

Màj 10/06/2022

Tronc commun mention

UE 3.2. Ateliers technologiques

3 ECTS

AT6 : Atelier patch clamp/imagerie calcique couplé à la transcriptomique sur cellule unique

Équipe pédagogique :

Contact : morad.roudbaraki@univ-lille.fr

Résumé

La plupart des tissus sont composés de plusieurs compartiments cellulaires avec des rôles et des profils d'expressions moléculaires différents. Dans le cadre de cet atelier, les étudiants mèneront des études par imagerie calcique et par électrophysiologie au niveau « cellule unique » sur une population hétérogène de cellules obtenues à partir des tissus prostatiques humains, et ceci afin de mettre en évidence l'activité et le profil d'expression des différents types de canaux calciques au niveau de chaque type cellulaire identifié par son marqueur spécifique.

Objectifs pédagogiques :

Acquérir une pratique de la mise en oeuvre des techniques d'imagerie calcique, de patch-clamp et de biologie moléculaire pour l'étude de l'activité des canaux ioniques dans une population hétérogène de cellules identifiées par une étude transcriptomique au niveau « cellule unique ».

Bloc de Compétences et de Connaissances-BCC 3 : Élaborer et mettre en œuvre une démarche expérimentale en Biologie Santé

Compétences acquises (directes/indirectes) :

Cet enseignement contribue à fournir les compétences pour élaborer et mettre en œuvre une démarche expérimentale en Biologie Santé en :

- en utilisant les techniques de base et les appareillages pertinents et indispensables à l'expérimentation dans le domaine et en appliquant les règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire (BC3) ;
- en exploitant, synthétisant et contextualisant des données expérimentales et en faisant une analyse critique selon les normes de la discipline (BC4) ;
- en présentant oralement et à l'écrit les résultats d'expérimentations scientifiques (BC5).

- La mise en œuvre des techniques d'imagerie cellulaire en utilisant des sondes fluorescentes, de patch-clamp en configuration cellule entière, des techniques de biologie moléculaire de base,
- Couplage des méthodes de biologie moléculaire à celles de la physiologie cellulaire (technique de patch-clamp),
- Identification moléculaire des différents compartiments cellulaires ainsi que la mise en évidence de leurs particularités en termes d'expression moléculaire.
- Comprendre la pertinence de l'utilisation des techniques d'étude en physiologie cellulaire, en biochimie et en biologie cellulaire et moléculaire

Prérequis :

Connaissances théoriques de base en biologie moléculaire et en physiologie cellulaire

Contenu :

Dans le cadre de cet atelier, dans un premier temps, les étudiants mèneront des études fonctionnelles des canaux ioniques par imagerie calcique et par électrophysiologie au niveau « cellule unique » sur une population hétérogène de cellules obtenues à partir des tissus prostatiques humains. A l'issue de ces études fonctionnelles, le cytoplasme des cellules sera prélevé afin de déterminer le profil d'expression en ARNm de ces cellules pour des marqueurs cellulaires et pour des canaux ioniques. Ces manipulations permettront de mettre en évidence l'activité et l'expression des canaux selon le compartiment cellulaire (épithéliale, stromale, endothéliale, ...) d'un tissu prostatique. Après le choix des cellules par les techniques de patch-clamp et/ou imagerie calcique, une étude par la technique de la RT-PCR sur cellule unique sera menée avec les étudiants afin d'identifier les cellules et de déterminer les profils d'expression des canaux ioniques de chaque type cellulaire identifié. Dans le cadre de cet atelier, l'étude transcriptomique sera menée par la technique de la RT-PCR classique et par une étude comparative des taux d'expression de chaque marqueur exprimé par les différents types cellulaires par la technique de QRT-PCR. Lors d'un TD de 2h, le principe des

Màj 10/06/2022

techniques mises en œuvre lors de cet atelier ainsi qu'un bref rappel de l'ensemble des techniques seront exposés aux étudiants et discutées et à la fin de l'atelier, une analyse et discussion collective permettra de mettre en relation les aspects fonctionnelles et les expressions moléculaires des canaux ioniques dans les différents compartiments cellulaires d'un tissu prostatique, un tissu hétérogène formé de plusieurs compartiments cellulaires.

Contrôle des connaissances : contrôle continu