



**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN**  
Département de Biologie  
Laboratoire de Biologie moléculaire appliquée et  
immunologie  
L3: Biologie Moléculaire et Cellulaire



**Module: Biologie de la cellule immunitaire**

# *Culture cellulaire*



**Dr. Wafa NOUARI**

# *Plan du cours*

---

- 1. Introduction***
- 2. Définition***
- 3. Origines des cellules***
- 4. Types de culture cellulaire***
- 5. Conditions physico-chimiques***
- 6. Matériel***

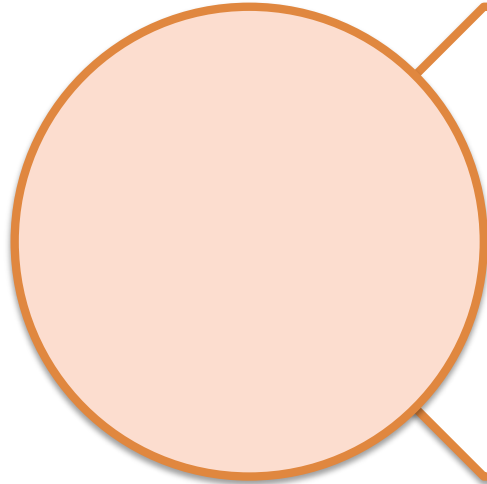
# 1. Définition

---

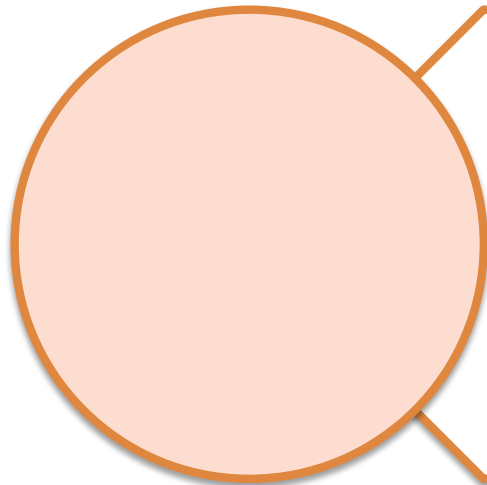
- La **culture cellulaire** désigne un **ensemble de techniques** utilisées pour faire **croître des cellules** hors de leur **l'organisme** (*ex-vivo*), ou de leur **milieu d'origine** dans le but **d'expérimentation scientifique**.
- La **culture cellulaire**, est le maintien en **dehors de l'organisme**, des **cellules** capables de se **diviser *in-vitro*** et d'exprimer des **métabolismes** et des **fonctions spécifiques**.

## *2. Origine des cellules*

---



Cellules des tissus solides



**cellules circulantes/ en  
suspension**

## 2.1. Tissus

- Ensemble de cellules de types et d'origine embryonnaire différente. Associés en général à une matrice extracellulaire (glycoprotéine, protéoglycane, fibrinectine...).
- **Origine:** Prélèvements biopsiques, fragment de tissus.
- **Contraintes:** Les tissus pure sont rares; nombreux tissus accessoires (tissus conjonctifs, vaisseaux sanguins, tissu nerveux..).

## Dissociation des tissus

### Mécanique

- scalpel, broyeur.....

### Chimique

- Solution sans calcium, chélateurs de calcium, de Mg...

### Enzymatique

- Digestion par la trypsine, la collagénase... (dégradent des liaisons inter-cellulaires).

**Remarque :** Très grande diversité des tissus = très grande diversité des protocoles.

## 2.2. cellules circulantes/ en suspension :

- **Origine:** le sang périphérique (cellules granuleuses, lymphocytes , monocytes...), la moelle osseuse (progéniteurs érythroïdes, mégacaryocytaire...), les liquides physiologiques comme les liquides pleuraux (cellules épithéliale, cellules différenciées , cellules tumorales...), le sang de cordon.....;
- **Intérêts**
  - ✓ source relativement pure (peu de types cellulaires mélangés)
  - ✓ facilité d'accès
  - ✓ matériel riche
  - ✓ mise en culture directe

### 3. Types de culture cellulaire

---

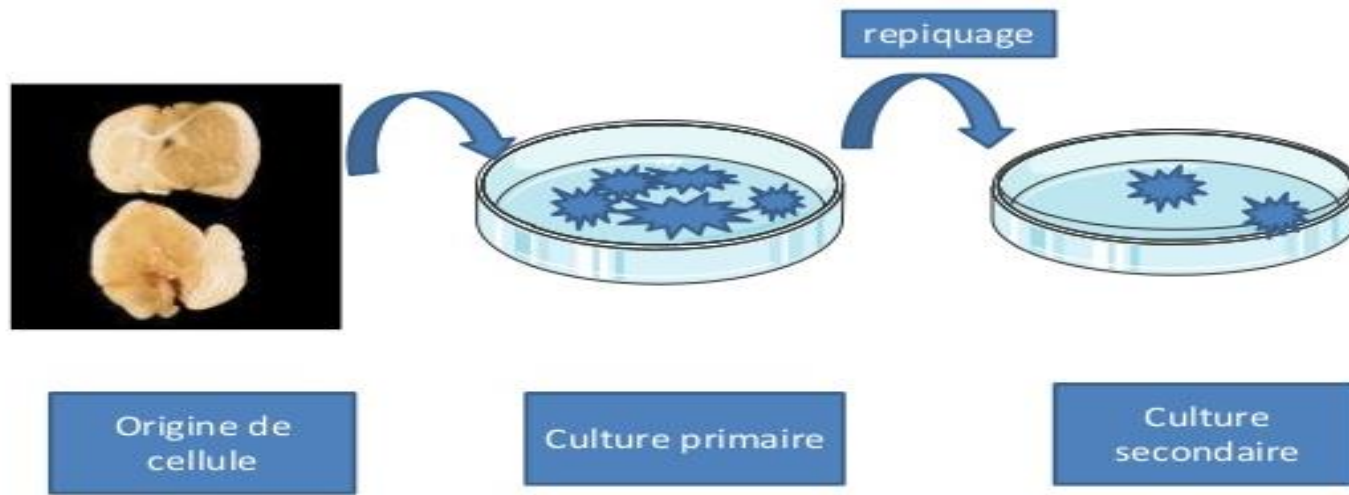
#### Primaire

- Culture dérivant de cellules directement prélevées sur un organisme

#### Secondaire

- Culture obtenue par **repiquage** à partir d'une **culture primaire** (ou d'une autre culture **secondaire**)
- Les cellules ainsi obtenues conservent les caractéristiques du tissu d'origine mais leur nombre de divisions est limité comme dans l'organisme.





## Lignée cellulaire

- une population homogène de cellules, stables après des mitoses successives, et ayant en théorie une capacité illimitée de divisions

### 3.3. Lignée cellulaire

- Il s'agit en général de cellules cancéreuses, cellules prélevées sur une tumeur au départ, ou cellules rendues immortelles (transformation=cancérisation) par traitement mutagène chimique ou physique ou par utilisation de virus oncogènes.
- Prélevées chez un patient comme (les cellules *HeLa*),
- Transformées artificiellement par un virus oncogène (c.à.d un gène immortalisant tel que T de SV40),
- Mutées par des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire (comme par exemple la protéine p53).

# 4. Conditions physico-chimiques

## Oxygène

- **les cellules animales sont aérobies strictes** l'apport d'oxygène est donc indispensable

## Température

- Les cellules doivent être placées à la température qui correspond à celle de l'organisme (généralement à 37°C)

## Equilibre acido-basique (pH)

- pH à 7.4 maintenu avec: les tampons du milieu et l'atmosphère à 5% de CO<sub>2</sub> dans l'étuve d'incubation

## Osmolarité

- Afin de prévenir l'augmentation de l'osmolarité due à l'évaporation, l'atmosphère de l'incubateur doit être saturée en vapeur d'eau (humidité à 84-85%).

# ***Matériel de culture***

# Matériel et instruments



**Incubateur à CO<sub>2</sub>**



**Microscope**



**Hotte à flux laminaire**



**Congélateur  
- 80 °C**



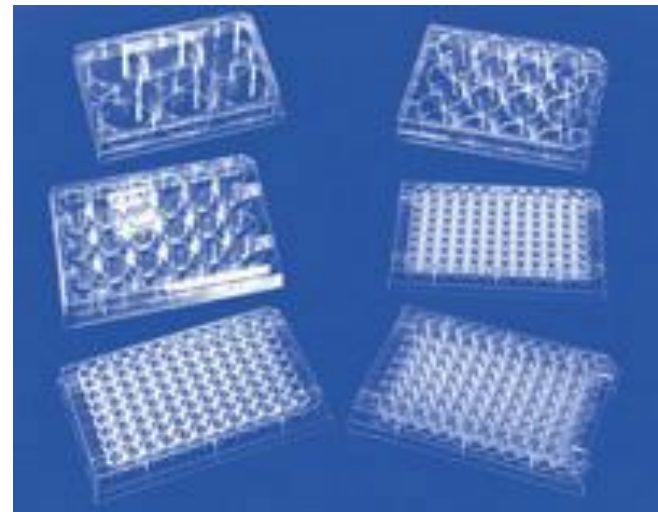
**Pipette**



**Boite de Petri et flasque**



**Micropipette**



**plaques multipuits**

## Milieux de culture

- Le milieu de culture doit reproduire aussi fidèlement que possible les conditions de l'environnement que les cellules trouvaient *in vivo*:
  - ✓ Apporter des éléments nutritifs
  - ✓ Contribuer au maintien des conditions physico-chimiques comme le pH et l'osmolarité
  - ✓ Permettre la prolifération des cellules (divisions cellulaires)

- Eau
- Ions minéraux (0,9 g/L et pH ≈ 7,2)
- Source de carbone et d'énergie (glucose, pyruvate ...)
- Facteurs de croissances
  - Acides aminés essentiels
  - Vitamines
  - Acides gras (acide arachidonique)
- Gaz
  - Dioxygène (cellules aérobies)
  - Dioxyde de carbone ≈ 5%
- Température 37°C



- ❖ **EMEM** = milieu essentiel minimum de Eagle (=MEM), modifié par Dulbecco.
- ❖ **HAM** = milieu de HAM.
- ❖ **RPMI** = milieu de Moore.
- ❖ **IMDM** = DMEM modifié par Iscove.



Le milieu de culture est complété par :

- ❖ Les protéines sériques du sérum animal, le plus utilisé est celui du veau foetal (FCS=foetal calf serum ou SVF=sérum du veau foetal). Il apporte de l'albumine, de la transferrine (action sur l'activité mitotique) et des hormones stéroïdes (œstrogènes) impliqués aussi dans la division cellulaire donc des facteurs de croissance.
- ❖ Les antibiotiques.

# Sérum de veau foetal SVF

- Apport de facteurs de croissance cellulaire par le sérum de veau foetal (SVF ou FCS)

  - 1,5 à 10 % de sérum décomplémenté

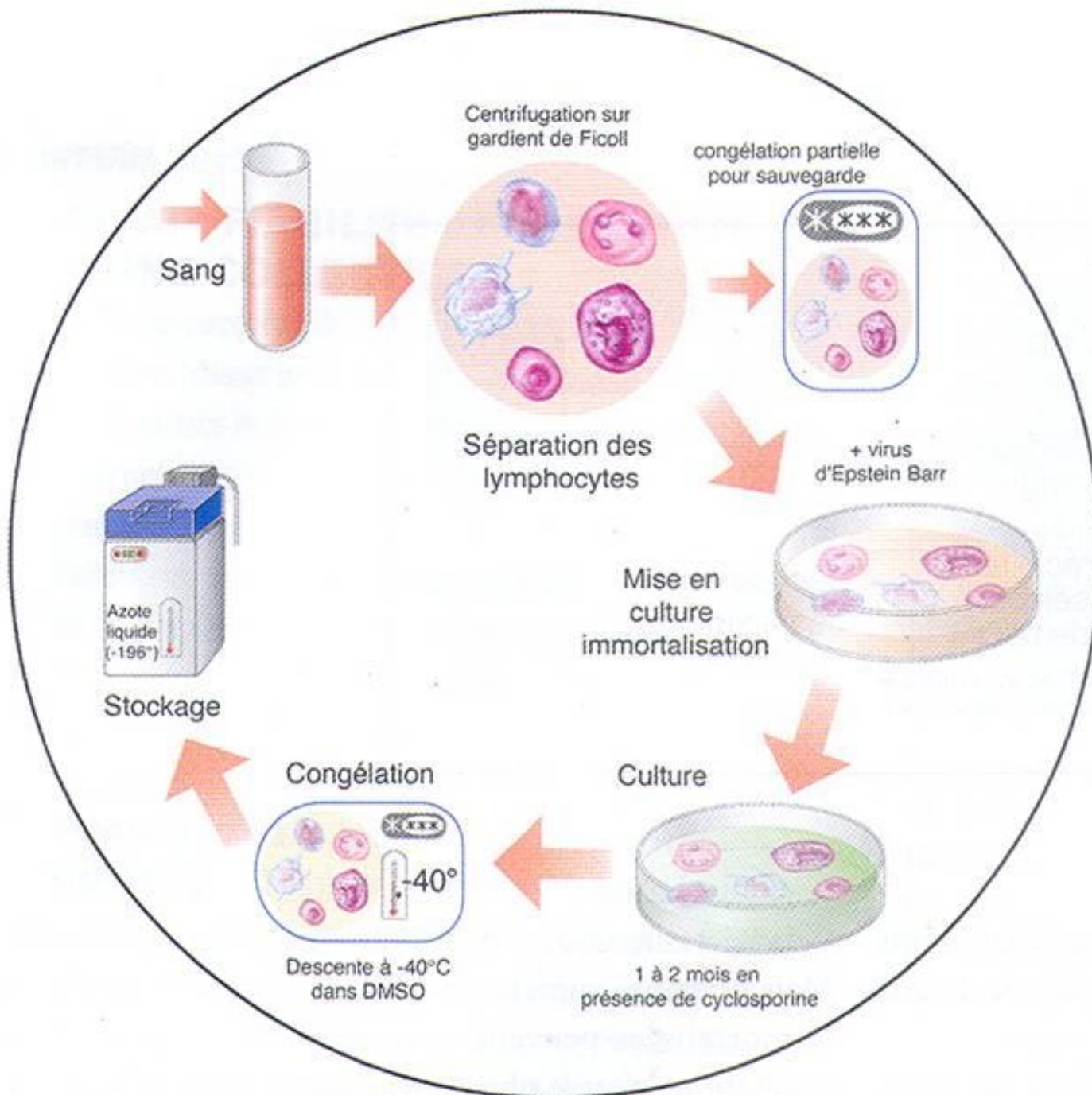
  - Exemple : l'EGF (facteur de croissance épidermique), le FGF (facteur de croissance fibroblastique), le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes), IL2 (facteur de croissance des cellules T) ... Mitogènes

- Apport de molécules d'ancrage des cellules aux parois du flacon (fibronectine)

- Insuline

- Molécules inconnues





Liens de vidéos culture cellulaire

<https://www.youtube.com/watch?v=00Z4oG5b>

Wts

<https://www.youtube.com/watch?v=WGKoJR>

NKADY