

3.4 Comment étudier l'effet des virus sur les voies cellulaires ?

Bienvenue dans une nouvelle vidéo sur diagnostic viral. Vous savez sûrement que lorsqu'un virus infecte une cellule, il réalise une série de déséquilibres moléculaires, qui font que la cellule synthétise des molécules en réponse à l'infection, eh bien comme moyen de défense ou d'informer les autres cellules de l'infection. Dans cette vidéo, nous allons parler des microarrays, une technique utilisée pour connaître les voies de la cellule qui sont touchées par l'infection virale.

Microarrays ou puces à ADN, qu'ils sont synonymes, ont de nombreuses applications dans la recherche, par exemple, pour développer des médicaments, pour étudier l'expression des gènes liés avec la pathogénicité virale, etc. Mais il y a d'autres puces qui peuvent servir au diagnostic, pour identifier les nouveaux virus, pour surveiller les patients traités par antiviraux, ou pour contrôler la qualité des vaccins et confirmer qu'ils sont exonérés des micro-organismes contaminants. Donc, comme vous pouvez le voir, les usages sont innombrables. D'ailleurs conçu pour diagnostiquer de nombreux virus les microarrays sont appelés virochips.

Ils sont constitués d'une membrane qui peut être en nylon, silicone ou une lame de verre simple. L'ADN de plusieurs gènes est trié selon un modèle spécifique et immobilisé dans cette membrane. Ces fragments d'ADN, connu comme sondes ou oligomères, sont disposés en points ou taches microscopiques. Quand un virus infecte une cellule, une série de signaux sont déclenchés. Ils atteignent le noyau et activent des gènes spécifiques. Le résultat est la synthèse de l'ARNm qui va dans le cytoplasme. Eh bien, cet ARNm (ou après transcription inverse en ADN complémentaire) s'hybride avec l'ADN attaché à la matrice solide.

Two-channel microarrays

La technique typique implique l'extraction de l'ADN messagère des cellules infectées et non infectées. Avec l'enzyme RT, que nous avons vu dans les vidéos précédentes, l'ARNm est inverse transcrit en ADNc, à l'aide de dNTPs marqués avec différentes couleurs pour les cellules infectées et pour les cellules non infectées, alors qu'ils sont marqués avec des couleurs différentes de fluorescence. Lorsque ces ADNc est ajoutés à la matrice avec des milliers de séquences d'ADN, dans de bonnes conditions, s'il y a cette complémentarité entre la sonde de la biopuce et l'ADNc, ils ont tous deux s'hybrider. Car ils ont une couleur différente, nous pouvons déterminer avec laquelle les sondes s'hybride l'ADNc des cellules infectées et de non infectées, et ainsi déterminer l'expression des gènes qui a déclenché l'infection virale. N'oubliez pas que dans la puce il y a des milliers de sondes, donc dans la même expérience nous pouvons voir l'expression de nombreux gènes différents, qui sont identifiés par leur position sur la puce. Bien que cela puisse paraître compliqué, puces à ADN peuvent être personnalisées selon le but pour lequel ils seront utilisés. Et ne vous inquiétez pas, qu'ils ne sont pas lus manuellement : Il y a des lecteurs de microarray et programmes spécialisés pour interpréter les signaux fluorescents.

One-channel microarrays

Un fluorochrome d'une unique couleur, peut également être utilisé surtout si nous voulons quantifier la quantité d'ARNm parce qu'ainsi nous verrons des valeurs absolues, que nous comparerons avec l'intensité de la fluorescence qui fournit des ADN dilué à des concentrations connues. De cette façon, les résultats peuvent être comparés entre différents laboratoires ou obtenus à des moments différents.

Dans cette vidéo, nous avons vu une introduction aux microarrays une technologie très puissante, avec de nombreuses applications. Je suis sûr que vous avez beaucoup de questions. Il y a une vidéo en anglais dans les documents supplémentaires qui permettra de résoudre bon nombre d'entre eux.

En outre, comme cela termine cet article de diagnostic par l'intermédiaire des acides nucléiques, n'oubliez pas de faire les exercices correspondants.

Je vous remercie beaucoup pour votre attention.