

La Multiplication cellulaire dans la branchie de la moule *Mytilus edulis* ; comparaison entre deux techniques de marquages : BrdU et EdU

Encadrement : Ann Andersen andersen@sb-roscoff.fr et Bérénice Piquet

Lieu : Station Biologique de Roscoff Equipe ABICE : Adaptations et Biologie des Invertébrés en Conditions Extrêmes UMR 7144 UPMC-CNRS, Station Biologique de Roscoff. Place G.Teissier, Roscoff Tel 02 98 29 23 38

La moule *Mytilus edulis* possède une branchie constituée de lamelles filamenteuses ciliées qui créent un courant d'eau de mer inhalent, apportant d'une part, l'oxygène dissout pour sa respiration et, d'autre part les particules en suspension filtrées grâce au mucus secrété. La branchie est donc un organe vital qui se trouve en contact direct avec le milieu extérieur et tous ses polluants potentiels. Pour cette raison, les cellules branchiales sont susceptibles de se renouveler continuellement.

Pour suivre le turn-over des cellules de cette branchie, la méthode classique est une balnéation des bivalves en eau de mer avec du BrdU (5-Bromo-2'-deoxyUridine) (Fig. 1B) qui est un nucléoside synthétique analogue de la Thymidine. Le BrdU est alors incorporé à l'ADN lors de sa réplication (Gratzner, 1982). Après fixation des tissus, le BrdU incorporé est révélé par un anticorps spécifique, qui marque ainsi les cellules qui se sont divisées pendant l'expérience. Cette méthode a déjà été utilisée chez les mollusques (Elisabeth et al., 2012; Gómez-Mendikute et al., 2005; Zaldibar et al., 2004). Cependant, cette révélation indirecte est assez longue et pour permettre l'accès de l'anticorps au BrdU, il est nécessaire d'utiliser un prétraitement à l'acide chlorhydrique (HCl 2N) qui endommage les tissus. Plus récemment, un nouveau nucléoside synthétique a été proposé : l'EdU (5-ethynyl-2'-deoxyUridine) (Fig. 1 A) qui permet une révélation sans anticorps, plus rapide et sans prétraitement à l'acide (Cappella et al., 2008; Neef and Luedtke, 2014). Cette nouveauté est encore peu utilisée chez les mollusques.

L'objectif du stage est d'abord de comparer les marquages des multiplications cellulaires obtenus après balnéation en eau de mer au BrdU ou à l'EdU, afin de déterminer les concentrations optimales de ces marqueurs pour la moule bleue. Le deuxième objectif est de localiser dans la branchie les zones et les types cellulaires qui se multiplient dans les conditions naturelles. Une seconde expérience sera réalisée en ajoutant dans l'eau de mer un composé toxique (Na_2S) pour le métabolisme cellulaire, afin de voir si cela modifie le turn-over cellulaire.

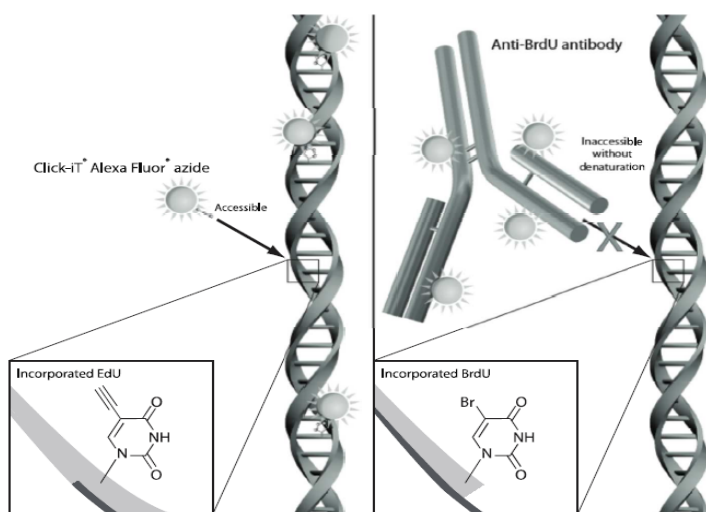


Fig 1A et 1B

Figure 1 Insertion du marqueur Uridine dans l'ADN et sa révélation

A- Révélation directe de l'EdU

B- Révélation indirecte du BrdU via un anticorps

(source : InVitrogen, Molecular Probes, Click-iT EdU imaging Kits-29/11-2011).

Références :

Cappella, P., Gasparri, F., Pulici, M., and Moll, J. (2008). A novel method based on click chemistry, which overcomes limitations of cell cycle analysis by classical determination of BrdU incorporation, allowing multiplex antibody staining. *Cytometry A* *73A*, 626–636.

Elisabeth, N.H., Gustave, S.D.D., and Gros, O. (2012). Cell proliferation and apoptosis in gill filaments of the lucinid *Codakia orbiculata* (Montagu, 1808) (Mollusca: Bivalvia) during bacterial decolonization and recolonization. *Microsc. Res. Tech.* *75*, 1136–1146.

Gómez-Mendikute, A., Elizondo, M., Venier, P., and Cajaraville, M.P. (2005). Characterization of mussel gill cells in vivo and in vitro. *Cell Tissue Res.* *321*, 131–140.

Gratzner, H.G. (1982). Monoclonal Antibody to 5-Bromo- and 5-Iododeoxyuridine: A New Reagent for Detection of DNA Replication. *Science* *218*, 474–475.

Neef, A.B., and Luedtke, N.W. (2014). An Azide-Modified Nucleoside for Metabolic Labeling of DNA. *ChemBioChem* *15*, 789–793.

Zaldibar, B., Cancio, I., and Marigomez, I. (2004). Circatidal variation in epithelial cell proliferation in the mussel digestive gland and stomach. *Cell Tissue Res.* *318*, 395–402.