

collection

PCEM

Bases cellulaires et moléculaires du développement

MÉTHODES ET EXERCICES

Christophe CHANOINE



TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	3
AVERTISSEMENT	4
AVANT PROPOS	5

Méthodes et techniques de la biologie du développement

1. Etude de l'expression des gènes : Détecter les transcrits et les protéines au cours de l'ontogenèse – L'outil anticorps	7
1.1. La RT-PCR.....	7
1.2. Les microarrays et les macroarrays	9
1.3. Le transfert Northern (Northern blot).....	10
1.4. L'hybridation <i>in situ</i>	12
1.5. Le transfert Western (Western blot) et l'immunohistochimie.....	15
1.6. L'immunoprécipitation	16
1.7. L'immunoprécipitation de la chromatine.....	18
2. Etude de la fonction des gènes au cours du développement : Les techniques de perte et de gain de fonction	19
2.1. Les souris transgéniques	19
2.2. L'inactivation génique et les souris « knock-out »	21
2.3. Les stratégies antisens	23
2.4. Les oligomorpholinos	24
2.5. L' interférence ARN.....	24
2.6. La technique de « dominant négatif »	27
3. Les méthodes de l'embryologie moléculaire utilisées chez l'embryon de xénope	31
3.1. Analyse <i>in vitro</i>	32
3.2. Surexpression et expression génique ectopique	32

3.3. Test de la calotte animale (« animal cap assay »)	34
3.4. Ventralisation et dorsalisation expérimentales de l'embryon	35
3.5. Analyse des coupes histologiques	37

Exercices - Enoncés

Exercice 1 : Analyse d'images d'hybridation <i>in situ</i> sur embryon entier	39
Exercice 2 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (I)	41
Exercice 3 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (II)	49
Exercice 4 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (III)	61
Exercice 5 : Spécification de l'ectoderme	73
Exercice 6 : Induction du mésoderme (I) – Voie de signalisation Wnt/ β -caténine.....	83
Exercice 7 : Induction du mésoderme (II) - Signalisation Nodal	93
Exercice 8 : Induction du mésoderme (III) : régulation de l'expression du gène <i>chordin</i>	105
Exercice 9 : Fonction et mode d'action de la protéine chordin	117
Exercice 10 : Régionalisation du mésoderme (I)	129
Exercice 11 : Régionalisation du mésoderme (II)	139
Exercice 12 : Régulation de la voie de signalisation Wnt-8	149
Exercice 13 : Régulation de la voie de signalisation TGF β	159
Exercice 14 : Répression transcriptionnelle et induction du mésoderme	169
Exercice 15 : Mise en place du neurectoderme.....	175
Exercice 16 : Somitogenèse	185
Exercice 17 : Myogenèse (I)	189
Exercice 18 : Myogenèse (II)	197
Exercice 19 : Morphogenèse du membre	207

Corrections

Exercice 1 : Analyse d'images d'hybridation in situ sur embryon entier.....	211
Exercice 2 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (I)	212
Exercice 3 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (II) ...	215
Exercice 4 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (III) ..	219
Exercice 5 : Spécification de l'ectoderme	222
Exercice 6 : Induction du mésoderme (I) – Voie de signalisation Wnt/ β -caténine.....	224
Exercice 7 : Induction du mésoderme (II) - Signalisation Nodal	228
Exercice 8 : Induction du mésoderme (III) : régulation de l'expression du gène <i>chordin</i>	231
Exercice 9 : Fonction et mode d'action de la protéine chordin	234
Exercice 10 : Régionalisation du mésoderme (I)	237
Exercice 11 : Régionalisation du mésoderme (II)	240
Exercice 12 : Régulation de la voie de signalisation Wnt-8	243
Exercice 13 : Régulation de la voie de signalisation TGF β	246
Exercice 14 : Répression transcriptionnelle et induction du mésoderme.....	248
Exercice 15 : Mise en place du neurectoderme.....	250
Exercice 16 : Somitogenèse	253
Exercice 17 : Myogenèse (I)	255
Exercice 18 : Myogenèse (II)	257
Exercice 19 : Morphogenèse du membre	260
BIBLIOGRAPHIE	261
INDEX	263

Cet ouvrage est particulièrement destiné aux étudiants du premier cycle des études médicales (PCEM1) et aux étudiants en 1^{er} et 2^e cycles de sciences de la vie. Il intéressera également les candidats préparant les concours de l'enseignement supérieur (CAPES et agrégation). Il est complémentaire du livre de cours *Bases cellulaires et moléculaires du développement* paru en 2007 dans la même collection.

Après avoir posé les principes généraux des techniques de biologie cellulaire et moléculaire couramment utilisées pour l'étude du développement embryonnaire, ce livre présente une série de problèmes portant sur des expérimentations tirées de la littérature scientifique moderne. Ces problèmes sont tous corrigés et commentés de manière à permettre à l'étudiant de bien appréhender le raisonnement scientifique permettant leur résolution.

Cet ouvrage est un outil essentiel pour l'étudiant, qui pourra, en s'appuyant sur une démarche à la fois expérimentale et méthodologique, vérifier l'acquisition et l'assimilation de ses connaissances en biologie du développement.

Christophe Chanoine est Professeur à l'université Paris Descartes (Paris 5). Responsable des enseignements de biologie en PCEM1, il enseigne aussi la biologie du développement en 1^{re} et 2^e années de la licence des Sciences du Vivant ainsi qu'en 2^e et 3^e cycles du LMD.

Il anime l'équipe de recherches « Biologie du développement et de la différenciation neuromusculaire » dans l'unité CNRS 7060.

Faites aussi le point sur
vos connaissances
avec la collection
« Le PCEM en QCM »

