

# Introduction à la culture de cellules animales

Bulletin Technique



CORNING

Life  
Sciences

*John A. Ryan, Ph.D.  
Corning Incorporated  
Life Sciences  
Tower 2, 4th floor  
900 Chelmsford St.  
Lowell, MA 01851, USA*

## Sommaire

Introduction .....	1
Que signifie culture de cellules et de tissus? ....	1
Comment obtenir des cultures cellulaires? .....	2
À quoi ressemblent les cellules cultivées? .....	3
Quelques problèmes auxquels sont confrontés les cellules en culture .....	4
Comment savoir si des cellules en culture sont "heureuses"? .....	6
À quoi servent les cultures de cellules? .....	6
Références .....	7

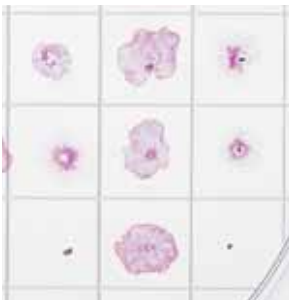
## Introduction

La culture cellulaire est devenue un des outils majeurs utilisés aujourd'hui dans les sciences de la vie. Ce guide est conçu pour servir d'introduction basique à la culture de cellules animales. Il convient parfaitement aux personnels de laboratoire qui utilisent cette technique pour la première fois, ainsi qu'à ceux qui collaborent avec les chercheurs en culture cellulaire et qui désirent mieux comprendre les concepts clés et la terminologie de ce domaine passionnant et en pleine expansion.

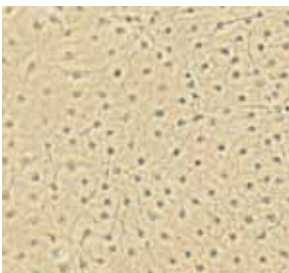
## Que signifie culture de cellules et de tissus?

**Culture de tissus** est le terme général englobant le prélèvement de cellules, tissus ou organes d'un animal ou d'une plante et leur placement ultérieur dans un environnement artificiel conduisant à leur croissance. Cet environnement est généralement constitué de récipients de cultures appropriés en verre ou en plastique contenant un milieu liquide ou semi-solide qui apporte les nutriments essentiels à la survie et à la croissance. La culture d'organes entiers ou de fragments d'organes intacts dans l'intention d'étudier leur fonctionnement ou leur développement prolongés est appelée **Culture d'organe**. Lorsque les cellules sont retirées des fragments d'organe avant, ou pendant la culture, interrompant ainsi leurs relations normales avec les cellules voisines, on appelle cela **Culture de cellules**.

Des informations supplémentaires sur la terminologie et l'utilisation des cultures cellulaires sont consultables sur le site Internet de la Society for In Vitro Biology à l'adresse [www.sivb.org/edu\\_terminology.asp](http://www.sivb.org/edu_terminology.asp).



Explants de prépuce humain fixés et colorés à la surface d'une boîte de culture de 150 mm. Les explants ont été cultivés pendant environ deux semaines. Deux des neuf explants (coins inférieurs gauche et droit) n'ont pas poussé. Les explants restants montrent une bonne croissance. Chaque carré mesure environ 2 cm.



Culture primaire de poisson *Poeciliopsis lucida*. Les embryons ont été broyés et dissociés avec une solution de trypsine. Ces cellules ont été cultivées pendant environ 1 semaine et ont formé une couche unique à confluence.

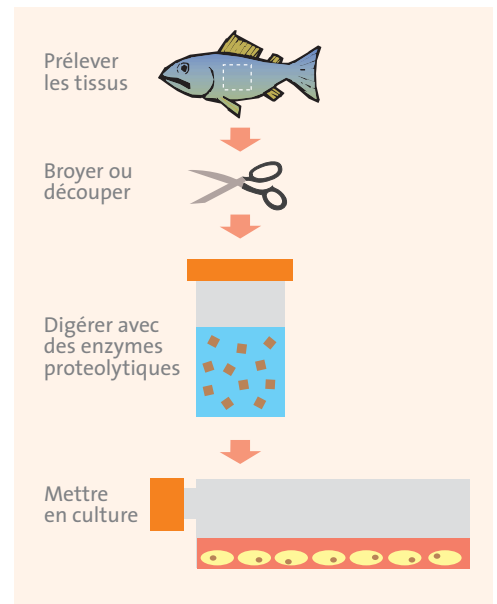
Bien que la culture de cellules animales ait été réussie pour la première fois par Ross Harrison en 1907, il a fallu attendre la fin des années 1940 et le début des années 1950 pour voir apparaître plusieurs développements qui ont rendu la culture cellulaire largement disponible comme outil pour les scientifiques. Tout d'abord, le développement des antibiotiques a permis d'éviter plus facilement de nombreux problèmes de contamination qui empoisonnaient jusqu'alors les essais de culture. Ensuite se sont développées des techniques, telles que l'utilisation de trypsine pour retirer les cellules des récipients de culture, nécessaires pour obtenir des lignées cellulaires cultivées en continu (comme les cellules HeLa). Enfin, à l'aide de ces lignées cellulaires, les scientifiques ont pu développer des milieux de culture cellulaire standardisés chimiquement définis facilitant énormément la culture de cellules. Ces trois points combinés ont permis à de nombreux autres chercheurs d'utiliser la culture de cellules, tissus et organes dans leur recherche.

Pendant les années 1960 et 1970, la commercialisation de cette technologie a eu un impact supplémentaire sur la culture cellulaire, impact qui continue de nos jours. Les entreprises, comme Corning, ont commencé à développer et vendre des produits pour la culture en verre et en plastique à usage unique, et ont amélioré les matériaux et produits de filtration, les milieux de culture tissulaire liquides et en poudre, et les hottes à flux laminaire. Le résultat de tout ceci et des autres développements technologiques continus a été une augmentation croissante du nombre de laboratoires et d'industries utilisant aujourd'hui les cultures de cellules.

## Comment obtenir des cultures cellulaires?

### Culture primaire

Lorsque les cellules sont prélevées chirurgicalement d'un organisme et placées dans un environnement de culture approprié, elles se fixent, se divisent et prolifèrent. C'est ce qu'on appelle une **Culture primaire**. Il existe deux méthodes de base pour faire cela. Dans la première, pour les **Cultures d'explants**, de petits morceaux de tissus sont fixés sur un récipient de culture en verre ou en plastique traité et baignés dans du milieu de culture. Après quelques jours, des cellules individuelles se déplacent de l'explant de tissus vers la surface du récipient de culture ou le substrat où elles com-



Dissociation enzymatique

mencent à se diviser et proliférer. Dans la deuxième, méthode la plus généralement utilisée, ce processus est accéléré en ajoutant des enzymes de digestion (protéolytiques), telles que la trypsine ou la collagénase, à des fragments de tissus pour dissoudre le ciment maintenant les cellules ensemble. Ceci crée une suspension de cellules individuelles qui sont placées dans des récipients de culture contenant un milieu de culture pour les laisser pousser et se diviser. Cette méthode est appelée **Dissociation enzymatique**.

### Repiquage

Lorsque les cellules dans le récipient de culture primaire ont poussé et couvert tout le substrat de culture disponible, elles doivent être repiquées pour leur donner de la place afin d'avoir une croissance continue. Cela se fait généralement en les retirant aussi délicatement que possible du substrat avec des enzymes. Ces enzymes sont similaires à celles utilisées pour obtenir la culture primaire et sont utilisées pour rompre les liaisons protéiques liant les cellules au substrat. Certaines lignées cellulaires peuvent être récoltées en grattant délicatement les cellules du fond du récipient de culture. Une fois libérées, les cellules en suspension peuvent être divisées et placées dans de nouveaux récipients de culture.

Lorsqu'un surplus de cellules est disponible, il est possible de les traiter avec des agents cryoprotecteurs adaptés, comme le diméthylsulfoxyde (DMSO) ou le glycérol,



Les tubes cryogènes Corning® sont disponibles en différentes tailles pour congeler les cellules pour une conservation à long terme.



Les boîtes de culture Corning sont disponibles dans différentes tailles et formes pour cultiver des cellules adhérentes.



Les flacons de culture Corning sont utilisés pour faire pousser des cellules adhérentes.



Les flacons Spinner Corning sont utilisés pour faire pousser des cellules non adhérentes en suspension.

de les congeler délicatement puis de les stocker à des températures cryogéniques (en dessous de  $-130^{\circ}\text{C}$ ) jusqu'à ce qu'on en ait besoin. La théorie et les techniques de cryoconservation des cellules sont reprises dans le bulletin technique Corning : Guide général de conservation cryogénique de cultures de cellules animales (réf. 9).

### Acheter ou emprunter

Une alternative à la constitution de cultures par culture primaire consiste à acheter des cultures cellulaires constituées auprès d'organisations telles que l'American Type Culture Collection (ATCC; [www.atcc.org](http://www.atcc.org)) ou le Coriell Institute for Medical Research ([arginine.umdj.edu](http://arginine.umdj.edu)). Ces deux organisations à but non lucratif proposent des lignées cellulaires de très bonne qualité qui sont soigneusement testées afin d'assurer l'authenticité des cellules.

Plus fréquemment, les chercheurs obtiennent (empruntent) des lignées cellulaires auprès d'autres laboratoires. Cette pratique s'étant répandue, elle a un inconvénient majeur. Il y a une forte probabilité pour que les cellules obtenues de cette façon ne donnent pas de cultures saines et utiles. Ceci est généralement dû aux mélanges précédents ou aux contaminations par d'autres lignées cellulaires, ou est le résultat de contaminations par des micro-organismes tels que les mycoplasmes, bactéries, champignons ou levures. Ces problèmes sont traités en détails dans un bulletin technique Corning : Comprendre et gérer les contaminations des cultures cellulaires (réf 7).

### À quoi ressemblent les cellules cultivées?

Une fois en culture, les cellules montrent une grande diversité de comportements, caractéristiques et formes. Certaines parmi les plus communes sont décrites ci-dessous. John Paul en donne des détails dans le chapitre 3 de *Culture de cellules et de tissus* (réf. 3).

### Systèmes de culture cellulaire

Deux systèmes de base de culture cellulaire sont utilisés pour cultiver des cellules. Ils sont essentiellement basés sur l'aptitude des cellules à pousser attachées sur un substrat de verre ou de plastique traité (**systèmes de culture mono-couche**) ou à flotter librement dans le milieu de culture (**systèmes de culture en suspension**).

Les cultures mono-couches sont généralement cultivées dans des boîtes, flacons T, flacons roulants ou plaques multipuits

traités pour la culture de cellules, le choix se faisant en fonction du nombre de cellules nécessaires, de la nature de l'environnement de culture, du coût et des préférences personnelles.

Les cultures en suspension sont généralement cultivées:

1. dans des flacons Spinner (rotation magnétique) ou dans des Erlenmeyers agités dans lesquels les cellules sont activement gardées en suspension dans le milieu;
2. dans des récipients de culture stationnaires comme les flacons T et les bouteilles dans lesquels, bien qu'elles ne soient pas maintenues en agitation, les cellules sont incapables de se fixer fermement au substrat.

De nombreuses lignées cellulaires, surtout celles dérivées de tissus normaux, sont considérées comme **adhérentes**, c'est à dire qu'elles poussent uniquement lorsqu'elles adhèrent à un substrat leur convenant.

Certaines lignées cellulaires qui ne sont plus considérées comme normales (fréquemment désignées par **cellules transformées**) sont souvent capables de croître soit fixées à un substrat soit en flottant librement en suspension ; elles sont **en suspension**. De plus, certaines cellules normales, comme celles trouvées dans le sang, ne se fixent pas normalement aux substrats et poussent toujours en suspension.

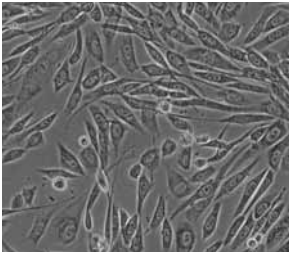
### Types de cellules

Les cellules cultivées sont généralement décrites d'après leur morphologie (forme et apparence) ou leurs caractéristiques fonctionnelles. Il existe trois morphologies de base:

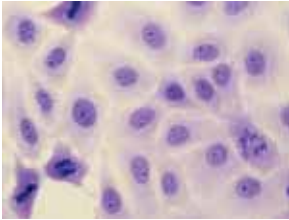
1. type épithélial: ces cellules sont attachées à un substrat et apparaissent plates et de forme polygonale.
2. type lymphoblaste: ces cellules ne se fixent pas normalement à un substrat mais restent en suspension avec une forme sphérique.
3. type fibroblaste: ces cellules sont attachées à un substrat et apparaissent allongées et bipolaires.

Il faut garder à l'esprit que les conditions de culture jouent un rôle important dans la détermination de la forme et que de nombreuses cultures de cellules sont capables de présenter plusieurs morphologies.

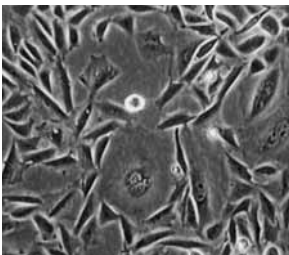
À l'aide de techniques de fusion cellulaire, il est également possible d'obtenir des cellules



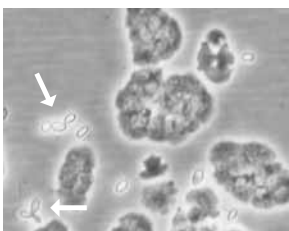
Cellules de type fibroblaste 3T3 dérivées d'embryons de souris.



Lignée cellulaire de type épithélial (Cl-9) dérivée de foie de rat. Les cellules mitotiques indiquent que cette culture est en croissance active.



Cellules CHO-K1 - une lignée cellulaire continue (transformée) largement utilisée dérivée de tissus d'ovaires de hamsters chinois adultes en 1957.



Microphotographie d'une infection de faible niveau par des levures dans une lignée cellulaire de foie (PLHC-1, ATCC # CRL-2406). Les cellules de levure bourgeonnantes sont visibles en plusieurs endroits (flèches). À ce faible niveau de contamination, aucune turbidité du milieu n'est visible ; cependant, en absence d'antibiotiques, le milieu de culture deviendra probablement trouble en une journée.

hybrides en fusionnant des cellules provenant de deux parents différents. Elles peuvent présenter des caractéristiques de l'un des parents ou des deux parents. Cette technique a été utilisée en 1975 pour créer des cellules capables de produire des anticorps monoclonaux taillés sur mesure. Ces cellules hybrides (appelées **hybridomes**) sont formées par la fusion de deux cellules différentes mais apparentées. La première est un lymphocyte dérivé de la rate capable de produire l'anticorps désiré. La deuxième est une cellule de myélome (un type de cellule cancéreuse) se divisant rapidement et qui possède la machinerie nécessaire pour fabriquer des anticorps, mais n'est pas programmée pour produire d'anticorps. Les hybridomes résultants peuvent produire de grandes quantités de l'anticorps désiré. Ces anticorps, appelés **anticorps monoclonaux** du fait de leur pureté, ont de nombreuses applications cliniques, diagnostics et industrielles importantes avec une valeur annuelle de bien plus d'un milliard d'euros.

### Caractéristiques fonctionnelles

Les caractéristiques des cellules cultivées sont le résultat de leur origine (foie, cœur, etc.) et de leur faculté d'adaptation aux conditions de culture. Des marqueurs biochimiques peuvent être utilisés pour déterminer si les cellules sont toujours porteuses des fonctions spécialisées qui sont les leurs *in vivo* (par exemple, des cellules hépatiques sécrétant de l'albumine). Des marqueurs morphologiques ou ultra-structuraux peuvent également être examinés (par exemple les cellules du cœur battantes). Ces caractéristiques sont fréquemment perdues ou modifiées en conséquence du placement des cellules dans un environnement artificiel. Certaines lignées cellulaires finissent par arrêter de se diviser et montrer des signes de vieillissement. Ces lignées sont appelées **finies**. D'autres lignées cellulaires sont, ou deviennent, immortelles ; elles peuvent continuer à se diviser indéfiniment et sont appelées lignées cellulaires **continues**. Lorsqu'une lignée cellulaire finie "normale" devient immortelle, elle a subi un changement fondamental irréversible ou "transformation". Ceci peut se produire spontanément ou peut être provoqué en utilisant intentionnellement des produits, des rayonnements ou des virus. Les **cellules transformées** poussent généralement plus vite et plus facilement, peuvent souvent présenter des chromosomes supplémentaires ou anormaux et peuvent fréquemment être cultivées en suspension. Les cellules possédant le nombre normal de chromo-

somes sont appelées cellules **diploïdes**; celles qui possèdent un nombre de chromosomes différents de la norme sont appelées aneuploïdes. Si les cellules forment des tumeurs lorsqu'elles sont injectées à des animaux, elles sont considérées comme étant néoplasiquement transformées.

### Quelques problèmes auxquels sont confrontées les cellules en culture?

#### Éviter les contaminations

Il existe deux types principaux de contamination des cultures cellulaires : chimique et biologique. La contamination chimique est la plus difficile à détecter car elle est due à des agents, tels que les endotoxines, plastifiants, ions métalliques ou traces de désinfectants chimiques qui sont invisibles. Les effets sur la culture cellulaire associés aux endotoxines sont décrits en détails dans le bulletin technique : Endotoxines et culture cellulaire (réf. 10). Les contaminants biologiques sous forme de levures à croissance rapide, bactéries et champignons ont un effet visible sur la culture (changement de turbidité ou de pH du milieu) et sont ainsi plus faciles à détecter (surtout en absence d'antibiotiques dans le milieu de culture). Cependant, deux autres formes de contaminations biologiques, les mycoplasmes et les virus, ne sont pas faciles à détecter visuellement et nécessitent généralement des méthodes de détection spécifiques.

Il existe deux conditions majeures pour éviter les contaminations. Premièrement, un entraînement correct à la mise en œuvre de techniques de bonne asepsie de la part de la personne qui cultive les cellules. Deuxièmement, un équipement, matériel en plastique, en verre et des milieux correctement conçus, entretenus et stérilisés. L'utilisation soigneuse et sélective (limitée) d'antibiotiques conçus pour être utilisés en culture cellulaire peut également aider à éviter les pertes de cultures consécutives à une contamination biologique. Ces concepts sont repris en détails dans un bulletin technique Corning : Comprendre et gérer les contaminations en culture cellulaire (réf. 7).

#### Trouver un environnement "heureux"

Pour les personnes cultivant des cellules, un environnement "heureux" permet aux cellules de faire plus que juste survivre en culture. Généralement, cela signifie un environnement qui, au minimum, permet aux cellules d'augmenter en nombre par division cellulaire (mitose). Mieux, lorsque les

**Conditions environnementales de base pour des cellules "heureuses":**

- ▶ Température contrôlée
- ▶ Bon substrat pour l'adhérence des cellules
- ▶ Milieu et étuve appropriés maintenant l'osmolalité et le pH corrects



Les supports perméables Transwell de Corning® sont utilisés pour étudier la migration et le transport cellulaires.



Les cultures en suspension et sur micro-supports peuvent être cultivées dans des flacons Spinner en verre.



Cellules CHO-K1 cultivées sur un support de microbilles.

conditions sont idéales, certaines cellules cultivées expriment leur "bonheur" pour leur environnement en réalisant *in vivo* d'importantes fonctions physiologiques ou biochimiques, telle que la contraction musculaire ou la sécrétion d'hormones et d'enzymes. Pour obtenir cet environnement, il est important de fournir aux cellules la température appropriée, un bon substrat pour la fixation et le milieu de culture correct. La plupart des problèmes associés au "bien-être" des cellules sont décrits dans le bulletin technique de Corning : Guide général pour l'identification et la résolution des problèmes courants d'adhérence et de croissance de cultures cellulaires (réf. 8).

La température est généralement réglée sur la même valeur que la température corporelle de l'hôte à partir duquel les cellules ont été obtenues. Avec les vertébrés à sang froid, une plage de température de 18° à 25°C est parfaite ; la plupart des cellules de mammifère nécessitent 36° à 37°C. Cette plage de température est généralement maintenue à l'aide d'étuves soigneusement étalonnées et fréquemment contrôlées.

Les cellules adhérentes nécessitent également un bon substrat pour la fixation et la croissance. Le verre et les plastiques spécialement traités (pour rendre hydrophile ou mouillable la surface normalement hydrophobe des plastiques) sont les substrats les plus communément utilisés. Cependant, des **facteurs d'adhérence**, comme le collagène, la gélatine, la fibronectine et la laminine, peuvent être utilisés pour recouvrir les substrats afin d'améliorer la croissance et la fonction de cellules normales dérivées de cerveau, vaisseaux sanguins, rein, foie, peau, etc. Souvent les cellules adhérentes normales fonctionnent mieux si elles sont cultivées sur une surface perméable ou poreuse. Cela leur permet de se polariser (avoir un haut et un bas à travers lesquels des éléments peuvent entrer et sortir de la cellule) comme elles le font dans le corps. Les inserts Transwell® sont des récipients Corning avec des supports perméables à base de membrane qui permettent à ces cellules de développer une polarité et d'acquérir la capacité d'exprimer des fonctions spéciales telles que le transport. De nombreuses cellules spécialisées ne peuvent être vraiment "heureuses" (fonctionner normalement) que si elles sont cultivées sur un substrat poreux dans un milieu sans sérum avec un mélange approprié de facteurs de croissance et d'adhérence.

Les cellules peuvent également être cul-

tivées en suspension sur des microbilles en verre, plastique, polyacrylamide et molécules de dextran réticulées. Cette technique a été utilisée pour permettre aux cellules adhérentes de pousser dans des systèmes de culture en suspension et se développe de façon importante dans la fabrication de produits biologiques cellulaires.

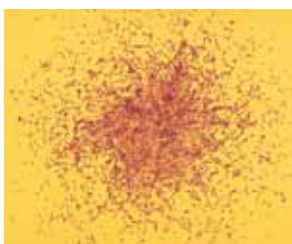
Le milieu de culture est le facteur le plus important et le plus complexe à gérer pour rendre les cellules "heureuses". En plus de satisfaire aux besoins nutritionnels des cellules, le milieu de culture doit également posséder tous les facteurs de croissance nécessaires, réguler le pH et l'osmolalité, et fournir les gaz essentiels (O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>). La partie "nourriture" du milieu de culture est constituée d'acides aminés, vitamines, sels minéraux et glucides. Ils permettent aux cellules de construire de nouvelles protéines et autres composants essentiels à la croissance et aux fonctions et apportent l'énergie nécessaire au métabolisme. Pour plus d'informations sur ce sujet, consulter l'article : Construction of Tissue Culture Media (*Composition des milieux de culture de tissus*) par C. Waymouth dans *Growth, Nutrition and Metabolism of Cells in Culture, Volume 1* (1972, réf. 5).

Les facteurs de croissance et hormones aident à réguler et contrôler la vitesse de croissance des cellules et leurs caractéristiques fonctionnelles. Au lieu de les ajouter directement au milieu, ils sont souvent ajoutés de manière non définie par adjonction de 5 à 20% de différents sérums animaux au milieu. Malheureusement, les types et concentrations de ces facteurs dans le sérum varient considérablement d'un lot à l'autre. Ceci pose souvent des problèmes de contrôle de la croissance et des fonctions. Pour cultiver des cellules fonctionnelles normales, les sérums sont souvent remplacés par des facteurs de croissance spécifiques.

Le milieu régule également la plage de pH de la culture et tamponne les cellules pour empêcher les modifications trop rapides de pH. Généralement, un tampon à base de CO<sub>2</sub> - bicarbonate ou un tampon organique, comme l'HEPES, est utilisé pour aider à conserver le pH du milieu dans une plage comprise entre 7,0 et 7,4 suivant le type de cellules cultivées. En cas d'utilisation d'un tampon CO<sub>2</sub> - bicarbonate, il est nécessaire de réguler la quantité de CO<sub>2</sub> dissous dans le milieu. Cela se fait généralement en utilisant une étuve régulant le



L'examen de la morphologie de ces flacons roulants colorés (contenant des fibroblastes humains MRC-5) est une bonne façon de vérifier si les cellules sont "heureuses". La bouteille de gauche a tourné trop vite, entraînant une mauvaise adhérence et une mauvaise croissance et des cellules très "malheureuses".



Une colonie de cellules de fibroblastes humains fixées et colorées.



Les plaques Transwell-24 HTS sont utilisées pour les tests de toxicité et les études de transport de médicaments.

CO<sub>2</sub> réglée pour fournir une atmosphère comprise entre 2% et 10% de CO<sub>2</sub> (pour les tampons basés sur les sels de Earle). Cependant, certains milieux utilisent un tampon CO<sub>2</sub> – bicarbonate (pour les tampons basés sur les sels de Hanks) ne nécessitant pas de CO<sub>2</sub> supplémentaire, mais ce tampon doit être utilisé dans des récipients scellés (pas de boîte ni de plaque). Pour plus d'informations sur ce sujet, consulter l'article : *The Gaseous Environment of the Cell in Culture (L'environnement gazeux des cellules en culture) par W.F. McLimans dans Growth, Nutrition and Metabolism of Cells in Culture (1972, Réf. 5).*

Enfin, l'osmolarité (pression osmotique) du milieu de culture est importante car elle aide à réguler le flux de substances qui entrent et sortent de la cellule. Elle est contrôlée par l'addition ou la soustraction de sels dans le milieu de culture. L'évaporation du milieu de culture dans les récipients de culture ouverts (boîtes, etc.) conduit rapidement à une augmentation de l'osmolarité, entraînant un stress, une dégradation ou la mort des cellules. Pour les systèmes de culture ouverts (non scellés), les étuves à niveau d'humidité élevé sont essentielles pour réduire l'évaporation. Pour plus d'informations, consulter l'article de C.

Waymouth : *Osmolality of Mammalian Blood and of Media for Culture of Mammalian Cells (Osmolarité du sang des mammifères et des milieux de culture de cellules de mammifères) (1970, Réf. 6).*

### Comment savoir si des cellules cultivées sont "heureuses"?

L'évaluation de l'état de santé général ou du "bonheur" d'une culture est généralement basée sur quatre caractéristiques cellulaires importantes : morphologie, vitesse de croissance, efficacité d'étalement et expression de fonctions particulières. Ces mêmes caractéristiques sont également largement utilisées pour évaluer les résultats expérimentaux.

La **morphologie** ou forme de la cellule est la plus facile à déterminer mais elle est également souvent la moins utile. Bien que des changements de morphologie soient fréquemment observés en culture, il est souvent difficile de lier ces observations aux conditions qui les ont provoqués. C'est également une caractéristique très difficile à quantifier ou à mesurer avec précision.

Souvent, le premier signe que quelque chose tourne mal dans une culture apparaît

à l'examen microscopique des cellules qui met en évidence des images d'adhérence ou de croissance cellulaires dégradées ou inhabituelles. En cas de suspicion de problème, une coloration des récipients de culture au violet de méthyle ou avec un autre colorant histologique simple peut montrer des images de croissance indiquant un problème. Ces problèmes de croissance sont décrits en détails dans le bulletin technique Corning : Guide général d'identification et de résolution des problèmes courants d'adhérence et de croissance de cellules en culture (Réf. 8).

Le comptage cellulaire et autres méthodes d'estimation du nombre de cellules, d'un autre côté, permettent de déterminer la **vitesse de croissance**, qui est sensible aux changements majeurs de l'environnement de la culture. Ceci permet de concevoir des expériences permettant de déterminer quel ensemble de conditions (milieu de culture, substrat, sérum, ustensiles en plastique) est meilleur pour les cellules, c'est à dire les conditions induisant la meilleure vitesse de croissance. Ces mêmes techniques ou similaires peuvent être utilisées pour mesurer la survie ou la mort cellulaires et sont souvent utilisées pour les tests de cytotoxicité in vitro.

L'**efficacité d'ensemencement** est une méthode de test dans laquelle de petites quantités de cellules (20 à 200) sont placées dans un récipient de culture ; le nombre de colonies qu'elles forment est ensuite compté. Le pourcentage de cellules formant une colonie est une mesure de la survie, alors que la taille de la colonie est une mesure de la vitesse de croissance. Cette méthode de test est similaire à l'analyse de la vitesse de croissance dans son application mais est plus sensible aux petites variations des conditions de culture.

La dernière caractéristique, l'**expression des fonctions spécialisées**, est généralement la plus difficile à observer et à mesurer. Il convient généralement d'utiliser des dosages et tests biochimiques et immunologiques. Alors que les cellules cultivées peuvent très bien pousser en conditions suboptimales, les fonctions hautement spécialisées nécessitent généralement des conditions de culture proches de la perfection et sont souvent rapidement perdues lorsque les cellules sont placées en culture.

## À quoi servent les cultures de cellules?



Les flacons roulants Corning® sont largement utilisés pour produire des vaccins antiviraux.



Le système de bioréacteur CellCube® de Corning est idéal pour la production de masse de cellules adhérentes.



Les flacons Erlenmeyers Corning® sont souvent utilisés pour cultiver des cellules d'insectes en suspension.



Les microplaques Corning sont largement utilisées pour les tests de criblage de molécules.

La culture cellulaire est devenue un des outils majeurs utilisés en biologie cellulaire et moléculaire. Certains des domaines importants dans lesquels la culture cellulaire joue actuellement un rôle majeur sont brièvement décrits ci-dessous:

### Systemes de modèles

Les cultures cellulaires fournissent de bons systèmes de modèles pour étudier 1) la biologie et la biochimie cellulaires de base, 2) les interactions entre les cellules et les agents induisant des maladies, 3) les effets des médicaments sur les cellules, 4) le processus et le déclenchement du vieillissement et 5) les études nutritionnelles.

### Tests de toxicité

Les cellules en culture sont largement utilisées seules ou en conjonction avec des tests sur les animaux pour étudier les effets de nouveaux médicaments, cosmétiques et produits chimiques sur la survie et la croissance d'une grande variété de types de cellules. Les cultures de cellules dérivées du foie et des reins sont particulièrement importantes.

### Recherche sur le cancer

Les cellules normales et les cellules cancéreuses pouvant toutes deux être cultivées, les différences de base entre elles peuvent être étudiées de près. De plus, il est possible, en utilisant des produits chimiques, virus et rayonnements, de convertir les cellules cultivées normales en cellules cancéreuses. Ceci permet ainsi d'étudier les mécanismes conduisant à ce changement. Les cellules cancéreuses cultivées servent également de système de test pour déterminer les médicaments et méthodes adaptées pour détruire sélectivement certains types de cancers.

### Virologie

Une des utilisations les plus précoces et les plus importantes des cultures cellulaires a été la réplication de virus dans les cultures cellulaires (à la place des animaux) pour les utiliser dans la production de vaccins. Les cultures cellulaires sont également largement utilisées en détection clinique et isolement de virus, ainsi qu'en recherche fondamentale pour étudier comment ils se développent et infectent les organismes.

### La cellule comme usine de production

Alors que les cellules cultivées peuvent être utilisées pour produire de nombreux pro-

duits importants, trois domaines se sont montrés plus intéressants. Le premier est la production à grande échelle de virus pour une utilisation en production de vaccins. Ceci comprend les vaccins contre la polio, la rage, la varicelle, l'hépatite B et la rougeole. Le deuxième est la production à grande échelle de cellules génétiquement modifiées pour produire des protéines présentant une valeur médicale ou commerciale. Ceci inclut les anticorps monoclonaux, l'insuline, les hormones, etc. Le troisième est l'utilisation de cellules en remplacement de tissus et d'organes. La peau artificielle utilisée pour le traitement de brûlures et d'ulcères est le premier produit disponible dans le commerce. Toutefois, des tests sont en cours sur des organes artificiels comme le pancréas, le foie et les reins. Une réserve potentielle de cellules et tissus de remplacement peut ressortir de travaux en cours réalisés avec des cellules souches adultes et embryonnaires. Ce sont des cellules qui ont le potentiel de se différencier en plusieurs types cellulaires différents. Apprendre à contrôler le développement de ces cellules représente un espoir pour de nouvelles approches de traitements pour une large variété de pathologies.

### Conseil génétique

L'amniocentèse, une technique diagnostique qui permet aux médecins de prélever des cellules fœtales sur des femmes enceintes et de les cultiver, a mis à la disposition des médecins un outil important pour le diagnostic précoce d'affections fœtales. Ces cellules peuvent être examinées pour rechercher des anomalies dans leurs chromosomes et gènes à l'aide de caryotypes, chromosome painting et autres techniques moléculaires.

### Génie génétique

La capacité de transférer ou de reprogrammer les cellules en culture par du nouveau matériel génétique (ADN et gènes) a fourni un outil précieux aux biologistes moléculaires désireux d'étudier les effets cellulaires de l'expression de ces gènes (nouvelles protéines). Ces techniques peuvent également être utilisées pour produire ces nouvelles protéines en grande quantité dans les cellules en culture pour les étudier. Les cellules d'insectes sont largement utilisées comme usines cellulaires miniatures pour exprimer des quantités substantielles de protéines qu'elles fabriquent après avoir été infectées par des baculovirus génétiquement modifiés.

### Thérapie génique

La capacité de modifier génétiquement des cellules a également conduit à leur utilisation en thérapie génique. Les cellules peuvent être prélevées sur un patient souffrant d'une déficience dans un gène fonctionnel, et le gène manquant ou endommagé peut alors être remplacé. Les cellules sont cultivées un moment puis réimplantées dans le patient. Une approche alternative consiste à placer le gène manquant dans un vecteur viral puis "d'infecter" le patient par le virus en espérant que le gène manquant sera exprimé dans les cellules du patient.

### Découverte de médicaments

L'importance des tests basés sur des cellules a considérablement augmenté dans l'industrie pharmaceutique, pas seulement pour les tests de cytotoxicité, mais également pour le criblage à haut débit (HTS) de composés pouvant présenter une utilité potentielle comme médicament. À l'origine, ces tests de culture cellulaire étaient réalisés dans des plaques de 96 puits, mais les plaques de 384 et 1536 puits sont maintenant de plus en plus utilisées.

### Références

1. Culture of Animal Cells, A Manual of Basic Technique (1994) R. Ian Freshney, 3rd edition, Alan R. Liss, Inc., New York.
2. Methods in Enzymology: Cell Culture, Vol. 58, (1979) W. B. Jacoby and I. H. Pasten, eds. Academic Press, New York.
3. Cell and Tissue Culture (1975) John Paul, 5th edition, Churchill Livingstone, Edinburgh.
4. Animal Cell Culture Methods, Volume 57, (1998) J. Mather and D. Barnes, eds. Methods in Cell Biology, Academic Press, San Diego, 1998.
5. Growth, Nutrition and Metabolism of Cells in Culture (1972) G. H. Rothblat and V. J. Cristofalo eds. Volumes 1-3 by Academic Press, New York.
6. Osmolality of Mammalian Blood and of Media for Culture of Mammalian Cells, (1970) C. Waymouth, In Vitro, Volume 6: 109-127.
7. Understanding and Managing Cell Culture Contamination Corning Life Sciences Technical Bulletin. This is available on the Corning Life Sciences web site at [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences).
8. General Guide for Identifying and Correcting Common Cell Culture Growth and Attachment Problems Corning Life Sciences Technical Bulletin. This is available on the Corning Life Sciences web site at [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences).
9. General Guide for Cryogenically Storing Animal Cell Cultures Corning Life Sciences Technical Bulletin. This is available on the Corning Life Sciences web site at [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences).
10. Endotoxins and Cell Culture Corning Life Sciences Technical Bulletin. This is available on the Corning Life Sciences web site at [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences).

Pour plus d'informations sur les produits ou techniques, consulter notre site Internet [www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences) ou appeler le 1.800.492.1110. En dehors des États-Unis, appeler le 978.635.2200.

## CORNING

### Corning Incorporated Life Sciences

Tower 2, 4th Floor  
900 Chelmsford St.  
Lowell, MA 01851  
t 800.492.1110  
t 978.442.2200  
f 978.442.2476

[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences)

### Distributeurs dans le monde

#### ASIE / PACIFIQUE

**Australie**  
t 61 2-9416-0492  
f 61 2-9416-0493

**Chine**  
t 86 21-3222-4666  
f 86 21-6288-1575

**Hong Kong**  
t 852-2807-2723  
f 852-2807-2152

#### Inde

t 91-124-235 7850  
f 91-124-401 0207

#### Japon

t 81 (0) 3-3586 1996/1997  
f 81 (0) 3-3586 1291/1292

#### Corée

t 82 2-796-9500  
f 82 2-796-9300

#### Singapour

t 65 6733-6511  
f 65 6861-2913

#### Taiwan

t 886 2-2716-0338  
f 886 2-2716-0339

#### EUROPE

**France**  
t 0800 916 882  
f 0800 918 636

**Allemagne**  
t 0800 101 1153  
f 0800 101 2427

**Royaume-Uni**  
t 0800 376 8660  
f 0800 279 1117

**Pays-Bas & tous les autres pays européens**  
t 31 (0) 20 659 60 51  
f 31 (0) 20 659 76 73

#### AMÉRIQUE LATINE

**Brésil**  
t (55-11) 3089-7419  
f (55-11) 3167-0700

**México**  
t (52-81) 8158-8400  
f (52-81) 8313-8589