

BIOLOGIE CELLULAIRE

DS n°3
6 décembre

Durée ☐ 3 heures

A partir de l'exploitation des documents et de vos connaissances, vous décrirez certaines caractéristiques de 3 cellules différenciées animales.

- L'exposé sera encadré par une introduction et une conclusion, et sera structuré par un plan faisant apparaître explicitement les thèmes abordés et la progression suivie.
- L'exposé doit se limiter aux trois thèmes abordés par les documents, qui feront l'objet de trois parties indépendantes.
- Le candidat ne doit pas rédiger de longs développements de ses connaissances sur le sujet indépendamment de l'exploitation des documents.
- Les documents peuvent être découpés et intégrés à la copie, à condition d'être légendés, commentés et exploités ☐ des croquis légendés peuvent aussi être proposés.

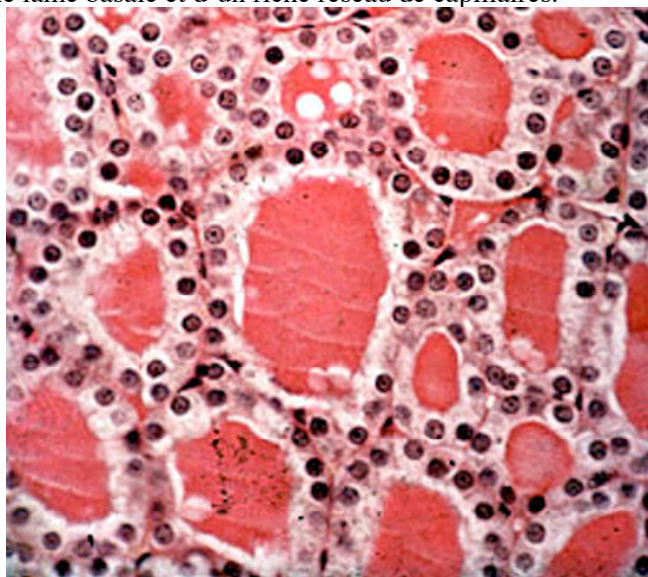
THÈME 1 CELLULE THYROÏDIENNE ET FLUX DE MATIÈRE

D'après sujet Agro-TB 1998

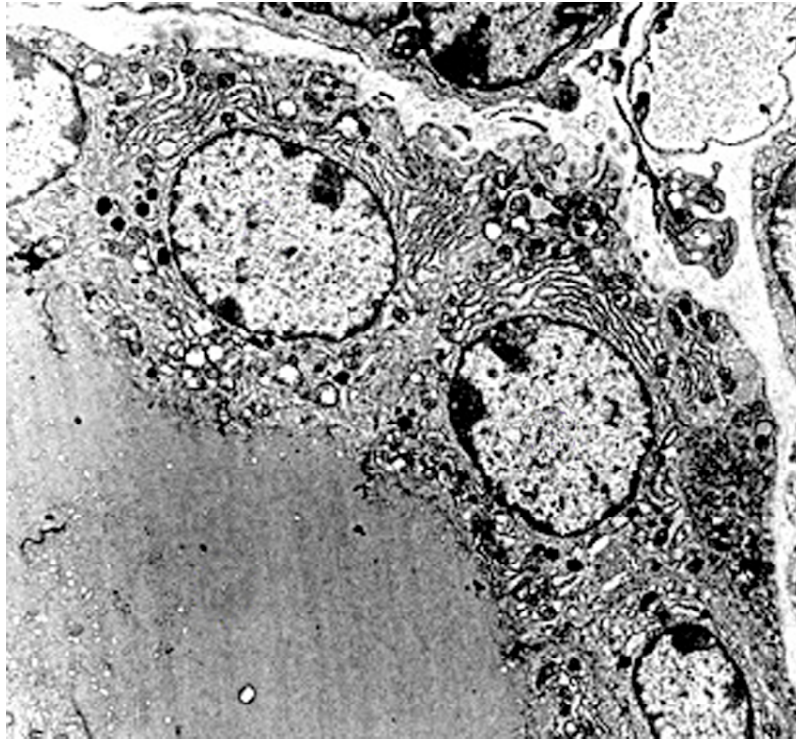
Les données suivantes permettent d'étudier les étapes de la biosynthèse des hormones thyroïdiennes. Elle débute avec la synthèse de la thyroglobuline, glycoprotéine iodée, par les thyrocytes. La thyroglobuline est le précurseur inactif des hormones thyroïdiennes. Elle est libérée dans la lumière du follicule où elle est stockée sous forme d'une substance gélatineuse appelée colloïde. Elle est ensuite reprise dans la cellule et dégradée en petites molécules à l'origine des hormones.

Document 1A Données de la microscopie

Un follicule est constitué d'un épithélium unistratifié délimitant une cavité centrale, la lumière du follicule. Les follicules sont entourés d'une lame basale et d'un riche réseau de capillaires.



x 300



x 8000

Document 1B
Expérience de pulse-chase

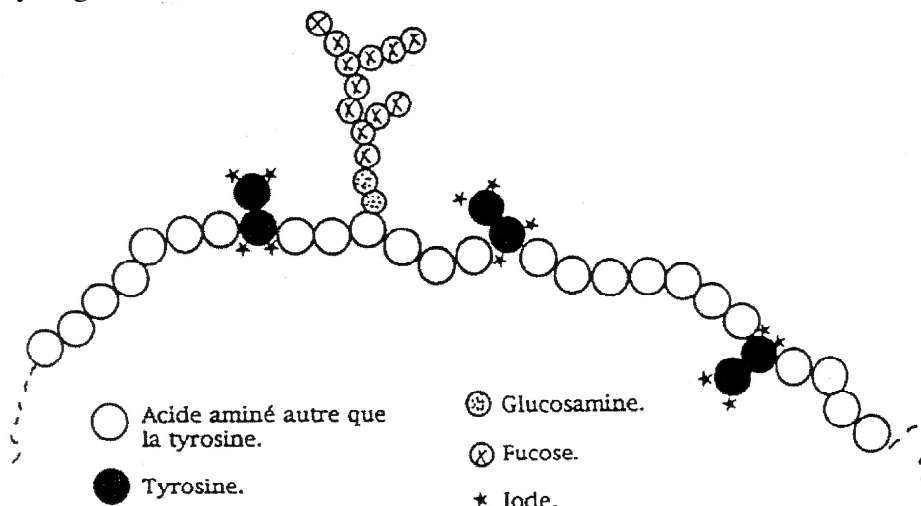
Des tranches de thyroïde sont mises à incuber sur milieu nutritif. Quatre expériences successives de pulse-chase sont réalisées, chacune avec un des précurseurs marqués suivants ☐

Leucine, glucosamine, fucose et iode.

Les résultats de l'autoradiographie sont donnés dans le tableau suivant ☐

Précurseur marqué	Structure cellulaire marquée après ☐			
	2 minutes	30 minutes	2 heures	4 heures
Leucine	REG	Golgi	Grains de sécrétion	Colloïde
Glucosamine	REG	Golgi	Grains de sécrétion	Colloïde
Fucose	Golgi	Grains de sécrétion	Colloïde	Colloïde
Iode	Colloïde	Colloïde	Colloïde	Colloïde

La molécule de thyroglobuline est la suivante ☐



THÈME 2

DIFFÉRENCIATION DES CELLULES MUSCULAIRES STRIÉES SQUELETTIQUES

Tiré du sujet Agro-Véto BCPST session 2006

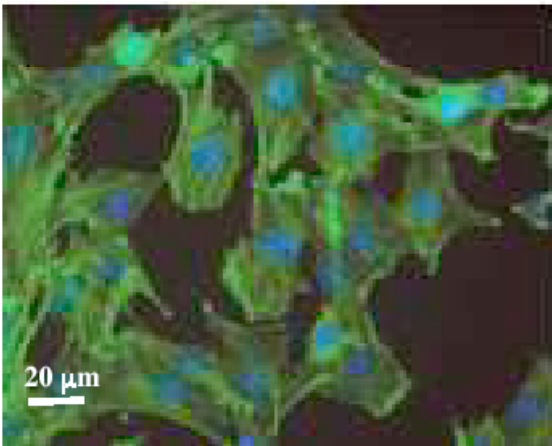
Document 2A

Evolution des myoblastes, cellules précurseurs des cellules musculaires

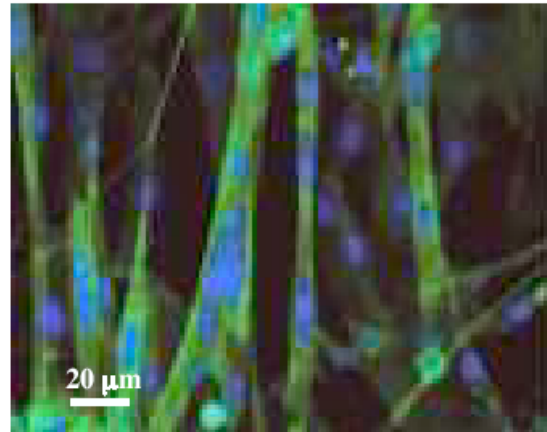
1) Des cultures *in vitro* de cellules musculaires embryonnaires de souris, les myoblastes, sont utilisées comme modèle pour étudier la myogenèse.

- Dans un milieu de culture dit de prolifération, les cellules se multiplient.
- Lorsqu'elles sont transférées du milieu de prolifération vers un milieu de différenciation (= induction de la différenciation), des modifications sont observées. Néanmoins, le nombre total de noyaux de la culture ne change pas.

Les cellules sont observées au microscope à fluorescence. Les noyaux sont colorés en bleu, les molécules d'actine sont colorées en vert.



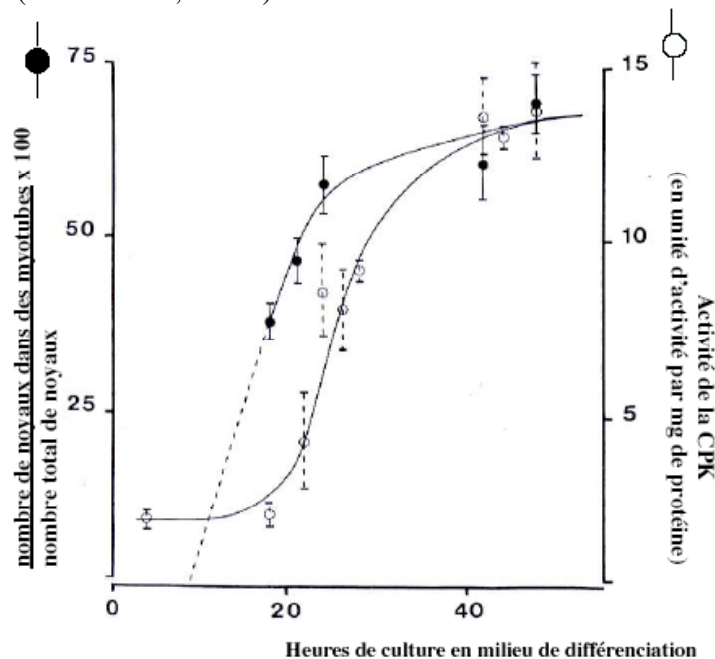
A- Culture des myoblastes en milieu de prolifération



B- Après 72 heures de culture en milieu de différenciation, les cellules se contractent spontanément et sont appelées des myotubes.

2) Le pourcentage des noyaux qui sont présents dans des myotubes est déterminé en fonction de la durée de culture en milieu de différenciation et exprimé en pourcentage du nombre total de noyaux (cercles pleins, noirs) .

L'enzyme créatine phosphokinase (CPK) s'exprime de façon spécifique chez les cellules musculaires différenciées. Son activité est mesurée (en unité d'activité par mg de protéine) en fonction de la durée de culture en milieu de différenciation (cercles vides, blancs)



Document 2B

Cadhérines et formation de myotubes

Chez les vertébrés, le processus d'adhérence cellulaire fait intervenir une famille de molécules, les cadhérines. Ce sont des glycoprotéines membranaires qui, en présence d'ions calcium, adhèrent spécifiquement aux cadhérines d'une autre surface cellulaire.

Des cadhérines musculaires ont été identifiées à la surface des myoblastes. L'implication de ces molécules dans la myogenèse est recherchée.

Une culture témoin de myoblastes de Poulet est effectuée dans le milieu de différenciation appelé milieu DMEM contenant 2 mM de Ca^{2+} .

D'autres cultures cellulaires sont effectuées dans des milieux de différenciation modifiés :

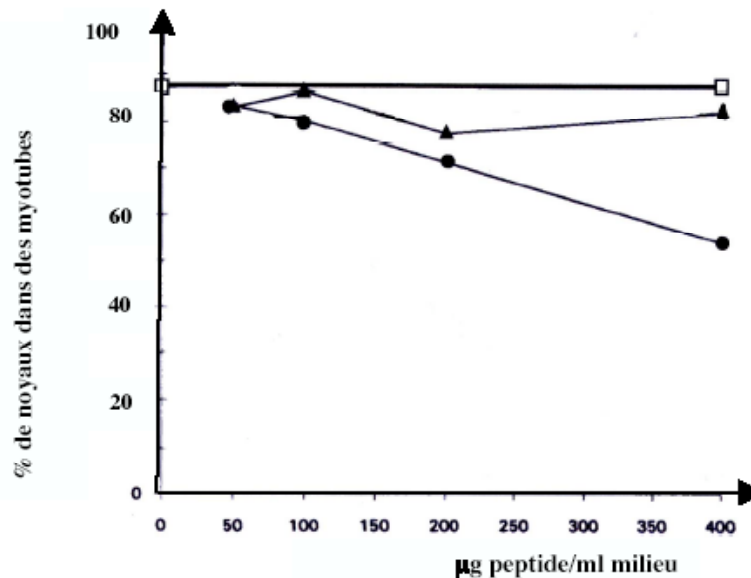
- milieu SMEM: milieu de différenciation à faible concentration de calcium 0,2 mM de Ca^{2+} ,
- milieu DMEM + anticorps anti-cadhérine musculaire à divers taux de dilution (1/500, 1/100, 1/50),
- milieu DMEM + diverses concentrations de peptides synthétiques:

* peptide 1: peptide synthétique de 10 acides aminés, identique à une zone de la région extracellulaire d'une cadhérine musculaire.

* peptide 2: peptide synthétique de 10 acides aminés, de même composition en acides aminés que le peptide 1 mais de séquence différente, n'existant pas dans la cadhérine.

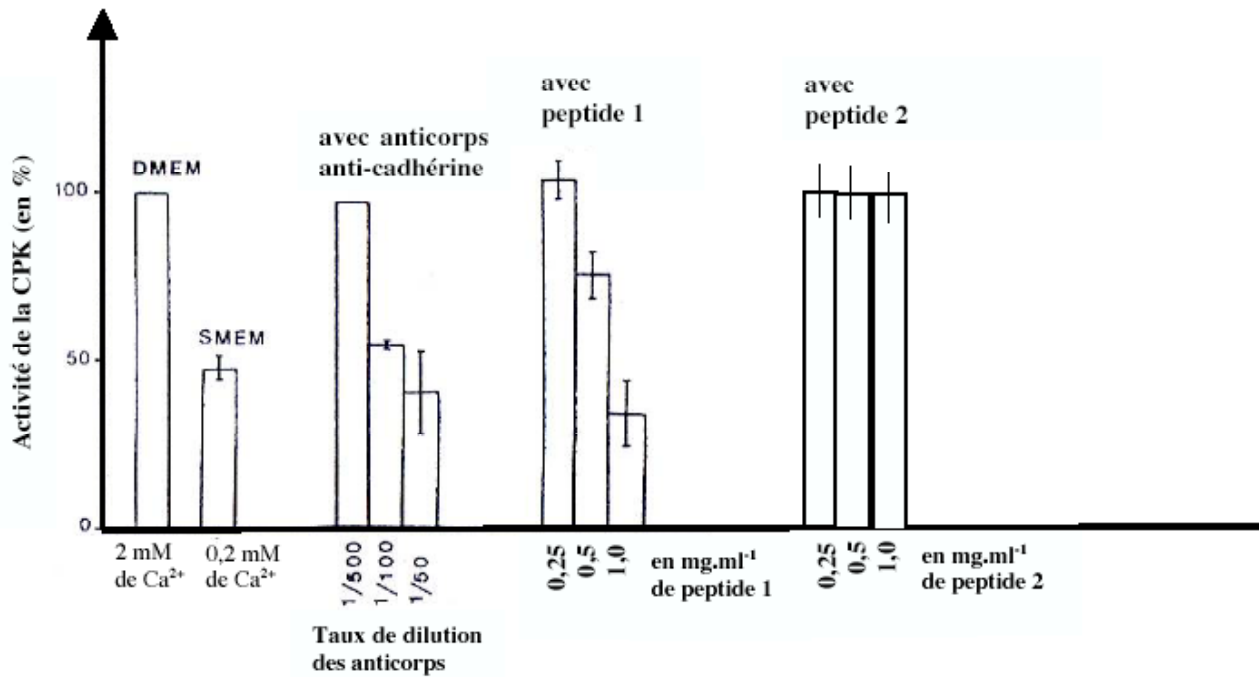
Graphique A: Le pourcentage des noyaux qui sont présents dans des myotubes, exprimé en pourcentage du nombre total de noyaux, est déterminé 48 heures après le déclenchement de la différenciation en présence ou pas de peptides synthétiques.

- en absence de peptides synthétiques dans le milieu DMEM
- milieu DMEM + peptide 1
- ▲ milieu DMEM + peptide 2

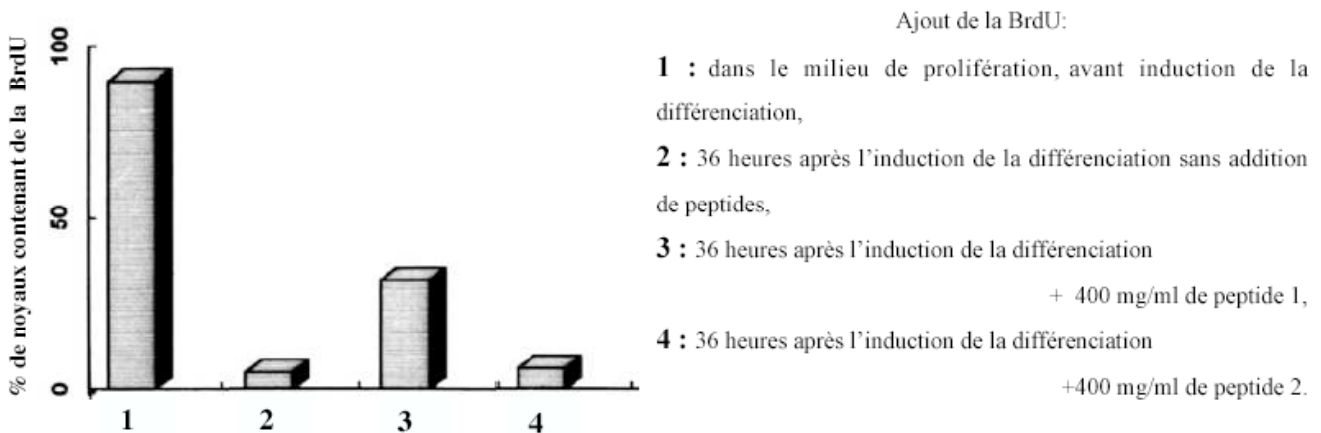


Les résultats représentent la moyenne de trois cultures indépendantes dans lesquelles 1000 noyaux ont été comptés.

Graphique B : Des myoblastes sont mis en culture dans divers milieux de différenciation. L'activité de l'enzyme créatine phosphokinase (CPK) est mesurée après 48 heures de culture. Cette activité est exprimée en pourcentage de l'activité présentée par l'enzyme dans les cellules de la culture témoin DMEM.



Graphique C : La 5-bromo-2-déoxyuridine (BrdU), est un nucléotide analogue de la thymidine dans lequel la base azotée thymine est remplacée par la bromo-uracile. La BrdU se substitue à la thymidine lors de la réplication de l'ADN. La BrdU est ajoutée dans différentes conditions de culture et on mesure le pourcentage de noyaux contenant de la BrdU dans l'ADN.

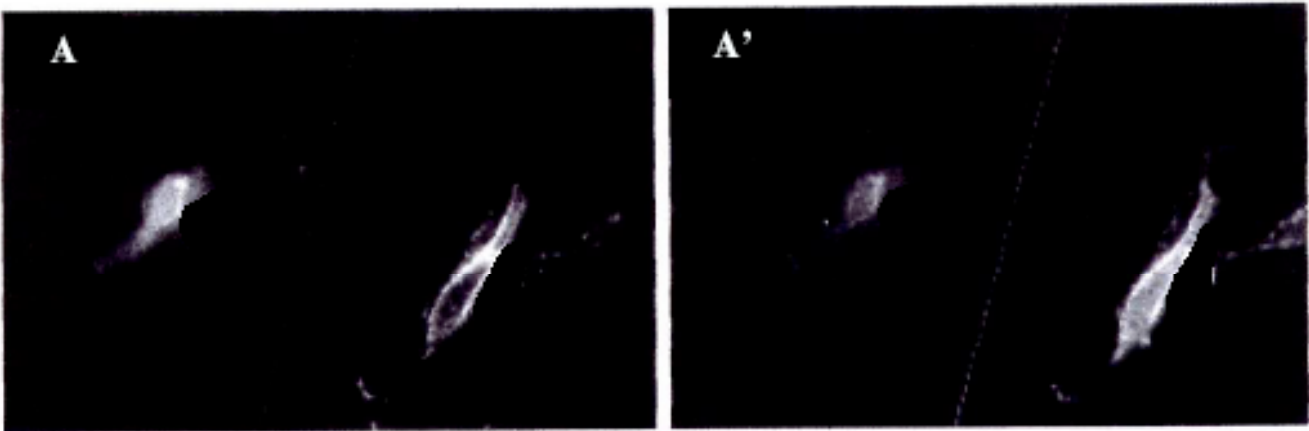


Document 2C
Localisation des cadhérines musculaires au cours d'une myogenèse

Des cellules en culture sur milieu de différenciation DMEM (contenant 2 mM de calcium) sont fixées et traitées pendant 1 heure avec des anticorps anti-cadhérine musculaire (photographies A et B) et des anticorps dirigés contre un marqueur membranaire présent sur la surface des myoblastes et des myotubes (photographies A' et B'). Les deux types d'anticorps sont marqués par un fluorochrome différent. L'observation est effectuée avec un microscope à fluorescence. Le même champ est observé en A / A' et en B / B'. En A et B, on visualise les cadhérines de la membrane plasmique; en A' et B', on visualise les marqueurs de la membrane plasmique.

A- Cellules en culture depuis 15 heures sur milieu de différenciation + anticorps anti-cadhérine

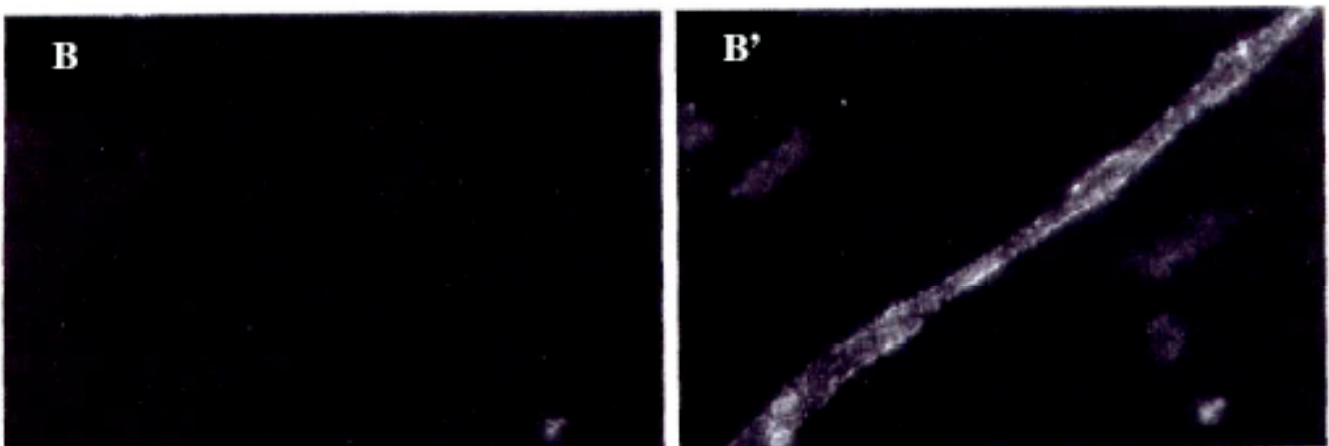
A'- Cellules en culture depuis 15 heures sur milieu de différenciation + anticorps anti-marqueur membranaire



20 μ m

B- Cellules en culture depuis 7 jours sur milieu de différenciation + anticorps anti-cadhérine

B'- Cellules en culture depuis 7 jours sur milieu de différenciation + anticorps anti-marqueur membranaire

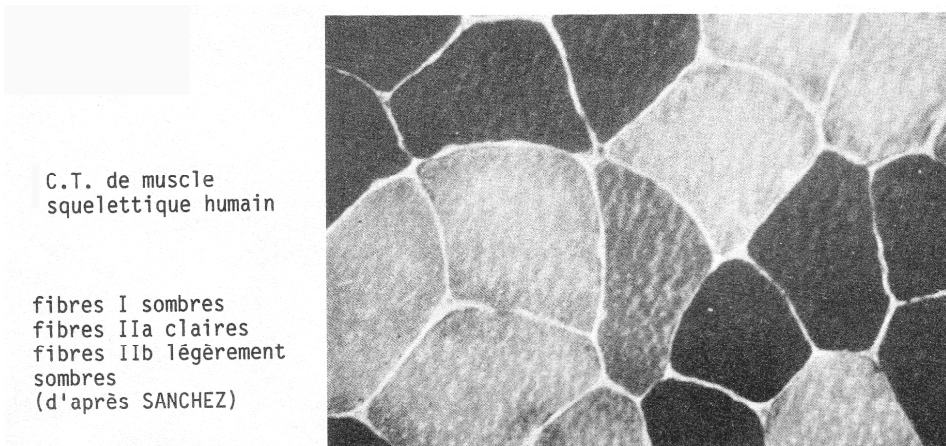


20 μ m

THÈME 3 PHYSIOLOGIE DE LA CONTRACTION MUSCULAIRE

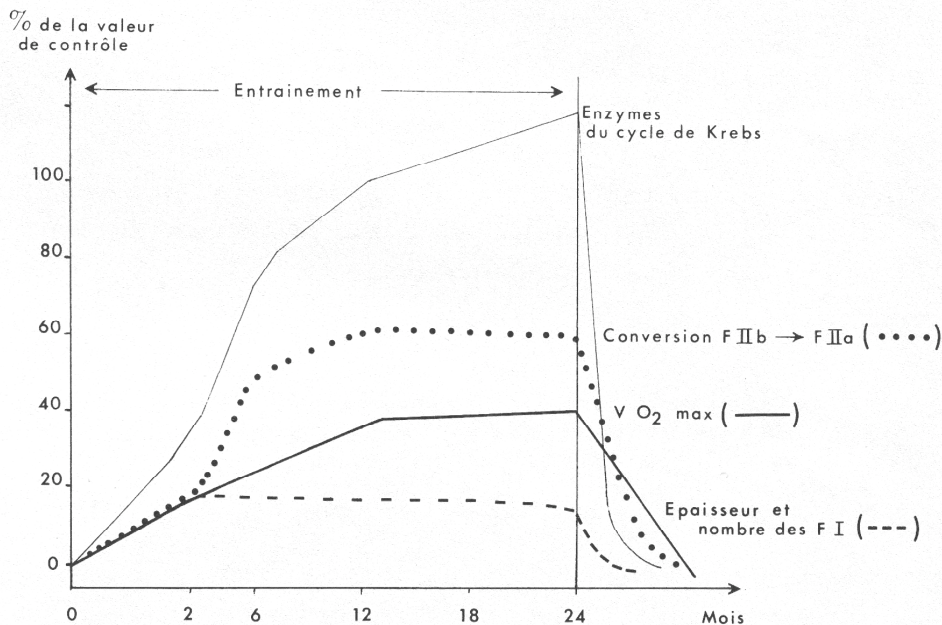
Tiré du concours ENGES session 1986

Document 3A Muscle et métabolisme



Type de fibre	I	IIa	IIb
Teneur en myosine-ATPase	1	3	3
Myoglobine	3	1	1
Capacité d'oxydation	3	2	1
Capacité de glycolyse	2	3	4
Teneur en glycogène	3	3	3
Teneur en lipides	3	1	1
Vascularisation	3	2	1

Principales adaptations fonctionnelles suivant un entraînement à un exercice prolongé (d'après SALTIN).



V O₂max exprime la consommation maximale d'oxygène.

Document 3B

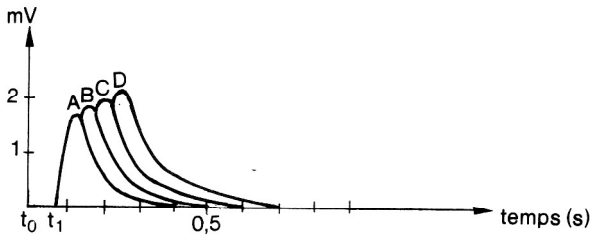
Le rôle de Ca^{2+} dans la contraction.

• **Première expérience :**

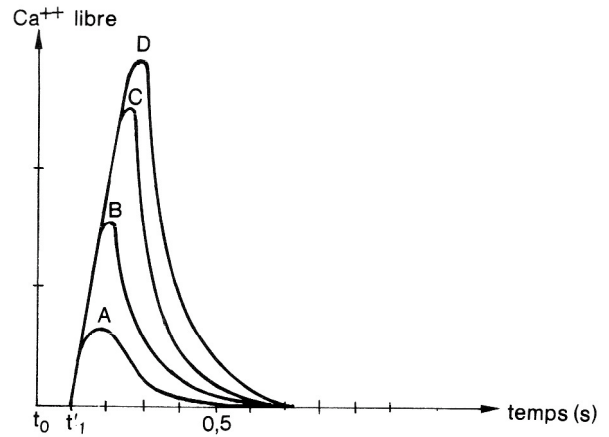
L'injection directe de Ca^{2+} dans une fibre musculaire entraîne sa contraction. La tension musculaire est proportionnelle à la quantité de Ca^{2+} injectée.

• **Deuxième expérience :**

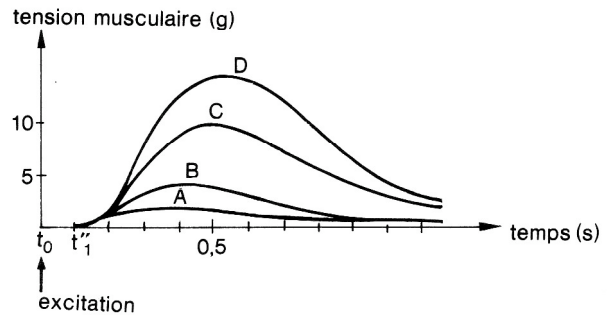
On porte sur un muscle strié squelettique, par l'intermédiaire d'électrodes, quatre excitations d'intensité croissante, correspondant aux courbes A, B, C et D des enregistrements 1, 2 et 3 ; dans le même temps, on recueille les phénomènes électriques musculaires (enregistrement 1), on dose par une méthode appropriée le Ca^{2+} musculaire libre présent dans le cytoplasme des fibres du muscle durant l'expérience d'excitation précédente (enregistrement 2) et on enregistre les réponses mécaniques provoquées par les quatre excitations (enregistrement 3). On a superposé les enregistrements en faisant coïncider les moments d'excitation t_0 .



Enregistrement 1.



Enregistrement 2.



Enregistrement 3.