

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

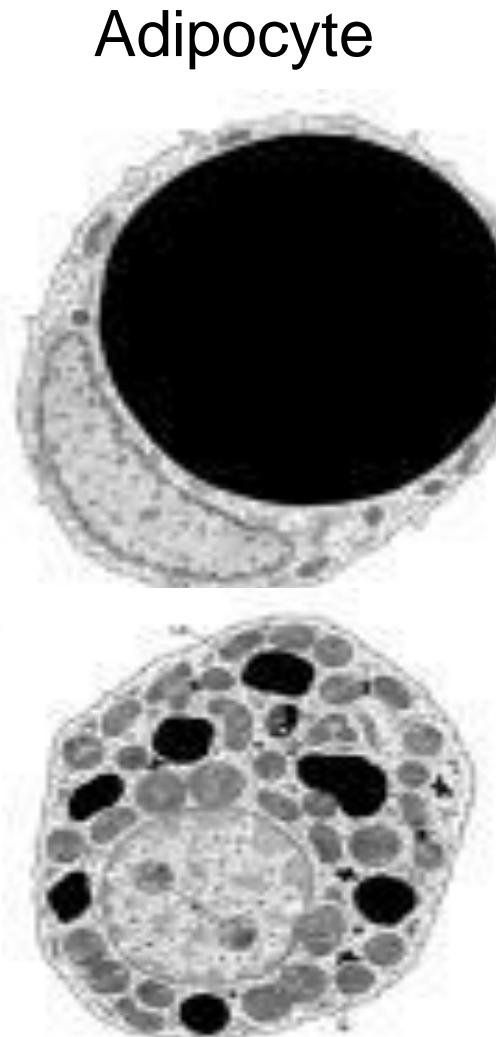
Toutes différentes

Principe commun

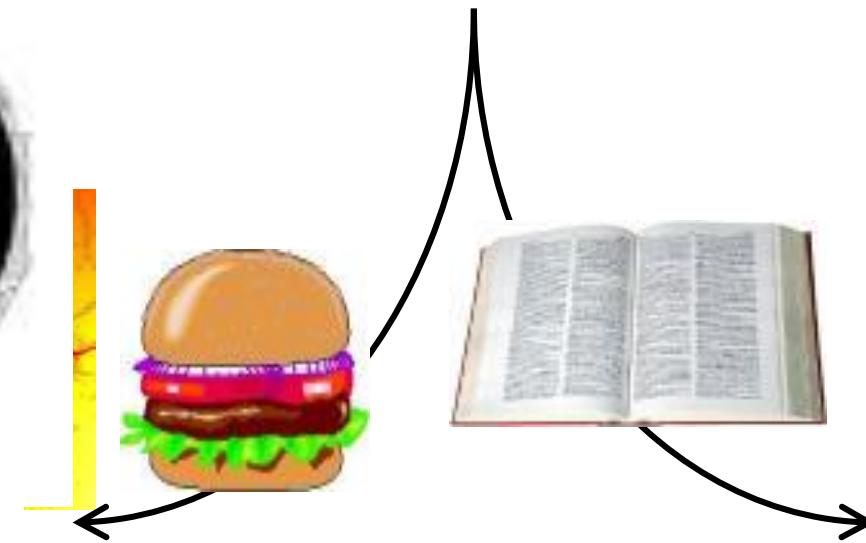
Introduction



Introduction

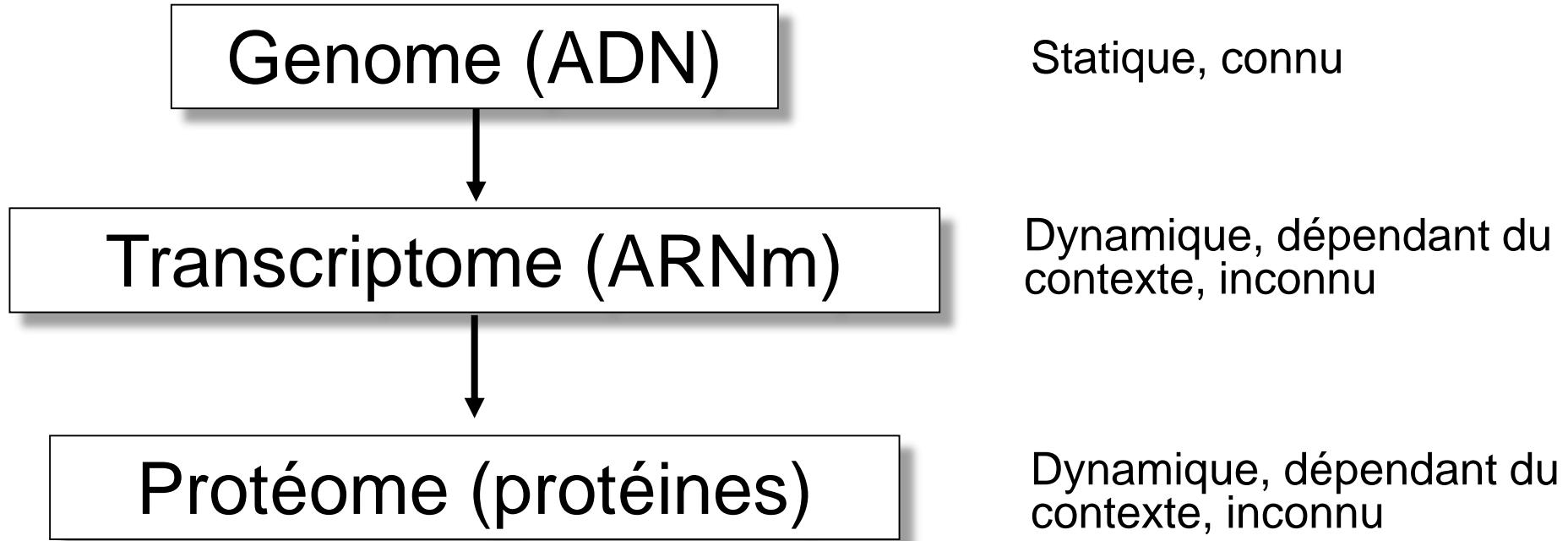


Adipocyte

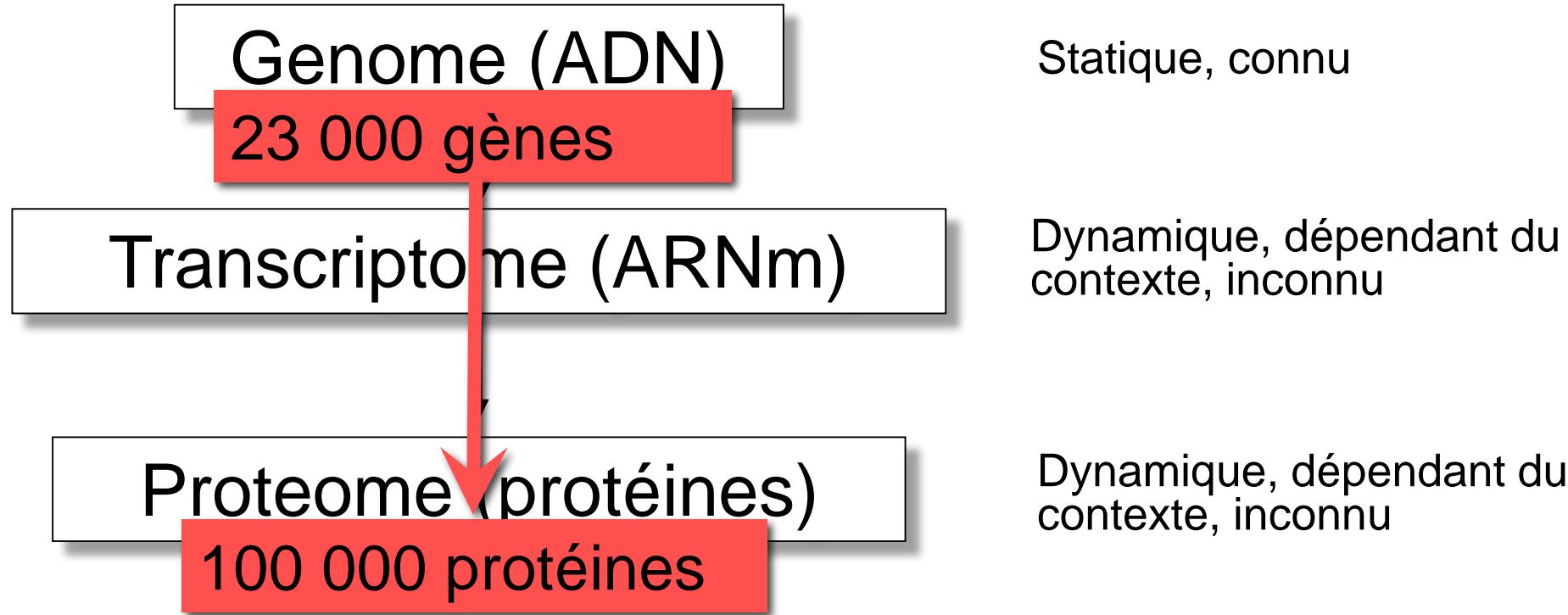


Neurone

Introduction



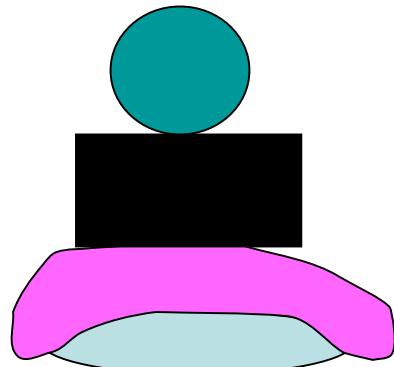
Introduction



Principe général des méthodes

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

... même combat !

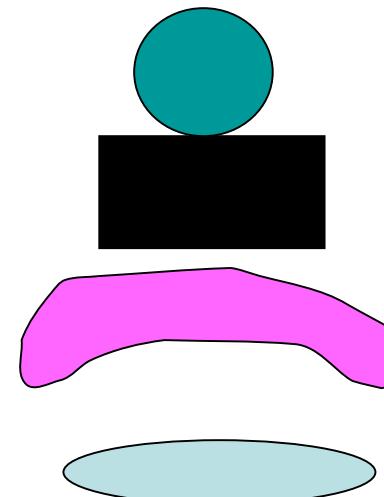


Enzyme, fluorochrome...

Secondaire

Sonde

Cible

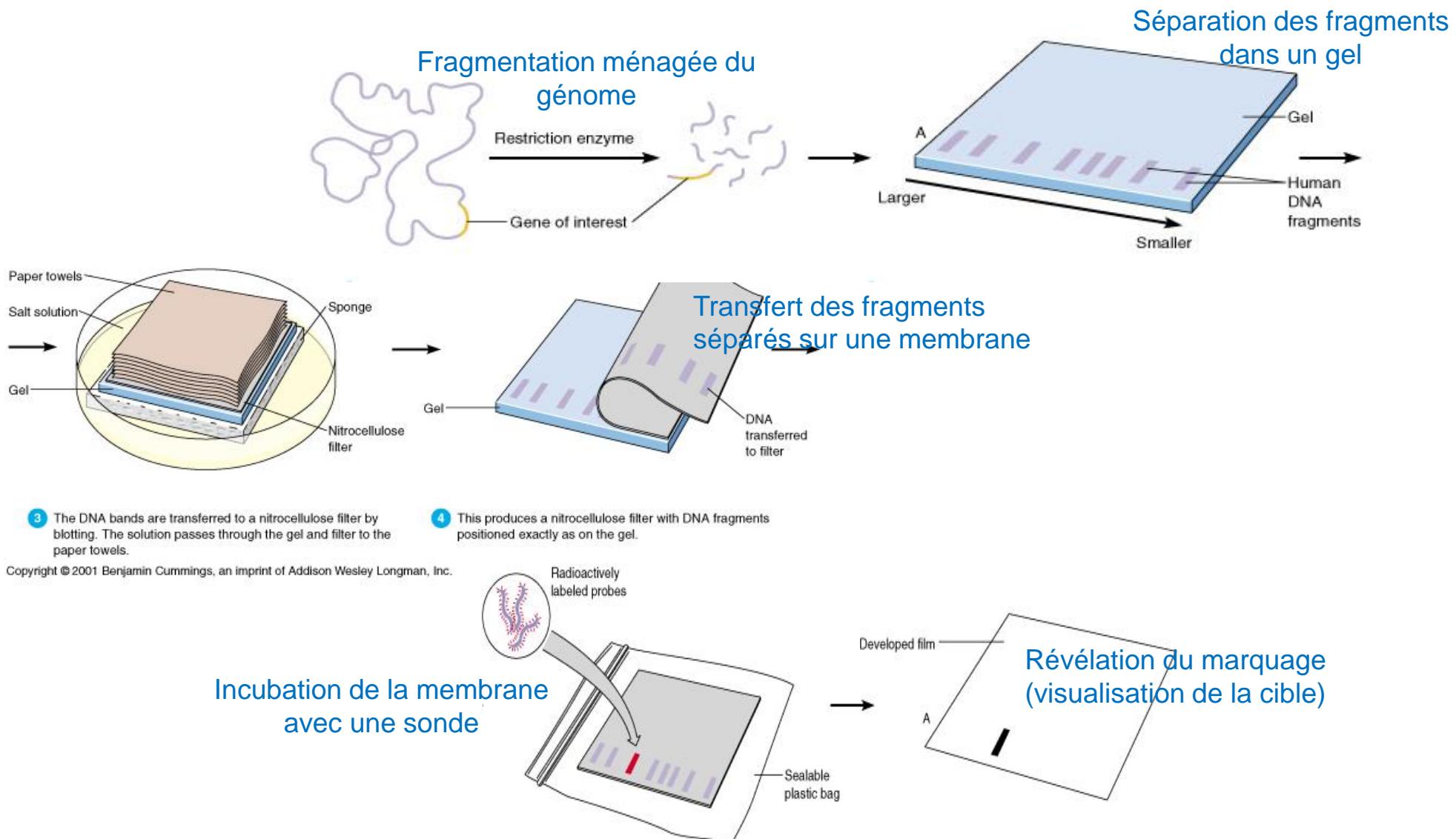


Hybridation *in situ* (HIS)

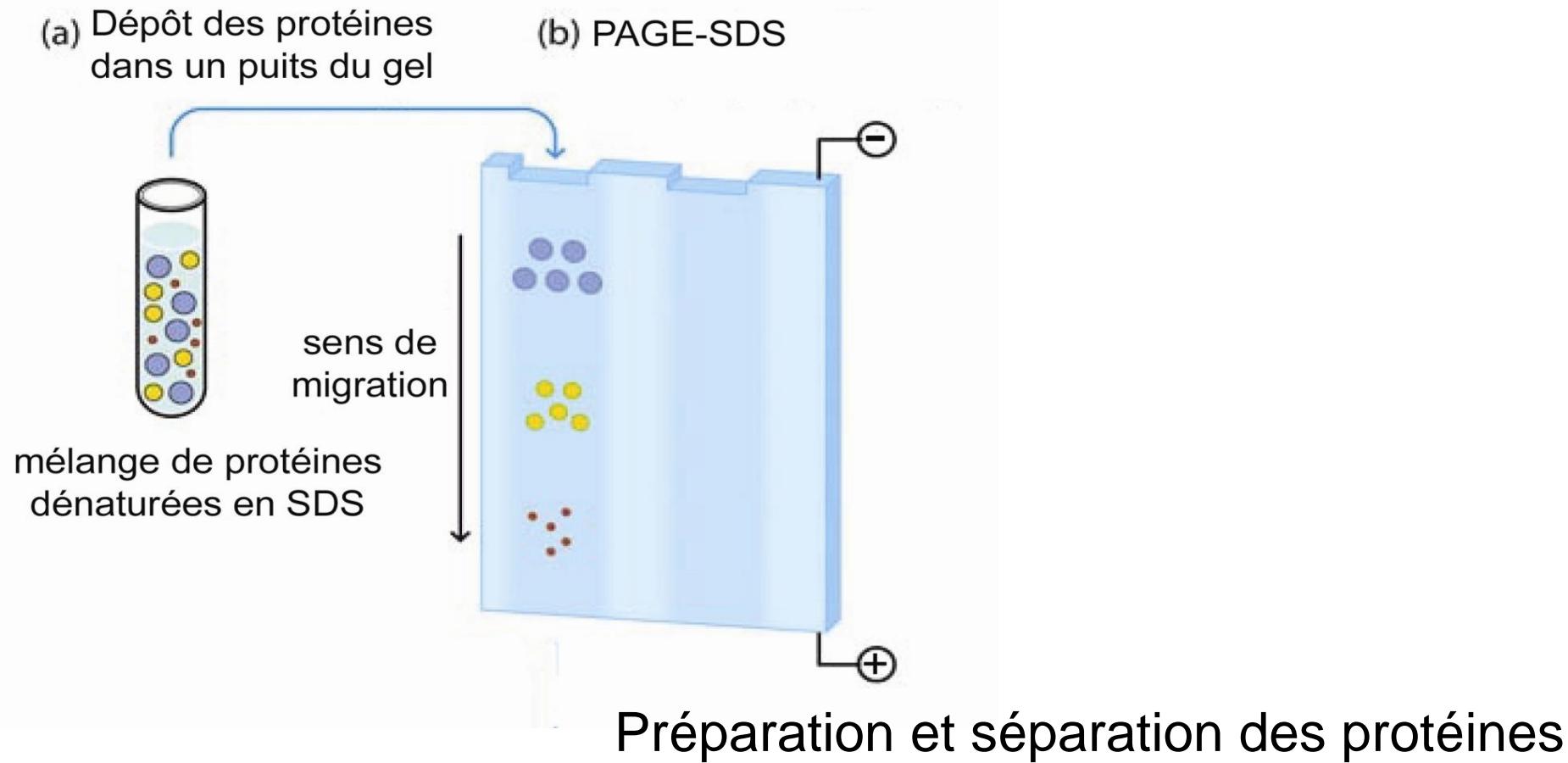


Section de cerveau de souris :
Les points noirs indiquent
l'expression d'un gène dans des
régions spécifiques

Southern blot

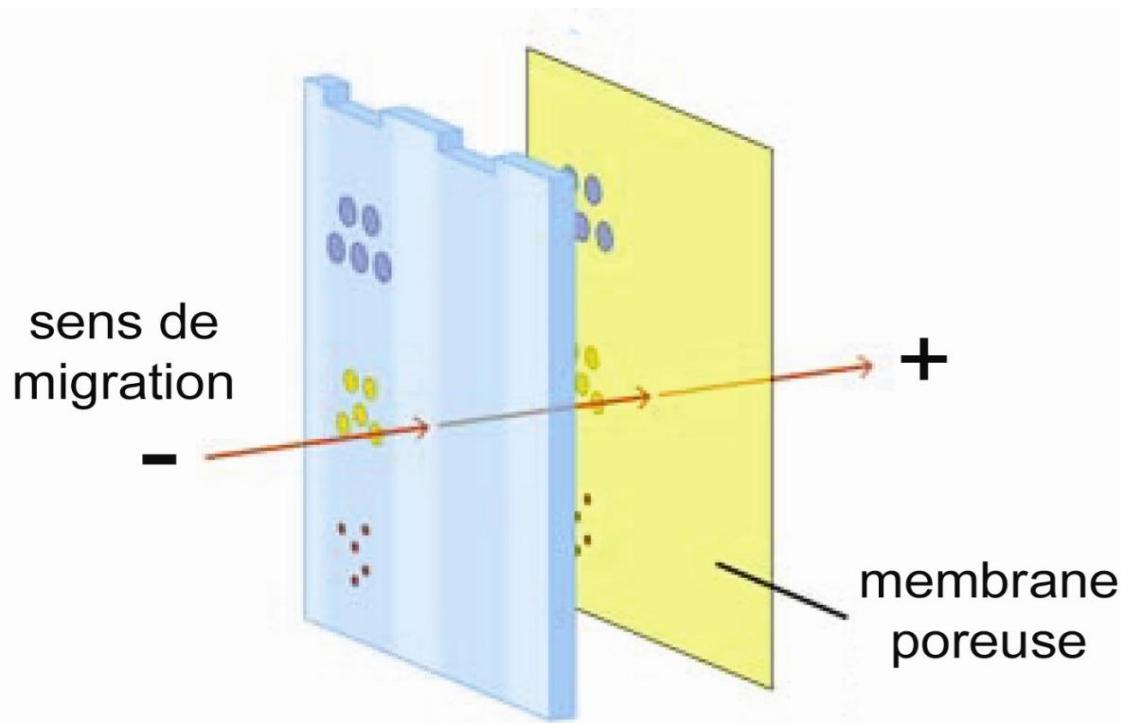


Western blot

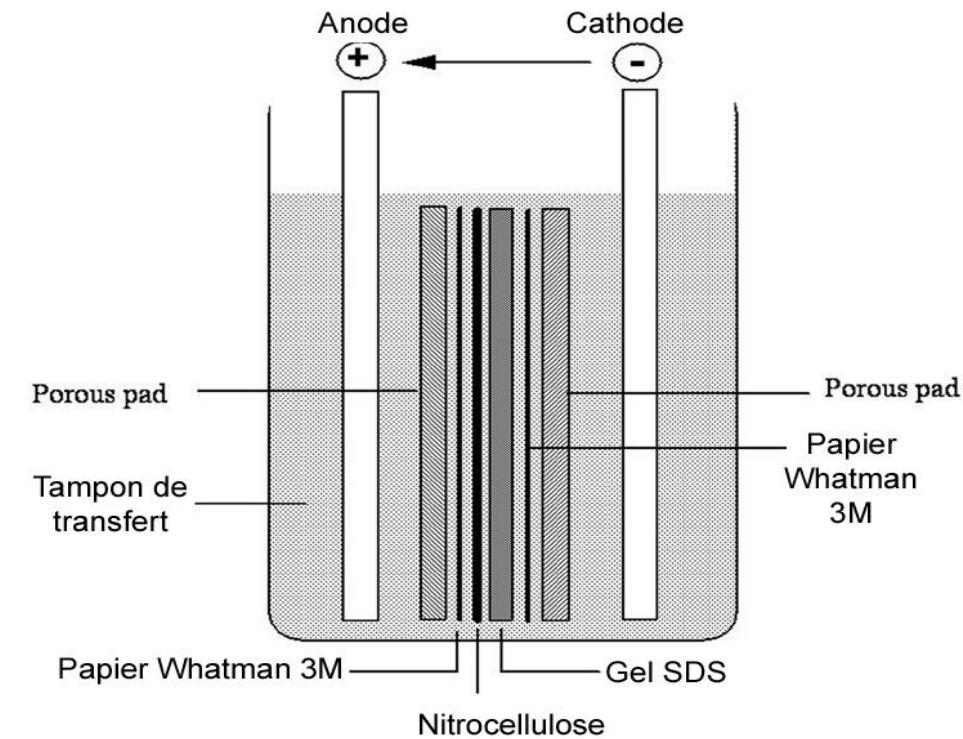


PAGE-SDS : PolyAcrylamide Gel Electrophoresis – Sodium Dodecyl Sulfate

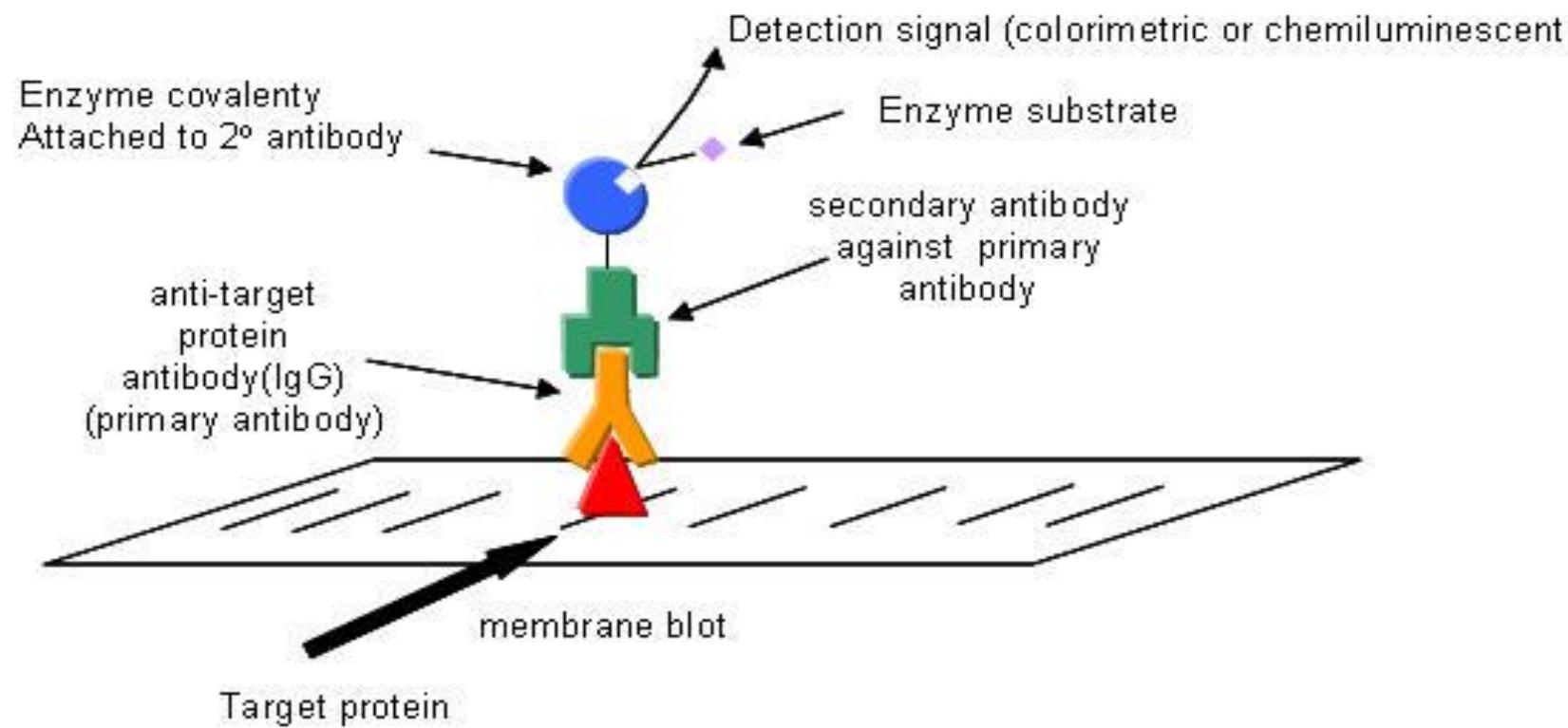
Western blot



Electro-transfert sur membrane de nylon ou nitrocellulose

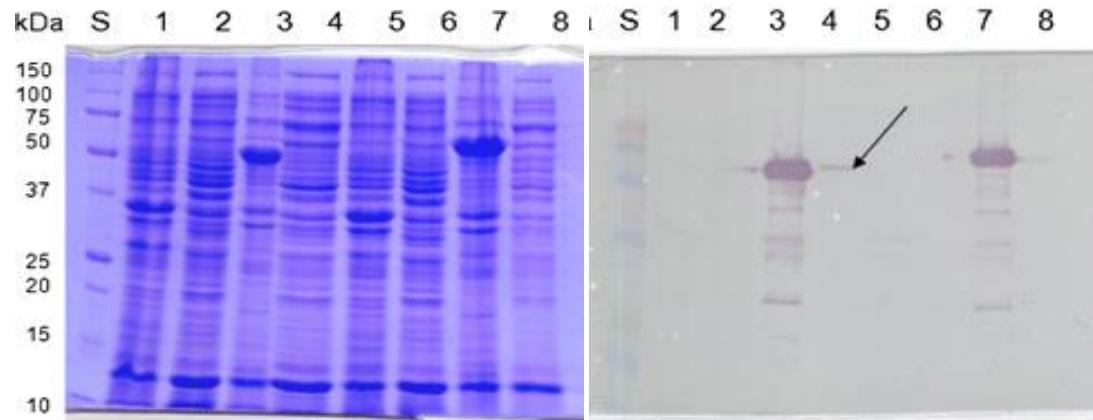


Western blot

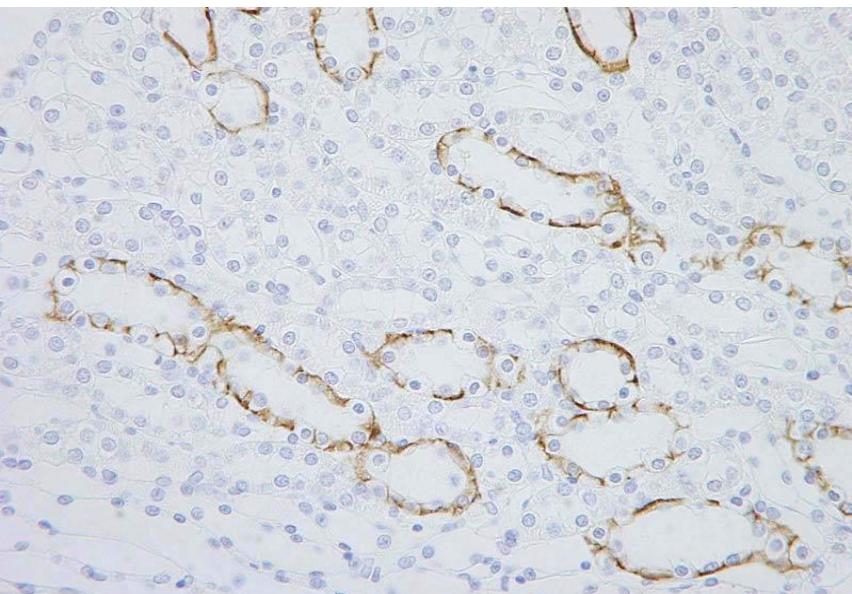


Western blot

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

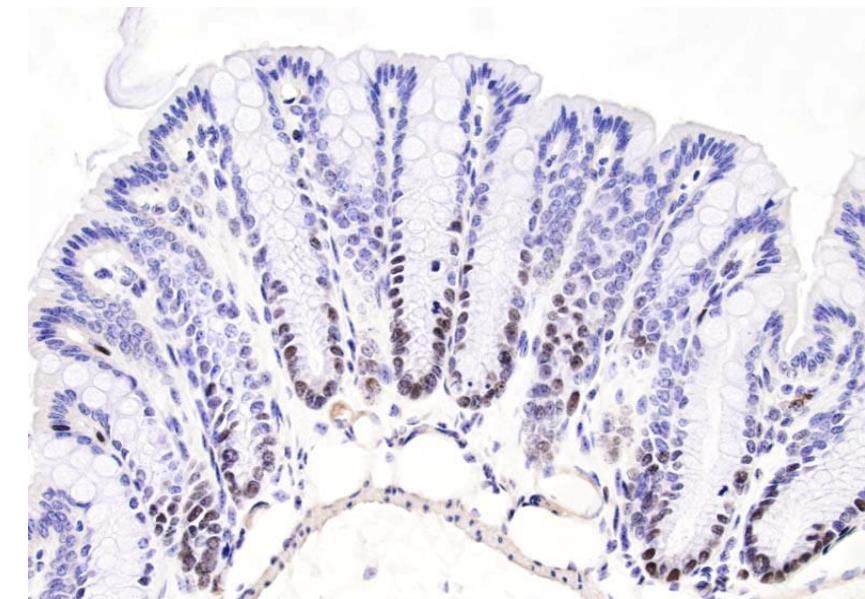


Immuno-histochimie



CD31

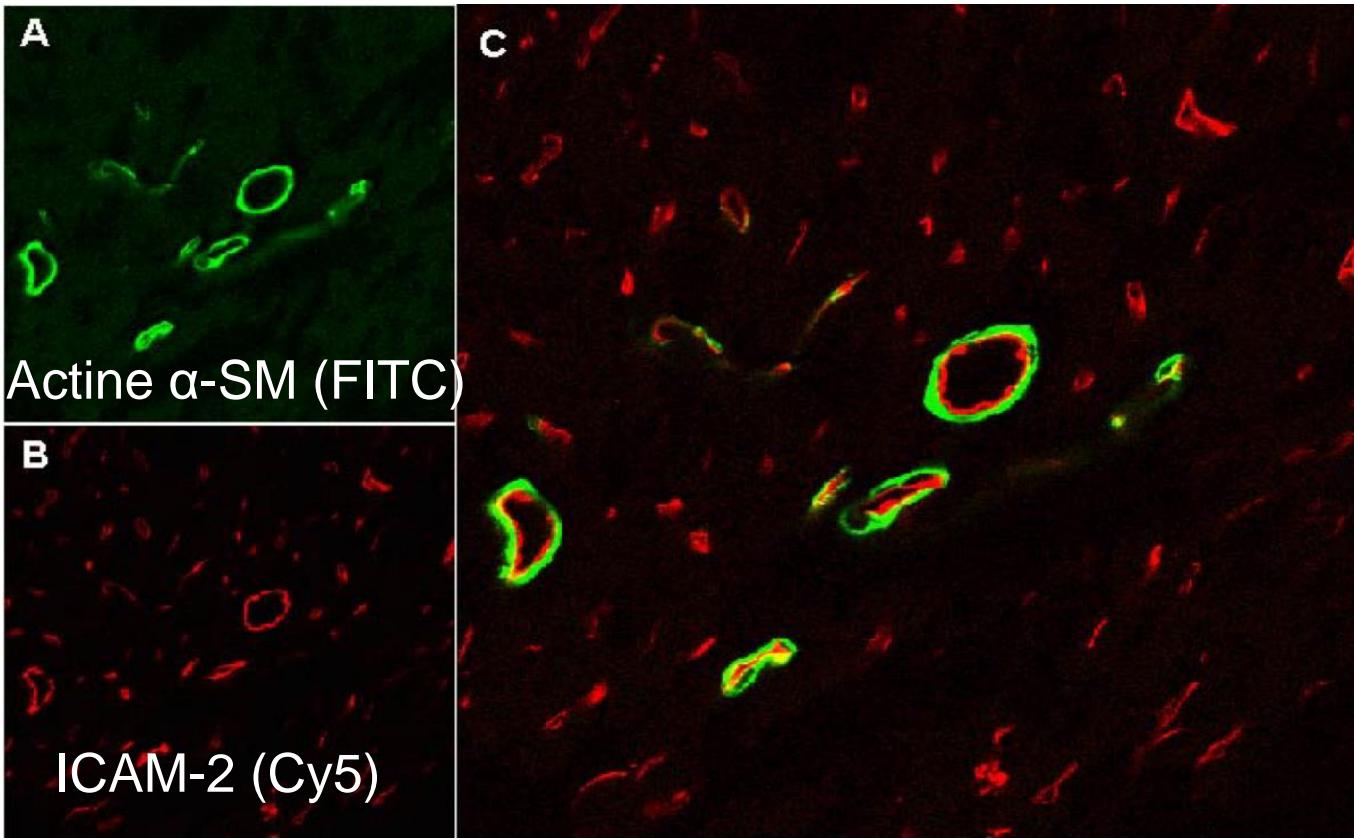
PCNA : *Proliferating cell nuclear antigen*



PCNA

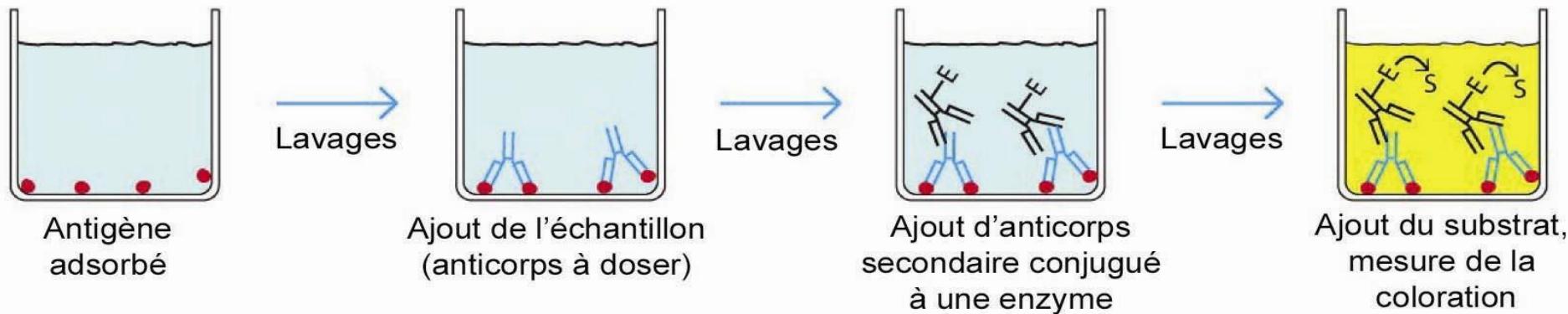
Fort immuno-marquage nucléaire PCNA des cellules épithéliales normales du colon. Marquage modéré dans les cellules musculaires.

Immuno-fluorescence

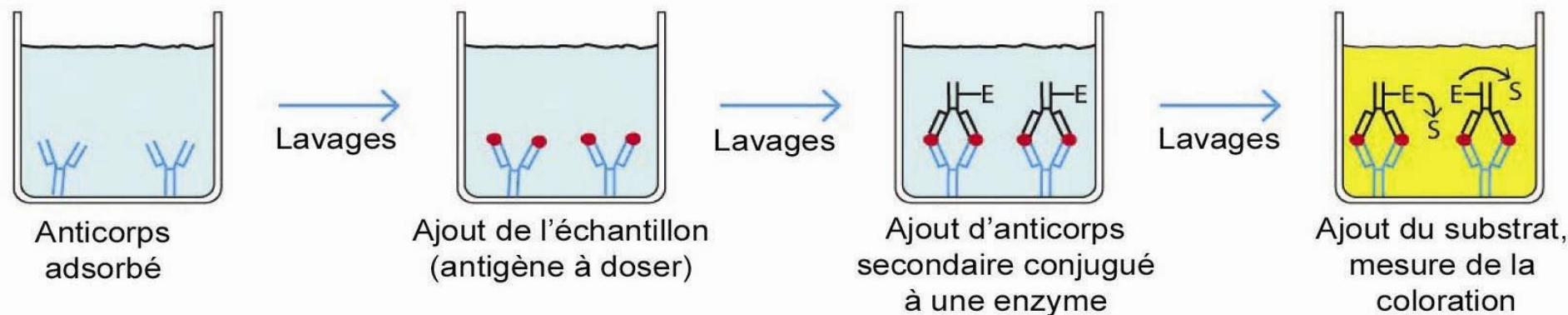


ELISA

(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.