

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	3
AVERTISSEMENT	4
AVANT PROPOS	5

Méthodes et techniques de la biologie du développement

1. Les techniques de microscopie	7
1.1. La microscopie photonique.....	7
1.1.1. Préparation et analyse des échantillons	9
1.2. Le microscope électronique.....	11
1.2.1. Préparation et analyse des échantillons	12
1.2.2. Cryofracture et cryodécapage.....	13
1.2.3. Microscope à balayage	14
2. Etude de l'expression des gènes : Détecter les transcrits et les protéines au cours de l'ontogenèse – l'outil anticorps	15
2.1. La RT-PCR	15
2.2. Les microarrays et les macroarrays	16
2.3. Le transfert Northern (Northern blot)	19
2.4. L'hybridation <i>in situ</i>	20
2.5. Le transfert western (western blot) et l'immunohistochimie	23
2.6. L'immunoprécipitation.....	25
2.7. L'immunoprécipitation de la chromatine.....	26
3. Etude de la fonction des gènes au cours du développement : Les techniques de perte et de gain de fonction	27
3.1. Les techniques de transfection.....	27
3.2. Les souris transgéniques.....	29
3.3. L'inactivation génique et les souris « knock-out »	31
3.4. Les stratégies antisens.....	33
3.5. Les oligomorpholinos.....	33

3.6. L'interférence ARN	34
3.7. La technique de « dominant négatif »	38
4. Les méthodes de l'embryologie moléculaire utilisées chez l'embryon de xénope.....	41
4.1. Analyse <i>in vitro</i>	42
4.2. Surexpression et expression génique ectopique	42
4.3. Test de la calotte animale (« animal cap assay »)	44
4.4. Ventralisation et dorsalisation expérimentales de l'embryon	45
4.5. Analyse des coupes histologiques et interprétation des figures d'hybridation <i>in situ</i>	47

Exercices - Enoncés

Exercice 1 : Analyse d'images d'hybridation <i>in situ</i> sur embryon entier	49
Exercice 2 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (I)	51
Exercice 3 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (II)	57
Exercice 4 : Déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle (III)	69
Exercice 5 : Spécification de l'ectoderme.....	81
Exercice 6 : Induction du mésoderme (I) - Voie de signalisation Wnt/ β -caténine..	89
Exercice 7 : Induction du mésoderme (II) - Signalisation Nodal	99
Exercice 8 : Induction du mésoderme (III) : Implication de goosecoïd	111
Exercice 9 : Induction du mésoderme (IV) : régulation de l'expression du gène <i>chordin</i>	119
Exercice 10 : Fonction et mode l'action de la protéine chordin	129
Exercice 11 : Régionalisation du mésoderme (I).....	139
Exercice 12 : Régionalisation du mésoderme (II).....	147
Exercice 13 : Régulation de la voie de signalisation Wnt-8	157
Exercice 14 : Régulation de la voie de signalisation TGF β (I).....	167
Exercice 15 : Régulation de la voie de signalisation TGF β (II).....	177
Exercice 16 : Régulation de la voie de signalisation TGF β (III)	189
Exercice 17 : Protéases sécrétées et régulation de la voie de signalisation FGF	203
Exercice 18 : Répression transcriptionnelle et induction du mésoderme.....	213
Exercice 19 : Mise place du neurectoderme (I).....	219