

53

TRANSFORMATION ET CLONAGE DES MYOBLASTES AU COURS DU DEVELOPPEMENT CHEZ LES OISEAUX

Mouly V., Lemonnier M., Libri D., Liszman M.Y.
Département de Biologie Moléculaire, Institut Pasteur, Paris.

La mise en culture *in vitro* des cellules du bourgeon embryonnaire de patte de caille à différents stades du développement a permis de mettre en évidence 3 phénotypes biochimiques musculaires apparaissant successivement au cours du développement. Le premier (4-6 jours *in ovo*) est caractérisé par la formation de myotubes courts (5-30 noyaux/myotube), et l'expression des chaînes légères de la myosine de type MLC_{1F} et MLC_{2S}. Le deuxième type (7-8 jours *in ovo*) est caractérisé par de longs myotubes (100-150 noyaux/myotubes) et la coexpression des chaînes légères de type MLC_{1S}, MLC_{1F}, MLC_{2S} et MLC_{2F}, ainsi que par l'apparition en culture *in vitro* du récepteur nicotinique. Enfin un troisième type (9^{ème} jour) est caractérisé par la formation de longs myotubes (100-200 noyaux/myotubes) se contractant *in vitro*, et par l'expression des chaînes légères de type rapide MLC_{1F} et MLC_{2F}.

La transformation de ces types cellulaires par un virus oncogène thermosensible, le RSV NYts68, permet d'obtenir des clones de myoblastes homogènes qui, une fois cultivés à température non permissive pour la transformation, expriment les mêmes phénotypes que ceux décrits sur les cultures primaires, sauf en ce qui concerne l'expression de la forme β de la tropomyosine, absente des clones de myoblastes précoces différenciés. La situation clonale permet d'affirmer que ces phénotypes distincts sont l'expression de programmes intrinsèques aux types cellulaires, et non le résultat de l'influence de l'environnement non musculaire. Il y a donc au moins deux classes de myoblastes qui se succèdent au cours du développement embryonnaire. Ces deux classes de myoblastes sont capables de fusionner l'un avec l'autre.

Enfin, les cellules satellites issues de différents types de muscles, rapide ou lent, ont été mises en culture. L'analyse biochimique de leur programme de différenciation a montré que ce programme reste le même, quelle que soit l'origine des cellules satellites. L'analyse de la différenciation après transformation montre une expression diminuée par rapport à la culture primaire de l'isoforme β de la tropomyosine, d'une façon similaire à ce que l'on observe lors de la maturation de muscle Pectoralis. Les cellules satellites transformées représentent un système de choix pour l'étude tant du phénomène de maturation que de la régulation fine des gènes codant pour les tropomyosines.

54

LA LUMIERE INTRACELLULAIRE, ETAPE EXTRAPHYSIOLOGIQUE DE LA DIFFERENCIATION DE LA MEMBRANE APICALE DANS DIFFERENTS SYSTEMES EPITHELIAUX IN VITRO.

Rémy L.
INSERM U.218, Centre Léon Bérard, ~~28~~ Rue Laënnec, 69373 LYON Cedex 08.

Dans la plupart des adénocarcinomes, tumeurs malignes de nature épithéliale, les cellules montrent fréquemment *in vivo* une modification phénotypique se traduisant par l'apparition, dans le cytoplasme, d'une cavité globoïde et réfringente en microscopie optique et qui, en ultrastructure, se présente comme une vacuole sphérique strictement intracellulaire, bordée de microvillosités et contenant une substance légèrement osmiophile. Nous avons retrouvé ces lumières intracellulaires dans des lignées de cancers coliques humains telles que HT 29 et LoVo. Dans cette dernière, nous avons établi par immunomarquage avec un anticorps monoclonal anti 140 kd humain (don du Dr J.P. Gorvel, Marseille) l'identité morphofonctionnelle de leur membrane limitante avec la bordure en brosse de l'entérocyte.

Nous avons également pu provoquer leur apparition *in vitro* dans différents modèles de cellules épithéliales saines adultes (hépatocyte et cellule folliculaire thyroïdienne de rat et de porc) et foetales (cellule folliculaire thyroïdienne de rat). Le contenu polysaccharidique de ces lumières et l'enrichissement de leur membrane en thiamine pyrophosphate leur suggèrent une origine golgienne.

Leur prolifération sous l'influence d'hormones ou de médiateurs tels que l'AMP cyclique ainsi que leur tendance à s'ouvrir à la surface des cellules ayant perdu leur polarité pour différencier une nouvelle membrane apicale, sont discutés.

Ces lumières intracellulaires illustrent un comportement extraphysiologique de l'appareil sécrétoire de la cellule épithéliale, conduisant à un processus abortif de la production de composants membranaires de surface apicale. Ceci est vraisemblablement lié à la dédifférenciation des membranes de la cellule consécutive, soit à son isolement pour mise en culture, soit à sa transformation maligne *in vivo*.