

**UFR DES SCIENCES**  
**LICENCE SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE**  
**Parcours Biologie, Physiologie Cellulaire**

---

**S5 : Techniques de Physiologie Cellulaire**

**Examen : Janvier 2022**

**Durée 2h**

**Les calculatrices, téléphones portables et traducteurs sont interdits.**

**Sujet 1 (10 points)**

**Données :** Les expériences sont réalisées sur deux lignées cellulaires cancéreuses de la prostate : LNCaP et PC-3.

**ORAI :** sont des canaux non sélectifs perméables aux ions calcium.

**ORAI1, ORAI2 et ORAI3** sont trois isoformes des canaux ORAI

**STIM1 :** Protéine exprimée au niveau du réticulum endoplasmique (RE) qui permet l'activation des canaux ORAI lors de la libération du calcium du RE.

**siLUC:** ARN interférence non ciblant utilisé comme contrôle. La transfection des cellules cancéreuses mammaires avec siLUC n'a aucun effet sur l'expression des protéines exprimées dans ces cellules.

**siORAI1, siORAI2, siORAI3, siSTIM1 :** ARN interférence dirigé respectivement contre ORAI1, ORAI2, ORAI3 et STIM1. Le si-RNA va entraîner la dégradation de l'ARNm qui code pour ces protéines.

**PC3-CTL, PC3-ORAI3 clone 1 et PC3-ORAI3 clone 2 :** cellules PC3 transfectées stablement avec un plasmide vide (CTL) ou un plasmide codant pour ORAI3 (clone 1 et clone 2).

**AA :** Acide Arachidonique.

**TG :** thapsigargine : inhibiteur irréversible de la pompe SERCA localisée au niveau du RE. La TG permet la déplétion calcique du RE.

**SOCE :** Store calcium entry : l'entrée calcique activée par la déplétion du réticulum endoplasmique

**SOC Current :** Store operated calcium current : le Courant calcique activé par la déplétion du réticulum endoplasmique.

**18s :** ARNm du gène de ménage ARN ribosomique 18s.

**[Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> :** concentration cytoplasmique du calcium.

**Questions**

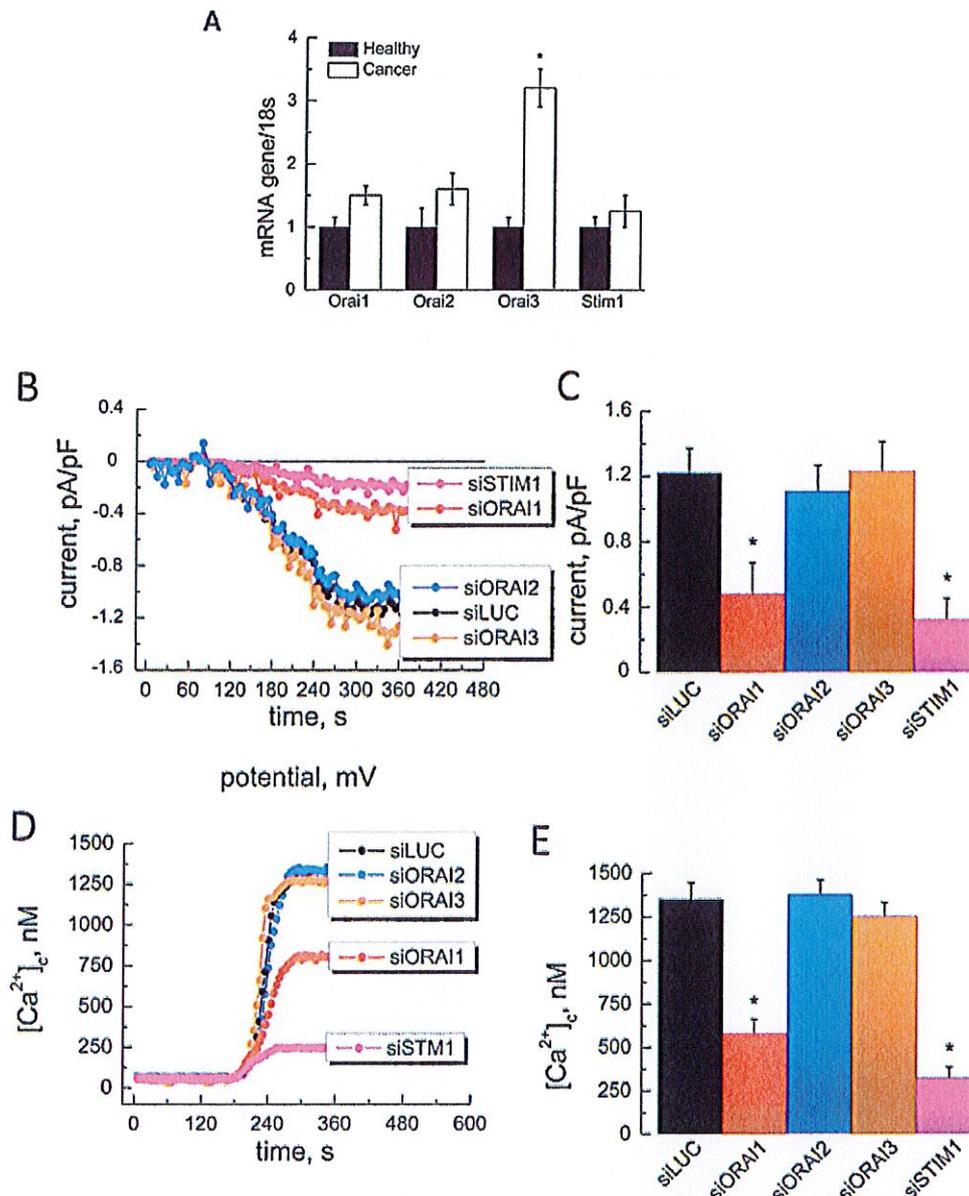
1. Nommez la technique utilisée dans la figure 2A. Donnez son principe.
2. Quelle est la caractéristique majeure de la sonde utilisée dans la figure 2D ? argumentez votre réponse.
3. Analysez et interprétez les 3 figures.
4. Concluez sur
  - a- l'implication de STIM1, ORAI1, ORAI2 et ORAI3 dans l'entrée SOC
  - b- la relation entre l'acide arachidonique (AA), ORAI3, le calcium, la prolifération et l'apoptose.

**Sujet 2 (6 points)**

1. Dans quelle technique la sonde FM-143 est utilisée ? Expliquez son utilisation. Donnez une autre technique qui permet d'étudier le même processus.
2. Quelles sont les différences entre la configuration du patch-perforé et cell attached (cellule collée) ?

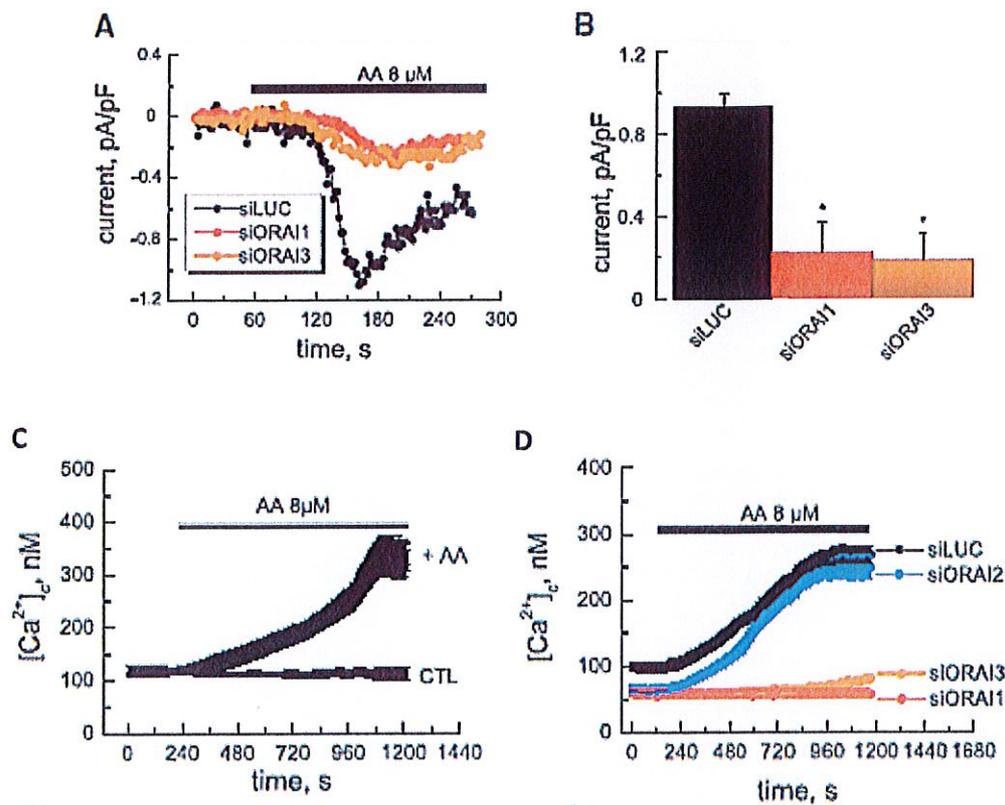
**Sujet 3 (4 points)**

L'expression des canaux ORAI 1 a été évaluée sur les tissus cancéreux et sain du pancréas. Les résultats ont montré une baisse de l'expression dans le tissu cancéreux par rapport au tissu sain. Par ailleurs, il a été montré qu'une sous expression d'ORAI1 favorise la survie cellulaire. A partir de ces données, précisez les techniques et les protocoles expérimentaux que vous pouvez utiliser pour montrer le rôle **fonctionnel** d'ORAI1 dans la survie.



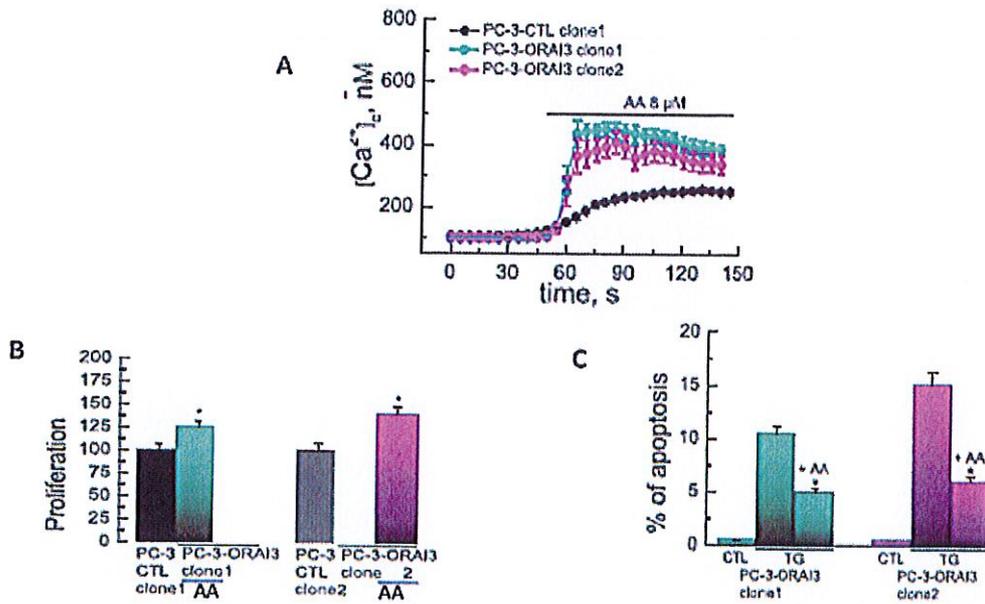
**Figure 1. Expression of ORAI in Human Prostate cancer (PCa) compared to healthy Tissues and their role in SOCE in pancreatic cancer (PCa) Cells.**

(A) PCR quantitation of various ORAI and STIM1 transcripts in PCa compared to healthy tissues. (B) Representative time courses of the development of SOC current in LNCaP cells subjected to 48 hr siRNA-mediated silencing of ORAI isoforms or STIM1 compared to control anti-luciferase siRNA (siLUC);  $I_{SOC}$  amplitude was measured at -100 mV. (C) Quantification of SOC current amplitudes of the results presented in (B) ( $n > 10$  for each condition). (D) Representative measurements of TG-activated SOCE, as indicated by  $[Ca^{2+}]_c$  elevation in LNCaP cells 48 hr after treatment with control (siLUC), anti-ORAI isoform-specific, or anti-STIM1 siRNA. (E) Quantification of SOCE of the results presented in (D) ( $n > 50$  for each condition). Data are representative of three independent experiments. \* $p < 0.05$ . Error bars represent means  $\pm$  SEM.



**Figure 2. Endogenous association of ORAI1 and ORAI3 leads to the Formation of Store-Independent, AA-Regulated Channels.**

(A) Representative time courses of the development of inward current in response to AA application in LNCaP cells subjected to the indicated siRNA-mediated silencing (48 hr). Current amplitude was measured at -100 mV. (B) Quantification of current amplitudes shown in (A) ( $n > 6$  for each condition). (C) [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> rises in LNCaP cells in response to AA (horizontal bar). CTL, control. (D) [Ca<sup>2+</sup>]<sub>c</sub> responses of control LNCaP cells (siLUC) and LNCaP cells subjected to anti-ORAI isoform-specific siRNAs treatment (48 hr) to AA. \* $p < 0.05$ .



**Figure 3. AA-Regulated  $\text{Ca}^{2+}$  entry promote apoptosis Resistance and cell Proliferation by Controlling basal  $[\text{Ca}^{2+}]_c$ .**

(A)  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  in the presence of 2 mM extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  and after AA (8  $\mu\text{M}$ ) perfusion in PC-3 cells transiently overexpressing ORAI3 compared to control cells (black line). Both clones showed higher AA-stimulated calcium entry. (B) Quantification of the percentage of baseline proliferation of control and ORAI3-overexpressing PC-3 clones and after AA treatment ( $n = 3$ ) for each clone. (C) AA treatment effect on TG-induced apoptosis in control and ORAI3-overexpressing clones ( $n = 3$ ) for each clone. \* $p < 0.05$ .



UFR des sciences

Licence de SVT-Chimie – L3S5 – 2021

Examen de Biologie Structurale – 1<sup>ème</sup> session

Janvier 2022

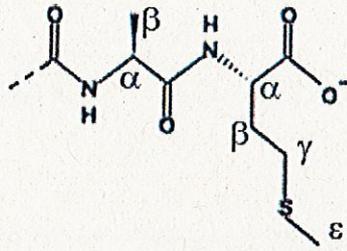
Durée 2h

*Les documents, téléphones portables, traducteurs interdits.  
Toute réponse correcte mais non justifiée ne sera pas prise en compte.*

***Partie M. D'Amelio [13 points +1 BONUS]***

1. La structure d'une protéine peut être résolue par RMN. Décrire comment certains paramètres mesurés sur les spectres RMN (constantes de couplage, déplacement chimique et volumes des pics NOESY) peuvent être utilisés pour avoir information sur la structure tridimensionnelle. [3 points]
2. Décrire les principales techniques utilisées pour déterminer la structure d'une macromolécule biologique. Pour chaque technique décrivez les avantages et inconvénients (1 de chaque minimum). [3 points]
3. Décrire quelles sont les conditions pour avoir un cross-pic entre deux atomes d'hydrogènes dans les spectres bidimensionnels COSY, NOESY et TOCSY. [2 points]
4. Décrivez le diagramme de Ramachandran et son utilité [Point BONUS]
5. Une macromolécule se termine par la séquence Ala-Met (une alanine suivie par une méthionine). Sachant que les protons amides (HN) du squelette résonnent entre 10 et 7.5 ppm, attribuer toutes les fréquences observables à l'aide des tableaux des fréquences et des spectres bidimensionnelles COSY et TOCSY ci-après (seuls ces deux acides aminés sont visibles parce que le reste de la molécule est complètement deutéré). [5 points]

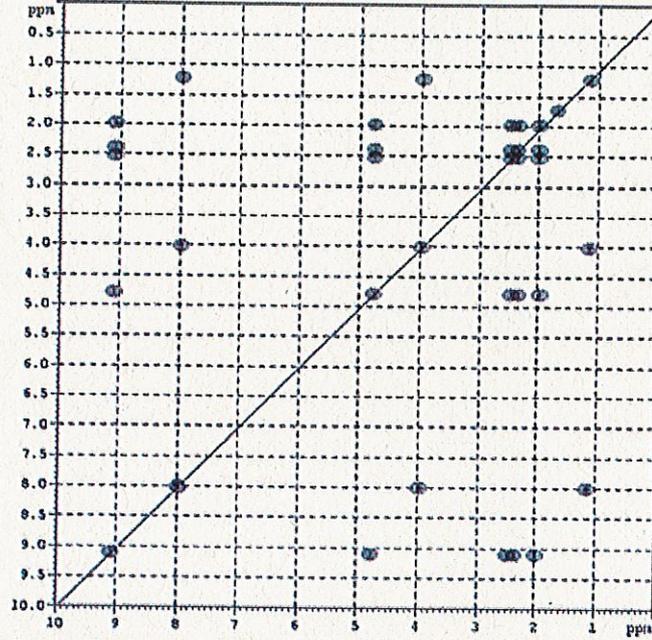
..... - ALA - MET



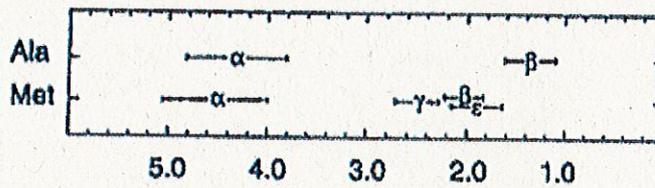
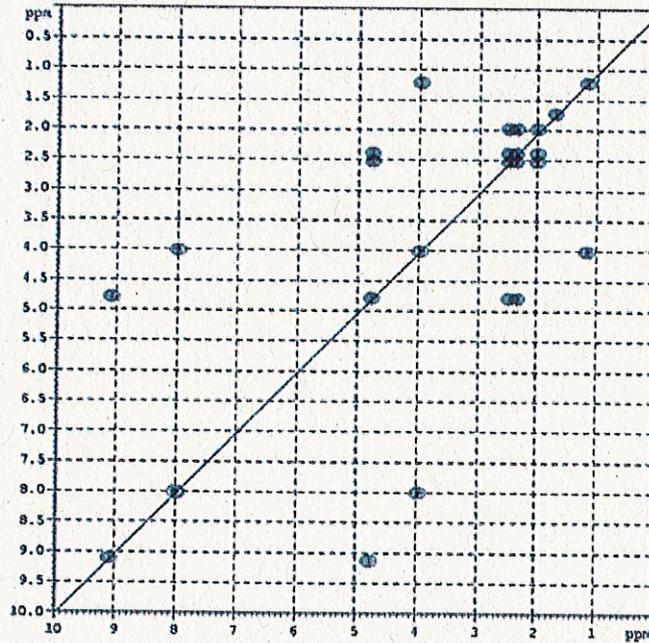
Ecrivez les valeurs des déplacements chimiques

ALA	MET
HN.....	HN.....
H <sub>α</sub> .....	H <sub>α</sub> .....
H <sub>β</sub> .....	H <sub>β1</sub> , H <sub>β2</sub> .....
	H <sub>γ1</sub> , H <sub>γ2</sub> .....
	H <sub>ε</sub> .....

TOCSY



COSY



### **Partie Mme Rodriguez-Moraga [7 points +1 BONUS]**

1. Les peptides antimicrobiens font partie de la première ligne de défense contre les agents pathogènes pour de nombreux organismes. Vous trouverez en annexe à l'examen le "header" d'un fichier pdb d'un peptide antimicrobien appelé CM-P5. A partir de ces données, répondez aux questions suivantes EN JUSTIFIANT VOS RÉPONSES [2 points]:

- 1a. Sur quel/s type/s de micro-organisme/s le peptide a une action ? [0.25 points]
- 1b. Quel/s type/s d'expériences ont été effectuées pour résoudre sa structure ? [0.25 points]
- 1c. À combien degrés Celsius agit-il ? [0.25 points]
- 1d. Le peptide utilisé lors de ces expériences a-t-il été extrait de l'organisme *Cenchrus Muricatus* ou a-t-il été préparé par voie chimique ? [0.25 points]
- 1e. Combien de modèles ont été résolus ? [0.25 points]
- 1f. Combien d'acides aminés contient-il ? [0.25 points]
- 1g. Combien parmi les acides aminés sont des acides aminés basiques? [0.25 points]
- 1h. À partir du "header", quel type d'information peut-on trouver sur le fichier pdb? [0.25 points]

2. L'hémoglobine est une hétéroprotéine constituée d'une partie protéique ainsi que d'une partie non protéique appelée groupement prosthétique (voir Figure A). Elle se trouve au sein des globules rouges de vertébrés ainsi que dans les tissus de certains invertébrés et elle a pour fonction de transporter l'oxygène O<sub>2</sub> depuis les organes respiratoires (poumons, branchies) vers le reste de l'organisme [2 points].

La structure de l'hémoglobine est montrée dans la Figure B grâce à une combinaison des représentations moléculaires.

Indiquez :

- 2a. Quelles représentations moléculaires ont été utilisées dans la Figure B [0.6 points].
- 2b. Le type d'information que donne chacune de ces visualisations moléculaires [0.8 points]
- 2c. La partie de la molécule qui est représentée avec chaque type de visualisation [0.6 points].

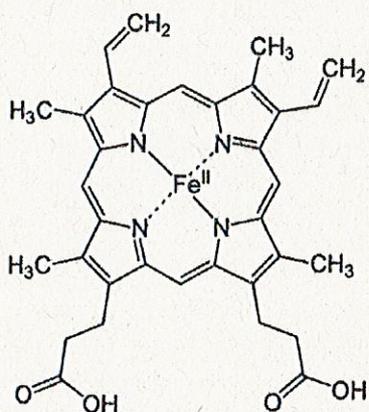


Figure A

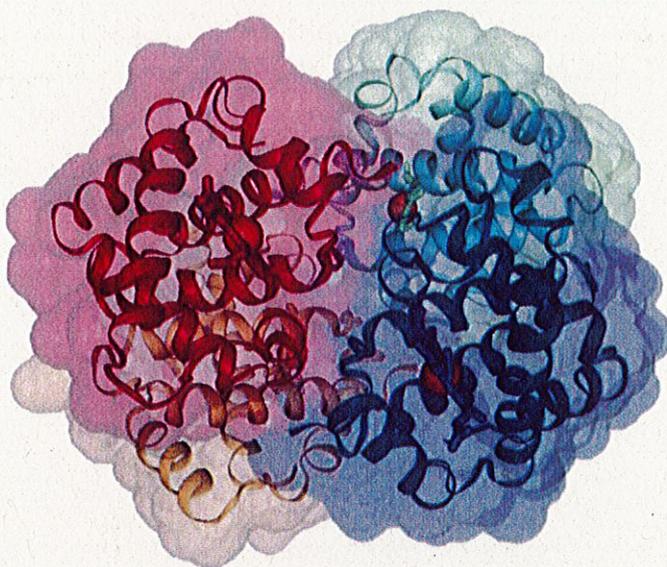


Figure B

3. Selon la résolution du phénomène que l'on veut étudier lors des simulations de dynamique moléculaire (MD, de l'anglais *molecular dynamics*), il peut-être plus indiqué d'utiliser un champ de forces (FF, de l'anglais *forcefield*) tout atome (AA, de l'anglais *all atom*), atomes unifiés (UA, de l'anglais *united atom*) ou gros grain (CG, de l'anglais *coarse grained*). Indiquer ci-dessous le type de FF qui correspond avec les affirmations suivantes [3 points] :

- 3a. Ils permettent d'étudier les interactions fines entre molécules. [0.375 points]
- 3b. Un groupe de 3 à 5 atomes lourds est associé dans une même bille. [0.375 points]
- 3c. Ils sont intéressants pour étudier des systèmes où les interactions intermoléculaires sont beaucoup plus significatives que les déformations intramoléculaires. [0.375 points]
- 3d. La taille des boîtes de simulation que l'on peut envisager peut être plus grande. [0.375 points]
- 3e. Les atomes d'hydrogène aliphatiques ainsi que les carbones sont considérés comme une même particule avec ses propres paramètres. [0.375 points]
- 3f. Ils fournissent des paramètres pour chaque atome du système. [0.375 points]
- 3g. Les pas d'intégration utilisés sont plus élevés. [0.375 points]
- 3h. Ils permettent d'explorer des échelles d'espace et de temps plus importants que les autres champs de forces. [0.375 points]

4. Lors des simulations MD, il est important de prendre en compte une série d'étapes avant de procéder à l'étape de production MD elle-même. Parmi ces étapes, on a l'équilibration NPT. Que veut dire l'acronyme NPT ? A quoi sert cette étape ? [Point BONUS]

HEADER ANTIMICROBIAL PROTEIN 14-MAY-14 2MP9  
 TITLE SOLUTION STRUCTURE OF AN POTENT ANTIFUNGAL PEPTIDE CM-P5  
 DERIVED FROM  
 TITLE 2 C. MURICATUS  
 COMPND MOL\_ID: 1;  
 COMPND 2 MOLECULE: ANTIFUNGAL PEPTIDE;  
 COMPND 3 CHAIN: A;  
 COMPND 4 SYNONYM: CM-P1;  
 COMPND 5 ENGINEERED: YES  
 SOURCE MOL\_ID: 1;  
 SOURCE 2 SYNTHETIC: YES;  
 SOURCE 3 ORGANISM\_SCIENTIFIC: CENCHRITIS MURICATUS;  
 SOURCE 4 ORGANISM\_COMMON: BEADED PERIWINKLE;  
 SOURCE 5 ORGANISM\_TAXID: 197001  
 KEYWDS HELICAL PEPTIDE, ANTIMICROBIAL, ANTIMICROBIAL  
 PROTEIN  
 EXPDTA SOLUTION NMR  
 NUMMOL 10  
 AUTHOR Z.J.SUN,G.HEFFRON,C.MCBETH,G.WAGNER,A.J.OTERO-  
 GONZALES,M.N.STARNBACH  
 REVDTA 1 12-AUG-15 2MP9 0  
 JRNL AUTH C.LOPEZ-  
 ABARRATEGUI,C.MCBETH,S.M.MANDAL,Z.J.SUN,G.HEFFRON,  
 JRNL AUTH 2 A.ALBA-MENENDEZ,L.MIGLIOLLO,O.REYES-ACOSTA,  
 JRNL AUTH 3 M.GARCIA-  
 VILLARINO,D.O.NOLASCO,R.FALCAO,M.D.CHEROBIM,  
 JRNL AUTH 4  
 S.C.DIAS,W.BRANDT,L.WESS,JOHANN,M.STARNBACH,O.L.FRANCO,  
 JRNL AUTH 5 A.J.OTERO-GONZALEZ  
 JRNL TITL CM-P5: AN ANTIFUNGAL HYDROPHILIC PEPTIDE DERIVED FROM  
 THE  
 JRNL TITL 2 COASTAL MOLLUSK CENCHRITIS MURICATUS  
 (GASTROPODA:  
 JRNL TITL 3 LITTORINIDAE).  
 JRNL REF FASEB J. V. 29 3315 2015  
 JRNL REFN ISSN 0892-6638  
 JRNL PMID 25921828  
 JRNL DOI 10.1096/FJ.14-269860  
 REMARK 2  
 REMARK 2 RESOLUTION. NOT APPLICABLE.  
 REMARK 3  
 REMARK 3 REFINEMENT.  
 REMARK 3 PROGRAM : X-PLOR\_NIH  
 REMARK 3 AUTHORS : SCHWIETERS; KUSZEWSKI, TJANDRA AND  
 CLORE  
 REMARK 3  
 REMARK 3 OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL  
 REMARK 4  
 REMARK 4 2MP9 COMPLIES WITH FORMAT V. 3.30, 13-JUL-11  
 REMARK 100  
 REMARK 100 THIS ENTRY HAS BEEN PROCESSED BY RCSB ON 03-JUL-  
 14.  
 REMARK 100 THE RCSB ID CODE IS RCSB103887.  
 REMARK 210  
 REMARK 210 EXPERIMENTAL DETAILS  
 REMARK 210 EXPERIMENT TYPE : NMR  
 REMARK 210 TEMPERATURE (KELVIN): 298  
 REMARK 210 PH : NULL  
 REMARK 210 IONIC STRENGTH : NULL  
 REMARK 210 PRESSURE : AMBIENT  
 REMARK 210 SAMPLE CONTENTS : 4 MM CM-P5, 40 % TFE,  
 TRIFLUOROETHANOL/WATER  
 REMARK 210  
 REMARK 210 NMR EXPERIMENTS CONDUCTED : 2D 1H-1H NOESY; 2D 1H-1H  
 TOCSY;  
 REMARK 210 2D 1H-15N HSQC; 2D 1H-13C HSQC  
 REMARK 210 SPECTROMETER FIELD STRENGTH : 600 MHZ  
 REMARK 210 SPECTROMETER MODEL : DD2  
 REMARK 210 SPECTROMETER MANUFACTURER : AGILENT  
 REMARK 210  
 REMARK 210 STRUCTURE DETERMINATION.  
 REMARK 210 SOFTWARE USED : NMRPIPE, CARA, CYANA, X-PLOR\_NIH  
 REMARK 210 METHOD USED : SIMULATED ANNEALING  
 REMARK 210  
 REMARK 210 CONFORMERS, NUMBER CALCULATED : 20  
 REMARK 210 CONFORMERS, NUMBER SUBMITTED : 10  
 REMARK 210 CONFORMERS, SELECTION CRITERIA : STRUCTURES WITH THE  
 LOWEST ENERGY  
 REMARK 210  
 REMARK 210 BEST REPRESENTATIVE CONFORMER IN THIS ENSEMBLE :  
 1  
 REMARK 210  
 REMARK 210 REMARK: NATURAL ABUNDANCE HETERONUCLEAR  
 HSQC  
 REMARK 215  
 REMARK 215 NMR STUDY  
 REMARK 215 THE COORDINATES IN THIS ENTRY WERE GENERATED FROM  
 SOLUTION

REMARK 215 NMR DATA. PROTEIN DATA BANK CONVENTIONS REQUIRE  
 THAT  
 REMARK 215 CRYST1 AND SCALE RECORDS BE INCLUDED, BUT THE VALUES  
 ON  
 REMARK 215 THESE RECORDS ARE MEANINGLESS.  
 REMARK 300  
 REMARK 300 BIOMOLECULE: 1  
 REMARK 300 SEE REMARK 350 FOR THE AUTHOR PROVIDED AND/OR  
 PROGRAM  
 REMARK 300 GENERATED ASSEMBLY INFORMATION FOR THE STRUCTURE  
 IN  
 REMARK 300 THIS ENTRY. THE REMARK MAY ALSO PROVIDE INFORMATION  
 ON  
 REMARK 300 BURIED SURFACE AREA.  
 REMARK 350  
 REMARK 350 COORDINATES FOR A COMPLETE MULTIMER REPRESENTING THE  
 KNOWN  
 REMARK 350 BIOLOGICALLY SIGNIFICANT OLIGOMERIZATION STATE OF  
 THE  
 REMARK 350 MOLECULE CAN BE GENERATED BY APPLYING BIOMT  
 TRANSFORMATIONS  
 REMARK 350 GIVEN BELOW. BOTH NON-CRYSTALLOGRAPHIC  
 AND  
 REMARK 350 CRYSTALLOGRAPHIC OPERATIONS ARE GIVEN.  
 REMARK 350  
 REMARK 350 BIOMOLECULE: 1  
 REMARK 350 AUTHOR DETERMINED BIOLOGICAL UNIT:  
 MONOMERIC  
 REMARK 350 APPLY THE FOLLOWING TO CHAINS: A  
 REMARK 350 BIOMT1 1 1.000000 0.000000 0.000000 0.000000  
 REMARK 350 BIOMT2 1 0.000000 1.000000 0.000000 0.000000  
 REMARK 350 BIOMT3 1 0.000000 0.000000 1.000000 0.000000  
 REMARK 500  
 REMARK 500 GEOMETRY AND STEREOCHEMISTRY  
 REMARK 500 SUBTOPIC: TORSION ANGLES  
 REMARK 500  
 REMARK 500 TORSION ANGLES OUTSIDE THE EXPECTED RAMACHANDRAN  
 REGIONS:  
 REMARK 500 (M=MODEL NUMBER; RES=RESIDUE NAME; C=CHAIN  
 IDENTIFIER;  
 REMARK 500 SSEQ=SEQUENCE NUMBER; I=INSERTION CODE).  
 REMARK 500  
 REMARK 500 STANDARD TABLE:  
 REMARK 500 FORMAT:(I0X,I3,I1X,A3,1X,A1,I4,A1,4X,F7.2,3X,F7.2)  
 REMARK 500  
 REMARK 500 EXPECTED VALUES: GJ KLEYWEGT AND TA JONES (1996).  
 PHI/PSI-  
 REMARK 500 CHOLOGY: RAMACHANDRAN REVISITED. STRUCTURE 4, 1395 -  
 1400  
 REMARK 500  
 REMARK 500 MRES CSSEQI PSI PHI  
 REMARK 500 1 ARG A 2 10.84 50.08  
 REMARK 500 2 ARG A 2 10.01 50.40  
 REMARK 500 3 ARG A 2 18.53 41.54  
 REMARK 500 4 ARG A 2 6.81 -177.07  
 REMARK 500 5 ARG A 2 8.21 173.65  
 REMARK 500 6 ARG A 2 8.28 51.90  
 REMARK 500 7 ARG A 2 9.55 176.13  
 REMARK 500 8 ARG A 2 8.02 175.66  
 REMARK 500 9 ARG A 2 8.78 177.80  
 REMARK 500 10 ARG A 2 9.08 175.45  
 REMARK 500  
 REMARK 500 REMARK: NULL  
 REMARK 900  
 REMARK 900 RELATED ENTRIES  
 REMARK 900 RELATED ID: 1997J RELATED DB: 6MRB  
 REMARK 999  
 REMARK 999 SEQUENCE  
 REMARK 999 TWO C-TERMINAL RESIDUES LF WAS APPENDED TO THE NATURAL  
 SEQUENCE  
 DBREF 2MP9 A 1 10 UNP B3EWI7 AFP\_CENMR 1 10  
 SEQADV 2MP9 LEU A 11 UNP B3EWI7 EXPRESSION TAG  
 SEQADV 2MP9 PHE A 12 UNP B3EWI7 EXPRESSION TAG  
 SEQADV 2MP9 NH2 A 13 UNP B3EWI7 EXPRESSION TAG  
 SEQRES 1 A 13 SER ARG SER GLU LEU ILE VAL HIS GLN ARG LEU PHE  
 NH2  
 HET NH2 A 13 3  
 HETNAM NH2 AMINO GROUP  
 FORMUL 1 NH2 H2N  
 HELIX 1 1 ARG A 2 PHE A 12 1 11  
 LINK C PHE A 12 N NH2 A 13 1555 1555 1.31  
 CRYST1 1.000 1.000 1.000 90.00 90.00 90.00 P 1 1  
 ORIGX1 1.000000 0.000000 0.000000 0.000000  
 ORIGX2 0.000000 1.000000 0.000000 0.000000  
 ORIGX3 0.000000 0.000000 1.000000 0.000000  
 SCALE1 1.000000 0.000000 0.000000 0.000000  
 SCALE2 0.000000 1.000000 0.000000 0.000000  
 SCALE3 0.000000 0.000000 1.000000 0.000000  
 MODEL 1

**Question 1 :**

Un blé transgénique tolérant à la sécheresse, a été approuvé à la production et à la commercialisation en Argentine en 2018. Ce blé génétiquement modifié possède le gène *HB4* qui permet aux plantes de résister aux températures élevées, caractéristiques d'un climat aride ainsi qu'à la salinité des sols. La plante nécessitera donc une quantité inférieure en eau sans pour autant que ne soit altérée sa productivité. En effet, cette nouvelle variété de blé montre des améliorations de rendement d'environ 20 % en moyenne dans les situations de stress hydrique.

Celle-ci a été modifiée, *via Agrobacterium tumefaciens*, par introduction du gène d'intérêt *HB4* permettant aux plantes de résister à la sécheresse.

- a) Quelles sont les propriétés particulières d'*A. tumefaciens* qui permettent un transfert de gènes de cette bactérie aux plantes ?
- b) A l'aide d'un schéma, détaillez toutes les étapes nécessaires à l'obtention de plants de blé génétiquement modifiés avec le gène *HB4*. Détaillez également la construction du plasmide d'*A. tumefaciens*.
- c) Citez, sans la détailler, une autre méthode de transformation d'obtention de plantes génétiquement modifiées (PGM).
- d) A quoi sert le système Cre/Lox ? Justifiez votre réponse par un schéma

### Question 2 :

- a) Situez l'Argentine, pays producteurs de PGM par rapport aux autres pays producteurs de PGM dans le monde. Citez des exemples de PGM autorisées à la culture dans ce pays.
- b) Quelle est la méthode « normalisée » par la CEE, employée pour détecter la présence d'OGM ?
- c) Dans quel(s) cas cette méthode présente une limite à la détection des OGM ?
- d) A quoi sert le Réseau Européen de Laboratoires pour les OGM ?

### Question 3 :

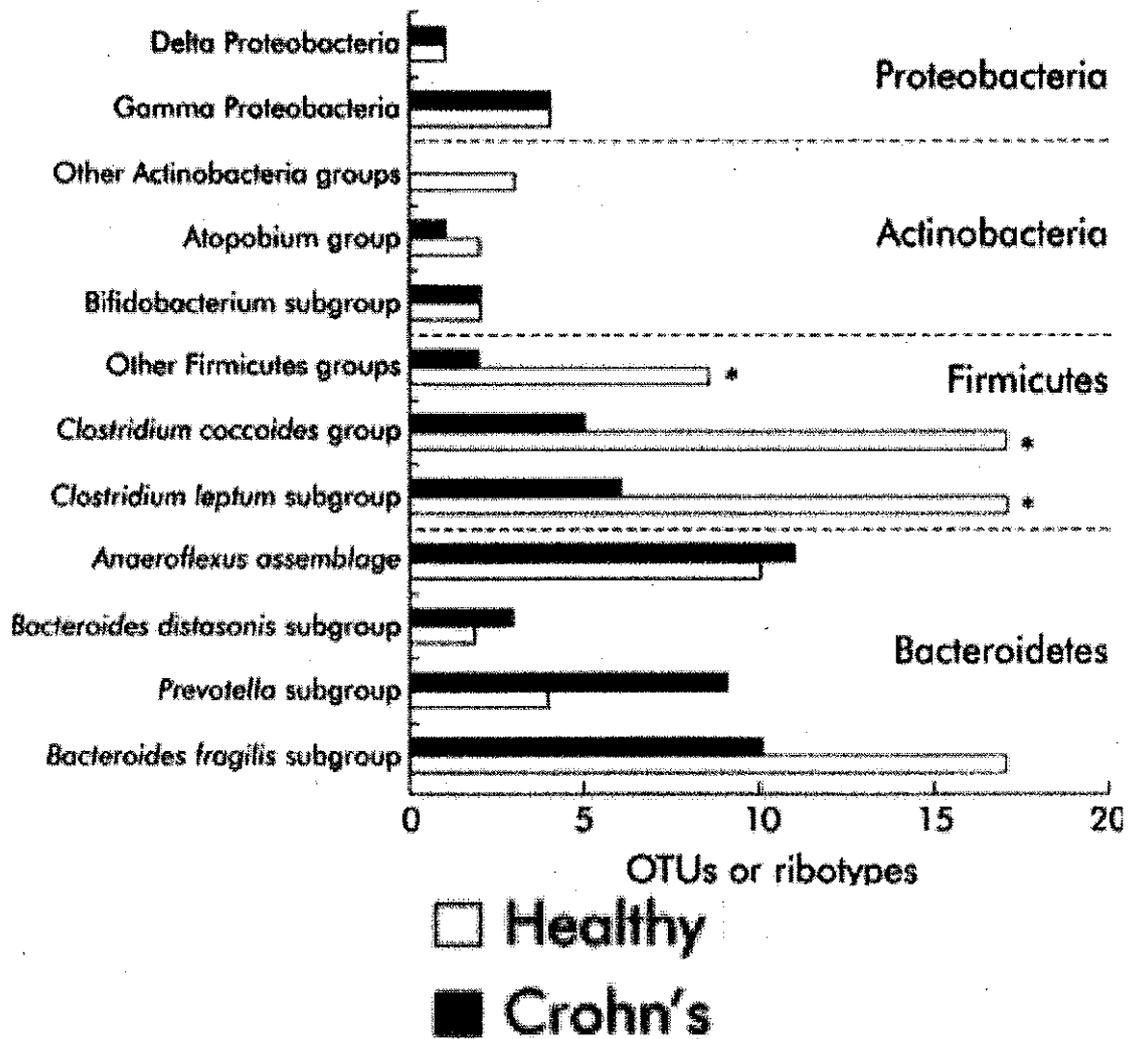
La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique du tube digestif. Un rôle de la communauté microbienne intestinale (microbiote) dans l'apparition et la chronicité de la maladie de Crohn est fortement suspecté.

Une étude métagénomique a été réalisée sur des échantillons prélevés dans l'intestin de 6 donneurs en bonne santé et 6 patients atteints de MC.

La région V6 à V8 du gène codant l'ARNr 16S a été amplifiée et séquencée en utilisant le séquenceur Illumina.

- a) Présentez la méthode métagénomique utilisée dans cette étude. Quel(s) avantage(s) présente-t-elle par rapport à l'autre méthodologie utilisée en métagénomique ?
- b) Quelles sont les particularités des amorces utilisées pour amplifier le gène codant l'ARNr 16S ?
- c) La séquence de l'ADN 16S amplifiée est la suivante :

5' GATTCAGGAGATTCACAC-500nucléotides-TCGGTACAGCTATACAGG 3'



**Table des OTUs des donneurs sains et des patients atteint de MC**

f) Présentez et analysez la table des OTUs. Que pouvez-vous conclure sur cette étude ?

**Université de Picardie Jules Verne - UFR Sciences**  
**L3S5 - UE Immunologie**  
**Examen de 1<sup>ère</sup> session - Janvier 2022**

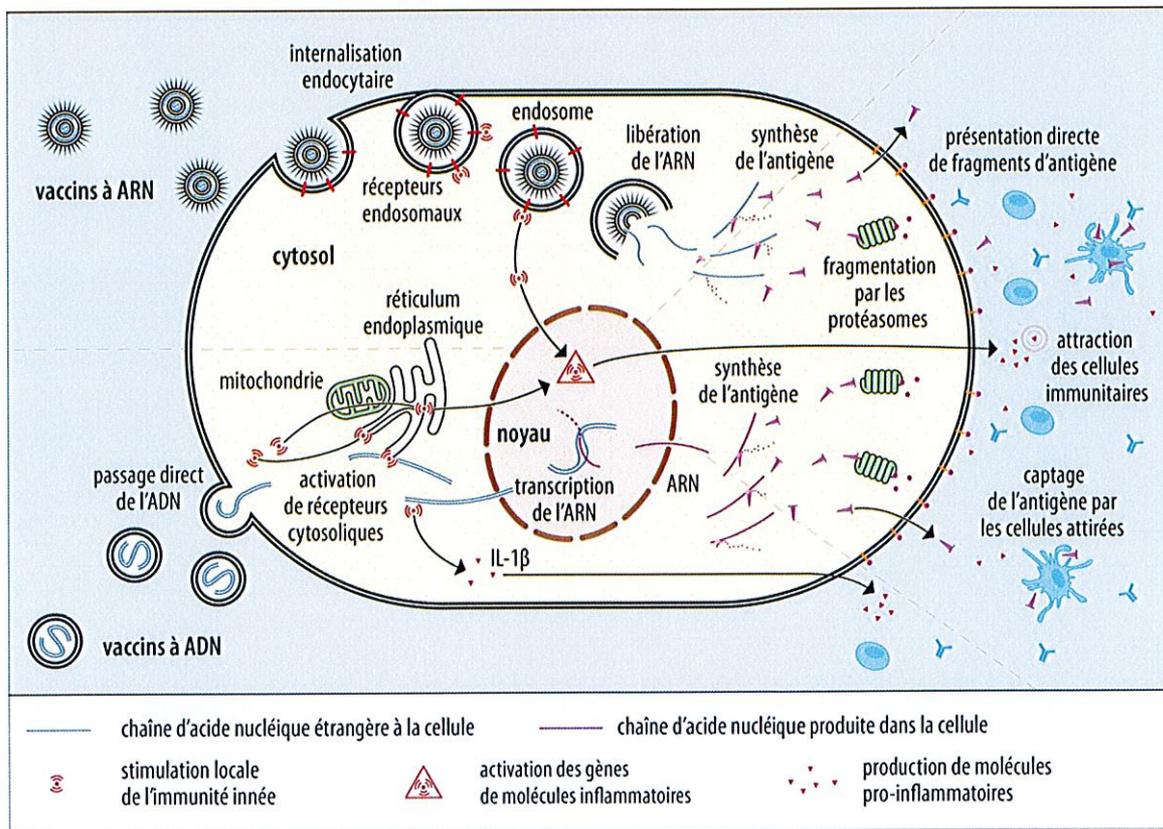
Téléphones, calculatrices et tout autre document sont formellement interdits

**Sujet n°1 – Cours de Mme ANSELME**

A rendre sur une première copie (durée conseillée : 1h30)

**Sujet : Vaccin génétique à partir de l'ARNm d'une protéine d'enveloppe virale : objectifs et mécanismes immunitaires.**

*La vaccination utilisant des acides nucléiques s'est développée au cours des dernières décennies et la recherche dans ce domaine a progressé très rapidement. La figure ci-après est proposée pour expliquer le principe des vaccins génétiques.*



Pour accompagner cette figure, vous rédigerez une synthèse afin de présenter les objectifs de l'immunisation d'un individu par un ARNm codant une protéine de l'enveloppe virale d'un virus lambda et les mécanismes immunitaires à l'origine de cette immunisation.

*Attention : il s'agit d'un sujet de synthèse ! Limitez votre réponse à ce qui est en lien avec le sujet et ne détaillez que ce qui est pertinent ; soyez complets mais concis en utilisant le vocabulaire adéquat.*

*Pour vous guider :*

- les premières étapes (endocytose, libération et expression de l'ARNm) ne sont pas au cœur du sujet, concentrez-vous sur la deuxième partie de la figure.*
- présentez la séquence d'événements ayant lieu au cours de la réponse immunitaire suite à l'injection du vaccin*
- précisez les voies et/ou les mécanismes ainsi que les acteurs associés à la réponse immunitaire et à l'immunisation.*
- pour les mécanismes effecteurs, citez les principaux éléments de leur activation.*

## **Sujet TP/TD**

A rendre sur une deuxième copie

- **Question 1 : 3 pts**

Expliquez le principe de la **détermination des groupes sanguins** (vous pouvez vous appuyer sur des schémas légendés) et présentez sous forme de tableau les résultats obtenus lors d'un test réalisé pour un individu « B négatif ».

- **Question 2 : 2pts**

En pratique, lors de la mise en place de l'interaction anticorps-antigène (Dot blot et Immunocytochimie), différents moyens ont été utilisés pour réduire le « bruit de fond » (marquage non spécifique). Pourquoi et comment ?

- **Question 3 : 3pts**

Quelles sont les caractéristiques de la voie de synthèse des peptides antifongiques et antibactériens Gram + ?

- **Question 4 : 2pts**

La double immunodiffusion est utilisée pour détecter aussi bien la présence de molécules antigéniques dans une solution que d'immunoglobulines dans un sérum. Expliquez.

L3S5- Examen UE Géoécologie appliquée

Session 1- janvier 2022

Téléphones portables, et documents de cours interdits.

Chaque sujet des 3 disciplines devra être rendu dans une feuille d'examen à part.

Pensez à préparer vos réponses et schémas sur un brouillon au préalable

**Sujet 1 ou partie Hydrogéologie-Pédologie** (10 points)

*Vos réponses doivent être réalisées dans l'espace disponible entre chaque question sur la feuille d'examen. Sur 2 pages associées à ce sujet vous trouverez 4 figures (3 cartes et 1 photo aérienne) du secteur de Hangest-sur-Somme (80). Vous glisserez l'ensemble des feuilles (figures et sujet de composition) dans la feuille d'examen « hydrogéologie » cachetée. Respectez les consignes, les lignes supplémentaires ne seront pas considérées.*

1) Définissez (en 3 lignes maximum) ce qu'est la « capacité au champ » d'un sol. (1.5pt)

2) Sur la série de figures l'emplacement d'une cuve de fioul lourd a été signalé par une étoile rouge. Un scénario de pollution par infiltration jusqu'à la nappe doit être envisagé. Indiquez, sur la carte la plus appropriée, le trajet sur 3 km de distance de l'eau souterraine à partir de la cuve. Ce trajet permettra de suivre une pollution éventuelle (sur 3km) en cas de fuite et d'infiltration du fioul. (1.5pt)

3) Détaillez (en 3 lignes maximum ; formule + définition des termes) l'équation de perte en sol universelle. La perte en sol sera notée A. (1.5pt)

4) Dans quelle roche (soyez précis) est hébergée la nappe d'eau locale ? Quelle est l'épaisseur de cette nappe au niveau du triangle rouge ? (1.5pt)

5) Trois prélèvements d'eau sont réalisés au niveau d'un sol forestier (1) et de zones boisées à proximité du ruisseau St-Landon (2), d'un étang de la vallée de la Somme (3). Commentez et interprétez les résultats de leurs analyses hydrochimiques en 10-15 lignes au dos de cette feuille. (4pt)

	Eau point 1	Eau point 2	Eau point 3
<i>pH</i>	4.9	8.4	8.0
<i>Dureté totale (°d)</i>	6	18	17
<i>Phosphates (mg/L)</i>	7.4	1.9	1.6
<i>Nitrates (mg/L)</i>	4.9	34	22

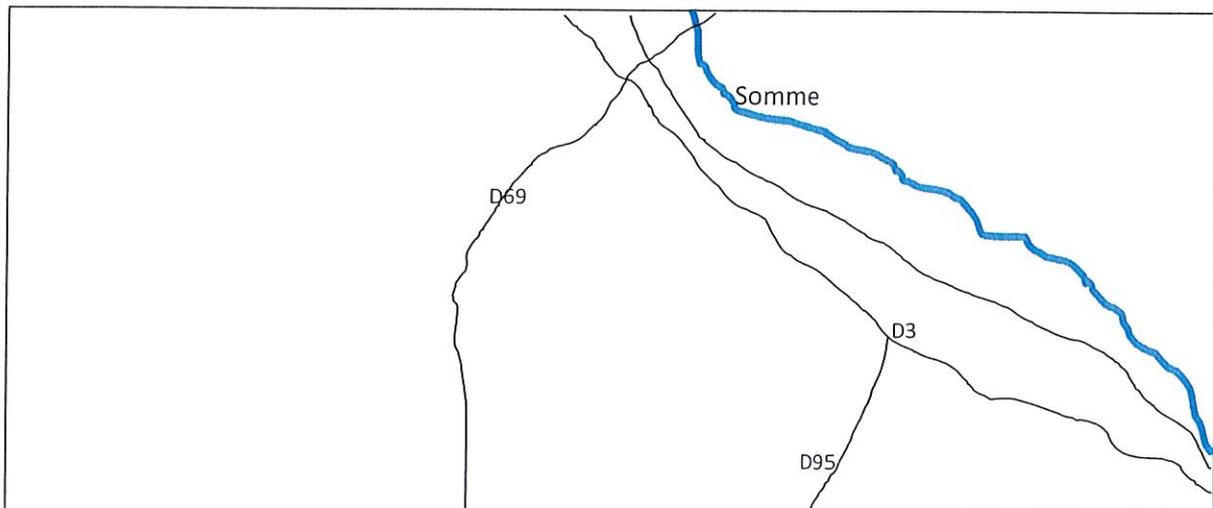
**N° Etudiant :**

**Sujet 2 ou Partie Ecologie végétale** (10 points)

- 1- **Citez de façon organisée** les facteurs pouvant conditionner les associations phytosociologiques en général. Pensez en les citant à **justifier leurs impacts** sur les espèces végétales voire la distribution de la végétation **en utilisant le vocabulaire associé**.
- 2- Précisez les facteurs qui vous semblent être déterminants pour la végétation dans le cas de la station 1 et 3 de la photographie aérienne.
- 3- Soit parmi les espèces relevées dans un des sous-bois la présence de l'espèce indicatrice suivante : *Potentilla erecta* annotées selon les indices d'Ellenberg, L 7/ F 7/ R 3/ N 2/ S 0 avec L pour l'indice lumière, F pour l'humidité, R pour le pH, N pour azote et S pour sel. Chacun des indices est sur un gradient allant de 1 à 9 sauf pour F où l'indice spécifique peut aller jusqu'à 12.

Parmi les trois stations étudiées dans laquelle seriez-vous susceptible de la trouver ? Justifiez votre réponse à l'aide de l'indication écologique donnée par sa présence.

- 4- Brièvement, comment procéderiez-vous pour décrire la couverture végétale présente dans une des stations et mettre en valeur ce qui fait sa spécificité en termes d'association végétale et de caractérisation du milieu?
- 5- A main levée représentez ci-dessous à l'échelle de la photographie aérienne les séries de hêtraie-chênaie sessile acidophile et d'aulnaie calcicole présentes. Vous respecterez la charte des couleurs initiée par Gausсен pour représenter les conditions écologiques des unités cartographiques de la végétation et en tenant compte de l'occupation des sols, mais aussi les règles de présentation d'une figure.



### **Sujet 3 ou partie Ecologie animale** (10 points)

Au sein de chacun des 3 sites dans lesquels ont été réalisés les prélèvements d'eau pour analyse hydrochimique, différentes méthodes de piégeage ont été combinées pour échantillonner les communautés d'invertébrés (5 répliquats par méthode et par site).

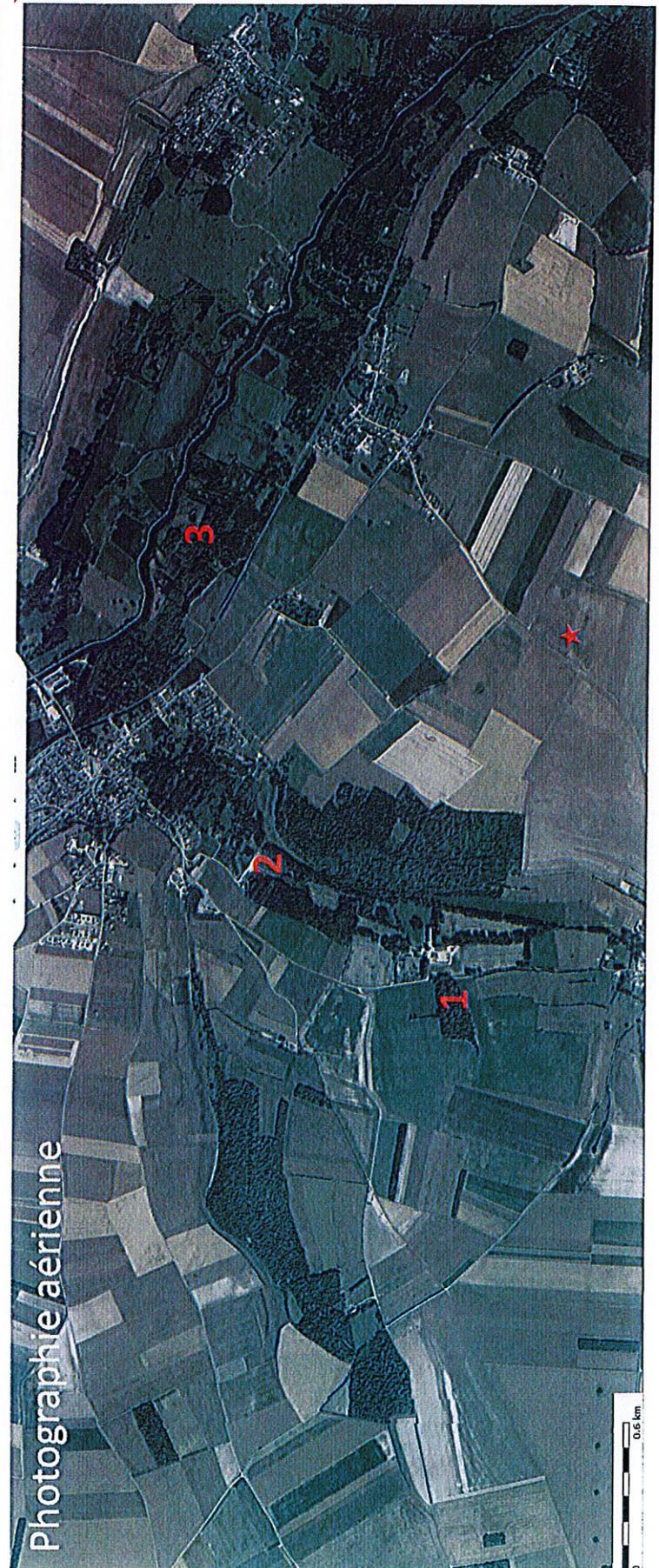
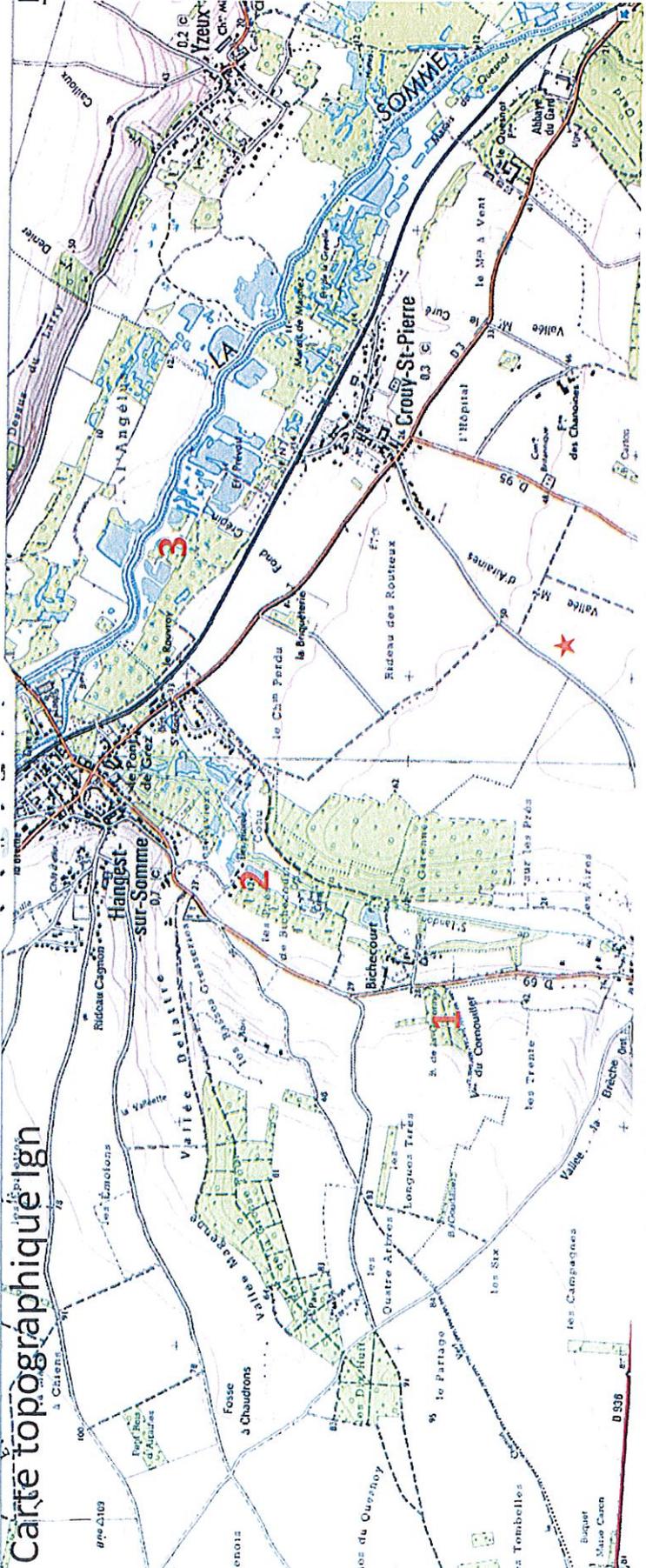
Le tableau 1 (page suivante) contient l'abondance moyenne des différents taxons collectés dans les habitats ci-dessous :

- **1 = forêt** : végétation principalement arborée
- **2 = bord de ruisseau** : végétation principalement herbacée à 10m de la limite de l'eau
- **3 = bord d'étang** : végétation principalement arbustive à 10m de la limite de l'eau

- 1) Quelle est l'échelle d'étude considérée ?
- 2) Comparez la structure des communautés d'invertébrés des habitats échantillonnés (tableau 1). Brièvement, proposez des hypothèses raisonnables sur les facteurs écologiques pouvant expliquer les similitudes et différences de structure des communautés observées. Incluez dans votre argumentaire les informations tirées des sujets 1 et 2 (parties Hydrogéologie-Pédologie et écologie végétale).
- 3) Dans quels habitats vous attendriez-vous à obtenir l'indice de Shannon le plus élevé, et le plus faible ? Justifiez votre réponse. (Ne pas faire le calcul de l'indice)
- 4) Brièvement, quel protocole de piégeage proposeriez-vous de mettre en place pour collecter les organismes figurant dans le tableau 1, dans une perspective de comparaison de la diversité des communautés des 3 habitats sélectionnés. Justifiez le choix de chaque méthode de piégeage.

**Tableau 1 :** Nombre moyen d'individus capturé par taxon et par habitat (calcul sur l'ensemble des répliquats et méthodes de piégeage). Remarque : Les plécoptères et éphéméroptères sont des insectes hémimétaboles dont les larves préfèrent les systèmes lotiques (cours d'eau), du fait de leur meilleure oxygénation, mais sont particulièrement sensibles aux pollutions et à l'eutrophisation.

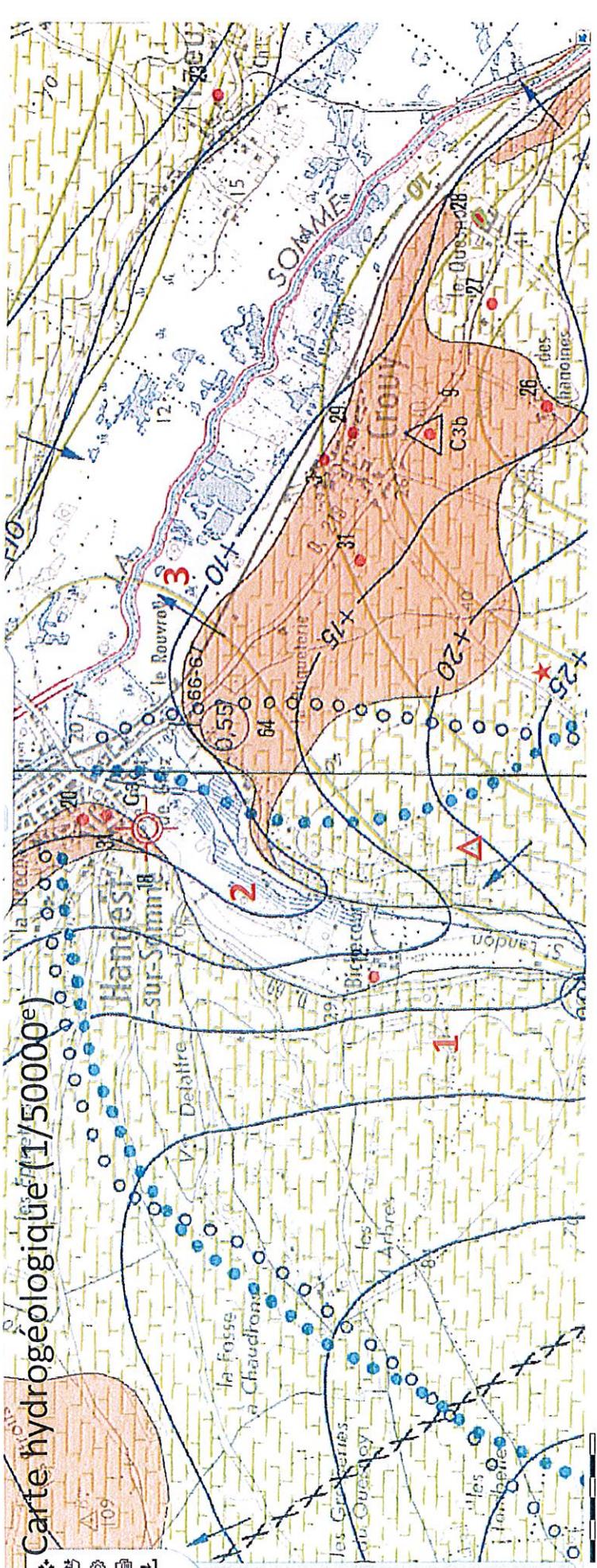
<b>Abondance taxon / Habitat</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<i>Acarien décomposeur</i>	78.2	9.8	45.7
<i>Acarien prédateur</i>	33.8	0	14.9
<i>Arachnide araneidae</i>	42.4	11.5	23.5
<i>Coléoptère (altise)</i>	0	6.6	7.3
<i>Coléoptère curculionidae</i>	14.2	3.4	5.1
<i>Coléoptère élateridae (taupin)</i>	11.8	0	5.2
<i>Coléoptère endogé</i>	18.9	0	0
<i>Crustacé isopode</i>	11.7	17.8	23.6
<i>Diptère culicidae (moustique)</i>	4.2	13.5	65.5
<i>Ephéméroptère</i>	0	2.2	12.7
<i>Gastéropode (escargot)</i>	7.2	15.4	26.2
<i>Hémiptère aphidoidea (puceron)</i>	66.1	2.3	11.8
<i>Hexapode collebole</i>	101.3	0	31.6
<i>Myriapode chilopode</i>	6.3	0	1.5
<i>Myriapode diplopode</i>	9.1	0	3.3
<i>Odonate anisoptere</i>	0	9.5	4.4
<i>Plécoptère</i>	0	6.7	21.1
<i>Psocoptère</i>	155.5	0	12.9



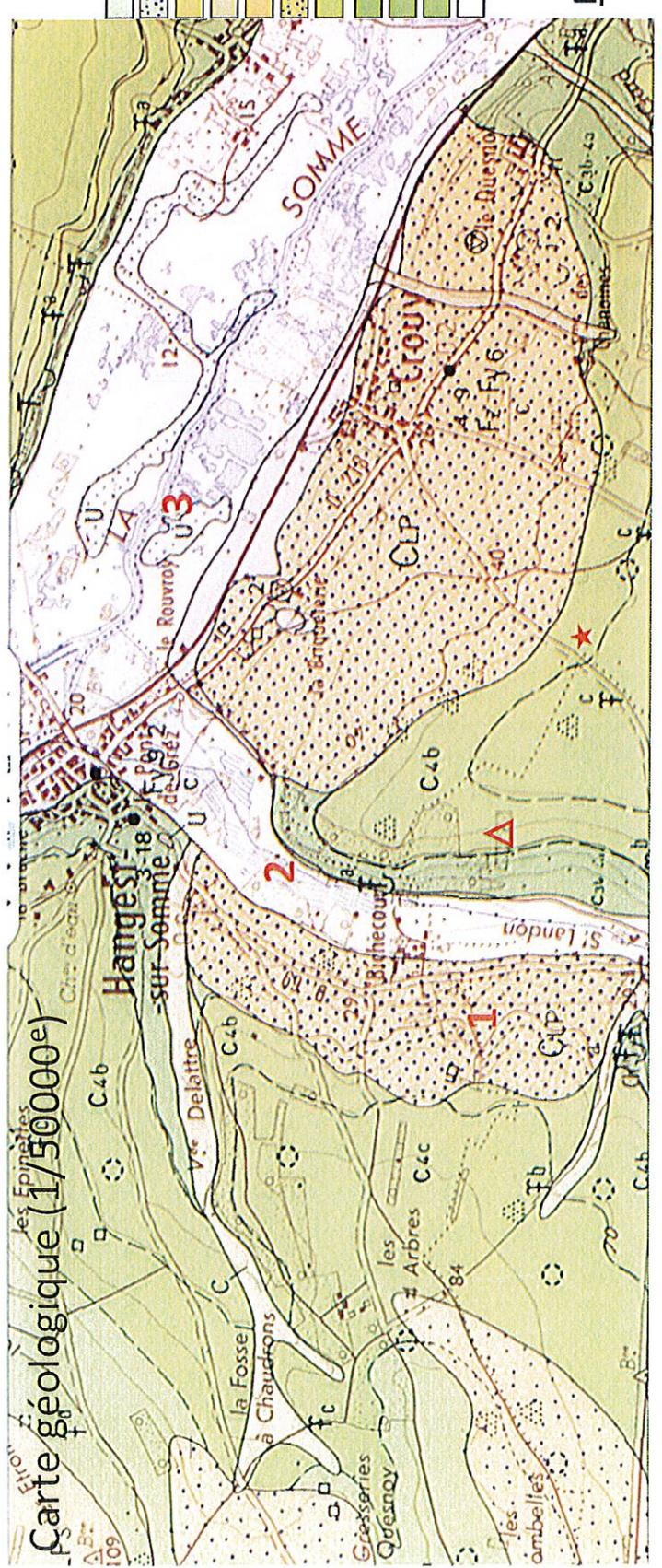
Photographie aérienne

★ Cuve de fioul

Carte hydrogéologique (1/50000<sup>e</sup>)



Carte géologique (1/50000<sup>e</sup>)



- Fz Alluvions récentes: cailloux, grèses, limons, tourbes
- U Travertins
- C Remplissage des vallées sèches
- Fy Alluvions anciennes, sables et cailloux
- LPS Limons argileux à silt
- CLP Lirocs ramifiés sur pierre
- C3a Sarnemim inférieur, craye blanche à silt ou sans silt, biccaire caractéristique par l'absence de laminites (U)
- C4a Coniacien supérieur, craye blanche à silt ou sans silt, biccaire caractéristique par l'absence de laminites (U)
- C4b Coniacien moyen, craye blanche à intercalation de silt, biccaire caractéristique par l'absence de laminites (U)
- C3b-4a Tronçais supérieur-Coniacien basal, craye blanche à silt, biccaire caractéristique par l'absence de laminites (U)
- hydro Réseau hydrogéologique

N° Etudiant