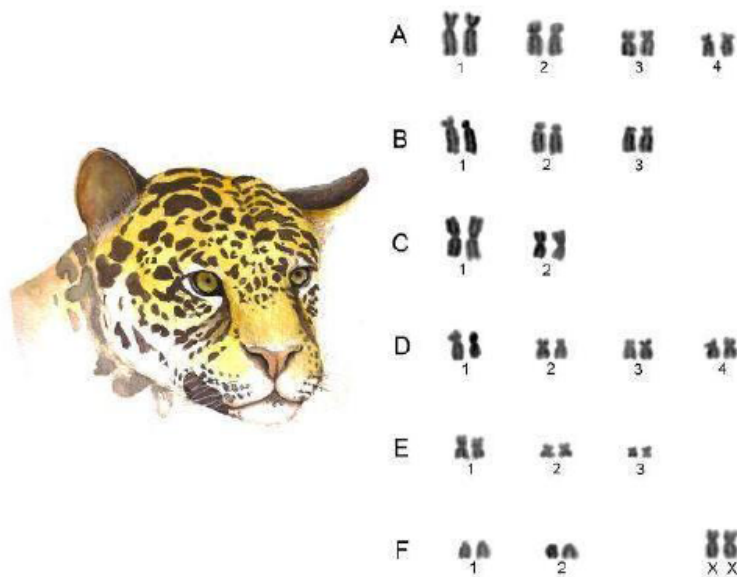


Exercice 1

Répondez aux questions en vous basant sur le karyotype de ce jaguar.



A. Est-ce un mâle ou une femelle?

C'est une femelle. Il y a une paire de chromosomes X, ce qui correspond aux femelles de mammifères.

B. Combien y a-t-il de chromosomes chez le jaguar:

- dans ce karyotype? **38 (19 paires)**
- en G1? **38**
- en G2? **38**

Le nombre de chromosomes ne change pas au cours du cycle cellulaire.

C. Combien y a-t-il de molécules d'ADN (double brin):

- dans ce karyotype? **76**
- en G1? **38**
- en G2? **76**

Le nombre de molécules d'ADN est doublé durant la phase S qui sépare la phase G1 (avant la réplication de l'ADN) et la phase G2 (après). Le karyotype est métaphasique (après réplication de l'ADN et avant la separation des chromatides, puis des cellules).

D. Combien y a-t-il de chromatides dans ce karyotype? **76** Le karyotype est métaphasique; chaque chromosome contient deux chromatides.

E. Combien y a-t-il de centromères dans ce karyotypes? **38** Il y a toujours un centromère par chromosome.

F. Combien y a-t-il de paires d'autosomes chez le jaguar? **18**. Chaque paire est composée de deux chromosomes. Les chromosomes sexuels X ne sont pas des autosomes.

G. Combien y a-t-il de chromosomes dans un spermatozoïde de jaguar? **19** Ici, le karyotype est diploïde car il contient une paire de chaque chromosomes homologues (19 paires). Le spermatozoïde est haploïde et ne contient qu'un chromosome de chaque type.

H. Combien y-a-il de chr. X dans un spermatozoïde de jaguar? **1** (50% des spermatozoïdes); **0** (50% des spermatozoïdes)

I. Combien y-a-il de chr. X dans un ovule de jaguar? **1** dans chaque ovule haploïde

Exercice 2

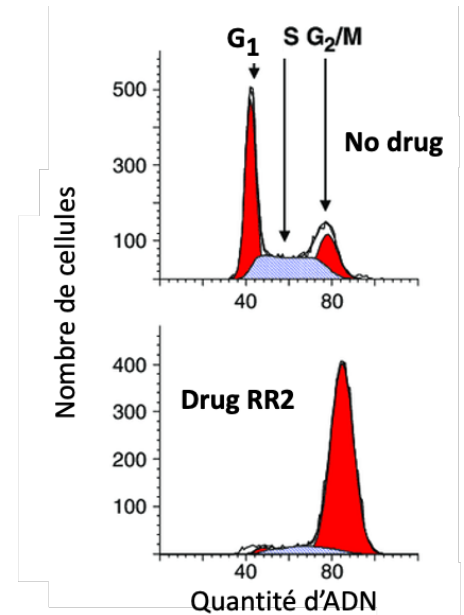
La quantité d'ADN dans une cellule varie au cours du cycle cellulaire. En utilisant un marqueur fluorescent on peut quantifier l'ADN dans chaque cellule. Une mesure par "flow cytometry" permet l'obtention d'histogrammes des cellules en fonction de la fluorescence indiquant la quantité d'ADN.

En fonction des données ci-contre:

A. Pour les cellules non traitées par la drogue RR2 (en haut), le temps passé en G1 est plus long que le temps passé en G2.

VRAI ou FAUX

L'analyse est une photo instantanée d'une culture de cellules. S'il y a plus de cellules dans une phase donnée du cycle à n'importe quel moment, cela veut dire que les cellules passent plus de temps dans cette phase.



B. Expliquez l'effet de la drogue RR2 sur le cycle cellulaire de ces cellules?

En comparant avec l'absence de traitement, on voit que la drogue cause une accumulation de cellules en G2/M et qu'il n'y a plus de cellules en G1 et presque aucune cellule en S. Les causes possible de cette observation sont par exemple:

-RR2 bloque le cycle cellulaire au G2/M checkpoint

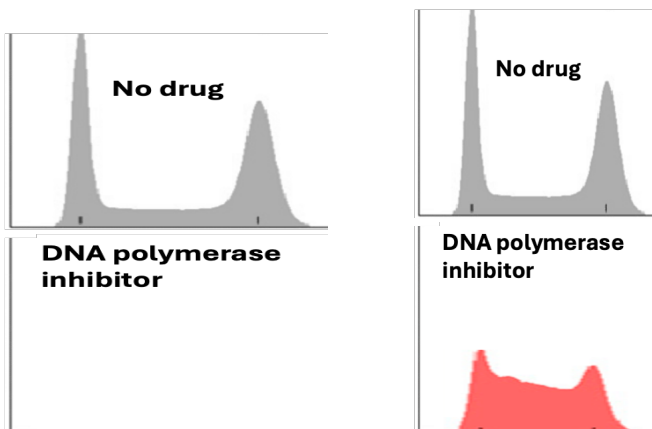
-RR2 bloque le cycle cellulaire au Spindle Assembly checkpoint lors de la métaphase durant la mitose.

Par contre une drogue qui bloquerait le G1/S chepoint résulterait en une accumulation de toutes les cellules en G1, pas en G2.

C. Dessinez l'histogramme de cellules traitées avec un inhibiteur de l'ADN polymérase qui ralentit son activité. Expliquez.

En présence de l'inhibiteur qui ralentit la synthèse d'ADN, les cellules vont prendre plus de temps pour répliquer leur génome.

Il y aura donc plus de cellules en phase S (entre les pics de G1 et G2/M)). Comparativement il y aura donc moins de cellules dans les autres phases, d'où des pics plus bas.



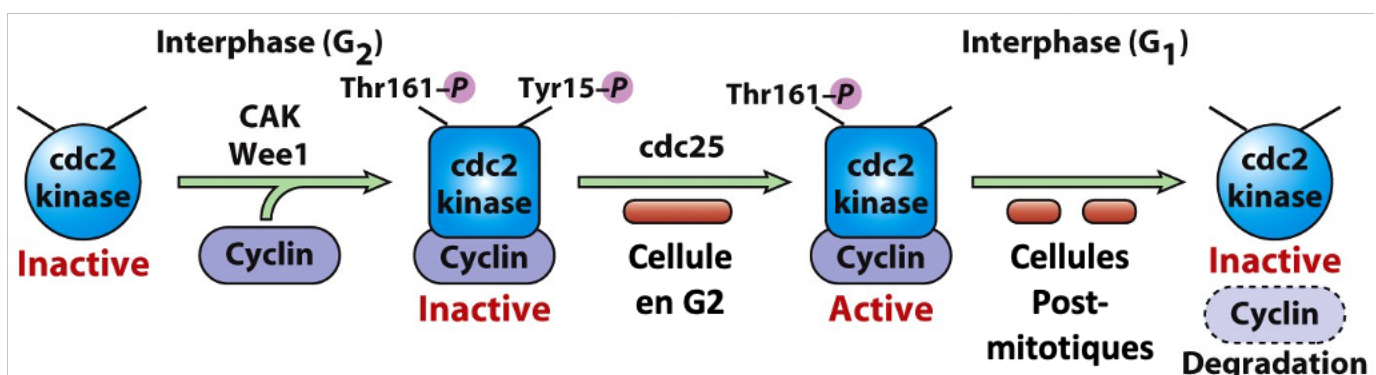
Exercice 3 :

Informations : Pour expliquer les mécanismes affectés par des mutations, rappelez-vous que les activités biologiques impliquent des interactions moléculaires spécifiques, des changements de conformations de protéines et des fonctions enzymatiques (qui dépendent de la conformation et des interactions de l'enzyme, et qui peuvent être modifiées par des inhibiteurs et des activateurs). Ce sont ces activités qui sont sensibles aux mutations/drogues/médicaments et aux protéines virales.

Si la conséquence d'une mutation/droque/virus conduit à une activation plus fréquente de la cdk, alors le cycle cellulaire va outrepasser le point de contrôle (checkpoint). Si la conséquence d'une mutation/droque/virus mène à l'inactivation ou l'inhibition de la cdk, le cycle cellulaire va s'arrêter à ce checkpoint.

Problème 1: G₂/M checkpoint (*S. pombe*)

Considérez ce diagramme expliquant la régulation normale du G₂/M checkpoint de *S. pombe* pour répondre aux questions. Cdc2 est une cyclin-dependent kinase (cdk). Lisez toutes les parties de la question avant de répondre.



A. Quelles sont les conséquences d'une mutation de la Tyrosine 15 de cdc2 en une Alanine ?

1. Définissez d'abord si le phosphate ajouté à la tyrosine 15 est le phosphate inhibiteur (ajouté par wee1 ou le phosphate activateur ajouté par CAK). Comme cdc2 est active en n'ayant que le phosphate sur la threonine 161, et seulement en l'absence du phosphate sur Tyr15, **le phosphate sur Tyr15 est inhibiteur.**

2. **La mutation empêche le phosphate inhibiteur d'être ajouté** car l'alanine n'est pas phosphorylable.

3. **Donc, le mutant ne va pas être inactivé par l'addition de phosphate par wee1.**

A1. Expliquez l'effet de la mutation sur le passage du G2/M checkpoint et sur les phases du cycle cellulaire ?

Donc, n'étant pas inactivée par wee1 durant la phase G2, cdc2 va promouvoir une entrée prématurée en mitose, (puisque, contrairement au wild type, le mutant cdc2 n'a pas besoin d'attendre l'enlèvement du phosphate inhibiteur par cdc25 au checkpoint). En conséquence, **la phase G2 du cycle cellulaire sera plus courte.**

A2. Expliquez l'effet de cette mutation sur le phénotype de la cellule mutante ?

Comme *S. pombe*, s'allonge pour atteindre sa taille normale en G2, **une phase G2 plus courte résulte en des cellules plus courtes** aussi.

A3. Quelle autre mutation parmi les suivantes cause les mêmes effets? Justifiez votre réponse.

En fonction du raisonnement précédent:

Comme la tyrosine15 est la cible fonctionnelle de wee1. Une absence de phosphorylation due à la mutation Tyr15Ala, est fonctionnellement semblable à une incapacité de wee1 de produire cette phosphorylation.

1. Perte de fonction de wee1

2. Perte de fonction de CAK (pas de phosphate activateur ajouté : cdc2 reste inactive longtemps, G2 plus longue; cellules plus longues)
3. Perte de fonction de la cycline (cdc2 reste inactive longtemps puisqu'elle a besoin de la cycline pour fonctionner; G2 plus longue; cellules plus longues)
4. Gain de fonction de la cycline (la cycline lierait cdc2 plus efficacement ; cela ne changerait pas la régulation par CAK, wee1 et cdc25. Au mieux, cdc2 serait plus efficace au checkpoint, mais ne serait pas active avant). Sans doute pas d'effet visible sur la taille de la cellule.
5. Gain de fonction de wee1 (on peut imaginer qu'un wee1 hyperactif remettrait le phosphate inhibiteur sur cdc2 dès qu'il aurait été ôté par cdc25 au checkpoint. Cela "ré-inhiberait cdc2 et la transition en mitose serait moins efficace; G2 serait plus longue et les cellules aussi)

B. Quelles sont les conséquences d'une mutation résultant en une perte de fonction de cdc25?

Le rôle de cdc25 est d'ôter le phosphate inhibiteur de cdc2, pour que cette cdk soit active et que le cycle progresse en mitose. L'activité de Cdc25 est donc, nécessaire pour l'activation de la cdk (cdc2) et le passage efficace de la phase G2 en phase M.

B1. Expliquez l'effet de la mutation sur le passage du G2/M checkpoint et sur les phases du cycle cellulaire?

La perte de fonction (imaginez que cdc25, n'est pas là pour faire son job) de cdc25 conduit au manque d'activation de cdc2 au checkpoint. Donc **la transition en phase M est inefficace, la phase G2 est allongée.**

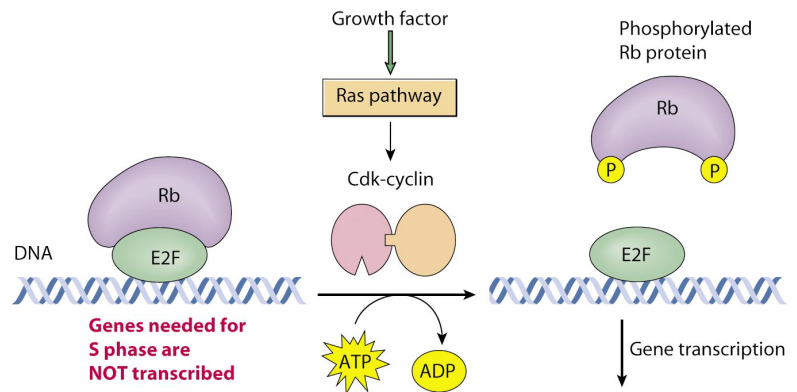
B2. Expliquez l'effet de cette mutation sur le phénotype de la cellule mutante?

Comme la phase G2 est allongée, **les cellules mutantes sont plus longues que les cellules wild type.**

Problème 2: G1/S checkpoint (*H. sapiens*)

Considérez le mécanisme de régulation impliqué dans le point de contrôle (Checkpoint) G1/S.

A. Dans le cas de rétinoblastome héréditaire, le gène Rb est muté. Expliquez si les mutations suivantes pourraient être, ou non, responsables de ces tumeurs.



Dans son rôle de suppresseur de tumeurs, Rb doit lier E2F afin d'empêcher E2F de transcrire les gènes impliqués dans la réplication de l'ADN et donc d'initier la phase S du cycle cellulaire. Une mutation qui empêche Rb de tenir ce rôle peut mener à la transformation de la cellule normale en une cellule tumorale.

1. Une mutation qui empêcherait Rb de se lier à E2F.

Oui. Voir le raisonnement ci-dessus.

2. Une mutation qui empêcherait Rb d'être hyperphosphorylé par cdk.

Non. Cette mutation permettrait à Rb de rester lié à E2F, même en cas de signal d'un facteur de croissance. Avec cette mutation, la cellule aurait plus de difficulté à se diviser.

3. Une mutation qui favoriserait la déphosphorylation de Rb par une phosphatase.

Non. Cette mutation favoriserait la production de Rb non-phosphorylé qui pourrait à nouveau lier E2F et ralentir la transition dans la phase S. Avec cette mutation, la cellule aurait plus de difficulté à se diviser.

4. Une mutation qui empêche la production de Rb dans ces cellules.

Oui. Si Rb n'est pas là (ou s'il est là mais ne peut lier Rb à cause d'un problème de conformation). La cellule aura moins de contrôle au G1/S checkpoint et cette division incontrôlée peut mener à la production de cellules tumorales. C'est l'exemple ultime d'une perte de fonction d'un suppresseur de tumeur

B. Situation hypothétique de raisonnement : vous et votre collègue venez de découvrir un nouveau virus semblable au virus du papillome humain (HPV). Vous avez même identifié une protéine virale (E2X) qui se lie fortement à la protéine Rb humaine *in vitro*. Sur ce résultat, vous argumentez avec votre collègue sur la possibilité que ce virus, comme HPV, cause une dérégulation du cycle cellulaire et puisse causer des cancers.

B1. Votre collègue dit qu'il n'y a aucun doute que ce virus affecte le cycle cellulaire. Quel mécanisme biologique propose votre collègue pour supporter son argument et pour déduire que ce nouveau virus est cancérigène comme HPV? (basez-vous sur HPV pour proposer ce mécanisme)

L'argument de votre collègue est que "la protéine virale, en se liant à Rb empêche son interaction avec E2F, ou cause la dégradation de Rb dans les cellules infectées. Dans les deux cas, ils s'agit d'une perte de fonction de Rb. Rb étant un suppresseur de tumeur, son inactivation par le virus va faire que la cellule aura de plus grandes chances de devenir tumorale, comme dans le cas de HPV." "CQFD" ajoute votre collègue.

B2. Vous n'êtes pas convaincu(e) par l'argument de votre collègue. Et même s'il n'y a aucun doute sur vos résultats expérimentaux qui démontrent la liaison de E2X sur Rb, quel est votre argument pour dire qu'il est aussi possible que ce virus n'ait aucun effet sur le cycle cellulaire?

Votre scepticisme est fondé sur le fait que vos data sont insuffisantes pour déduire que la liaison de la protéine virale à la protéine Rb cause son inactivation. Vous avez raison. Il est tout à fait possible que même liée à E2X, Rb reste parfaitement fonctionnelle. Dans ce cas le virus n'affecte pas le G1/S checkpoint et ne cause pas de division incontrôlée de la cellule.

La morale de cette petite fable est qu'en tant que scientifiques, faites attention à la portée de vos data. Dans le cas de cette histoire, vous et votre collègues devez préparer une nouvelle expérience où la fonction de Rb est évaluée en présence et absence de E2X. cela vous permettra de vous rapprocher de la réponse à la question de savoir si ce virus peut causer un cancer ou non.