

Thesis, COLLÉGIALITÉ

Auteur : Vrancken, Thomas

Promoteur(s) : Franzen, Rachelle

Faculté : Faculté de Médecine

Diplôme : Master en sciences biomédicales, à finalité approfondie

Année académique : 2023-2024

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/20556>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Annexes

Annexes

	Amorces sens	Amorces antisens	Taille amplicon
DHH Cre	5'-CCTTCTCTATCTGCGGTCCT-3'	5'-ACGGACAGAATTTTCCA-3'	271 pb
	Contrôle positif interne sens : 5'-CTAGGCCACAGAATTGAAAGATCT-3'	Contrôle positif interne antisens : 5'-GTAGGTGGAAATTCTAGCATCATCC-3'	324 pb
Cdk7	Amorce nichée externe (dans l'intron 2) : 5'-GTTCTTACCCCATCATCTGTCAC-3'	Amorce nichée externe 12RC (dans l'intron 2) : 5'-GTTGCCAGGGGAATAAAGG-3'	WT = 310 pb
		B48 (dans le transgène): 5'-TCCCACTGTCCTTTCCTAATAA-3'	Lox = 852 pb
Sexage	Ube 1-S : 5'-TGGATGGTGTGGCCAATG-3'	Ube 1-A : 5'-CACCTGCACGTTGCCCTT-3'	Chromosome X= 252 pb Chromosome Y= 334 pb
PLP CreERT	Transgène sens : 5'-AGGTGGACCTGATCATGGAG -3'	Transgène antisens 5'-ATACCGGAGATCATGCAAGC-3'	440 pb
	Contrôle positif interne sens : 5'-CTAGGCCACAGAATTGAAAGATCT-3'	Contrôle positif interne antisens : 5'-GTAGGTGGAAATTCTAGCATCATCC-3'	324 pb

Annexe 1 : Amorces utilisées pour le génotypage.

1. Cdk7

Étapes	Températures (°C)	Temps	Répétition
1	94	5 minutes	/
2	94	20 secondes	Répéter ces étapes pendant 35 cycles
3	55	1 minute	
4	72	5 minutes	
5	72	5 minutes	/
6	10	∞	∞

2. PLP-CreERT

Étapes	Températures (°C)	Temps	Répétition
1	94	2 minutes	/
2	94	20 secondes	Répéter ces étapes pendant 35 cycles
3	51,7	1 minute	
4	72	45 secondes	
5	72	2 minutes	/
6	10	∞	∞

3. Sexage

Étapes	Températures (°C)	Temps	Répétition
1	95	3 minutes	/
2	94	30 secondes	Répéter ces étapes pendant 40 cycles
3	62	30 secondes	
4	62	30 secondes	
5	72	45 secondes	/
6	10	∞	∞

4. DHH-Cre

Étapes	Températures (°C)	Temps	Répétition
1	94	2 minutes	/
2	94	20 secondes	Répéter ces étapes pendant 10 cycles
3	65	15 secondes	
4	68	10 secondes	
5	94	15 secondes	Répéter ces étapes pendant 28 cycles
6	60	15 secondes	
7	72	10 secondes	
8	72	2 minutes	/
9	10	∞	∞

Annexe 2 : Protocoles PCR utilisés pour les génotypages.

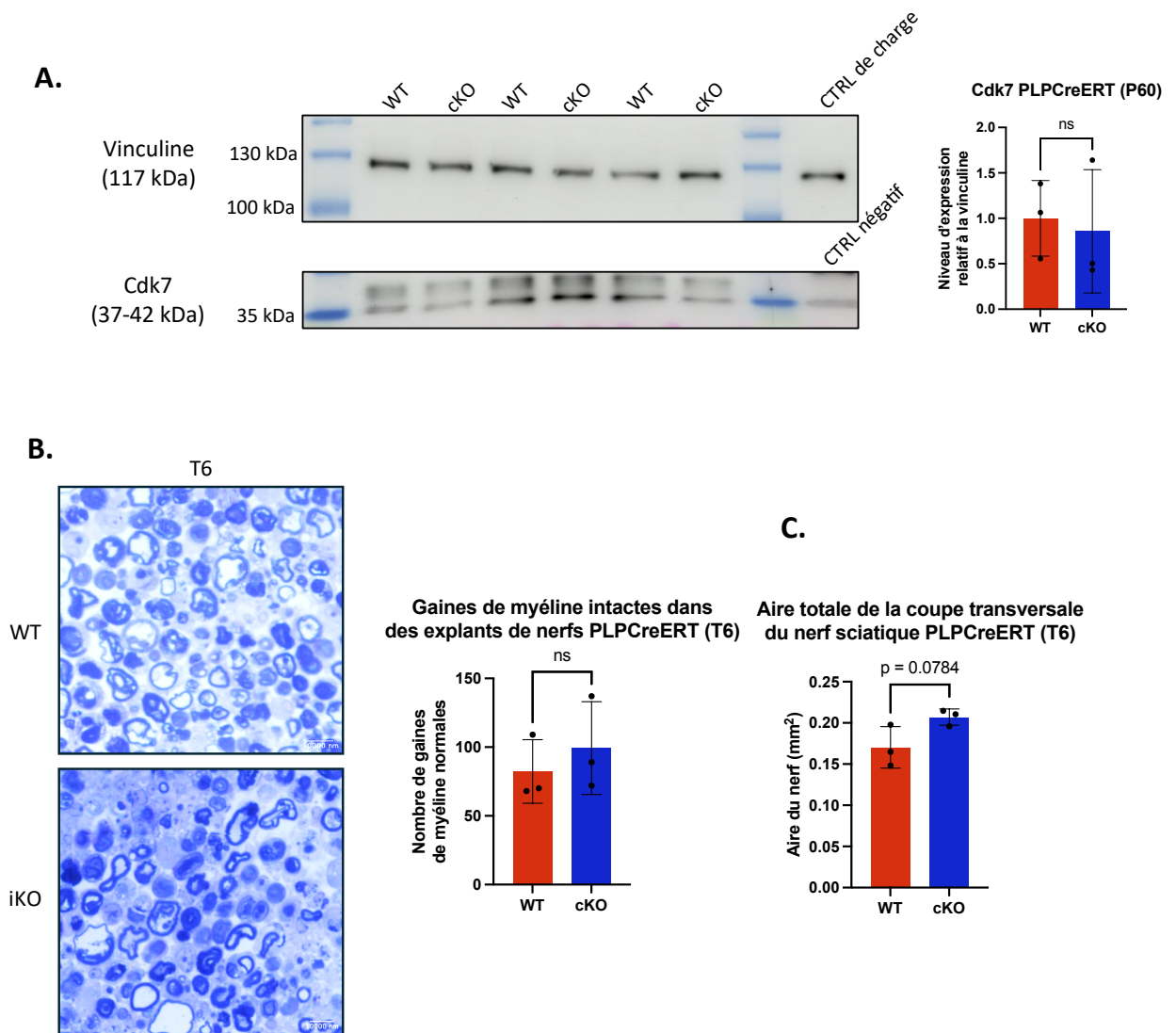


Figure 20-Annexe 3: Explants de nerfs PLPcreERT WT et iKO. **A.** Analyse de l'expression de Cdk7 sur extraits protéiques d'explants de nerfs sciatiques totaux de souris PLPcreERT à P60, après traitement de 48h au 4-OH Tamoxifène in vitro, par Western Blot. Comparaison de l'expression de Cdk7 chez des individus WT et iKO. Test t de Student non apparié. La normalité a été vérifiée par le test de Shapiro-Wilk. N= 3 par génotype. Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type. **B.** Images représentatives de colorations au Bleu de Toluidine réalisée sur des coupes semi fines d'explants de nerfs sciatiques provenant de souris PLPcreERT WT et iKO, après 48h de traitement au 4-OH Tamoxifène in vitro et 4 jours en culture (T6). Quantification du nombre de gaines de myéline intactes, sur l'entièreté de la surface du nerf en coupe transversale, à T6, chez les individus WT et iKO. Test t de student. La normalité a été vérifiée par le test de Shapiro-Wilk. N= 3 par génotype. Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type. **C.** Quantification de la surface totale du nerf en coupe transversale à T6. Test t de student. La normalité a été vérifiée par le test de Shapiro-Wilk. Les données sont exprimées en moyenne \pm écart type.