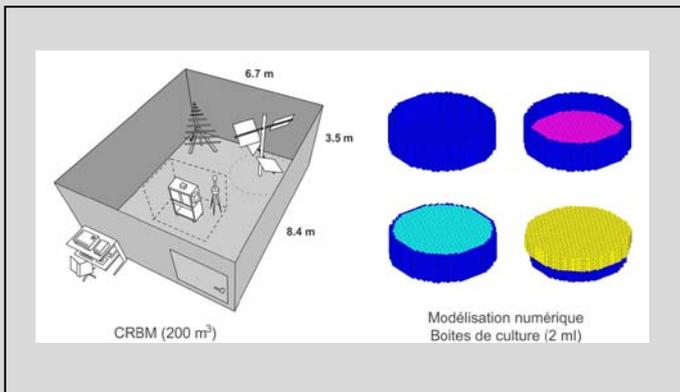


Mardi 25 septembre 2012

MAPHYS : analyse par biopuce à ADN de la réponse de kératinocytes humains à une exposition de faible amplitude en chambre réverbérante

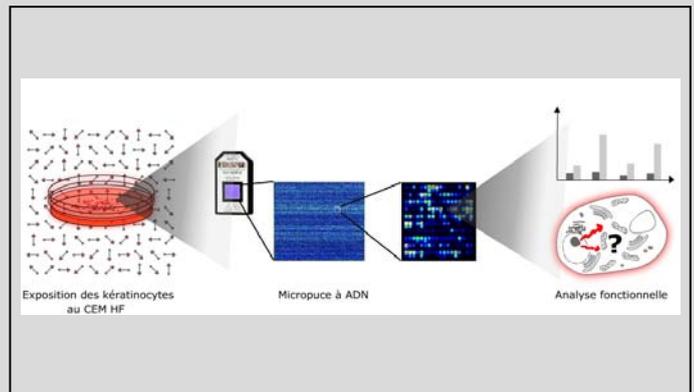
Alain VIAN, David ROUX, Sébastien GIRARD, Sébastien LALLECHERE, Françoise PALADIAN, Pierre BONNET

Objectifs de l'étude



- ♦ Contrôle de l'environnement EM des cellules humaines : vérification des lois de probabilité du CEM
- ♦ Contrôle de l'uniformité du CEM
- ♦ Evaluation numérique et expérimentale du DAS :
 - expérimentale : sonde de T° (250ms / 0.05°C)
 - numérique : FDTD (résolution du problème de facteur d'échelle : sommation d'ondes planes aléatoires)
- ♦ Vérification de l'uniformité du DAS / absence de couplages

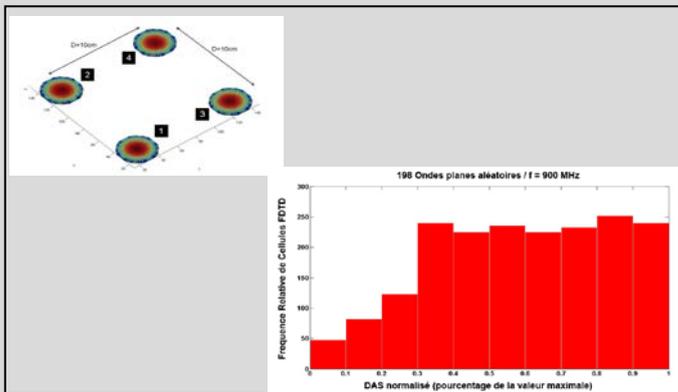
Méthodes



Etude des modifications d'expression du génome

- ♦ Approche gène candidat par PCR
- ♦ Interrogation de biopuces Affymetrix Témoins / stimulés HG-U133_Plus_2 (IGBMC)
- ♦ Validation des résultats en PCR quantitative
- ♦ Analyse différentielle des deux conditions EM testées

Résultats – Conclusions – Valorisation



Absence de couplage entre boîtes de cultures

- ♦ Au niveau des cellules : loi de probabilité identique à celle mesurée en CRBM vide
- ♦ Uniformité du CEM dans une boîte de culture

- ♦ DAS moyen $\langle E_{24} \rangle^* = 8 \text{ V/m} : 0.0026 \text{ W/kg}$
- ♦ DAS moyen $\langle E_{24} \rangle^* = 41 \text{ V/m} : 0.073 \text{ W/kg}$

| Biopuce n°1 - 8 V/m x 10 min | | | | Biopuce n°2 - 41 V/m x 30 min | | | |
|------------------------------|-----------|--------------|--|-------------------------------|-----------|--------------|---|
| N° | Ratio EIS | Symbole Gène | Description | N° | Ratio EIS | Symbole Gène | Description |
| 1 | 1.56 | DYRK1A | tyrosine phosphorylation-regulated kinase receptor for interleukin 20 (IL20) | 1 | 0.64 | SCG5 | secretogranin V (T22 protein) |
| 2 | 1.56 | LDORA | ribosomal RNA processing 5, processome | 2 | 0.63 | REL | v-vet rebluendethelias viral oncogene homolog |
| 3 | 1.31 | RRP9 | metastasis associated lung adenocarcinoma | 3 | 0.63 | ADFP | adipose differentiation-related protein |
| 4 | 0.70 | MALAT1 | hect domain and RLD 2 pseudogene 3 | 4 | 0.66 | NR1D2 | nuclear receptor subfamily 1, group D, member 2 |
| 5 | 0.69 | HERCIP2 | heterogeneous nuclear ribonucleoproteins | 5 | 0.81 | AKAP12 | A kinase (PRKA) anchor protein 12 |
| 6 | 0.68 | HNRNPH1 | idem | 6 | 0.65 | LEPR | leptin receptor |
| 7 | 0.68 | HNRNPA1 | idem | 7 | 1.60 | KIAA0754 | hypothetical LOC643314 |
| 8 | 0.67 | --- | protegrins and protegrin analogs | 8 | 0.50 | PK4 | pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4 |
| 9 | 0.66 | --- | RNA binding motif protein | 9 | 0.66 | --- | --- |
| 10 | 0.65 | HIRA | histone chaperone | 10 | 0.66 | KLHL24 | kelch-like 24 (Drosophila) |
| 11 | 0.65 | --- | contains Alu and MER1Y repetitive element | 11 | 0.67 | PCDH7 | protocadherin 7 |
| 12 | 0.65 | MALAT1 | metastasis associated lung adenocarcinoma | 12 | 0.60 | HINT3 | histidine triad nucleotide binding protein 3 |
| 13 | 0.59 | --- | human hepatocellular carcinoma | 13 | 0.67 | --- | --- |
| 14 | 0.56 | TacRNA | trophoblast derived non-protein coding RNA | 14 | 0.63 | --- | --- |
| 15 | 0.56 | TacRNA | idem | 15 | 0.63 | --- | --- |
| 16 | 0.54 | TacRNA | idem | 16 | 0.66 | --- | --- |
| | | | | 17 | 0.46 | --- | --- |

- ♦ Développement d'un protocole de culture adapté (NHEK – CRBM)
- ♦ Deux expositions EM testées sur kératinocytes humains
- ♦ Aucune modification significative de la quantité d'ATP après exposition
- ♦ 54000 gènes interrogés par biopuce : 16 changements potentiels d'expression significatifs* pour la condition n°1 et 17 pour la n°2 (0.3 ‰).
- Ratios Exposés / témoins très faibles, compris entre 0,5 et 1,6
- ♦ Aucune variation significative obtenue par PCR quantitative

Lalléchère *et al.*, Progress In Electromagnetics Research B, Vol. 26, 257–290, 2010 – Roux *et al.* Bioelectromagnetics 32:302-311 (2010)