

Biologie Santé



UNIVERSITÉ DE NANTES

U.F.R. des Sciences
et des Techniques

S.E.V.E.
Bureau des Examens

Année universitaire 2012-2013

Semestre 1 2

Session 1 2

Nom de l'U.E. :	Recherche en cancérologie et en immunologie
Code de l'U.E. :	X7BB050 (Ex. CM)
Code de l'E.C. :	
Date de l'examen :	
Durée :	1h30
Documents autorisés :	Aucun
Calculatrice autorisée	<input checked="" type="checkbox"/> non
Type :	

Sujet portant sur le Cours

Répondre directement et précisément à toutes les questions posées sans introduire les sujets.

1/ Immunosurveillance des cancers

Citer au moins trois évidences de l'existence d'une immunosurveillance des cancers.

Définir la théorie de l'immunosurveillance en trois phases.

2/ Echappement tumoral

On observe fréquemment une forte activité arginase et Indoleamine 2,3- dioxygénase dans les tumeurs. Quels sont les principaux types de cellules produisant ces enzymes dans les tumeurs et quelles en sont les conséquences ?

Quels sont les trois grands types de cellules immunosuppressives induites dans les tumeurs et quels sont leurs différents mécanismes d'action ?

3/ L'angiogenèse

Citer un modèle expérimental montrant le rôle de l'angiogenèse dans la progression tumorale.

Les cellules tumorales acquièrent un avantage pour leur développement en modifiant l'équilibre entre facteurs favorisant l'angiogenèse et facteurs inhibiteurs de l'angiogenèse.

Quels sont les facteurs impliqués ? Préciser le rôle des gènes H-ras et p53.

Quelles sont les différentes étapes du processus d'angiogenèse ?

4/ L'hémopathie maligne

Vous êtes médecin et un de vos patients se plaint d'avoir mal à gauche de l'estomac et d'être très fatigué. Vous remarquez effectivement qu'il a perdu beaucoup de poids et une augmentation du volume de la rate par palpation. Vous craignez une hémopathie maligne.

Quels examens médicaux prescrivez-vous pour confirmer votre diagnostic ? Expliquer brièvement le principe de ces deux examens médicaux.

Les examens médicaux indiquent qu'il s'agit d'un syndrome myéloprolifératif chronique.

Expliquez de manière simple à votre patient de quoi il s'agit et comment les hémopathies malignes sont classées.



UNIVERSITÉ DE NANTES

U.F.R. des Sciences
et des Techniques

S.E.V.E.
Bureau des Examens

Année universitaire 2012-2013

Semestre

1 2

Session

1 2

Nom de l'U.E. :

Recherche en Cancérologie et en Immunologie

Code de l'U.E. :

X7BB050

Date de l'examen :

19 Décembre 2012

Durée :

1h00

Documents autorisés :

Aucun

Calculatrice autorisée non

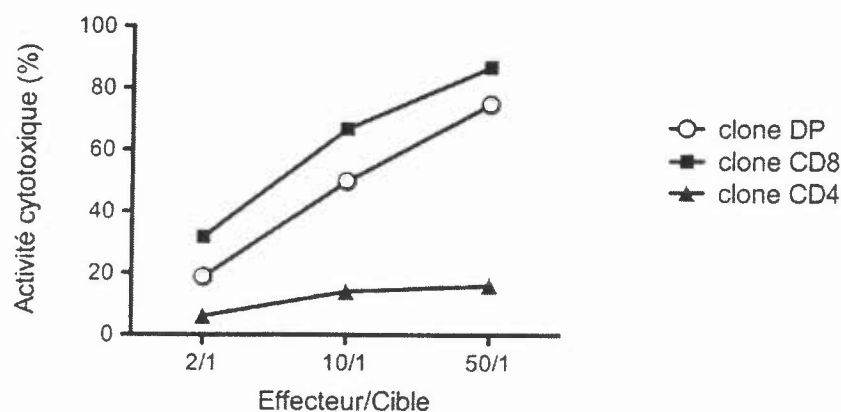
Exercice 1 : L'analyse phénotypique d'un infiltrat immunitaire anti-tumoral a permis de mettre en évidence l'existence d'une population non conventionnelle : les lymphocytes T Double Positifs (DP) CD8⁺ CD4⁺.

Votre projet consiste à évaluer, *in vitro*, les propriétés fonctionnelles de ces cellules, en comparaison avec celles de lymphocytes T conventionnels (simple positifs CD8⁺ ou CD4⁺).

Pour cela, vous disposez de 3 clones T ayant été isolés des TIL d'un patient atteint de mélanome, ainsi que de la lignée tumorale autologues.

	CD3	CD8	CD4
Clone T DP	+	+	+
Clone T CD8	+	+	-
Clone T CD4	+	-	+

Dans un premier temps, vous réalisez un test de cytotoxicité au chrome 51 afin d'évaluer les capacités cytotoxiques des clones T vis-à-vis des cellules tumorales autologues.



Question 1 : Expliquer, sous la forme d'un schéma, le principe du test de cytotoxicité au chrome 51.

Question 2 : Quelle autre technique basée sur l'utilisation de la cytométrie en flux, auriez-vous pu utiliser pour évaluer l'activité cytotoxique anti-tumorale ?

Question 3 : Que concluez vous de cette expérience ?

Ensuite, on a voulu définir la région peptidique reconnue par les lymphocytes T obtenus suite à l'injection de la protéine mMBP chez les souris mbp^{-/-}. On dispose pour cela de peptides se chevauchant et couvrant ainsi la globalité de la séquence protéique de la mMBP. On réalise cette expérience par ELISA (tableau II).

APC incubés avec	concentration en µg/ml
Peptides 1-9 jusqu'à 78-86	0
Peptide 79-87	100
Peptides 80-88 jusqu'à 183-191	0

Tableau II

Dans un deuxième temps, on a voulu définir la population lymphocytaire impliquée dans la sécrétion d'IFN-gamma. Pour cela on dispose d'APC provenant de différentes souris exprimant différents allèles du CMH (tableau III et IV).

	APC provenant de							
	Souris A		Souris B		Souris C		Souris D	
Peptide 79-87	-	+	-	+	-	+	-	+
IFN-gamma en µg/ml	0	100	0	100	0	100	0	100

Tableau III

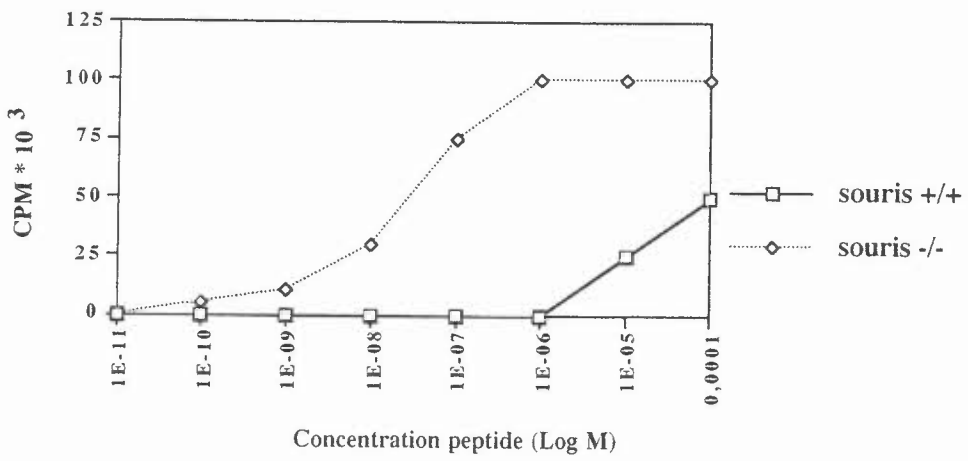
APC provenant de	H2			
	K	IA	IE	D
Souris A	k	k	k	k
Souris B	k	k	k	b
Souris C	k	k	b	b
Souris D	d	k	d	d

Tableau IV : Allèles du CMH exprimés par les APC

Question 4 : Donnez la définition d'un haplotype du CMH

Question 5 : Que concluez vous de cette expérience ?

On a injecté à nos deux types de souris (mbp^{+/+} et ^{-/-}) 50µg de peptide 79-87 en présence d'ACF. Les ganglions lymphatiques sont ensuite récupérés comme dans l'expérience du tableau I. On étudie par un test de prolifération, l'avidité des populations lymphocytaires obtenues en fonction d'APC chargées avec différentes doses du peptide 79-87. Les résultats vous sont donnés dans la figure ci dessous.



Question 6 : Sachant que l'on détecte par PCR la présence de l'ARNm codant pour la mMBP dans le thymus des souris mbp^{+/+}, que concluez vous ?

Vous souhaitez synthétiser la protéine humaine recombinante ENJOY.

Vous possédez le vecteur pcDNA6 et le cDNA ENJOY cloné dans un plasmide pBSSK. On précise que le cDNA ne possède aucun des sites de restriction présents dans le pcDNA6.

I-1 Décrivez une stratégie de clonage par PCR qui vous permettra d'avoir un vecteur d'expression codant la **protéine non modifiée**. Vous donnerez **sans les détailler** les grandes étapes de votre protocole.

I-2 Justifiez en 2 lignes les sites de clonage choisis pour y insérer votre cDNA.

I-3 Indiquez la séquence de 5' en 3' des oligonucléotides que vous utiliserez pour réaliser la PCR; Justifiez vos choix et annotez ces oligos pour indiquer le rôle des différentes parties de séquence.

On rappelle les séquences consensus d'initiation de la traduction chez la bactérie et chez les eucaryotes:

AAGGAGATATACATATG

SD = RBS

GCCACATG = Kozak

NB : on considère que toutes les enzymes fonctionnent dans les mêmes conditions

II Vous voulez produire la **protéine taguée myc et 6-His**

Donnez les sites de restrictions utilisés.

Ecrivez l'amorce anti-sens de 5' en 3'.

III Vous voulez produire la **protéine taguée 6-His** (mais non taguée myc).

Donnez les sites de restrictions utilisés.

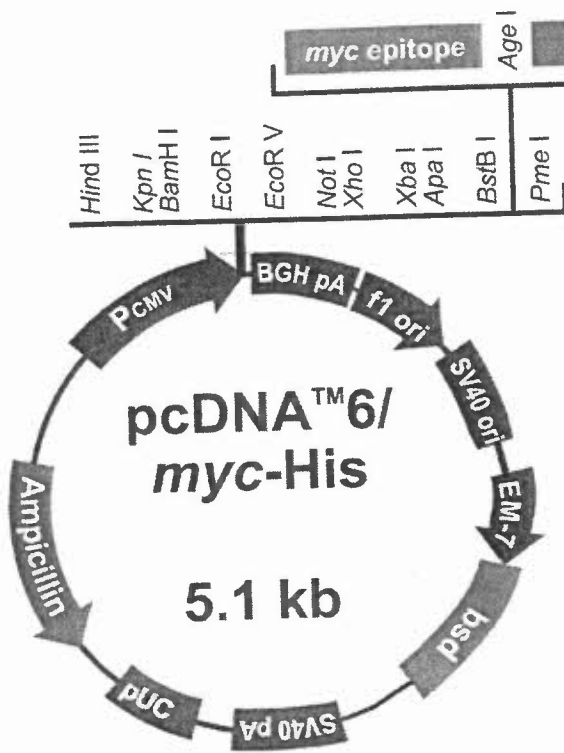
Ecrivez l'amorce anti-sens de 5' en 3'.

VI Vous voulez produire la **protéine taguée Myc** (mais non taguée 6-His).

Proposez une stratégie : ne donnez pas les étapes du protocole mais juste la stratégie et la méthode envisagée.

Séquence partielle de l'ADNc ENJOY

```
5' 1 atg gaa gtc tct gcc gcc ctt ctg tgc ctg ctg ctc ata gca gcc 45
    1 M E V S A A L L C L L L I A A 15
    [-----]
494 tcc atg gac cac ctg gac aag caa acc cag acg ccg aag acc tga 539 3'
165 S M D H L D K Q T Q T P K T * 180
```



CMV promoter: bases 209-863

Multiple cloning site: bases 902-999

myc epitope: bases 997-1026

Polyhistidine tag: bases 1042-1059

BGH polyadenylation signal: bases 1081-1295

f1 origin: bases 1358-1771

SV40 promoter and origin: bases 1813-2121

EM-7 promoter: bases 2169-2224

Blasticidin resistance gene: bases 2249-2641

SV40 polyadenylation signal: bases 2799-2929

pUC origin: bases 3312-3985

Ampicillin resistance gene: bases 4130-4991

```

861 ATTAATACGA CTCACTATAG GGAGACCCAA GCTGGCTAGT TAA GCT TGG TAC CGA GCT CGG
      Ala Trp Tyr Arg Ala Arg
      Hind III Kpn I BamH I
922 ATC CAC TAG TCC AGT GTG GTG GAA TTC TGC AGA TAT CCA GCA CAG TGG CGG CCG
      Ile His *** Ser Ser Val Val Glu Phe Cys Arg Tyr Pro Ala Gln Trp Arg Pro
      EcoR I EcoR V Not I
976 CTC GAG TCT AGA GGG CCC TTC GAA CAA AAA CTC ATC TCA GAA GAG GAT CTG AAT
      Leu Glu Ser Arg Gly Pro Phe Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn
      Xho I Xba I Apa I BstB I myc epitope
1030 ATG CAT ACC GGT CAT CAT CAC CAT CAC CAT TGA GTTTAAACCC GCTGATCAGC
      Met His Thr Glu His His His His His His *** Pme I
      Age I Polyhistidine tag
1083 CTCGACTGTG CCTTCTAG
  
```

Sites enzymatiques

- AgeI A^CCGGT
- ApaI GGGCC^C
- BamHI G^GATCC
- BstBI TT^CGAA
- EcoRI G^AATCC
- EcoRV GAT^ATC
- HindIII A^AGCTT
- KpnI GGTAC^C
- NotI GC^GGCCGC
- PmeI GTTT^AAAC
- XbaI T^CTAGA
- XhoI C^TCGAG

Séquences consensus:

AAGGAGATATACATATG
 SD = RBS
 GCCACATG = Kozak

NB : on considère que toutes les enzymes fonctionnent dans les mêmes conditions

M1 : Recherche en Physiopathologies

1^{ère} session 2012-2013

Durée : 2 h

Traiter les trois sujets suivants sur 3 feuilles d'examen différentes.

Sujet Diabète : Gilles Toumaniantz (7 points)

Bien que ce sujet ne soit que pure fiction, vous vous devez de l'aborder avec réalisme.

Après la Suisse, l'Italie et l'Autriche, c'est au tour de la France de se défier des vaccins du groupe pharmaceutique « Boubba Gump » a annoncé vendredi 26 octobre le ministère de la santé. La France a en effet décidé de bloquer "par précaution" les lots de vaccins anti allergie alimentaire de type fruits de mer, vaccin produit et administré depuis cinq ans. Les réactions allergiques sont des effets indésirables graves qui surviennent lorsque le système immunitaire présente une réaction exagérée à un allergène donné. Ces réactions peuvent être déclenchées par des aliments, des piqûres d'insectes, le latex, des médicaments et d'autres substances. Dans le cas présent, il semble qu'un nombre important de patients traités et ayant reçu plusieurs injections de ce vaccin, présentent des productions anormalement élevées de cellules pro-allergiques connues sous le nom de Th2 qui sont responsables de la réaction allergique.

Il est à noter:

- 1°) Que ces observations ont été réalisées dans des centres de soin de la région Nord-Pas-de-Calais;
- 2°) Que les patients sont majoritairement de culture asiatique;
- 3°) Que les premiers cas de complication semblent récents;
- 4°) Que l'Allemagne ne semble pas impactée par ces complications vaccinales.

Quelles sont les différentes approches épidémiologiques que vous pourriez proposer en tant qu'expert de l' "Organisation de Veille Sanitaire Gouvernementale" afin de valider ou de rejeter cette hypothèse aux conséquences importantes pour la politique de santé publique nationale? La commission attend des détails quant à la réalisation, le pourquoi, le comment, les limites et points forts de chaque approche proposée.

Sujet Diabète : Xavier Prieur (7 points)

1-Rappeler les caractéristiques des deux types de diabète et les éléments qui permettent de les classer (Réponse succincte).

2-Traiter le diabète de type 2 : à complications multiples des traitements multiples. Rappeler à l'aide d'un schéma les dysfonctions diverses qui apparaissent lors du développement du diabète de type 2.

a- Proposer une multi-thérapie idéale (en citant les cibles biologiques) existante ou prévisionnelle pour soigner le diabète de type 2.

b- Vous détaillerez la cible, l'effet attendu et les limites de chaque traitement individuellement.

c- Vous justifierez le choix de l'association.

3-« la graisse brune c'est pour les ours » Répondez à cette affirmation et mettez en évidence l'intérêt de la graisse brune dans le traitement de l'obésité.

Sujet Mucoviscidose : Dmitri Levitsky (6 points)

Faites un schéma de l'organisation du CFTR, indiquez les domaines intramembranaires et intracellulaires et les séquences particulières impliquées dans le fonctionnement du CFTR. Expliquez en 3 à 4 phrases le(s) mécanisme(s) par lesquels des mutations du CFTR aboutissent à la mucoviscidose

