



HAL
open science

Obtention de cellules ES-like de lapin dotées de caractéristiques comparables à cellules des cellules ES humaines

Suzy S. Markossian, T. Joly, Pascal Salvetti, Pierre Savatier, Marielle Afanassieff

► To cite this version:

Suzy S. Markossian, T. Joly, Pascal Salvetti, Pierre Savatier, Marielle Afanassieff. Obtention de cellules ES-like de lapin dotées de caractéristiques comparables à cellules des cellules ES humaines. 3ème Colloque National des cellules souches de l'IFR26, Jun 2006, Nantes, France. hal-02817543

HAL Id: hal-02817543

<https://hal.inrae.fr/hal-02817543>

Submitted on 6 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.

Structure Fédérative de Recherche en Santé François Bonamy

SFR SANTÉ

3^{ème} Colloque National des Cellules Souches de l'IFR26 -8 et 9 juin 2006- NANTES

A renvoyer le plus tard pour le **lundi 15 mai 2006** à l'adresse email suivante :

asa.iecm@vet-nantes.fr

Réponse du Comité Local d'Organisation le 19 mai 2006

Type de communication souhaitée :

Orale : oui Affichée : non

Votre adresse email : markossian@lyon.inserm.fr

OBTENTION DE CELLULES ES-LIKE DE LAPIN DOTEES DE CARACTERISTIQUES COMPARABLES A CELLES DES CELLULES ES HUMAINES.

MARKOSSIAN Suzy¹, JOLY Thierry², SALVETTI Pascal², SAVATIER Pierre¹ et AFANASSIEFF Marielle¹. 1: USC INRA/INSERM PrimaStem, INSERM U371, 18 Avenue du Doyen Lépine, 69675 Bron Cedex. 2: Pôle Agrosystèmes, Environnement et Production, ISARA, 31 Place Bellecour, 69288 Lyon Cedex 02.

Notre projet de recherche vise à obtenir des lignées de cellules souches embryonnaires (cellules ES) chez le lapin. Les cellules ES dérivent des cellules du bouton embryonnaire de blastocystes. Elles possèdent deux propriétés remarquables: (i) elles sont pluripotentes, c'est-à-dire capables de se différencier dans tous les lignages cellulaires composant un organisme adulte; et (ii) elles sont capables de s'autorenouveler, c'est-à-dire de se multiplier indéfiniment sans perdre leur pluripotence. Elles sont caractérisées par une forte activité phosphatase alcaline et par l'expression du gène d'autorenouvellement Oct-4.

Jusqu'à présent, des lignées de cellules ES ont uniquement été isolées chez les rongeurs et les primates. La difficulté d'obtention de lignées de cellules ES chez d'autres espèces réside principalement dans les problèmes d'adaptation des cellules souches blastocytaires aux conditions de culture. Ces dernières doivent être optimisées pour permettre le maintien de l'autorenouvellement des cellules souches. Les différentes tentatives d'obtention de cellules ES de lapin ont, jusqu'ici, été basées sur les conditions expérimentales utilisées chez la souris et sont restées vaines. Nous avons donc basé notre stratégie sur l'utilisation des conditions expérimentales permettant l'isolement de lignées de cellules ES chez les primates humains et non humains.

Nous avons tout d'abord confirmé l'expression du gène Oct-4 dans les blastocystes de lapin. Celle-ci est localisée non seulement dans le bouton embryonnaire, mais aussi dans le trophoctoderme. Nous avons ensuite isolé puis mis en culture des boutons embryonnaires de lapin. Ces cultures sont réalisées sur des fibroblastes embryonnaires de souris inactivés, dans du milieu de culture DMEM contenant 10% de FCS, 10% de Knock Out Serum Replacement

et 8ng/ml de bFGF. Nous obtenons ainsi, de façon reproductible, des colonies de cellules compactes, présentant un rapport nucléo-cytoplasmique élevé et des nucléoles clairement visibles. Ces cellules ressemblent morphologiquement aux cellules ES humaines. Elles sont positives pour l'activité phosphatase alcaline et expriment le gène Oct-4. Elles se divisent très rapidement et doivent être dissociées mécaniquement et réensemencées tous les deux jours. Elles commencent à se différencier spontanément à partir du 5ème ou 6ème passage. Cette différenciation s'accompagne de la perte d'expression du gène Oct-4. Nous optimisons actuellement les conditions de culture de ces cellules afin d'améliorer leur capacité d'autorenouvellement.

En conclusion, l'utilisation de conditions expérimentales optimales pour l'isolement de lignées de cellules ES de primates, nous permet d'obtenir des cellules "ES-like" de lapin. Celles-ci présentent une morphologie et des caractéristiques identiques à celles des cellules ES humaines.