪 exocytose au niveau de la membrane plasmique 🡪 milieu extracellulaire = destination finale

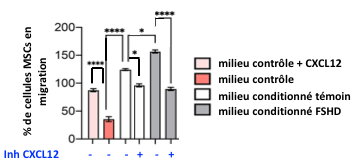
****

**Figure 2** : Immunofluorescences sur des biopsies musculaires prélevées sur des individus sains (témoin/Ctrl) ou des patients (FSHD). Les biopsies ont été marquées avec un anticorps anti-CXCL12 (une chimiokine). Les contours des myocytes sont indiqués par des lignes pointillées. La quantification de la fluorescence extracellulaire verte associée à CXCL-12 est indiquée dans l’histogramme (moyenne ± SD, \*p < 0.05).

**B-Q2.** Interprétez les résultats de l’histogramme de la figure 2. Quelle hypothèse peut-on faire sur CXCL12 et la matrice extracellulaire des muscles chez les patients.

Chez les patients, on a une quantité significativement accrue de CXCL12 extracellulaire par rapport aux contrôles. Cette chimiokine est sécrétée en excès par les myoblastes et se retrouve accumulée dans la matrice extracellulaire musculaire des patients, en région péricellulaire des myocytes (cf immunofluorescences).

Les chercheurs ont ensuite généré des milieux de culture conditionnés, c’est-à-dire des milieux dans lesquels des myoblastes d’individus sains ou atteints de FSFD ont été cultivés. Ces milieux ont été récupérés (sans myoblaste) et utilisés pour cultiver et faire migrer des cellules souches mésenchymateuses (MSCs) saines.

****

**Figure 3** : Analyse de la migration des cellules souches MSCs cultivées dans 4 milieux différents :  
- le milieu contrôle, non conditionné (rose foncé).  
- le milieu contrôle, non conditionné, dans lequel on a ajouté de la protéine CXCL12 (rose clair).  
- le milieu conditionné témoin, dans lequel des myoblastes de témoins ont été préalablement cultivés (blanc).  
- le milieu conditionné FSHD, dans lequel des myoblastes de patients ont été préalablement cultivés (gris).   
Les conditions, où un inhibiteur spécifique de CXCL12 a été ajouté au milieu, sont indiquées (inh +). L’histogramme correspond aux % de cellules MSCs en migration (moyenne ± SD, \*p < 0.05, \*\*\*\*p < 0.0001).

**B-Q3.** Interprétez les résultats de la figure 3. Quelle hypothèse peut-on faire sur la migration des cellules souches MSCs et de la chimiokine CXCL12 chez les patients.

Si on compare les milieux contrôle avec ou sans ajout de la protéine CXCL12 (2 premières conditions), on voit que CXCL12 stimule significativement la migration des MSCs.

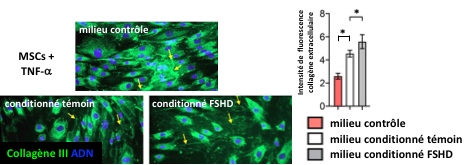
Le milieu conditionné témoin stimule aussi la migration des MSCs (condition 3 par rapport à 2). Comme cet effet est diminué en présence de l’inhibiteur de CXCL12 (condition 4 versus 3), ceci indique que cette protéine (sécrétée par les myoblastes sains dans le milieu) stimule la migration des MSCs.

Le milieu conditionné FSHD stimule de façon encore plus prononcée la migration des MSCs (condition 5 par rapport à 3). L’utilisation de l’inhibiteur (condition 6) montre que l’effet est aussi dû à CXCL12 (statiquement très significatif).

Comme, on a vu en Fig. 2 que les myoblastes FSHD produisent plus de CXCL12 que les myoblastes sains, ceci explique la migration accrue des MSCs en condition pathologique.

Chez les patients FSHD, on peut faire l’hypothèse que les myoblastes sécrètent plus de chimiokines CXCL12 dans la matrice extracellulaire des muscles, ce qui induit un recrutement accru au niveau de ce tissu des cellules souches mésenchymateuses (MSCs provenant de la moelle osseuse).

La progression de la FSHD est associée à une inflammation musculaire progressive et le remplacement des myotubes par du tissu conjonctif fibrotique (riche en collagène III et en fibrilles de fibronectine). Les chercheurs se sont donc concentrés sur ce remodelage pathologique de la matrice extracellulaire.



**Figure 4** : Immunofluorescences de cellules souches MSCs cultivées dans 3 milieux différents :  
- le milieu contrôle, non conditionné (rose foncé).  
- le milieu conditionné témoin, dans lequel des myoblastes de témoins ont été préalablement cultivés (blanc).  
- le milieu conditionné FSHD, dans lequel des myoblastes de patients ont été préalablement cultivés (gris).  
Dans les 3 cas, du TNF-alpha a été ajouté pour mimer une inflammation.  
Les cellules souches MSCs ont été marquées avec un anticorps anti-collagène III et du DAPI (ADN/noyau). Les fibres de collagène dans la matrice extracellulaire sont indiquées par des flèches jaunes.  
La quantification de la fluorescence verte extracellulaire associée au Collagène III est indiquée dans l’histogramme (moyenne ± SD, \*p < 0.05).

**B-Q4.** Interprétez les résultats de l’histogramme de la figure 4 en faisant l’hypothèse que le collagène III présent à l’état de fibre dans la matrice extracellulaire est sécrété par les cellules MSCs. Quelle hypothèse peut-on faire sur l’apparition de la fibrose chez les patients ?

Dans un environnement inflammatoire, les MSCs sécrètent peu de collagène (condition 1) même si on voit quelques fibres dans la matrice extracellulaire.

Si on compare les conditions 1 et 2, les MSCs sécrètent plus de collagène que lorsqu’elles sont cultivées dans le milieu conditionné témoin. Elles sont sous l’influence d’un facteur de la matrice extracellulaire produite par les fibroblastes.

Enfin, si on compare les conditions 2 et 3, les MSCs sécrètent davantage de collagène lorsqu’elles sont cultivées dans le milieu conditionné FSHD que lorsqu’elles sont cultivées dans le milieu conditionné témoin. Le facteur inducteur est donc plus présent chez les patients.

Donc chez les patients FSHD, les myoblastes sécrètent plus de chimiokine CXCL12, un signal qui dirige la migration des cellules souches mesenchymateuses (MSCs) vers le muscle et aussi un autre facteur qui stimulateur de l’expression du collagène III par les MSCs. A cet endroit enflammé (stress oxydatif augmenté), les MSCs sécrètent davantage de collagène III, et cette matrice-extracellulaire remodelée pourrait participer à la fibrose musculaire caractéristique de la dystrophie.