

TECHNIQUES

I. Étude fonctionnelle de la cellule

Étude de la cellule : étude des fonctions associées aux compartiments + étude de la cellule entière

2 stratégies :

- Reconstitutions cellulaires : systèmes in vitro
→ mélange de différents composés cellulaires purifiés
- Modification du contenu cellulaire
→ Traitement pharmacologiques
→ Apport exogène ADN, ARN, Protéines

II. Reconstitution cellulaire

Mise en évidence de la Tubuline Gamma :

- Mélange Centrosomes purifiés + Tubuline purifiée + $MgCl_2$ + GTP à 37°C
- (1) Formation d'asters de MicroTubules
 - (2) En fractionnant les microtubules jusqu'à obtenir la + petite fraction permettant la nucléation on a trouvé le Gamma-TuRc (petits anneaux avec tubuline Gamma)

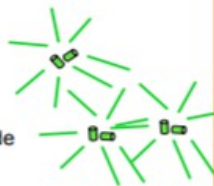
- Fractions purifiées
- Utilisation de support
- Vésicules lipidiques....

Système in vitro
« cell-free system »

EXEMPLE : Polymérisation des microtubules sur le centrosome

Centrosomes purifiés
Tubuline purifiée
+ $MgCl_2$ + GTP, 37°C

Formation d'aster de microtubules



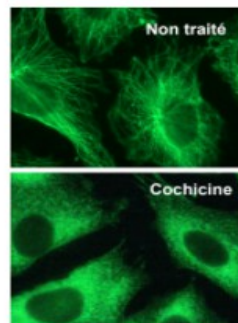
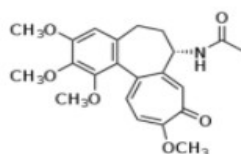
Utilisé pour mettre en évidence rôle tubuline gamma

III. Modification du contenu cellulaire

Après traitement par la Colchicine (empêche polymérisation des microtubules) : l'App de Golgi se retrouve éparpillé dans la cellule au lieu d'être en position péri-nucléaire

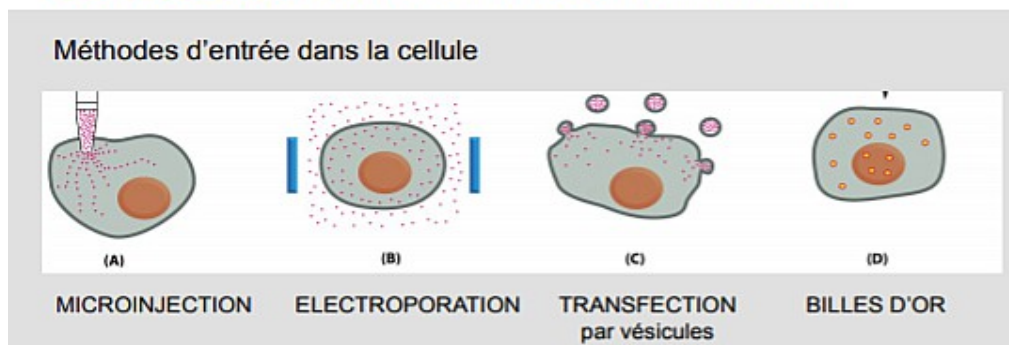
2.1 Traitement Pharmacologiques : Utilisation d'inhibiteurs chimiques et toxines (banques d'inhibiteurs)

EX : **Colchicine**
(poison des Microtubules)
---> implication du cytosquelette



2.2 Apport exogène ADN, ARN, Protéines

TRANSFECTION : Apport exogène d'ADN, ARN dans la cellule

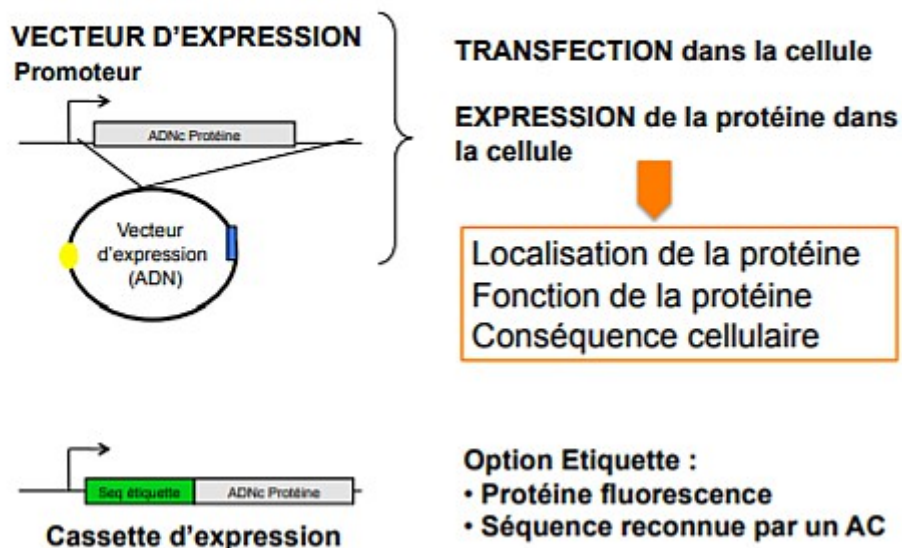


TRANSDUCTION: Apport exogène d'ADN, ARN dans la cellule par utilisation virus

APPORT EXOGENE de PROTEINES : Protéines, anticorps

Modification très précise du contenu de la cellule.

Exemple : Utilisation de vecteur d'expression



Exemple : Utilisation de vecteur d'expression

