Etude de l'expression des Wnts et des sFRPS dans la différenciation des myoblastes C2C12

Henri Bernardi, Yann Fédon, Jonathan Levin, Simon Descamps, Bernadette Rossano, Francis Bacou

▶ **To cite this version:**

Henri Bernardi, Yann Fédon, Jonathan Levin, Simon Descamps, Bernadette Rossano, et al.. Etude de l'expression des Wnts et des sFRPS dans la différenciation des myoblastes C2C12. Journées d'Animation Scientifique du département Phase (JAS Phase 2015), Oct 2015, Paris, France. 2005, Journées d'Animation Scientifique du département Phase (JAS Phase 2015). hal-02762493

HAL Id: hal-02762493
https://hal.inrae.fr/hal-02762493

Submitted on 4 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ETUDE DE L'EXPRESSION DES WNTs ET DES sFRPs DANS LA DIFFERENCIATION DES MYOBLASTES C2C12

BERNARDI Henri, FEDON Yann, LEVIN Jonathan, DESCAMPS Simon, ROSSANO Bernadette, BACOU Francis

Équipe "Cellules-souches adultes", UMR 866 Différenciation Cellulaire et Croissance, INRA, 2, place Viala, 34060 Montpellier

PRESENTATION: Les Wnts sont des glycoprotéines impliquées dans de nombreux processus physiologiques et physio-pathologiques tels que le déterminisme, la prolifération, la différenciation et la transformation cellulaire. Les Wnts sont au nombre de 19 représentants chez les mammifères et exercent la majorité de leurs effets en se liant aux récepteurs Frizzled (10 membres). Il existe par ailleurs des protéines régulatrices de l'activité des Wnts comme les sFRPs (5 membres). Si les rôles et fonctions des Wnts sont relativement bien étudiés au cours de l'embryogenèse ou la carcinogenèse, ils sont beaucoup moins connus chez l'adulte. Afin de mieux caractériser les fonctions des différents Wnts et sFRPs dans différentes conditions physiologiques et physio-pathologiques musculaires, nous nous proposons d'étudier dans un premier temps leurs profils d'expression, in vitro au cours de la différenciation des myoblastes murins C2C12 et des cellules satellites de souris, et in vivo dans des situations perturbant l'homéostasie musculaire, comme la régénération musculaire.

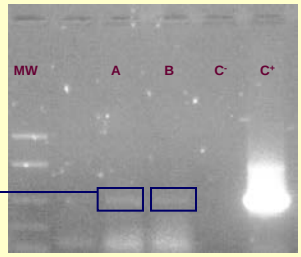
I. Étude par RT-PCR:

- Première PCR réalisée avec amorces dégénérées communes aux Wnts:

Comparaison des séquences des Wnts: Les acides aminés conservés sont soulignés

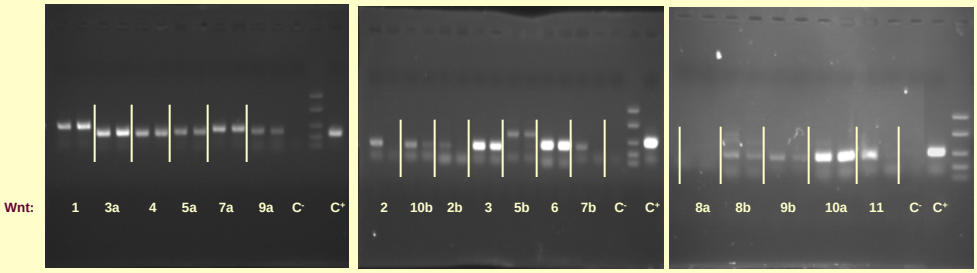
Amorce dégénérée sens: 5′NNGTCGACGCTTGYAARTGYCAYGG 3

Amorce dégénérée reverse (R): 5′NNGTTAACTACGTRRCARCACCARTG 3′



RT-PCR effectuée avec amorces dégénérées:
A: C2C12 prolifération, B: C2C12 différenciation
C⁻: Contrôle négatif, C⁺: Contrôle positif (Wnt10b)

- Seconde PCR réalisée avec amorce sens spécifique pour chaque Wnt:



PCR effectuée sur élution de la RT-PCR. Amorce sens spécifique Wnt, amorce reverse dégénérée (R).
Pour chaque Wnt, dépôt stade prolifération, stade différenciation.

Résultats:

✓ **Wnts dont la variation d'expression n'est pas détectable:**

Wnt3, Wnt3a, Wnt4, Wnt5a, Wnt5b, Wnt6, Wnt7a, Wnt9a, Wnt10a.

✓ **Wnts différentiellement exprimés aux stades de prolifération et de différenciation:**

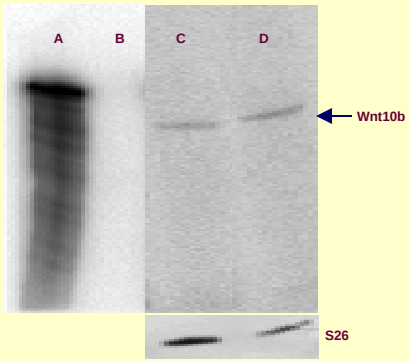
Wnt1, Wnt2, Wnt2b, Wnt7b, Wnt8b, Wnt9b, Wnt10b, Wnt11.

✓ **Wnt non exprimé:**

Wnt8a.

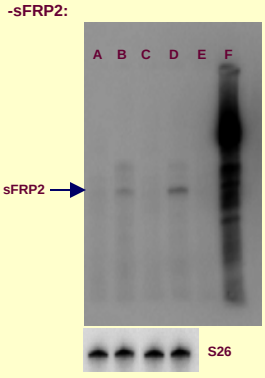
II. Quantification par RPA

- Wnt10b:



RPA sur ARN de myoblastes C2C12 (25ug):
A: sonde Wnt10b antisens, B: sonde Wnt10b antisens +RNase A/T1.
C: C2C12 différenciation, D: C2C12 prolifération.
S26: Quantification de l'expression par RPA avec l'invariant S26.

-sFRP2:



RPA sur ARN de myoblastes C2C12 (25ug):
A,B: C2C12 prolifération, C,D: C2C12 différenciation.
A,C: sonde sFRP2 sens, B,D: sonde sFRP2 antisens.
E: sonde sFRP2 antisens +RNaseA/T1, F: sonde sFRP2 antisens.
S26: Quantification de l'expression par RPA avec l'invariant S26.

Résultats:

✓ **Diminution de l'expression de Wnt10b d'un facteur 4 en différenciation**

✓ **Augmentation de l'expression de sFRP2 d'un facteur 3 en différenciation**

CONCLUSIONS:

Les approches associées de RT-PCR et de RPA permettent de définir un profil d'expression des Wnts et des sFRPs pour les myoblastes C2C12 en prolifération et en différenciation. Malgré des niveaux d'expression faibles, il apparaît que les Wnts sont différentiellement exprimés lors de la prolifération ou de la différenciation musculaire, permettant ainsi d'envisager des fonctions spécifiques dans ces deux processus.

L'extension de cette étude aux récepteurs Frz et son application aux systèmes de cellules satellites et de régénération musculaire constituera un pré-requis pour l'étude du système Wnt dans l'homéostasie du muscle.