Instituto Politécnico
de Castelo Branco

Instituto Politécnico de Castelo Branco

Pintado, Jéssica de Matos

La régulation des gènes de l'horloge circadienne intestinale par les nutriments : modélisation sur une lignée cellulaire de carcinome colique

https://minerva.ipcb.pt/handle/123456789/1966

Metadados

Data de Publicação 2005

Resumo Este estudo foi realizado na UFDNH do centro INRA de Nantes (França), de Março a Agosto de 2005. Foi efectuado sobre células Caco-2, sobre as quais tentamos ver se a glucose e o butirato podiam regular a expressão dos genes do relógio circadiano intestinal humano. O seguimento da expressão do factor de resposta ao soro sobre 18h por imunodetecção por epifluorescência confirmou o facto de se tratar de um factor de entrada do relógio. A imunodetecção por epifluorescência sobre 2h, 18h e sobre 48h ...

Palavras Chave Caco-2, PERIOD1, Sincronização, Butirato

Tipo report

Revisão de Pares Não

Coleções ESACB - Engenharia das Ciências Agrárias - Ramo Animal

Esta página foi gerada automaticamente em 2024-04-20T07:06:48Z com informação proveniente do Repositório

https://minerva.ipcb.pt

ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

LA RÉGULATION DES GÈNES DE L'HORLOGE CIRCADIENNE INTESTINALE PAR LES NUTRIMENTS: MODÉLISATION SUR UNE LIGNÉE CELLULAIRE DE CARCINOME COLIQUE

Engenharia das Ciências Agrárias – Ramo Animal

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Jéssica de Matos Pintado

CASTELO BRANCO

2005

Table des matières

TABLE DES MATIERES I
TABLE DES FIGURES III
TABLE DES TABLEAUX V
TABLE DES ANNEXES VI
RESUME VII
RESUMO VIII
ABSTRACT IX
ABREVIATIONS X

1. INTRODUCTION 1
2. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE 3
2.1. LA NOTION DE RYTHME BIOLOGIQUE 3
2.1.1. Paramètres caractérisant un rythme biologique 4
2.1.2. Méthodes utilisées au laboratoire pour caractériser les rythmes biologiques 5
2.1.3. Composantes des rythmes biologiques 5
2.2. QU'EST-CE QU'UN OSCILLATEUR BIOLOGIQUE ? QU'ENTEND-ON PAR HORLOGE ? 7
2.3. CARACTERISTIQUES MOLECULAIRES DES GENES CODANT POUR UN COMPOSANT MOLECULAIRE DE L'HORLOGE 11
2.3.1. Les membres de la famille des gènes du complexe moléculaire central : CLOCK :BMAL1 ou NPAS2 :BMAL1 11
2.3.2. Les gènes Period sont des gènes membres de la famille des gènes codant pour la réponse génique immédiate 13
2.3.3. Les Cryptochromes, des gènes qui ont perdu l'activité photolyase chez les mammifères 16
2.3.4. Timeless, un gène dont la fonction a été supplantée par celle d'autres gènes 17
2.3.5. Les caséines kinase I, des composants critiques de l'horloge circadienne chez les mammifères 18
2.3.6. Les autres gènes 19
2.3.6.1. Dec1 et Dec2 19
2.3.6.2. Rev-erb alpha et Rev-erb beta 20
2.3.6.3. Ror-alpha 21
2.3.6.4. Les intrants 21
2.3.6.4.1. Le facteur de réponse au sérum (SRF) 21
2.3.6.4.2. Le facteur de croissance transformant alpha et le récepteur à l'EGF 22
2.3.6.4.3. Les prokinéticines 22
2.3.6.5. Les sortants 23
2.3.6.5.1. Les transporteurs de glucose (GLUT) 23

2.3.6.5.2. DBP, TEF et HLF 24
2.4. LES DIFFERENTES CLASSES D'HORLOGES CIRCADIENNES 25
2.5. LES SYNCHRONISEURS ET LA NOTION D'ENTRAINEMENT 27
2.6. CONCLUSION SUR L'ETUDE EXPERIMENTALE 30
3. MATERIEL ET METHODES 31
3.1. EXPRESSION DES ARN MESSAGERS CODANT POUR LES PROTEINES DE L'HORLOGE PAR DES COLONOCYTES DE 4 PATIENTS SAINS ET DES CELLULES DE CARCINOME COLIQUE EN CULTURE 31
3.2. CHOC SERIQUE ET FORMULATION DES MILIEUX DE CULTURE 32
3.3. IMMUNODETECTION DES PROTEINES SRF ET PERIOD1 32
3.4. SEMI-QUANTIFICATION DES SIGNAUX EMIS PAR LES CELLULES CACO-2 34
3.4.1. Semi-quantification de SRF sur tapis de cellules Caco-2 34
3.4.2. Semi-quantification des signaux (ADN et PERIOD1) émis par les noyaux de cellules Caco-2 34
3.5. DOSAGES DU D-GLUCOSE ET DU BUTYRATE 35
3.5.1. Dosages du D-glucose 35
3.5.2. Dosages du butyrate 36
3.6. CO-CULTURE ENTRE NEURONES DE NOYAUX SUPRACHIASMATIQUES ET CELLULES CACO-2 37
4. RESULTATS ET DISCUSSION 39
4.1. EXPRESSION DES ARN MESSAGERS CODANT POUR LES PROTEINES DE L'HORLOGE PAR DES COLONOCYTES DE 4 PATIENTS SAINS ET DES CELLULES DE CARCINOME COLIQUE EN CULTURE 39
4.2. SUIVI DE L'EXPRESSION DE PERIOD1 ET DE SRF AU COURS DU TEMPS 40
4.2.1. Suivi de l'expression de SRF sur 18h 40
4.2.2. Suivi de l'expression de PERIOD1 au cours du temps 42
4.2.2.1. Suivi de l'expression de PERIOD1 sur 18h 42
4.2.2.2. Suivi de l'expression de PERIOD1 sur 48h 43
4.3. EFFETS DE LA FORMULE DU MILIEU DE CULTURE SUR LES TAUX D'EXPRESSION DE PERIOD1 46
4.3.1. Révélation de l'expression de PERIOD1 avec différents milieux de culture 46
4.3.2. Evolution des taux de butyrate au cours du temps 49
4.4. CO-CULTURE ENTRE NEURONES DE NOYAUX SUPRACHIASMATIQUES ET CELLULES CACO-2 55
5. CONSIDERATIONS FINALES 58

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES
REMERCIEMENTS
ANNEXES

Resumo

Este estudo foi realizado na UFDNH do centro INRA de Nantes (França), de Março a Agosto de 2005. Foi efectuado sobre células Caco-2, sobre as quais tentamos ver se a glucose e o butirato podiam regular a expressão dos genes do relógio circadiano intestinal humano. O seguimento da expressão do factor de resposta ao soro sobre 18h por imunodetecção por epifluorescência confirmou o facto de se tratar de um factor de entrada do relógio. A imunodetecção por epifluorescência sobre 2h, 18h e sobre 48h (com um intervalo de 6h) da expressão oscilatória de PERIOD1 apoia a ideia segundo a qual *Period1* é um gene da resposta imediata, mas também um gene importante para o relógio. Além disso, foram testados quatro meios de cultura diferentes (DMEM 10% FCS, 25mM D-glucose, 1 mM butirato e sem glucose nem butirato) para ver se têm um efeito sobre a expressão de PERIOD1. Observamos que um meio suplementado em butirato era um sincronizador eficaz relativamente aos outros meios, e que a concentração de butirato (0,5, 1 e 2 mM) que permanece nos sobrenadantes de monocamadas de células Caco-2 foi reduzida significativamente sobre mais de 50h em relação aos sobrenadantes incubados em placas sem células (ANOVA em triplo, 5% de significância). Esses dados sugerem que o butirato poderia ser consumido pelas células Caco-2.

Palavras-chave: Caco-2, PERIOD1, sincronização, butirato.