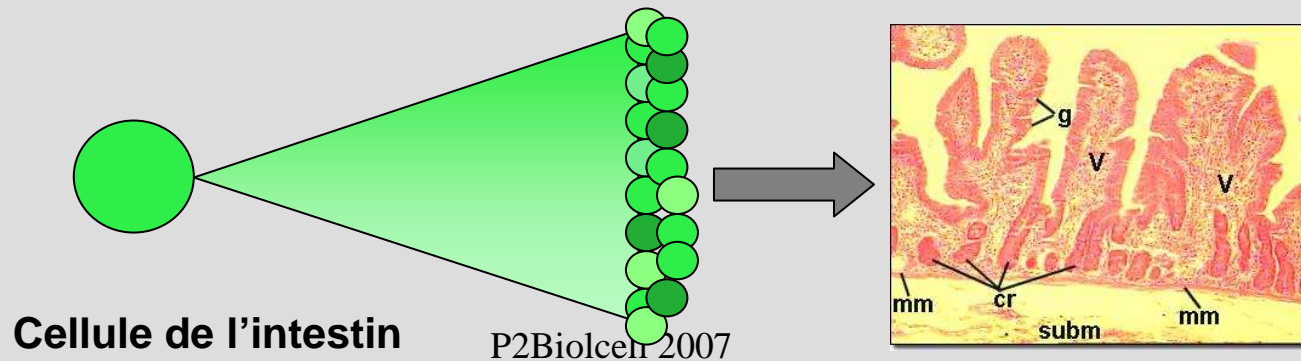
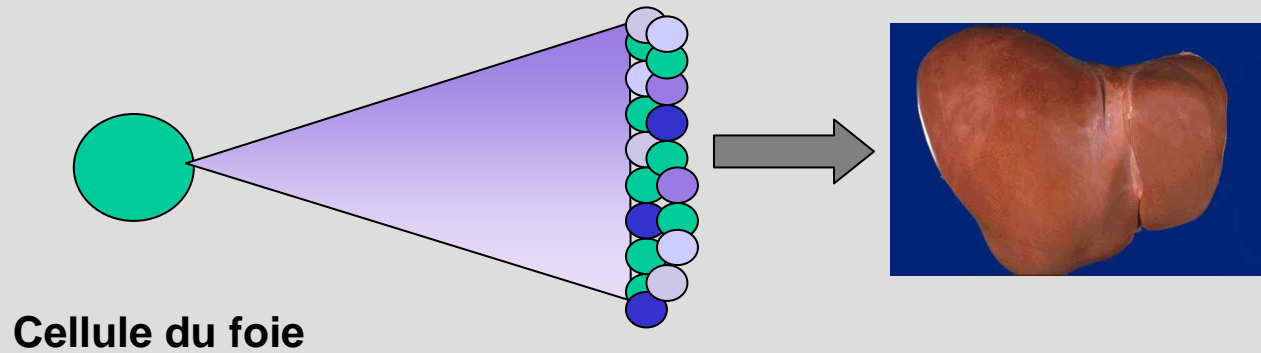
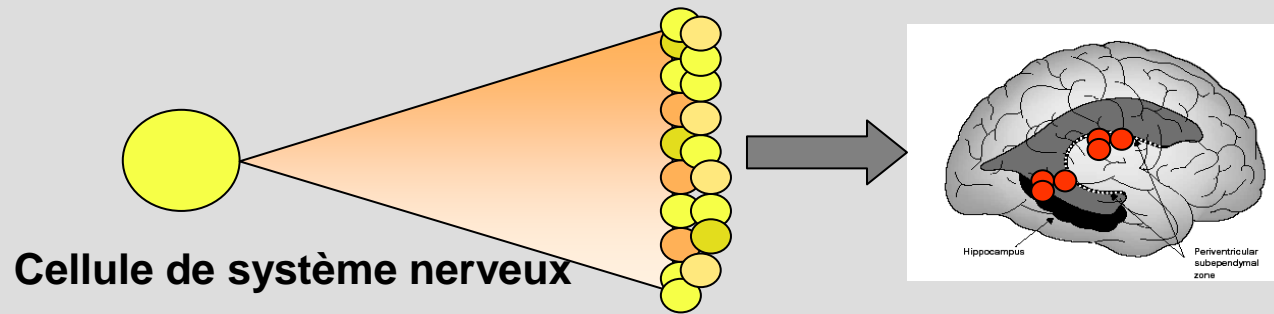


# Prolifération - Différenciation - survie cellulaire



# Prolifération - Différenciation - survie cellulaire

Étapes clés de la cellule sous la dépendance de **protéines spécifiques**

de la cellule

de la différenciation, prolifération, survie

**Présence** de ces protéines spécifiques

**Taux de** ces protéines spécifiques

**Activation** de ces protéines

résultent des **mécanismes de contrôle** de la transcription, traduction, état d'activation

# Différenciation, prolifération et survie

Différenciation

caractéristique de la cellule, fonction de la cellule

Défaut de contrôle de la différenciation  
anomalies de fonction = maladie Outils thérapeutiques

Prolifération = production de cellules différenciées

Absence de prolifération: maladies  
Trop de prolifération: maladies Outils thérapeutiques

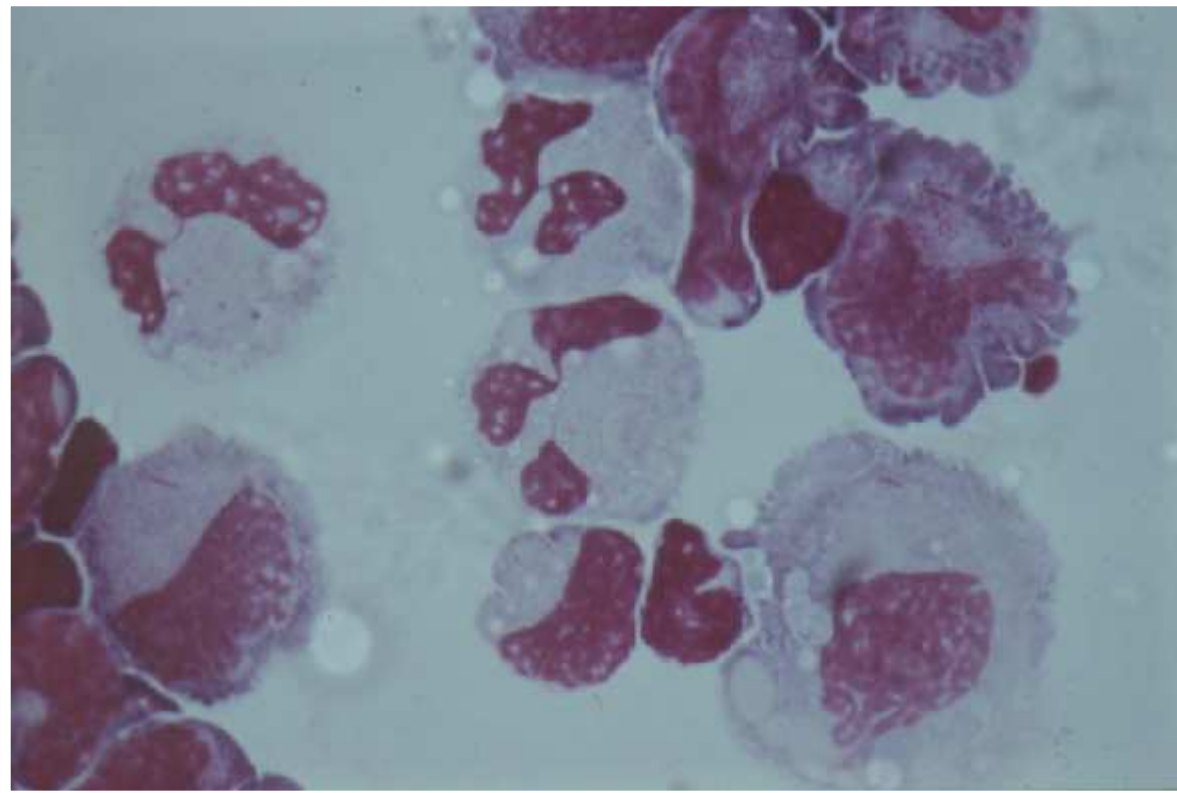
Survie = maintien des cellules différenciées

Absence de survie: apoptose, maladie  
Survie importante: maladie Outils thérapeutiques

## A. Moyens d'étude de la différenciation

- Aspect morphologique de la cellule
- L'étude des protéines exprimées dans la cellule et à la surface
- Etude des ARNm exprimés dans la cellule

# A.1 Aspects morphologiques: Cytologie



## A.2 Expression de protéines membranaires à la surface de la cellule

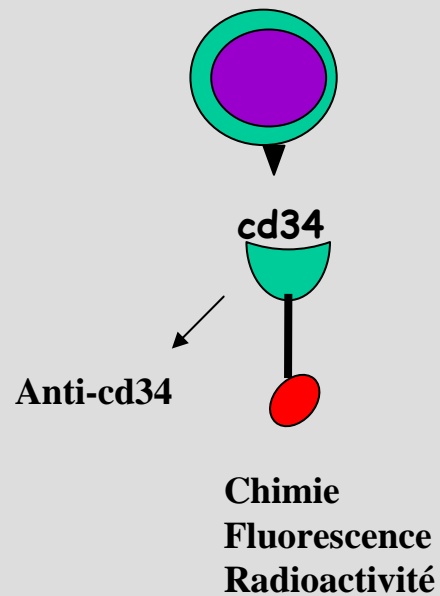
Mise en évidence de la protéine via la fixation d'un anticorps spécifique de la protéine : immunomarquage

Exemple différenciation des cellules hématopoïétiques de la cellule souche vers le granulocyte (polynucléaire) par le G-CSF (granulocyte colony stimulating factor)

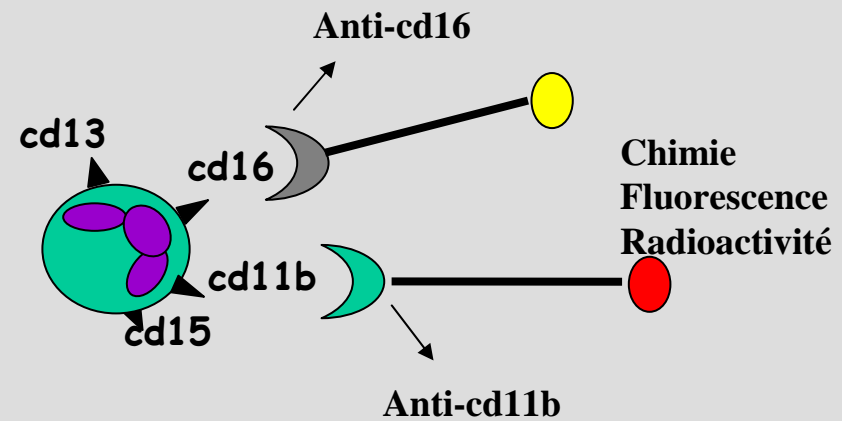
# Immuno-marquage

Protéine appartient à un cd=cluster différenciation

Cellules immatures



Cellules différenciées

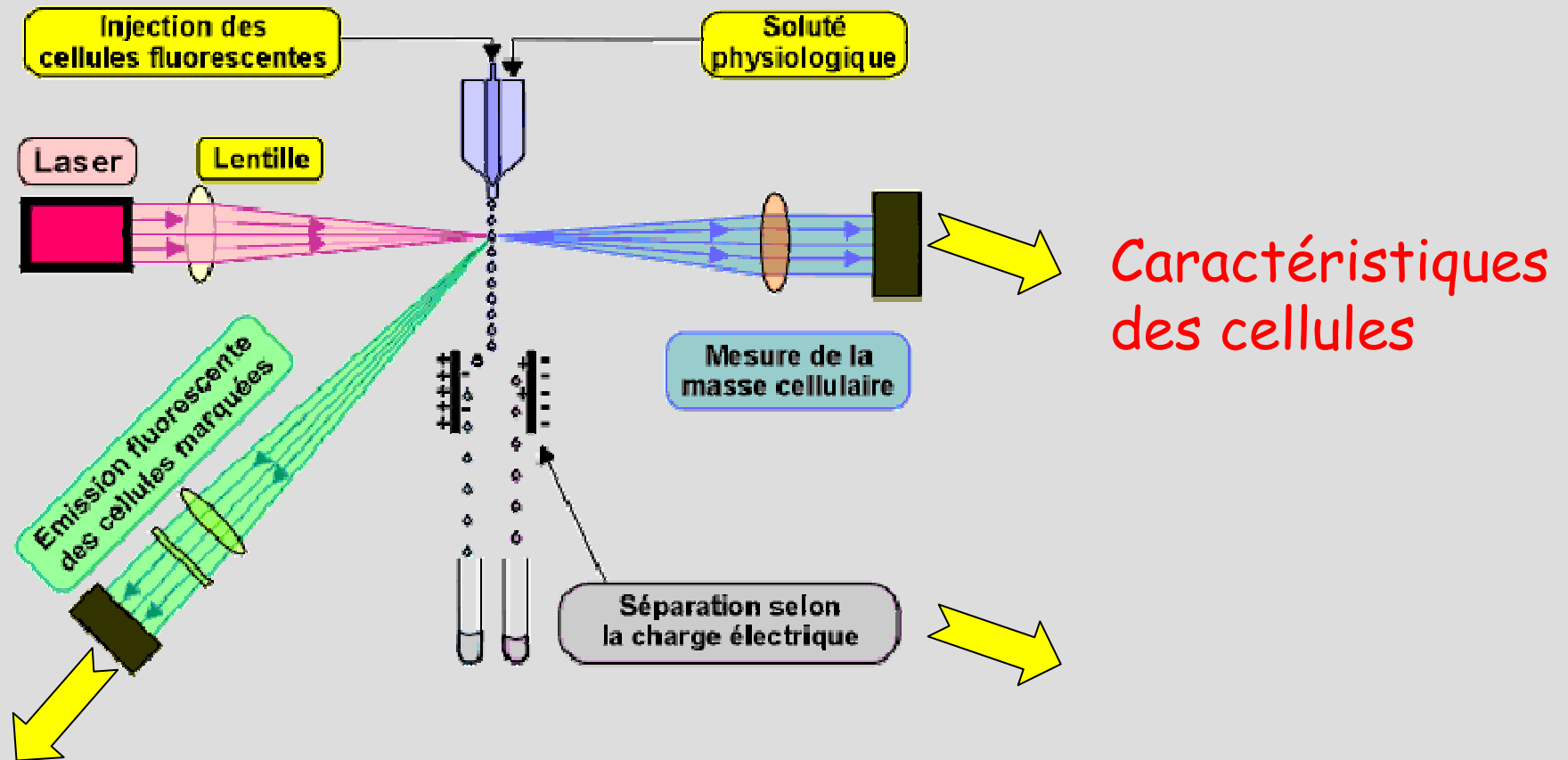


## A.2

- Détection par marquage « fluorescent »
  - Immuno fluorescence
    - Microscopie à fluorescence
    - Cytométrie de flux
- Détection par marquage isotopique:  
autoradiographie, radio immuno assay
- Détection par marquage « chimique »
  - Biotinylation



# Détection de la fluorescence par Cytométrie de flux

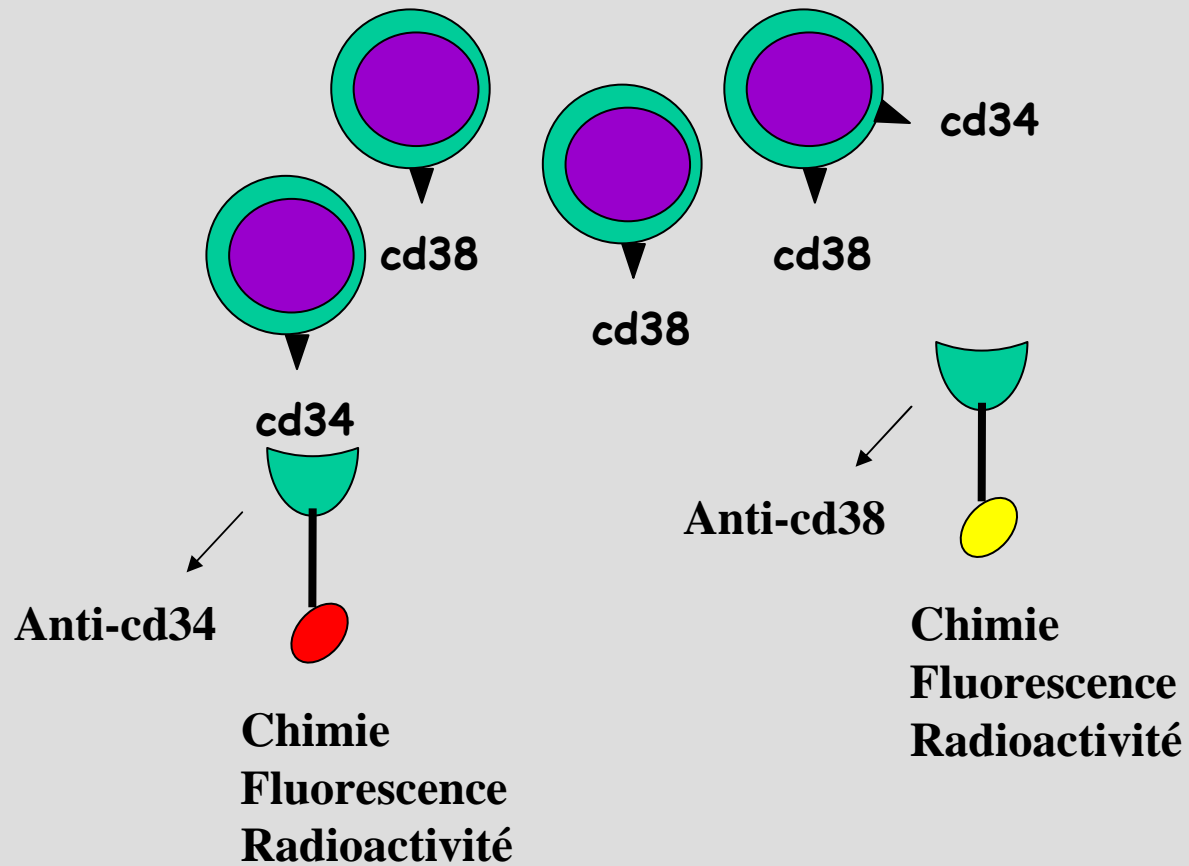


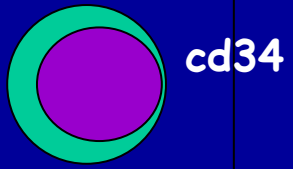
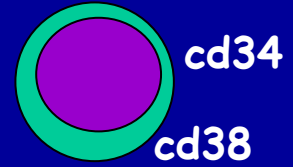
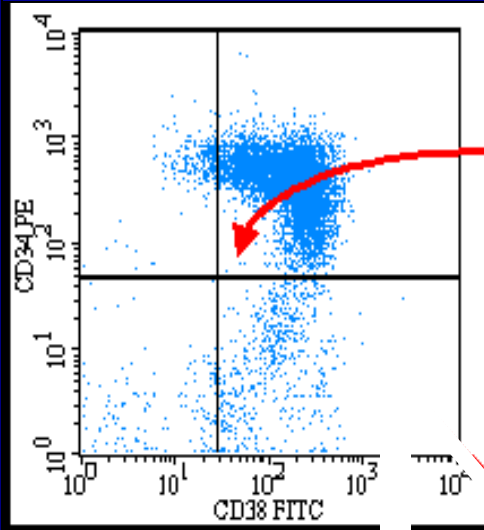
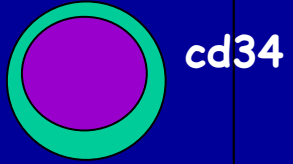
Nombre de cellules fluorescentes  
Intensité de la fluorescence

Possibilité de trier  
les cellules

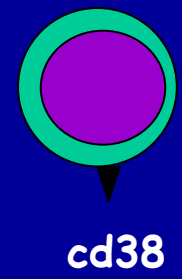
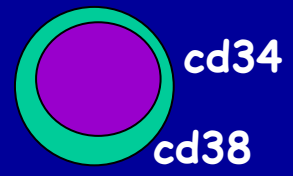
A.2

## Exemple: Marquage des cellules avec des anticorps anti-CD38 et anti-CD34



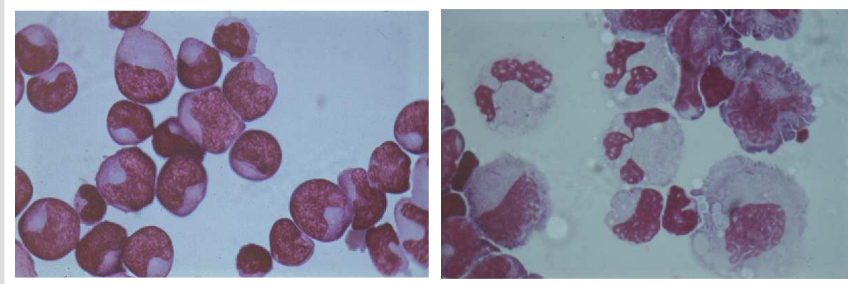


CD34+ CD38-	CD34+ CD38+
	CD34- CD38+

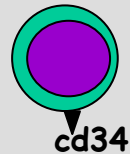


A.2

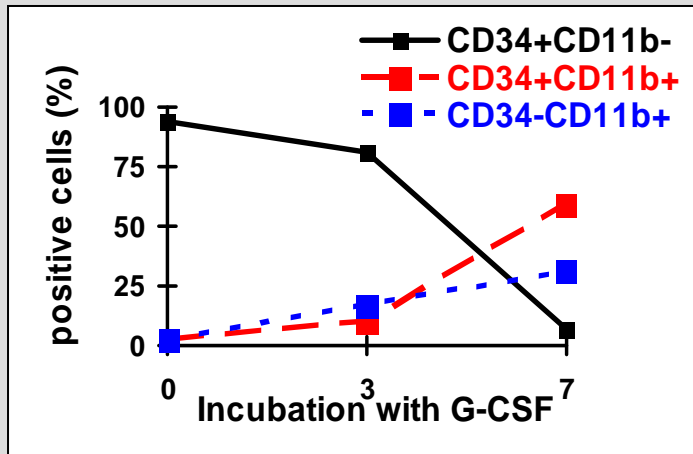
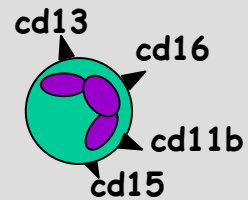
## Différenciation induite par le G-CSF



control



G CSF

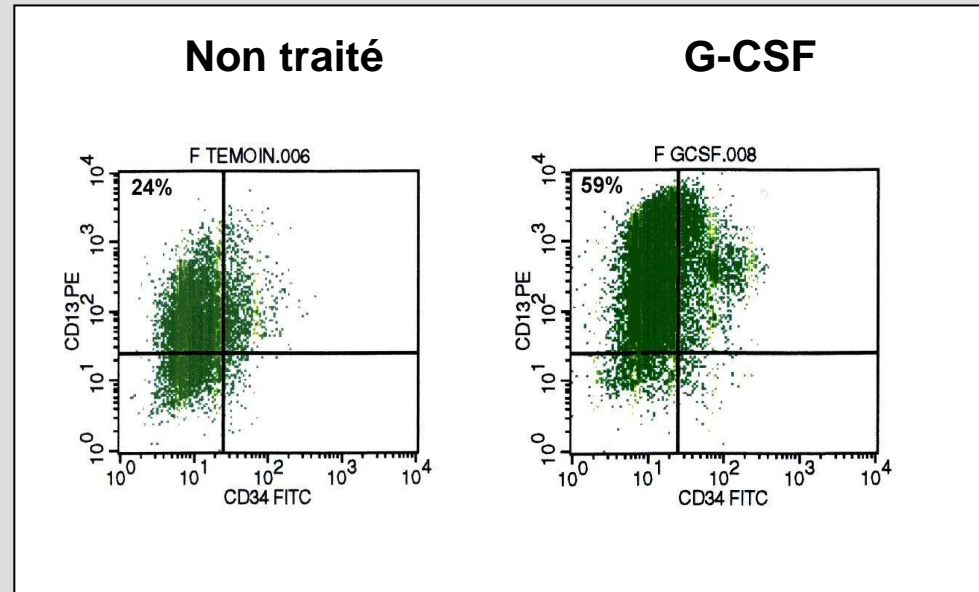


Diminution des cellules immatures  
Augmentation des cellules qui se différencient  
et des cellules différenciées

A.2

## Effet différenciant du G-CSF

Anti-CD13



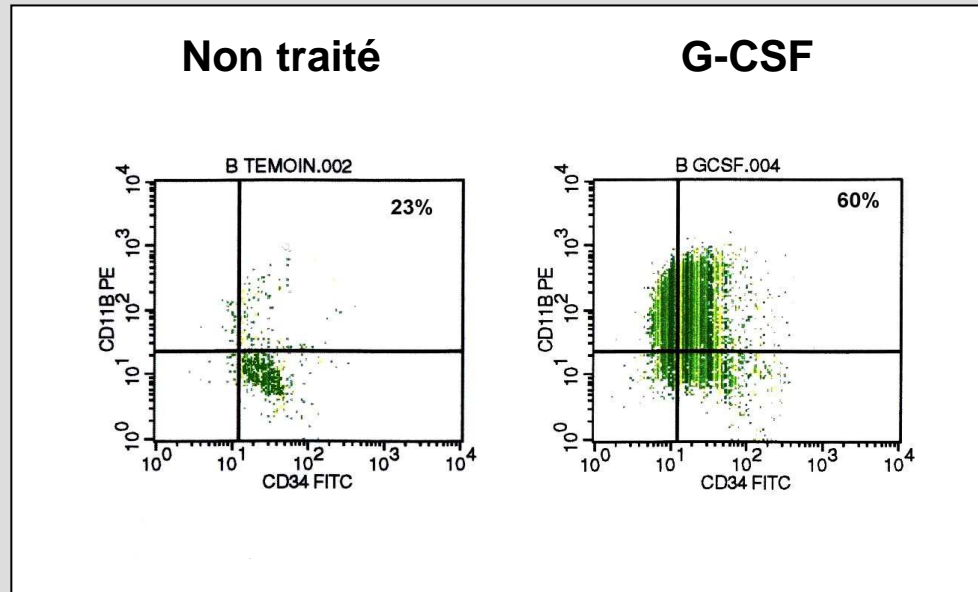
Anti-CD34

Augmentation de la population  
CD34<sup>+</sup>CD13<sup>+</sup> et CD13<sup>+</sup> CD34<sup>-</sup>

A.2

## Effet différenciant du G-CSF

Anti-CD11b

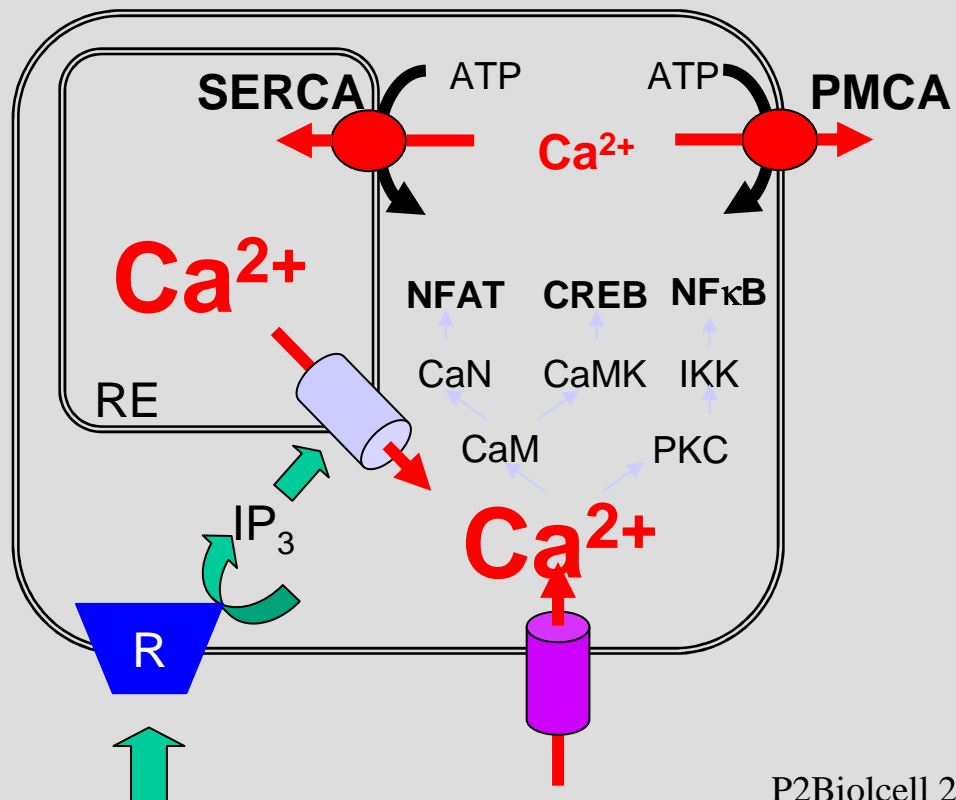


Anti-CD34

Augmentation de la population  
CD34<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>

## A.2 Expression de protéines intra-cellulaires

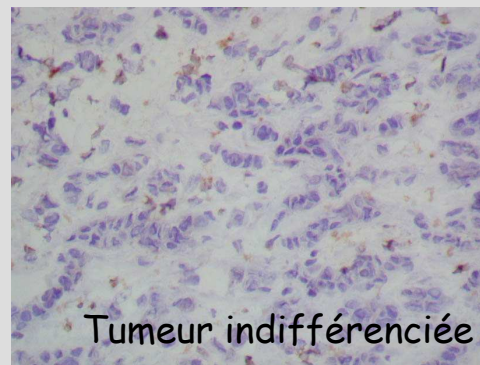
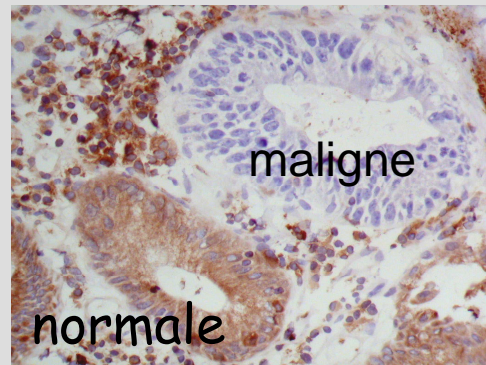
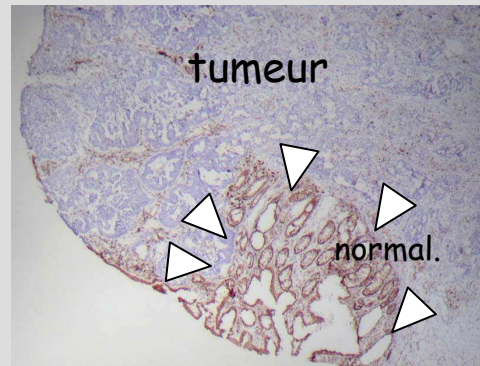
Expression des pompes calciques SERCA  
au cours de la différenciation



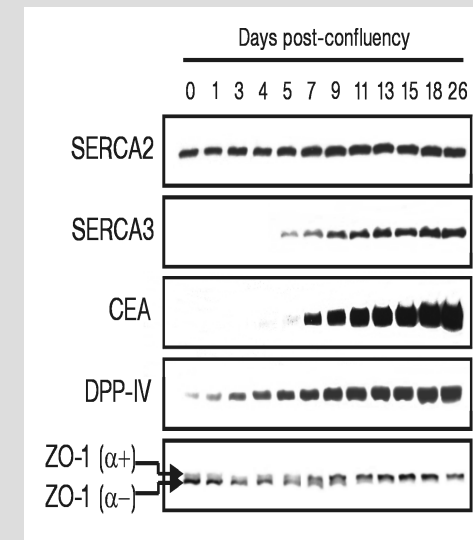
A.2

## Expression des pompes calciques SERCA au cours de la différenciation

immuno-histochimie  
anti-serca3



immuno-blot  
anti-serca3



lignée de cancer colique



## A.3 Etude des ARNm

1°) Extraction des ARNm cellulaires

2°) Caractérisation de l' ARNm spécifique

- Séparation des ARNm par électrophorèse

Puis hybridation avec une sonde ADN spécifique

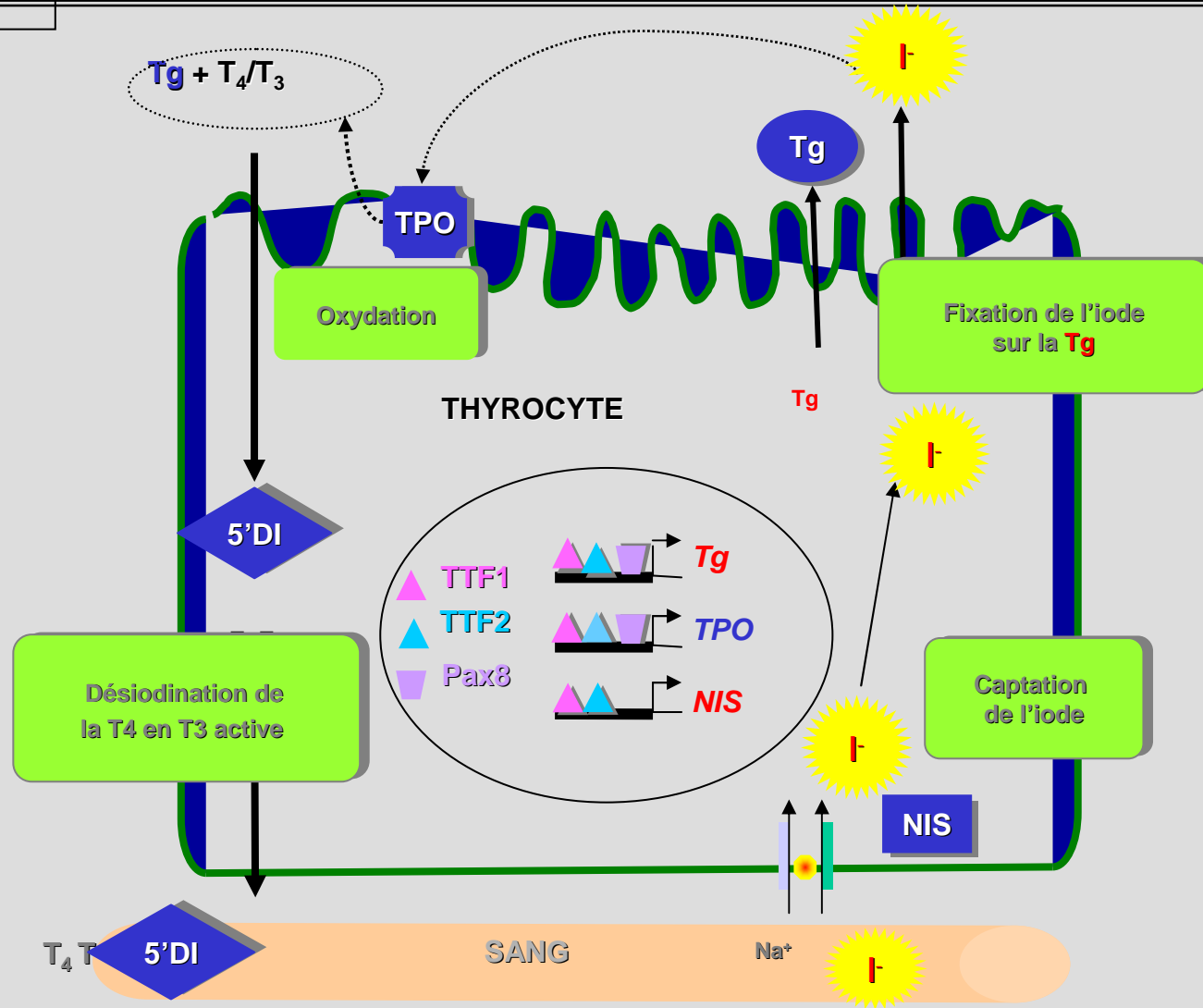
- Réverse transcription (cDNA) (RT); Amplification avec des sondes spécifiques (PCR); quantification (Q-RT-PCR)

A.3

**Exemple**  
**Différenciation de la cellule thyroïdienne**

# A.3

## Différenciation de la cellule thyroïdienne



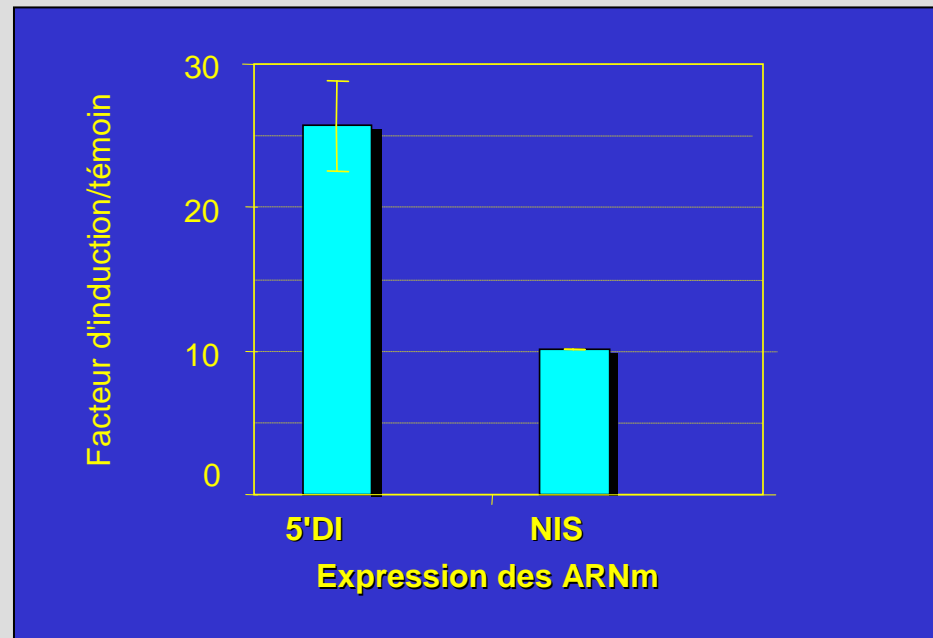
A.3

b

b

## Différenciation de la cellule thyroïdienne: mise en évidence du rôle de l'acide rétinoïque, dérivé de la vitamine A

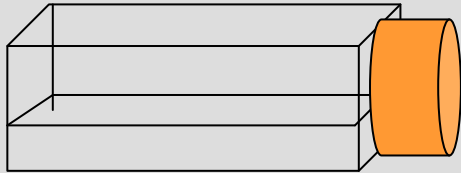
Induction de l'expression des marqueurs de différenciation par l'acide rétinoïque



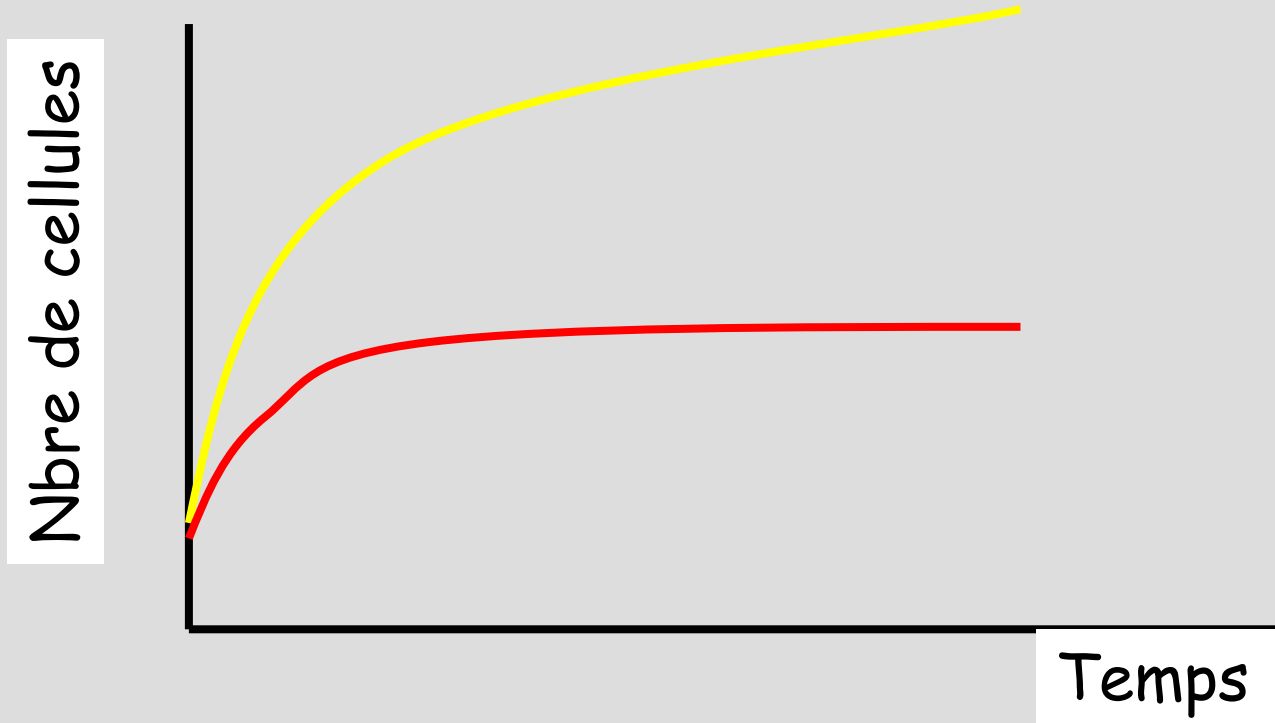
## B. Moyens d'étude de la prolifération

- Aspect morphologique de la cellule  
(Beaucoup de cellules en mitose = cellule en cycle )
- Etude du nombre de cellules en cycle  
(in vitro)
- Courbe de prolifération (étude de culture de cellule en suspension liquide)
- Pour les cellules souches (nombre de colonies) (étude de culture en milieu semi-solide)
- L'étude des protéines exprimées dans la cellule (pCNA, Ki67, p27)

# Prolifération des cellules en suspension liquide



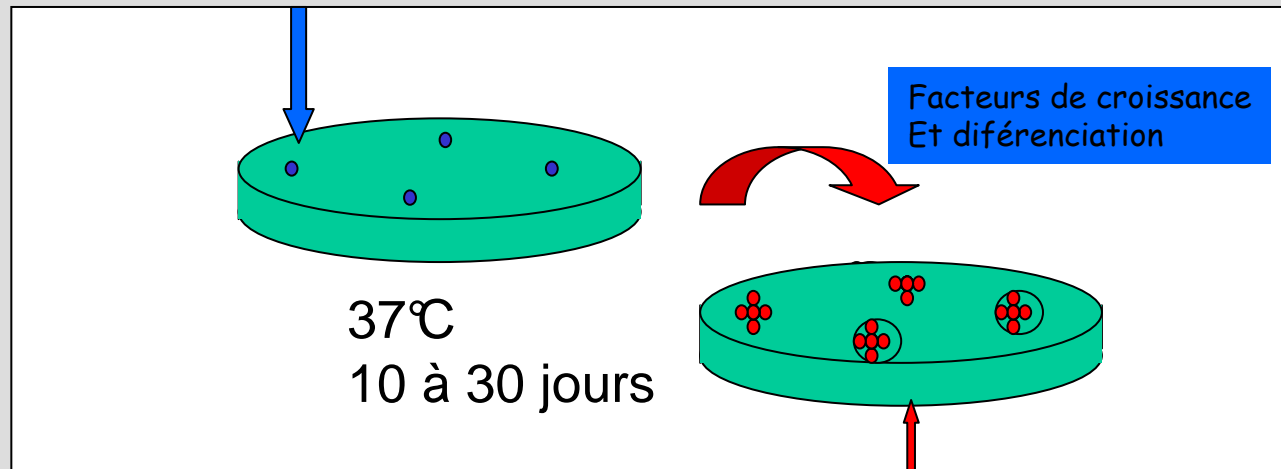
Cellules dans un flask avec du milieu



## • Prolifération des cellules en milieu semi-solide

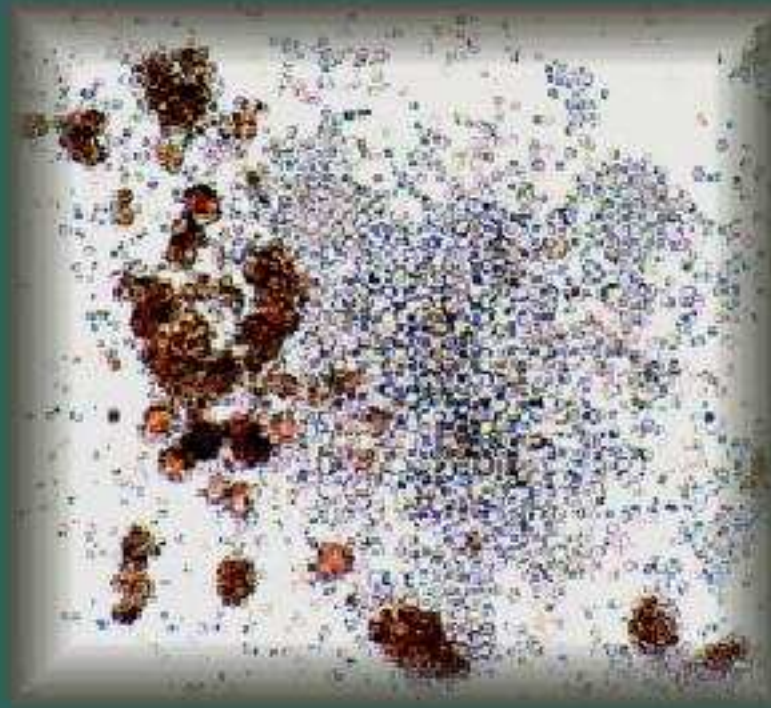
Culture

Une cellule mère déposée



Multiplication de la cellule  
Les cellules filles sont regroupées  
En colonies immobilisées dans le  
Milieu semi-solide

Une seule cellule a donné naissance à toutes les cellules de la colonie

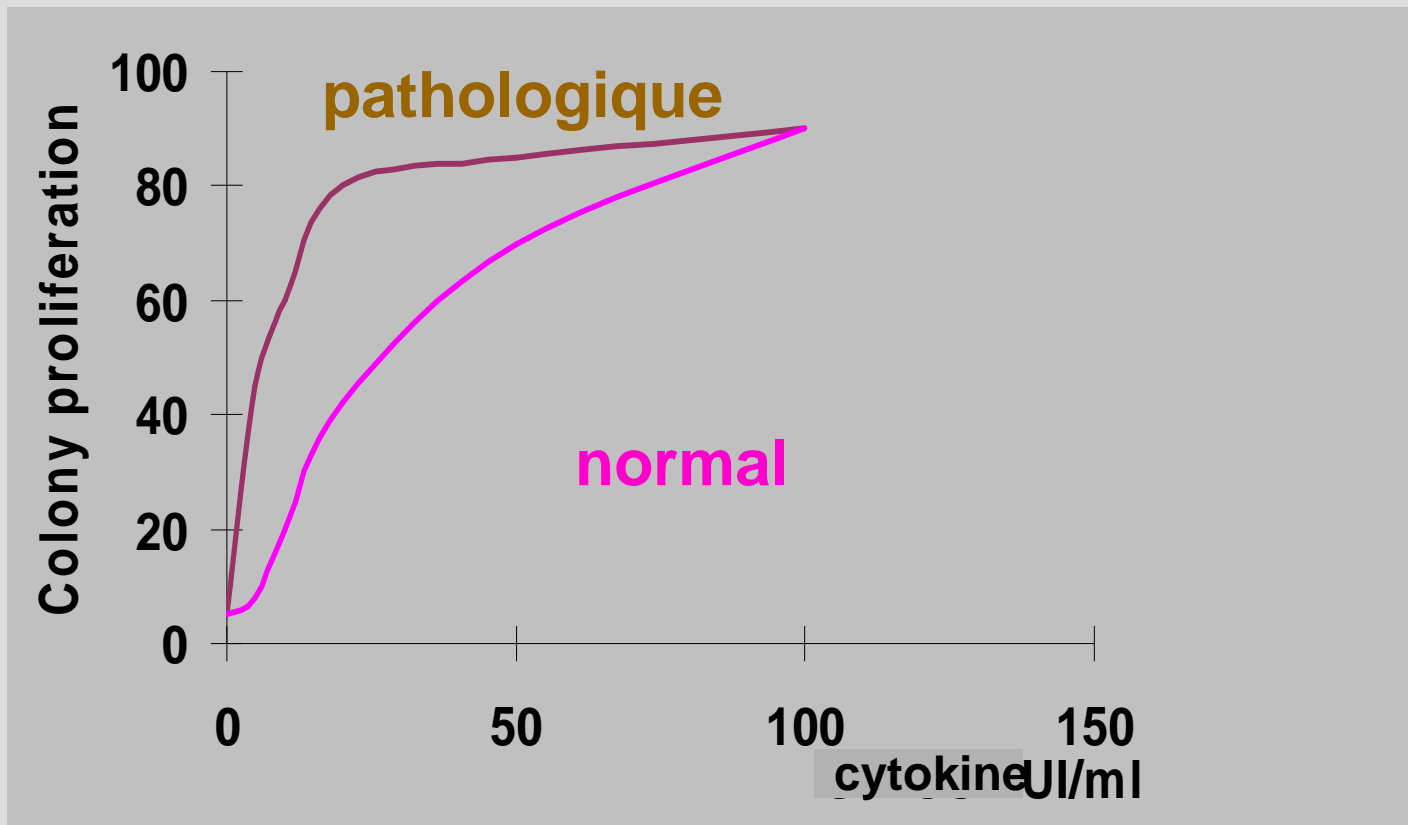


Colonies mixtes





# Hypersensibilité à une cytokine



## C. Moyens d'étude de la survie ou mort cellulaire

Durée de vie d'une cellule dans l'organisme

- marquage isotopique autologue
- étude de la décroissance de la radioactivité sanguine (= décroissance de la population étudiée)

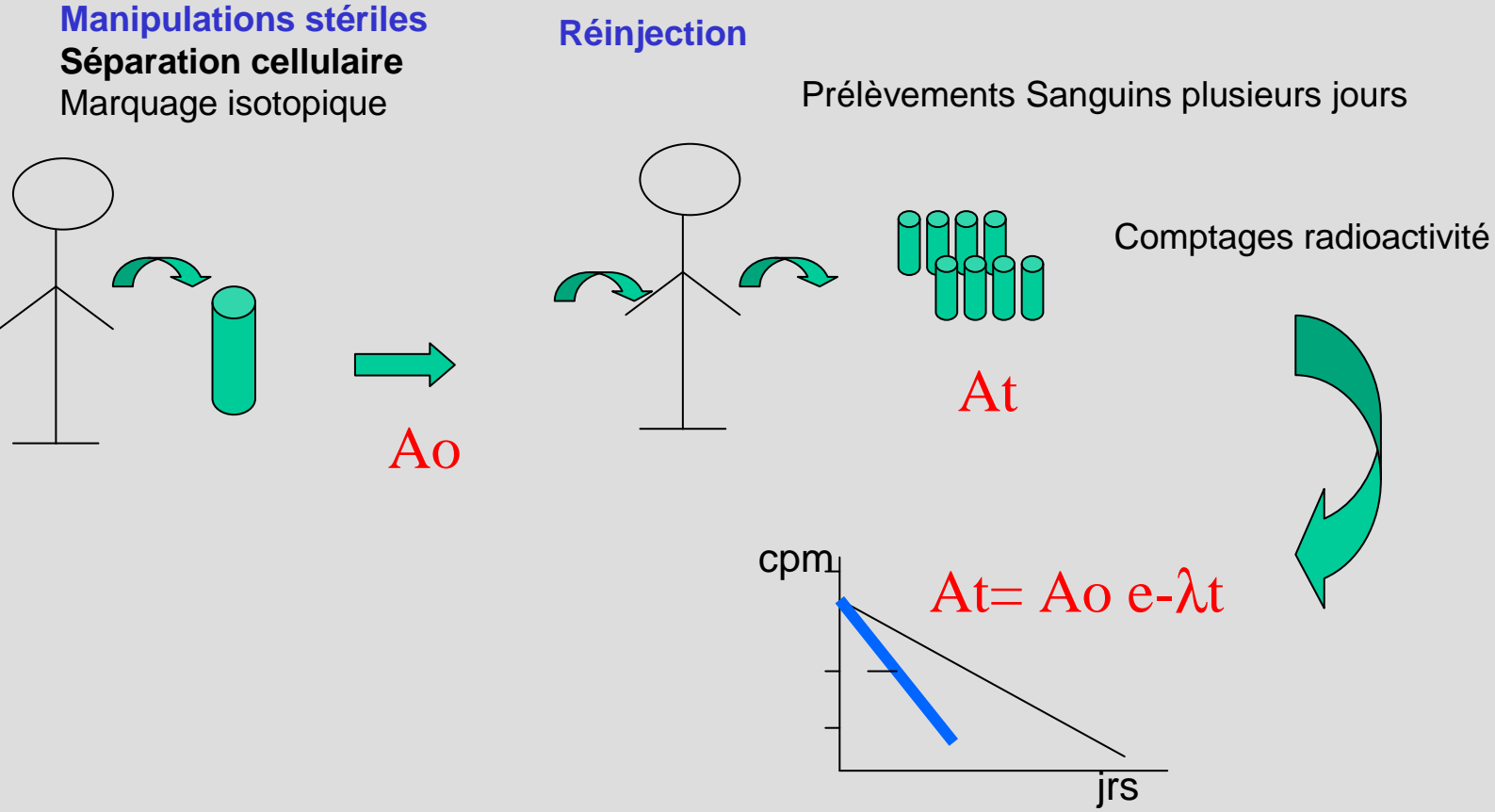
Apoptose:

- cytologie (corps apoptotiques)
- marquage: annexine V
- fragmentation ADN

Nécrose

- Incorporation de bleu Trypan
- Incorporation d'iodure de propidium

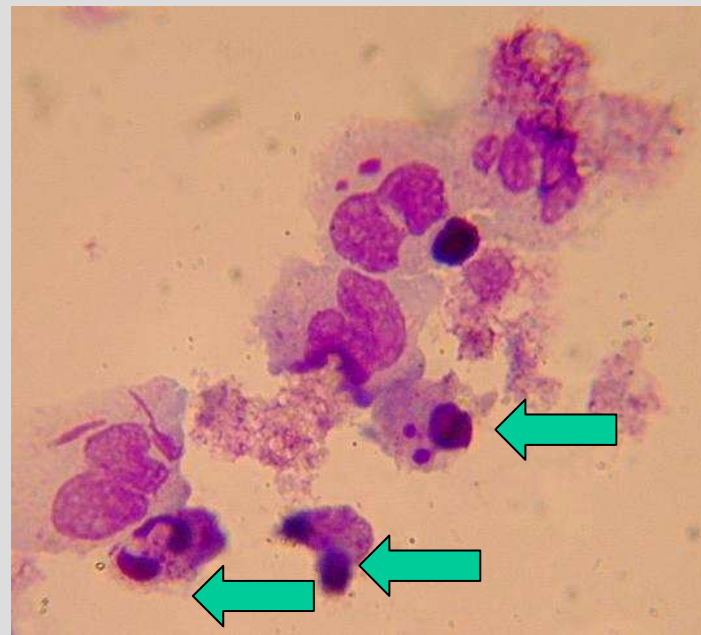
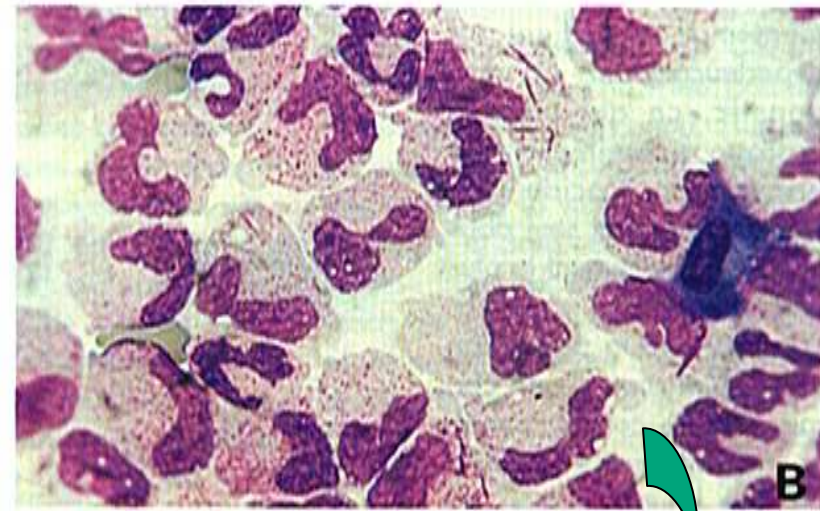
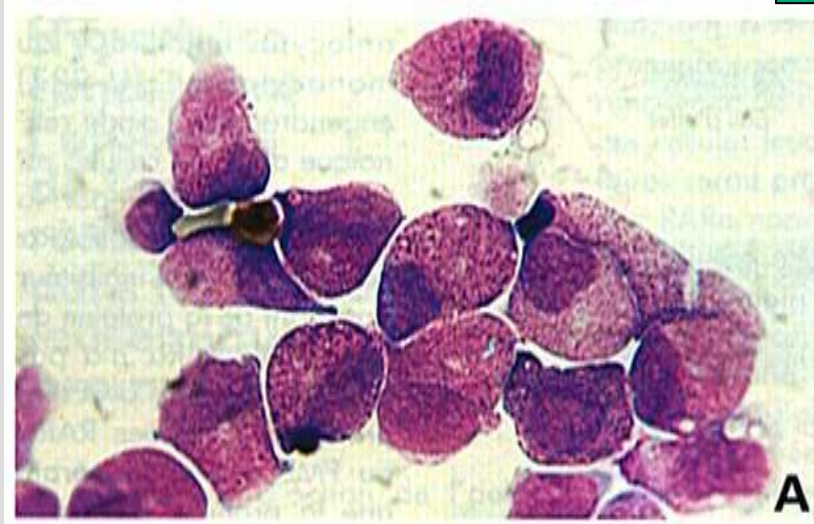
# Durée de vie: des globules rouges et des plaquettes



Décroissance de la radioactivité  
Calcul de la durée de vie

Cellules immatures

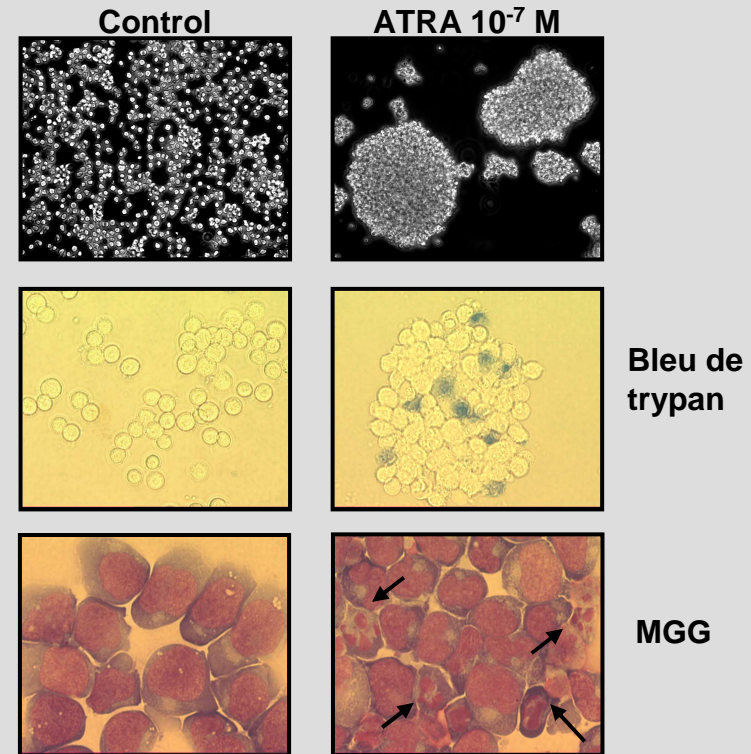
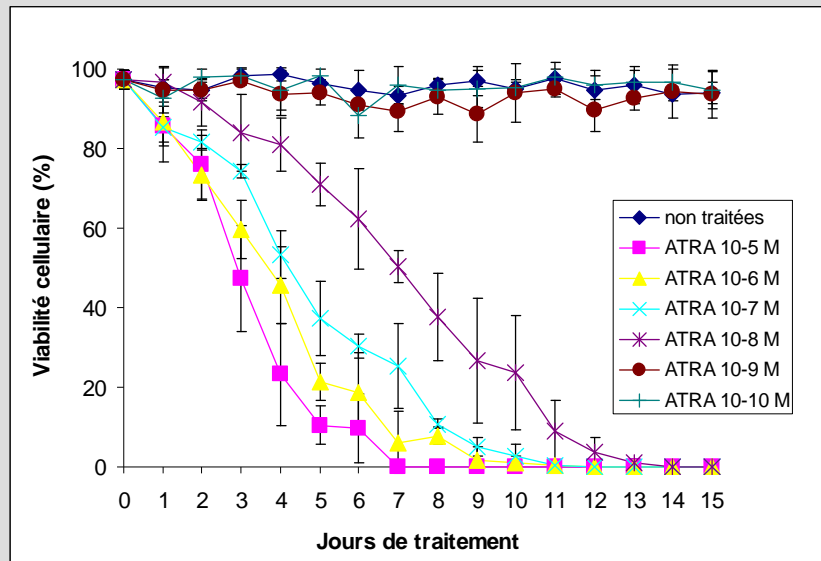
Cellules différenciées



Apoptose

P2Biolcell 2007

# Effets de l'ATRA sur la lignée EoL-1

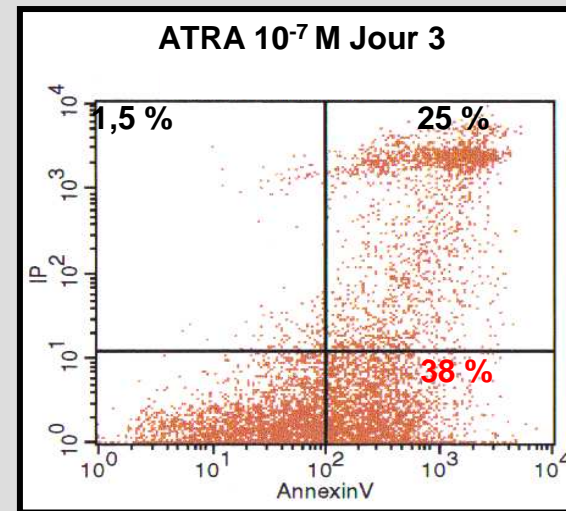
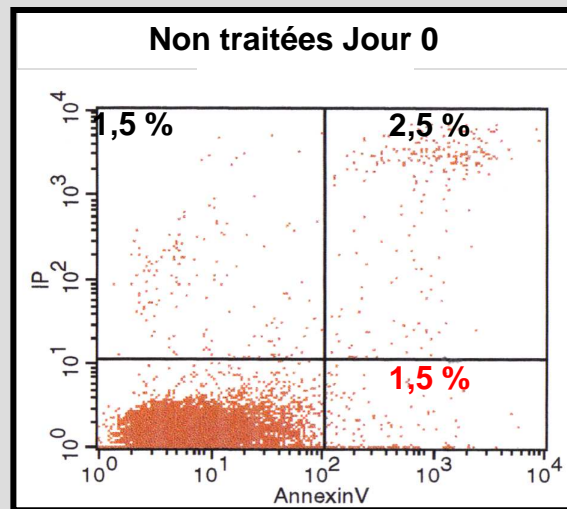


# L'APOPTOSE DES CELLULES

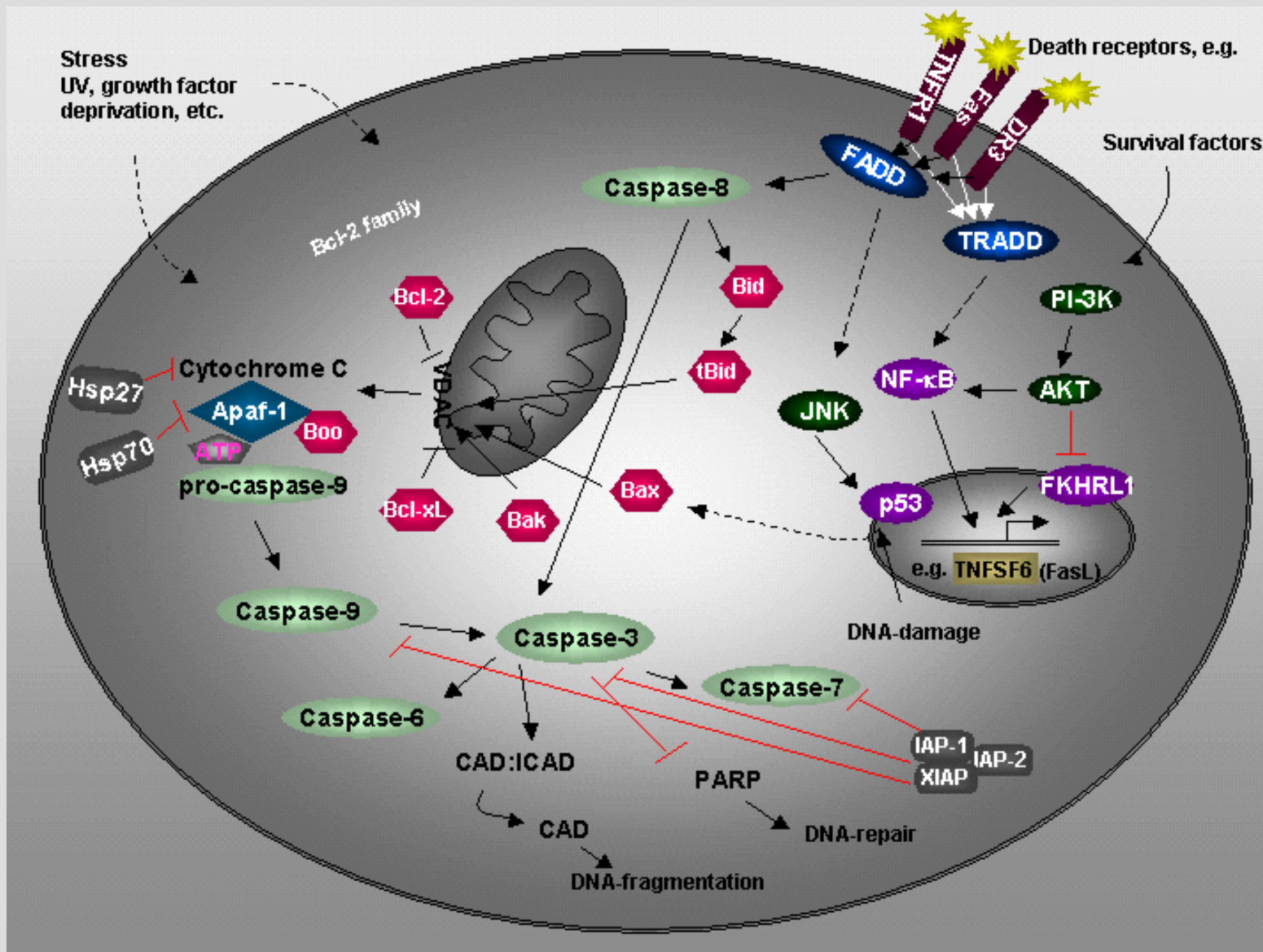
Externalisation des phosphatidyl serines: annexine V positif  
Incorporation de l'iodure de propidium

Nécrose: IP+  
Apoptose: IP- Annexine +

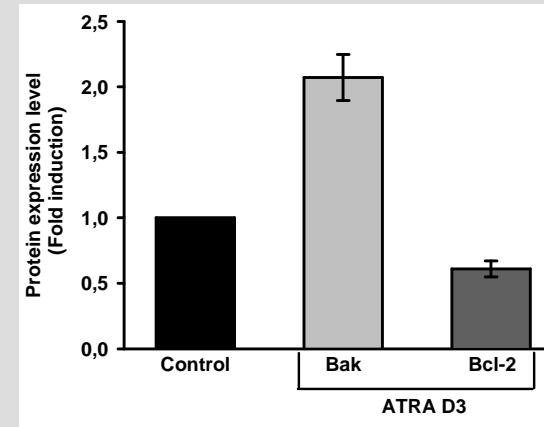
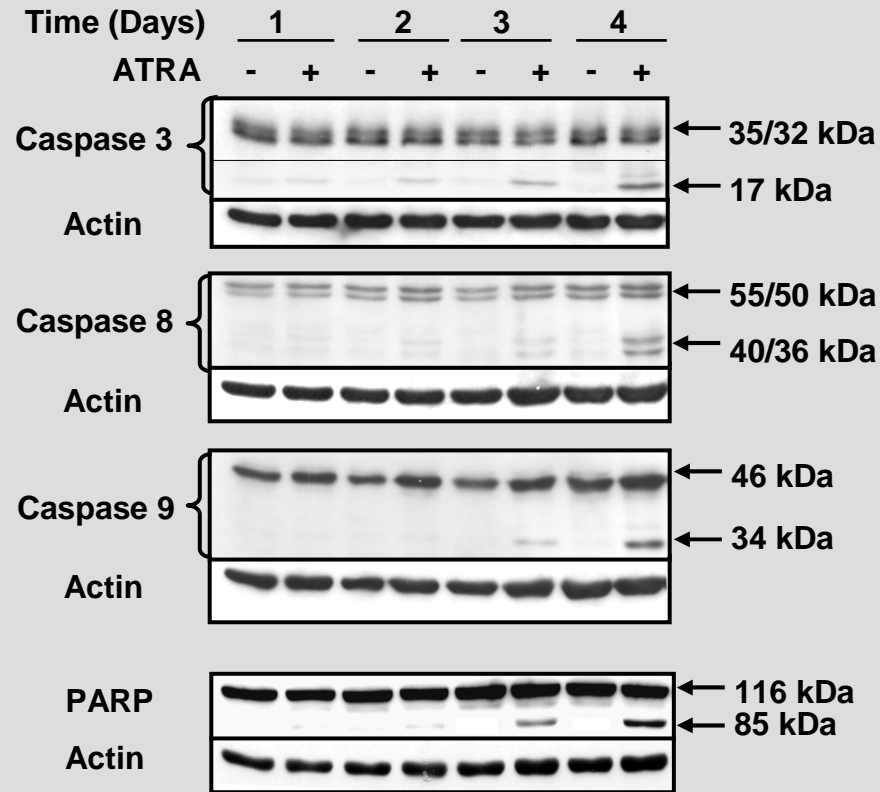
IP ↑



Annexine V P2Biolcell 2007



# Voies de l'apoptose



➤ **L'ATRA induit l'activation de la voie intrinsèque de l'apoptose**

