



Dans la peau d'un chercheur Recherche en cancérologie

Dans la blouse d'un chercheur – Recherche en cancérologie
de Sara Croisard / Alain Planques
est sous licence CC BY – NC – ND 2.0



Avec le soutien de :



Inserm



INRAE



Promotion : François Coutarel et Cécile Vassy

Réalisation : Sara Croisard

Ingénierie pédagogique : Alain Planques

Conseillère pédagogique : Valérie Rouchaud

Conseillère scientifique : Anne Druilhe

Avec la participation des scientifiques : Amy Gateau, Anne Druilhe, Christelle Oblet, Fabienne Baraige, Karine Durand, Kenza Guiyedi, Lionel Forestier

Poster de Marie Boutaud, Clément Auger, Zeinab Tarhini, Mireille Verdier, Niki Christou

Images créées par les scientifiques ou provenant de SMART - Servier Medical Art

Diaporamas animés créés avec l'aide de Bruno Prunières et de Pierre Terrier

Sommaire :

- p 1 Introduction
- p 3 Présentation de la ressource
 - le public
 - le programme scolaire
 - la temporalité
- p 4-15 Les étapes détaillées et guidées
- p 16 Aide à la navigation
- p 17 Annexes
 - p18. Rappel des réponses aux questions
 - p 23. Outils et matériel utilisés
 - p 25. Documents à télécharger
 - p 32. Licence et contributions

Introduction

Bienvenue dans cette aventure scientifique en réalité virtuelle ! Ce livret d'accompagnement est conçu pour guider les enseignants de Sciences de la Vie et de la Terre (SVT) dans l'utilisation d'une ressource numérique innovante. Grâce à une situation concrète menée en réalité virtuelle dans un laboratoire de recherche, les élèves auront l'opportunité unique de plonger au cœur du travail de recherche scientifique. Les élèves ne seront pas seulement des spectateurs passifs ; ils seront activement impliqués dans le processus de recherche, se mettant dans la peau de véritables chercheurs.

Objectifs

Grâce à une situation concrète menée en réalité virtuelle dans un laboratoire de recherche, les élèves sont amenés à appréhender une partie de la complexité d'un travail de recherche. *Il est cependant nécessaire de préciser que, pour permettre à des élèves de 1^{ère} de suivre et de comprendre la recherche menée, le nombre d'étapes a été volontairement réduit.*

C'est aussi l'occasion, pour eux, de découvrir les règles de bioéthique qui encadrent l'expérimentation sur des animaux et permettent les progrès de la science tout en respectant, au mieux, le bien-être animal

Enfin les élèves vont pouvoir découvrir les différents métiers des personnels du laboratoire et les parcours qui y mènent.

Synopsis

Les élèves vont devoir déterminer, en se mettant dans la « peau d'un chercheur » travaillant dans un laboratoire de recherche, si un allèle, l'allèle G743A de la p53, est un allèle qui prédispose au cancer.

Le résultat de la recherche menée sera présenté sous la forme d'une affiche scientifique qui récapitulera les grandes étapes de la démarche, les résultats obtenus et leur interprétation pour répondre à la problématique.

Les élèves vont être invités à circuler dans les laboratoires pour y mener les différentes étapes de démarche scientifique permettant de répondre au problème posé. Au cours de leur déambulation, ils vont découvrir les étapes de cette démarche, les appareils et techniques utilisées dans les laboratoires et vont pouvoir récupérer les documents nécessaires pour réaliser leur affiche.

Avant de sortir de chaque salle, des questions sont posées aux élèves afin de vérifier qu'ils ont compris l'étape correspondante (les questions peuvent porter sur un élément de connaissance, sur le fonctionnement d'un appareil, le principe d'une technique ou sur le choix d'un résultat « valable » pour poursuivre la recherche)

Présentation de la ressource

Niveau concerné : Elèves de 1ère avec spécialité SVT.. Elèves de Terminale Sciences et Techniques de Laboratoire.	Partie du programme : Corps humain et santé Thème : Variation génétique et santé / Patrimoine génétique et santé Notions : Certains allèles de certains gènes rendent plus probable l'apparition d'une pathologie. Compétences : Pratiquer une démarche scientifique	Temporalité d'utilisation de la ressource : Il est vivement conseillé d'utiliser cette ressource en fin d'année scolaire. Prévoir 2 séances de 2 heures pour permettre une exploitation optimale pour les élèves quelque soit leur niveau.
--	---	---



La ressource se présente en 2 parties :

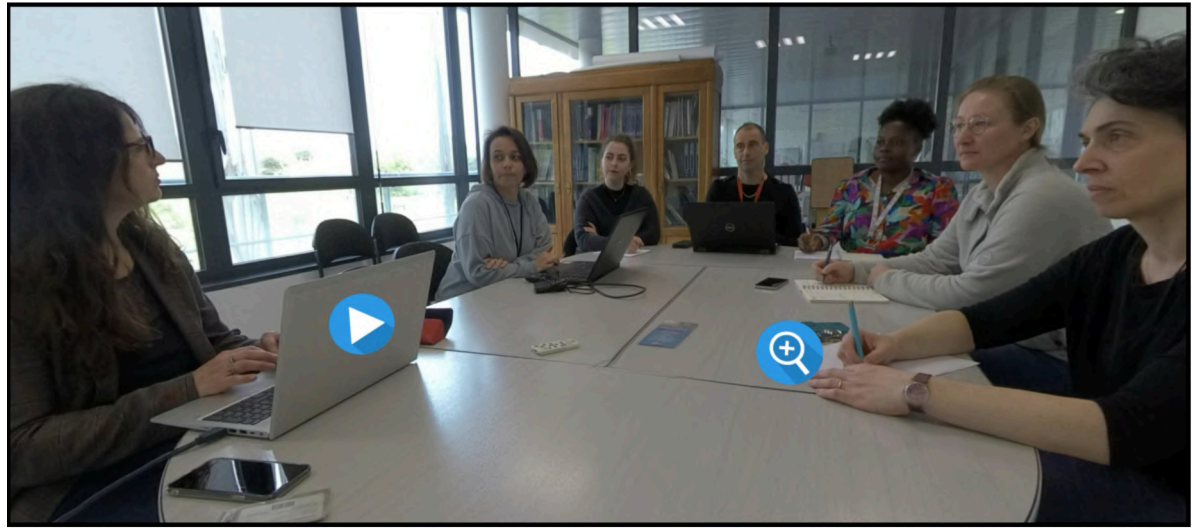
- le laboratoire dans lequel l'élève rencontre des scientifiques et réalise, comme s'il était doctorant, étape après étape, un projet de recherche,
- les métiers de la recherche où les 7 scientifiques rencontrés exposent leur parcours de formation, leur activité, leur motivation, ce qu'ils aiment dans leur quotidien. Les 7 personnes représentent différentes facettes des métiers de la recherche : chercheur (temps plein ou à temps partiel avec une activité additionnelle comme l'enseignement supérieur ou la pratique hospitalière), ingénieur, technicien et chercheur en formation (doctorant).



Le projet est réalisé en 8 étapes successives dont certaines sont subdivisées en sous-étapes : chaque étape se réalise dans une pièce différente. Ainsi, pour mener à bien le projet de recherche, l'élève doit progresser de pièce en pièce dans le bâtiment, chaque pièce portant le nom de l'étape concernée. Dans chaque lieu (image en 360°) dans lequel l'élève entre, il a la possibilité d'en faire le tour pour le découvrir. A chaque étape ou sous étape, l'élève a plusieurs actions à réaliser : lire un texte et/ou visionner un diaporama avec voix off, répondre à une question à faire valider par l'enseignant (toutes les réponses sont dans les documents à visionner), et dans certaines étapes, télécharger un document.

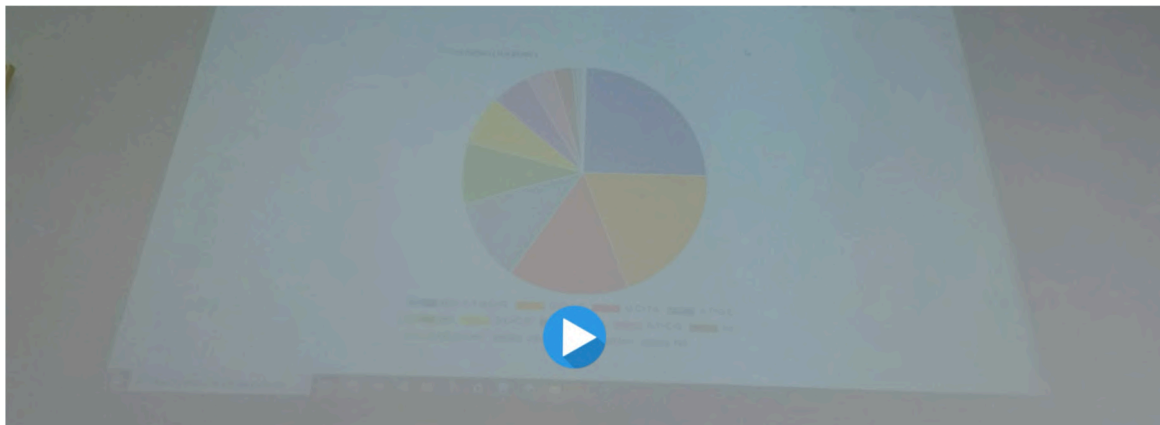
Les étapes guidées

Étape 1 :

Réunion de lancement de projet



- Visionner 2 documents 
- Répondre à la question « quel est le nom de l'allèle muté ? » - **Réponse : P53 G743A**
- Télécharger 1 document A rappelant les objectifs et les étapes à passer. 




Les étapes guidées

Étape 2a :

Amplification du gène d'intérêt par PCR

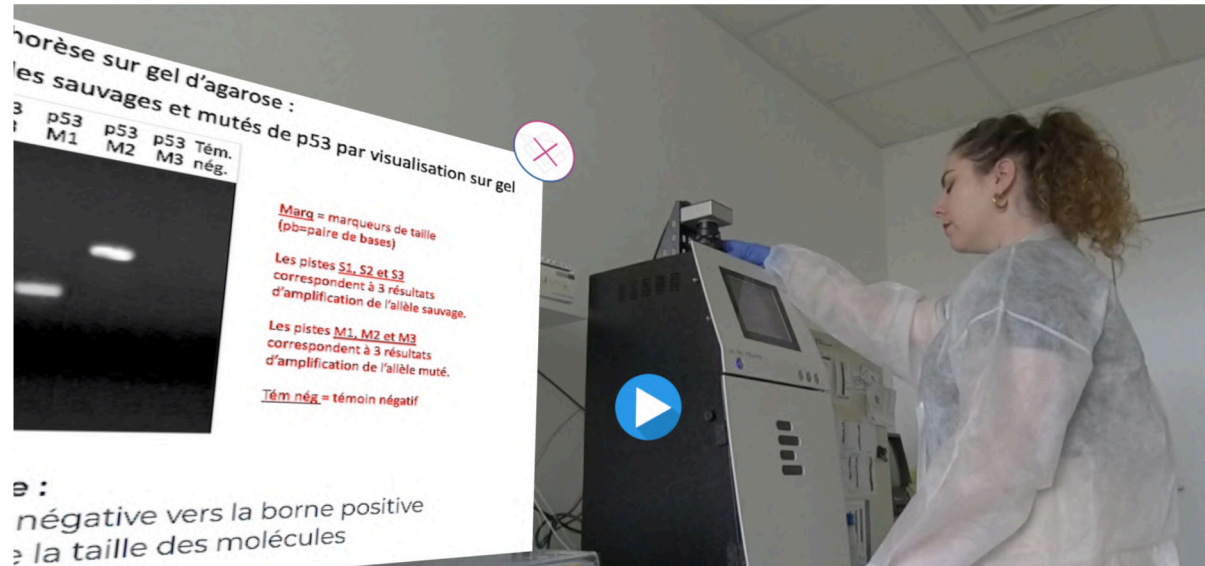



- Visionner 2 documents 
- Répondre à 2 questions
 1. Question 1 « quel est le nom de l'enzyme qui permet d'amplifier l'ADN ? » - **Réponse : ADN polymérase**
 2. Question 2 « quelle est la température qui permet de séparer les 2 brins d'ADN ? » - **Réponse : 95°C.**

Les étapes guidées

Étape 2b :

Electrophorèse pour visualiser l'ADN amplifié et le récupérer



- Visionner 1 document 
- Répondre à 2 questions
 1. Question 1 « quel est le principe de l'électrophorèse ? »
 - **Réponse 1 : l'ADN est une molécule chargée négativement ; déposé dans un gel (=matrice avec des mailles) et soumis à un champ électrique, l'ADN se déplace vers la cathode. Plus l'ADN est petit, plus il se déplace vite. L'électrophorèse permet donc de séparer les molécules d'ADN en fonction de leur taille et ainsi de repérer l'ADN correctement amplifié sur la base de sa taille visualisée sur le gel en comparaison de sa taille théorique et attendue.**
 2. Question 2 « quel est le numéro des pistes à utiliser pour récupérer l'ADN de p53 normal et celui de p53 muté ? »
 - **Réponses à la question 2 : pistes S1 (normal) et M2 (muté). Les pistes S2 et M3 ne sont pas exploitables car il n'y a pas eu d'amplification (pas de bande). La piste S2 n'est pas utilisable car il y a eu de l'amplification mais elle n'est pas spécifique : de l'ADN (zone blanchâtre) est visible mais cela ne forme pas une bande bien nette par une taille bien définie. La piste M1 doit être écartée car la bande visible ne correspond pas à la taille attendue de 1180 pb. EN M1, il y a bien eu amplification d'ADN mais non spécifique.**


Les étapes guidées



Étape 3 :

Préparation du vecteur contenant l'ADN p53 normal ou l'ADN p53 muté

Préparation du vecteur contenant l'ADN p53 normal ou l'ADN p53 muté qui permettra l'introduction du gène d'intérêt dans les cellules eucaryotes.

- Visionner 1 document 

- Question : « à quoi sert le gène de résistance à G418 ? » -



Réponse : G418 permet de sélectionner les bactéries dans lesquelles le vecteur portant le gène p53 normal ou muté a été introduit. En effet, G418 est un antibiotique qui tue les bactéries. Le gène de résistance à G418 est mis dans le vecteur qui contient le gène de p53 normal ou muté et le vecteur est introduit dans les bactéries pour y être amplifié. Les bactéries sont traitées avec G418 ; seules celles dans lesquelles le vecteur a bien été introduit prolifèrent. Les bactéries dans lesquelles le vecteur n'a pas été introduit meurent.

A noter que plus loin le G418 est aussi utilisé pour sélectionner les cellules eucaryotes qui ont incorporé le vecteur portant p53 normal ou muté ; la sélection des cellules eucaryotes avec G418 répond au même principe que la sélection des bactéries décrites ci-dessus.

Les étapes guidées

Étape 4 :

Séquençage de l'ADN

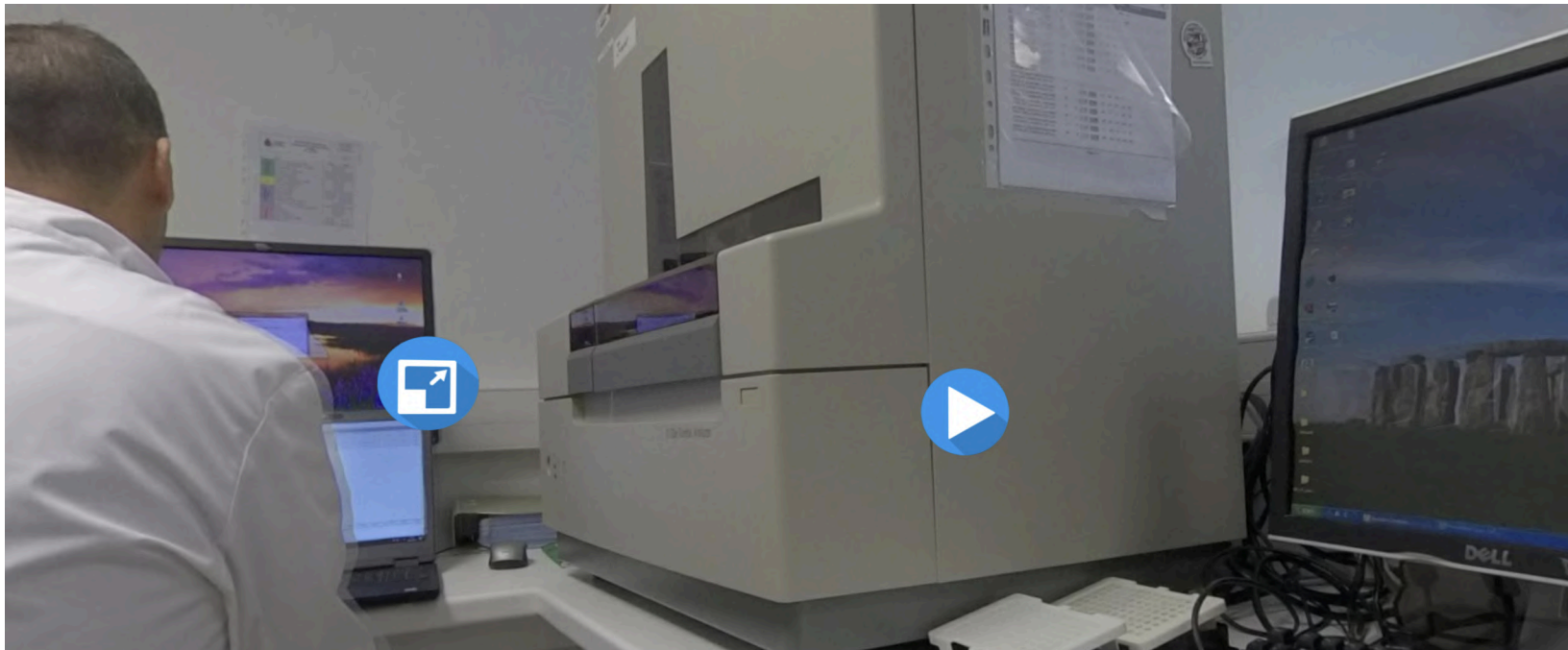
- Visionner 2 documents  
- Répondre à 2 questions

1. Question 1 « quelle est la raison pour laquelle le séquençage est nécessaire ? »

Réponse : s'assurer que la séquence de p53 normal et celle de p53 muté sont bien les bonnes séquences (pour rappel : la séquence a été sélectionnée sur la base de la taille amplifiée ; au cours de l'amplification, des erreurs ont pu survenir et certaines mutations ont pu être introduites).

2. Question 2 « quels sont les numéros des plasmides à sélectionner pour p53 normal et pour p53 muté ? »

Réponses : plasmide p53 sauvage 3 et plasmide p53 muté 1. Les autres plasmides ne sont pas corrects car le plasmide p53 sauvage 1 présente une délétion en 724, le sauvage 2 a une mutation en 779 et les plasmides p53 muté 2 et 3 n'ont pas la mutation en 743.






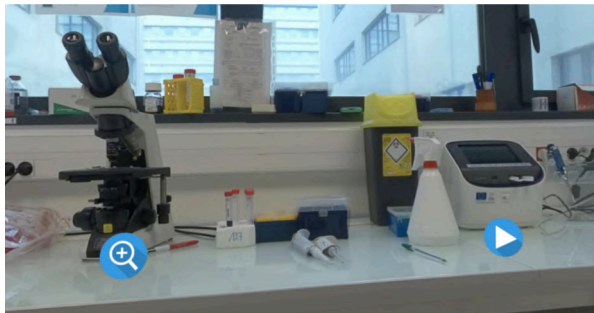
Les étapes guidées

Étape 5 :

Introduction du plasmide contenant p53 sauvage ou muté dans les cellules eucaryotes et culture de ces cellules.



- Trouver 2 équipements de protection individuelle dans le sas qui précède la pièce de culture de cellules eucaryotes.
- Visionner 3 documents   
- Répondre à 3 questions
 1. Question 1 « quel est le nom de la technique utilisée pour faire entrer les plasmides dans les cellules eucaryotes ? »
- Réponse : **électroporation**
 2. Question 2 « quel est le nom de la hotte utilisée pour préparer des cultures de cellules eucaryotes stérilement (sans être contaminé par des bactéries) »
- Réponse : **poste de sécurité microbologique**
 3. Question 3 « quel est le numéro de la flasque de cellules à choisir pour la suite des expériences ? »
- Réponse : **flasque 1. Les cellules utilisées dans la suite doivent contenir l'allèle p53 sauvage ou p53 muté qui a été amené par le plasmide. Les cellules qui nous intéressent sont celles qui résistent donc prolifèrent en présence de l'agent toxique G418 dont le gène de résistance est aussi porté par le plasmide. Dans la flasque 1, les cellules sont plus nombreuses et forment des petits amas traduisant qu'elles prolifèrent plus que les cellules de la flasque**




Les étapes guidées

Étape 6a :

Paramètres de caractérisation des cellules cancéreuses




Présentation des paramètres que l'on peut étudier in vitro (en culture) pour caractériser des cellules cancéreuses

- Visionner 1 document 
- Question : « quels paramètres peut-on étudier in vitro pour caractériser des cellules cancéreuses – en citer 2 ? »
- Réponse : **prolifération incontrôlée, génération de mutations, résistance au vieillissement et à la mort, et changement de phénotype (production de molécules immunosuppressives, production de molécules angiogéniques, phénotype migratoire).**

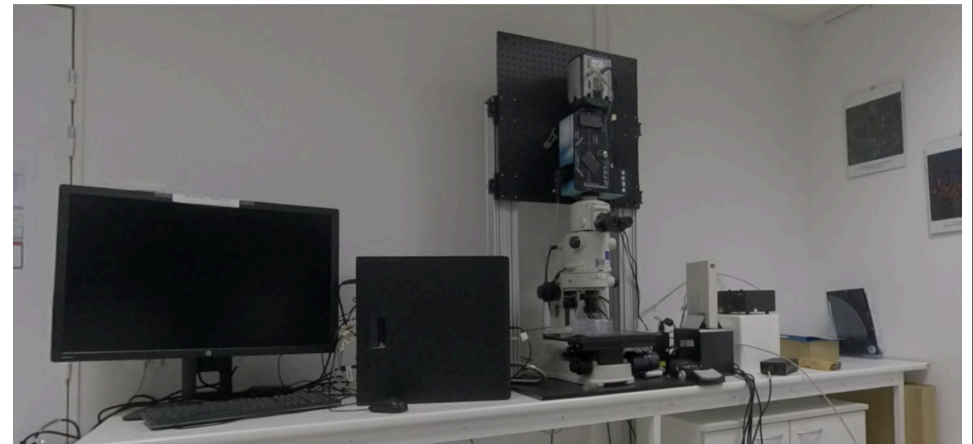
Les étapes guidées

Présentation d'outils de microscopie utilisés pour caractériser les cellules cancéreuses.

- Visionner 1 document 



Étape 6b :
Outils de microscopie





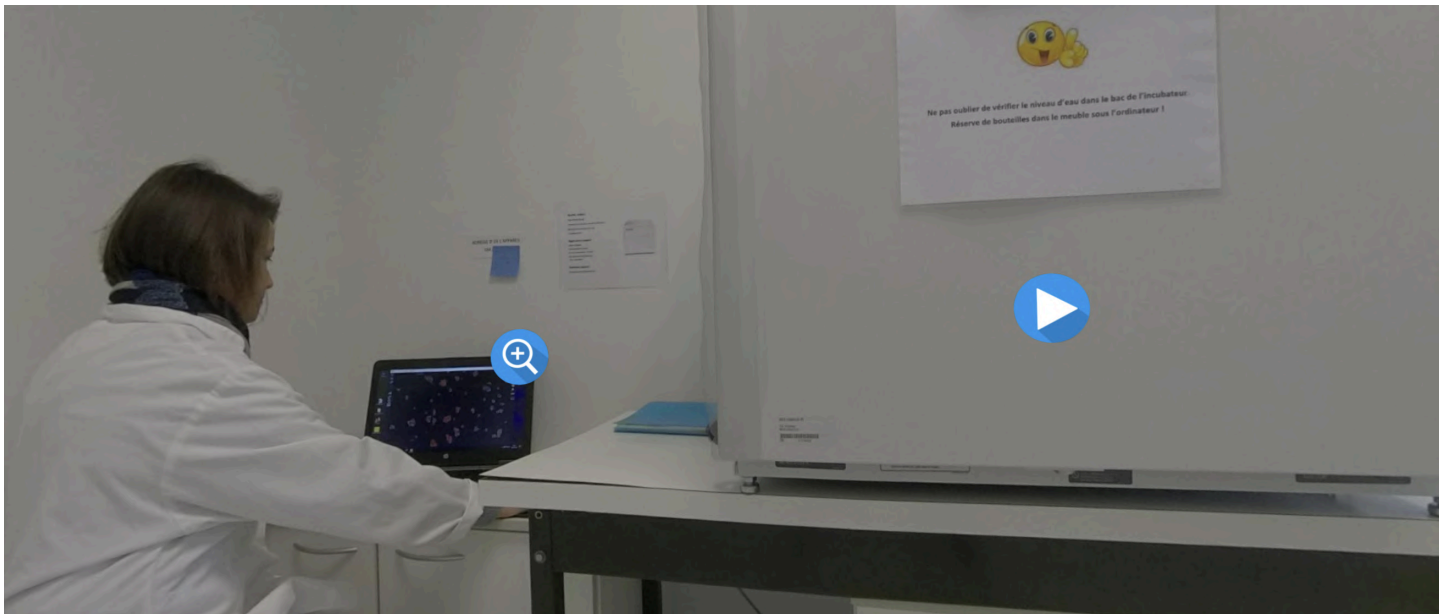
Les étapes guidées

Étape 6c :

Une technique d'étude des caractéristiques de cellules in vitro

Présentation d'une technique utilisée pour étudier les caractéristiques de cellules in vitro.

- Visionner 1 document 
- Question « quel paramètre est mesuré par le test de la blessure ? »
- Réponse : prolifération. Les cellules comblent l'espace laissé vide lors de la « blessure » du tapis cellulaire car elles prolifèrent mais aussi car elles migrent, se déplacent. La migration est aussi une réponse possible.
- Télécharger 1 document B  montrant des résultats d'une expérience de blessure faite sur des cellules eucaryotes contenant p53 sauvage ou p53 muté. Ces résultats sont à garder et seront à exploiter une fois le support entièrement parcouru.




Les étapes guidées

Étape 7 :

Stratégie pour suivre le développement tumoral in vivo

- Présentation de la stratégie pour suivre le développement tumoral in vivo (chez le petit animal utilisé ici comme modèle).
- Pour accéder aux informations, cliquer sur la flèche bleue.



- Visionner 2 documents 


- Répondre à 2 questions

1. Question 1 « à quoi correspondent les 3R ? »

- Réponse : il s'agit des principes éthiques que l'on doit respecter quand on utilise des animaux à des fins scientifiques ; ils veulent dire : remplacer les animaux chaque fois que possible, réduire le nombre d'animaux autant que possible pour avoir des résultats fiables, raffiner (améliorer) les conditions de vie des animaux et lors des expériences pour limiter toute gêne, souffrance physique ou psychique inutile.

2. Question 2 « pourquoi les souris sont-elles anesthésiées pendant l'imagerie ? »

- Réponse : pour être maintenu immobile quelques minutes le temps que l'imagerie se fasse.

- Télécharger 1 document  montrant des résultats d'une expérience d'imagerie faite sur des souris auxquelles ont été administrées des cellules eucaryotes contenant p53 sauvage ou p53 muté.

Ces résultats sont à garder et seront à exploiter une fois le support entièrement parcouru.



Les étapes guidées


Étape 8 :

Réunion de fin de projet.

P53 normal → Cellules contrôles → Souris contrôles

P53 muté → Cellules test → Souris test

Téléchargez un modèle de poster
Win : Ctrl+Clic
Mac : Command+Clic

- Visionner 1 document  avec possibilité de télécharger 1 poster pour exemple

Téléchargez un modèle de poster
Win : Ctrl+Clic
Mac : Command+Clic

- Question : « quelles sont les 4 parties importantes dans un poster de présentation d'un projet ? »
- Réponse : introduction, matériel et méthodes, résultats, conclusion. A ces parties, s'ajoutent 2 informations qui sont le titre et les auteurs du travail.

Les étapes guidées

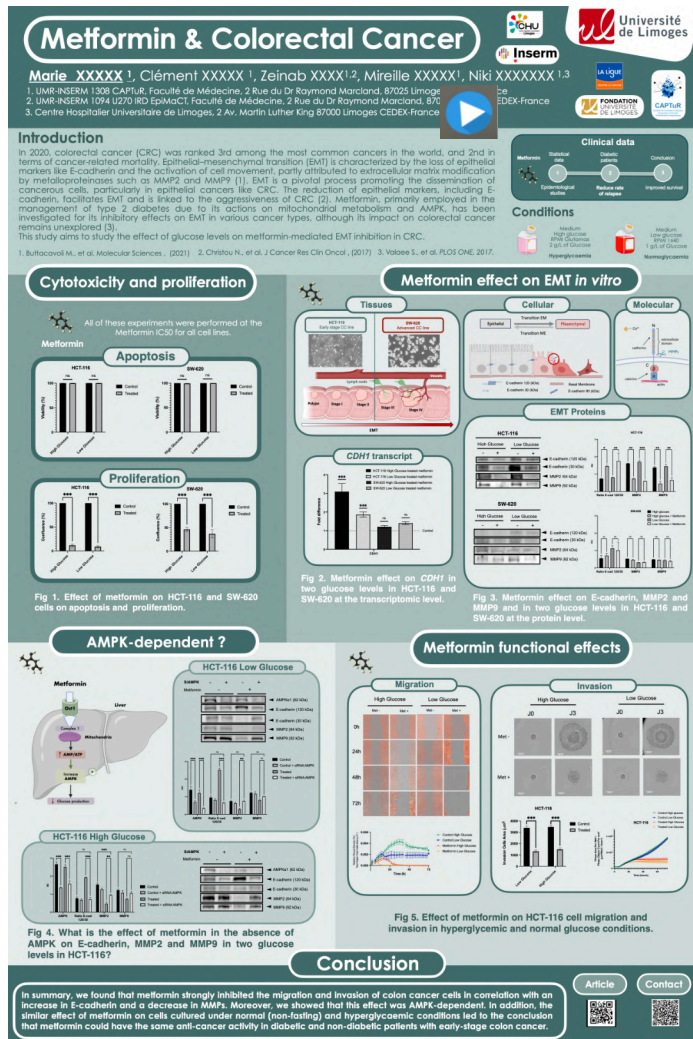
Étape 9 :

Hors ressource e.LAB.





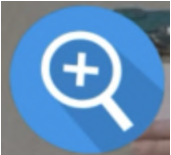

Exploitation des résultats (documents B et C) et préparation d'un poster.

Éléments à retrouver dans le poster :

- **Introduction** : p53 est un gène qui est muté dans 50% des cancers. De très nombreuses mutations ont été décrites. Certaines mutations de p53 conduisent à la production d'une protéine p53 défectueuse qui favorise le développement cancéreux. Dans ce projet on cherche à savoir si la mutation G743A contribue au développement cancéreux.
- **Matériel et méthodes (montrer des schémas, les phrases ne sont pas nécessaires)** : utilisation de cellules eucaryotes dans lesquelles ont été introduit le gène p53 muté ou le gène p53 normal (sauvage). Les cellules avec p53 sauvage servent de contrôle dans l'expérience. Les cellules sont mises en culture et un test de blessure est réalisé ; les cellules sont suivies au cours du temps par imagerie. Puis les cellules eucaryotes avec p53 sauvage ou muté sont administrées à des souris et le développement tumoral est suivi par imagerie.
- **Résultats (insérer les graphes des documents B et C, et les analyser avec des phrases)** : la surface laissée vide par la blessure est comblée par les cellules avec p53 sauvage comme celle avec p53 muté. La colonisation de l'espace laissé vide est plus rapide avec p53 muté. P53 muté favorise la prolifération des cellules eucaryotes. Il y a un développement tumoral léger des cellules qui ont p53 sauvage et beaucoup plus important avec les cellules qui ont p53 muté ; de plus 2 souris sur 6 qui ont reçu p53 muté développent des métastases ce qui n'est pas le cas des souris avec p53 sauvage.
- **Conclusion** : la mutation G743A favorise le développement cancéreux.



Aide à la navigation

Cliquer dans la scène et faire glisser (droite / gauche / haut / bas)	Explorer une scène
	Se déplacer d'une scène à l'autre
	Entrer dans une scène, démarrer une étape ou une sous-étape
 ou 	Ouvrir une vidéo, un document
	Télécharger un document
	Accéder à une question

ANNEXES

1- Rappel des réponses aux questions selon les étapes - p 18

2 - Outils et matériel utilisés - p 23

3 - Documents à télécharger - p 25

4 - Installation sous Moodle - p 32

5 - Licence et contributions - p 37

ANNEXE 1

Rappel des réponses aux questions selon les étapes

ANNEXE 1

Rappel des réponses aux questions selon les étapes (1/4)

<i>Etapes</i>	<i>Questions</i>	<i>Réponses</i>
<i>Etape 1</i>	Quel est le nom de l'allèle muté ?	P53 G743A
<i>Etape 2a</i>	Quel est le nom de l'enzyme qui permet d'amplifier l'ADN ? Quelle est la température qui permet de séparer les 2 brins d'ADN ?	ADN polymérase 95°C
<i>Etape 2b</i>	Quel est le principe de l'électrophorèse ? Quel est le numéro des pistes à utiliser pour récupérer l'ADN de p53 normal et celui de p53 muté ?	L'ADN est une molécule chargée négativement ; déposé dans un gel (=matrice avec des mailles) et soumis à un champ électrique, l'ADN se déplace vers la cathode. Plus l'ADN est petit, plus il se déplace vite. L'électrophorèse permet donc de séparer les molécules d'ADN en fonction de leur taille et ainsi de repérer l'ADN correctement amplifié sur la base de sa taille visualisée sur le gel en comparaison de sa taille théorique et attendue. Pistes S1 (normal) et M2 (muté). Les pistes S2 et M3 ne sont pas exploitables car il n'y a pas eu d'amplification (pas de bande). La piste S2 n'est pas utilisable car il y a eu de l'amplification mais elle n'est pas spécifique : de l'ADN (zone blanchâtre) est visible mais cela ne forme pas une bande bien nette par une taille bien définie. La piste M1 doit être écartée car la bande visible ne correspond pas à la taille attendue de 1180 pb. EN M1, il y a bien eu amplification d'ADN mais non spécifique

ANNEXE 1

Rappel des réponses aux questions selon les étapes (2/4)

<i>Etapes</i>	<i>Questions</i>	<i>Réponses</i>
<i>Etape 3</i>	À quoi sert le gène de résistance à G418 ?	G418 permet de sélectionner les bactéries dans lesquelles le vecteur portant le gène p53 normal ou muté a été introduit. En effet, G418 est un antibiotique qui tue les bactéries. Le gène de résistance à G418 est mis dans le vecteur qui contient le gène de p53 normal ou muté et le vecteur est introduit dans les bactéries pour y être amplifié. Les bactéries sont traitées avec G418 ; seules celles dans lesquelles le vecteur a bien été introduit prolifèrent. Les bactéries dans lesquelles le vecteur n'a pas été introduit meurent
<i>Etape 4</i>	Quelle est la raison pour laquelle le séquençage est nécessaire ? Quels sont les numéros des plasmides à sélectionner pour p53 normal et pour p53 muté ?	S'assurer que la séquence de p53 normal et celle de p53 muté sont bien les bonnes séquences (pour rappel : la séquence a été sélectionnée sur la base de la taille amplifiée ; au cours de l'amplification, des erreurs ont pu survenir et certaines mutations ont pu être introduites) Plasmide p53 sauvage 3 et plasmide p53 muté 1. Les autres plasmides ne sont pas corrects car le plasmide p53 sauvage 1 présente une délétion en 724, le sauvage 2 a une mutation en 779 et les plasmides p53 muté 2 et 3 n'ont pas la mutation en 743

ANNEXE 1

Rappel des réponses aux questions selon les étapes (3/4)

<i>Étapes</i>	<i>Questions</i>	<i>Réponses</i>
<i>Étape 5</i>	Quel est le nom de la technique utilisée pour faire entrer les plasmides dans les cellules eucaryotes ?	Électroporation
	Quel est le nom de la hotte utilisée pour préparer des cultures de cellules eucaryotes stérilement (sans être contaminé par des bactéries)	Poste de sécurité microbiologique
	Quel est le numéro de la flasque de cellules à choisir pour la suite des expériences	Flasque 1. Les cellules utilisées dans la suite doivent contenir l'allèle p53 sauvage ou p53 muté qui a été amené par le plasmide. Les cellules qui nous intéressent sont celles qui résistent donc prolifèrent en présence de l'agent toxique G418 dont le gène de résistance est aussi porté par le plasmide. Dans la flasque 1, les cellules sont plus nombreuses et forment des petits amas traduisant qu'elles prolifèrent plus que les cellules de la flasque 2
<i>Étape 6a</i>	Quels paramètres peut-on étudier in vitro pour caractériser des cellules cancéreuses – en citer 2 ?	Prolifération incontrôlée, génération de mutations, résistance au vieillissement et à la mort, et changement de phénotype (production de molécules immunosuppressives, production de molécules angiogéniques, phénotype migratoire).
<i>Étape 6c</i>	Quel paramètre est mesuré par le test de la blessure ?	Prolifération. Les cellules comblent l'espace laissé vide lors de la « blessure » du tapis cellulaire car elles prolifèrent mais aussi car elles migrent, se déplacent. La migration est aussi une réponse possible.

ANNEXE 1

Rappel des réponses aux questions selon les étapes (4/4)

<i>Etapes</i>	<i>Questions</i>	<i>Réponses</i>
<i>Etape 7</i>	<p>À quoi correspondent les 3R ?</p> <p>Pourquoi les souris sont-elles anesthésiées pendant l'imagerie ?</p>	<p>Il s'agit des principes éthiques que l'on doit respecter quand on utilise des animaux à des fins scientifiques ; ils veulent dire : remplacer les animaux chaque fois que possible, réduire le nombre d'animaux autant que possible pour avoir des résultats fiables, raffiner (améliorer) les conditions de vie des animaux et lors des expériences pour limiter toute gêne, souffrance physique ou psychique inutile.</p> <p>Pour être maintenu immobile quelques minutes le temps que l'imagerie se fasse.</p>
<i>Etape 8</i>	<p>Quelles sont les 4 parties importantes dans un poster de présentation d'un projet ?</p>	<p>Introduction, matériel et méthodes, résultats, conclusion.</p> <p>A ces parties, s'ajoutent 2 informations qui sont le titre et les auteurs du travail.</p>

ANNEXE 2
Outils et matériel utilisés

ANNEXE 2

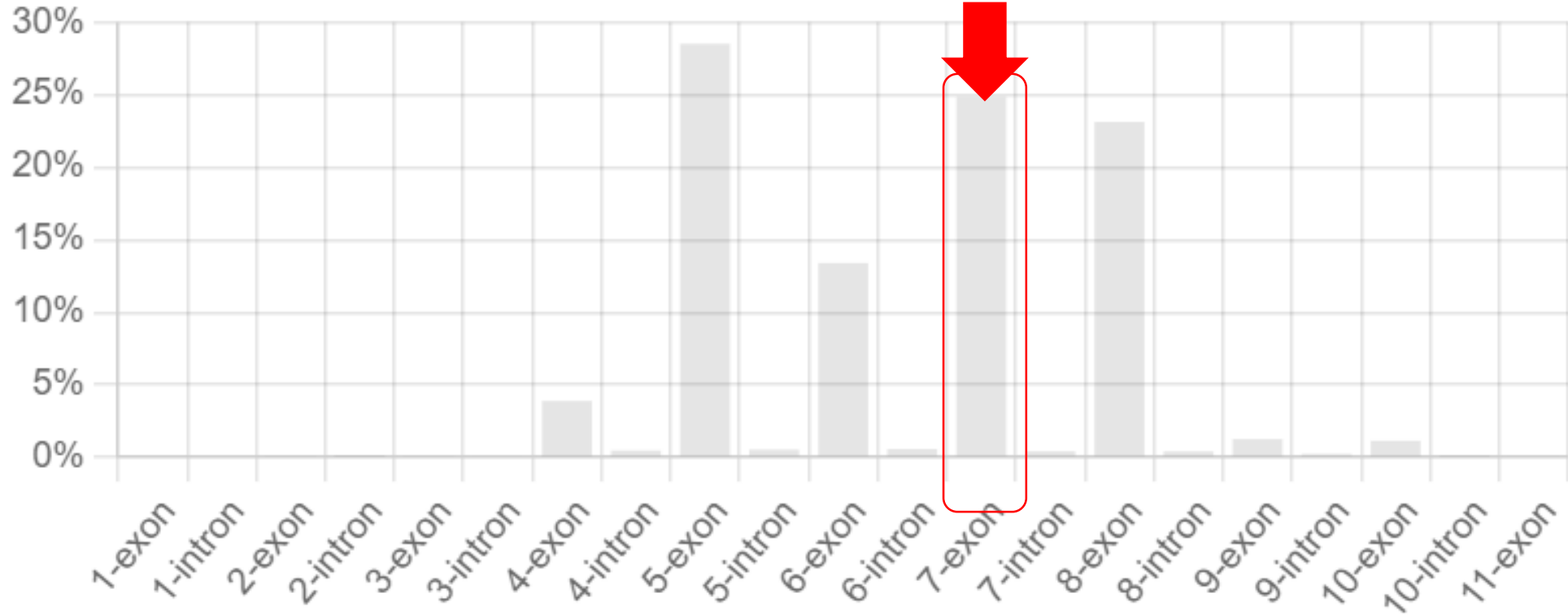
Outils et matériel utilisés

- Ressources implantées sous LMS
- Outils nécessaires :
 - Écran (un écran large donnera des perspectives plus intéressante)
 - Souris
 - Connexion internet
- La ressource est consultable sur navigateur dans un casque VR. Cependant, des réserves sont à mettre en avant au regard des documents à remplir et des notes à prendre par l'élève lors de la consultation.
- Pour information, des documents sont à télécharger par l'élève lors de la consultation. Le document A pourrait être imprimé. Nous suggérons aux enseignants de tester la ressource pour vérifier l'utilité de l'impression de ces ressources téléchargeables.
L'ensemble des ressources à télécharger est joint dans ce livret en annexe 3.

ANNEXE 3
Documents à télécharger

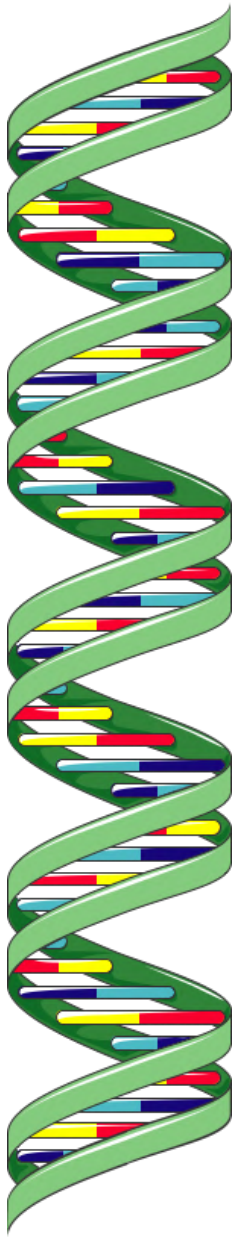
Le gène P53 est muté dans plus de 50% des cancers.

Exon/Intron Distribution (N = 28,866)



Une mutation très fréquente : G743A

Base de données TP53 : <https://tp53.isb-cgc.org/>



Mission

Vous être doctorant ou doctorante : vous démarrez votre stage de 3 ans en laboratoire pour préparer un doctorat en sciences de la vie. Vous vous intéressez à un allèle muté du gène P53 que vous suspectez d'être un allèle de prédisposition au cancer chez l'être humain.

Après avoir mené, avec vos collègues, une investigation dans les différentes salles du laboratoire afin de déterminer si l'allèle muté du gène P53 est bien un allèle de prédisposition au cancer, vous présenterez , sous la forme d'une affiche scientifique, les résultats de vos travaux de recherche.

Votre affiche devra comporter :

- un titre explicite, le nom des contributeurs et le nom du laboratoire,
- une introduction qui justifie la recherche menée,
- les étapes de la démarche que vous avez utilisée pour déterminer si l'allèle P53 muté prédispose à l'apparition de tumeurs malignes chez l'être humain,
- les résultats de vos recherches,
- l'interprétation des résultats suivi d'une conclusion qui statue si l'allèle P53 muté prédispose ou non à l'apparition de tumeurs malignes.

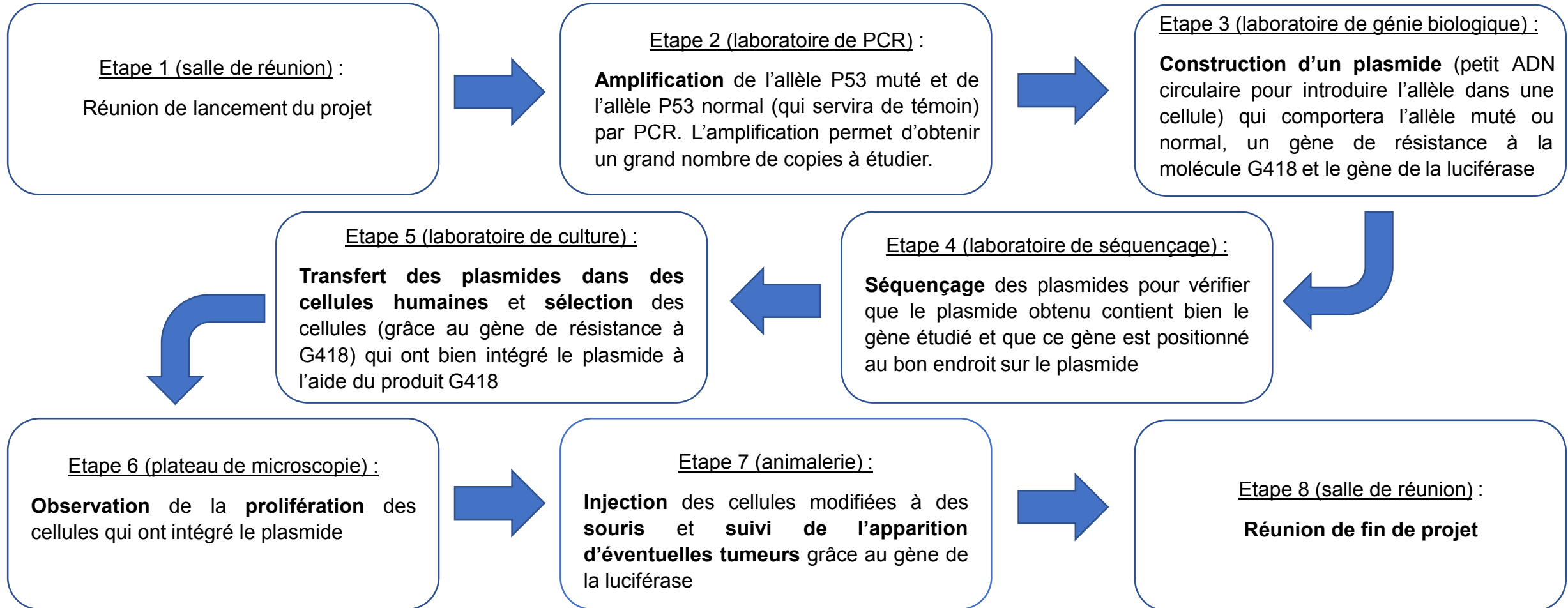
Nota bene : Au cours de votre cheminement dans les différents laboratoires, pensez à télécharger les 3 documents que vous intégrerez dans votre affiche.

Les étapes de votre projet

Pour déterminer si l'allèle P53 muté est un allèle de prédisposition au cancer, vous allez :

1. Transférer cet allèle dans des cellules humaines pour voir si ces cellules modifiées prolifèrent de manière anormale.
2. Transférer les cellules modifiées dans des souris et suivre l'apparition éventuelle de tumeurs chez ces souris.

Ce projet nécessite de passer par de nombreuses étapes résumées ci-dessous.



DOCB- Résultats de l'expérience in vitro de « réparation de la blessure »

Rappel :

Les cellules avec l'allèle muté ont été déposées dans des supports de culture en nombre suffisant pour couvrir la surface du support. Avec un petit outil calibré, on a éliminé les cellules dans une zone donnée : une « blessure » a été créée. Les cellules ont été cultivées pendant 96 h et pendant ce temps ont été filmées. A partir du film, des images ont été récupérées à différents temps et la surface colonisée par les cellules a été calculée.

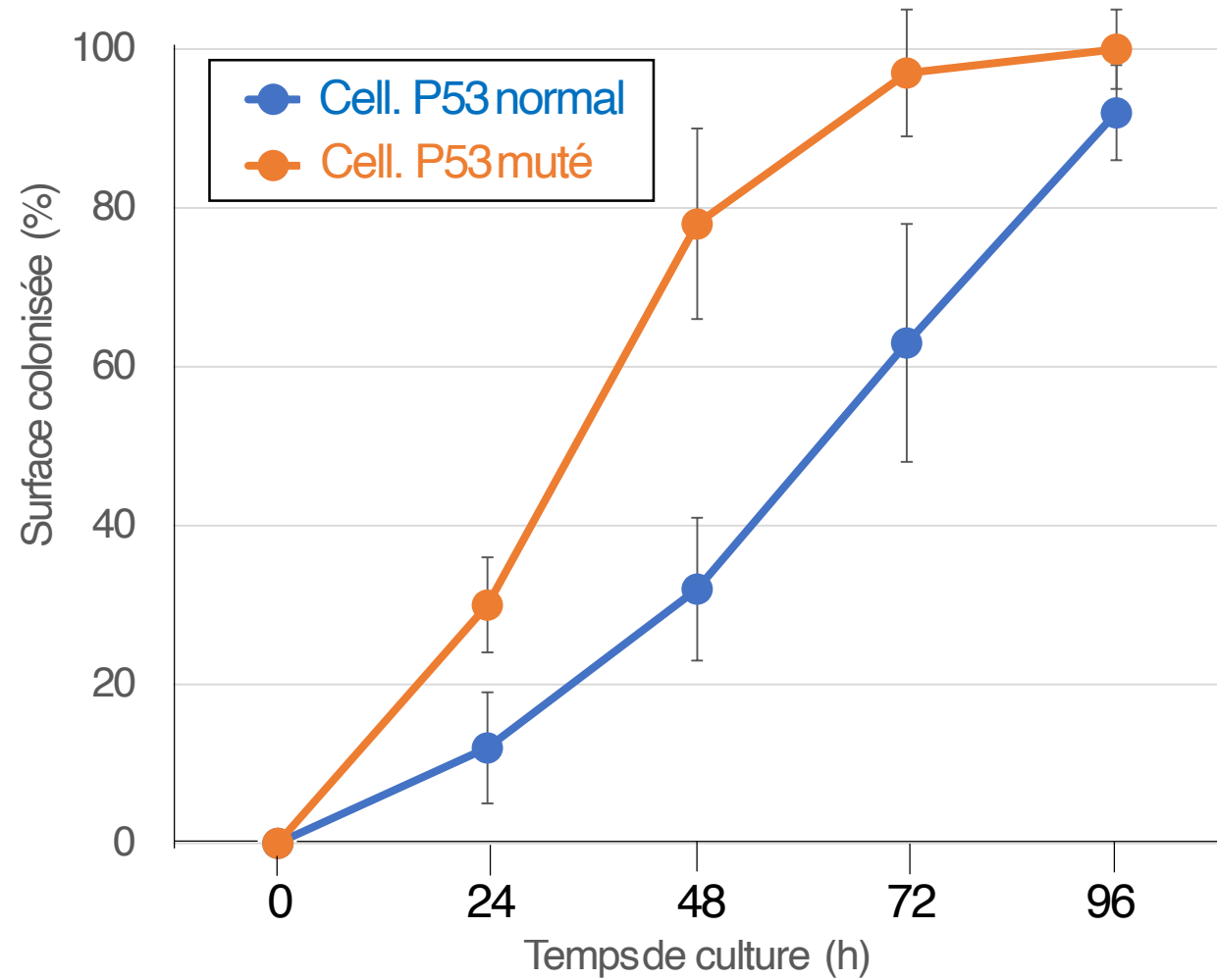
En parallèle, les cellules avec l'allèle normal ont subi la même expérience.

Le graphe représente pour chaque type de cellules et pour chaque temps, le pourcentage de surface colonisée par rapport à la surface de la « blessure initiale ». L'expérience a été répétée six fois. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne des 6 réplicats +/- variabilité de la réponse.

Qu'observez-vous sur le graphe ?

Quelle interprétation faites-vous de ces résultats ?

Proportion de surface colonisée en fonction du temps de culture



DOCC- Résultats de l'expérience in vivo de développement tumoral

Rappel :

Les cellules avec l'allèle muté ont été injectées à des souris. En plus de l'allèle muté, ces cellules contiennent le gène de la luciférase. Régulièrement les souris sont soumises à une imagerie : juste avant d'être placées sous une caméra, les souris reçoivent de la luciférine qui est transformé en produit lumineux (luminescent) par la luciférase. Les cellules qui contiennent l'allèle muté sont donc visibles. A chaque temps d'imagerie, on peut donc calculer la taille de la tumeur.

On procède de la même façon avec les cellules contenant l'allèle normal.

Le graphe représente pour chaque type de cellules et pour chaque temps, la taille de la tumeur. L'expérience a été faite six fois. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne des résultats des 6 animaux +/- variabilité de la réponse.

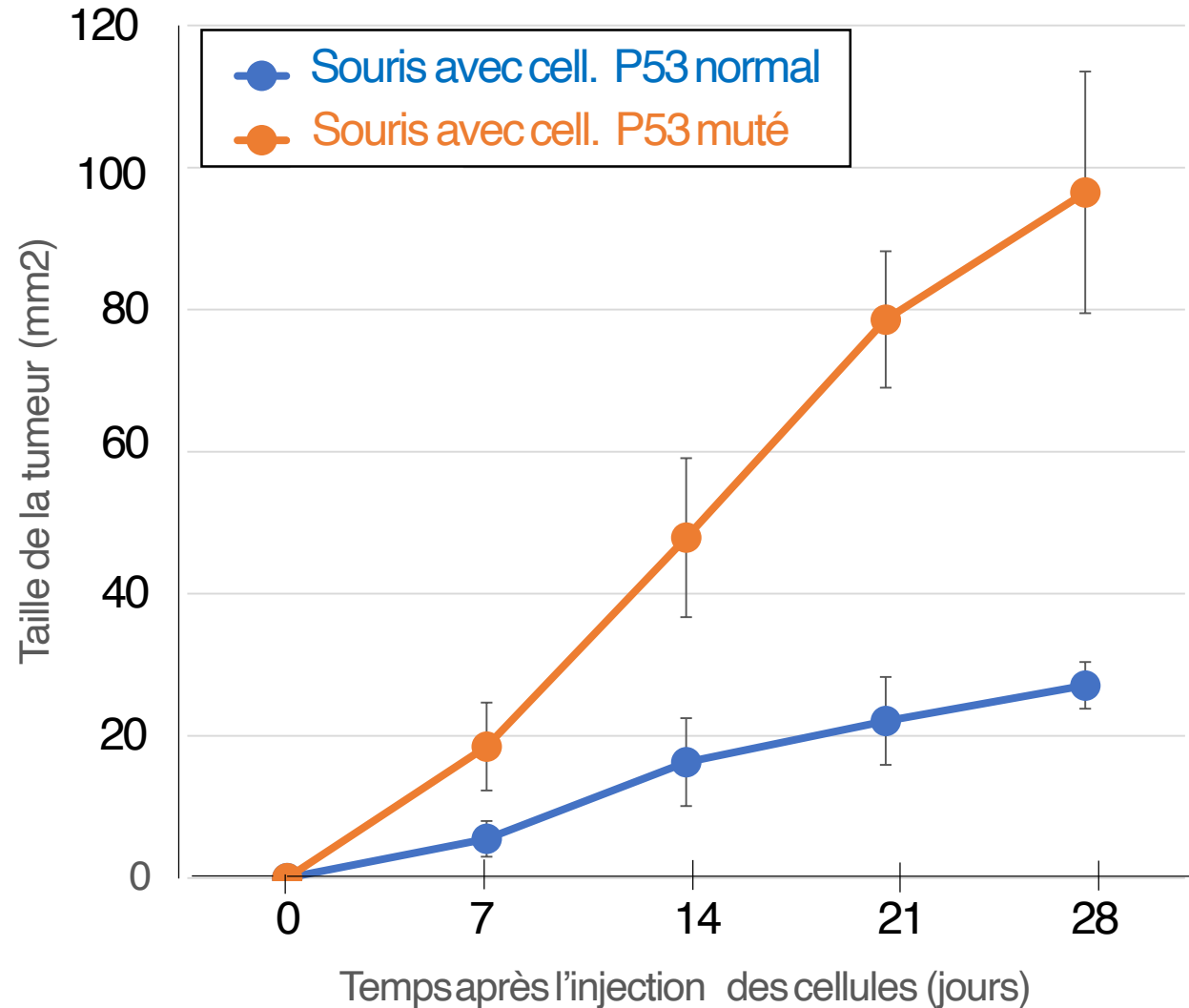
Résultats complémentaires :

2 souris parmi les 6 qui ont reçu les cellules avec l'allèle muté ont des métastases visibles au bout de 28 jours. Aucune métastase n'est visible chez les souris ayant reçu les cellules avec l'allèle normal.

Qu'observez-vous sur le graphe ?

Quelle interprétation faites-vous de l'ensemble de ces résultats ?

Evolution de la taille de la tumeur au cours du temps



Metformin & Colorectal Cancer

Marie XXXXX¹, Clément XXXXX¹, Zeinab XXXX^{1,2}, Mireille XXXXX¹, Niki XXXXXXX^{1,3}

1. UMR-INSERM1308CAPTuR, Faculté de Médecine, 2 Rue du Dr Raymond Marcland, 87025 Limoges CEDEX-France

2. UMR-INSERM1094U270IRDEpiMaCT, Faculté de Médecine, 2 Rue du Dr Raymond Marcland, 87025 Limoges CEDEX-France

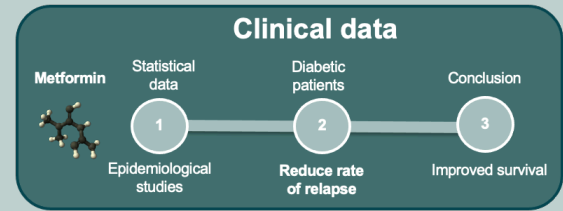
3. Centre Hospitalier Universitaire de Limoges, 2 Av. Martin Luther King 87000 Limoges CEDEX-France

Introduction

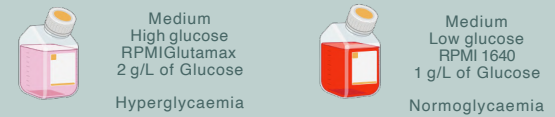
In 2020, colorectal cancer (CRC) was ranked 3rd among the most common cancers in the world, and 2nd in terms of cancer-related mortality. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is characterized by the loss of epithelial markers like E-cadherin and the activation of cell movement, partly attributed to extracellular matrix modification by metalloproteinases such as MMP2 and MMP9 (1). EMT is a pivotal process promoting the dissemination of cancerous cells, particularly in epithelial cancers like CRC. The reduction of epithelial markers, including E-cadherin, facilitates EMT and is linked to the aggressiveness of CRC (2). Metformin, primarily employed in the management of type 2 diabetes due to its actions on mitochondrial metabolism and AMPK, has been investigated for its inhibitory effects on EMT in various cancer types, although its impact on colorectal cancer remains unexplored (3).

This study aims to study the effect of glucose levels on metformin-mediated EMT inhibition in CRC.

1. Buttacavoli M., et al. Molecular Sciences, (2021) 2. Christou N., et al. J Cancer Res Clin Oncol, (2017) 3. Valaee S., et al. PLOS ONE, 2017.



Conditions



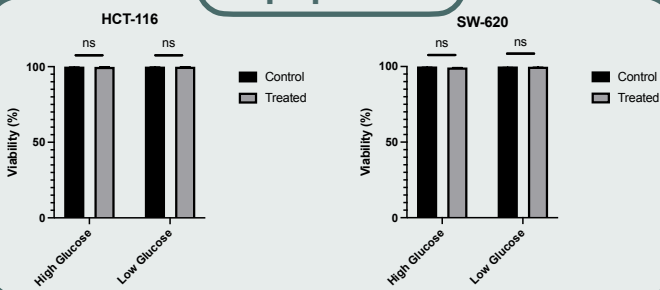
Cytotoxicity and proliferation



All of these experiments were performed at the Metformin IC50 for all cell lines.

Metformin

Apoptosis



Proliferation

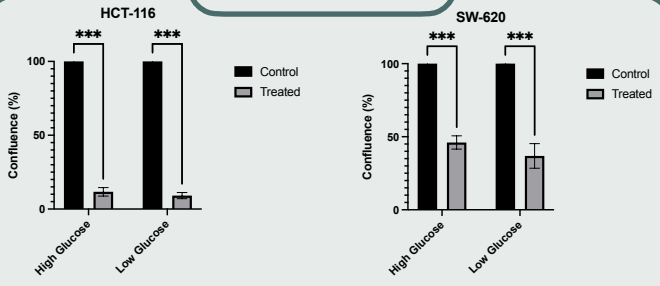


Fig 1. Effect of metformin on HCT-116 and SW-620 cells on apoptosis and proliferation.

Metformin effect on EMT in vitro

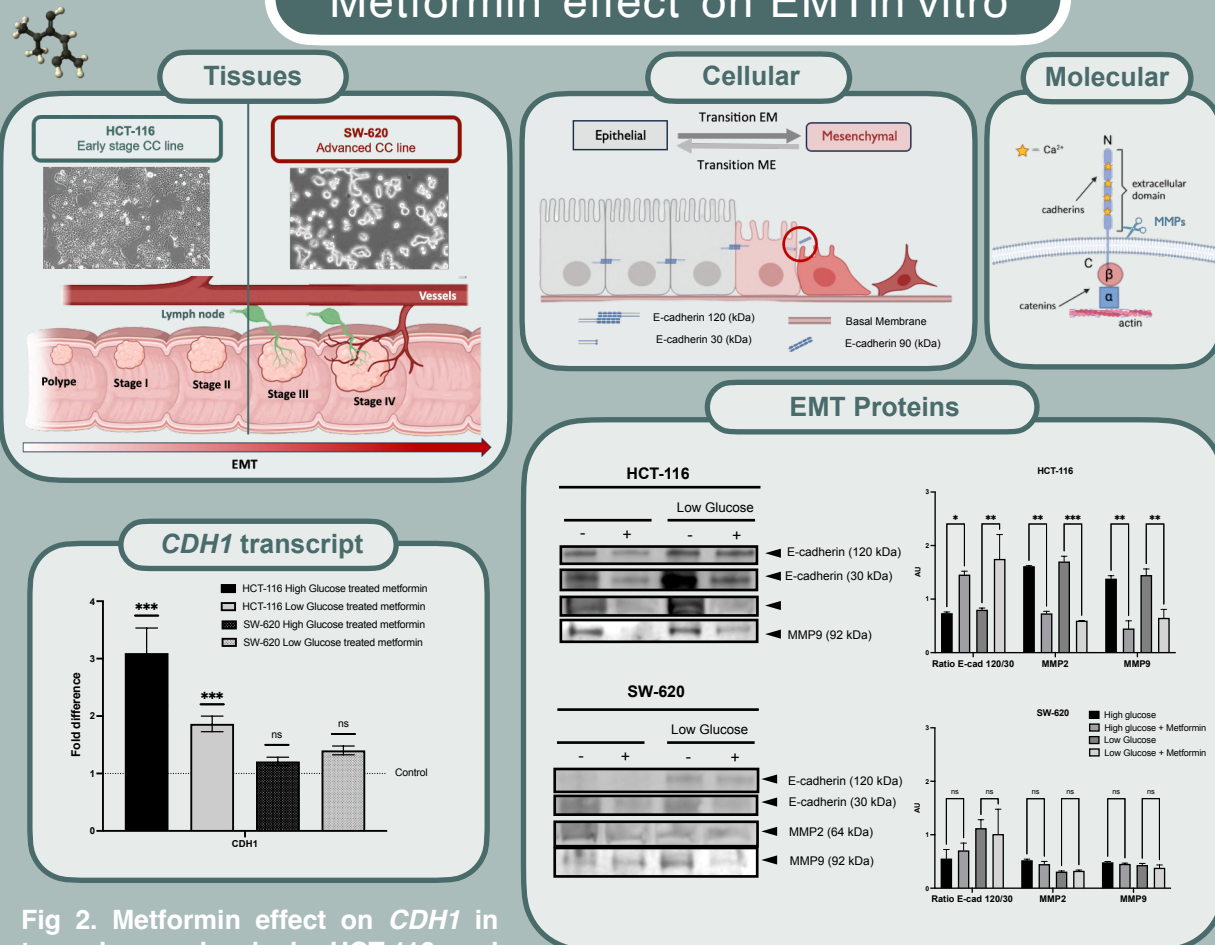


Fig 2. Metformin effect on CDH1 in two glucose levels in HCT-116 and SW-620 at the transcriptomic level.

Fig 3. Metformin effect on E-cadherin, MMP2 and MMP9 and in two glucose levels in HCT-116 and SW-620 at the protein level.

Metformin functional effects

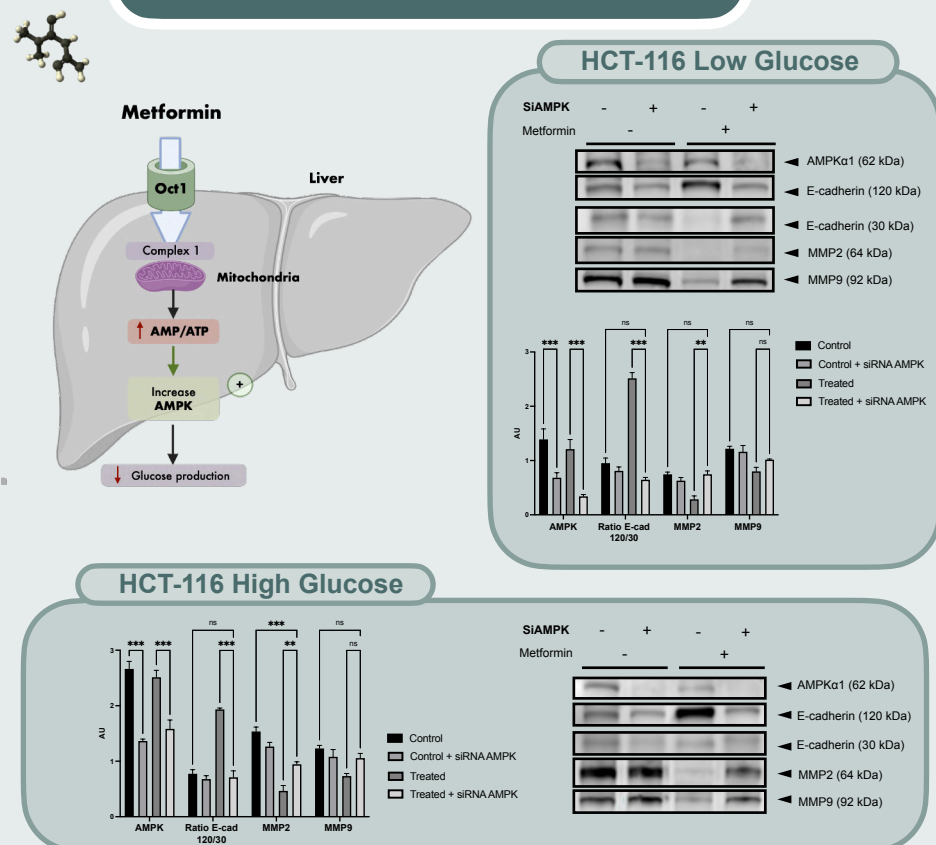


Fig 4. What is the effect of metformin in the absence of AMPK on E-cadherin, MMP2 and MMP9 in two glucose levels in HCT-116?

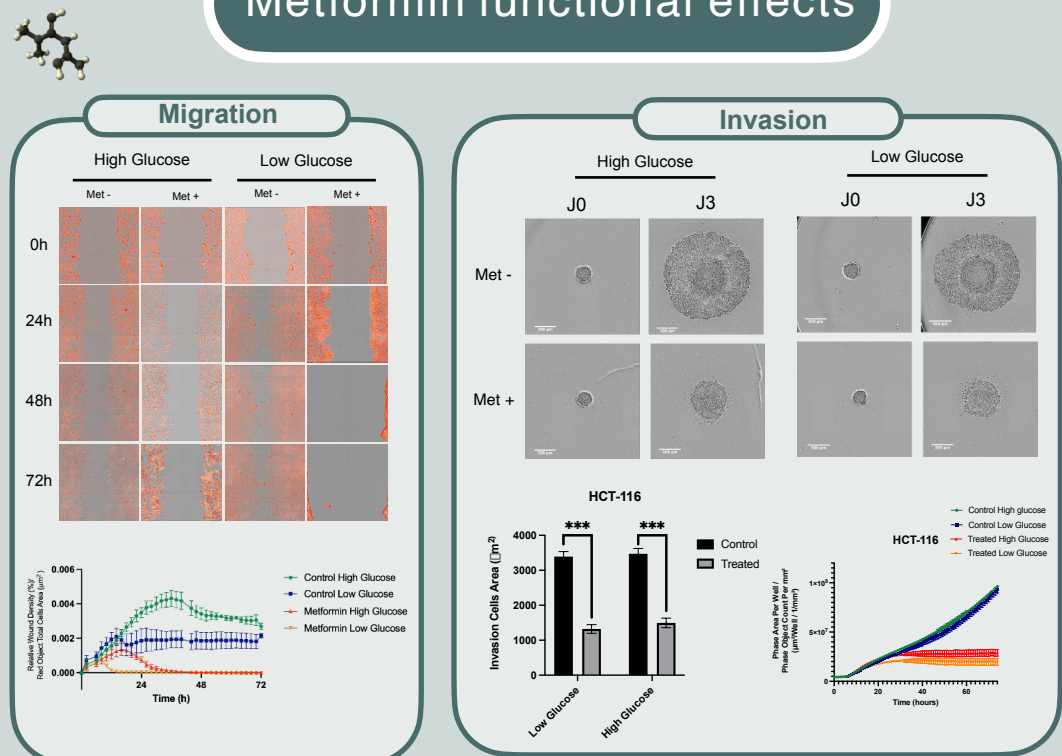


Fig 5. Effect of metformin on HCT-116 cell migration and invasion in hyperglycemic and normal glucose conditions.

Conclusion

In summary, we found that metformin strongly inhibited the migration and invasion of colon cancer cells in correlation with an increase in E-cadherin and a decrease in MMPs. Moreover, we showed that this effect was AMPK-dependent. In addition, the similar effect of metformin on cells cultured under normal (non-fasting) and hyperglycaemic conditions led to the conclusion that metformin could have the same anti-cancer activity in diabetic and non-diabetic patients with early-stage colon cancer.

Article

Contact



ANNEXE 4
Licence et contributions

ANNEXE 4

Licence et contributions

Dans la blouse d'un chercheur – Recherche en cancérologie
de Sara Croisard / Alain Planques
est sous licence CC BY – NC – ND 2.0



Avec le soutien de :



Promotion : François Coutarel et Cécile Vassy

Réalisation : Sara Croisard

Ingénierie pédagogique : Alain Planques

Conseillère pédagogique : Valérie Rouchaud

Conseillère scientifique : Anne Druilhe

Avec la participation des scientifiques : Amy Gateau, Anne Druilhe, Christelle Oblet, Fabienne Baraige, Karine Durand, Kenza Guiyedi, Lionel Forestier

Poster de Marie Boutaud, Clément Auger, Zeinab Tarhini, Mireille Verdier, Niki Christou

Images créées par les scientifiques ou provenant de SMART - Servier Medical Art

Diaporamas animés créés avec l'aide de Bruno Prunières et de Pierre Terrier