

Chapitre 2

# Méthodes d'étude de la biologie moléculaire de la cellule

Dr Laurent PELLETIER

# Plan du cours

- Introduction
- Principe général des méthodes
- Le Southern blot
- Le western blot
- Immuno-fluorescence & immuno-histochimie
- L'ELISA

# Objectifs pédagogiques du cours

Techniques de base en biologie

Toutes différentes

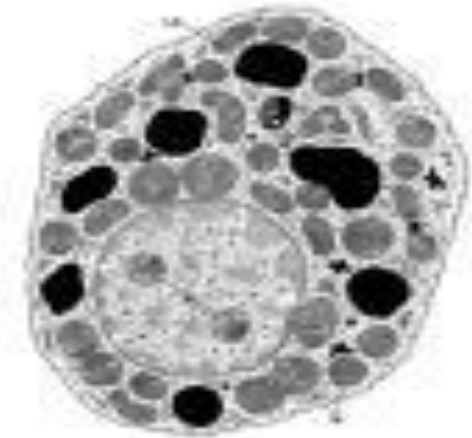
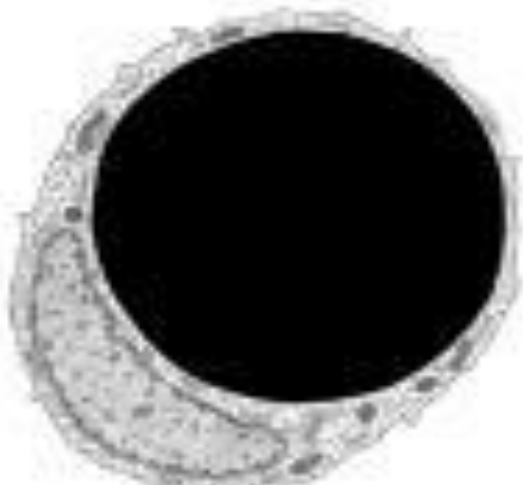
Principe commun

# Introduction

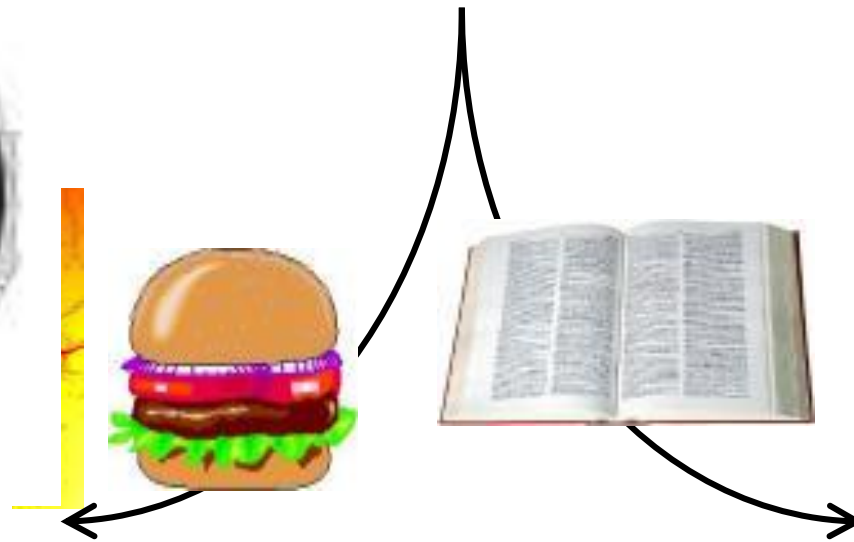


# Introduction

Adipocyte



Même génome

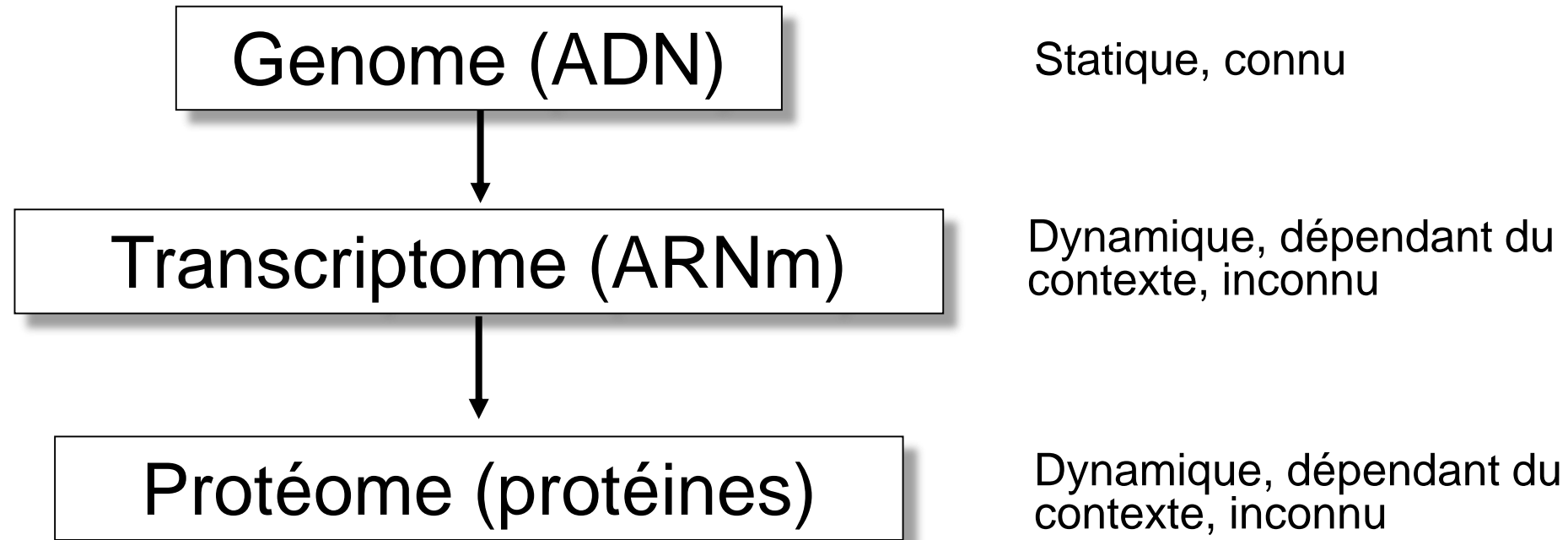


Expression différente

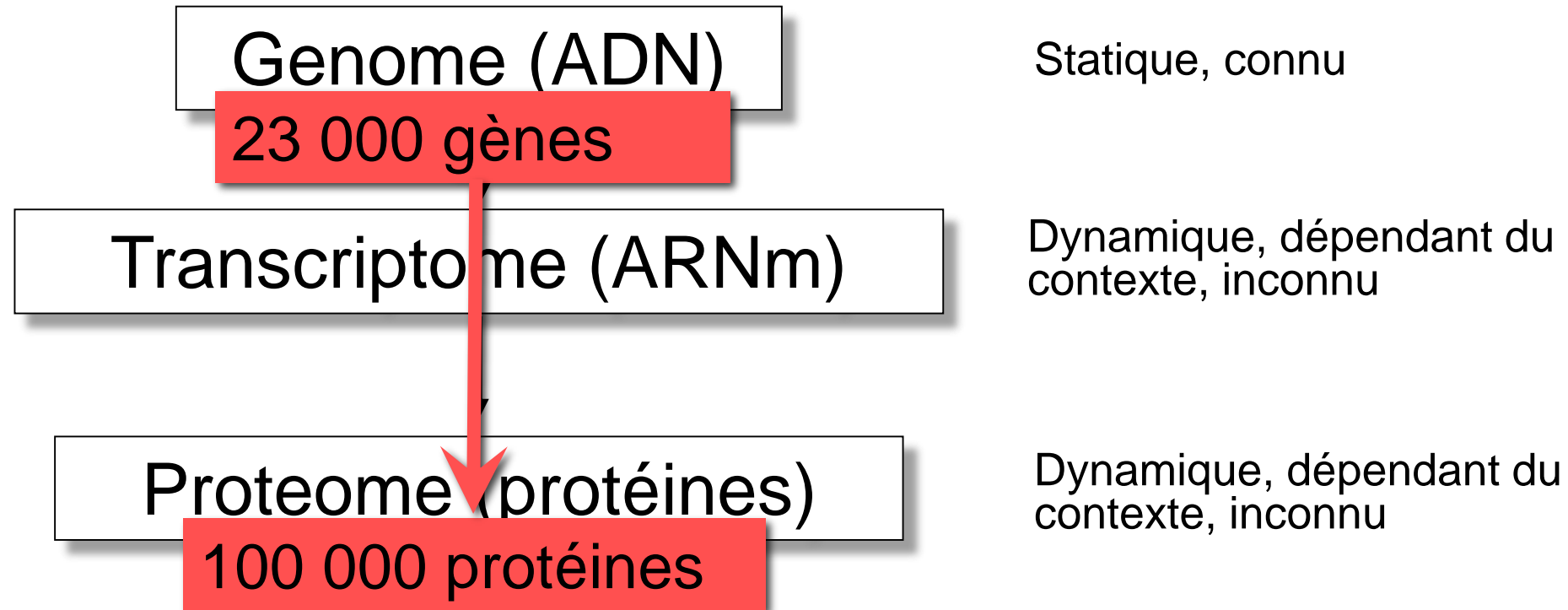
Neurone



# Introduction



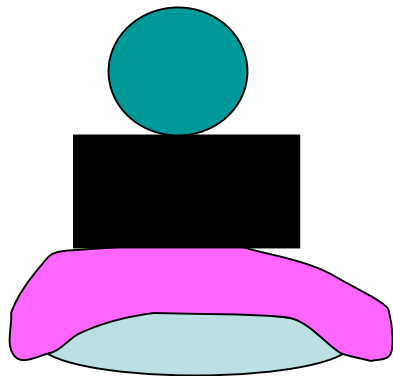
# Introduction



# Principe général des méthodes

Immuno-histochimie, Immunofluorescence, FACS,  
Hybridation *In Situ*, Southern blot, western blot...

... même combat !

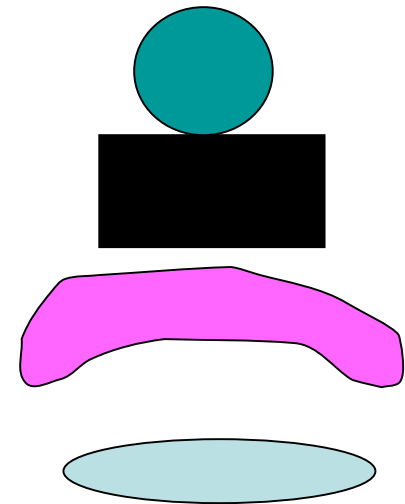


Enzyme, fluorochrome...

Secondaire

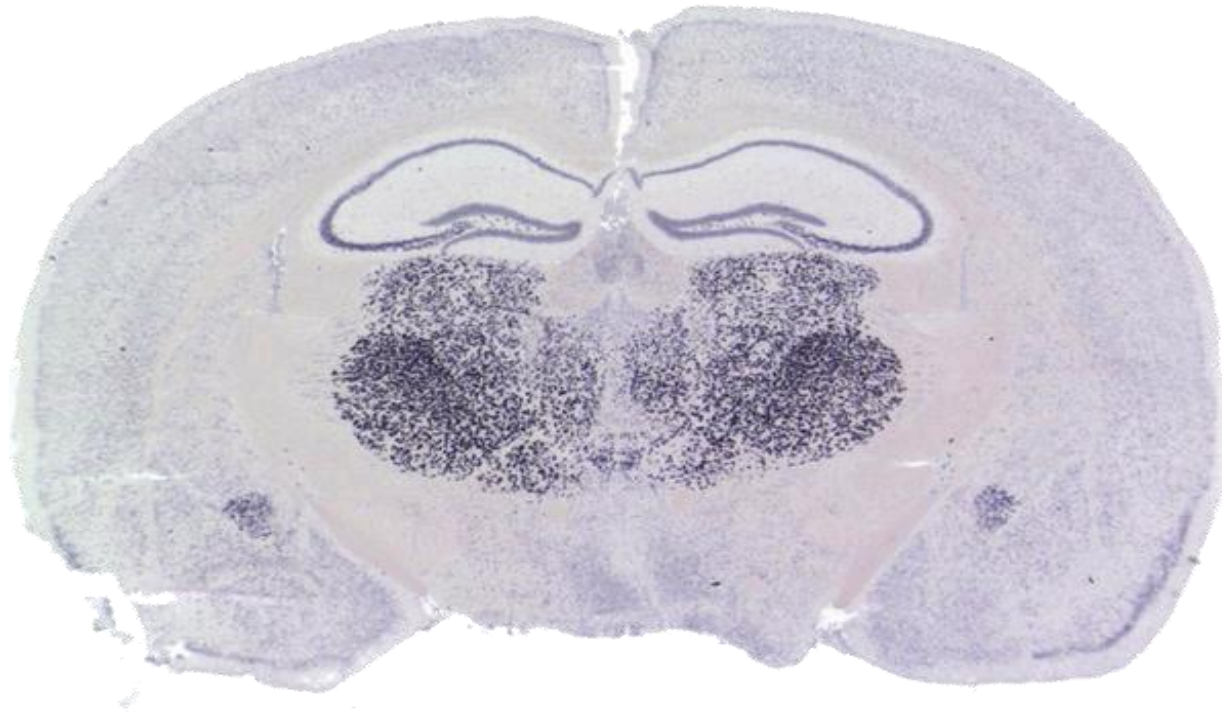
Sonde

Cible



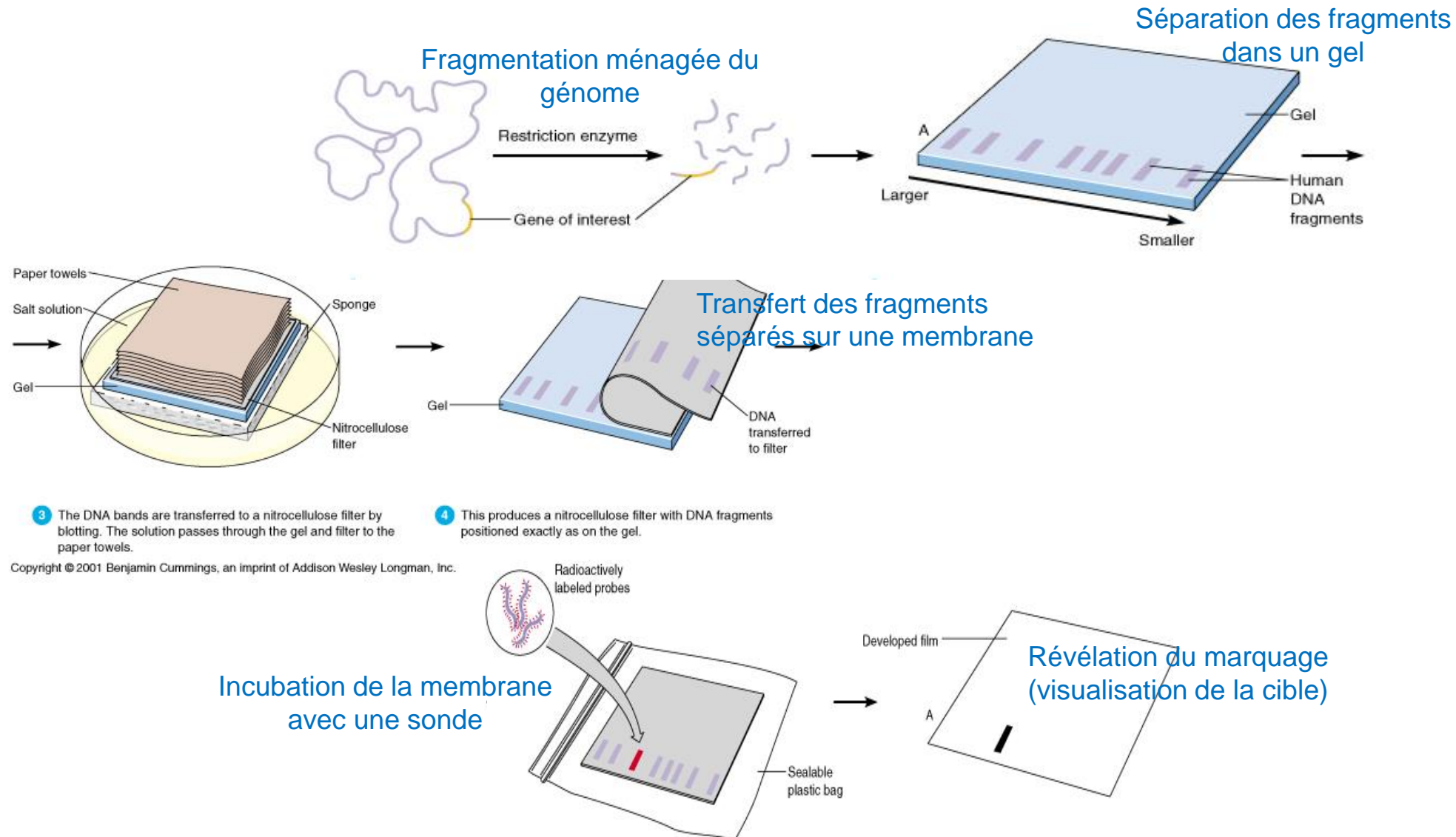


# Hybridation *in situ* (HIS)

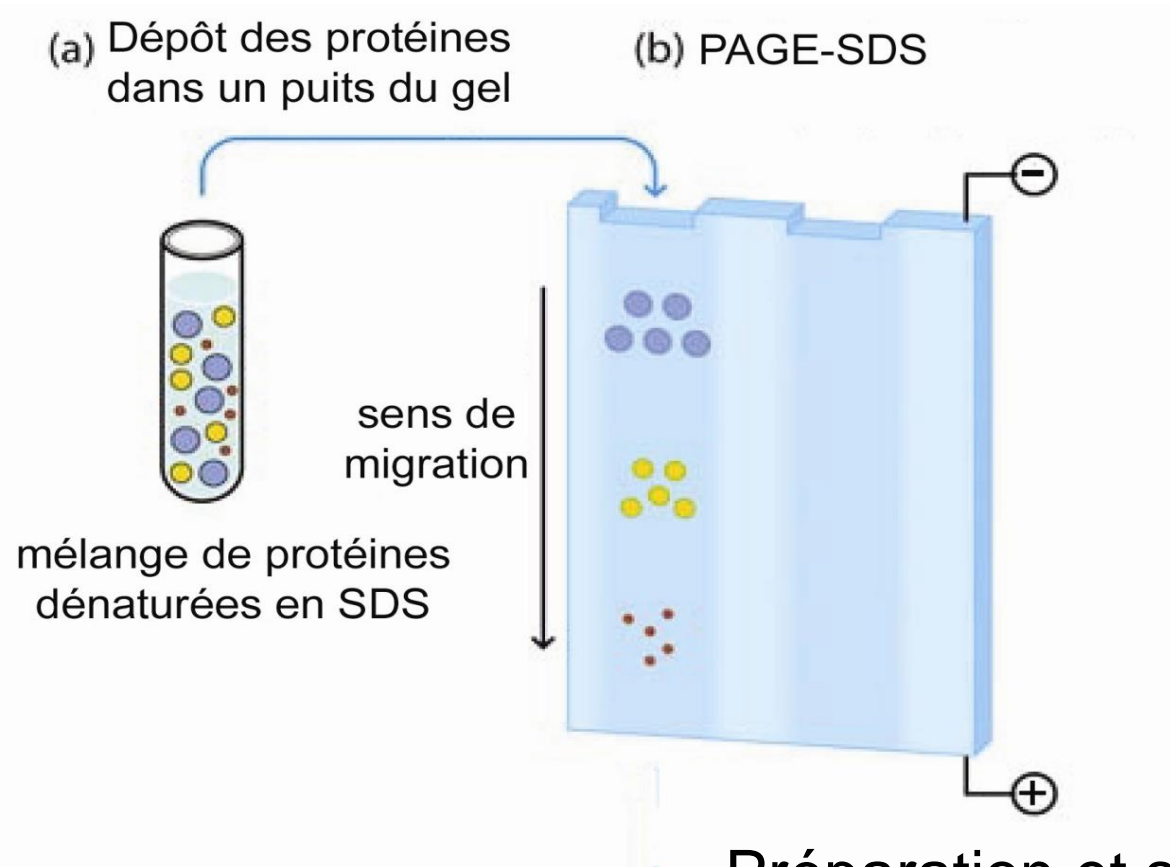


Section de cerveau de souris :  
Les points noirs indiquent  
l'expression d'un gène dans des  
régions spécifiques

# Southern blot



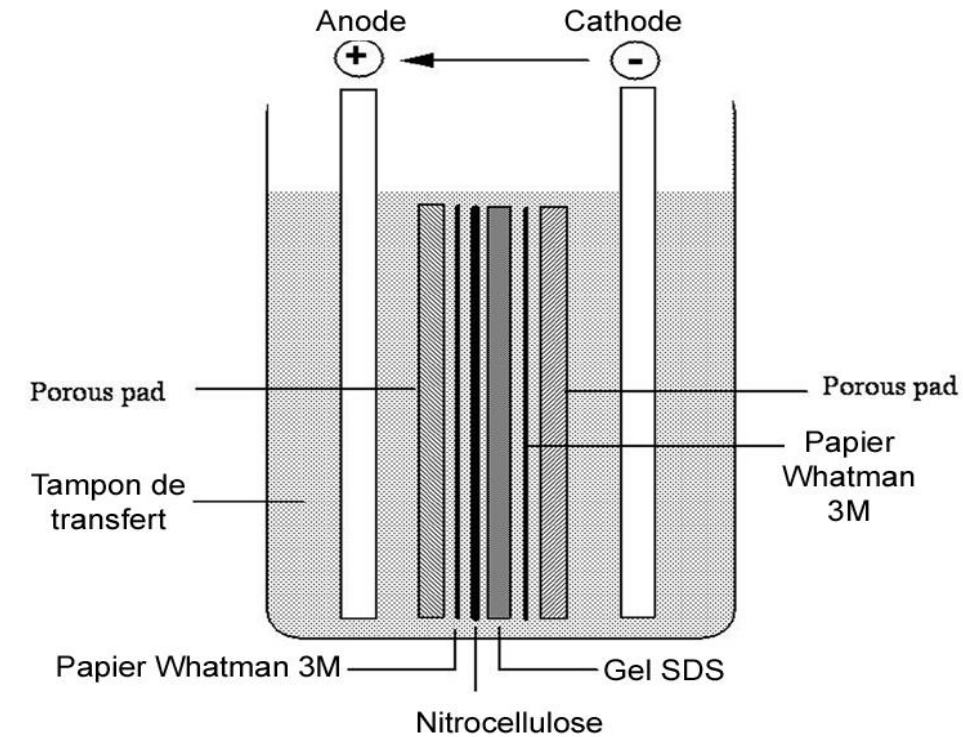
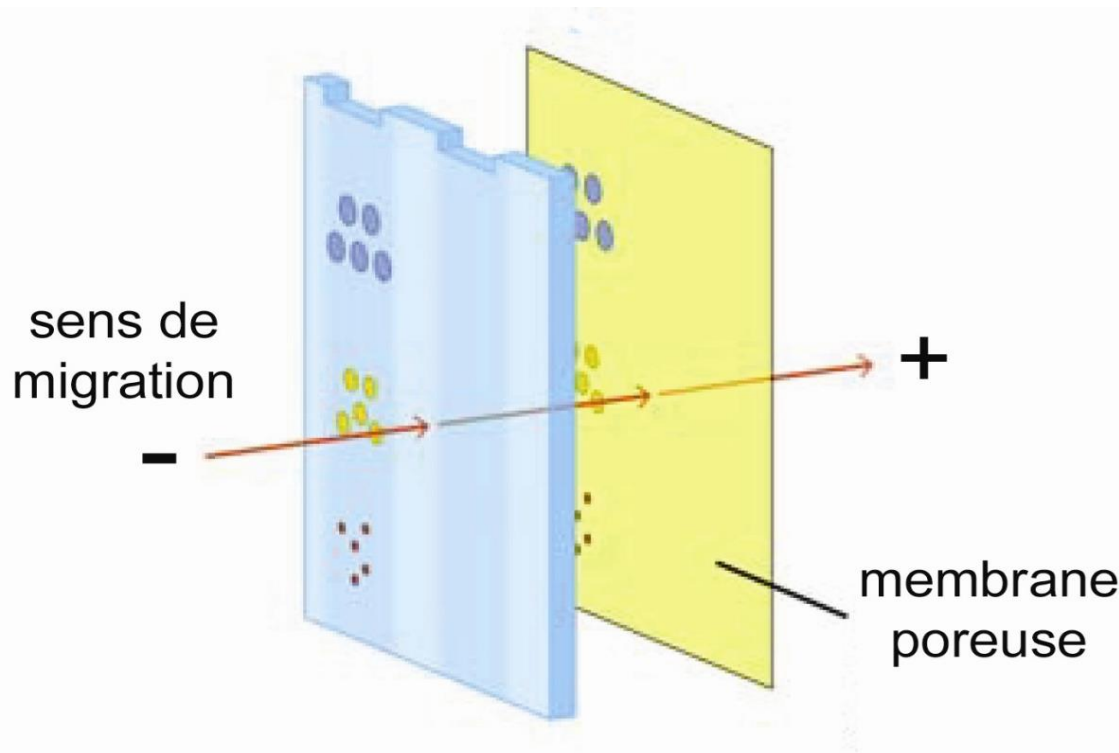
# Western blot



Préparation et séparation des protéines

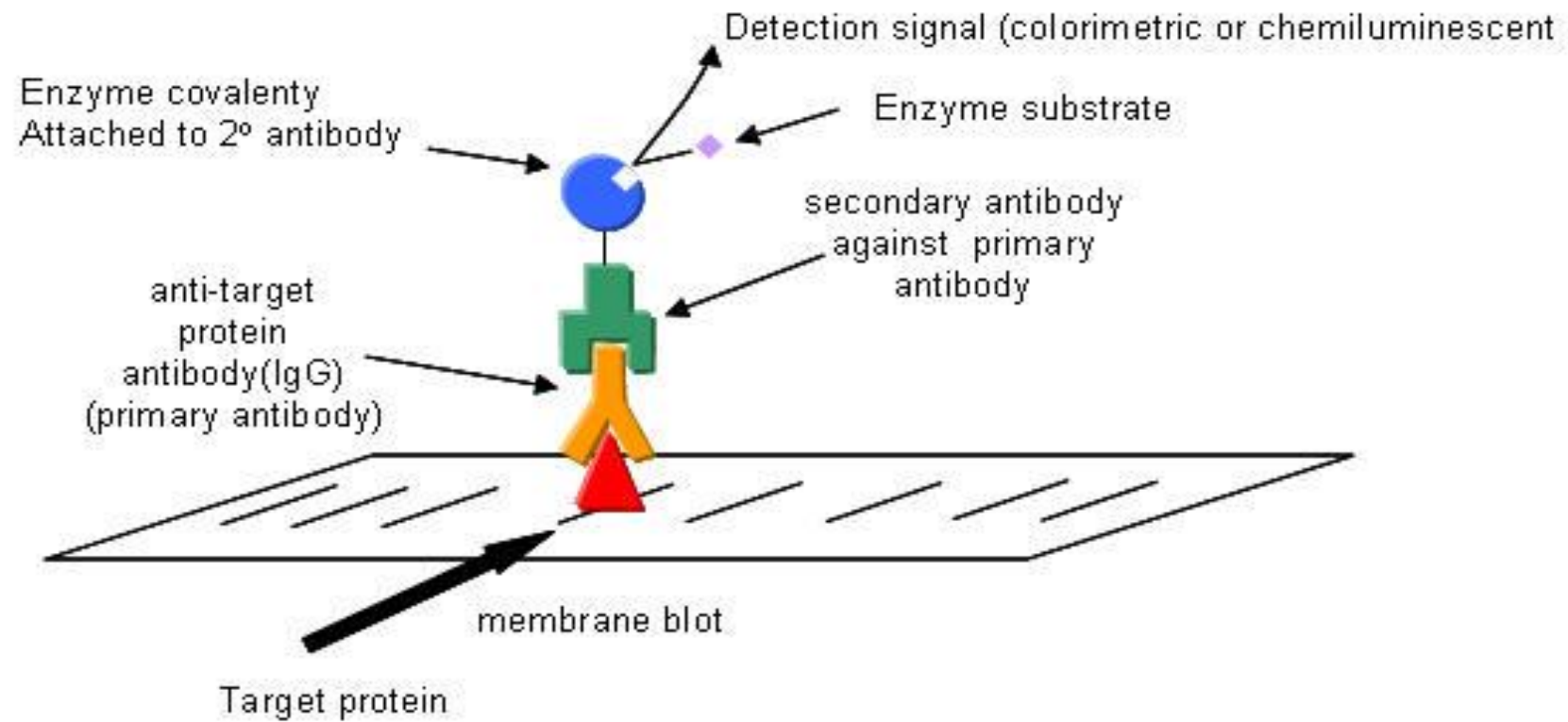
PAGE-SDS : *PolyAcrylamide Gel Electrophoresis – Sodium Dodecyl Sulfate*

# Western blot



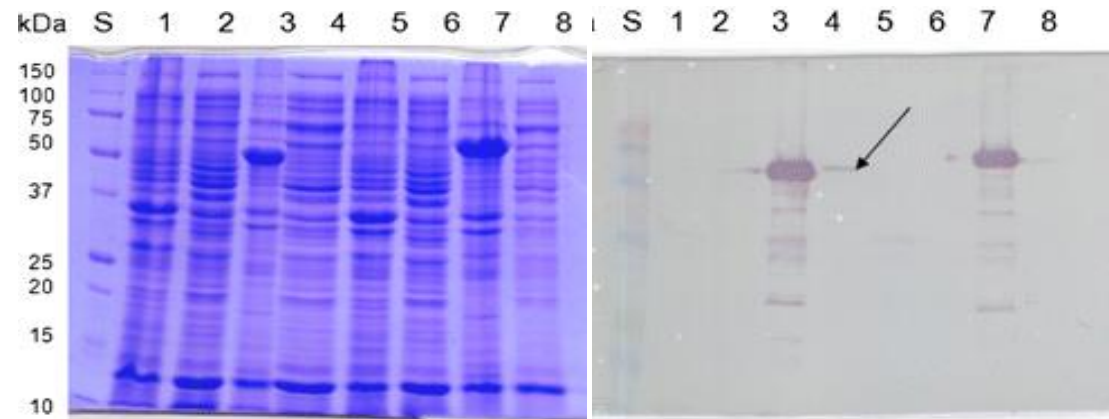
Electro-transfert sur membrane de nylon ou nitrocellulose

# Western blot



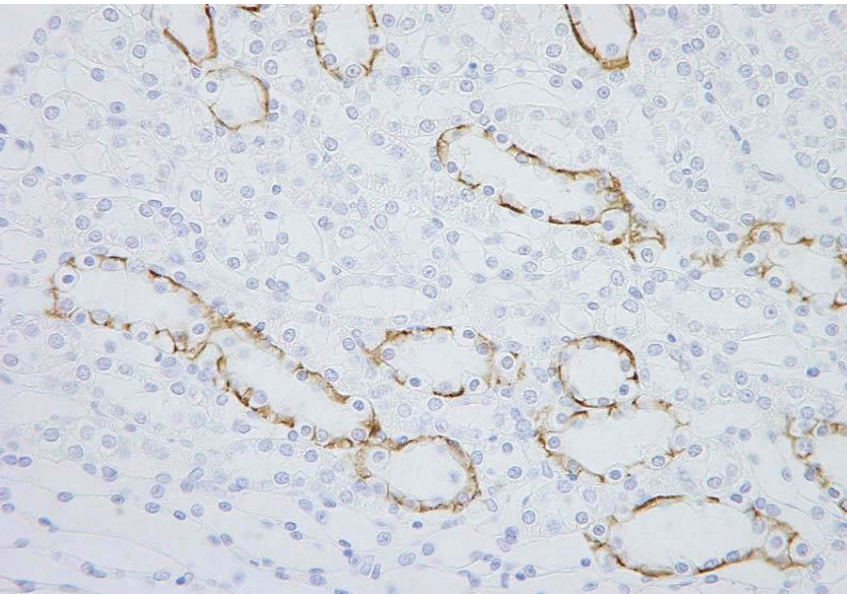
# Western blot

Séparation  
+ transfert des protéines  
+ détection protéine d'intérêt  
= WB



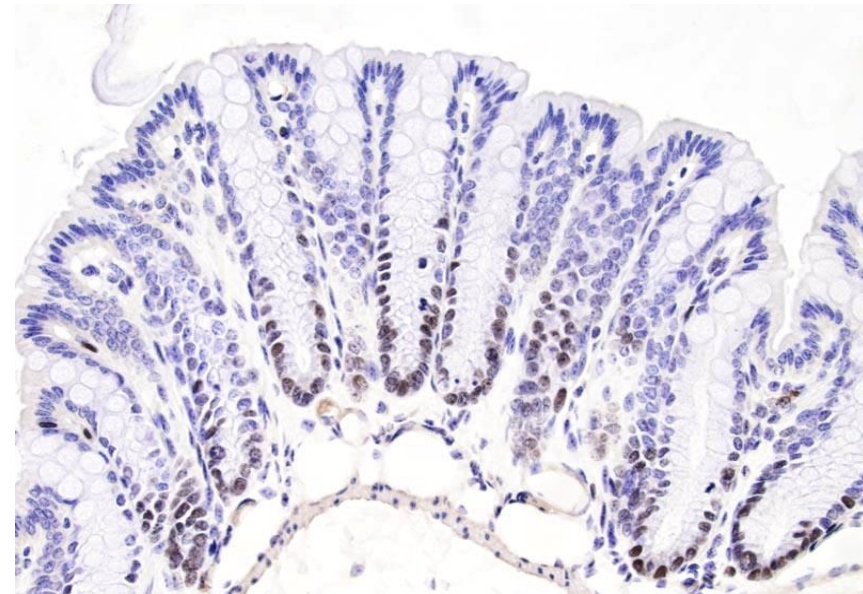


# Immuno-histochimie



**CD31**

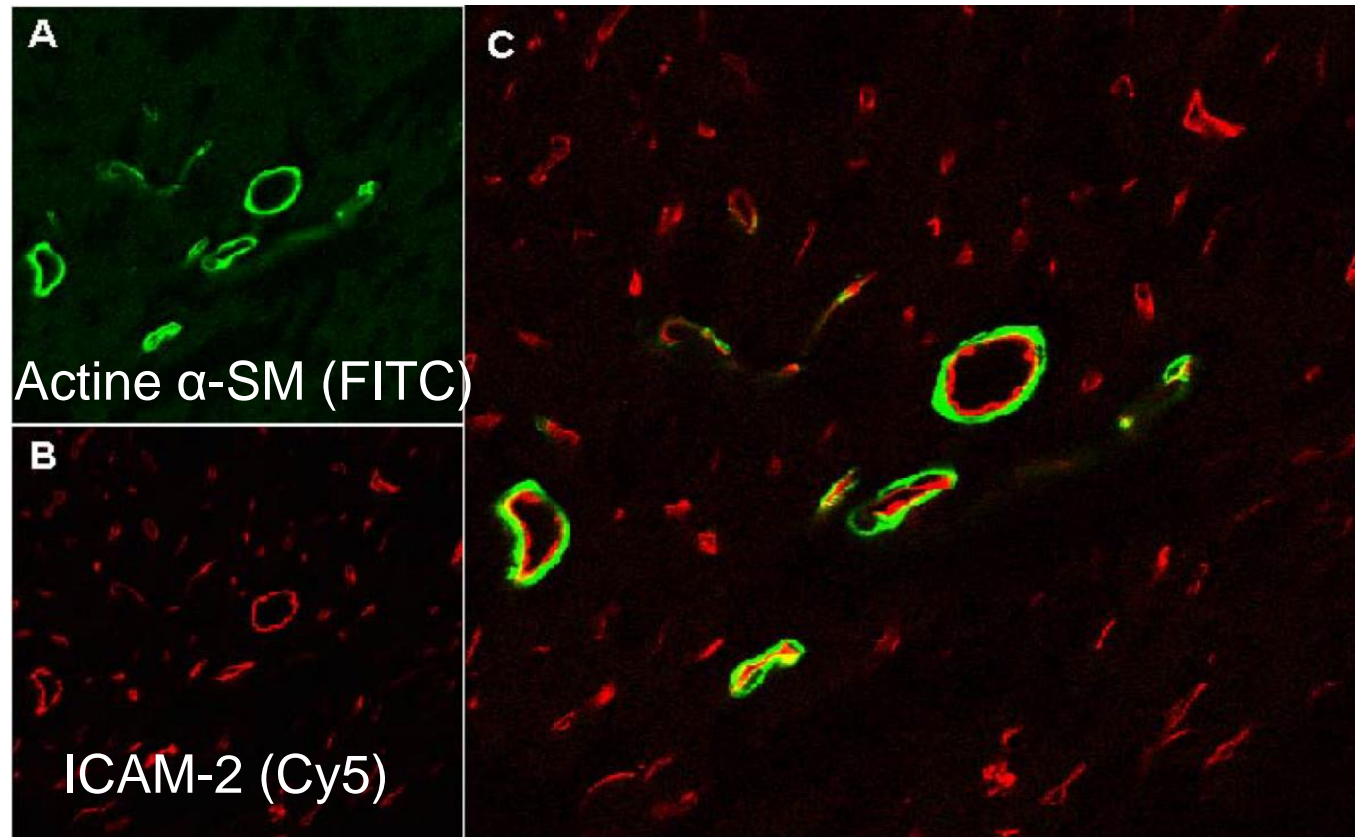
PCNA : *Proliferating cell nuclear antigen*



**PCNA**

Fort immuno-marquage nucléaire PCNA des cellules épithéliales normales du colon. Marquage modéré dans les cellules musculaires.

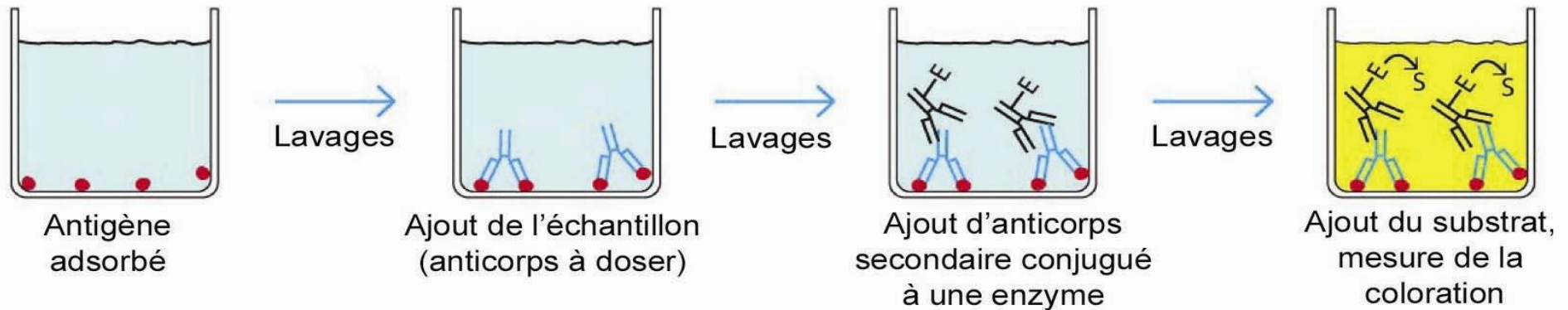
# Immuno-fluorescence



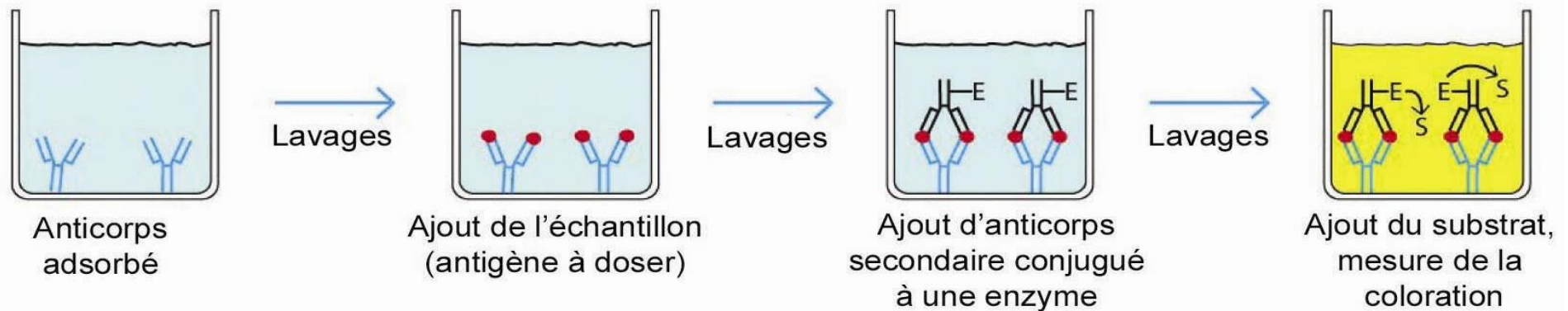


# ELISA

## (a) ELISA indirect Dosage d'un anticorps



## (b) ELISA Sandwich Dosage d'un antigène



ELISA : *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*

# ELISA



# Messages essentiels du cours

A chaque technique son application

nature de la cible,

quantification ?

Localisation ?

1 technique = 1 cible + 1 sonde

# Mentions légales

---

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Grenoble Alpes (UGA), et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.