

Devoir n°2

Caractéristiques du cycle cellulaire des NIH 3T3

On se propose d'étudier certains paramètres du cycle cellulaire d'une lignée établie en culture, la lignée murine NIH 3T3. Afin de déterminer les caractéristiques du cycle cellulaire de cette lignée en culture différentes analyses sont réalisées

1. Réalisation d'une courbe de croissance de la lignée NIH 3T3 dans un milieu DMEM contenant 10% de sérum de veau fœtal (SVF) (7 pts)

a) expérience 1: On inocule 9 boîtes de culture avec 10 000 cellules par mL de milieu de culture. Toutes les 24 heures on numère les cellules viables. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau suivant:

t (jours)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[cellules] 10 ⁴ .mL ⁻¹	1,05	1,2	1,5	2,8	5,2	9,6	13	23	24,5	25

Tracer la courbe représentant l'évolution de la culture au cours du temps en utilisant une représentation judicieuse. Analyser la courbe obtenue.

b) Déterminer graphiquement la vitesse de croissance spécifique en justifiant.
Quelle est la durée moyenne d'un cycle de division cellulaire dans ces conditions ?

2. Régulation et contrôle du cycle cellulaire des NIH 3T3 en culture (11,5 pts)

2.1. Régulation du cycle cellulaire (4 pts)

expérience: Après synchronisation des cellules NIH 3T3, on ajoute pendant des durées variables du milieu contenant 10% SVF. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 2.

addition de milieu contenant 10 %SVF pendant	lavage avec du milieu sans SVF	observation de la culture 10 heures après l'addition de SVF
1 heure	oui	pas cellules arrondies
3 heures	oui	pas cellules arrondies
4 heures	oui	pas cellules arrondies
5 heures	oui	toutes les cellules s'arrondissent
toute l'expérience	non	toutes les cellules s'arrondissent

a) Pendant la période de traitement avec le SVF, dans quelle phase du cycle cellulaire se trouvent les cellules ?

b) Analyser l'expérience proposée.
Quel événement critique du cycle cellulaire a lieu entre 4 et 5 heures dans l'expérience proposée ?

2.2 Contrôle de l'entrée et de la sortie de mitose (4 pts)

a) L'entrée en phase M est déclenchée par l'activation de MPF (M-phase promoting Factor).

Rappeler :

- la structure de MPF
- la nature de son activité biologique
- ses principales cibles cellulaires expliquant son importance dans l'entrée en phase M.

b) L'inactivation de MPF est responsable de la sortie de phase M.

Comment est réalisée l'inactivation de MPF ?

3.3. Schéma récapitulatif (3,5 pts)

Placer sur un schéma de cycle cellulaire

- les 4 phases principales,
- les acteurs du contrôle,

- les 3 niveaux de contrôle et régulation analysés ici.

3. Synthèse des immunoglobulines en culture (11,5 pts)

Les immunoglobulines synthétisées par ces cellules sont destinées à être sécrétées.

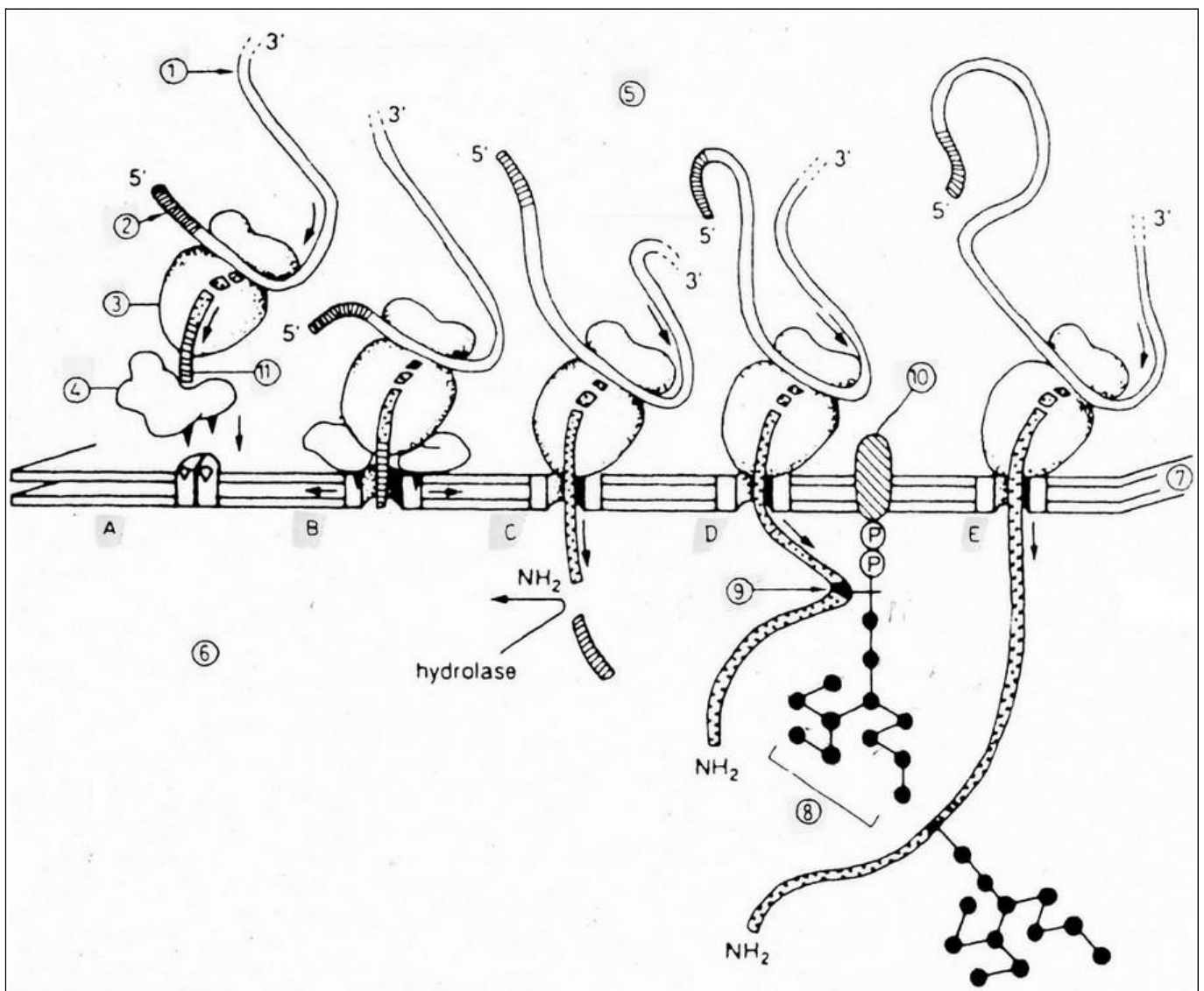
3.1. Indiquer sur le Document fourni les légendes correspondant aux numéros de 1 à 11 et donner un titre au schéma présenté (ce document est à rendre avec la copie).

3.2. Décrire la succession des événements qui se produisent de A à E.

3.3. Quelles chaînes peptidiques de l'immunoglobine sont synthétisées comme indiqué sur le schéma proposé? Justifier la réponse.

3.4. Quelle transformation post-traductionnelle doivent - elles encore subir pour la formation des domaines?

Document à compléter et à rendre avec la copie :



Légendes :

- | | |
|---|------|
| 1 : | 6 : |
| 2 : | 7 : |
| 3 : | 8 : |
| 4 : Particule de Reconnaissance du Signal | 9 : |
| 5 : | 10 : |