

# TUTORAT UE 2 2012-2013 – Biologie cellulaire

## Séance n°1 – Semaine du 24/09/2012

### *Généralités sur la cellule - Méthodes d'étude* Lavabre - Carillo

Séance préparée par Héloïse BRUZARD, Thomas LEFEBVRE, Emmanuel DIAZ  
(TSN)

**QCM n°1 : A propos de la théorie cellulaire, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. Les cellules sont indépendantes les unes des autres.
- B. Elle indique que l'organisme est fait uniquement de cellule.
- C. Elle indique que toute cellule provient de la division d'une autre cellule.
- D. Toutes les cellules d'un organisme sont identiques.
- E. Tous les tissus peuvent se renouveler.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°2 : A propos des généralités sur les cellules, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. Les cellules sont observables en microscopie optique et électronique.
- B. En microscopie optique on pourra différencier tous les organites intracellulaires (alors appelés morphoplasme).
- C. Le cytosquelette est composé des microtubules, des microfilaments d'actine et des filaments intermédiaires.
- D. Un syncytium est le résultat de la division de cellules.
- E. Une cellule est majoritairement composée d'eau.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°3 : Concernant les généralités sur les cellules, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. Les phospholipides rentrent dans la composition des membranes cellulaires ainsi que le cholestérol.
- B. Dans une protéine dimérique, les 2 sous unités sont liés par une liaison forte.
- C. La fonctionnalité d'une protéine est due à sa conformation 3D spécifique.
- D. Les Archées sont des eucaryotes.
- E. Les cellules végétales possèdent des centrioles.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°4 : A propos des généralités cellulaires, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. Le cytoplasme comprend le cytosol, le noyau, et les organites qu'ils soient membranaires, granulaires ou filamenteux.
- B. Parmi les organites membranaires on peut citer entre autre le réticulum endoplasmique qu'il soit rugueux ou lisse, les mitochondries ou encore les lysosomes.
- C. Le système endomembranaire comprend entre autre la membrane nucléaire, l'appareil de golgi, les

mitochondries et les vésicules.

- D. L'ouverture par réaction chimique des oses à l'état cyclique d'un polysaccharide peut permettre de libérer leurs fonctions réductrices qui donnent une coloration rouge en présence du réactif de Schiff.
- E. Le cytosquelette est composé d'organites filamenteux.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°5 : A propos des méthodes d'études de la cellule, indiquer la (ou les)**

**proposition(s) exacte(s) :**

- A. La loi de Descartes permet d'évaluer l'angle de réfraction d'un rayon lumineux à partir de l'indice de réfraction.
- B. Le pouvoir de séparation est la distance maximale qui doit exister entre deux points pour être correctement discernés au travers d'un système optique.
- C. Le pouvoir de résolution est fonction de la longueur d'onde du rayonnement utilisé.
- D. En contraste de phase, la lumière traverse l'objet à visualiser.
- E. Le mode de fonctionnement du microscope en fluorescence est la réémission.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°6 : A propos des méthodes d'études de la cellule, indiquer la (ou les)**

**proposition(s) exacte(s) :**

- A. Un système optique utilisant un rayonnement rouge (800 nm) aura une meilleure résolution qu'un système optique utilisant un rayonnement bleu (400 nm).
- B. L'effet du contraste de phase est conseillé pour les coupes.
- C. Un microscope qui travaille en transmission peut utiliser deux effets : l'absorption ou le contraste de phase.
- D. Le May-Grümwald-Giemsa est très utilisé sur les cellules du sang.
- E. Les colorants acidophiles ont une forte affinité pour les substances acides et les colorants basophiles ont une forte affinité pour les substances basiques.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°7 : Concernant la préparation de coupe en microscopie photonique, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. La fixation a pour but de fixer les éléments d'une cellule et d'inactiver les enzymes.
- B. La réhydratation a pour but de faciliter la coloration des coupes.
- C. Dans l'ordre on a : fixation-enrobage-déshydratation-coupe-réhydratation-coloration-observation.
- D. Dans l'ordre on a : fixation-déshydratation-enrobage-coupe-coloration-réhydratation-observation.
- E. Dans l'ordre on a : fixation-déshydratation-enrobage-coloration-coupe-réhydratation-observation.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°8 : Concernant l'utilisation du microscope électronique, indiquer la (ou les)**

**proposition(s) exacte(s) :**

- A. On doit utiliser des fixations plus stringentes, avec le glutaraldéhyde puis l'acide osmique.
- B. Les coupes, d'une épaisseur d'environ 50 nm, sont réalisées avec un ultramicrotome avant d'être recueillies sur les lames de verre.
- C. Les colorants signalétiques s'utilisent avant l'inclusion.
- D. En MET on utilise des colorants signalétiques (citrate de Pb, acétate d'uranyle...) ou spécifique (Anticorps...).
- E. Le MEB permet de capter les électrons secondaires.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°9 : Concernant l'utilisation du microscope optique, indiquer la (ou les)**

**proposition(s) exacte(s) :**

- A. Un microscope travaillant en transmission par contraste de phase ou travaillant en réflexion est adapté pour les préparations possédant un relief.
- B. Un microscope multiphotonique, le fluorochrome réémet dans le visible avec une longueur d'onde inférieure au rayon excitateur (après la rencontre du fluorochrome avec deux photons ou plus).

- C. En microscopie à fluorescence on utilise des longueurs d'onde inférieures au spectre du visible et c'est le fluorochrome qui réémet dans le visible.
- D. Le flou généré par la fluorescence « parasite » peut être résolu grâce à un microscope confocal, mais la préparation doit être fine.
- E. Si lors de la coupe, un organite intracellulaire est déplacé de 50 nm, l'image ne sera pas conforme à la cellule vivante (en microscopie optique).
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°10 : Concernant l'utilisation des colorants, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. L'hématoxyline est une base qui colore les noyaux cellulaires.
- B. L'éosine est un colorant cytochimique qui colore le cytoplasme (basique au pH intracellulaire du fait des protéines) en rose, visible en microscopie optique.
- C. La majorité des colorants utilisés en microscopie optique sont utilisés après la coupe, dans la paraffine directement (plutôt que dans l'eau qui les mélangerait).
- D. En extemporanée, dans le cadre d'une observation au stéréomicroscope, après avoir effectué la coupe, on colore directement la préparation congelée sur la lame.
- E. En microscopie électronique, on peut utiliser des anticorps marqué par des métaux insérés dans la préparation avant l'inclusion.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°11 : Concernant la séparation des cellules, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. On peut dissocier des cellules entre elles en diminuant l'adhérence par un chélateur de calcium, suivi de l'action de protéases.
- B. Le nombre de cellules compté par le compte globule est déduit des variations de la valeur de la résistance lors de leur passage dans l'appareil.
- C. Le cytomètre en flux permet entre autre de quantifier des marqueurs cellulaires de type fluorochrome lié à un anticorps.
- D. Le cytomètre en flux permet aussi de trier les cellules en fonction de la fluorescence mesurée (FACS).
- E. Le système de triage du cytomètre en flux consiste à attribuer une charge (+ ou -) à une gouttelette, chacune contenant une cellule ; en fonction du signal mesuré par cellule, les deux types de gouttelettes sont séparées.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°12 : Concernant les méthodes d'études de la cellule, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. La technique de FRAP apporte une dimension de cinétique, ce qui permet de suivre les acides nucléiques et leurs déplacements dans la cellule.
- B. La sonde métabolique Quin AM est un indicateur de la concentration calcique extracellulaire.
- C. La carboxyfluorescéine permet d'avoir une idée du pH à l'intérieur de la cellule.
- D. Le réactif de Schiff est utilisé dans la réaction au P.A.S et dans la réaction de Feulgen.
- E. La réaction de Perls est utilisée pour le diagnostic des anémies.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°13 : Concernant les méthodes d'études de la cellule, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. On peut suivre le devenir d'une protéine d'intérêt au microscope optique en formant une protéine chimère fluorescente.
- B. La technique de FRAP permet d'obtenir des informations supplémentaires en termes de cinétique sur le devenir d'une protéine.
- C. On peut utiliser un précurseur radioactif de type acide aminé pour suivre le devenir d'une protéine grâce à l'autoradiographie.
- D. FURA2 est une sonde métabolique dont la fluorescence émise est corrélée avec le pH intracellulaire.
- E. La technique de FRAP, on neutralise la radioactivité de la protéine chimère.

F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

**QCM n°14 : Concernant les méthodes d'études de la cellule, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

- A. Le fait de coupler une réaction de cytochimie avec une réaction de cytoenzymologie augmente la spécificité, l'enzyme étant le réactif le plus spécifique d'une substance.
- B. En immunocytochimie par marquage indirect, le signal observé est directement proportionnel au nombre d'antigène.
- C. En immunocytochimie, la méthode directe est plus sensible que la méthode indirecte.
- D. En MO, on marquera l'anticorps avec une molécule opaque aux électrons comme la ferritine ou des billes d'or colloïdal.
- E. L'autoradiographie est une méthode très spécifique et de plus en plus utilisée.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

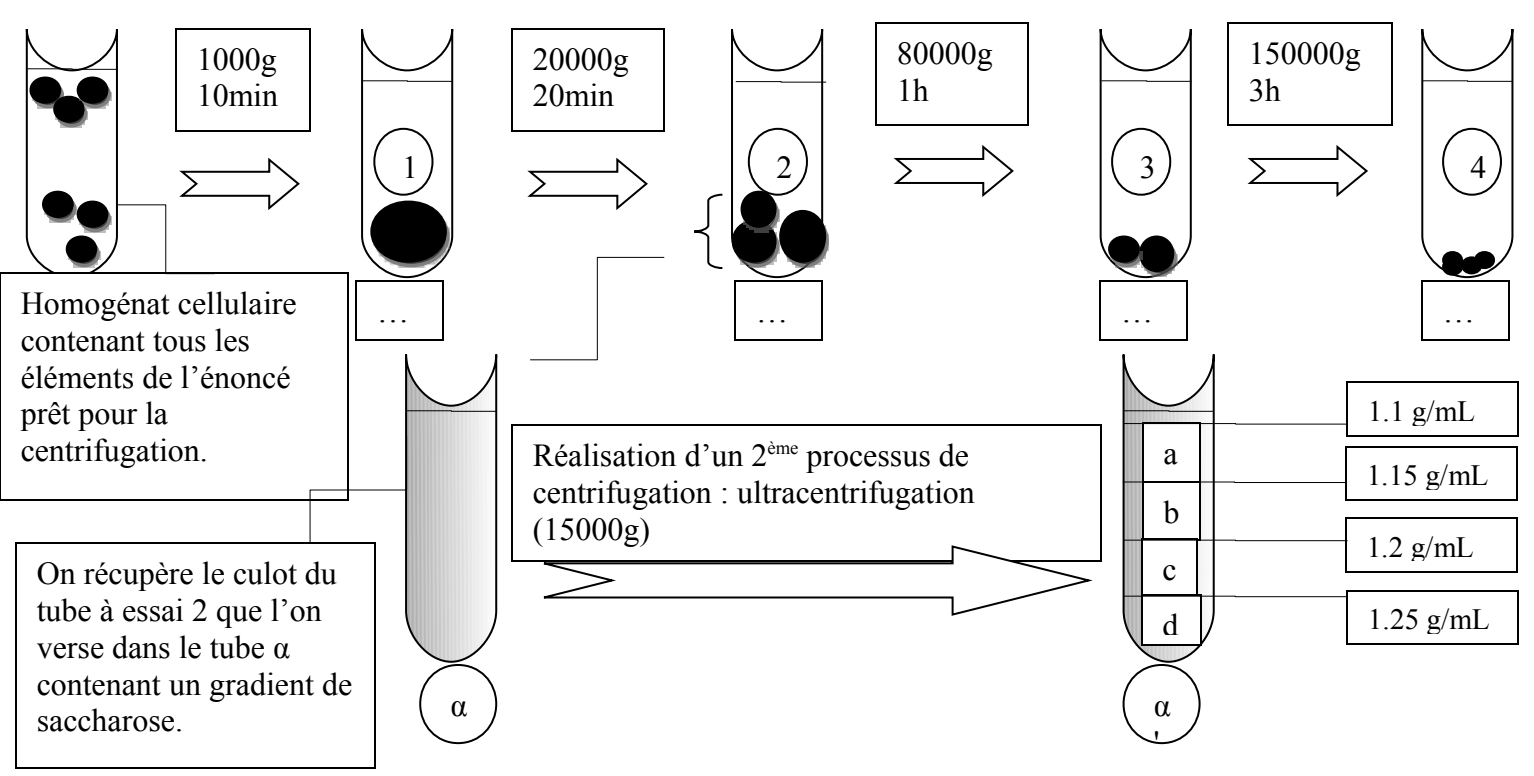
**QCM n°15 : Concernant les méthodes d'études de la cellule, indiquer la (ou les) proposition(s) exacte(s) :**

*On classe les différents composés intracellulaires en quatre groupes ((A) ribosomes / (B) microsomes / (C) peroxyosomes-lysosomes-mitochondries / (D) noyau) en fonction de leur coefficient de sédimentation (A<B<C<D). On réalise une centrifugation différentielle avec tous ces groupes mélangés au départ et on obtient un et strictement un groupe (A ou B ou C ou D) par culot et différent pour chaque tube : 2-3-4-5. Il faut associer chaque groupe au bon culot de tube à essai.*

*Puis à partir du tube 2, on réalise une ultracentrifugation en gradient de densité à l'équilibre et on obtient quatre bandes de densité : a-b-c-d*

*Données sur les densités : 1.12 lysosome / 1.18 mitochondrie / 1.23 peroxyosome / 1.3 noyau / 1.5 ribosome / 1.7 ADN*

Réalisation d'une centrifugation (puis ultra lorsque >10000g) différentielle



- A. Dans le compartiment b du tube  $\alpha$  obtenu par ultracentrifugation en vitesse on peut trouver un organite qui s'identifie en diffusant dans la cellule une sonde métabolique : la rhodamine 123.
- B. La Di-Amino-Benzidine (DAB) précipite en un produit brun doré au contact d'une molécule produite et dégradée par l'élément du compartiment d du tube  $\alpha$ .
- C. En récupérant par écoulement libre contrôlé le culot du tube 1 d'une part et aspiration spécifique le compartiment b du tube  $\alpha$  d'autre part, et effectuant une hydrolyse à chaud suivi du réactif de Schiff dans les 2 nouveaux tubes après lyse membranaire, on obtient une coloration rouge du contenu de l'élément dans les 2 cas.
- D. L'étudiant effectuant la manipulation précédente (de l'item c) oublie d'étiqueter le tube contenant le culot du tube 2 et le range à côté d'un autre tube contenant aussi une préparation de coloration rouge suite à une réaction de PAS en présence de glycogène. S'il avait fait une réaction cyto-enzymologique ayant pour substrat le glycogène sur les trois tubes avant leur coloration, seuls deux tubes se seraient colorés en rouge ; permettant ainsi de différencier ces deux types de réaction de couleur similaire.
- E. On remarque que la réaction de Feulgen du tube contenant l'organite du compartiment b du tube  $\alpha$  n'aurait pas fonctionné si ses membranes s'étaient lysées pendant le 2<sup>ème</sup> processus de centrifugation.
- F. Toutes les propositions précédentes sont fausses.