

## SIS Biologie - Discipline principale 2017

Deuxième partie (1.5h)

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative. Dans les observations post-mortem de cerveaux de patients atteints de cette maladie, sont détectés de façon caractéristique des agrégats extracellulaires (ou plaques) de protéine  $\beta$ -amyloïde, ainsi que des enchevêtrements intracellulaires de protéine Tau hyperphosphorylée. Une perte neuronale est également observée dans les structures les plus touchées.

Dans cet examen vous devrez interpréter une série de résultats expérimentaux concernant ce dernier aspect.

---

Post-mortem, des coupes d'hippocampe provenant de patients malades (AD, Alzheimer's disease) ou de patients sains (contrôle) ont été immunomarquées avec différents anticorps. La figure 1 montre un exemple de marquage. La table associée regroupe les résultats des différents anticorps.

*B1- Le marquage est retrouvé uniquement dans des neurones. Proposer un moyen simple de le vérifier.*

*B2- De quel processus cellulaire les protéines détectées par les anticorps sont-elles caractéristiques? Que savez-vous sur la cycline B?*

*B3- Pourquoi n'y a-t-il pas d'expression de ces protéines dans le tissu sain?*

*B4- Parmi les protéines détectées, laquelle est la plus exprimée dans le tissu AD? Proposer une hypothèse de ce que cela peut signifier.*

Le résultat d'hybridation in situ d'une séquence spécifique du chromosome 17 réalisée sur des coupes de tissu AD est illustré dans la figure 2.

*B5- Que pouvez-vous dire sur les cellules de type A et de type B ainsi identifiées?*

*B6- Que concluez-vous?*

*B7- Pouvez-vous dire en regardant la figure 2 s'il s'agit d'un défaut de cytokinèse?*

La quantification des cellules de type B a ainsi été effectuée sur des coupes de tissu de différents patients décédés à différents stades de la maladie. Le nombre total de neurones a également été quantifié dans ces coupes (figure 3).

*B8- Décrire le résultat du graphe. Que peut-on conclure?*

Dans un tout autre contexte, des chercheurs d'un autre laboratoire s'intéressent aux conséquences d'une déprivation de nerve growth factor (NGF) sur des neurones en culture. Dans ces conditions, la morphologie des neurones est proche de celle illustrée dans la figure 4.

*B9- Quel processus cellulaire les images de la figure 4 vous évoquent-elles, et pourquoi? Imaginez une technique/expérience complémentaire permettant de le démontrer.*

Le résultat d'une analyse par RT-PCR des neurones en culture déprivés de NGF, à différents temps après le début de l'expérience, est montré dans la figure 5.

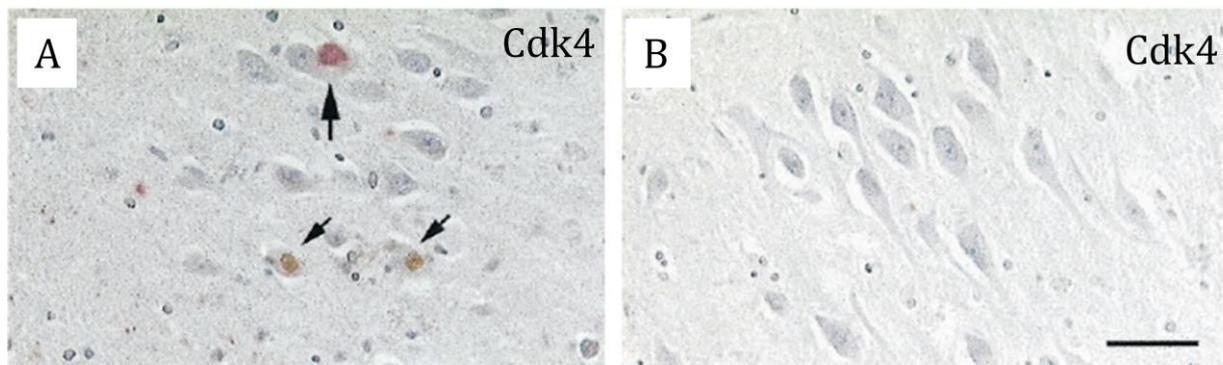
B10- Interprétez la fig. 5. Pourquoi est-ce que le seul signal qui persiste à 72h est celui de S-100 $\beta$ ?

Un laboratoire travaille sur la maladie d'Alzheimer, avec un modèle murin transgénique (B6-R1.40) qui développe la maladie et dans lequel les plaques de protéine  $\beta$ -amyloïde sont détectées entre 12 et 14 mois. La détection par immunocytochimie de la cyclineD à deux âges différents est illustrée dans la figure 6.

B11- Qu'observez-vous? Qu'indiquent les flèches dans les encarts des images C et F?

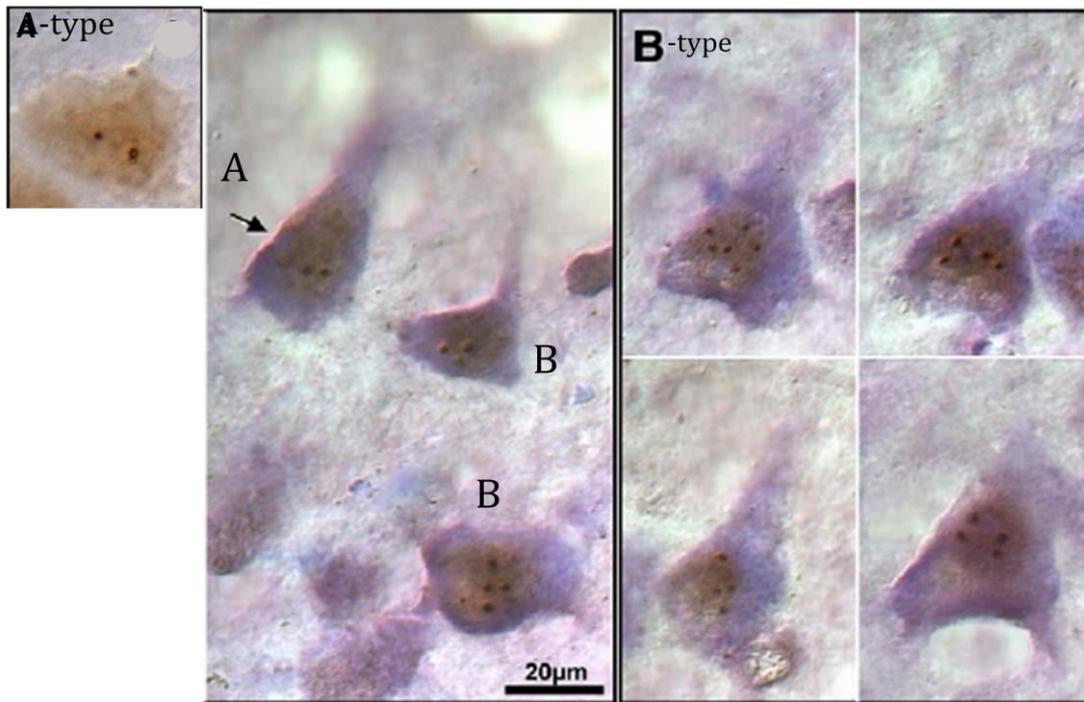
Comment interprétez-vous le résultat de cette figure?

B12- Proposer un schéma mécanistique reliant les événements mis en évidence depuis la question 1).

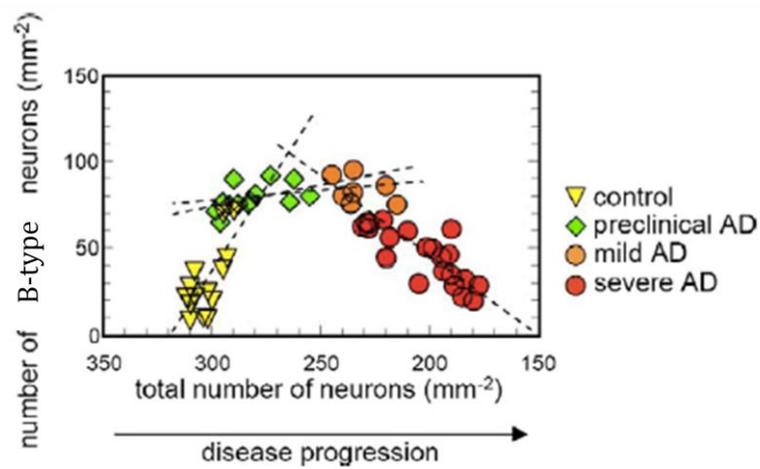


	Cyclin D	cdk4	Cdk2	Cyclin B1
Normal				
% positive	0	0.1	0.5	0.1
AD				
% positive	0.6	3.9	9.0	8.8

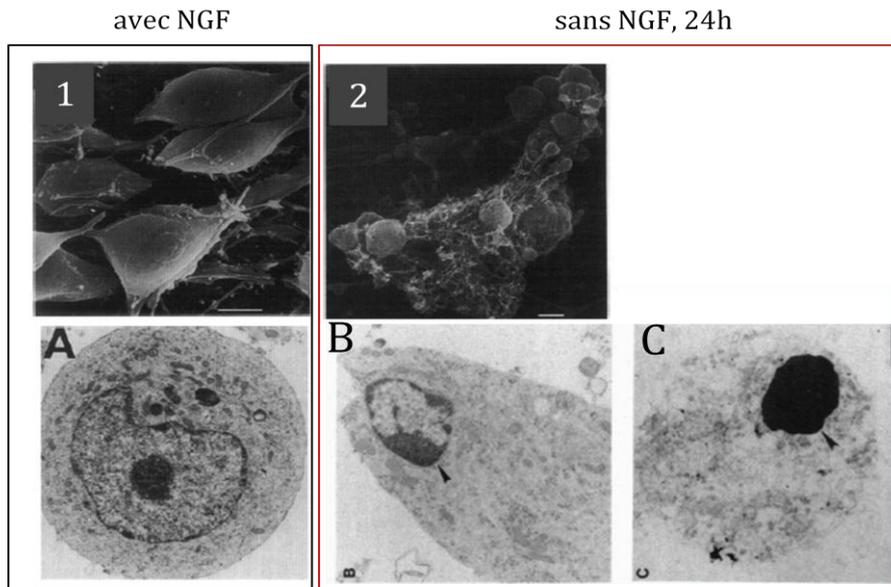
**Figure 1.** Immunocytochimie de coupes de cerveau de patient AD (A) ou de sujet normal (B) contre la protéine Cdk4. Les flèches indiquent les cellules marquées. Des immunodétections ont également été réalisées contre les protéines CyclinD, Cdk2 et CyclinB. La quantification des immunos, en % du nombre de cellules marquées par rapport au nombre de cellules totales, est présentée dans la table.



**Figure 2.** Hybridation in situ d'une séquence spécifique du chromosome 17 réalisée sur des coupes de cerveau de patient AD. La révélation est réalisée par une méthode colorimétrique, qui donne un signal marron-violet. A gauche un exemple de cellule de type A, à droite des exemples des cellules de type B. Au milieu, un champ comprenant des cellules de type A et B.



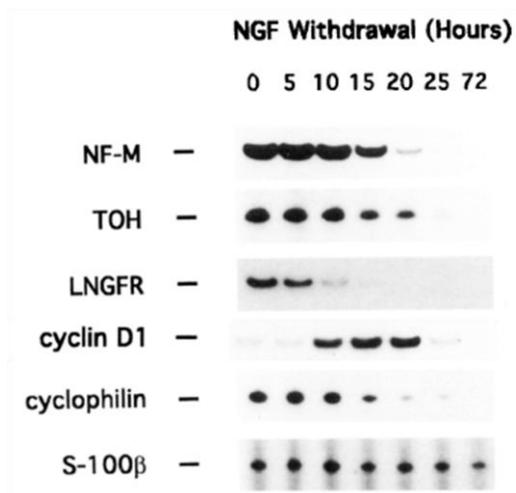
**Figure 3.** Quantification du nombre de cellules de type B sur des coupes provenant de malades décédés à différents stades de la maladie (contrôle, préclinique, léger, sévère).



Modifié à partir de Loo et al. 1993, Cotman et al. 1995

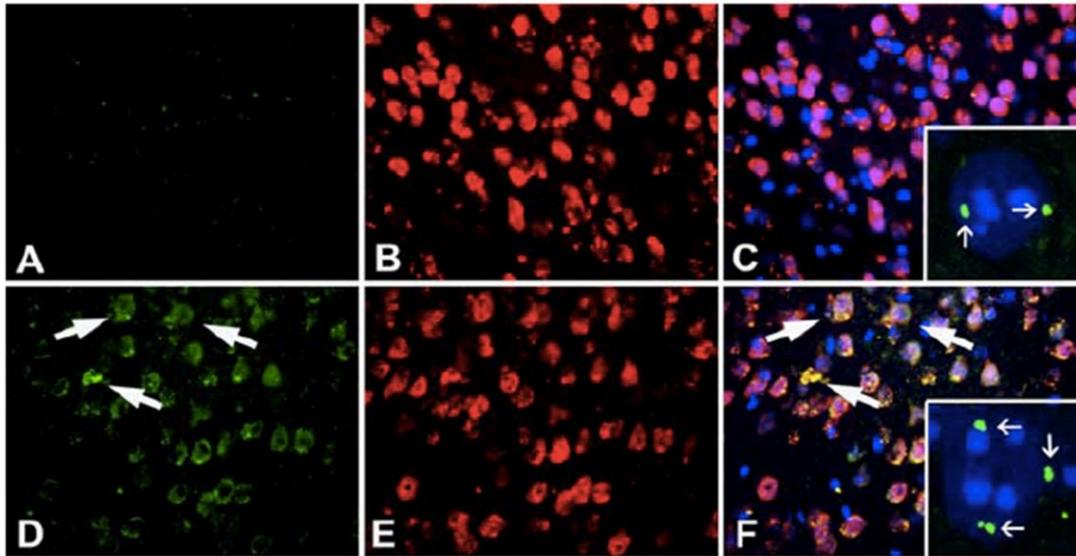
**Figure 4.** (1-2) Images de neurones d'hippocampe en culture en microscopie à balayage.

(A-C) Images de neurones d'hippocampe en culture en microscopie électronique.



**Figure 5.** Des cultures de neurones ont été déprivées de NGF et analysées à différents temps après le début de l'expérience (0-72h).

L'expression des marqueurs suivants a été suivie par Western Blot: NF-M (neurofilament), TOH (tyrosine hydroxylase), LNGFR (low NGF receptor), cyclinD, cyclophilin (gène ubiquitaire), S-100β (gène d'expression gliale).



**Figure 6.** Expression de cyclinD dans le cortex de souris B6-R1.40 à 10 mois (A-C) et 12 mois (D-F). En vert: cyclinD, en rouge: NeuN (marqueur neuronal), en bleu: DAPI (agent intercalant de l'ADN). C et F correspondent aux images A-B et D-E superposées, respectivement. Les encarts en C et F montrent un grossissement de noyau.

---

Adapté de Busser et al. JNeurosci 1998 ; Arendt , Am Journal of Pathology 2010; Freeman et al. Neuron 1994; Varvel et al. JNeurosci 2008.