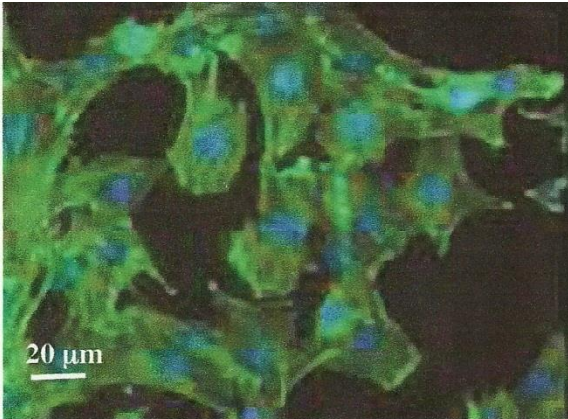


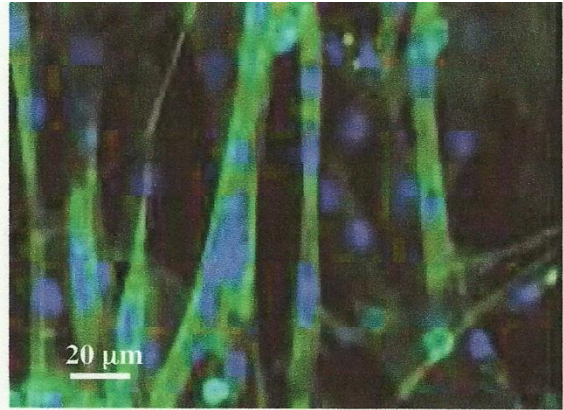
Document 1. Modifications d'une culture de myoblastes dans un milieu de différenciation.

Des cultures in vitro de cellules musculaires embryonnaires de souris, les myoblastes, sont utilisés comme modèle pour étudier la myogenèse :

- Dans un milieu de culture dit « de prolifération », les cellules se multiplient.
- Lorsqu'elles sont transférées du milieu de prolifération vers un milieu de différenciation (= induction de la différenciation), des modifications sont observées. Néanmoins, **le nombre total de noyaux de la culture ne change pas.**



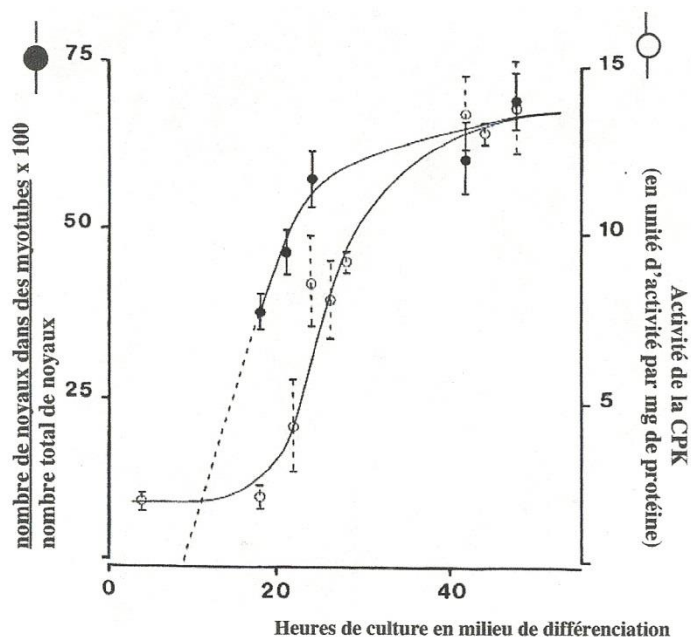
A- Culture des myoblastes en milieu de prolifération



B- Après 72 heures de culture en milieu de différenciation, les cellules se contractent spontanément et sont appelées des myotubes.

Les cellules sont observées au microscope à fluorescence. Les noyaux sont colorés en bleu, les molécules d'actine sont colorées en vert.

C- Le pourcentage des noyaux qui sont présents dans des myotubes est déterminé en fonction de la durée de culture en milieu de différenciation et exprimé en pourcentage du nombre total de noyaux (O). L'enzyme créatine phosphokinase (CPK) s'exprime de façon spécifique chez les cellules musculaires différenciées. Son activité est mesurée (en unité d'activité par mg de protéine) en fonction de la durée de culture en milieu de différenciation (O).



Document 2. Cadhérines et formation des myotubes.

Chez les vertébrés, le processus d'adhérence cellulaire fait intervenir une famille de molécules, les cadhérines. Ces glycoprotéines membranaires, en présence d'ions calcium, adhèrent spécifiquement aux cadhérines d'une autre surface cellulaire.

Des cadhérines musculaires ont été identifiées à la surface des myoblastes. L'implication de ces molécules dans la myogenèse est recherchée.

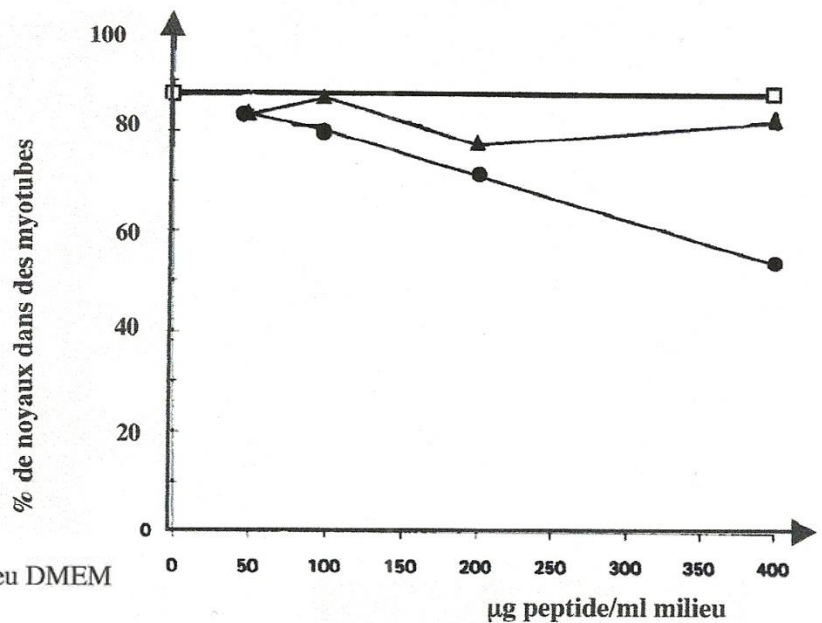
Une culture témoin de myoblastes de Poulet est effectuée dans le milieu de différenciation appelé milieu DMEM contenant 2 mM de Ca^{2+} .

D'autres cultures cellulaires sont effectuées dans des milieux de différenciation modifiés :

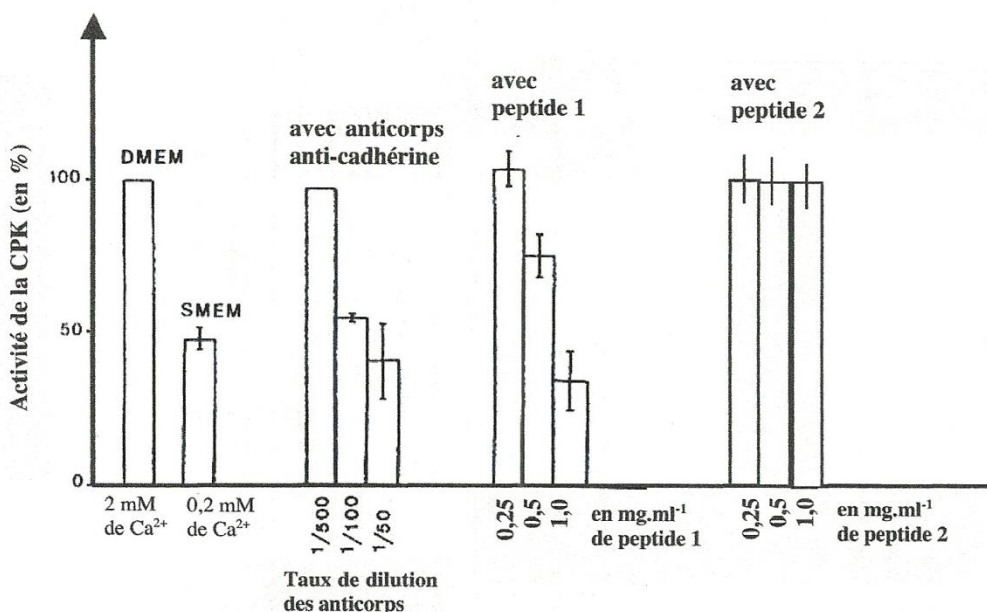
- milieu SMEM : milieu de différenciation à faible concentration de calcium 0,2 mM de Ca^{2+}
- milieu DMEM + anticorps anti-cadhérine musculaire à divers taux de dilution (1/500, 1/100, 1/50),
- milieu DMEM + diverses concentrations de peptides synthétiques :

- peptide 1 : peptide synthétique de 10 acides aminés, identique à une zone de la région extracellulaire d'une cadhérine musculaire.
- peptide 2 : peptide synthétique de 10 acides aminés, de même composition en acides aminés que le peptide 1 mais de séquence différente, n'existant pas dans la cadhérine.

Graphique A. Le pourcentage de noyaux qui sont présents dans des myotubes, exprimé en pourcentage du nombre total de noyaux, est déterminé 48 h après le déclenchement de la différenciation en présence ou pas de peptides synthétiques. Les résultats présentent la moyenne de trois cultures indépendantes dans lesquelles 1000 noyaux ont été comptés.



- en absence de peptides synthétiques dans le milieu DMEM
- milieu DMEM + peptide 1
- ▲ milieu DMEM + peptide 2



Graphique B. Des myoblastes sont mis en culture dans divers milieux de différenciation. L'activité de l'enzyme créatine phosphokinase (CPK) est mesurée après 48 h de culture. Cette activité est exprimée en pourcentage de l'activité présentée par l'enzyme dans les cellules de la culture témoin DMEM.