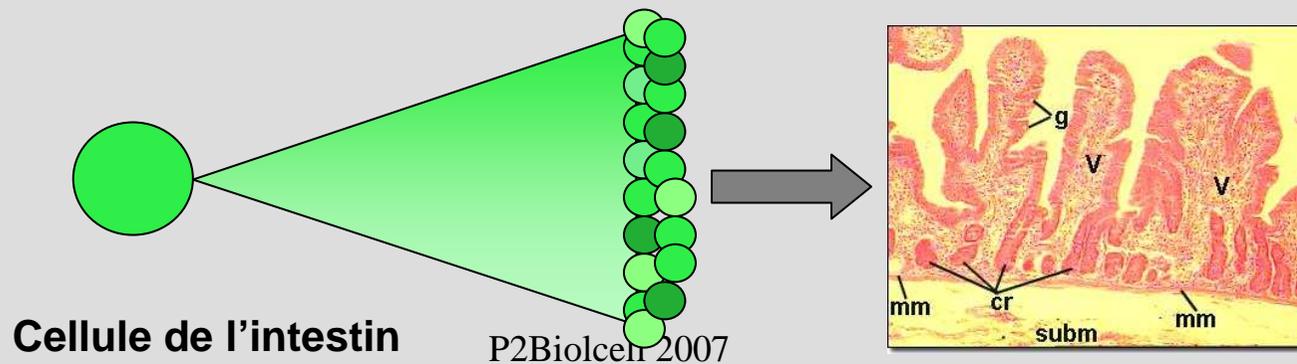
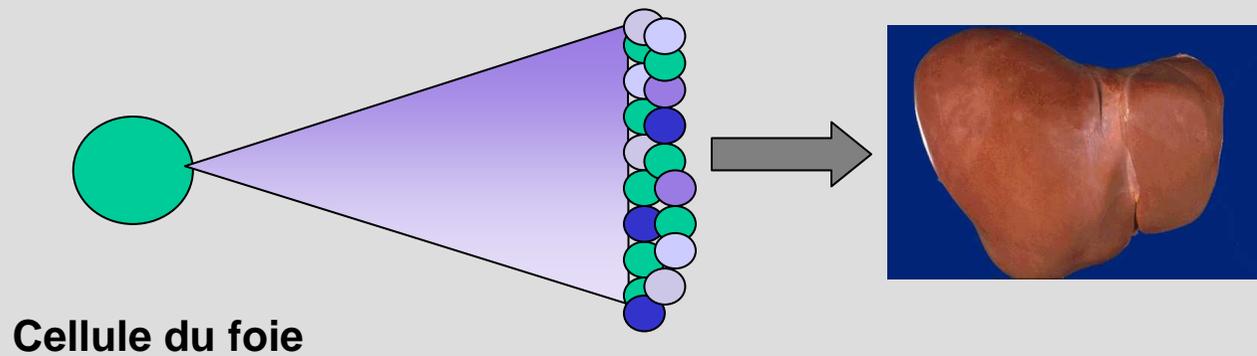
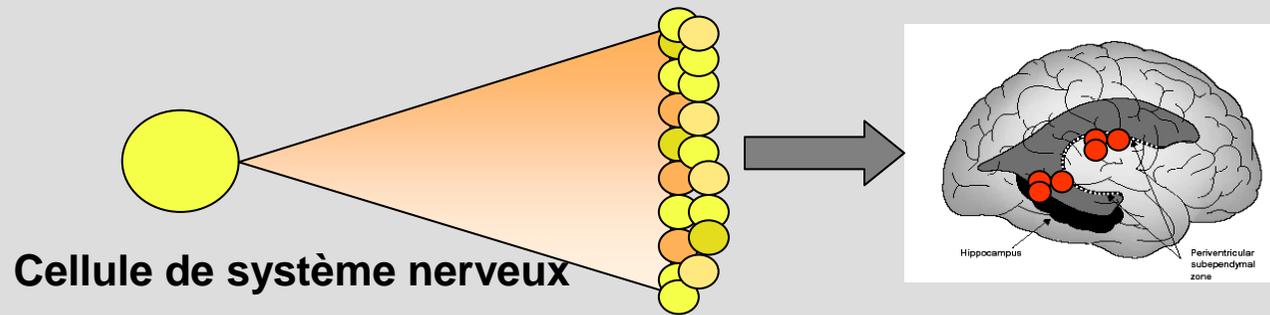


Prolifération - Différenciation - survie cellulaire



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

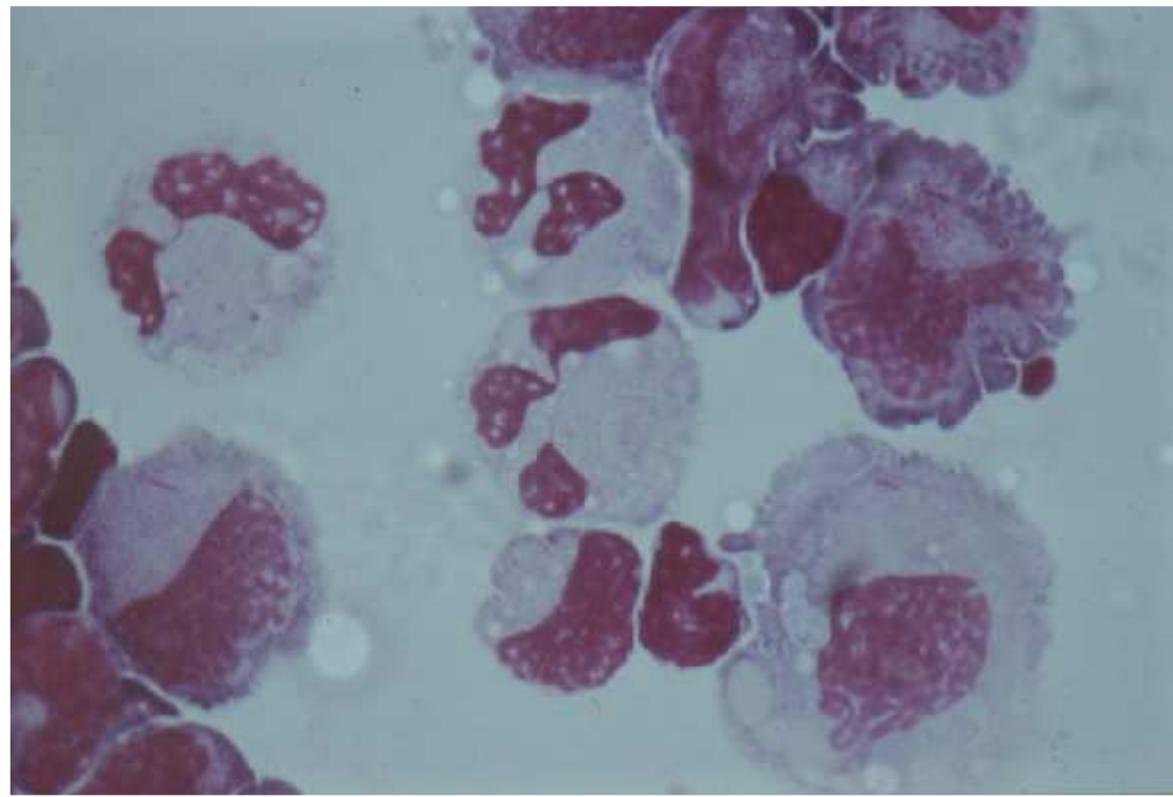
Survie = maintien des cellules différenciées

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

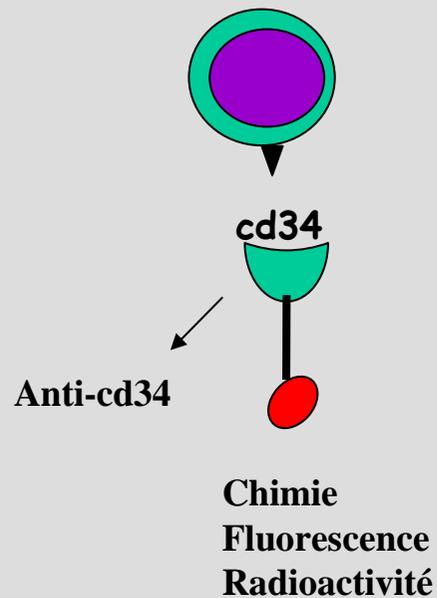
Mise en évidence de la protéine via la fixation d'un anticorps spécifique de la protéine : immunomarquage

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

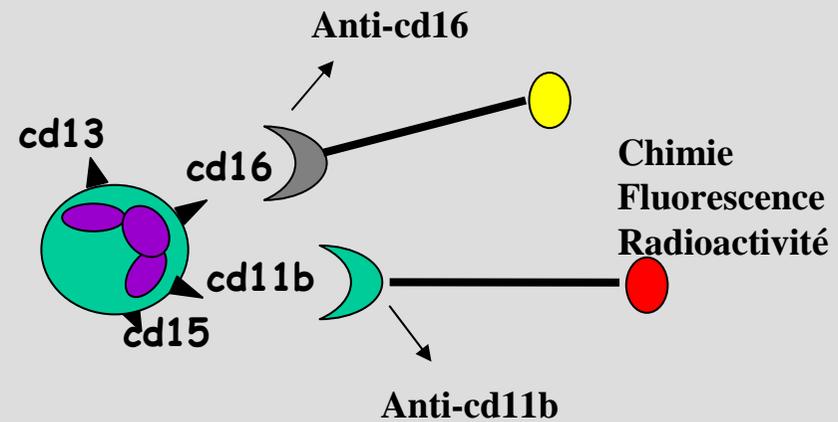
Immuno-marquage

Protéine appartient à un cd=cluster différenciation

Cellules immatures



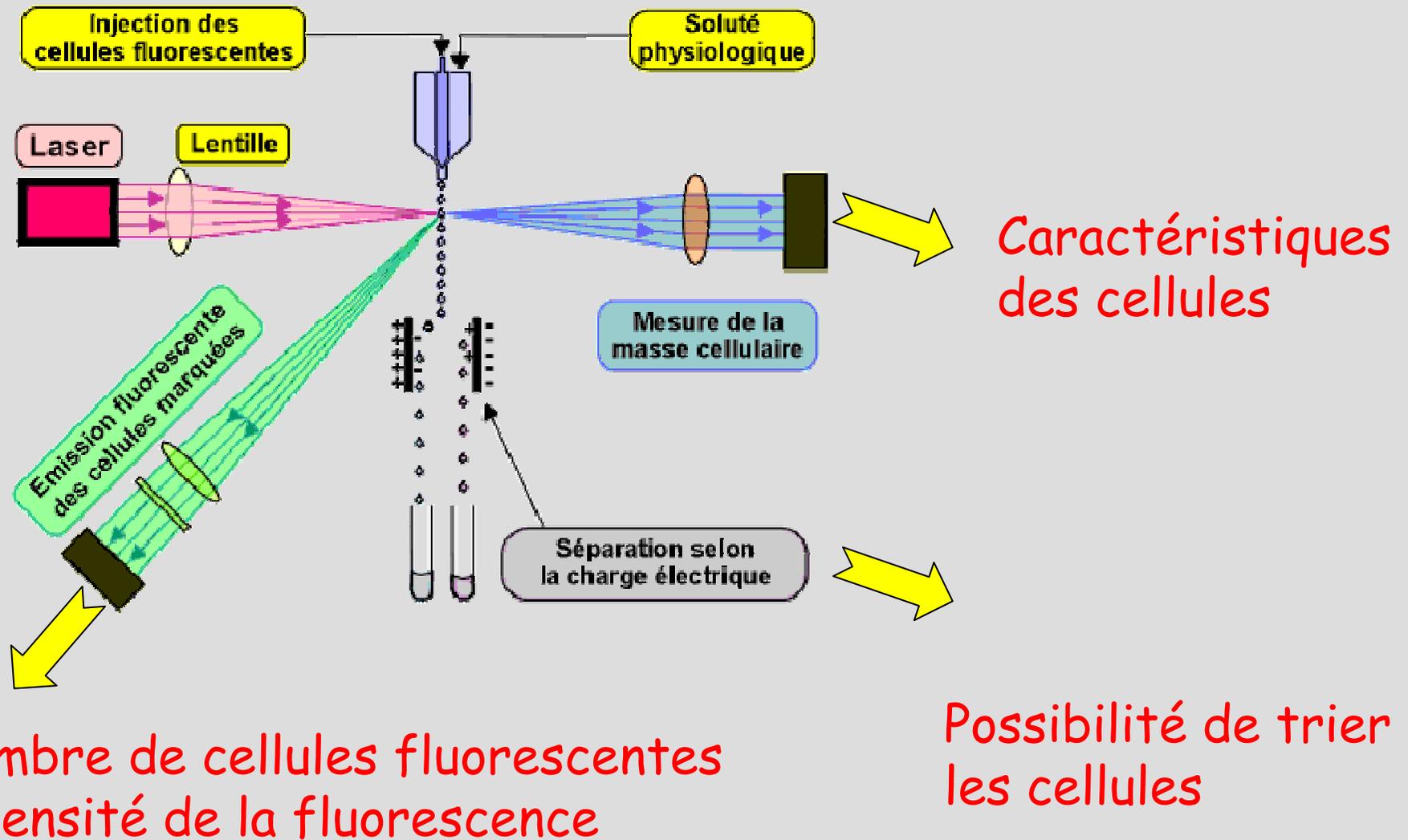
Cellules différenciées



A.2

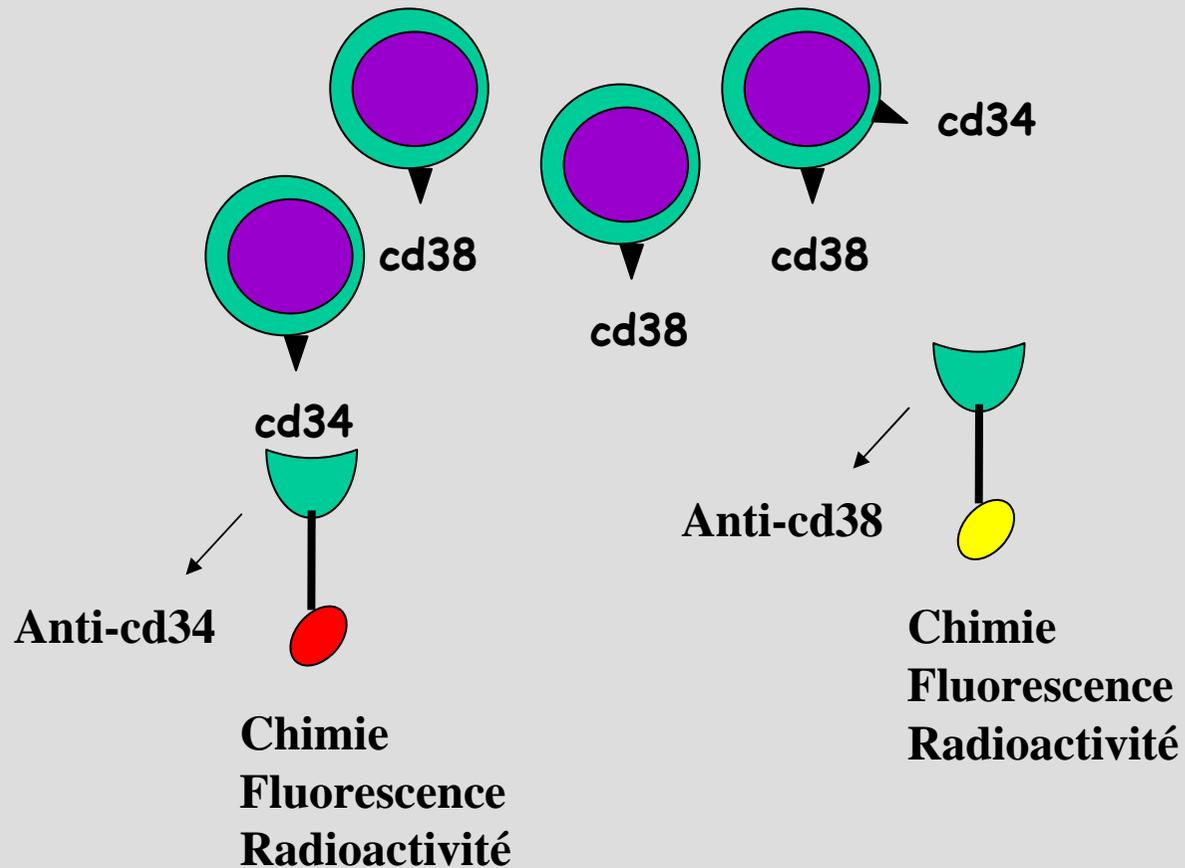
- Détection par marquage « fluorescent »
 - Immuno fluorescence
 - Microscopie à fluorescence
 - Cytométrie de flux
- Détection par marquage isotopique:
autoradiographie, radio immuno assay
- Détection par marquage « chimique »
 - Biotinylation

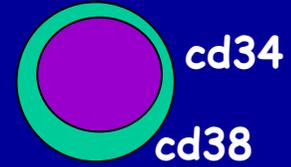
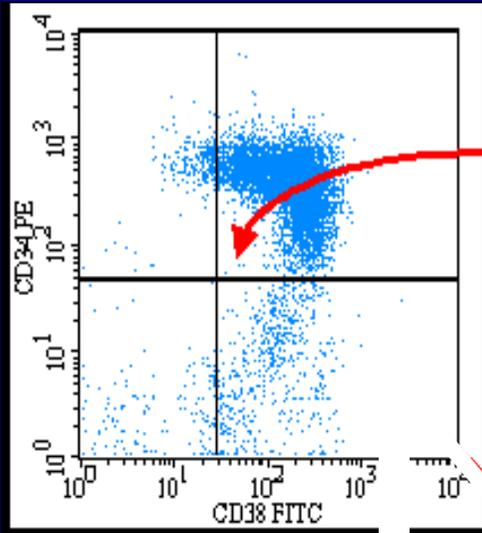
Détection de la fluorescence par Cytométrie de flux



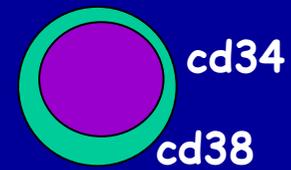
A.2

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



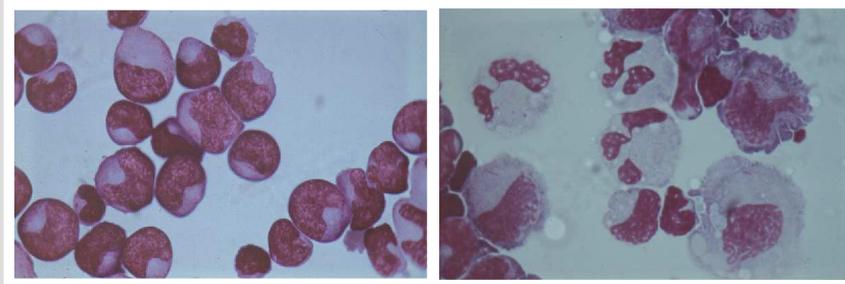


| | |
|----------------|----------------|
| CD34+ CD38- | CD34+ CD38+ |
| | CD34- CD38+ |

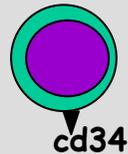


A.2

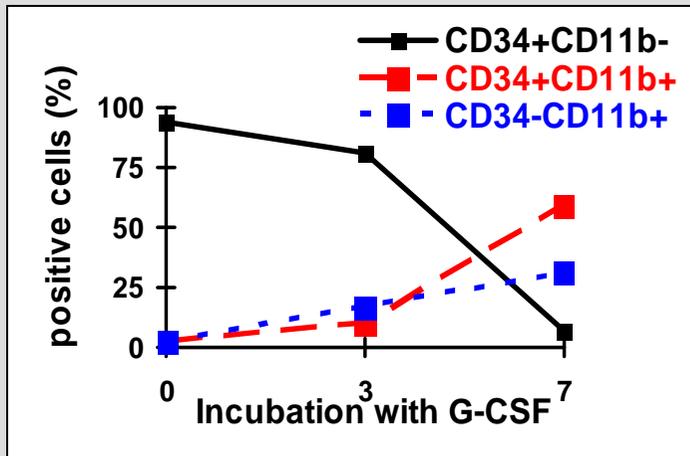
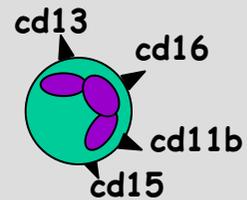
Différenciation induite par le G-CSF



control



G CSF

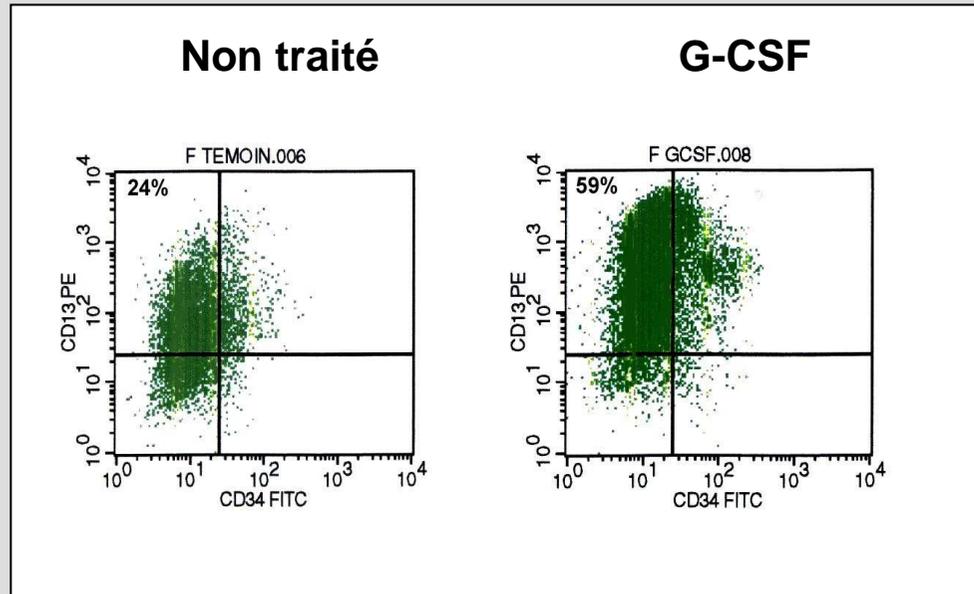


Diminution des cellules immatures
Augmentation des cellules qui se différencient
et des cellules différenciées

A.2

Effet différenciant du G-CSF

Anti-CD13



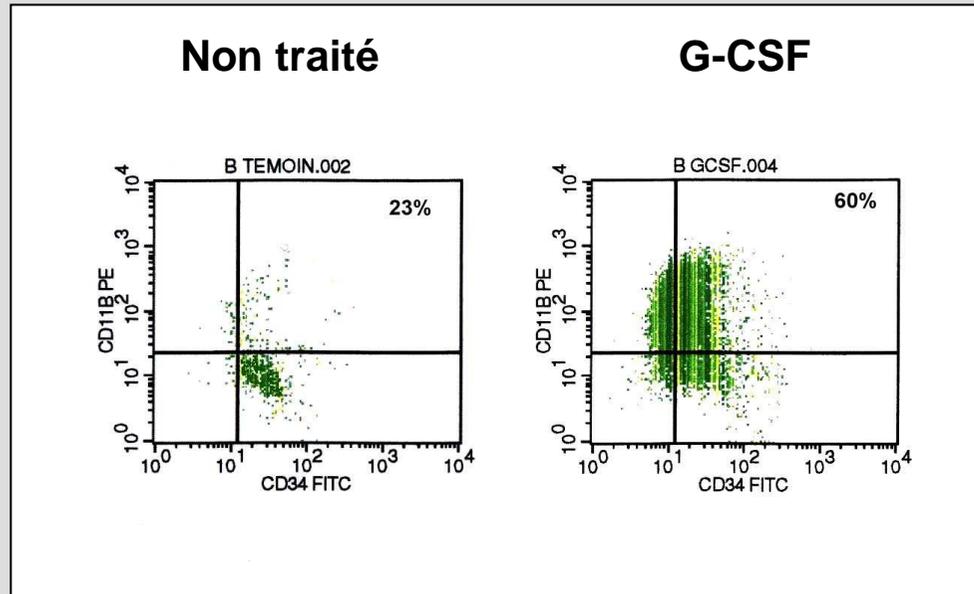
Anti-CD34

Augmentation de la population
CD34⁺CD13⁺ et CD13⁺ CD34⁻

A.2

Effet différenciant du G-CSF

Anti-CD11b

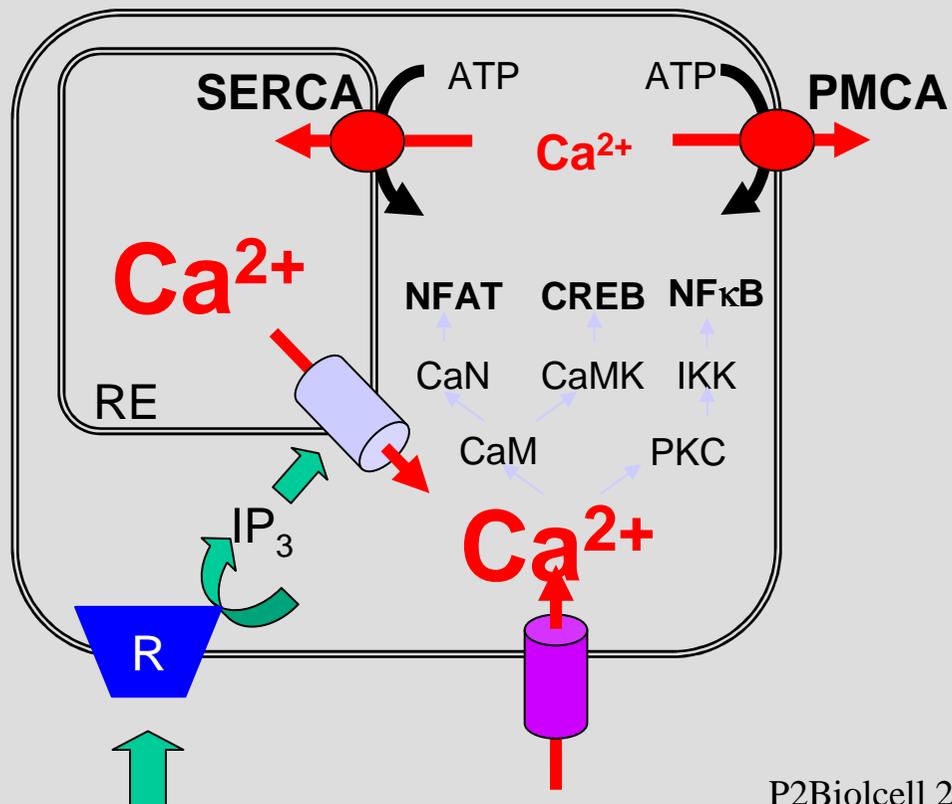


Anti-CD34

Augmentation de la population
CD34+CD11b

A.2 Expression de protéines intra-cellulaires

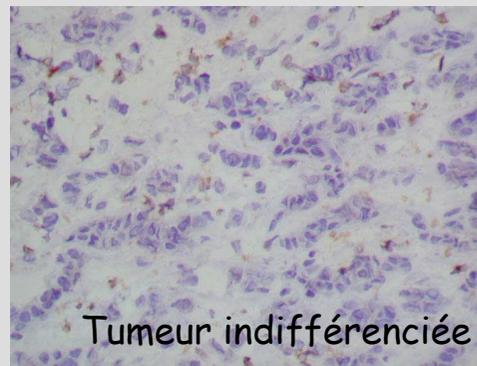
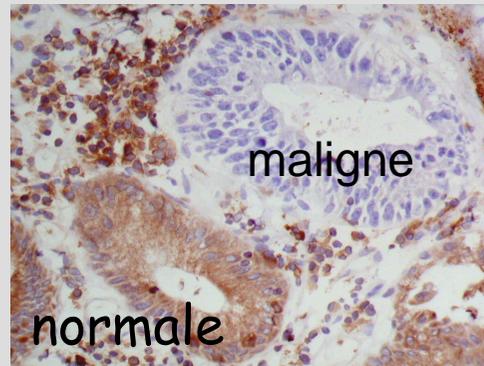
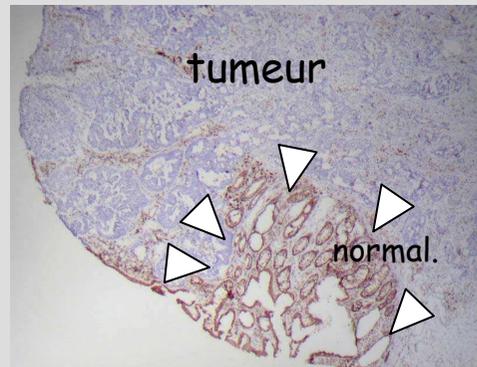
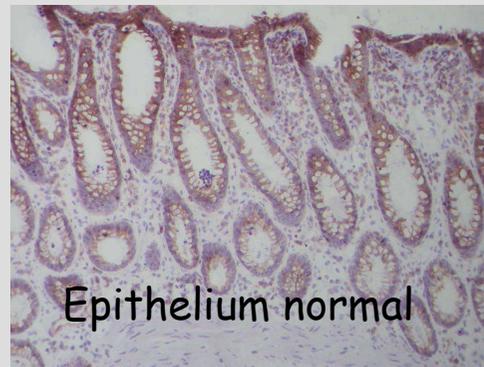
Expression des pompes calciques SERCA
au cours de la différenciation



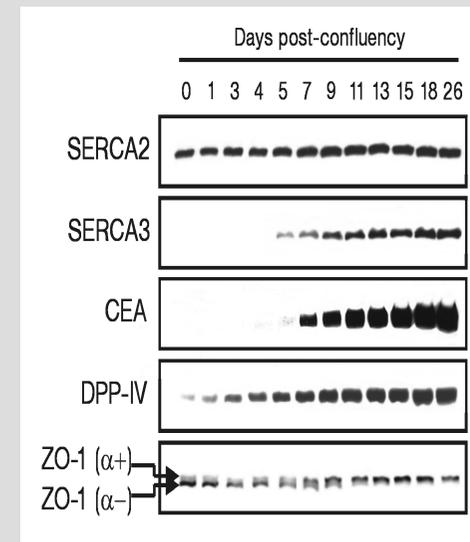
A.2

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)

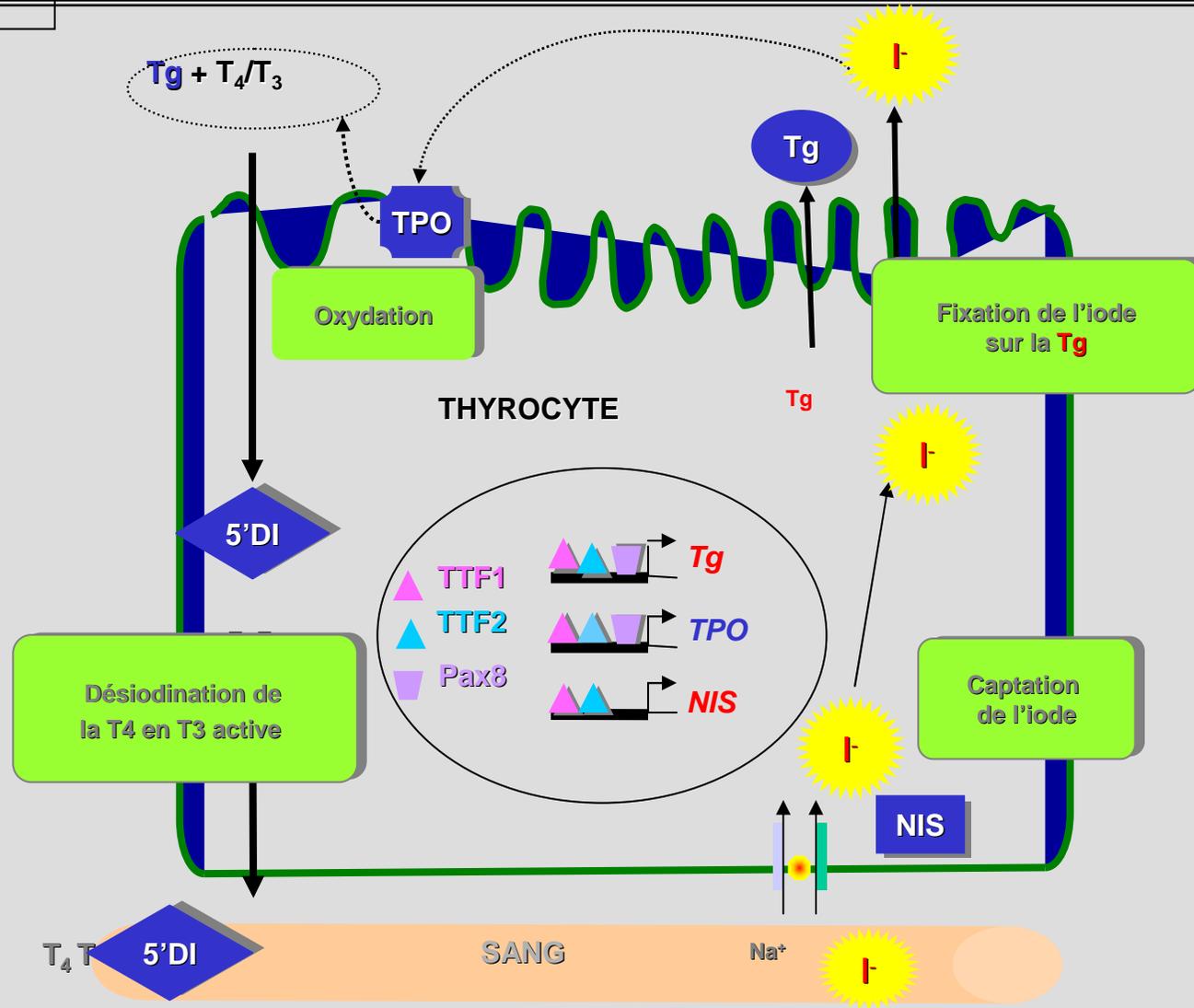
A.3

Exemple

Différenciation de la cellule thyroïdienne

A.3

Différenciation de la cellule thyroïdienne



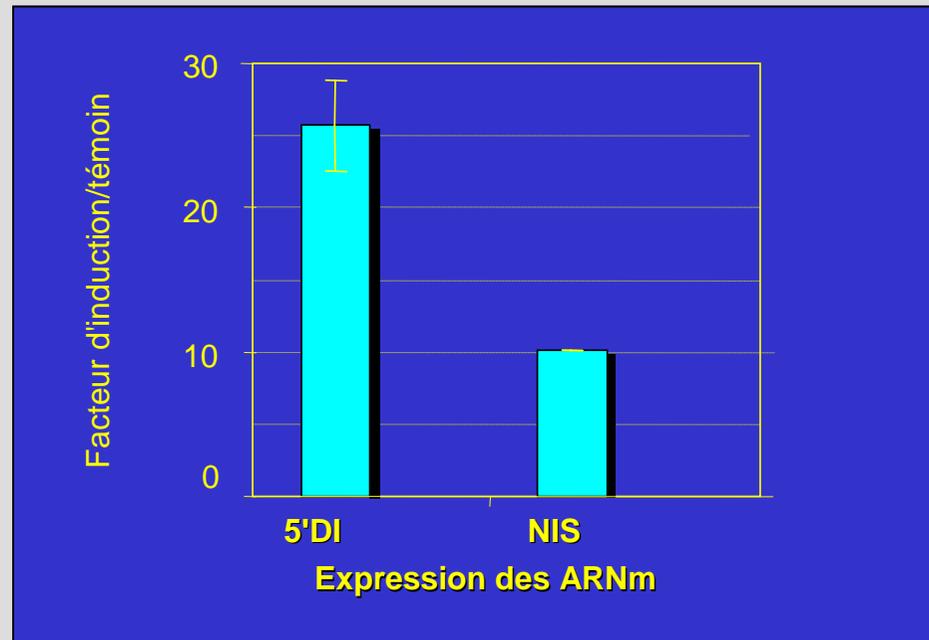
A.3

b

b

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

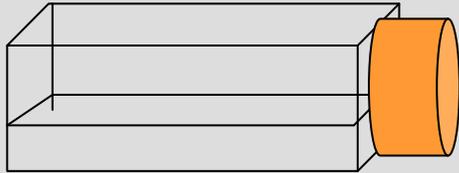
Induction de l'expression des marqueurs de différenciation par l'acide rétinoïque



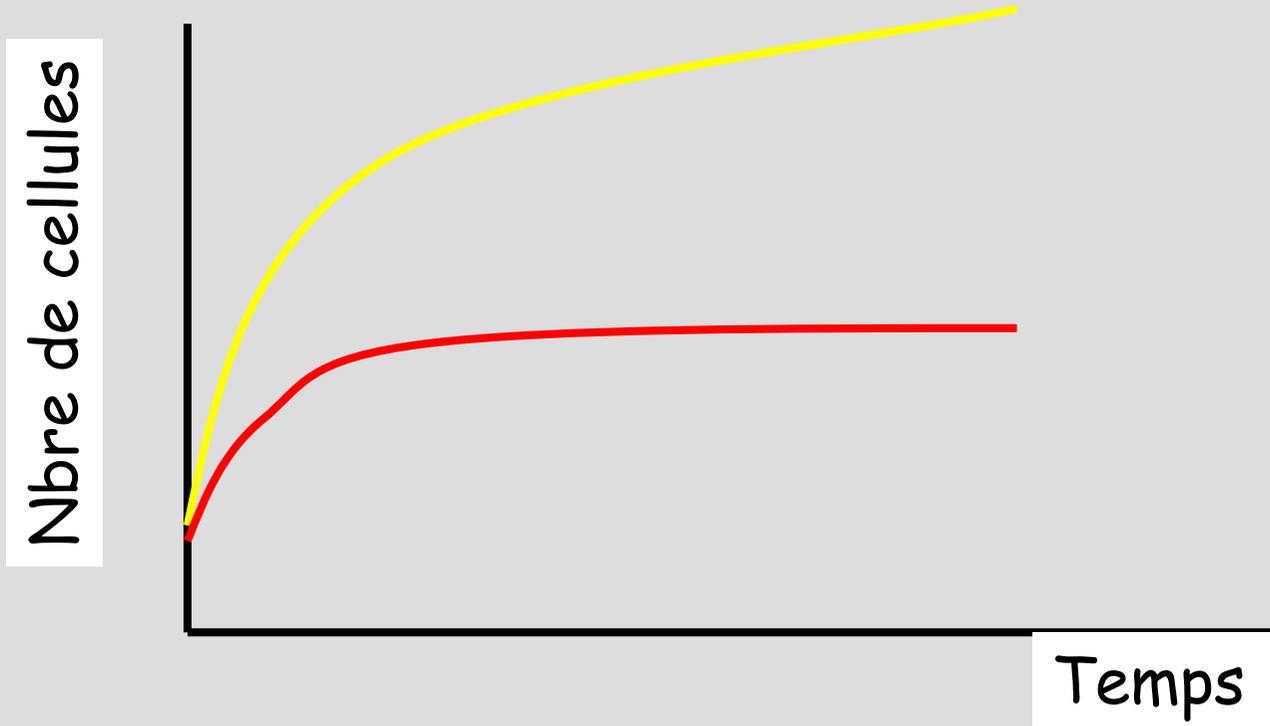
B. Moyens d'étude de la prolifération

- 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



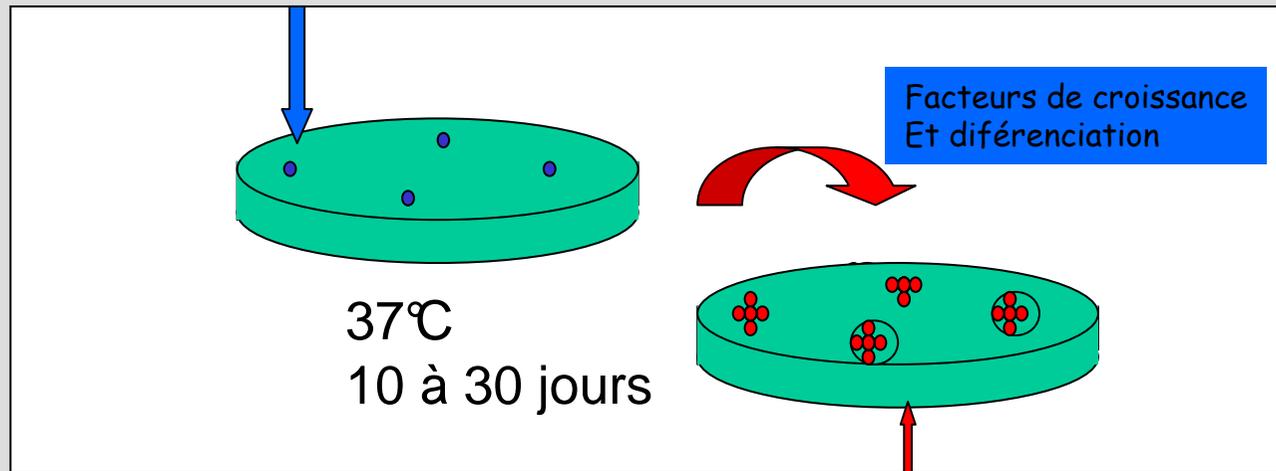
Cellules dans un flask avec du milieu



• Prolifération des cellules en milieu semi-solide

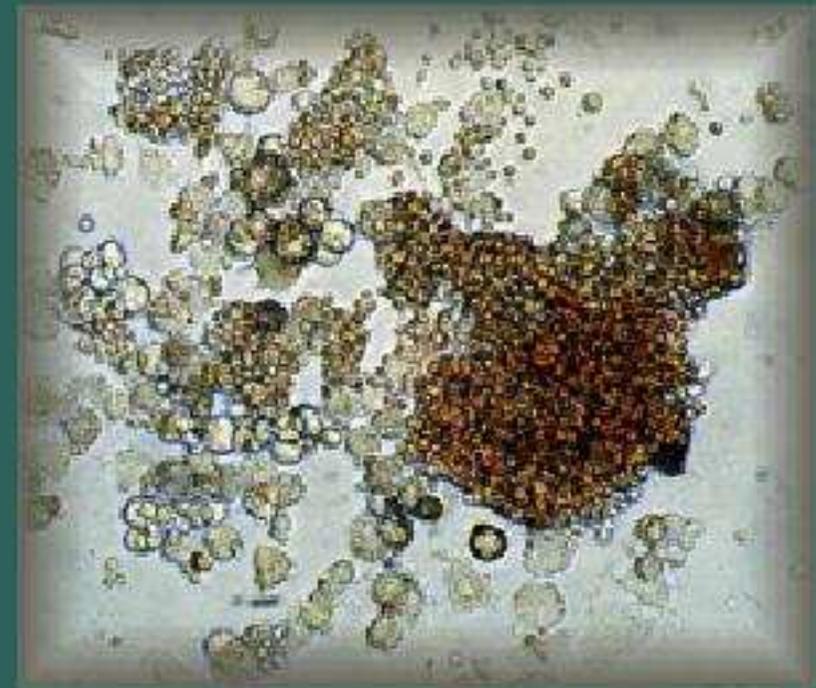
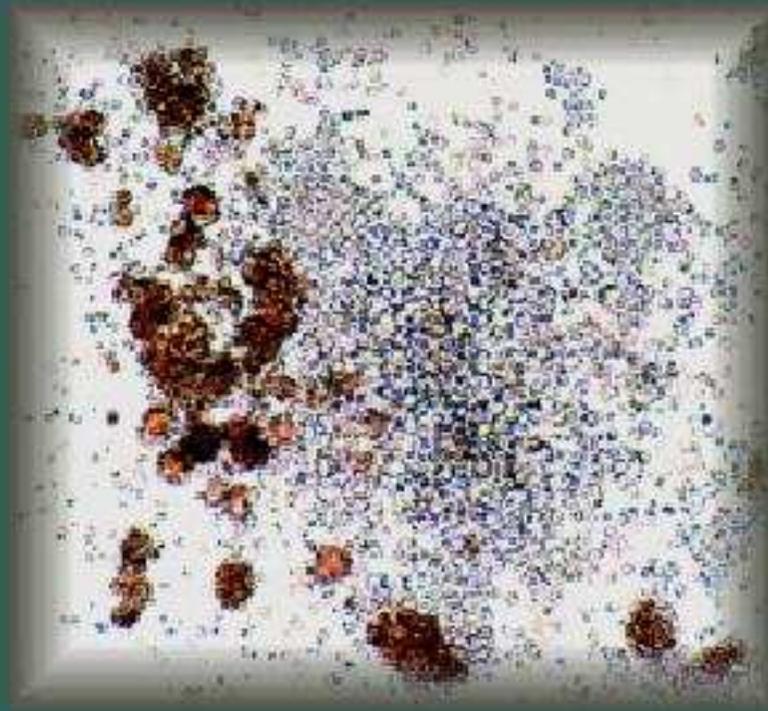
Culture

Une cellule mère déposée



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

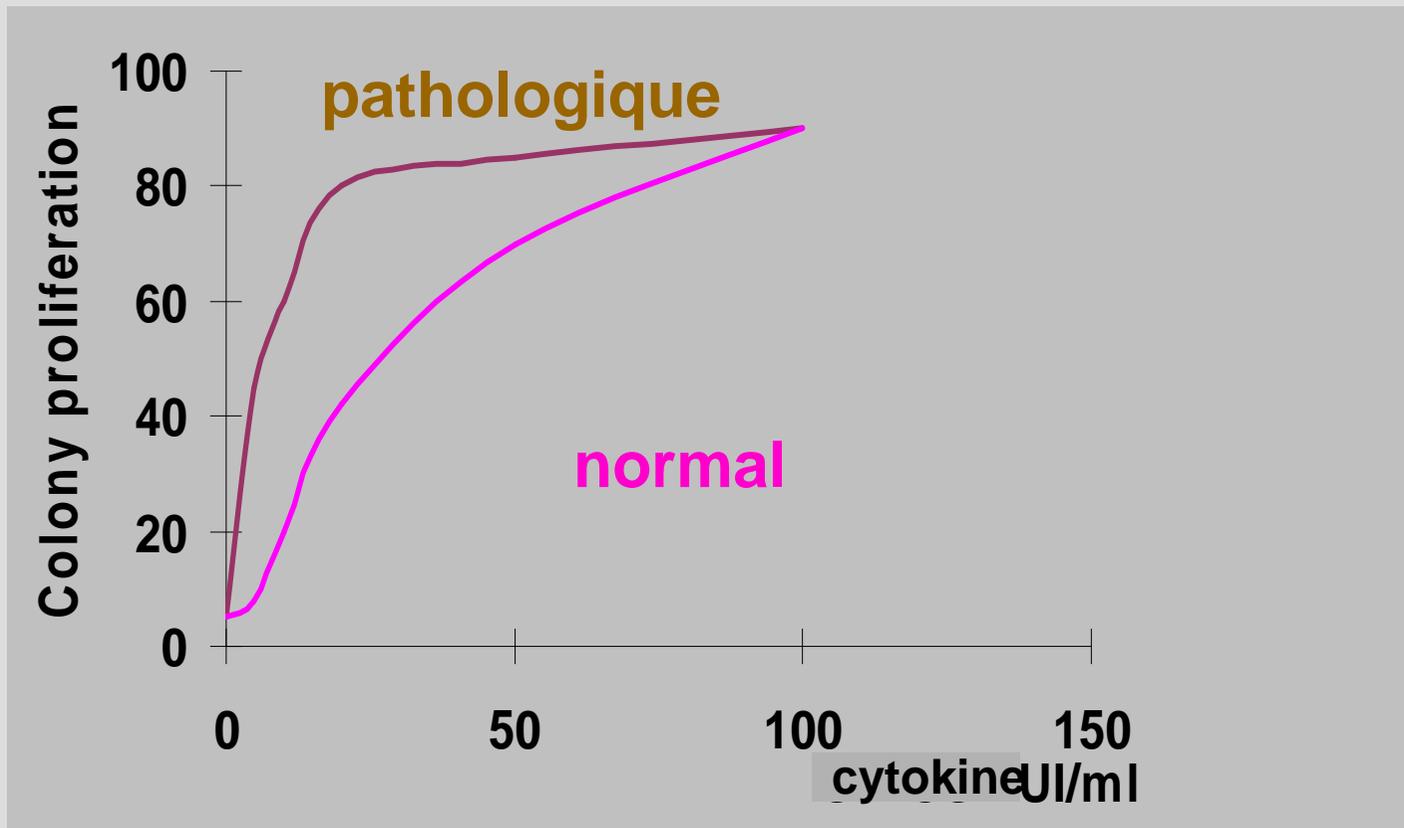
Une seule cellule a donné naissance à toutes les cellules de la colonie



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)

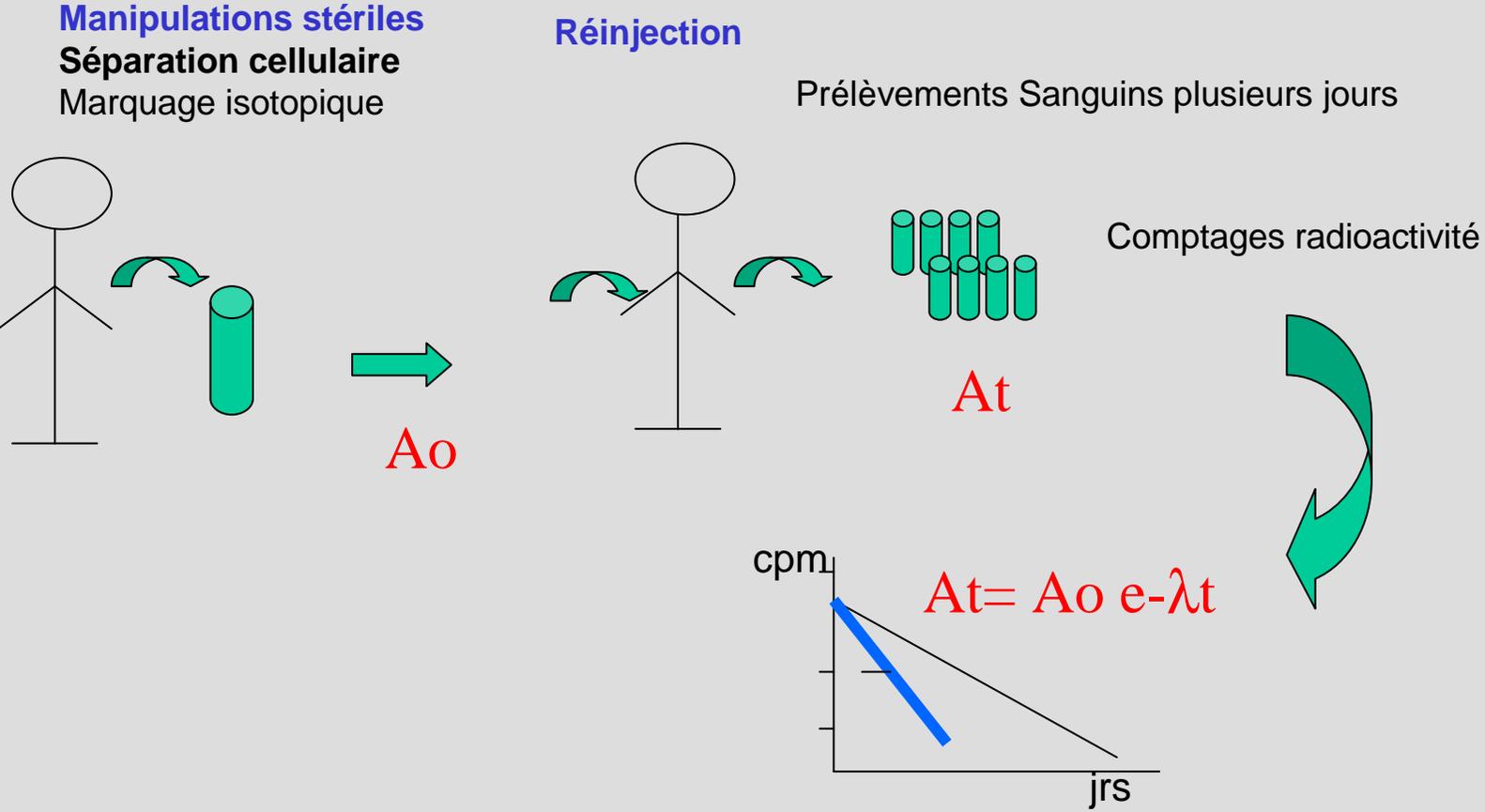
Apoptose:

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

Nécrose

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

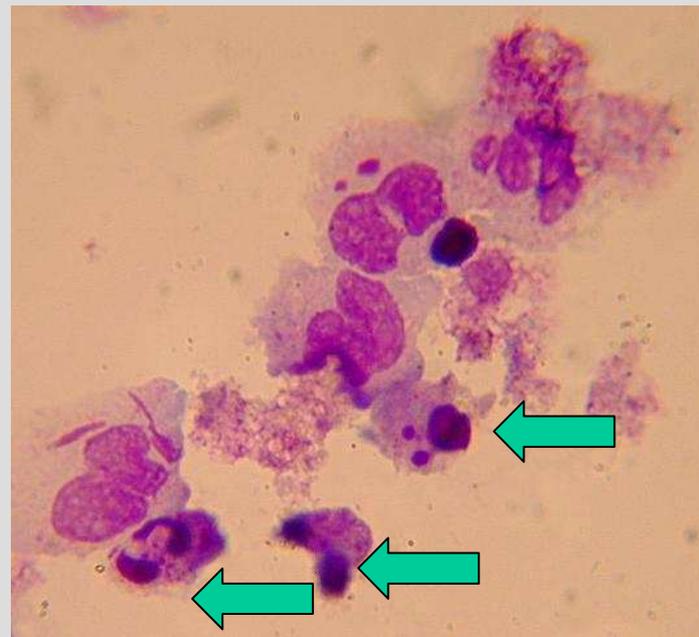
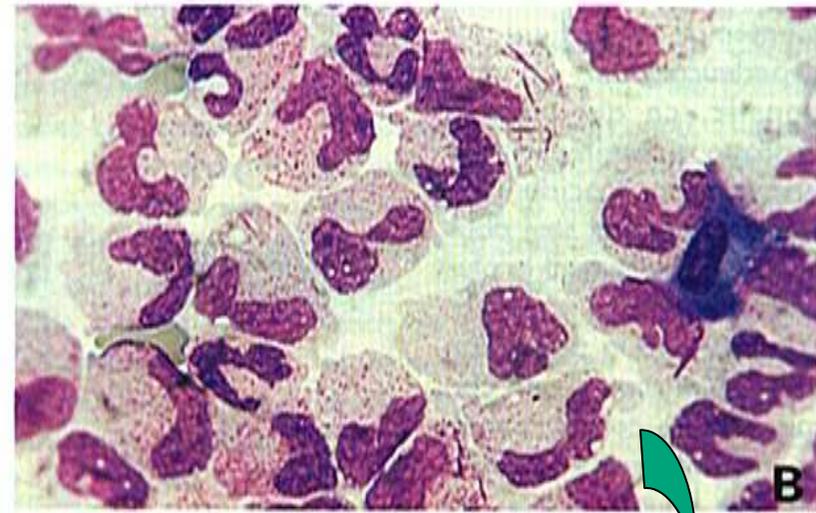
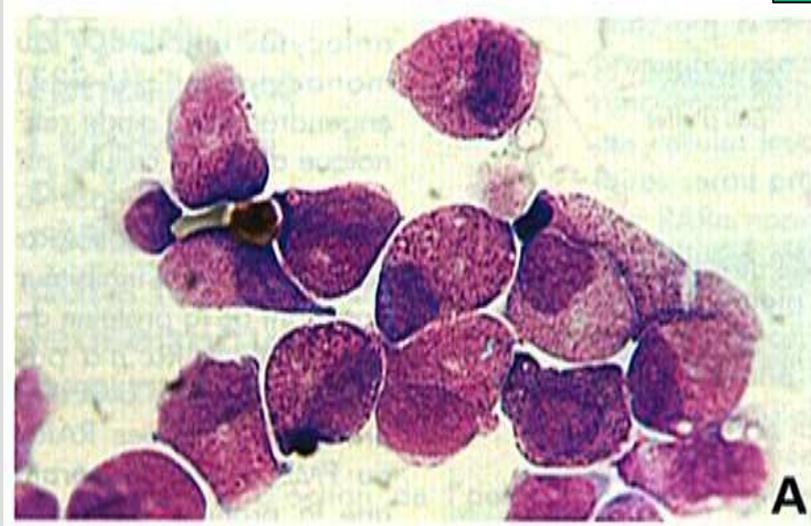
Durée de vie: des globules rouges et des plaquettes



Décroissance de la radioactivité
Calcul de la durée de vie

Cellules immatures

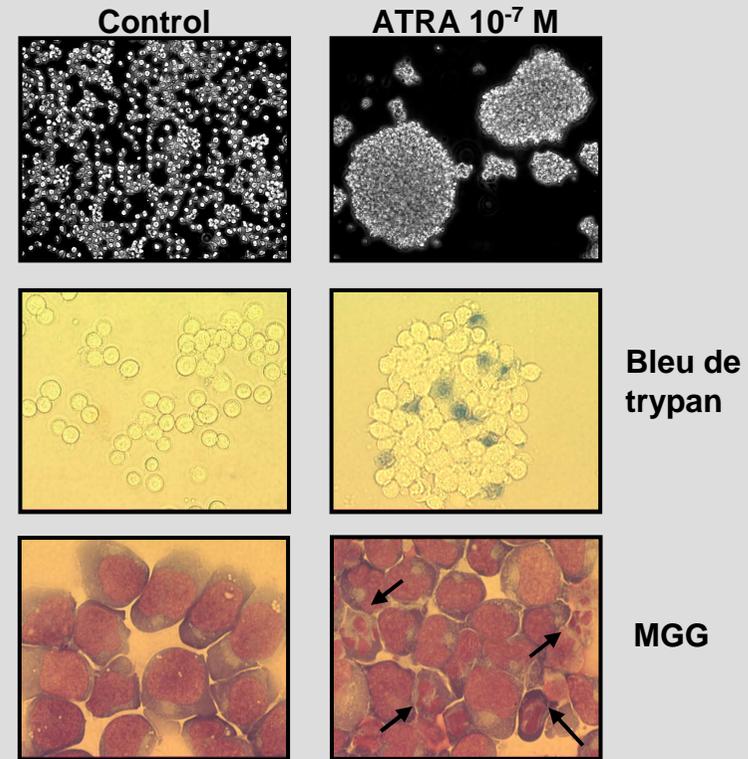
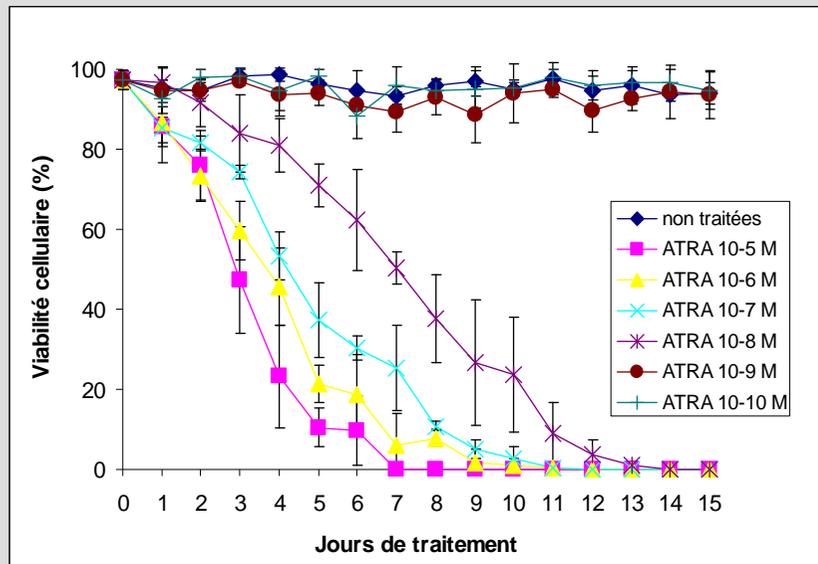
Cellules différenciées



Apoptose

P2Biolcell 2007

Effets de l'ATRA sur la lignée EoL-1

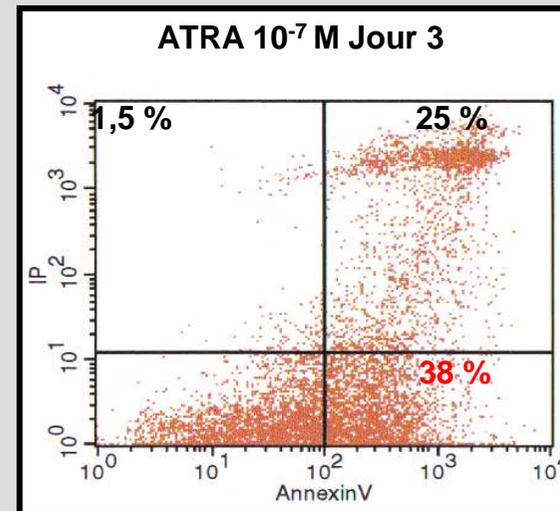
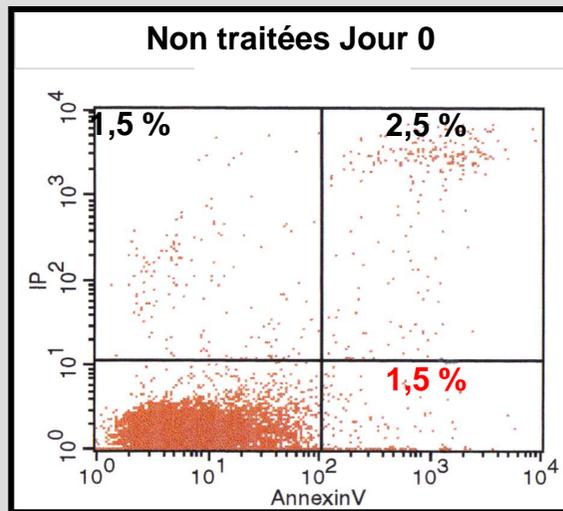


L'APOPTOSE DES CELLULES

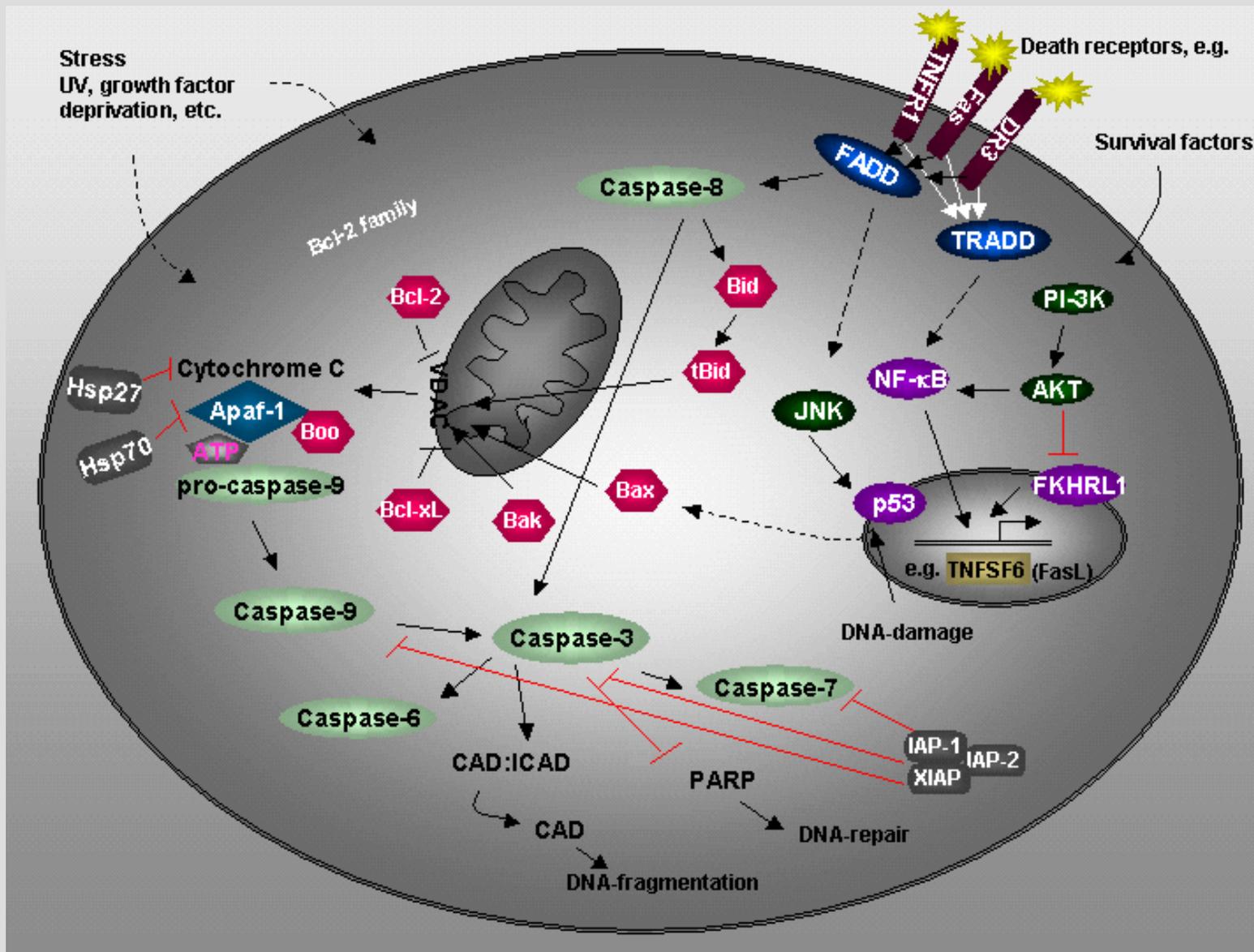
Externalisation des phosphatidyl serines: annexine V positif
Incorporation de l'iodure de propidium

Nécrose: IP+
Apoptose: IP- Annexine +

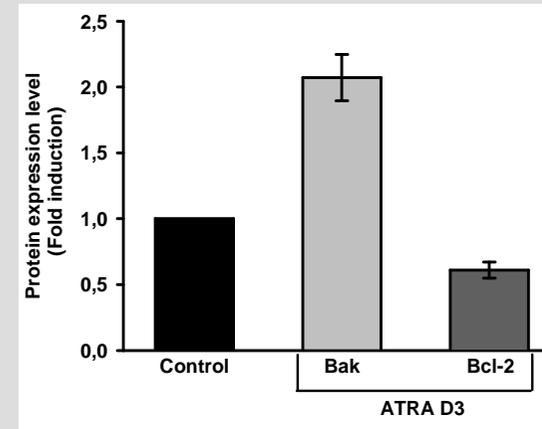
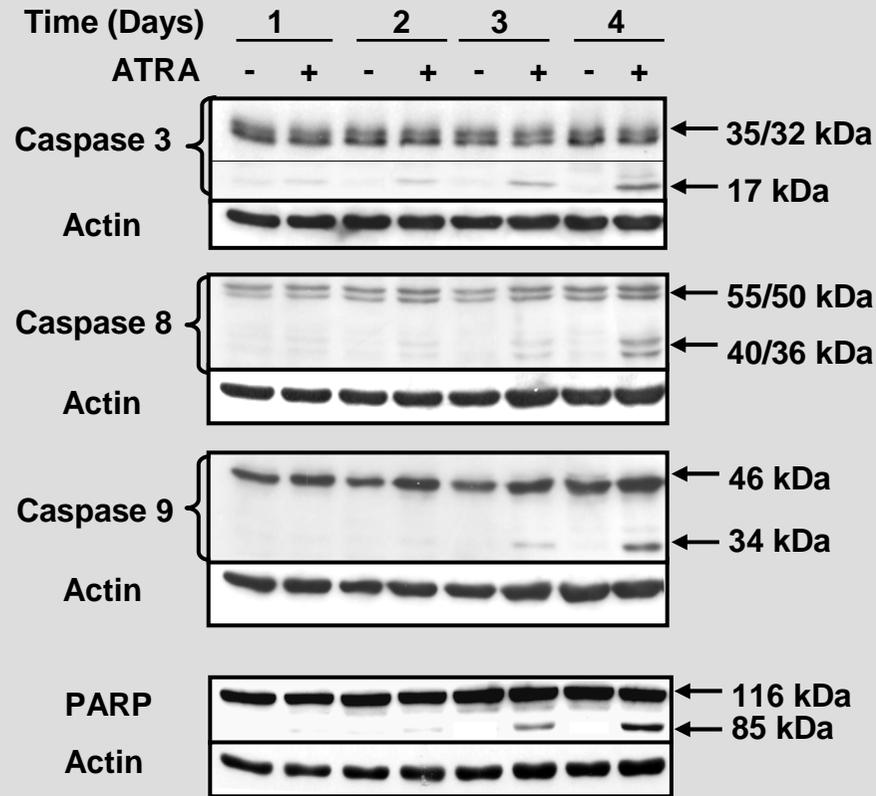
IP ↑



Annexine V P2Biolcell 2007



Voies de l'apoptose



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

