

Imagerie en flux et phénotypes complexes : le cas de la sénescence

Ludovic Cervera^{1,2} & Julien Cherfils-Vicini^{1,2,3}

- 1- Université Côte d'Azur, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) UMR7284, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1081, Institute for Research on Cancer and Aging, Nice (IRCAN), Nice 06107, France
- 2- Plateforme CytoMed, IRCAN, Nice
- 3- Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) RESPIRera, CHU Nice, France

La sénescence cellulaire est un phénotype complexe et hautement hétérogène. Loin d'être un état unique et figé, la sénescence peut être nécessaire pour des programmes variables, tantôt immunoactivateurs tantôt immunosuppresseurs, bénéfiques ou délétères selon le contexte. Si les cellules sénescents s'accumulent avec l'âge et contribuent à de nombreuses pathologies, elles participent également à des processus physiologiques essentiels (cicatrisation, développement, remodelage tissulaire). Une meilleure compréhension de cette dualité impose de les détecter et de les caractériser finement.

Or aucun marqueur unique n'est spécifique de la sénescence. Les recommandations internationales préconisent de combiner au moins quatre marqueurs indépendants, associant marqueurs fonctionnels et phénotypiques tels que l'analyse des dommages à l'ADN (DDR), l'activité SA- β -galactosidase, la sécrétion de facteurs solubles appelés SASP et les inhibiteurs du cycle (p16 ou p21). Appréhender l'ensemble de ces paramètres simultanément reste un challenge technique.

Pour répondre à ce besoin, nous exploitons la polyvalence de l'imagerie en flux (ImageStreamX) pour phénotyper et multiplexer ces marqueurs à l'échelle de la cellule unique, en conservant à la fois la résolution spatiale (foyers nucléaires, signaux ponctuels, localisation) et le débit de la cytométrie.

Nous présenterons la mise au point d'un protocole intégré combinant, sur un même échantillon : PNA-FISH télomérique, activité SA- β -Gal, marquage de surface GD3, foyers de réponse aux dommages de l'ADN (53BP1), p16 et SASP intracellulaire. Au-delà du simple scoring, l'imagerie en flux permet de compter les foyers, de mesurer l'attrition télomérique et d'objectiver l'hétérogénéité cellule à cellule.

Au-delà de la sénescence, ce travail illustre le potentiel de l'imagerie en flux comme outil générique de déconvolution des phénotypes cellulaires complexes.