

Etude de la protéine Lis1 sur la division cellulaire des lymphocytes T par cytométrie en image

Jérémy Argenty (jeremy.argenty@inserm.fr)

Centre de Physiopathologie Toulouse-Purpan U1043-UMR5282, INSERM-CNRS, Toulouse, France

Introduction : Au cours d'une infection, la reconnaissance d'un antigène par le récepteur des lymphocytes T conduit à leur activation et à leur prolifération. L'expansion clonale est essentielle pour une réponse efficace contre un pathogène donné et nécessite l'intervention de molécules permettant la redistribution du matériel génétique entre les cellules filles. La protéine Lis1 régule la dynéine, un moteur moléculaire associé aux microtubules qui favorise la réorganisation chromosomique au cours de la division cellulaire. Bien que l'activation des lymphocytes T ne soit pas affectée par l'absence de Lis1, leur prolifération est fortement compromise. L'analyse par cytométrie en flux des cellules déficientes en Lis1 montre l'accumulation de ces cellules en phase G2/M. La microscopie confocale a révélé une augmentation du nombre de cellules en mitose. Pour renforcer ces résultats, nous avons utilisé la cytométrie en image de façon à quantifier sur un grand nombre de cellules la proportion des cellules en mitose et identifier plus précisément la phase de la mitose impactée par la déficience en Lis1.

Matériels et Méthodes : Des lymphocytes T CD4 murins sauvages (WT) ou déficients pour Lis1 (KO) sont co-stimulés à l'aide d'anticorps anti-CD3 et anti-CD28. Les cellules WT sont marquées avec la sonde CFSE alors que les lymphocytes KO sont non marqués. Les deux échantillons 'barcodés' ont été réunis dans un seul et même tube puis marqués au DAPI afin d'éviter toutes variabilités inter-échantillons. Les cellules ont été acquises sur un ImageStreamX MkII (Amnis Corporation) et les données analysées avec le logiciel IDEAS 6.2.

Résultats et Conclusion : Des paramètres mesurant l'homogénéité et la localisation du marquage DAPI ont été utilisés pour discriminer la mitose de la phase G2 et pour mesurer l'organisation génétique des cellules en division. Les résultats démontrent un blocage des cellules déficientes pour Lis1 en mitose et particulièrement en pro-métaphase résultant du défaut de réorganisation des chromosomes. Ce travail, comparé à des données obtenues en parallèle par cytométrie conventionnelle et microscopie, montre la plus-value de la cytométrie en image pour la quantification de paramètres morphologiques. Appliquée à un grand nombre de cellules, cette technique permet d'obtenir des résultats statistiquement robustes.

Mots clés : Lymphocytes T - Cycle Cellulaire - Mitose - Cytométrie en image.