

Sommaire :

## Chapitre 1 — Le cycle cellulaire et sa régulation

- \* Définition des phases du cycle : G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>, M et G<sub>0</sub>.
- \* Méthodes expérimentales pour l'étude du cycle : synchronisation, fusion cellulaire, mutants de température, marquages.
- \* Rôle des **\*\*cyclines\*\***, **\*\*CDK\*\***, **\*\*phosphatases\*\***, **\*\*inhibiteurs\*\*** (p21, p27...).
- \* Mécanismes de surveillance de l'intégrité du génome (points de contrôle).
- \* Dysrégulation du cycle et cancérogenèse.

## Chapitre 2 — Fixation des échantillons pour l'analyse du cycle cellulaire

\*C. Cottet-Rousselle\*

- \* Choix des fixateurs (alcools, aldéhydes, mélanges).
- \* Impact sur la perméabilité membranaire, la conservation et la stœchiométrie du marquage ADN.
- \* Comparaison des protocoles selon le type cellulaire (cellules en culture, tissus, levures, parasites).
- \* Optimisation de la fixation pour la précision du signal fluorescent.

## Chapitre 3 — Fluorochromes pour l'analyse du cycle cellulaire et de la prolifération

### 1. **\*\*Marquage de l'ADN**

\* Colorants classiques : iodure de propidium (PI), DAPI, Hoechst, 7-AAD.

\* Relation entre fluorescence et contenu en ADN.

\* Excitation par différents lasers (UV, violet, bleu, rouge).

## 2. \*\*Marquage de la prolifération\*\*

\* Sondes polaires (CFSE, CellTrace) et lipophiles (PKH, DiO, Dil).

\* Suivi des divisions cellulaires par dilution du traceur.

## 3. \*\*Aspects pratiques\*\*

\* Compensation de fluorescence, saturation, contrôle de viabilité.

---

## Chapitre 4 — Analyse mono- et multiparamétrique du cycle cellulaire

\*X. Ronot, J.-F. Mayol, S. Léonce, D. Grunwald\*

\* \*\*Analyse monoparamétrique\*\* : histogrammes ADN, modélisation (Watson Pragmatic, Dean-Jett-Fox).

\* Estimation des populations  $G_1$ , S,  $G_2/M$ .

\* Limites de la détection et gestion des bruits de fond.

\* \*\*Analyse multiparamétrique\*\* :

\* Incorporation du BrdU, EdU ou Ki-67 pour mesurer la phase S.

\* Marquages combinés ADN/ARN, ADN/protéines cycliques.

\* Étude du cycle et de l'activité métabolique simultanée.

\* Détection des cellules quiescentes, apoptotiques ou mitotiques.

## Chapitre 5 — Cytogénétique en flux

- \* Préparation des chromosomes pour la cytométrie : choc hypotonique, fixation, coloration (Hoechst/Chromomycin).
- \* Analyse du contenu chromosomique global.
- \* Applications : tris chromosomiques, aneuploïdies, polymorphismes.
- \* Intérêt en recherche fondamentale et en diagnostic génétique.

## Chapitre 6 — Quiescence, sénescence et mort cellulaire

- \* Différenciation entre quiescence ( $G_0$ ), sénescence, apoptose et nécrose.
- \* Marqueurs cytométriques spécifiques :
  - \* Quiescence → profil ADN/ARN, faible activité métabolique.
  - \* Sénescence →  $\beta$ -galactosidase, perte de prolifération.
  - \* Apoptose → perte de potentiel mitochondrial, exposition de phosphatidylsérine (Annexin V), fragmentation d'ADN.
- \* Étude dynamique des transitions entre états.

## Chapitre 12 — Analyse du cycle cellulaire chez les parasites

- \* Adaptation des protocoles de CMF aux parasites protozoaires : \*Toxoplasma gondii\*, \*Leishmania\*, \*Trypanosoma\*, \*Plasmodium\*, \*Giardia\*.

- \* Spécificités du cycle parasitaire et implications pour la recherche thérapeutique.
- \* Utilisation du marquage ADN et de sondes vitales.

### Chapitre 13 — Analyse du cycle cellulaire chez les bactéries marines

- \* Application de la cytométrie en flux à la microbiologie marine.
- \* Étude du contenu en ADN, des états physiologiques et de la croissance bactérienne.
- \* Méthodes de marquage des acides nucléiques (SYBR Green, DAPI).
- \* Applications écologiques et biogéochimiques.

### Annexes

- \* Protocoles types de préparation et d'acquisition.
- \* Fiches techniques des fluorochromes.
- \* Conseils pour l'analyse statistique et la validation des données.
- \* Index des termes techniques.