



UNIVERSITE de TLEMCEM  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

## Département de biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie **W0414100**

Présenté par

**SEDDIKI Farah**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Immunologie

## Thème

Conception d'amorce de gène SOCS3 et régulation de la  
réponse inflammatoire et du processus apoptotique  
Sous la direction du professeur SMAHI CM

Soutenu le 23/09/2020,

Devant le jury :

<b>Présidente</b>	<b>BRAHAMI Nabila, Maitre de conférences B(Univ. Tlemcen )</b>
<b>Directeur de mémoire</b>	<b>SMAHI Mohammed Chems Eddine, Professeur (Univ. Tlemcen)</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>BENMANSOUR Souheila Amal, Maitre assistante HU (Univ. Tlemcen)</b>

## Dédicaces

Au nom du dieu le clément et le miséricordieux louange à ALLAH le tout puissant.

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, reconnaissance et de **remerciement** :

À mes Chères Parents Kamel Eddine et Saliha : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Que Dieu vous protégé et vous garde.

A mon Mari Imad Eddine : Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Cher mari j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour.

A ma très chère « petit sucre » Miral : C'est à toi mon adorable ange, ma joie, ma petite trésor que maman dédie ce travail pour te dire que tu resteras pour toujours la reine du soleil qui égaye ma vie. Je t'aime ma princesse et je te souhaite tous le bonheur du monde

A mes chères et adorables frères et sœurs : Ibtissem, la prunelle de mes yeux, Malek, la douce, au cœur si grand, Mustapha le généreux et sa femme Zineb. En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protégé et vous garde.

À mes amies de toujours : Nadjat, Abir, Yasmine, Sara, Ghizlaine .donia et Ilham

.salima .Nacera et Fatima ... et a tout la promo de immunologie. En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A toute ma famille, qui porte le nom seddiki et chikh et berrouiguet et chérif.

A tout ceux qui ont participé à l'élaboration de ce modeste travail et tous ceux qui nous sont chers.

### Résumé :

**Introduction** : SOCS3 joue un rôle essentiel dans la régulation de la réponse inflammatoire et au processus apoptotique grâce à l'inhibition au niveau de la voie de signalisation JAK2/STAT3 par plusieurs facteurs.

**Objectif** : Concevoir des amorces du gène SOCS3 par Primer BLAST afin de pouvoir étudier son rôle dans la régulation de la réponse inflammatoire et le processus apoptotique.

**Matériel et méthodes** : Nous avons réalisé une étude bio-informatique pour trouver la séquence du gène SOCS3 sur le site [www.ensembl.org](http://www.ensembl.org) , puis à partir de la plateforme de la NCBI on a utilisé le primer blast pour obtenir une bonne paire d'amorce de gène SOCS3 et on a ensuite confirmé leurs spécificités en confirmant les résultats par PCR in silico.

**Résultats** : A la fin de notre étude sur primer blast nos résultats montrent que la paire d'amorce numéro 3 est la bonne paire d'amorce avec un produit spécifique de 502pb et le reste sont aspécifiques supérieur à 1000pb, avec une longueur d'amorce de 20 bases et une température de fusion de 60° C et une teneur de GC de 60 %.

**Conclusion** : A partir de cet outil de conception des amorces nous avons pu obtenir notre paire d'amorce du gène SOCS3 qui se situe sur le chromosome 17. Ceci nous permettra d'étudier le rôle de SOCS3 dans la régulation de la réponse inflammatoire et le processus apoptotique.

**Mots clés** : SOCS3, la réponse inflammatoire, l'apoptose, PCR, amorce

## Abstract

**Introduction :** SOCS3 plays an essential role in the regulation of the inflammatory response and the apoptotic process thanks to the inhibition at the level of the JAK2 / STAT3 signaling pathway by several factors.

**Goal :** Design primers for the SOCS3 gene using Primer BLAST in order to be able to study its role in the regulation of the inflammatory response and the apoptotic process.

**Material and methods :** We carried out a bioinformatics study to find the sequence of the SOCS3 gene on the site [www.ensembl.org](http://www.ensembl.org) , then from the NCBI platform, we used the primer blast to obtain a good pair of SOCS3 gene primer and we then confirmed their specificities by confirming the results by insilico PCR.

**Results:** At the end of our primer blast study our results show that primer pair number 3 the correct primer pair with a specific product has 502bp and the rest are nonspecific greater than 1000bp, with a primer length of 20 bases. and a melt temperature of 60 ° C and a GC content of 60.

**Conclusion:** From this primer design tool we were able to easily obtain our primer pair for the SOCS3 gene which is located on chromosome 17. This will allow us to study the role of SOCS3 in the regulation of the inflammatory response and the process. apoptotic.

**Keywords :** SOCS3; inflammatory response; apoptosis; PCR. primer

**ملخص:**

**المقدمة:** يلعب SOCS3 دورًا أساسيًا في تنظيم الاستجابة الالتهابية وعملية موت الخلايا المبرمج من خلال تثبيط على مستوى مسار إشارات JAK2 / STAT3 بعدة عوامل.

**هدف:** تصميم مواد أولية لجين SOCS3 باستخدام Primer BLAST من أجل دراسة دورها في تنظيم الاستجابة الالتهابية وعملية موت الخلايا المبرمج.

**المواد والطرق:** لقد أجرينا دراسة المعلوماتية الحيوية للعثور على تسلسل جين SOCS3 على الموقع [www.ensemble.org](http://www.ensemble.org) ، ثم من منصة NCBI ، استخدمنا الانفجار التمهيدي للحصول على زوج جيد من التمهيدي الجيني SOCS3 ثم أكدنا خصوصياتهم من خلال تأكيد النتائج بواسطة insilico PCR.

**النتائج:** في نهاية دراسة Primer Blast التي أجريناها ، تُظهر نتائجنا أن زوج التمهيدي رقم 3 ، زوج التمهيدي الصحيح مع منتج معين لديه 502 نقطة أساس والباقي غير محدد أكبر من 1000 نقطة أساس ، ويبلغ طول التمهيدي 20 قاعدة. ودرجة حرارة الذوبان 60 درجة مئوية ومحتوى GC 60.

**خاتمة:** من خلال Primer Blast ، تمكنا من الحصول بسهولة على زوج التمهيدي الخاص بنا من الجين SOCS3 الموجود على الكروموسوم 17. وهذا سيسمح لنا بدراسة دور SOCS3 في تنظيم الاستجابة الالتهابية والعملية. موت الخلايا المبرمج.

**الكلمات الدالة:** SOCS3 ؛ استجابة التهابية ، موت الخلايا المبرمج، PCR, مواد أولية

## **Avant-propos**

En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Pr. Mourad ARIBI

Je voudrais également remercier les membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'ausculter mon mémoire. Dr. ELMEZOUAR Chahrazad et Dr BENMANSOUR Souheila Amal et surtout mon encadreur le Pr. SMAHI Mohammed Chams Eddine

Il me faut aussi remercier le Pr NOUARI Wafa professeur responsable de notre spécialité immunologie qui m'a vraiment aidé

C'est un grand merci que j'adresse à toute l'équipe de Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie (BIOMOLIM), Université de Tlemcen, sous la direction du Professeur Mourad ARIBI.

Enfin, je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

**Tables des matières**

Résumé	lii
Abstract	IV
ملخص	V
Avant-propos	Vi
Dédicaces	
Tables des matières	Vii
Liste des figures	Ix
Liste des tableaux	X
Liste des abréviations	Xi

**Chapitre 1. Revue de la littérature**

## 1\_ Réponse inflammatoire et processus apoptotique

## 1\_1\_ généralité

## 2\_ réponse inflammatoire

## 2\_1\_ définition

## 2\_2\_ composants de réponse inflammatoire

## 2\_3\_ les types de la réponse inflammatoire

## 2\_4\_ effet de la réponse inflammatoire

## 2\_5\_ les voies principales dans la réponse inflammatoire

## 2\_5\_1\_ voie JAK/STAT

## 2\_6\_ mécanisme de la réponse inflammatoire

## 3\_ processus apoptotique :

## 3\_1\_ définition

## 3\_2\_ les types de la voie de l'apoptose

## 3\_2\_1\_ voie intrinsèque

## 3\_2\_2\_ voie extrinsèque

3\_3\_les phases de l'apoptose

3\_4\_mécanisme d'apoptose

4\_ socs3

4\_1\_ généralité

4\_2\_ définition

4\_3\_ structure

4\_4\_ expression du gène socs3

4\_5\_ rôle /et ou fonction de gène

4\_6\_ mécanisme de la signalisation de SOCS3

4\_7\_ socs3 et la régulation de réponse inflammatoire

4\_8\_ socs3 et la régulation de la réponse inflammatoire et du processus apoptotique

5\_technique de la réaction de la polymérisation en chaine

5\_1\_ définition

5\_2\_ principe

5\_3\_application de la PCR

5\_4\_les étapes de PCR

5\_5\_les types de la PCR

## **Chapitre 2 : matériel et méthodes**

2\_1\_la conception des amorces pour la PCR

2\_2\_la sélection des amorces

2\_2\_1\_la longueur des amorces

2\_2\_2\_la température de fusion

2\_2\_3\_la spécificité

2\_2\_4\_les séquences d'amorces complémentaires



2\_2\_5\_la teneur en G/C

2\_2\_6\_la séquence à l'extrémité 3'

3\_recherche de la séquence du gène SOCS3

4\_le design de primer

4\_1\_définition

5\_analyse de résultats du primer blast

## **Chapitre 3 : résultats**

3\_1\_résultats de la conception d'amorces

## **Chapitre 4 : conclusion**

## **Chapitre 5 : bibliographie**

## Liste des figures

**Figure1** : mécanisme de la réponse inflammatoire

**Figure2** : structure tridimensionnelle de SOCS3.

**Figure3** : mécanisme de signalisation de socs3

**Figure4** :SOCS3 régulateur des maladies inflammatoires ou bien les réponses inflammatoires

**Figure5** :SOCS3 régulateur des maladies inflammatoires ou bien les réponses inflammatoires

**Figure6** : Site ensembl.org.

**Figure7** : Description de gène socs3.

**Figure8** : Description de gène socs3.

**Figure9** : La première partie de la séquence de socs3.

**Figure10** : Deuxième partie de la séquence de socs3.

**Figure11** :Troisième partie de la séquence de socs3.

**Figure12** : La séquence d'intérêt qui se trouve dans l'exon 2 de gène socs3.

**Figure13** : Le site NCBI.

**Figure14** : L'outil primer blast.

**Figure15** : La séquence d'intérêt dans le site primer blast.

**Figure16** : Le forward primer.

**Figure17** : La reverse primer.

**Figure18** : La reverse et le forward primer.

**Figure19** : Paramètres de vérification de la spécificité des paires d'amorces.

**Figure20** : Le bouton soumettre.

**Figure21** : Les dix paires d'amorces.

**Figure22** : Résultats de primer Blast.

**Figure23** : Le site de <https://genome.ucsc.edu/t>

**Figure24** : le forward et reverse primer dans la PCR in silico.

**Figure25** : Confirmation des résultats par le site UCSC in silico PCR.

---

**Liste des Tableaux**

**Tableau1** : la protéine SOCS et ces principales fonctions.

**Liste d'abréviations**

AP-PCR : amorçage arbitraire

ADN : L'acide désoxyribonucléique

BCL-2 : lymphome 2 à cellules B

DGGE : électrophorèse sur gel a gradient dénaturent

FAS : protéine transmembranaire homotrimique

Gp130 : glycoprotéine 130

IL6 :interleukine6

IL12 : interleukine 12

IFN : interféron

JAK : Janus kinases

MAPK :Mitogen-activatedprotein kinases

NTP :protocole de temps réseau

NCBI : National Center for Biotechnologie Information

NF.KB : facteur nucléaire kappa B

PCR : réaction de polymérisation en chaîne

RT-PCR : reverse transcriptase

SOCS3 : supresseur de la signalisation de cytokine

STAT : transducteur de signaux et activateurs de transcription

SH2 : homologie Src2

FLP : polymorphisme de longueur du fragment de restrictionterminale

TGGE : gel a gradient de température

TNF : facteur de nécrose tumorale

TLR : récepteur de type Toll

TGF : facteur de croissance transformant

# Introduction

---

## Introduction

La réponse inflammatoire est un mécanisme essentiel de la santé et des maladies humaines. La première description de l'inflammation par le Romain, Cornelius Celsus, au 1er siècle a défini les symptômes cliniques des maladies inflammatoires. Quatre signes cardinaux d'inflammation ont été identifiés : rubor et tumor cum calor et Dolor (rougeur et gonflement avec chaleur et douleur). Le développement de la maladie a été défini comme un déséquilibre des quatre signes cardinaux. L'inflammation est initiée comme une réponse protectrice aux défis avec des agents pathogènes ou des corps étrangers, ou des blessures (Freire and Van Dyke, 2013),

L'apoptose est la mort cellulaire programmée qui est un terme collectif désignant divers processus provoquant un suicide cellulaire étroitement induit et étroitement contrôlé (Daneva et al., 2016)

L'inflammation pourrait être due à la sénescence cellulaire (Franceschi and Campisi, 2014).

Le suppresseur de la signalisation de cytokine 3 (SOCS3) est un membre important de la famille des inhibiteurs de la voie de signalisation des cytokines et la molécule la plus critique dans la régulation négative de la voie de signalisation JAK / STAT3. La régulation de l'expression de SOCS3 peut inhiber l'activation d'une série de cytokines comprenant JAK et STAT dans la voie de signalisation JAK / STAT (Liu et al. 2019)

SOCS3 joue un rôle essentiel dans la régulation de la réponse inflammatoire par l'inhibition de STAT3 qui induit la suppression des cytokines liée à IL6 (Kubo et al., 2003)

Il joue aussi un autre rôle de régulation dans le processus apoptotique par l'inhibition de la voie de signalisation JAK2 / STAT3 qui induit l'augmentation de l'inflammation qui favorise l'apoptose et améliore aussi leur régulation dans le corps humain (Liu et al. 2014)

La PCR est une technique biologique moléculaire puissante qui permet une détection sensible, spécifique et précise des espèces ou groupes microbiens souhaités dans un échantillon environnemental, indépendamment de la subculture (Rinttilä et al., 2020). Ainsi elle consiste à utiliser, de manière répétitive, l'une des propriétés des ADN polymérases celle de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir d'une amorce qui est une petite séquence d'ADN utilisée pour démarrer la réplication de l'ADN lors de la PCR. C'est donc une séquence complémentaire à une région située au début de l'ADN que l'on veut amplifier, il faut bien choisir l'amorce pour que l'efficacité de la PCR soit optimale

## Introduction

---

L'objectif de notre travail était de concevoir des amorces du gène SOCS3 par Primer BLAST afin de pouvoir étudier son rôle dans la régulation de la réponse inflammatoire et le processus apoptotique.

## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

### **Chapitre 1. Revue de la littérature**

#### **1\_ Réponse inflammatoire et processus apoptotique :**

##### **1\_1\_ Généralité :**

L'inflammation représente une réponse fondamentale aux blessures microbiennes, chimiques et physiques. La production de médiateurs inflammatoires dépend d'une signalisation intracellulaire étroitement régulée par des facteurs de transcription sensibles au stress en tant qu'activateurs positifs du programme génétique pro-inflammatoire (Jo et al., 2005)

C'est une réponse biologique du système immunitaire qui peut être déclenchée par divers facteurs notamment des agents pathogènes, des cellules endommagées et des composés toxiques. Ces facteurs peuvent induire des réponses inflammatoires aiguës. Elle agit en supprimant les stimuli nuisibles et en initiant le processus de guérison. L'inflammation est donc un mécanisme de défense indispensable à la santé (Chen et al., 2018).

L'apoptose ou bien La mort cellulaire programmée c'est un terme générique désignant diverses formes de suicide cellulaire génétiquement codé et contrôlé activement qui présentent généralement un avantage sélectif pour un organisme (Daneva et al., 2016), cette mort cellulaire régulée est classiquement appelée la mort cellulaire programmée en raison de son exécution à travers un ensemble défini de mécanismes génétiquement codés.

L'apoptose est la forme de mort cellulaire programmée la plus étudiée et elle est essentielle au développement de l'organisme. Dans l'apoptose, la mort est exécutée par des programmes moléculaires intrinsèques dans la cellule pour s'assurer qu'il n'y a pas d'impact sur les cellules vivantes environnantes (Kesavardhana et al., 2020).

L'inflammation pourrait être due à la sénescence cellulaire (Franceschi and Campisi, 2014).

#### **2\_ Réponse inflammatoire :**

##### **2\_1\_ Définition :**

La réponse inflammatoire est une composante clé de l'immunité innée antivirale ou les Troubles inflammatoire détériorent la santé des victimes et entraînent la mort dans de nombreuses maladies virales (Liu et al., 2019b).



## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

Cette réponse inflammatoire se fait par une libération de médiateur inflammatoire et le recrutement des leucocytes circulants qui s'activent au site inflammatoire et libèrent d'autres médiateurs (White et al., 2011).

Elle désigne la capacité de la composante innée du système immunitaire à réagir à une contamination ou à une infection. Une réponse cellulaire et biochimique orchestrée du corps aux blessures ou aux infections. Elle se divise en deux classes aiguë et chronique. La réponse se compose de composants cellulaires et exsudatifs. Ceux-ci impliquent le mouvement des globules blancs et des protéines contenant des fluides et des anticorps dans le tissu pour réparer les dommages et inactiver un agent étranger (White et al., 2011).

Ces réactions inflammatoires étaient phénoménologiquement décrites dans les temps anciens (Kuprash and Nedospasov, 2016)

### **2\_2\_ Composants de la réponse inflammatoire :**

Une réponse inflammatoire elle se compose en quatre composants :

- ✓ Les inducteurs inflammatoires.
- ✓ Les capteurs qui les détectent.
- ✓ Les médiateurs inflammatoires induits par les capteurs.
- ✓ Les tissus cibles qui sont affectés par les médiateurs inflammatoires (Medzhitov, 2010).

### **2\_3\_ Les types de la réponse inflammatoire :**

L'inflammation aiguë, l'inflammation chronique et la réaction de corps étranger sont généralement considérées comme des événements précoces survenant dans la réponse immunitaire innée (Netea et al., 2017).

### **2\_4\_ Effet de la réponse inflammatoire :**

La réponse inflammation elle se caractérise par des rougeurs, des gonflements, la chaleur, de la douleur et une perte de la fonction tissulaire, qui résultent des réponses cellulaires immunitaires, vasculaires et inflammatoires locales à infection ou à la blessure.

Les événements microcirculatoires importants qui se produisent pendant le processus inflammatoire comprennent les changements de perméabilité vasculaire, le recrutement et accumulation de leucocytes et la libération de médiateurs inflammatoires (Chen et al., 2018).

### **2\_5\_ Les voies principales dans la réaction inflammatoire :**

La réponse inflammatoire est souvent importante dans la progression pathologique d'une maladie organique. Trois voies principales, NF- $\kappa$ B, MAPK et JAK-STAT, jouent un rôle

## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

majeur dans inflammation, et une dérégulation une ou plusieurs de ces voies peut entraîner une maladie associée à l'inflammation (Chen et al., 2018).

### **2\_5\_1\_ Voie JAK-STAT :**

La voie JAK-STAT implique diverses cytokines, facteurs de croissance, interférons et molécules apparentées, telles que la leptine et hormone de croissance, et constitue un mécanisme de signalisation par lequel des facteurs extracellulaires peuvent contrôler l'expression des gènes. Les JAK associés aux récepteurs sont activés par des ligands et se phosphorylent les uns les autres, créant des sites d'accueil pour les STAT, qui sont des facteurs de transcription latents cytoplasmiques. Les STAT cytoplasmiques recrutés sur ces sites subissent une phosphorylation et une dimérisation ultérieure avant la translocation vers le noyau. La phosphorylation de la tyrosine est essentielle pour la dimérisation de STAT et la liaison à l'ADN. Par conséquent, la signalisation JAK / STAT permet la traduction directe d'un signal extracellulaire en une réponse transcriptionnelle. Par exemple, la liaison des membres de la famille IL-6 aux récepteurs de la membrane plasmique active les protéines JAK-STAT. Les protéines STAT transloquées dans le noyau se lient aux régions promotrices du gène cible pour réguler la transcription des gènes inflammatoires (Chen et al., 2018).

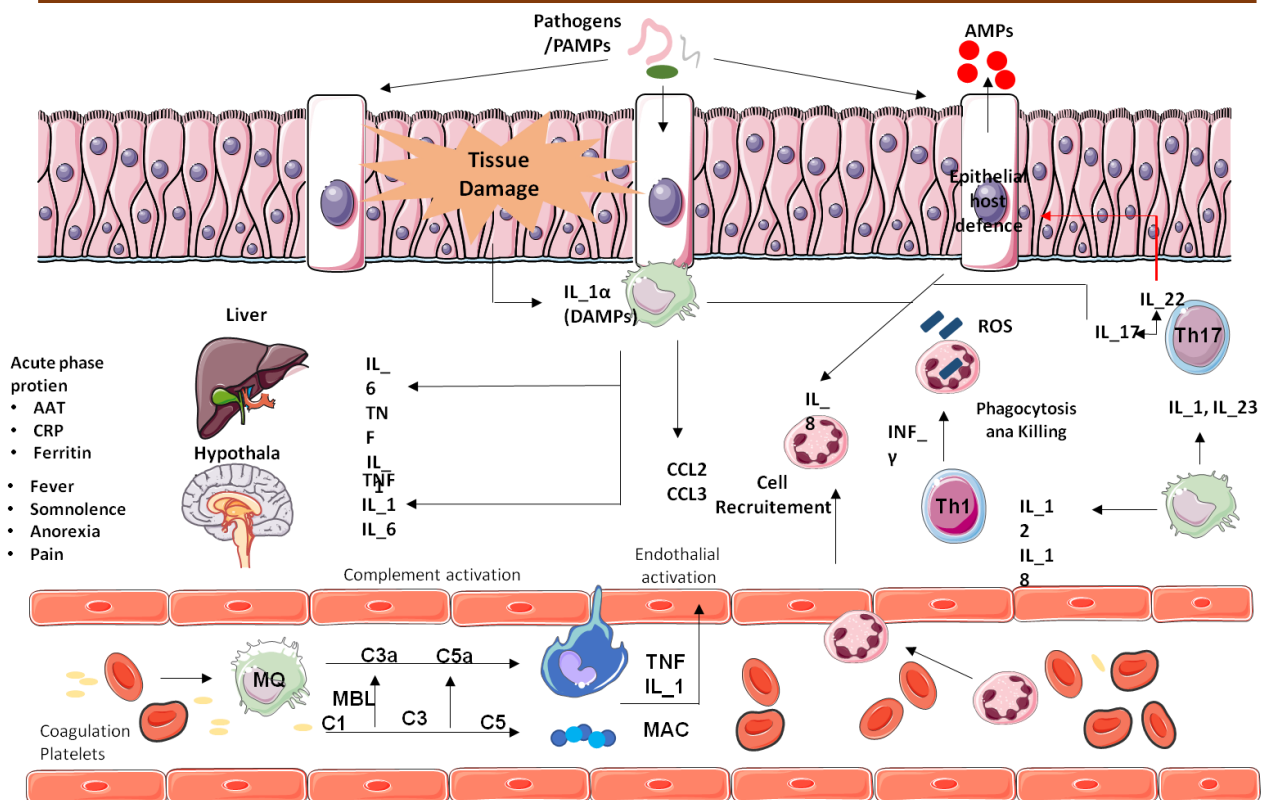
### **2\_6\_ Mécanisme de la réponse inflammatoire**

La réponse inflammatoire est l'activation coordonnée des voies de signalisation qui régulent les niveaux de médiateurs inflammatoires dans les cellules tissulaires résidentes et les cellules inflammatoires recrutées dans le sang (Lawrence, 2009).

Bien que les processus de réponse inflammatoire dépendent de la nature précise du stimulus initial et de sa localisation dans le corps, ils partagent tous un mécanisme commun, qui peut se résumer comme suit ((Chen et al., 2018) :

1. Les récepteurs du modèle de surface cellulaire reconnaissent les stimuli nuisibles.
2. Les voies inflammatoires sont activées.
3. Les marqueurs inflammatoires sont libérés.
4. Des cellules inflammatoires sont recrutées.

## Chapitre1. Revue de la littérature



**Figure.1 : mécanisme de la réponse inflammatoire (Netea et al., 2017)**

Les voies inflammatoires agissent sur la pathogenèse d'un certain nombre de maladies chroniques et impliquent des médiateurs inflammatoires et des voies de régulation courants. Les stimuli inflammatoires activent des voies de signalisation intracellulaires qui activent ensuite la production de médiateurs inflammatoires. Les stimuli inflammatoires primaires, y compris les produits microbiens et les cytokines tels que l'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), méditent l'inflammation par l'interaction avec les TLR, IL -1 récepteur (IL-1R), récepteur IL-6 (IL-6R) et récepteur TNF (TNFR) (Chen et al.,2018).

L'activation des récepteurs déclenche d'importantes voies de signalisation intracellulaires, y compris la protéine kinase activée par un mitogène (MAPK), le facteur nucléaire kappa-B (NF- $\kappa$ B) et la transducteur de signal et l'activateur des voies de transcription (STAT) du facteur nucléaire kappa-B (NF- $\kappa$ B) (Hendrayani et al., 2016).

### 3\_ Processus apoptotique :

#### 3\_1\_ Définition :

L'apoptose ou bien la mort cellulaire programmée est un mécanisme de suicide physiologique dépendant du signal qui préserve l'homéostasie en maintenant l'équilibre

## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

Délicat entre la prolifération cellulaire et la mort cellulaire. En plus de servir tous ces divers spectres de fonctions, il sert comme un mécanisme de défense contre les virus et probablement d'autres agents infectieux, tels que les bactéries intracellulaires et les parasites (Srivastav et al., 2014).

Cette mort cellulaire contrôlée par les propres mécanismes de la cellule. la description de L'apoptose a une fonction régulatrice importante pour le développement et le maintien de l'organisme. Le but de ce processus pour tuer tout les cellules indésirables et inutiles dans le corps peut être physiologique dans les situations suivantes : développement et homéostasie, mécanismes de défense et vieillissement cellulaire (Baum, 2018).

Cette dernier elle ce caractérisée par un retrait cellulaire, une condensation nucléaire avec fragmentation de l'ADN, une hémorragie membranaire et une décomposition en corps apoptotiques rapidement phagocytés (Bidère et al., 2006)

L'apoptose limite les réponses immunitaires par des médiations cellulaires (Jeremias et al. 2000).

### **3\_2\_ Les Types de la voie d'apoptose :**

C'est Deux voies d'apoptose sont :

#### **3\_2\_1\_ La voie intrinsèque :**

Également appelée la voie mitochondriale, opère dans l'apoptose contrôlée par le développement et Médie par un agent génotoxique est régulée par les membres de la famille Bcl-2

#### **3\_2\_2\_ La voie extrinsèque :**

Elle est déclenchée par des facteurs de mort de la famille TNF (FasL, ligand Fas; TNF- $\alpha$ . Ces facteurs sont synthétisés sous forme de protéine membranaire de type deux avec une structure homotrimérique et peuvent être clivés de la membrane pour générer une forme soluble.(Nagata,2018)

### **3\_3\_ Les phases de l'apoptose :**

Le processus d'apoptose peut être divisé en 4 phases : stimulation, détection, activation et dégradation.

La stimulation de l'apoptose peut également être exogène stimulateurs endogènes (par exemple ligand Fas ou CD 95, TRAIL, TNF une, Des poisons, des radiations, des médicaments, des lymphocytes T cytotoxiques) sont déclenchés. Dans la deuxième phase, la détection, l'apoptose est induite par ce signal de stimulation ou l'état métabolique modifié.

## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

La troisième phase l'activation est caractérisée par la spécification d'activation des mécanismes de destruction des cellules. Cela exclut spécifiquement l'activation des enzymes (par exemple caspases) ainsi que leurs composants régulateurs (par exemple Bcl-2). La cellule est déjà morte dans la quatrième phase. La condensation et la dégradation de l'ADN est caractéristique de cette phase. Dans cette phase, la cellule apoptotique est déjà reconnue et éliminée par d'autres cellules capables de phagocytose (Baum, 2018), et alors l'apoptose a une morphologie de la mort cellulaire programmée et donc un Changements structurels dans la cellule mourante (Cohen et al., 1992)

### **3\_4\_ Mécanisme d'apoptose :**

L'apoptose est un mécanisme intrinsèque de mort cellulaire silencieuse qui a évolué pour effectuer le démantèlement programmé des composants cellulaires pour l'homéostasie cellulaire. Les caspases sont au cœur de ce processus et hydrolysent systématiquement les protéines cellulaires clés dans une cascade complexe d'événements cellulaires. Parce que la protéolyse médiée par la caspase est un événement irréversible, les caspases sont synthétisées comme précurseurs monomères inactifs. Les stimuli pro-apoptotiques amorcent les cellules à initier la cascade de caspases, ce qui entraîne l'activation induite par la proximité des caspases initiatrices, cela active protéolytiquement les caspases effectrices, le saignement membranaire, et la libération de corps apoptotiques et aboutissant finalement à l'apoptose et à l'élimination des cellules mortes par phagocytose. Divers événements de signalisation en amont tels que l'engagement des récepteurs de la mort (extrinsèque) ou le stress cellulaire (intrinsèque) conduisent à des ensembles distincts de mécanismes d'apoptose induisant la mort (Kesavardhana et al., 2020).

La voie de signalisation qui est activée dans la cellule pour s'autodétruire par apoptose est complètement présente dans toutes les cellules du corps et conduit à la mort cellulaire en quelques minutes ou quelques heures, c'est-à-dire que la majorité des protéines sont présentes dans la cellule sous forme inactivée et n'ont qu'à toujours être activé. Le Chemin du signal est divisé en trois parties. Dans la phase initiatrice, la cellule reçoit le signal de mourir. Dans la deuxième phase, les systèmes effecteurs sont activés, qui sont contrôlés par des protéines régulatrices et provoquent la mort cellulaire. Dans la dernière phase, les résidus cellulaires sont finalement phagocytés par les cellules voisines (Jeremias et al., 2000).

### **4\_ Le SOCS3 :**

## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

### **4\_1\_ Généralité :**

Les cytokines sont des responsables clés de la régulation des processus biologiques importants par l'intermédiaire de l'activation des récepteurs de la membrane plasmique. Une fois les cytokines se lient à leurs récepteurs membranaires spécifiques, la plupart d'entre eux recruter la Janus kinase / transducteur de signal et activateur de la voie de transcription (JAK / STAT), qui contrôle la transcription de nombreux gènes et régule ainsi la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose des processus .la signalisation cytokine est modulé par des protéines de la famille des suppresseurs de signalisation des cytokines (SOCS) (Pedroso et al.,2019).

La famille SOCS de protéines structurellement apparentées est principalement sont connues comme des régulateurs principal de rétroaction négative de la signalisation du facteur de croissance et de l'inflammation (Stahl et al., 2012), ces protéines SOCS sont induites par des cytokines et d'autres stimuli par exemple comme l'insuline, et fonctionnent comme des inhibiteurs de rétroaction négative de la signalisation des cytokines(Rossa et al., 2012). , ils assurant l'activation de la voie pour les processus cellulaires essentiels dans le temps contrôlé pour éviter la pathologie. La famille SOCS se compose de huit protéines structurellement similaires SOCS1 ; SOCS 2, SOCS3, SOCS4, SOCS5, SOCS6, SOCS7 et CIS (protéine SH2 cytokine inductible)(White and Nicola, 2013).

L'importance de ces protéines SOCS dans la régulation de type I IFN production est en partie reflétée par le fait que certains virus ciblent les protéines de SOCS pour atténuer l'immunité antivirale de l'hôte (Yu et al.2018).

### **4\_2\_ Définition :**

Le suppresseur de signalisation de cytokine 3 est un régulateur négatif de la signalisation JAK-STAT (Ehrentraut et al. 2013), et l'un des régulateurs physiologique clé de l'immunité innée et adaptative qui contrôle plusieurs maladies immuno-inflammatoires et régulateur de plusieurs voie de signalisation (Cheng et al., 2015).

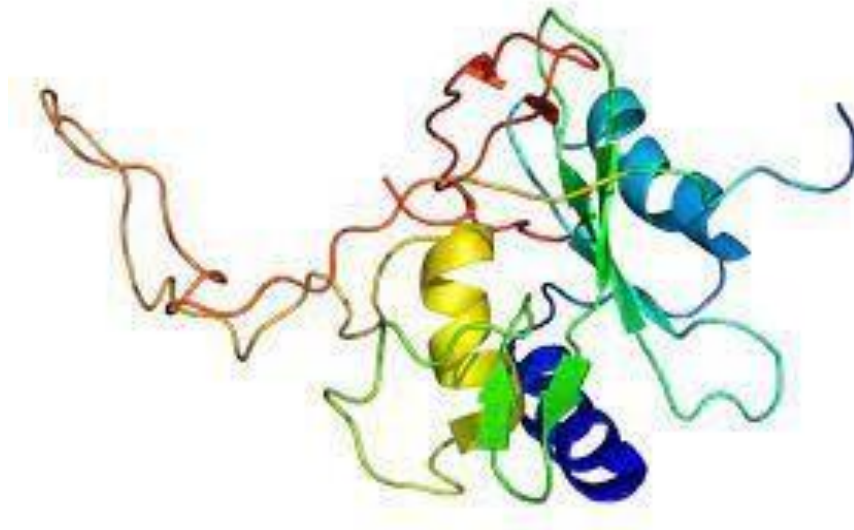
SOCS3 est un membre important de la famille des inhibiteurs de la voie de signalisation des cytokines et la molécule la plus critique dans la régulation négative de la voie de signalisation JAK / STAT3. La régulation de l'expression de SOCS3 peut inhiber l'activation d'une série de cytokines comprenant JAK et STAT dans la voie de signalisation JAK / STAT (Liu et al., 2019a), elle a été caractérisé comme l'un des régulateurs négatifs les plus cruciaux dans la voie de signalisation JAK2 / STAT3(Liu et al., 2019a).

### **4\_3\_ Structure :**

## Chapitre1. Revue de la littérature

---

Les SOCS en générale sont des protéines qui ont un domaine SH2 central et un court domaine C-terminal. Elles agissent comme des adaptateurs de substrat (Carow and Rottenberg, 2014), se sont des protéines avec une organisation structurale similaire qui comprend un domaine N-terminal de 12 acides aminés appelé région inhibitrice de kinase (KIR), qui est essentiel pour l'inhibition de la kinase JAK2. un domaine SH2 central responsable de la liaison aux résidus de phosphotyrosine dans diverses protéines cibles et également de la stabilisation de SOCS3 et un domaine C-terminal de 40 acides aminés appelé boîte SOCS qui est responsable de l'assemblage d'un complexe protéique qui forme une ubiquitine ligase E3 fonctionnelle et cible son partenaire de liaison pour la dégradation induite par l'ubiquitine(Rossa et al., 2012)



**Figure.2 : structure tridimensionnelle de SOCS3. (Chikuma et al., 2017)**

SOCS3 est une protéine contenant SH2 qui se lie à la boucle d'activation des Janus kinases, inhibant l'activité kinase et supprimant ainsi la signalisation des cytokines(Marine et al., 1999)

### **4\_4\_ L'Expression du gène SOCS3 :**

L'expression de SOCS3 dans différentes populations de cellules myéloïdes et lymphoïdes ainsi que dans diverses cellules non hématopoïétiques (Carow and Rottenberg, 2014).

## Chapitre1. Revue de la littérature

---

L'expression de SOCS3 peut être observée dans les cellules endothéliales, les macrophages, les CD, les lymphocytes, les neutrophiles et dans diverses cellules épithéliales dans une large gamme de tissus humains normaux (White et al.,2011).

L'expression de la protéine SOCS3 par les leucocytes et d'autres types de cellules dans des coupes tissulaires pourrait être un marqueur utile de cellules subissant une stimulation aiguë ou chronique par des cytokines in vivo(White et al., 2011).

### 4.5. Rôle de SOCS3 :

- ✓ SOCS3 est un protéine essentielle pour réduire l'activité de cytokines inflammatoires (Pedroso et al.,2019).
- ✓ Régulation négative des cytokines qui signalent par voie JAK/STAT.
- ✓ Inhibe de la transduction du signal des cytokines en se lie aux récepteurs de la tyrosine kinase,notamment les récepteurs de la gp130,IL12 et leptine.
- ✓ La liaison a JAK2 inhibe son activité kinase.
- ✓ Régule la signalisation de IL6in vivo (Duncan et al.,2017).
- ✓ SOCS3 est impliquée dans la régulation de la signalisation JAK-STAT induite par l'IL6 (Khan et al.,2019).
- ✓ SOCS3 pourrait fonctionner comme gène suppresseur de la tumeur(Rossa et al., 2012)(tableau1).

**Tableau1 : la protéine SOCS et ces principales fonctions (Duncan et al.,2017).**

La protéine SOCS	Fonctions
SOCS1	Régule l'activation des macrophages M1 en inhibant la voie JAK2 / STAT1 induite par l'interféron gamma et la signalisation TLR / NF-κB
SOCS2	Polarisation M2 et limite la polarisation M1 et Inhibiteur de rétroaction de l'activation induite par le TLR dans les cellules dendritiques
	Régulation négative des cytokines qui signalent par la voie JAK /STAT



## Chapitre1. Revue de la littérature

---

SOCS3	<p>Inhibe la transduction du signal des cytokines en se liant aux récepteurs de la tyrosine kinase, notamment les récepteurs gp130, LIF, érythropoïétine, insuline, IL12, GCSF et leptine.</p> <p>. Régule l'apparition et le maintien des réponses allergiques médiées par les cellules T helper de type 2.</p> <p>Supprime l'érythropoïèse fœtale.</p> <p>Régule l'apparition et le maintien des réponses allergiques médiées par les cellules T helper de type 2.</p> <p>Régule la signalisation de l'IL-6 in vivo (par similitude). Composant de reconnaissance de substrat probable d'un complexe ECS de type SCF (Elongin BC-CUL2 / 5-SOCS-box protein) E3 ubiquitine-protein ligase complexe qui médie l'ubiquitination et la dégradation protéasomale ultérieure des protéines cibles</p>
SOCS4 et SOCS6	Régule la signalisation du facteur de croissance épidermique (EGF).
SOCS7	<p>Régule les cascades de signalisation probablement par ubiquitination et / ou séquestration des protéines.</p> <p>Fonctions de signalisation de l'insuline et de l'homéostasie du glucose par l'ubiquitination de l'IRS1 et la dégradation du protéasome consécutive.</p>
CIS	Régulation négative des cytokines qui signalent par la voie JAK / STAT5 comme l'érythropoïétine.

## Chapitre1. Revue de la littérature

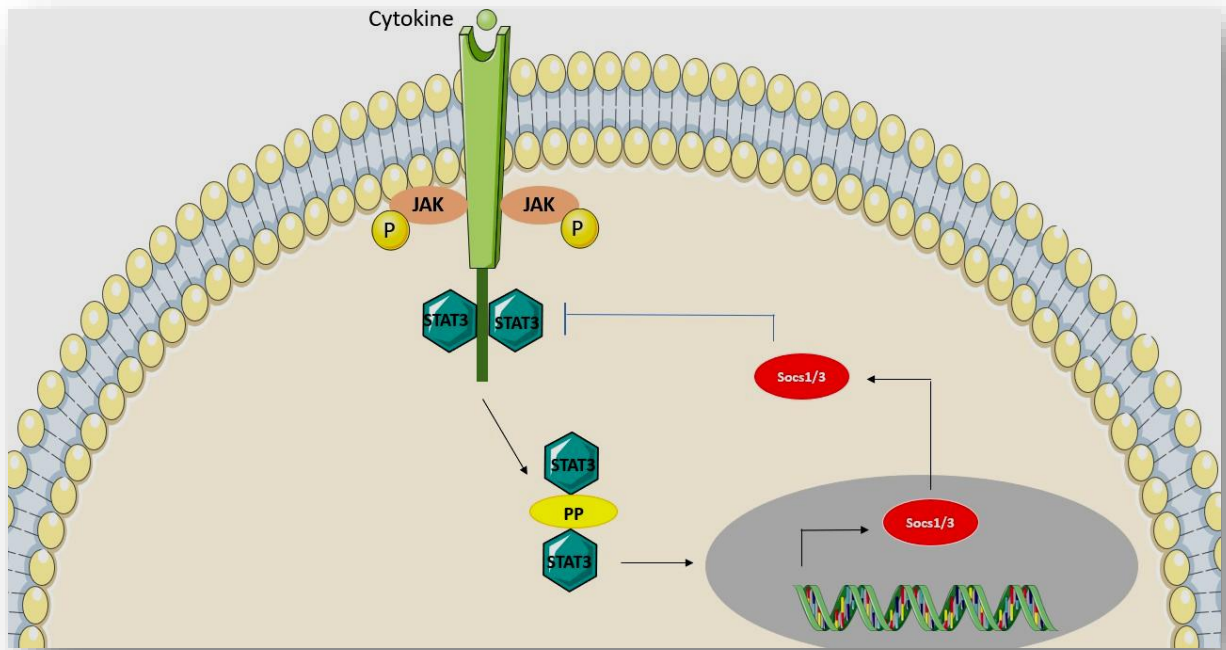
---

### 4\_6\_ Mécanisme de la signalisation de SOCS3 :

SOCS3 est un régulateur à la baisse de plusieurs voies de signalisation dans plusieurs types de cellules (Riehle et al., 2008), le rôle principal de SOCS3 résulte de sa liaison à la fois à la kinase JAK et au récepteur de cytokine, ce qui entraîne l'inhibition de l'activation de STAT3. Les données disponibles indiquent également que SOCS3 peut réguler la signalisation via d'autres STAT que STAT3 et contrôle également les voies cellulaires non liées à l'activation de STAT. SOCS3 pourrait soit agir directement en entravant l'activation de JAK, soit en médiant l'ubiquitination et la dégradation subséquente du protéasome du récepteur de cytokine / facteur de croissance / hormone. L'inflammation et l'infection (Carow and Rottenberg,2014).

SOCS3 régule la signalisation des cytokines ou des hormones (Carow and Rottenberg, 2014), SOCS3 est induits par plusieurs cytokines (STAT1 ou STAT3) est probablement impliquée dans cette induction. puis se lie directement aux kinases JAK, inhibant ainsi l'activité de la kinase (Yasukawa et al., 2000).

Les cytokines induisent la dimérisation de leurs récepteurs apparentés, ce qui conduit à la juxtaposition et à l'activation des Janus kinases (JAKS). Les JAK phosphorylent les domaines cytoplasmiques des récepteurs, créant des sites d'accueil pour les protéines cytoplasmiques telles que les transducteurs de signaux et les activateurs de transcription (STAT). Après la phosphorylation par les JAK, les STAT forment des dimères et migrent vers le noyau pour activer les gènes cibles, y compris ceux qui codent pour les suppresseurs de la signalisation des cytokines (SOCS). Une fois produits, les membres de la famille de protéines SOCS (y compris SOCS-1, SOCS-3 et CIS) réagissent sur la voie JAK-STAT pour tempérer la transduction du signal.(Kile et al.,2002).



**Figure 3 : mécanisme de signalisation de SOCS3 (Shi et al., 2020).**

SOCS1 et SOCS3 exercent leur rétroaction négative via plusieurs mécanismes distincts : blocage des interactions domaine catalytique JAK-substrat protéique STAT pour terminer la propagation du signal. inhibition compétitive de la liaison de JAK et STAT aux sites d'ancrage à base de phosphotyrosine sur des récepteurs de cytokine activés (White et al., 2011)

### **4\_7\_ SOCS3 et la régulation de la réponse inflammatoire :**

L'inflammation représente une réponse fondamentale aux blessures microbiennes, chimiques et physiques. La production de médiateurs inflammatoires dépend d'une signalisation intracellulaire étroitement régulée par des facteurs de transcription sensibles au stress en tant qu'activateurs positifs du programme génétique pro-inflammatoire. (Jo et al., 2005).

SOCS et la protéine SH2 inducible par les cytokines sont des régulateurs physiologiques clés du système immunitaire. Principalement, SOCS3 régule les cellules T ainsi que les cellules présentatrices d'antigène, y compris les macrophages et les cellules dendritiques. Nous passons ici en revue la fonction SOCS3 dans l'immunité innée et adaptative. (Kubo et al., 2003)SOCS3 régule plusieurs voies de signalisation des cytokines, il peut être une cible thérapeutique utile pour les maladies auto-immunes. L'expression de SOCS3 est augmentée dans les tissus enflammés par rapport aux tissus normaux (Cheng et

## Chapitre1. Revue de la littérature

al., 2015), l'expression de SOCS3 est augmentée aux sites d'inflammation aiguë et chronique (Chen et al., 2019).

SOCS3 régule les maladies inflammatoires ou bien les réponses inflammatoires en supprimant les cytokines liées à l'IL-6. La fonction des cytokines et des principaux participants dans les modèles de polyarthrite rhumatoïde est montrée. Dans les cellules T, SOCS3 inhibe le biais de TH1 en supprimant la signalisation d'IL-12 et d'IL-6, ce qui entraîne la suppression de la production de TNF et d'IFN. Dans les cellules épithéliales et les fibroblastes synoviaux, SOCS3 inhibe la signalisation IL-6-gp130-STAT3. Cela entraîne la suppression de l'hyperplasie tissulaire par inhibition de la production d'IL-6 autocrine et de la production de facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), et la suppression de la Fibrose par l'inhibition de la production de TGF et de la production de l'activateur du récepteur du ligand NF-B (RANKL). Les chimiokines sont également des promoteurs de l'inflammation. La production de ces cytokines et chimiokines inflammatoires est directement ou indirectement stimulée par STAT3. Dans les macrophages SOCS3 fonctionne comme un médiateur pro- inflammatoire en supprimant la signalisation de l'IL-6-gp130. . Étant donné la preuve que l'expression forcée de SOCS3 peut inhiber l'activation de STAT3 médiée par IL-6, il semble probable que SOCS3 est un régulateur négatif des maladies inflammatoires, en particulier dans les maladies associées à une production élevée d'IL-6.(Kubo et al., 2003)

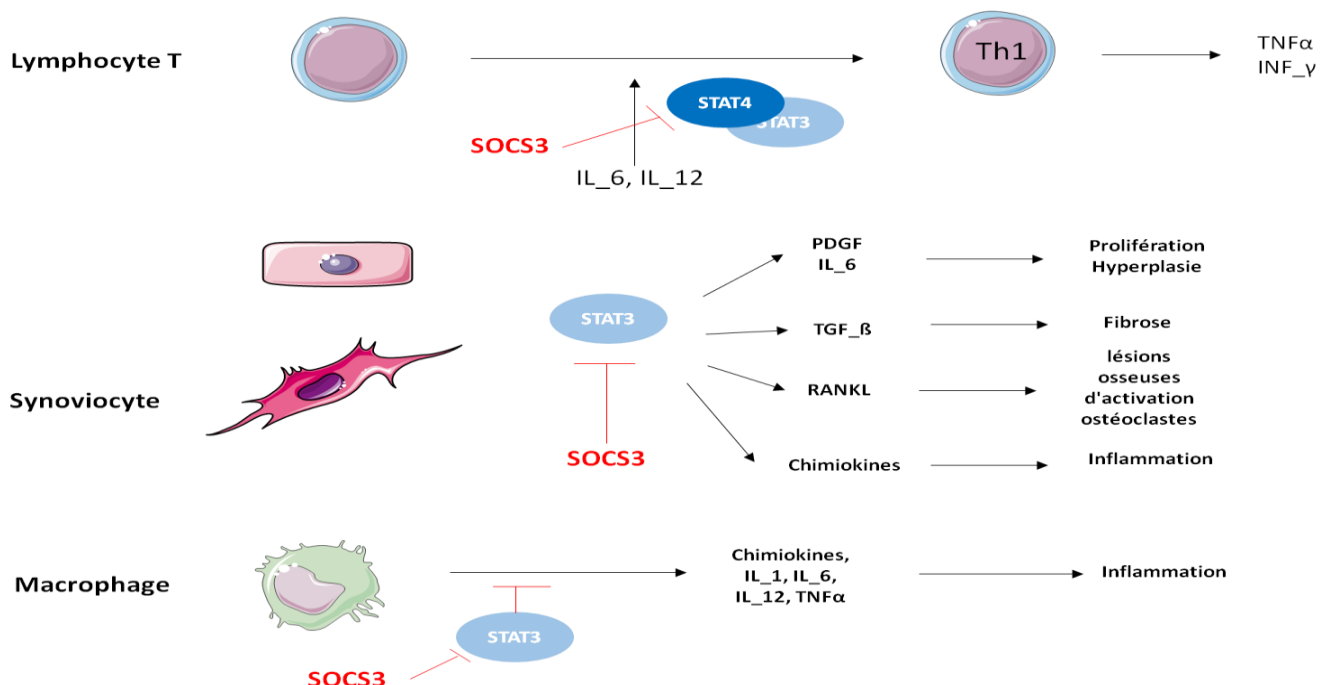


Figure 4 :SOCS3 régulateur des maladies inflammatoires ou bien les réponses inflammatoires (Kubo et al.,2003)

## Chapitre1. Revue de la littérature

---

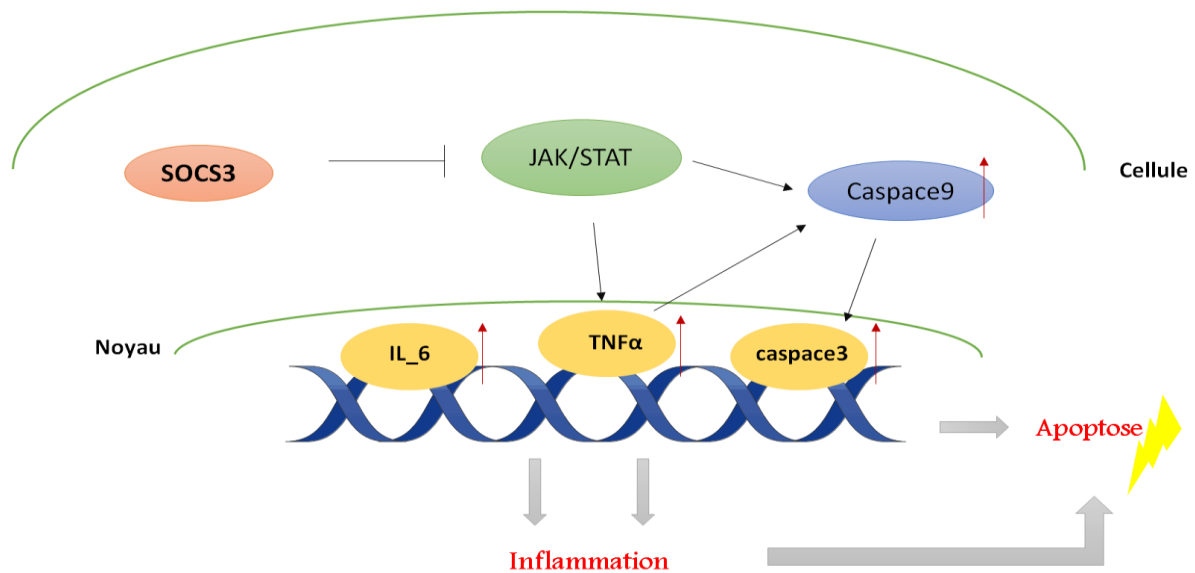
SOCS3 régule les maladies inflammatoires ou bien les réponses inflammatoires en supprimant les cytokines liées à l'IL-6. La fonction des cytokines et des principaux participants dans les modèles de polyarthrite rhumatoïde est présentée. Dans les cellules T, SOCS3 inhibe le biais de T 1 en supprimant la signalisation de l'IL-12 et de l'IL-6, ce qui entraîne la suppression du TNF et de l'IFN-  $\gamma$  production. Dans les cellules épithéliales et les fibroblastes synoviaux, SOCS3 inhibe la signalisation IL-6 – gp130 – STAT3. Cela entraîne la suppression.(Kubo et al.,2003)

### 4\_8\_ SOCS3, régulation de la réponse inflammatoire et processus apoptotique :

La voie de signalisation JAK / STAT, un moyen important de la transduction du signal des cytokines, est étroitement liée à l'inflammation et l'apoptose, SOCS3 est impliqué dans la régulation de la rétroaction négative de la voie de signalisation des cytokines JAK2 / STAT3. Des études antérieures ont montré que SOCS3 joue un rôle important dans l'affection anti-tumorale et favorise l'apoptose cellulaire en inhibant la phosphorylation de STAT3 et les facteurs en aval, ce qui affecte directement les mécanismes moléculaires de l'apoptose. La restauration de l'expression de SOCS3 dans les cellules qui est renversée pour SOCS3 pourrait bloquer la phosphorylation de STAT3 et inhiber la prolifération excessive de cellules. Nous avons trouvé que l'expression forcée SOCS3. SOCS3 a favorisé l'apoptose et l'inflammation via l'inhibition de la voie de signalisation JAK2 / STAT3 (Liu et al., 2015).

Socs3 a inhibé la voie de signalisation JAK2 / STAT3 et amélioré l'effet que SOCS3 a favorisé l'apoptose. Ceux-ci ont confirmé que la voie de signalisation JAK2 / STAT3 était nécessaire pour la fonction SOCS3, et que la surexpression de SOCS3 pouvait favoriser la processus apoptotique en inhibant la voie JAK2 / STAT3 (Liu et al., 2014).

le blocage de la signalisation JAK2 / STAT3 peut considérablement atténuer les réponse l'inflammatoire et l'apoptose car le SOCS3 est un régulateur de la rétroaction négative du signal qui est induit par JAK2 / STAT3 (Jiang et al., 2020).



**Figure 5 :SOCS3 régulateur des maladies inflammatoires ou bien les réponses inflammatoires**

SOCS3 affecte l'inflammation et l'apoptose dans les cellules : la surexpression du gène SOCS3 favorisé l'inflammation en augmentant l'expression de l'IL-6 et du TNF- tout en inhibant la leptine. Le TNF a accéléré la cascade de caspases, y compris Caspase9 et Caspase3. Ensuite, ils ont tous contribué à induire l'apoptose en inhibant l'activation de la voie de signalisation JAK2 / STAT3 (Liu et al., 2014, 2015)

### 5\_ Technique de la réaction de polymérisation en chaîne :

#### 5\_1\_ Définition :

La réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel est un outil d'une rare qualité qui, de manière évidente, va bouleverser le domaine du diagnostic utilisant des sondes nucléiques. Cette technique peut être considérée comme une technique de clonage moléculaire, en tube et trouve à ce titre de très nombreuses proposes en recherche fondamentale (Larzul, 1989).

Ainsi que la PCR est une stratégie de la biologie moléculaire puissante qui permet une détection sensible, spécifique et précise des espèces ou groupes microbiens souhaités dans un échantillon environnemental, indépendamment de la subculture (Rinttilä et al., 2020).

Le développement de la PCR permet une véritable quantification des acides nucléiques cibles hors du laboratoire de recherche pure et dans le laboratoire de diagnostic.(Mackay, 2002).par contre il y a des pièges qui compliquent la réaction produisant des résultats erronés. Lorsque la PCR échoue, il peut conduire à de nombreux produits

## **Chapitre1. Revue de la littérature**

---

D'ADN non-spécifiques de différentes tailles qui apparaissent comme une échelle ou un frottis de bandes sur des gels d'agarose (Lorenz,2012).

### **5\_2\_ Principe :**

Chaque essai de PCR oblige la présence d'ADN matrice, d'amorces, de 20 nucléotides et d'ADN polymérase. L'ADN polymérase est l'enzyme clé qui relie les nucléotides individuels ensemble pour former le produit de PCR. Les nucléotides comprennent les quatre bases – adénine, thymine, cytosine et guanine (A, T, C, G) qui se trouvent dans l'ADN.

La PCR est une technique très sensible qui permet une amplification rapide d'un segment spécifique d'ADN.

La PCR produit des milliards de copies d'un fragment d'ADN ou d'un gène spécifique, ce qui permet la détection et l'identification de séquences géniques à l'aide de techniques visuelles basées sur la taille et la charge.

Des versions modifiées de la PCR ont permis des mesures quantitatives de l'expression Génique avec des techniques appelées PCR en temps réel (Garibyan and Avashia, 2013)

### **5\_3\_ Application de la PCR :**

La PCR est devenue la méthode de choix pour la détection d'ADN et la RT-PCR pour détecter l'ARN. Ces deux réactions ont révolutionné la génétique. En outre, la PCR a de nombreuses applications diverses dans le diagnostic des maladies infectieuses pour la détection de virus ou de bactéries, en médecine légale, tests de paternité, applications de sécurité et une myriade d'autres fonctions commerciales comme la détermination du nombre de copies transgéniques et les études de pharmacothérapie (Yuan et al., 2006) ; (Ahrberg et al.,2016).

### **5\_4\_ Les étapes de PCR :**

L'ensemble du processus technique de PCR par plusieurs cycles, un cycle se compose de 3 étapes :

- La première étape est la dénéaturation continue de la matrice d'ADN dans des conditions de température élevée, à savoir l'ADN matrice à 93 - 94 °C dans la situation de la chaîne de dénaturation.
- La deuxième étape consiste à recuire 2 amorces Oligo nucléotidiques synthétiques et la chaîne d'ADN matrice 3. À la fin du refroidissement à 55 °C d'hybridation.

## Chapitre1. Revue de la littérature

---

- La troisième étape consiste à étendre, qui existent en même temps dans 4 types de substrat d NTP, à l'aide de l'ADN polymérase Taq, d'amorces en chaîne le long de la direction 5'-3 'et d'une nouvelle chaîne de matrice complémentaire. Après ce cycle, une nouvelle chaîne est synthétisée qui peut être poursuivie comme matrice d'ADN et ainsi recyclée. (Jolly et al.,1975).

### 5\_5\_ Les types de PCR :

- PCR à large spectre (amplification en chaîne par polymérase) suivie d'un séquençage.
- DGGE (électrophorèse sur gel à gradient dénaturant) ou électrophorèse sur gel à gradient de température(TGGE).
- PCR suivie par T-RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux) pour analyser la communauté microbienne via la technique de l'empreinte digitale.
- RT-PCR (reverse transcriptase -PCR).
- PCR à amorçage arbitraire(AP-PCR).
- PCRimbriquée.
- PCRmultiplexe.
- PCR en temps réel (Garibyan and Avashia,2013).



## Chapitre1. Revue de la littérature

---

### Problématique

SOCS3 est l'une des protéines qui chez l'homme est codée par le gène *SOCS3*. Ce gène code pour un membre de la famille de l'inhibiteur STAT. C'est l'un des membres de la famille SOCS qui sont des régulateurs négatifs inductibles par les cytokines de la signalisation des cytokines

Le suppresseur de signalisation de cytokine 3 est un régulateur négatif de la signalisation JAK-STAT. C'est l'un des régulateurs physiologique clé de l'immunité innée et adaptative qui contrôle plusieurs maladies immun-inflammatoires et régulateur de plusieurs voies de signalisation

Le blocage de la signalisation JAK2 / STAT3 atténue considérablement la réponse inflammatoire et l'apoptose

### Objectif

Concevoir des paires d'amorce du gène *SOCS3* par primer blast

### But

Obtenir une bonne paire d'amorce de gène *SOCS3* par la technique PCR pour qu'il puisse nous permettre d'étudier le rôle du gène au cours de la réponse inflammatoire et processus apoptotique.

## Chapitre2. Matériel et méthodes

---

### Chapitre.2.matériel et méthodes

#### **La conception des amorces pour la PCR:**

La conception des amorces représente l'élément clé pour la réalisation d'une bonne PCR, elle est aussi utilisée pour trouver la position et la longueur de produit, ainsi que la température de la fusion. Bien faite, elle permet de concevoir de bonnes paires d'amorce, par contre si il y'a une amorce mal conçue on aura un empêchement de la technique de la PCR, pouvant devenir suffisamment compétitif pour inhiber la formation du produit.

#### **La sélection des amorces:**

Au cours du traitement de la PCR on a beaucoup de variables qui doivent être prises en considération :

#### **La longueur des amorces:**

Comme la spécificité, la température et le temps d'hybridation dépendent en partie de la longueur de l'amorce. Ce paramètre est essentiel pour le succès de la PCR. Une longueur des amorces comprise entre 18 et 24 bases d'oligonucléotides est extrêmement spécifique de la séquence, à condition que la température d'hybridation soit optimale. La longueur de l'amorce est également proportionnelle à l'efficacité de l'hybridation.

#### **La température de fusion:**

Se situe entre 56 et 62 °C et les deux séquences ne doivent pas différer de plus de 5°C.

#### **La spécificité:**

La spécificité de l'amorce dépend partiellement de la longueur de l'amorce. Les amorces doivent être spécifiques de la région qu'on veut amplifier.

#### **Les séquences d'amorces complémentaires:**

Pour les séquences d'amorce complémentaires, on doit éviter l'homologie intra-amorce car elle mène à la formation d'un double brin en épingles à cheveux et elle provoque une perturbation de l'hybridation des amorces et même si il y'a une homologie dans l'extrémité 3' dans l'une des brins d'amorce. Cette dernière provoque un arrêt de la formation de produit.

#### **La teneur enG/C**

Le teneur doit être compris entre 40-60%.

#### **La séquence à l'extrémité 3':**

## Chapitre2. Matériel et méthodes

Au cours d'une technique PCR la position terminal 3'est essentielle afin d'éviter les mésamorçage et ainsi un arrêt de l'état de réparation et d'un autre coté augmente la température de fusion

### 3. Recherche de la séquence de gène socs3:

A partir du site « ensembl » on recherche la séquence de la référence du gène socs3. On commence alors par une conception d'amorce qui débute par l'introduction du nom du gène socs3 dans le site « www.ensembl.org » avec une spécificité d'espèce humaine comme montré dans (la figure6).

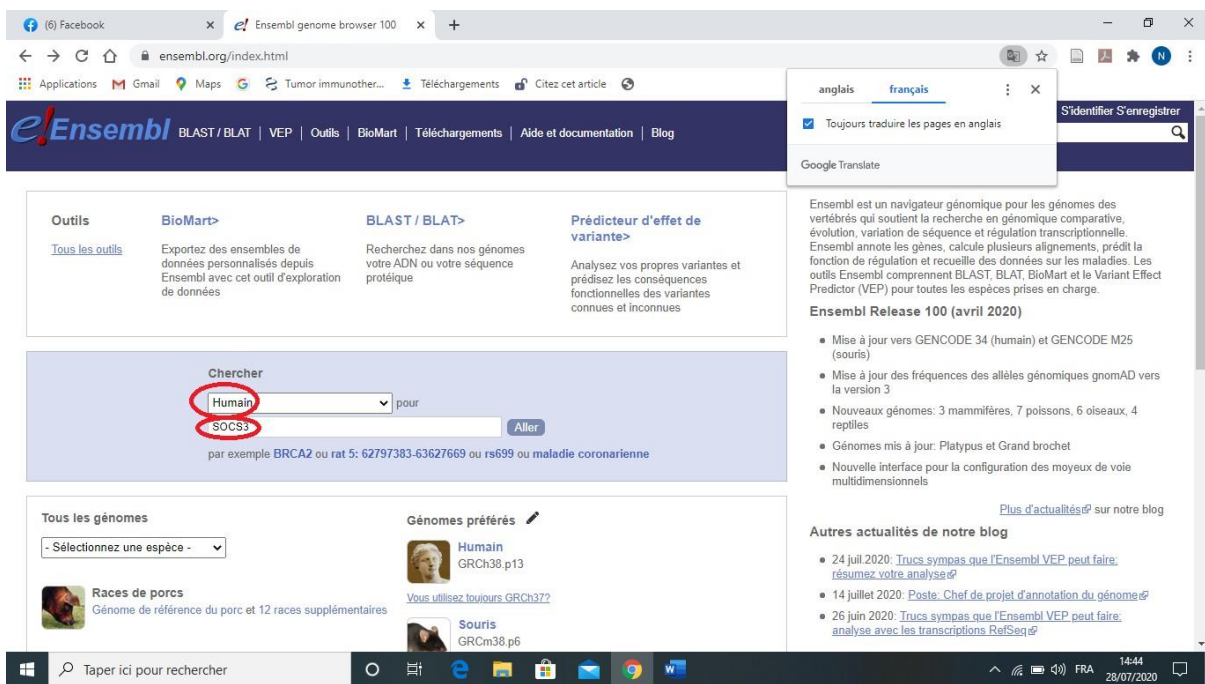


Figure 6 : Site ensembl.org

Ensuite le site ensemble définit la séquence du gène humain de socs3 qui se trouve sous le nom du ENSG00000484557 (figures 7, 8, 9, 10,11)

## Chapitre 2. Matériel et méthodes

Figure 7 shows a search for 'SOCS3' on the Ensembl website. The search results are displayed in French. The first result is 'SOCS3 gène humain' (SOCS3 human gene), which is circled in red. Below it are two other results: 'SOCS3-202 (transcription humaine)' and 'SOCS3-201 (transcription humaine)'. The page includes navigation links, filters, and a search bar.

Figure 7 : Description de gène socs3.

Le gène socs3 à partir de site ensembl.

Figure 8 shows the detailed description of the SOCS3 gene on the Ensembl website. The page includes a navigation menu, a search bar, and a table of transcripts. The table has columns for Name, ID de la transcription, Protéine, Biotype, CCDS, UniProt, Correspondance RefSeq, and Drapeaux. The first row is for SOCS3-201 and the second for SOCS3-202.

Nom	ID de la transcription	pb	Protéine	Biotype	CCDS	UniProt	Correspondance RefSeq	Drapeaux
SOCS3-201	ENST00000330871.3	2734	225aa	Codage des protéines	CCDS11756	Q14543, Q06F39	-	TSL:1 GENCODE basique APPRI
SOCS3-202	ENST00000587578.1	361	15aa	Codage des protéines	-	K7E1E6	-	CDS 3'incomplet TSL: 4

Figure 8 : Description de gène socs3.

# Chapitre2. Matériel et méthodes

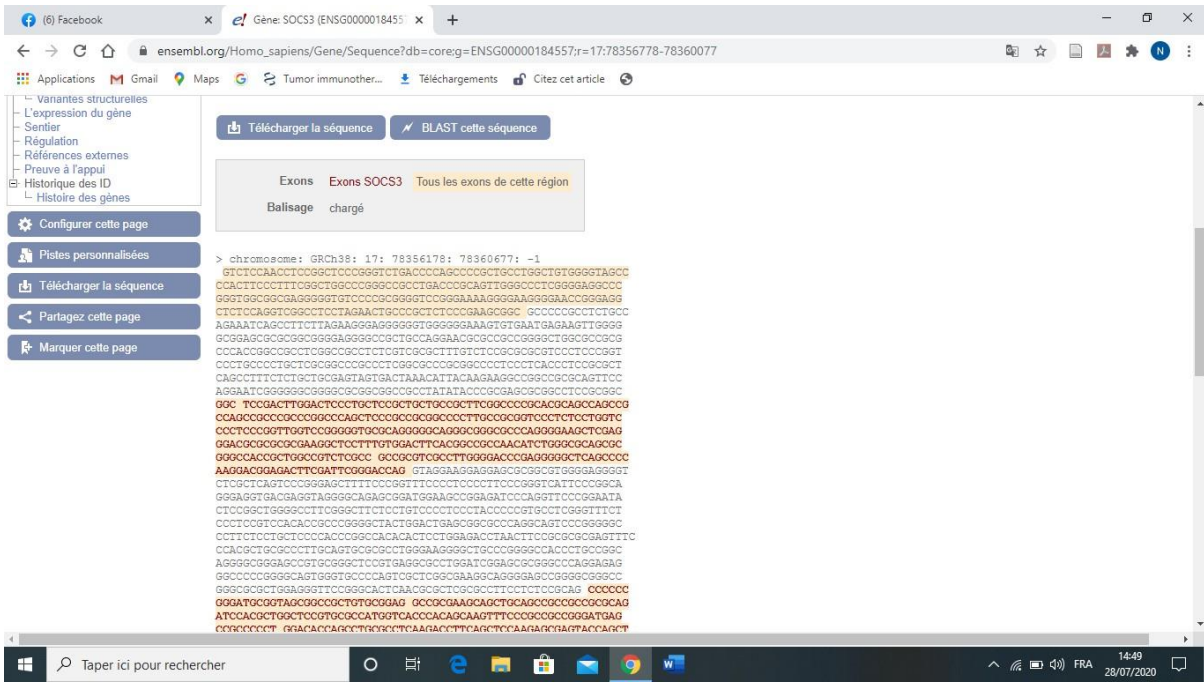


Figure 9 : La première partie de la séquence de socs3.

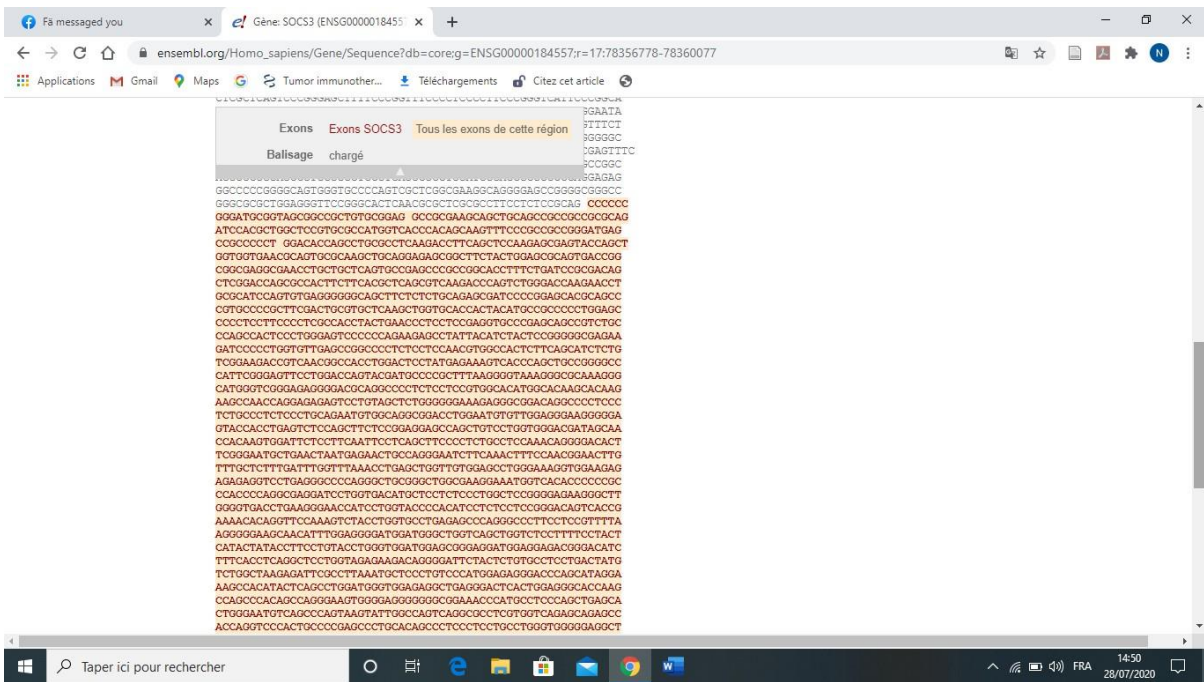


Figure10 : Deuxième partie de la séquence de socs3.

## Chapitre2. Matériel et méthodes

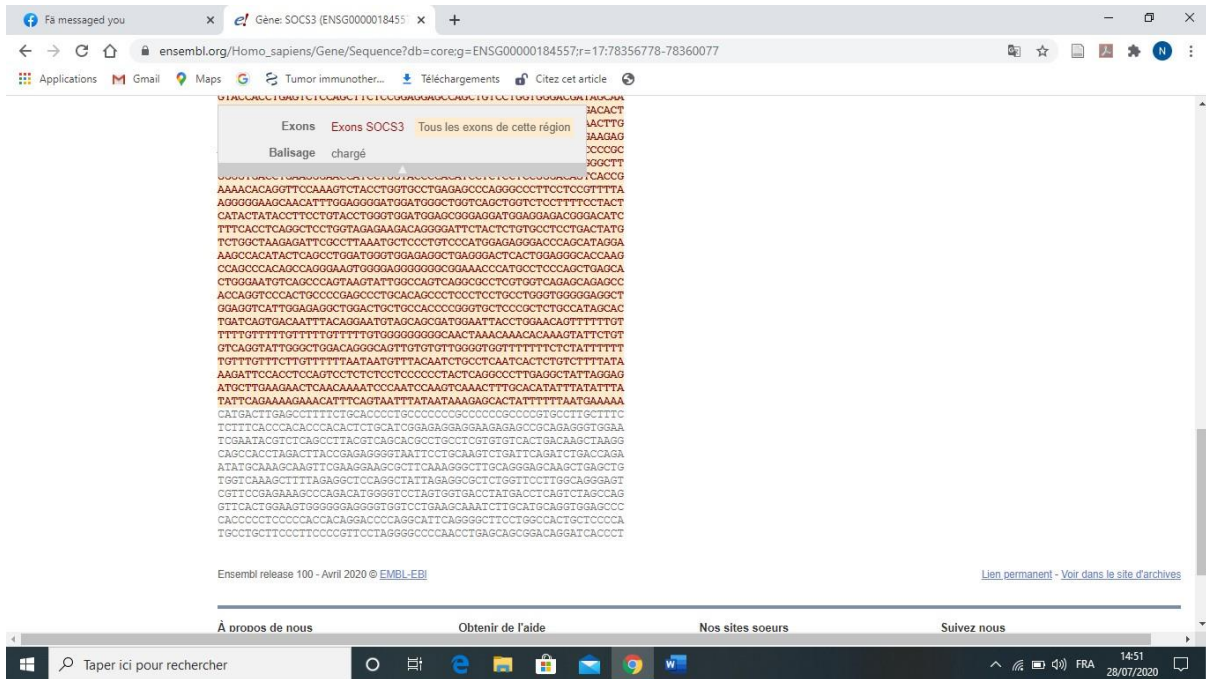


Figure11 : Troisième partie de la séquence de socs3.

Puis notre séquence est copiée dans un fichier Word et la séquence d'intérêt est encadrée comme montré dans la (figure12)

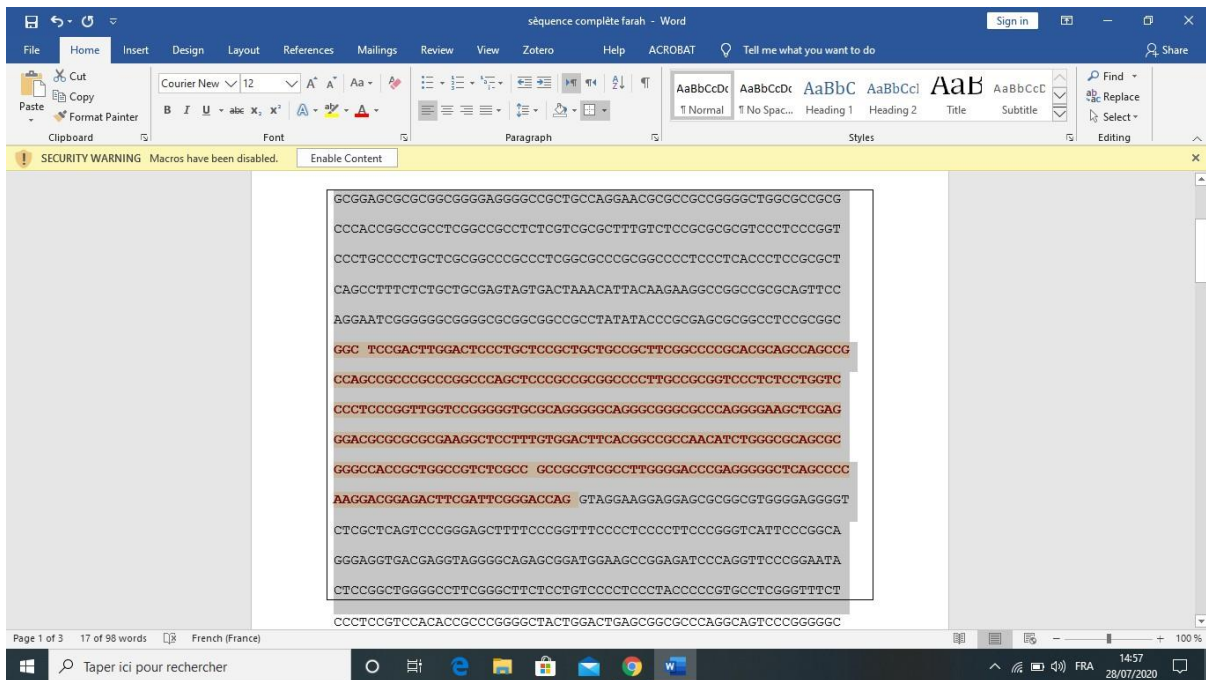


Figure12 : La séquence d'intérêt qui se trouve dans l'exon 2 de gène socs3.

### 4. Le design de primer :

## Chapitre2. Matériel et méthodes

A l'aide des ressources du National Center For Biotechnology Information (NCBI) nous avons utilisé le logiciel Primer blast sur le site ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) afin de concevoir les bonnes paires d'amorces (figure13 et figure14)

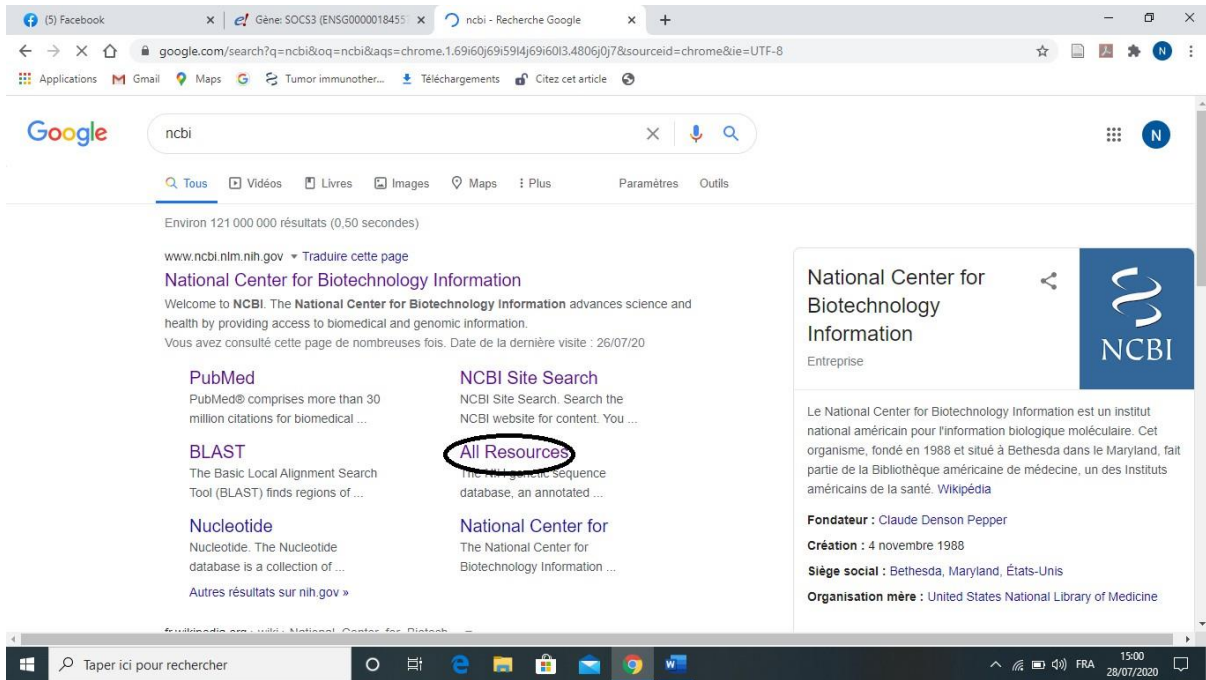


Figure13 : Le site NCBI.

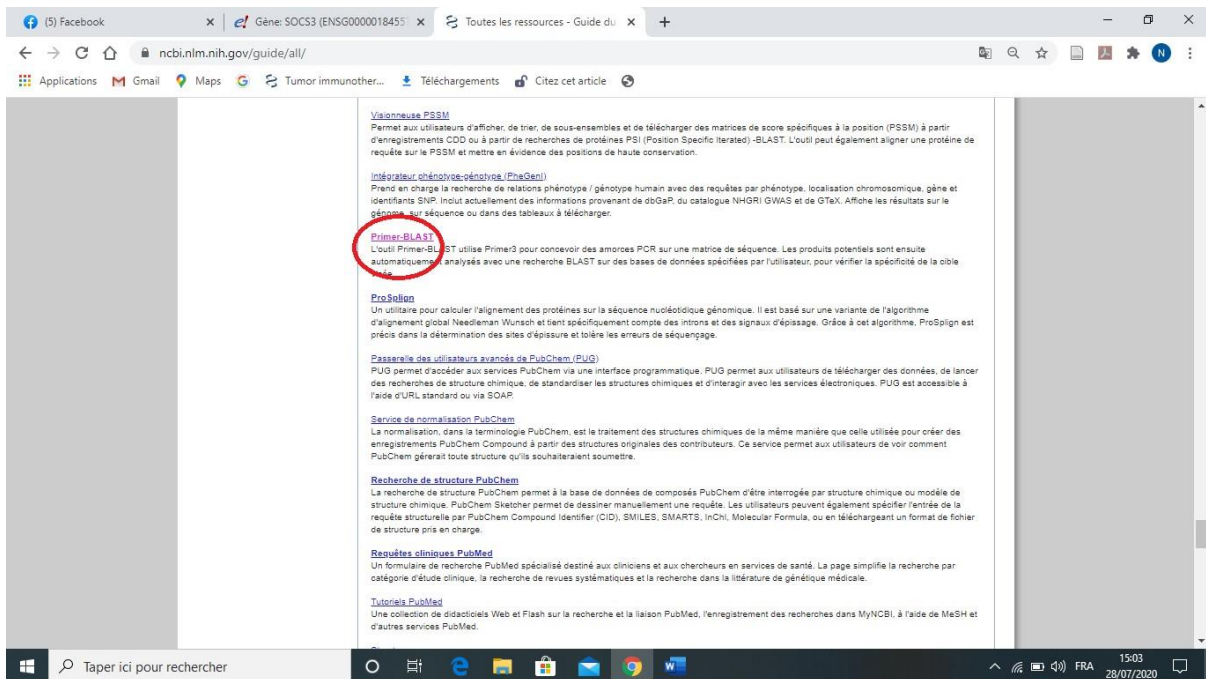


Figure14 : L'outil primer blast.

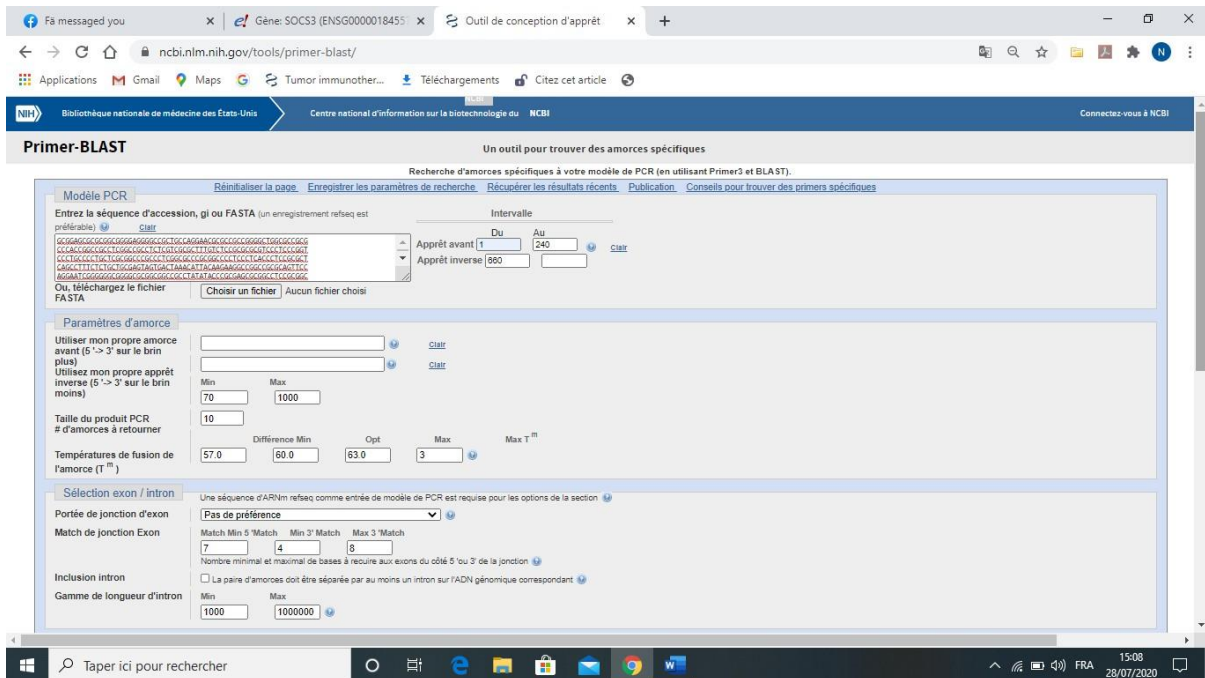
Définition :

## Chapitre2. Matériel et méthodes

Primer blast est un outil public à usage général qui aide les utilisateurs à concevoir des amorces spécifiques à une cible. Primer-BLAST offre une flexibilité pour répondre aux différents besoins de conception d'apprêt. Les utilisateurs peuvent soit concevoir de nouvelles amorces, soit vérifier la spécificité des amorces préexistantes. Notamment, Primer-BLAST incorpore un mécanisme d'alignement global et est conçu pour être très sensible dans la détection de cibles potentielles d'amplification. Enfin, il a la capacité de placer des amorces en fonction des limites exon / intron et des emplacements SNP (Ye et al., 2012).

Les étapes suivantes expliquent le démarrage de primer blast.

La première étape consiste à copier la séquence d'intérêt dans le primer blast et il faut éliminer les espèces entre les bases (figure15)



The screenshot shows the Primer-BLAST web interface. The main section is titled "Modèle PCR" and contains the following fields and options:

- Entrez la séquence d'accèsion, qi ou FASTA** (un enregistrement refseq est préférable): A text area containing a DNA sequence with several lines of text.
- Intervalle**: A range selection tool with "Du" (1) and "Au" (240) fields, and "Apprêt avant" (1) and "Apprêt inverse" (980) fields.
- Paramètres d'amorce**: Includes fields for "Utilisez mon propre amorce avant (5' -> 3' sur le brin plus)" and "Utilisez mon propre apprêt inverse (5' -> 3' sur le brin moins)", both with "Clair" buttons. It also has "Min" (70) and "Max" (1000) fields for primer length, and "Températures de fusion de l'amorce (T<sup>m</sup>)" with "Min" (57.0), "Max" (63.0), and "Opt" (60.0) fields.
- Sélection exon / intron**: Includes a dropdown for "Portée de jonction d'exon" (set to "Pas de préférence"), "Match de jonction Exon" with "Match Min 5' Match" (7), "Match Min 3' Match" (4), and "Match Max 3' Match" (8) fields, and a checkbox for "Inclusion intron".
- Gamme de longueur d'intron**: Includes "Min" (1000) and "Max" (1000000) fields.

Figure15 : La séquence d'intérêt dans le site primer blast.

Elle est suivie par la sélection de quatre lignes avant l'exone 2 pour obtenir le forward primer comme le montre la figure suivante (figure16)



## Chapitre 2. Matériel et méthodes

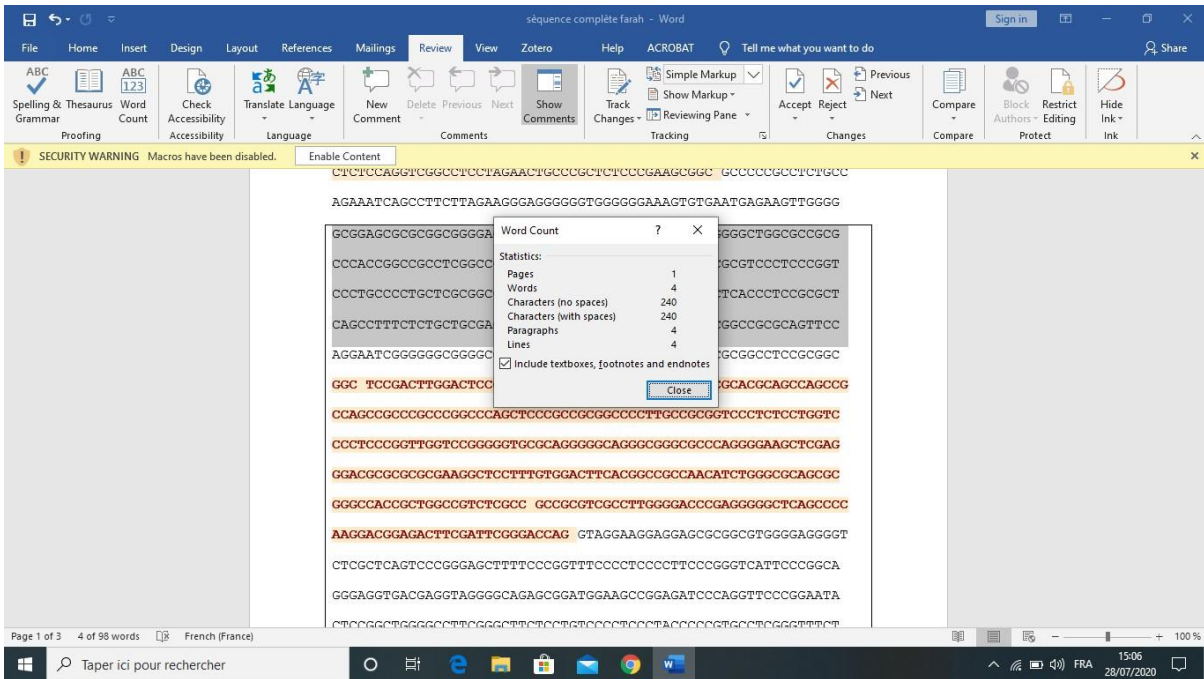


Figure16 : Le forwar primer

Puis on prend deux lignes pour la reverse primer (figure17)

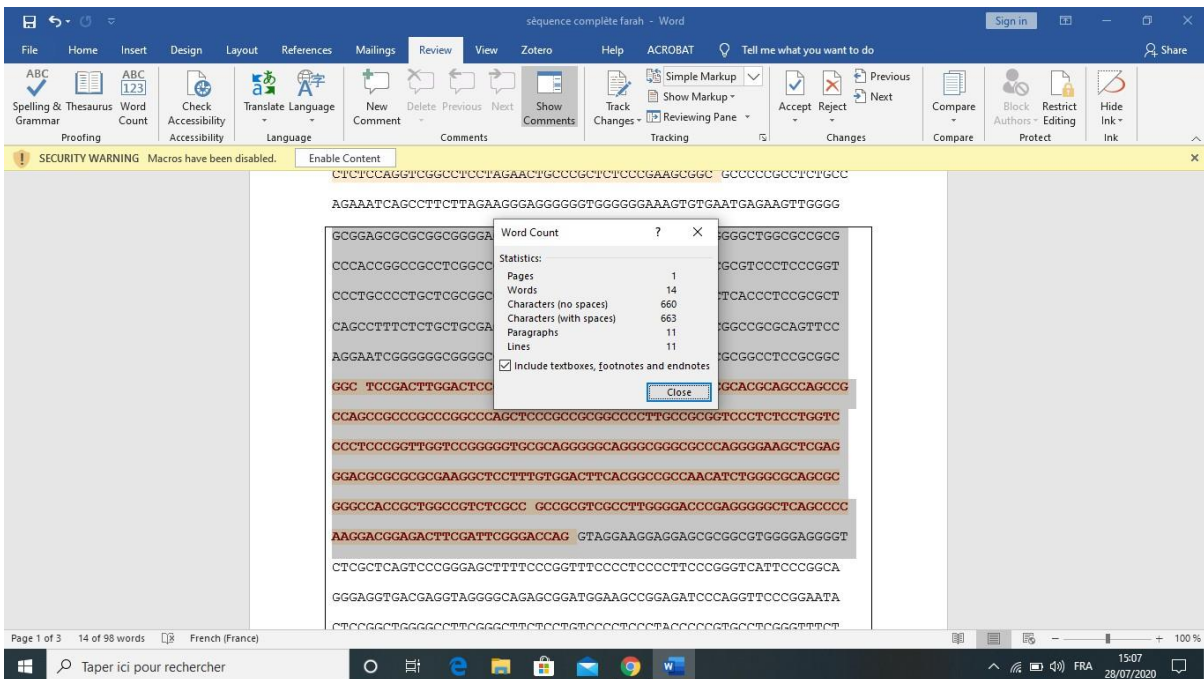


Figure17 : La reverse primer.

D'autre part dans des cadre spécifiques pour les deux amorces forward et reverse on écrit les nombre des bases pour chacune (figure18)

## Chapitre2. Matériel et méthodes

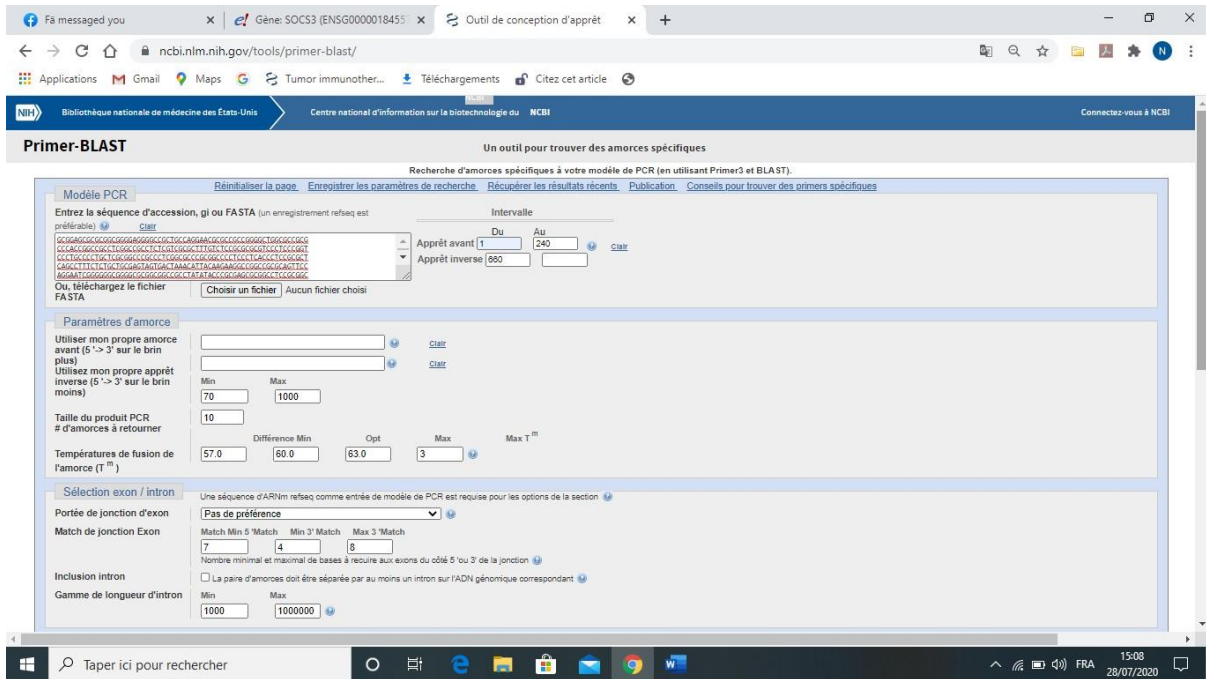


Figure18 : La reverse et le forward primer.

Alors on doit choisir un génome pour certains organismes et organismes homo sapiens, par la suite on clique sur afficher dans une autre fenêtre et puis le « get primer »(figure19)

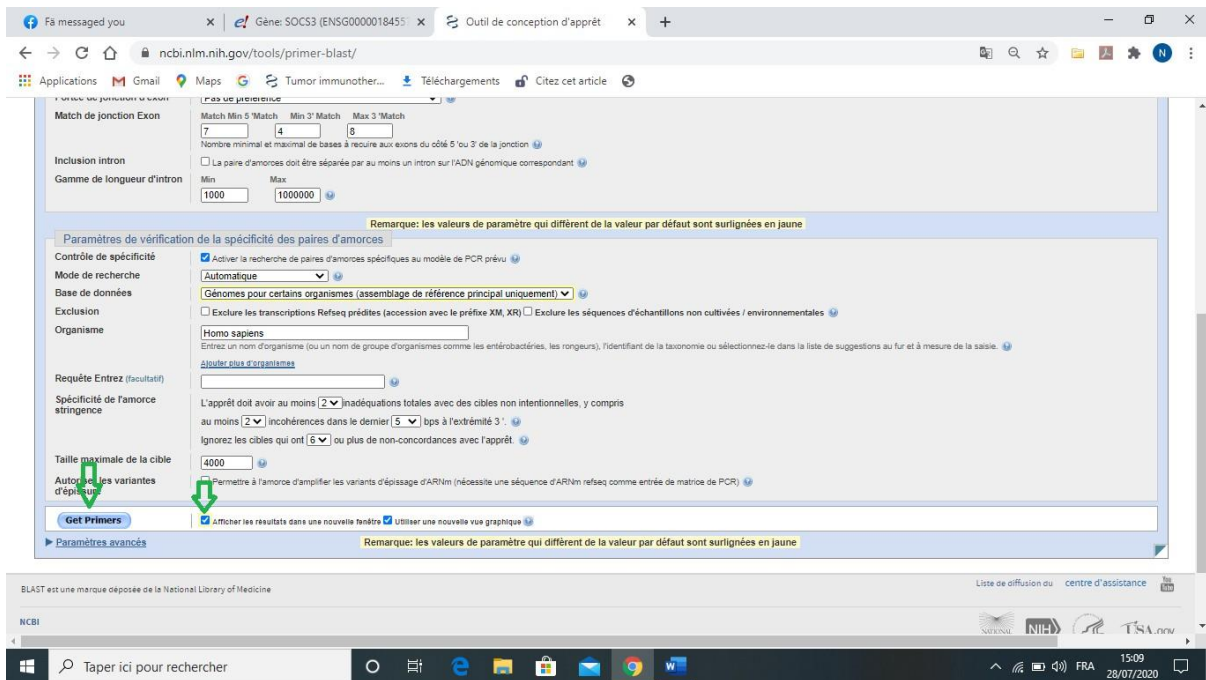


Figure19 : Paramètres de vérification de la spécificité des paires d'amorces.

Par la suite on clique sur soumettre (figure20) et après quelque secondes on obtient les dix paires d'amorces suivantes (figure21)

# Chapitre 2. Matériel et méthodes

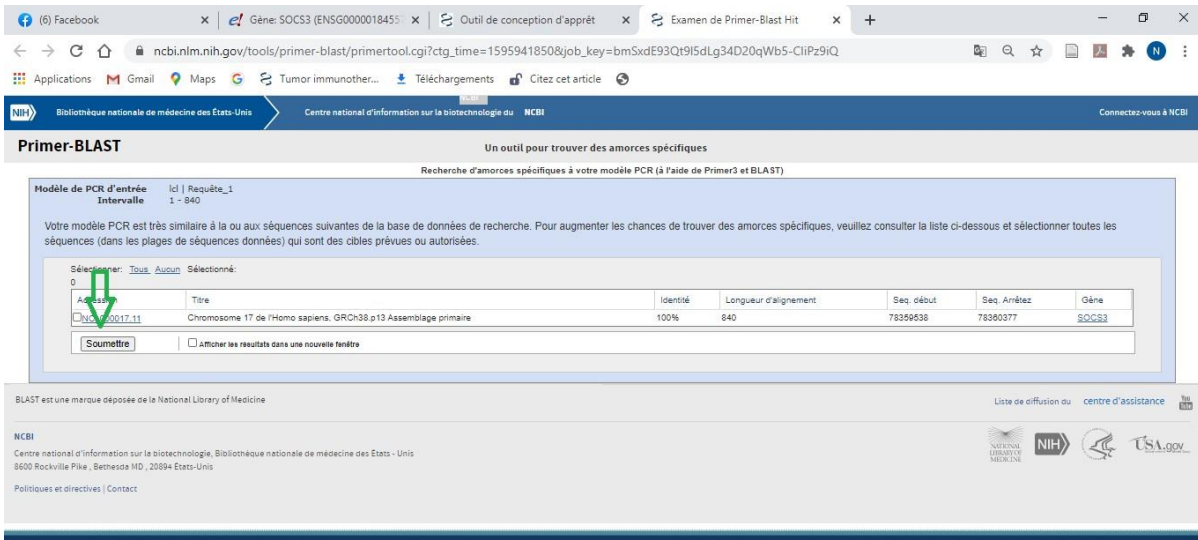


Figure 20 : Le bouton soumettre

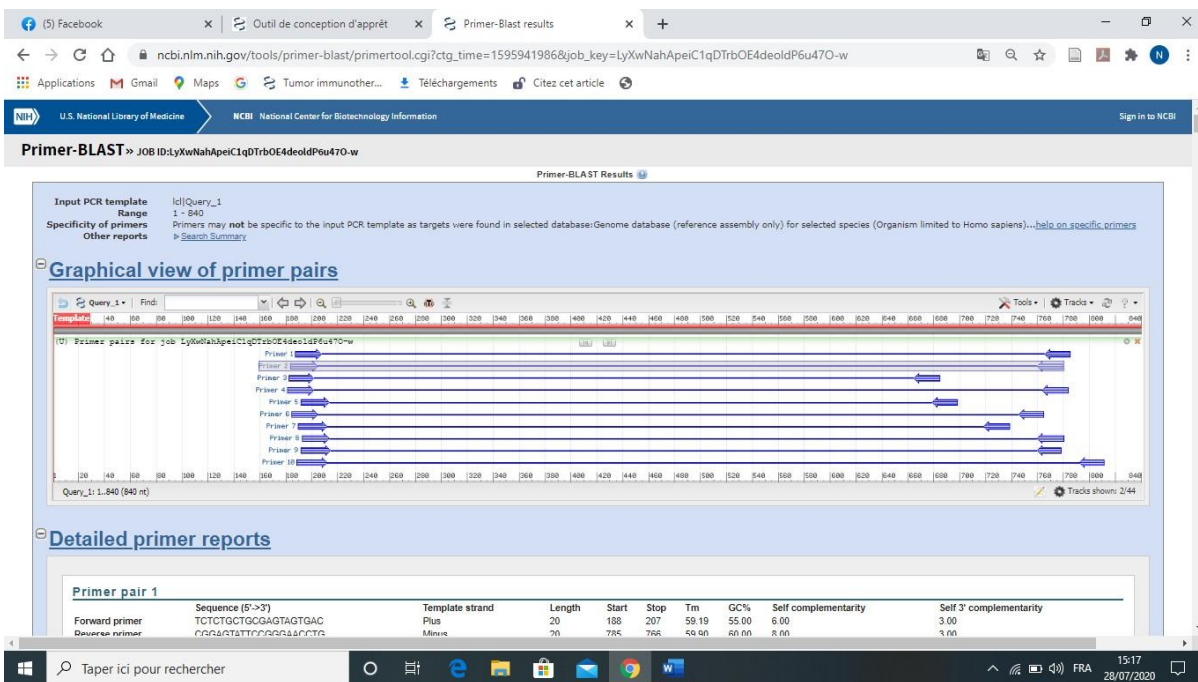


Figure 21 : Les dix paires d'amorces.

## 5. Analyse des résultats du primer blast:

Quand on doit choisir une bonne paire d'amorce, il faut qu'on réponde aux critères suivants :

- Choisir le couple d'amorces qui donne le moins de produits aspécifiques, afin de n'amplifier que le produit étudié.

## Chapitre2. Matériel et méthodes

---

- Les températures d'hybridation des deux amorces doivent être le plus proches possibles, car la température d'hybridation lors d'une PCR est programmée en une seule température.
- La teneur en GC doit être proche de 40%
- Ignorer les produits aspécifiques de plus de 1000 Pb, car lors d'une PCR il est moins probable d'amplifier une séquence de plus de 1kb

# Chapitre3. Résultats

## Chapitre3.résultats

### Résultats de la conception des amorces :

- Sur « primer blast » on obtient dix paires d'amorces dont une qui présente les meilleures caractéristiques d'amorce.(figure22)
- La paire d'amorce numéro 3 est la bonne paire d'amorce utilisable pour la PCR avec un seul produit spécifique à 502pb et des produits aspécifiques supérieurs a 1000pb ainsi qu'une température de fusion de 60°C et une longueur de 18 a 24 basse (figure22)
- La longueur d'amorce est de 20 bases, en sachant que les oligonucléotides entre 18-24 sont extrêmement spécifiques de notre séquence, à condition que la température soit optimale.
- La longueur doit être proportionnelle à l'efficacité d'hybridation, plus l'amorce est longue moins l'hybridation est efficace
- La teneur en GC est de 60% (doit être comprise entre 50% et 70%)(figure22)

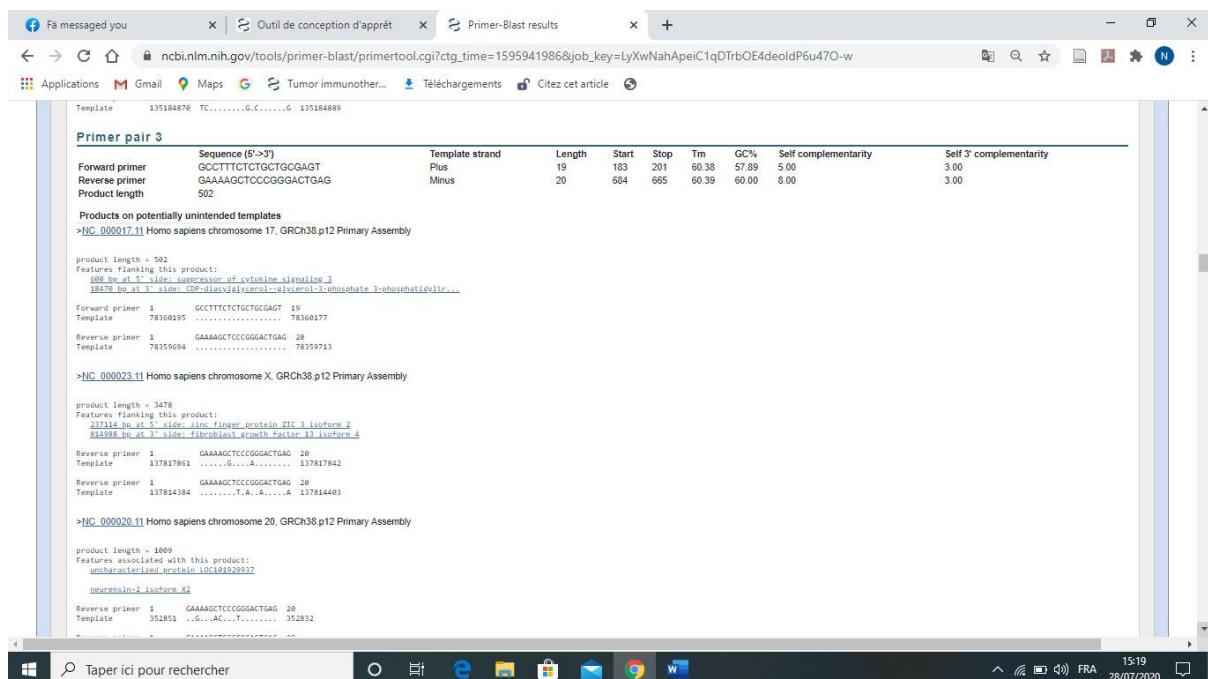


Figure22 : Résultats de primer Blast.

Confirmation des résultats:

## Chapitre3. Résultats

Nous avons réalisé une analyse de confirmation de nos résultats de primer Blast grâce au site <https://genome.ucsc.edu/t> (figure23)

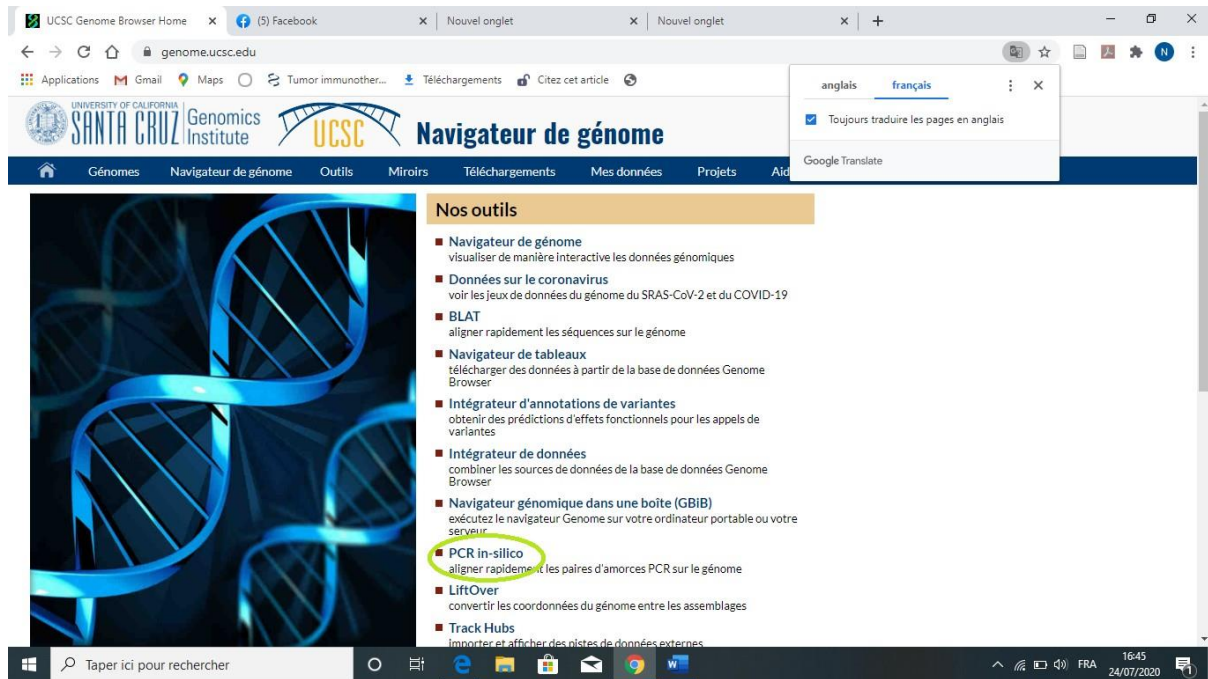


Figure23 :Le site <https://genome.ucsc.edu/t>

A partir de la PCR In silico nous avons copié la séquence forward et la réverse dans la PCR in silico et on clique sur soumettre(figure24)

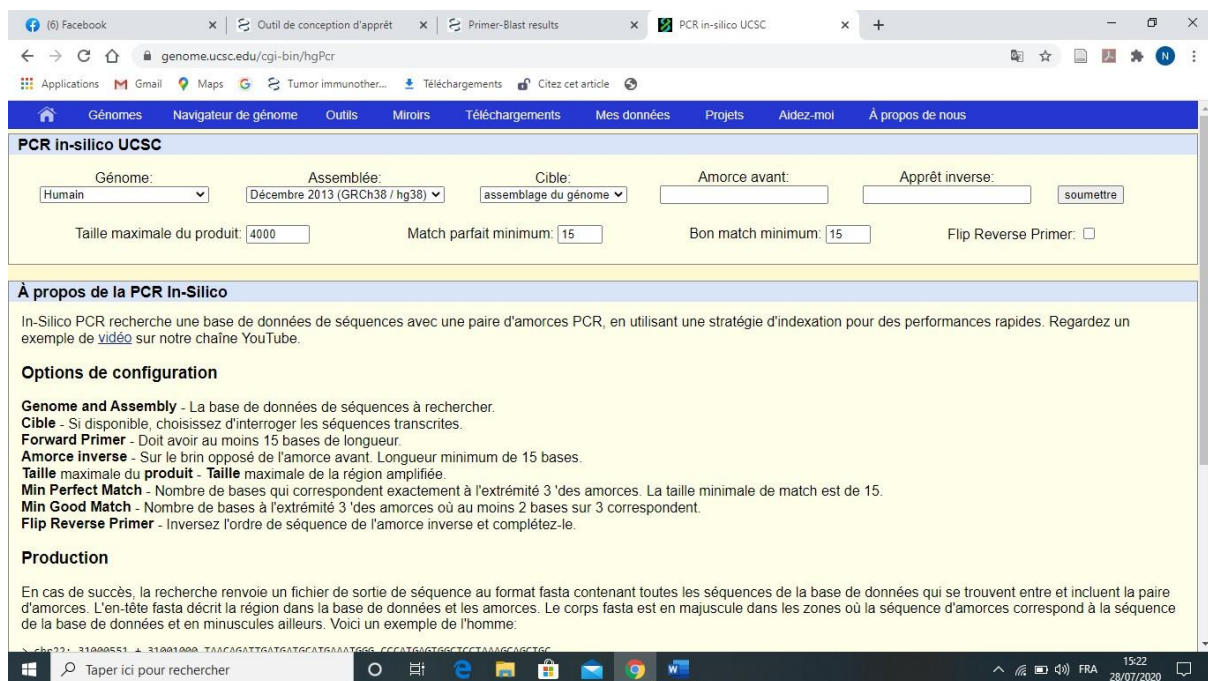


Figure 24 : forward et réverse primer dans la PCR in silico.

# Chapitre3. Résultats

Notre résultats confirment la localisation chromosomique du produit qui situé sur le chromosome17 (figure25) ce qui est valide la spécificité de notre bonne paire d'amorce.

The screenshot shows the UCSC In-Silico PCR interface. At the top, the browser tabs include 'Facebook', 'Outil de conception d'apprêt', 'Primer-Blast results', and 'UCSC In-Silico PCR'. The address bar shows the URL: genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?hgslid=965443217\_jO6kAvt5IDsJK74KvRsVvgCBAHt&org=Human&db=hg38&wp\_target=genome&wp\_f=GCCTTTCTCTGCT... The navigation bar includes 'Genomes', 'Genome Browser', 'Tools', 'Mirrors', 'Downloads', 'My Data', 'Projects', 'Help', and 'About Us'. The main content area is titled 'UCSC In-Silico PCR' and displays the following information:

>chr17:78359694-78360195 502bp GCCTTTCTCTGCTCGAGT GAAAAGTCCCAGGACTGAG  
GCCTTTCTCTGCTCGAGTAgtagtaaacattacaagaaggccgcccgc  
gcagttccaggaaatcggggggcggggcgcggcgccctatataaccgc  
gagcggcctccgcccggcctcagacttggactccctcctcgcctgctg  
cgccttcggcccgacagccagccagccagccgcgcgcgcgcgcgcgc  
tccagcggggcctcttgcgggctcctctcctcctcctcctcctcctcctc  
gtccgggggtgcagggggcagggcggggcggggcggggcggggcggggc  
agcgcgcggcgaagcctcttcttggacttccagccgcacacatctggg  
cgcagcggggcaccgctggccttctcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgcgc  
caggggggttcagcccaaggccggagacttcgattcggggcaggtag  
gagggggcgcggcgtgggggggggcttcgCTCAGTCCCAGGACTTT  
TC

**Primer Melting Temperatures**  
Forward: 60.8 C gcctttctctgctcgagt  
Reverse: 63.4 C gaaaagctcccaggactgag  
The temperature calculations are done assuming 50 mM salt and 50 nM annealing oligo concentration. The code to calculate the melting temp comes from [Primer3](#).

**Help**  
[What is chr\\_alt & chr\\_fix?](#)  
[Replicating in-Silico PCR results on local machine](#)

Figure25 : Confirmation des résultats par le site UCSC in silico PCR.

## Chapitre4. Conclusion

---

### Chapitre 4 : conclusion

L'inflammation représente une réponse fondamentale aux blessures microbiennes, chimiques et physiques. C'est est une réponse biologique du système immunitaire qui peut être déclenchée par divers facteurs notamment des agents pathogènes. La production de médiateurs inflammatoires dépend d'une signalisation intracellulaire étroitement régulée par des facteurs de transcription sensibles au stress en tant qu'activateurs positifs du programme génétique pro-inflammatoire.

L'apoptose ou bien la mort cellulaire programme .c' est un processus par lequel de cellule déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire, qui est physiologique .génétiquement programmée, nécessaire à la survie des Organismes multicellulaires.

Le SOCS3 est un régulateur négatif de la signalisation JAK-STAT. C'est l'un des régulateurs physiologique clé de l'immunité innée et adaptative qui contrôle plusieurs maladies immun-inflammatoires et régulateur de plusieurs voies de signalisation.

Ce dernier joue un rôle majeur dans la régulation de réponse inflammatoire et processus apoptotique .par l'inhibition des voies de cytokines STAT3 médies par l' IL6 et par l'inhibition de voie de signalisation JAK2/STAT3 qui induit a l'activation de capasse 9 et 3 .L'utilisation de la technique de la PCR devienne nécessaire pour étudier de le rôle de socs3 au cours la régulation de ces processus.

La PCR C'est une technique très sensible qui permet une amplification rapide d'un sagement spécifique à l'ADN et pour arrive à la réalisation cohérent de cette méthode une bonne paire d'amorce pour gène SOCS3 d'étudier.

Il est bien de concevoir les amorces avant tout manipulation .à partir de l'outil de conception (NCBI) nous avons obtenir facilement notre paire d'amorce du gène SOCS3 qui située sur le chromosome 17et présenté par la paire d'amorce numéro 3 par le primer Blast ce dernier subit une conformation par la PCR in Silico qui va générer d'énorme avantage de diverse étude.



## Chapitre5.Bibliographie

---

### Chapitre5.Bibliographie

#### A

Ahrberg, C.D., Ilic, B.R., Manz, A., and Neuzil, P. (2016). Handheld real-time PCR device. *Lab Chip* 16, 586–592

#### B

Baum, H. (2018). Apoptose. In *Lexikon der MedizinischenLaboratoriumsdiagnostik*, A.M. Gressner, and T. Arndt, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 1–1.

Bidère, N., Su, H.C., and Lenardo, M.J. (2006). GENETIC DISORDERS OF PROGRAMMED CELL DEATH IN THE IMMUNE SYSTEM. *Annu. Rev. Immunol.* 24, 321–352.

#### C

Carow, B., and Rottenberg, M.E. (2014). SOCS3, a Major Regulator of Infection and Inflammation. *Front. Immunol.* 5.

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., and Zhao,

L. (2018). Inflammatoryresponses and inflammation-associateddiseases in organs.

Oncotarget9

Chen, X.-F., Wu, J., Zhang, Y.-D., Zhang, C.-X., Chen, X.-T., Zhao, W., and Chen, T.-X. (2019). Role of SOCS3 in enhanced acute-phase proteingenes by neonatal macrophages in response to IL-6. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* S1684118218303165.

Cheng, X., Zhang, X., Su, J., Zhang, Y., Zhou, W., Zhou, J., Wang, C., Liang, H., Chen, X., Shi, R., et al. (2015). miR-19b downregulates intestinal SOCS3 to reduce intestinal inflammation in Crohn'sdisease. *SciRep*5, 10397.

Chikuma, S., Kanamori, M., Mise-Omata, S., and Yoshimura, A. (2017). Suppressors of cytokine signaling:Potential immune checkpoint molecules for cancer immunotherapy. *Cancer Sci*108, 574–580.

Cohen, J.J., Duke, R.C., Fadok, V.A., and Sellins, K.S. (1992). Apoptosis and ProgrammedCellDeath in Immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 10, 267–293.

#### D

Daneva, A., Gao, Z., Van Durme, M., and Nowack, M.K. (2016). Functions and Regulation of ProgrammedCellDeath in Plant Development. *Annu. Rev. CellDev. Biol.* 32, 441–468.

Duncan, S.A., Baganizi, D.R., Sahu, R., Singh, S.R., and Dennis, V.A. (2017). SOCS Proteins as Regulators of InflammatoryResponsesInduced by BacterialInfections: A Review. *Front. Microbiol.* 8, 2431.

#### E

Ehrentraut, S., Nagel, S., Scherr, M.E., Schneider, B., Quentmeier, H., Geffers, R., Kaufmann, M., Meyer, C., Prochorec-Sobieszek, M., Ketterling, R.P., et al. (2013). t(8;9)(p22;p24)/PCM1-JAK2 Activates SOCS2 and SOCS3 via STAT5. *PLoS ONE* 8, e53767.

#### F

Franceschi, C., and Campisi, J. (2014). Chronic Inflammation (Inflammaging) and ItsPotential Contribution to Age-AssociatedDiseases. *The Journals of GerontologySeriesA:Biological Sciences and Medical Sciences* 69, S4–S9.

Freire, M.O., and Van Dyke, T.E. (2013). Natural resolution of inflammation. *Periodontol*

## Chapitre5.Bibliographie

---

2000 63, 149–164.

### G

Garibyan, L., and Avashia, N. (2013). Polymerase Chain Reaction. *Journal of Investigative Dermatology* 133, 1–4.

### H

Hendrayani, S.-F., Al-Harbi, B., Al-Ansari, M.M., Silva, G., and Aboussekhra, A. (2106). The inflammatory/cancer-related IL-6/STAT3/NF- $\kappa$ B positive feedback loop includes AUF1 and maintains the active state of breast myofibroblasts. *Oncotarget* 7, 41974–41985.

### J

Jeremias, I., Reinhardt, D., and Debatin, K.M. (2000). Fehlregulation von Apoptose als Grundlage für Krankheit. *Monatsschr Kinderheilkd* 148, 795–804.

Jiang, M., He, J., Gu, H., Yang, Y., Huang, Y., Xu, X., and Liu, L. (2020). Protective effect of resveratrol on obesity-related osteoarthritis via alleviating JAK2/STAT3 signaling pathway is independent of SOCS3. *Toxicology and Applied Pharmacology* 388, 114871.

Jo, D., Liu, D., Yao, S., Collins, R.D., and Hawiger, J. (2005). Intracellular protein therapy with SOCS3 inhibits inflammation and apoptosis. *Nat Med* 11, 892–898.

Jolly, R.D., Thompson, K.G., and Winchester, B.G. (1975). Bovine mannosidosis--a model lysosomal storage disease. *Birth Defects Orig. Artic. Ser.* 11, 273–278.

### K

Kesavardhana, S., Malireddi, R.K.S., and Kanneganti, T.-D. (2020). Caspases in Cell Death, Inflammation, and Pyroptosis. *Annu. Rev. Immunol.* 38, 567–595.

Khan, M.G.M., Ghosh, A., Variya, B., Santharam, M.A., Kandhi, R., Ramanathan, S., and Ilangumaran, S. (2019). Hepatocyte growth control by SOCS1 and SOCS3. *Cytokine* 121, 154733.

Kile, B.T., Schulman, B.A., Alexander, W.S., Nicola, N.A., Martin, H.M.E., and Hilton, D.J. (2002). The SOCS box: a tale of destruction and degradation. *Trends in Biochemical Sciences* 27, 235–241.

Kubo, M., Hanada, T., and Yoshimura, A. (2003). Suppressors of cytokine signaling and immunity. *Nat Immunol* 4, 1169–1176.

Kuprash, D.V., and Nedospasov, S.A. (2016). Molecular and cellular mechanisms of inflammation. *Biochemistry Moscow* 81, 1237–1239.

### L

Larzul, D. (1989). La PCR : principes et applications. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 4, 19-IN6.

Lawrence, T. (2009). The Nuclear Factor NF- $\kappa$ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 1, a001651–a001651.

Liu, K., Wu, Z., Chu, J., Yang, L., and Wang, N. (2019a). Promoter methylation and expression of SOCS3 affect the clinical outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia by JAK/STAT pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 115, 108913.

## Chapitre5.Bibliographie

---

Liu, S., Yan, R., Chen, B., Pan, Q., Chen, Y., Hong, J., Zhang, L., Liu, W., Wang, S., and Chen, J.-L. (2019b). Influenza Virus-Induced Robust Expression of SOCS3 Contributes to Excessive Production of IL-6. *Front. Immunol.* *10*, 1843.

Liu, Z., Gan, L., Yang, X., Zhang, Z., and Sun, C. (2014a). SOCS3 est une protéine contenant SH2 qui se lie à la boucle d'activation des Janus kinases, inhibant l'activité kinase et supprimant ainsi la signalisation des cytokines (Marine et al., 1999). *Biochem. Cell Biol.* *92*, 119–125.

Liu, Z., Gan, L., Yang, X., Zhang, Z., and Sun, C. (2014b). Hydrodynamic tail vein injection of SOCS3 eukaryotic expression vector in vivo promoted liver lipid metabolism and hepatocyte apoptosis in mouse. *Biochem. Cell Biol.* *92*, 119–125.

Liu, Z., Gan, L., Zhou, Z., Jin, W., and Sun, C. (2015). SOCS3 promotes inflammation and apoptosis via inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway in 3T3-L1 adipocyte. *Immunobiology* *220*, 947–953.

Lorenz, T.C. (2012). Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *JoVE* 3998.

### M

Mackay, I.M. (2002). Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Research* *30*, 1292–1305.

Marine, J.-C., McKay, C., Wang, D., Topham, D.J., Parganas, E., Nakajima, H., Penderville, H., Yasukawa, H., Sasaki, A., Yoshimura, A., et al. (1999). SOCS3 Is Essential in the Regulation of Fetal Liver Erythropoiesis. *Cell* *98*, 617–627.

Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell* *140*, 771–776.

### N

Nagata, S. (2018). Apoptosis and Clearance of Apoptotic Cells. *Annu. Rev. Immunol.* *36*, 489–517.

Netea, M.G., Balkwill, F., Chonchol, M., Cominelli, F., Donath, M.Y., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Golenbock, D., Gresnigt, M.S., Heneka, M.T., Hoffman, H.M., et al. (2017). A guiding map for inflammation. *Nat Immunol* *18*, 826–831.

### P

Pedroso, J.A.B., Ramos-Lobo, A.M., and Donato, J. (2019). SOCS3 as a future target to treat metabolic disorders. *Hormones* *18*, 127–136.

### R

Riehle, K.J., Campbell, J.S., McMahan, R.S., Johnson, M.M., Beyer, R.P., Bammler, T.K., and Fausto, N. (2008). Regulation of liver regeneration and hepatocarcinogenesis by suppressor of cytokine signaling 3. *Journal of Experimental Medicine* *205*, 91–103.

Rinttilä, T., Ülle, K., Apajalahti, J., Timmons, R., and Moran, C.A. (2020). Design and validation of a real-time PCR technique for assessing the level of inclusion of fungus- and yeast-based additives in feeds. *Journal of Microbiological Methods* *171*, 105867.

Rossa, C., Sommer, G., Spolidorio, L.C., Rosenzweig, S.A., Watson, D.K., and Kirkwood, K.L. (2012). Loss of Expression and Function of SOCS3 Is an Early Event in HNSCC: Altered Subcellular Localization as a Possible Mechanism Involved in Proliferation, Migration and Invasion. *PLoS ONE* *7*, e45197.

## Chapitre5.Bibliographie

---

### S

Shi, M., Lin, Z., Ye, L., Chen, X., Zhang, W., Zhang, Z., Luo, F., Liu, Y., and Shi, M. (2020). Estrogenreceptor-regulated SOCS3 modulation via JAK2/STAT3 pathwayisinvolved in BPF-induced M1 polarization of macrophages. *Toxicology*433–434, 152404.

Srivastav, S., Basu Ball, W., Gupta, P., Giri, J., Ukil, A., and Das, P.K. (2014). *Leishmania donovani*PreventsOxidativeBurst-mediatedApoptosis of Host Macrophages throughSelective Induction of Suppressors of Cytokine Signaling (SOCS) Proteins. *J. Biol. Chem.* 289, 1092–1105.

Stahl, A., Joyal, J.-S., Chen, J., Sapieha, P., Juan, A.M., Hatton, C.J., Pei, D.T., Hurst, C.G., Seaward, M.R., Krah, N.M., et al. (2012). SOCS3 is an endogenousinhibitor of pathologicangiogenesis. *Blood* 120, 2925–2929.

### W

White, C.A., and Nicola, N.A. (2013). SOCS3: An essential physiologicalinhibitor of signaling by interleukin-6 and G-CSF family cytokines. *JAK-STAT* 2, e25045.

White, G.E., Cotterill, A., Addley, M.R., Soilleux, E.J., and Greaves, D.R. (2011). Suppressor of cytokine signallingprotein SOCS3 expression isincreased at sites of acute and chronic inflammation. *J Mol Hist*42, 137–151.

### Y

Yasukawa, H., Sasaki, A., and Yoshimura, A. (2000). NegativeRegulation of Cytokine SignalingPathways. *Annu. Rev. Immunol.* 18, 143–164.

Yu, C.-F., Peng, W.-M., Schlee, M., Barchet, W., Eis-Hübinger, A.M., Kolanus, W., Geyer, M., Schmitt, S., Steinhagen, F., Oldenburg, J., et al. (2018). SOCS1 and SOCS3 Target IRF7 Degradation To Suppress TLR7-Mediated Type I IFN Production of HumanPlasmacytoidDendriticCells. *J.I.* 200, 4024–4035.

Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S., and Madden, T.L. (2012). Primer-BLAST: A tool to design target-specificprimers for polymerasechainreaction. *BMC Bioinformatics* 13, 134.

Yuan, J.S., Reed, A., Chen, F., and Stewart, C.N. (2006). Statisticalanalysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics*7, 85.

(2011). *Encyclopedia of cancer* (Heidelberg ; New York: Springer).

(2017). *The immune response to implantedmaterials and devices: the impact of the immune system on the success of an implant* (Cham: Springer).