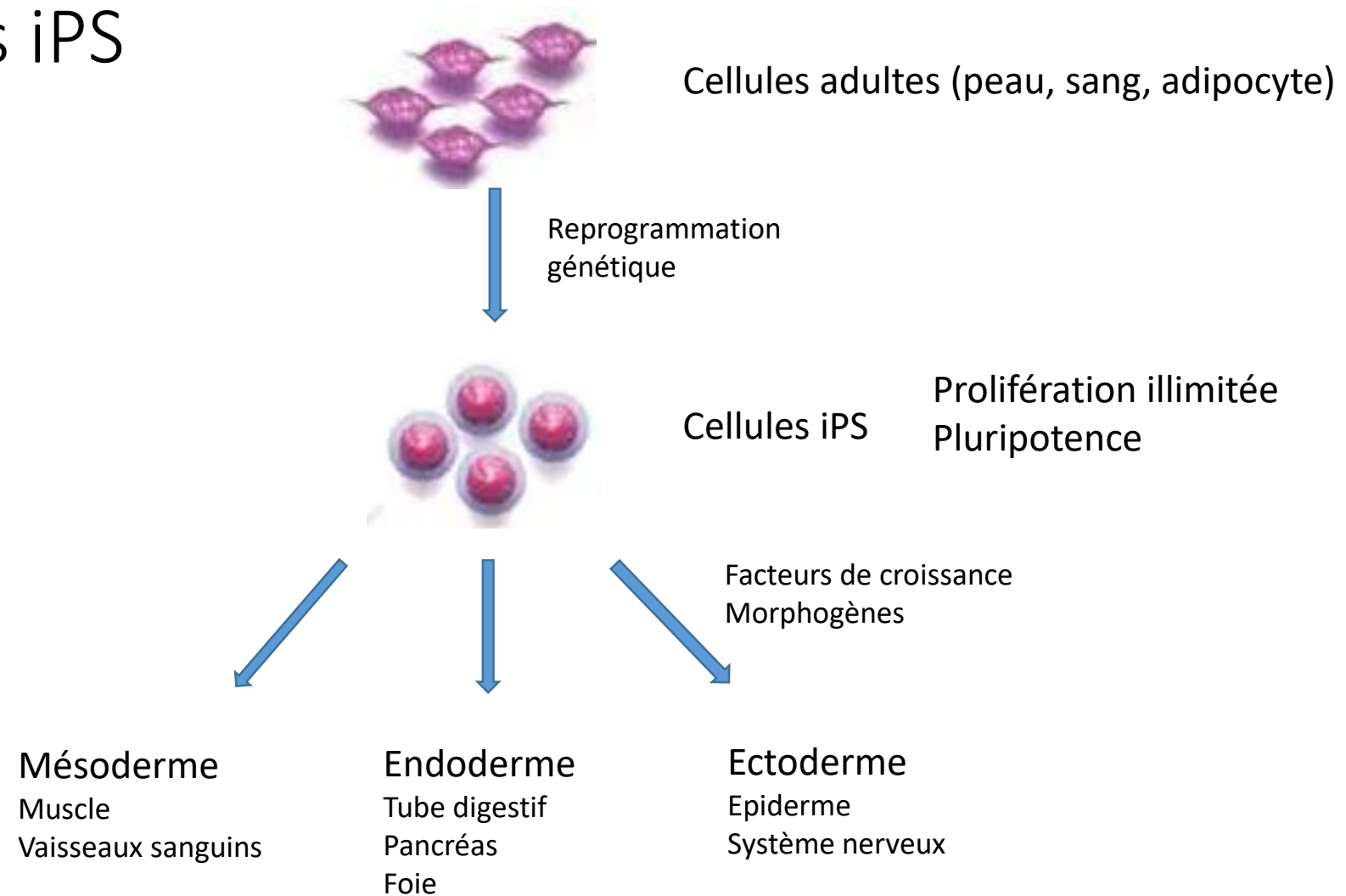
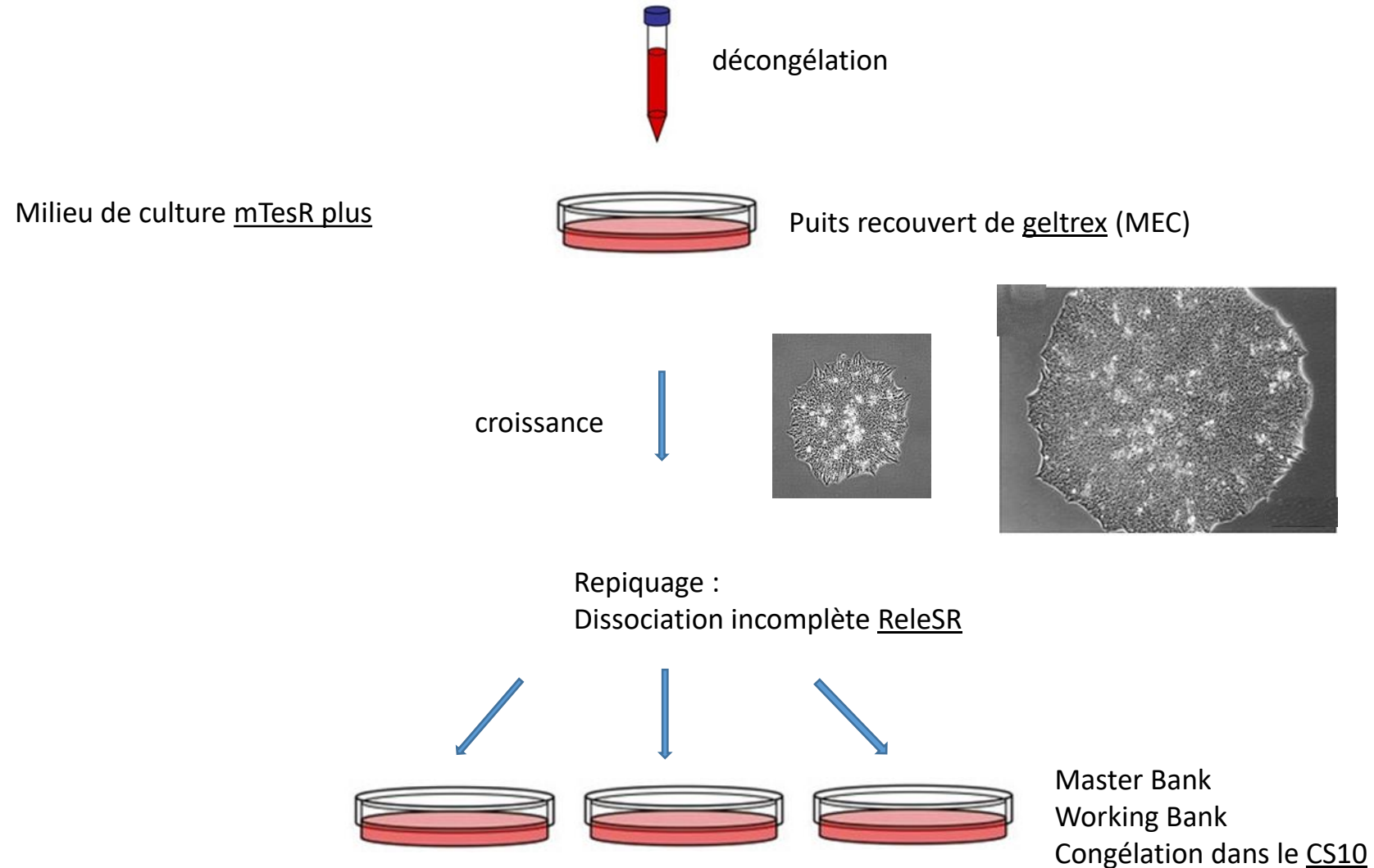


Cellules souches pluripotentes
induites (iPS) et modélisation de
la différenciation cérébrale en
culture 3D

Les cellules iPS

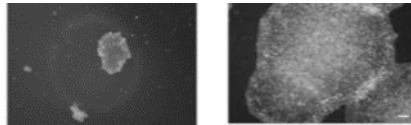


Entretien des cellules iPS

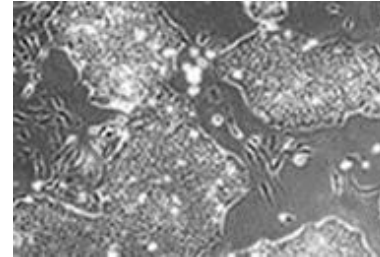
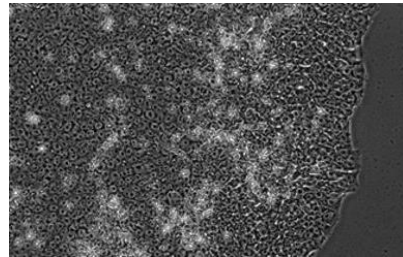


Etapes importantes à respecter

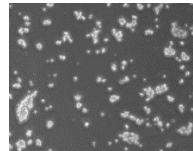
- Taille des colonies



- Morphologie des cellules



- Passage des cellules en agrégats



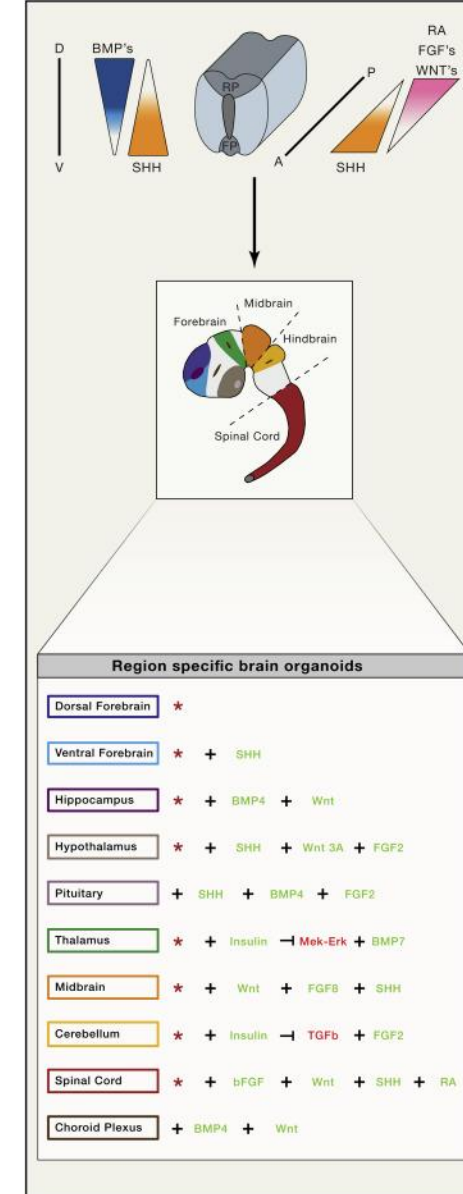
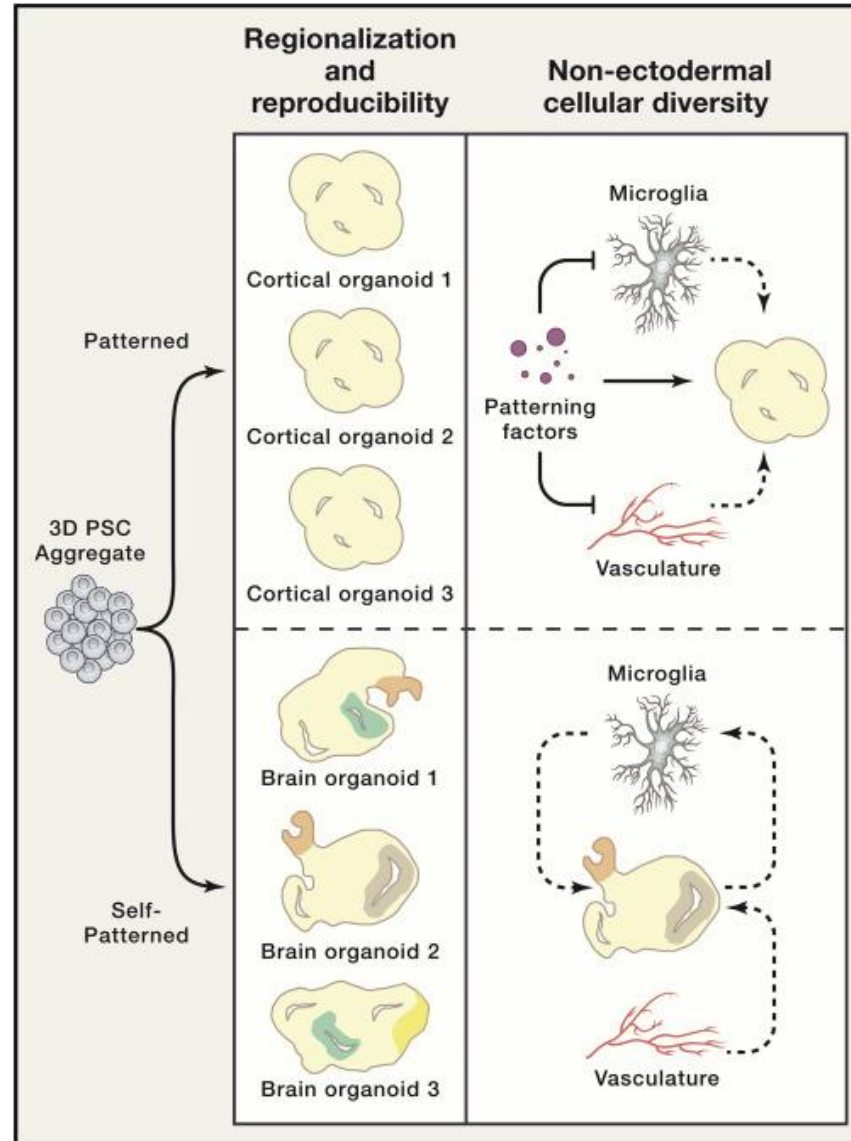
- Vérification du caryotype ou séquençage



Observation importante
S'adapter à la culture

Différenciation ciblée ou non ciblée?

Avantages / Inconvénients

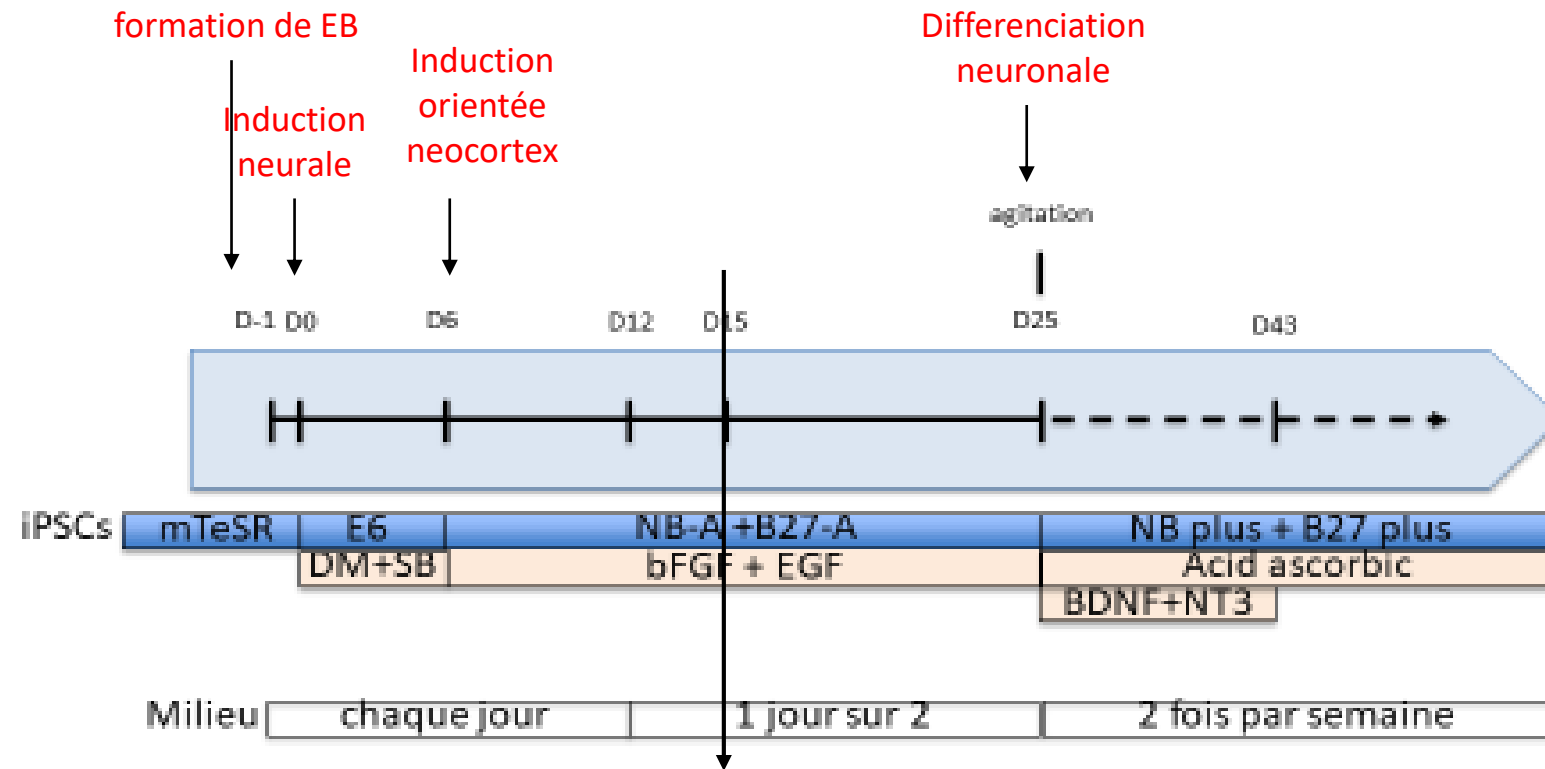


Le patterning du tube neural est défini par l'action de morphogènes

Combinaisons de morphogènes utilisées pour induire des différenciation ciblées

* Anti BMP

Différenciation en organoïdes cérébraux (Pasca and al.)

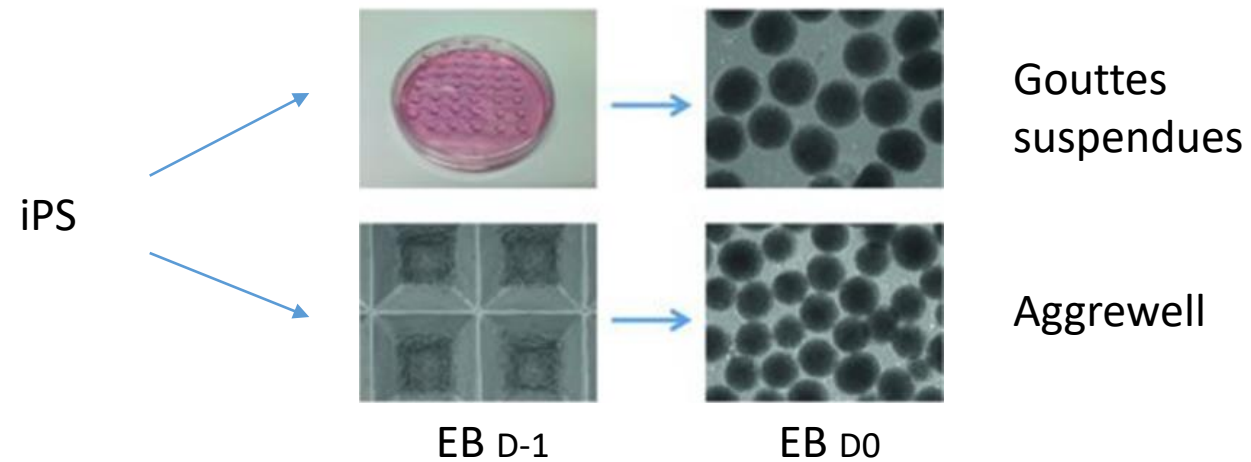


D15 : arrêt des cultures
pour notre étude

DM: Dorsomorphine, anti AMPK/BMP
SB431542: anti TGF- β

Formation des EB (Embryoid Body)

- Plusieurs techniques



Induction neurale

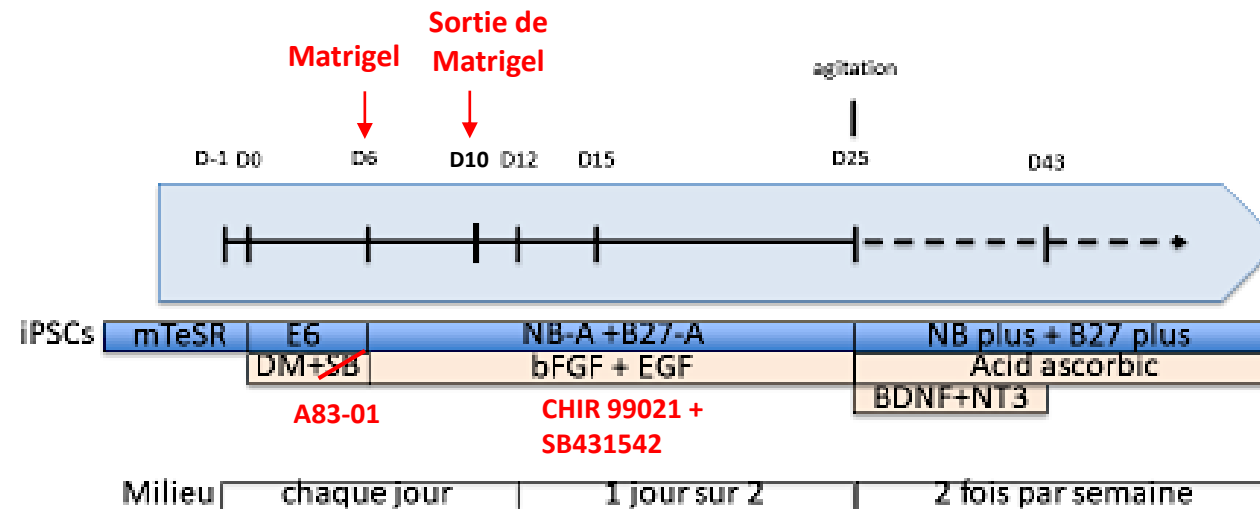
- Milieu TeSR/E6 + Dorsomorphine et SB-431542

Differentiation orientée neocortex

- Condition par défaut (utilisé au départ): Milieu NB-A +B27 + EGF + bFGF

Différenciation neocorticale, non optimale

Modifications apportées au laboratoire (Qian and al.)



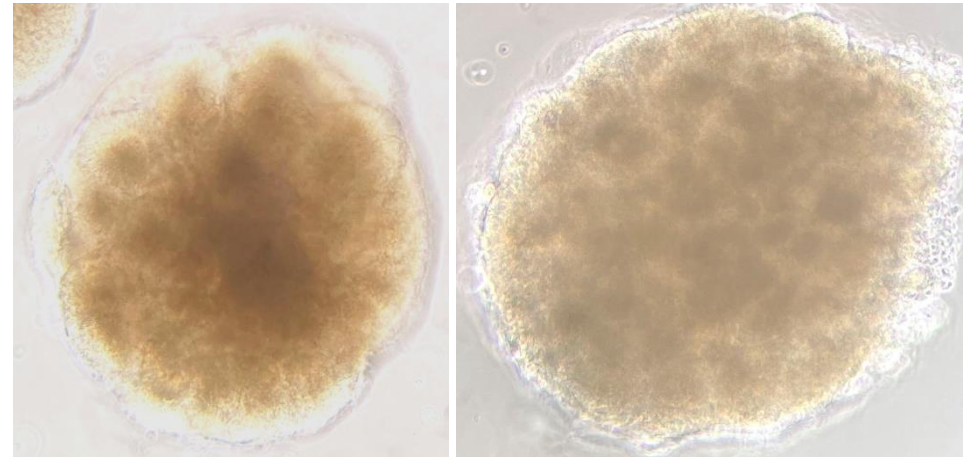
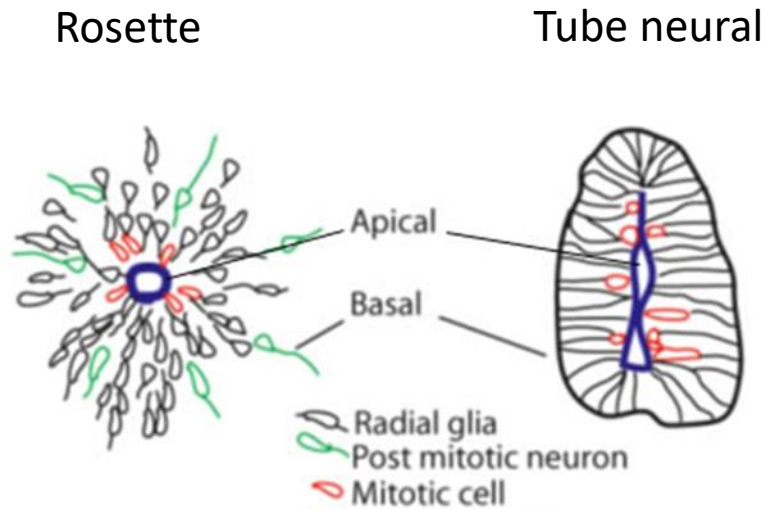
DM: Dorsomorphine, anti AMPK/BMP

A 83-01: anti BMP

SB431542: anti TGF- β

CHIR99021: anti GSK3; activateur de Wnt

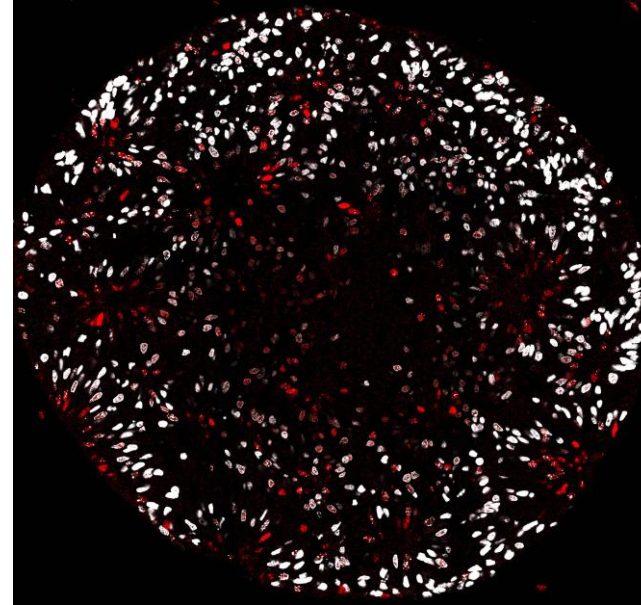
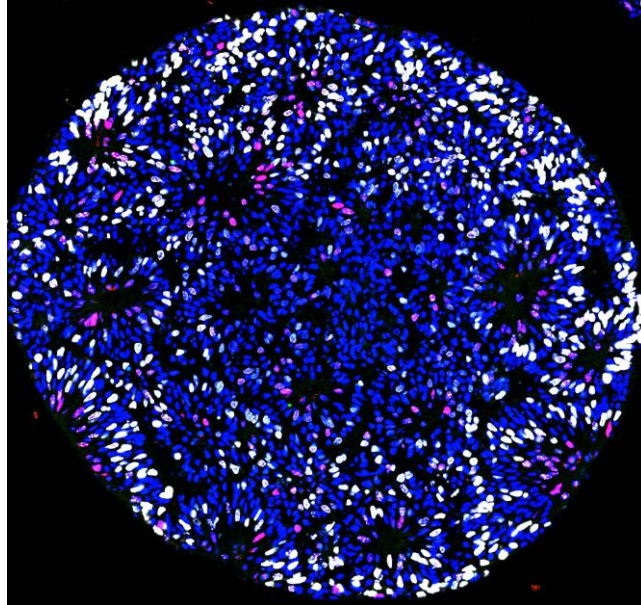
Critères de qualité



Formation des rosettes
Prolifération des progéniteurs
Différenciation en neurones

Analyse de la prolifération cellulaire

DAPI TPX2 AURB EdU



TPX2

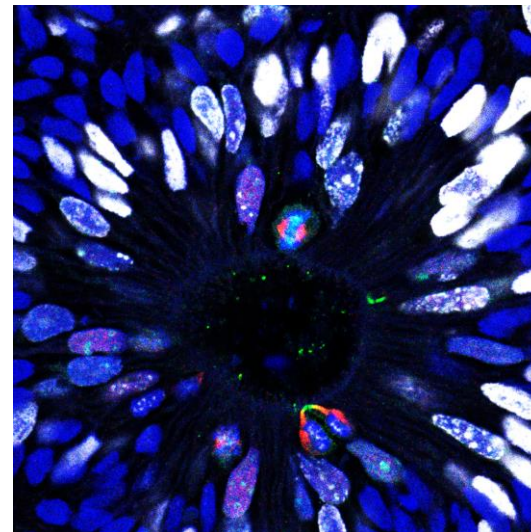
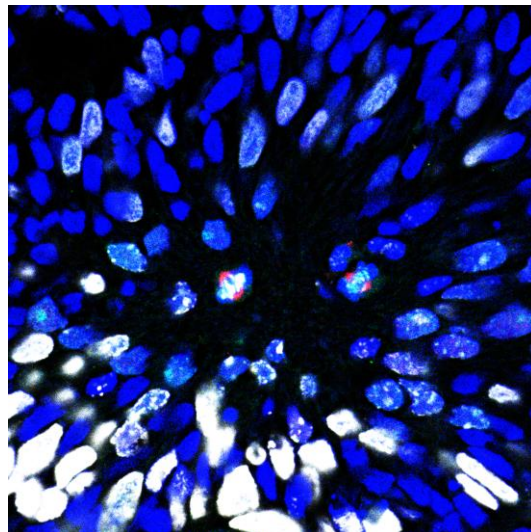
Microtubules

AURBK

AuroraB kinase; point
d'encrage des chromosomes

*Permettent de suivre les
phases mitotiques*

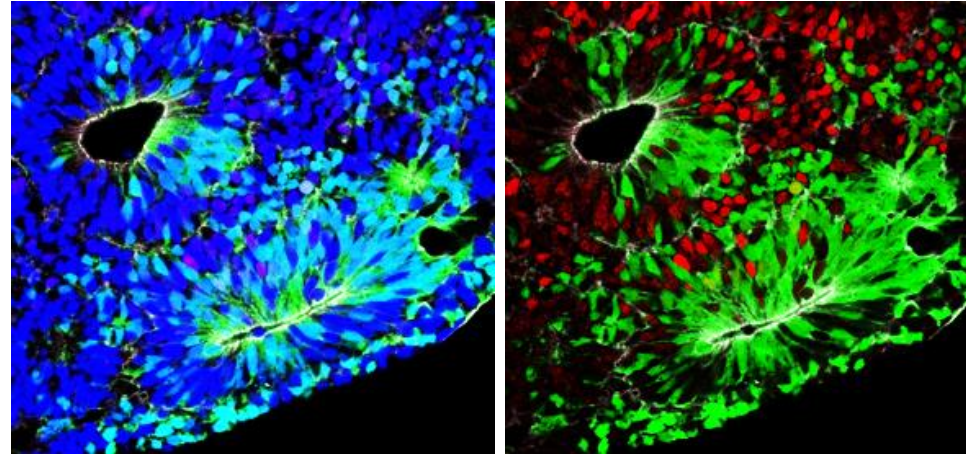
Taux de prolifération



Axe de division

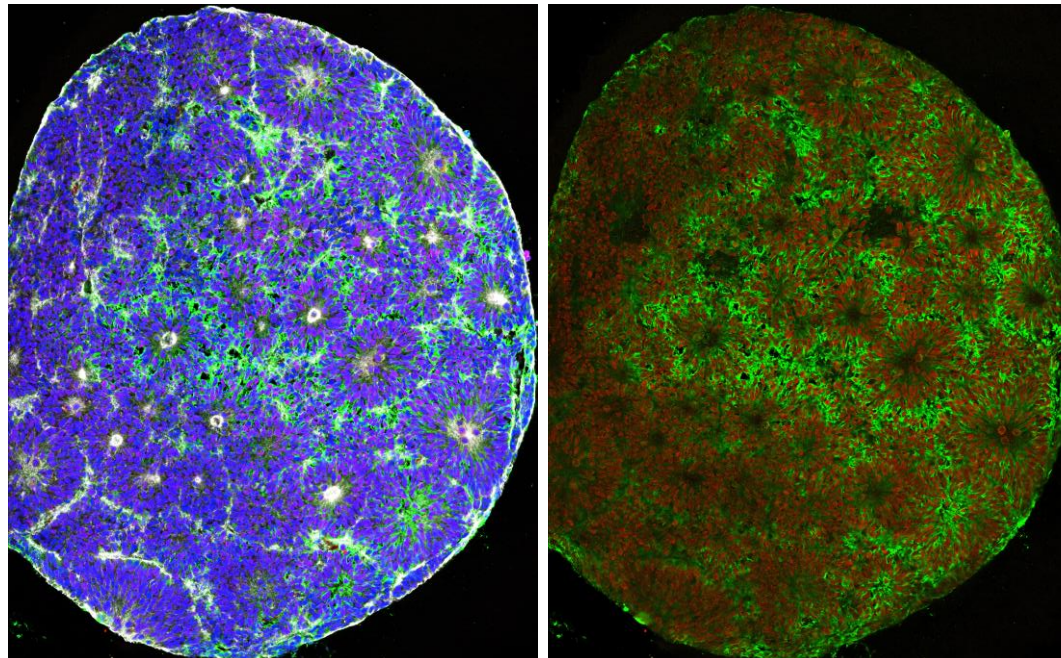
*(indicateur du mode de division:
symétrique ou asymétrique)*

DAPI GFP
EMX1 (différenciation
neocorticale)
Phalloïdine



Mélange d'iPSCs GFP⁻ et GFP⁺ pour
suivre les changements de
morphologie accompagnant les
transitions entre progéniteurs.

DAPI VIMENTINE
SOX2, Phalloïdine



SOX2: tous les progéniteurs neuraux
Vimentine: RGCs uniquement

MERCI