

Erratum

Développement d'une méthode de quantification de ARN messagers par RT-PCR dans les biopsies testiculaires

H. LEJEUNE, R. LEVY, C. BREBANT, J.C. CRAVE, N. BERGER-DUTRIEUX, M. DEVONEC, P. DURAND, J.M. SAEZ, M. PUGÉAT

Andrologie, Vol. 6, N°2, Juin 1996, 214-223.

Nous prions nos lecteurs et les auteurs de bien vouloir excuser les erreurs de mise en page des illustrations de l'article cité ci-dessus.

Les figures 1 (page 217) et 2 (page 218) ont été inversées, alors que leurs légendes sont en bonne place. La figure 3 (page 219) dont la légende est exacte a été remplacée par la figure 4 que l'on retrouve à sa place, et avec sa légende, à la page 220.

Ces figures et leurs légendes sont reproduites dans les pages qui suivent dans leur succession correcte.

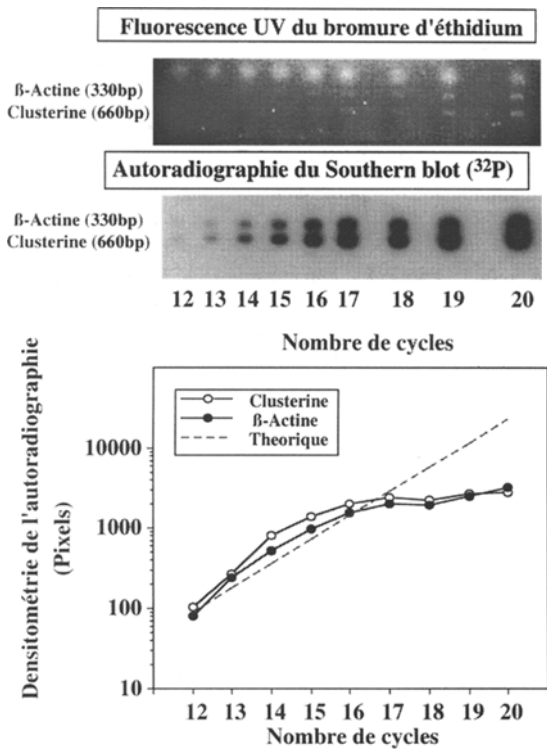


Figure 1 : Coamplification des cDNA de la β -actine et de la Clusterine obtenus par transcription inverse d'ARN de testicule histologiquement normal. Les produits de PCR ont été prélevés après 12 à 20 cycles d'amplification, séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1% en présence de bromure d'éthidium et révélés par fluorescence UV (en haut). Les produits de PCR sont détectés en fluorescence UV à partir de 16 cycles. Les produits de PCR ont été transférés du gel sur une membrane de nylon, hybridés avec des sondes de cDNA de la β -actine et de la Clusterine marquées au ^{32}P . Les membranes de nylon ont été lavées à haute stringence (0,1xSSC ; 65°C). L'autoradiographie est présentée au milieu. Le graphique donne les résultats de l'analyse densitométrique de l'autoradiographie et la représentation du taux théorique d'amplification de la PCR. On constate que l'amplification est exponentielle (échelle des ordonnées logarithmique) jusqu'à 16 cycles.

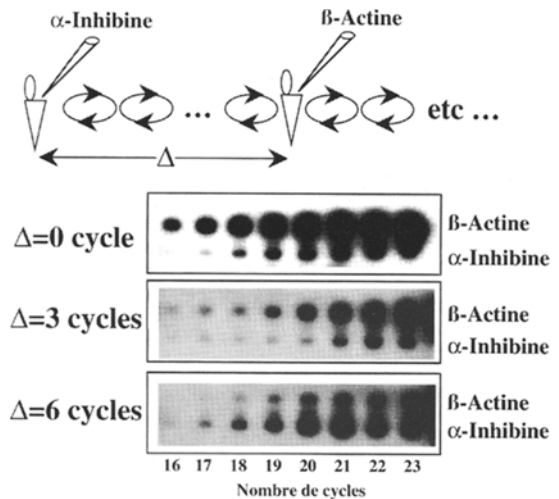


Figure 2 : Influence du décalage du début de l'amplification de la β -actine en coamplification avec l' α -inhibine. En haut, schéma du protocole expérimental. La transcription inverse d'ARN a été réalisée à partir d'ARN total de testicule histologiquement normal. Les amorces spécifiques de l' α -inhibine ont été mises dans le milieu réactionnel au début de l'amplification par PCR, les amorces de la β -actine ont été mises dans le milieu réactionnel en même temps ($\Delta=0$) ou avec un décalage de $\Delta=3$ ou 6 cycles. En bas, image des autoradiographies : on observe qu'en absence de décalage, l'image autoradiographique de la β -actine est saturée lorsque l'image de l' α -inhibine devient visible. Le décalage permet d'analyser les 2 produits d'amplification simultanément en phase exponentielle.

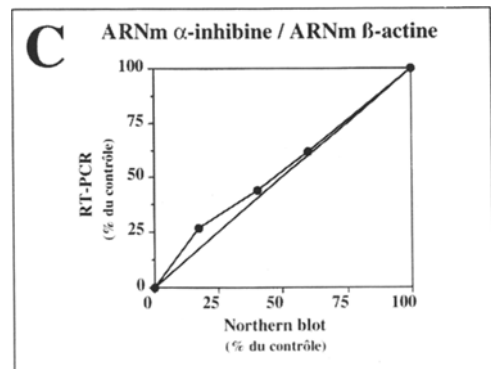
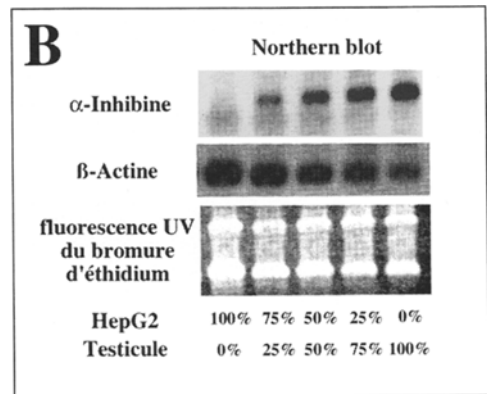
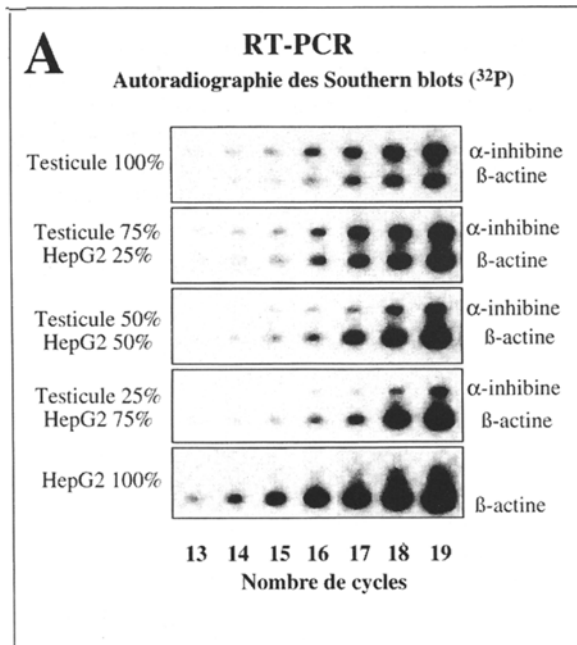
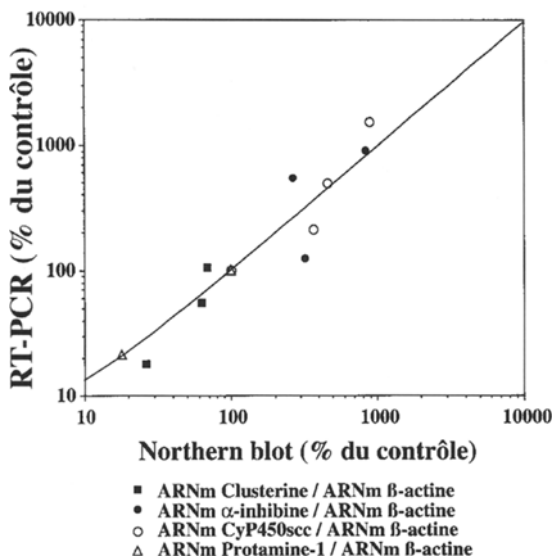


Figure 3 : Mesure des ARNm de l' α -inhibine par rapport aux ARNm de la β -actine par RT-PCR et par Northern Blot. Les échantillons analysés ont été des ARN totaux extraits d'un testicule histologiquement normal (Testicule 100%), des ARN totaux extraits de cellules de la lignée d'hépatocarcinome humain HepG2 (HepG2 100%), et d'un mélange des 2 solutions d'ARN totaux selon les proportions indiquées : Testicule 25%-HepG2 75% ; Testicule 50%-HepG2 50% ; Testicule 75%-HepG2 25% sur la base de la masse d'ARN total, mesurée par la densité optique à 260nm. Pour chacune des conditions, 1 μ g d'ARN total à été utilisé pour la RT, 20 μ g pour le Northern blot. A : Image autoradiographique des produits de RT-PCR, B : Image autoradiographique des Northern blots réalisés avec la sonde α -inhibine en haut, β -actine au milieu. En bas est présentée l'image de la fluorescence en UV des ARN sur de la membrane de nylon après électrophorèse en présence de bromure d'éthidium et transfert. C : représentation de la corrélation des rapports ARNm α -inhibine / ARNm β -actine obtenus pour les divers mélanges d'ARN, et mesurés par Northern blot et RT-PCR. Les valeurs sont exprimées en % du contrôle, c'est à dire en % de la valeur obtenue pour les ARN de testicule non dilués par des ARN d'HepG2.

Northern blot versus RT-PCR



<--

Figure 4 : Corrélation entre les mesures des ARNm par RT-PCR et par Northern Blot, à partir d'ARN totaux extraits de testicules de 3 patients présentant des troubles de la spermatogénèse, par rapport un sujet contrôlé ayant une histologie testiculaire normale.

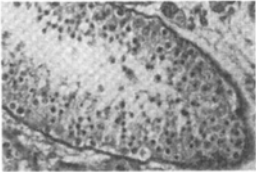


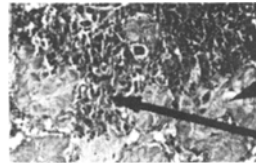
	Clusterine / β -Actine	CyP450ssc / β -Actine	Protamine-1 / β -Actine	α -Inhibine / β -Actine
 Contrôle Testicule normal	100%	100%	100%	100%
 Patient n°1 Hypo- spermatogénèse	68%	490%	18%	547%
 Patient n°2 Atrophie tubulaire fibrohyalinose	63%	209%	0	125%
 Patient n°3 Atrophie tubulaire hyalinose hyperplasie leydigienne	26%	1539%	0	910%

Figure 5 : Relation entre mesure des ARNm par RT-PCR et histologie testiculaire. La mesure des différents ARNm étudiés, rapportée aux ARNm de la β -actine, a été exprimée de manière relative au résultat obtenu pour le sujet contrôlé dont l'histologie testiculaire est normale.