



# **Culture de cellules animales**

**3<sup>e</sup> édition**

### **Chez Lavoisier Tec & Doc :**

Cycle cellulaire et cytométrie en flux, par Didier Grunwald, Jean-François Mayol et Xavier Ronot

La cytométrie en flux, par Xavier Ronot, Didier Grunwald, Jean-François Mayol et Jean Boutonnat

Communications et signalisations cellulaires, par Yves Combarous

L'évolution biologique au XXI<sup>e</sup> siècle : Les faits, les théories, par Roger Dajoz

Biologie de l'évolution et médecine (Coll. Monographies), par Christian Frelin et Bernard Swynghedauw

Labo-Stat : Guide de validation des méthodes d'analyse, par Max Feinberg

### **Chez Lavoisier Médecine Sciences :**

Biologie moléculaire de la cellule, par B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter

Biologie moléculaire de la cellule – Livre d'exercices, par J. Wilson et T. Hunt

L'essentiel de la biologie cellulaire, par B. Alberts, D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter

Immunologie, par L. Chatenoud et J.-F. Bach

Manuel de poche de biologie cellulaire, par H. Plattner et J. Hentschel

Biologie moléculaire et médecine, par J.-C. Kaplan et M. Delpech

Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire, par B. Hainque, B. Baudin et P. Lefebvre

Biochimie et biologie moléculaire, par P. Kamoun, A. Lavoinne et H. de Verneuil

Histologie, par J.-P. Dadoune

**Georgia BARLOVATZ-MEIMON**

**Xavier RONOT**

# **Culture de cellules animales**

**3<sup>e</sup> édition**

*Préface de Monique Adolphe*

*Postface de Jacques Demongeot*

  
**TEC & DOC**  
editions.lavoisier.fr

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt concernant le contenu de cet ouvrage.

Ouvrage réalisé avec le concours de l'Inserm  
(Institut national de la santé et de la recherche médicale)

**Couverture :**

*Photo 1* : Visualisation des filaments d'actine dans un doigt de migration d'un tissu MDCK. (Crédit : cliché O. Cochet)

*Photo 2* : Cellules provenant d'un adénocarcinome mammaire, MDA-MB-231. Au cours d'un test de migration après blessure *in vitro*, on note la présence de PAI-1 (en vert) dans de petits bourgeonnements membranaires. (Crédit : collection Michel Malo, laboratoire IBISC)

*Photo 3* : Photographie de cellules cultivées sur microporteur. Cellules rénales humaines sur Cytodex® 3. (Crédit : cliché CNRS-Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, Nancy)

*Photo 4* : Cellules RT112 (lignée dérivée d'une tumeur vésicale humaine). Marquage en fluorescence de la tubuline (vert) et de l'ADN (bleu). (Crédit : collection Véronique Frachet, laboratoire CaCyS, EPHE)

*Photo 5* : Culture de pneumocytes de type II isolés de poumon de rat fœtal qui se transforment en pneumocytes I en 48h sur plastique (en vert la protéine T1 $\alpha$ ) (Crédit : cliché Bernadette Chailley-Heu)

*Photo 6* : Explant de cochlée de souris. Sur cette portion, on visualise les cellules ciliées (rouge, marquage myosine 7a), les neurones auditifs et les fibres nerveuses (vert, marquage neurofilament 200). (Crédit : cliché Florence François)

*Direction éditoriale* : Fabienne Roulleaux

*Édition* : Brigitte Peyrot

*Fabrication* : Estelle Perez-Le Du

*Composition et couverture* : Patrick Leleux PAO, Caen

*Impression et brochage* : L.E.G.O. S.p.a., Lavis, Italie

© 2014, Lavoisier, Paris

ISBN : 978-2-7430-1989-1

## LISTE DES COLLABORATEURS

- ABERDAM Daniel, Directeur de Recherche Inserm, UMRS976, Hôpital Saint-Louis, Paris.
- ALFAIDY Nadia, Chargée de Recherche Inserm, Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Unité Mixte INSERM-CEA-UJF U1036, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, CEA-Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- ANDRÉAU Karine, Maître de Conférences, Laboratoire des Réponses Moléculaires et Cellulaires aux Xénobiotiques, Unité Biologie Fonctionnelle et Adaptative, CNRS UMR 8251, Université Paris-Diderot, Paris.
- AUXENFANS Céline, Praticien Hospitalier, Laboratoire des Substituts Cutanés, Banque de Tissus et Cellules, Hôpital Édouard Herriot, UMR5305, IBCP, Lyon.
- BAEZA-SQUIBAN Armelle, Professeure des Universités, Laboratoire des Réponses Moléculaires et Cellulaires aux Xénobiotiques, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, UMR CNRS 8251, Université Paris-Diderot, Paris.
- BARLOVATZ-MEIMON Georgia, Professeure Émérite, Université Paris-Est, Créteil et Laboratoire IBISC (Informatique, Biologie Intégrative et Systèmes Complexes), Université d'Évry-Val d'Essonne/Genopole, Évry.
- BARTHOLIN Laurent, Chargé de Recherche Inserm, UMR Inserm 1052, CNRS 5286, Université Lyon 1, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon.
- BLANCHARD Fabrice, Ingénieur de Recherche, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, UMR CNRS 7274, ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy.
- BONGRAND Pierre, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Laboratoire Adhésion Cellulaire et Inflammation, Inserm UMR1067, CNRS UMR 7333, Université Aix-Marseille, Marseille.
- BOUBLIK Yvan, Ingénieur de Recherche CNRS, UMR 5237 CNRS, Centre de Recherches de Biochimie Macromoléculaire (CRBM), Montpellier.
- BOURBON Jacques, Directeur de Recherche CNRS, Inserm U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale, Créteil.
- BROCARD Jacques, Chargé de Recherche Inserm, Institut de Neurosciences, Centre de Recherche Inserm U836, Grenoble.
- BROUILLET Sophie, Assistante Hospitalo-Universitaire, Laboratoire d'Aide à la Procréation-CECOS, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- CALVO Fabien, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Pharmacologie, Centre d'Investigations Cliniques, Inserm UMRS 940 Hôpital Saint-Louis, Paris.
- CAMBAR Jean, Professeur des Universités, Laboratoire de Biologie Cellulaire, FRE CNRS 3396 Pharmacochimie, UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université Bordeaux-Segalen, Bordeaux.
- CARTIER-MICHAUD Amandine, Post-doctorante, CRCM Marseille, Equipe Adhésion et Interactions Tumeur/Hôte, Marseille.
- CERUTTI Martine, Directrice de Recherche CNRS, UP33044, Baculovirus et Thérapie, Saint Christol-lès-Alès.
- CHARRIÈRE-BERTRAND Cécile, Maître de Conférences, Université Paris-Est Créteil, et laboratoire IBISC (Informatique, Biologie Intégrative et Systèmes Complexes), Évry.
- CHEVALOT Isabelle, Professeure des Universités, Université de Lorraine, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, UMR CNRS 7274, ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy.
- COCHET-ESCARTIN Olivier, Docteur, Laboratoire Physicobiologie aux Mésoéchelles, UMR 168, Institut Curie, Centre de Recherche CNRS UPMC, Paris, France. Physics Department, University of California, San Diego, USA.
- CORRE Guillaume, Chercheur/Post-doctorant, UMR Inserm U951 Immunologie Moléculaire et Biothérapies Innovantes, Généthon, Université d'Évry-Val d'Essonne, École Pratique des Hautes Études, Évry.
- COUSSERANS François, Ingénieur d'Études, UMR1333 INRA - DGIMI, Université Montpellier 2, Montpellier.
- CURTET-BENITSKI Sandrine, Assistante Ingénieure, Inserm U823, Épigenétique et Signalisation Cellulaire, Institut Albert Bonniot, La Tronche.

DAMOUR Odile, Praticien Hospitalier, Laboratoire des Substituts Cutanés, Banque de Tissus et Cellules, Hôpital Édouard Herriot ; UMR5305, IBCP, Lyon.

DE GUERRA Arnaud, Responsable Pôle Recherche et Union européenne, Direction Médicale et Scientifique, Agence de la Biomédecine, Saint-Denis La Plaine.

DEUGNIER Marie-Ange, Chargée de Recherche Inserm, Institut Curie, Centre de Recherche, CNRS UMR144, Mécanismes Moléculaires du Développement de la Glande Mammaire, Paris.

DI-CICCO Amandine, Assistante Ingénieure, Institut Curie, Centre de Recherche, CNRS UMR144, Mécanismes Moléculaires du Développement de la Glande Mammaire, Paris.

DORANGE Germaine, Professeure des Universités, UFR Médecine et Sciences de la Santé, Département Génie biologique, IUT Brest, Université de Bretagne Occidentale, Brest.

DOS SANTOS Morgan, Docteur, Laboratoire des Substituts Cutanés, Banque de Tissus et Cellules, Hôpital Édouard Herriot, Lyon.

DROGUET Mickael, Maître de Conférences des Universités, UFR Médecine et Sciences de la Santé, Département Génie biologique, IUT Brest, Université de Bretagne Occidentale, Brest.

DUCHAROUGE Benjamin, Post-doctorant, UMR 5286 Équipe Apoptose Cancer et Développement, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon.

DUGAIL Isabelle, Directrice de Recherche Inserm, UMRS U1166, Équipe 6 Nutriomics, Inserm, Paris.

DUPONT Joëlle, Directrice de Recherche INRA, UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Centre Val-de-Loire, Tours.

DUPRESSOIR Thierry, Professeur des Universités, Directeur d'Études Laboratoire de Pathologie Comparée des Invertébrés, École Pratique des Hautes Études, UMR1333 INRA - DGIMI, Université Montpellier 2, Montpellier.

EDOM-VOVARD Frédérique, Post-doctorant, Centre de Recherche en Myologie, UMRS974 UPMC, Inserm, FRE 3617 CNRS-AIM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris.

FABRE Isabelle, Chef du pôle Contrôles biologiques des produits biologiques et des plantes, Direction des Contrôles, Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), Vendargues.

FEIGE Jean-Jacques, Directeur de Recherche Inserm, Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Unité Mixte INSERM-CEA-UJF U1036, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, CEA-Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble.

FILIPPUTTI-GILQUIN Anne-Laure, Assistante Ingénieure, Responsable Culture Cellulaire, Société CreaCell, La Tronche.

FRABOULET Sandrine, Maître de Conférences des Universités, UFR Chimie-Biologie, Université Joseph Fourier, Grenoble.

FRANÇOIS Florence, Ingénieure d'Études, Institut des Neurosciences de Montpellier, Inserm U1051, Montpellier.

FRESHNEY Ian, PhD, honorary Senior Research Fellow, Center for Oncology and Applied Pharmacology, part of the Cancer Research UK Beatson Laboratories, University of Glasgow, Royaume-Uni.

FROMENT Pascal, Chargé de Recherche INRA, UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Centre Val-de-Loire, Tours.

FROMIGUÉ Olivia, Chargée de Recherche Inserm, Inserm UMR 981, Université Paris Sud, Institut Gustave Roussy, Villejuif.

GABILLARD Jean-Charles, Chargé de Recherche INRA, UR1037, Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons, Rennes.

GABOYARD-NIAY Sophie, Chef de Projet R&D, Sensorion, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier.

GIRODON François, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service d'Hématologie Biologique, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon et Université de Bourgogne, Dijon.

GRUNWALD Didier, Ingénieur/Chercheur, iRTSV, CEA, Grenoble.

GUEDON Emmanuel, Chargé de Recherche CNRS, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, UMR CNRS 7274, ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy.

GUGUEN-GUILLOUZO Christiane, Directrice de Recherche Émérite, Inserm U991 Foie, Métabolisme et Cancer, Université de Rennes 1, Rennes.

GUYOT Mélanie, Docteur, IPMC, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice.

HABERT René, Professeur des Universités, UMR Inserm U967-CEA, Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Laboratoire de Développement des Gonades, Centre CEA, Fontenay-aux-Roses.

HOFFMANN-CUCUZ Pascale, Professeure des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Médecine de la Reproduction, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble ; Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Unité Mixte Inserm-CEA-UJF U1036, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, CEA-Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble.

JACQUIER-SARLIN Muriel, Maître de Conférences, Institut des Neurosciences, Inserm U836, Université Joseph Fourier, Grenoble.

KADRI Malika, Technicienne, Laboratoire Cancer Cycle cellulaire et Sénescence (CaCyS), FRE AGIM 3405 UJF-CNRS-EPHE, Université Joseph Fourier, Grenoble.

KLEMAN Jean-Philippe, Chercheur, Institut de Biologie Structurale, UMR 5075 CNRS/CEA, Université Joseph Fourier, Grenoble.

L'AZOU Béatrice, Maître de Conférences, Laboratoire de Biologie Cellulaire, UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université Bordeaux-Segalen, Inserm 1026 Bioingénierie Tissulaire, Bordeaux.

LAINÉ Michèle, Maître de Conférences, Institut des Neurosciences, Inserm U836, Université Joseph Fourier, Grenoble.

LARDEUX Bernard, Chargé de Recherche CNRS, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Inserm U913, Centre Hospitalier Universitaire Hôtel-Dieu, Nantes.

LEGENDRE Audrey, Ingénieure-Chercheur, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN), Laboratoire de Toxicologie Expérimentale, Fontenay-aux-Roses.

LEGUEN Isabelle, Chargée de Recherche INRA, UR1037, Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons, Rennes.

LEMAZURIER Emmanuel, Chef de Projets, Institut National de l'Environnement et des Risques (INERIS), Verneuil-en-Halatte.

LIVERA Gabriel, Professeur des Universités, UMR Inserm U967-CEA, Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Laboratoire de Développement des Gonades, Centre CEA, Fontenay-aux-Roses.

LOYER Pascal, Chargé de Recherche, Inserm UMR 991 Foie, Métabolisme et Cancer, Hôpital Pontchaillou, Rennes.

MAGUER-SATTA Véronique, Directrice de Recherche CNRS, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, U1052-UMR5286, Université Lyon 1, Lyon.

MALO Michel, Maître de Conférences, Université d'Évry-Val d'Essonne, et laboratoire IBISC (Informatique, Biologie Intégrative et Systèmes Complexes), Évry.

MARC Annie, Directrice de Recherche CNRS, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, UMR CNRS 7274, ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy.

MARIE Pierre, Directeur de Recherche CNRS, Inserm UMR 1132 et Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Hôpital Lariboisière, Paris.

MARTEL-FRACHET Véronique, Maître de Conférences, École Pratique des Hautes Études, Laboratoire Cancer Cycle cellulaire et Sénescence (CaCyS), FRE AGIM 3405 UJF-CNRS-EPHE, Grenoble.

MAYNADIÉ Marc, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service d'Hématologie Biologique, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon et Université de Bourgogne, Dijon.

MAYOL Jean-François, Chief Scientific Officer, TransCure bioServices SAS, Biopark, Archamps Technopôle.

MODROWSKI Dominique, Chargée de Recherche Inserm, Inserm UMR 1132 et Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Hôpital Lariboisière, Paris.

MOULY Vincent, Directeur de Recherche CNRS, Centre de Recherche en Myologie, UMRS 974 UPMC, Inserm, FRE 3617 CNRS-AIM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris.

MOURAH Samia, Praticien Hospitalier, Service de Pharmacologie, Laboratoire de Pharmacologie-Génétique, Inserm UMRS 940, Hôpital Saint-Louis, Paris.

NEGRONI Elisa, Post-doctorante, Centre de Recherche en Myologie, UMRS 974 UPMC, Inserm, FRE 3617 CNRS-AIM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris.

NEUNLIST Michel, Directeur de Recherche Inserm, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Inserm U913, Centre Hospitalier Universitaire Hôtel-Dieu, Nantes.



OLMOS Eric, Maître de Conférences, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, UMR CNRS 7274, ENSAIA 7274, Vandœuvre-lès-Nancy.

OUDAR Olivier, Professeur des Universités, Inserm U698, Unité 1148 – LVTS, Université Paris 13, Paris.

PAGÈS Gilles, Directeur de Recherche, Institut Cancer et Vieillesse de Nice (IRCAN) UMR CNRS 7284/U Inserm 1081, Centre Antoine Lacassagne, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice.

PAIN Bertrand, Directeur de Recherche, Inserm U846, USC 1361, INRA, Bron.

PALDI Andras, Professeur des Universités, UMR Inserm U951 Immunologie Moléculaire et Biothérapies Innovantes, Généthon, Université d'Évry-Val d'Essonne, École Pratique des Hautes Études, Évry.

PELISSIER-ROTA Marjolaine, Doctorante, Inserm U836, Institut des Neurosciences, Grenoble.

PIERRES Anne, Directrice de Recherche, Laboratoire Adhésion Cellulaire et Inflammation, Inserm UMR1067, CNRS UMR 7333, Université Aix-Marseille, Marseille.

POMMIER Roxane, Doctorante, UMR Inserm 1052, CNRS 5286, Université Lyon 1, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon.

PRULIÈRE-ESCAPASSE Virginie, Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier, Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil ; Inserm U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale, Créteil.

PUEL Jean-Luc, Professeur des Universités, Institut des Neurosciences de Montpellier, Inserm U1051, Montpellier.

QUIGNOT Nadia, Chercheur – Chef de Projets scientifiques, LA-SER Analytica, Strategy & Decision Analytics, Paris.

ROBIN Marie-Anne, Directrice de Recherche, Inserm U991 Foie, Métabolisme et Cancer, Université de Rennes 1, Rennes.

ROCHAIS Francesca, Chargée de Recherche Inserm, IBDM UMR 7288, Marseille.

ROCHET Nathalie, Chargée de Recherche Inserm, FRE 3502 CNRS, Université de Nice, Faculté de Médecine, Nice.

ROLLI-DERKINDEREN Malvyne, Chargée de Recherche, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Inserm U913, Centre Hospitalier Universitaire Hôtel-Dieu, Nantes.

RONOT Xavier, Directeur d'Études, École Pratique des Hautes Études, Laboratoire Cancer Cycle cellulaire et Sénescence (CaCyS), FRE AGIM 3405 UJF-CNRS-EPHE, Grenoble.

ROUILLER-FABRE Virginie, Professeure des Universités, UMR Inserm U967-CEA, Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Laboratoire de développement des Gonades, Centre CEA, Fontenay-aux-Roses.

SALASC Fanny, Doctorante, Laboratoire de Pathologie Comparée des Invertébrés, École Pratique des Hautes Études, UMR1333 INRA - DGIMI, Université Montpellier 2, Montpellier.

SENÉ Sylvain, Professeur des Universités, CNRS, LIF, UMR7279, Université d'Aix-Marseille, Marseille ; Institut Rhône-alpin des systèmes complexes, IXXI, Lyon.

SILBERZAN Pascal, Directeur de Recherche, Laboratoire Physico-chimie Curie, UMR 168, Institut Curie, Centre de Recherche CNRS UPMC, Paris.

STOCKHOLM Daniel, Maître de Conférences, UMR Inserm U951 Immunologie Moléculaire et Biothérapies Innovantes, Généthon, Université d'Évry-Val d'Essonne, École Pratique des Hautes Études, Évry.

SUPIRAMANIAN-THURASAMY Ajitha, Post-doctorante, Laboratoire CRRET, Université Paris-Est Créteil.

TALARMIN Hélène, Maître de Conférences des Universités, Laboratoire de Physiologie, IUT Génie biologique, Faculté de Médecine, Brest.

THEPOT Amélie, Chef de Projet R&D, Laboratoire des Substituts Cutanés, Banque de Tissus et Cellules, Hôpital Édouard Herriot, Lyon.

VALCOURT Ulrich, Maître de Conférences, UMR Inserm 1052, CNRS 5286, Université Lyon 1, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon.

VALLESE Denis, Doctorant, Centre de Recherche en Myologie, UMRS 974 UPMC, Inserm, FRE 3617 CNRS-AIM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris.

VENAIL Frederic, Praticien Hospitalier Universitaire, Institut des Neurosciences de Montpellier, Inserm U1051 ; Service ORL, Centre Hospitalier Universitaire Gui-de-Chauliac, Montpellier.

VIGOUROUX Clotilde, Pharmacienne, Banque de Tissus et Cellules, Hôpital Édouard Herriot, UMR5305, IBCP, Lyon.

VINCENT David, Post-doctorant, Beatson Institute for Cancer Research, Wnt signaling and Colorectal Cancer, Glasgow, Royaume-Uni.

VITTEZ Daniel, Chargé de Recherche Inserm, Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Unité Mixte Inserm-CEA-UJF U1036, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, CEA-Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble.



# Sommaire

<b>Liste des collaborateurs</b> .....	V
<b>Préface</b> M. ADOLPHE .....	XXV
<b>Avant-propos</b> G. BARLOVATZ-MEIMON, X. RONOT .....	XXVII
<b>Liste des abréviations</b> .....	XXIX
<b>Chapitre 1. Origine de la culture de cellules</b> I. FRESHNEY .....	1

## **PARTIE I** **BIOLOGIE ET ENVIRONNEMENT DES CELLULES EN CULTURE**

<b>Chapitre 2. Adhésion cellulaire</b> A. PIERRES, P. BONGRAND .....	13
Introduction .....	13
Les interactions adhésives régulent la quasi-totalité des fonctions cellulaires .....	13
Le comportement des cellules adhérentes dépend très significativement des propriétés physiques du substrat ..	14
L'adhésion cellulaire repose essentiellement sur de très nombreux récepteurs membranaires spécialisés .....	15
Méthodes d'étude de l'adhésion cellulaire : aspects généraux .....	17
Propriétés mécaniques et/ou cinétiques de l'adhésion .....	17
Étude morphologique de l'adhésion cellulaire .....	20
Régulation de l'adhésion cellulaire .....	24
Régulation de la répulsion stérique .....	24
Régulation de l'expression des récepteurs d'adhésion .....	24
Régulation fonctionnelle des récepteurs d'adhésion : modifications conformationnelles .....	24
Microagrégation (clustering) .....	24
Localisation des récepteurs sur les extrémités des protrusions membranaires .....	25
Modification de l'interaction des récepteurs d'adhésion avec le cytosquelette d'actine .....	25
Contrôle du détachement des cellules adhérentes .....	25
Modifications conformationnelles .....	25
Rupture mécanique des liaisons .....	26
Diminution de la rigidité membranaire .....	26
Protéolyse de molécules impliquées dans l'adhésion .....	26
Insertion d'éléments répulsifs dans la zone d'adhésion .....	26
Comment l'adhésion à un substrat peut-elle modifier le comportement cellulaire ? .....	26
Signaux engendrés par l'occupation des récepteurs d'adhésion .....	26
Regroupement de quelques molécules susceptibles d'interagir pour produire un signal .....	27

Génération de forces et mécanotransduction à l'interface cellule-substrat. ....	27
Contrôle de l'organisation du cytosquelette .....	28
Importance de l'étalement : effet de la forme sur le comportement cellulaire .....	28
Conclusion .....	29
<b>Chapitre 3. Variabilité non génétique dans les cultures cellulaires</b> G. CORRE, D. STOCKHOLM, A. PALDI ...	33
Historique .....	33
Cellule unique et population cellulaire .....	34
Fluctuations d'origine interne .....	35
Bruit moléculaire : la loi des petits nombres .....	35
Bruit structural : compartimentation subcellulaire et dynamique chromatinienne .....	36
Stochasticité expression génique .....	37
Fluctuations d'origine externe .....	40
Milieu nutritif et métabolisme cellulaire .....	40
Organisation spatiale des cellules <i>in vitro</i> .....	40
Variations liées aux manipulations expérimentales .....	41
Maîtriser les fluctuations .....	42
Conclusion .....	42
<b>Chapitre 4. Aspects physiques des comportements collectifs épithéliaux</b> O. COCHET-ESCARTIN, P. SILBERZAN .....	45
Structure et régulation du tissu épithélial .....	45
Mouvements collectifs de tissus <i>in vivo</i> .....	47
Étude de mouvements collectifs de tissus <i>in vitro</i> .....	48
Techniques expérimentales .....	48
Particularités du mouvement collectif .....	50
Polarisation du mouvement collectif .....	54
Études théoriques de la migration collective .....	55
Modèles continus .....	55
Modèles discrets .....	55
Conclusion .....	58
<b>Chapitre 5. Défis de la culture de cellules animales en bioréacteur</b> A. MARC, E. GUEDON, E. OLMOS, F. BLANCHARD, I. CHEVALOT .....	61
Principaux réacteurs en mode agité .....	61
Différents modes d'alimentation du milieu de culture .....	61
Systèmes de culture placés en incubateur .....	62
Bioréacteurs contrôlés .....	62
Influence de l'environnement cellulaire .....	63
Du milieu avec sérum jusqu'au milieu chimiquement défini .....	63
Méthodes de criblage de la formulation du milieu de culture .....	64
Éléments nutritifs solubles .....	64
Gaz dissous .....	65
Paramètres physicochimiques .....	65
Culture des cellules sur microporteurs .....	65
Différents types de supports .....	65
Principaux paramètres opératoires .....	65
Expansion cellulaire en système de culture agité .....	67
Analyses et régulations en ligne sur le bioréacteur .....	67
Mesure et régulation de la température .....	67
Mesure et régulation de la concentration en oxygène dissous .....	67

Mesure et régulation de la concentration en dioxyde de carbone dissous. ....	68
Mesure et régulation du pH. ....	69
Nouveaux outils d'analyse en ligne. ....	69
Analyse des cellules. ....	69
Analyse des composés solubles. ....	69
<b>Chapitre 6. Sphéroïdes</b> O. OUDAR. ....	71
Définition, historique, intérêts, avantages. ....	71
Obtention, caractérisation des sphéroïdes. ....	72
Protocoles. ....	75
Formation des sphéroïdes. ....	75
Transfert et culture cellulaire. ....	75
Conclusion. ....	76
<b>Chapitre 7. Dynamique du microenvironnement cellulaire</b> A. SUPIRAMANIAN, A. CARTIER-MICHAUD, C. CHARRIÈRE-BERTRAND, M. MALO, G. BARLOVATZ-MEIMON. ....	77
De la matrice extracellulaire au microenvironnement. ....	77
Le microenvironnement évolue avec le dialogue cellules/matrice. ....	78
Le « matrisome » humain. ....	79
La matrice extracellulaire, une combinatoire aux rôles pléiotropiques. ....	83
Un acteur exemplaire du dialogue cellule/matrice, la fibronectine. ....	83
La dynamique du microenvironnement constitue un système complexe. ....	86
Une dynamique particulière : le microenvironnement tumoral. ....	87
Exploration de toutes ses facettes. ....	87
Les nouveaux venus du microenvironnement : exosomes, microvésicules et autres « débris cellulaires ». ....	94
L'exemple de PAI-1, frein ou promoteur de la migration cellulaire et acteur direct de la transition mésenchymo-amaeboïde (MAT). ....	96
Conclusion. ....	102
Annexes. ....	110
<b>Chapitre 8. Bonnes pratiques de culture cellulaire</b> S. CURTET-BENITSKI, A.-L. FILIPUTTI-GILQUIN. ....	118
Matières premières. ....	118
Cellules. ....	119
Milieux, additifs et réactifs. ....	120
Consommables. ....	121
Matériels. ....	121
Postes de sécurité microbiologique. ....	121
Incubateurs à CO <sub>2</sub> . ....	122
Centrifugeuses. ....	123
Autres équipements. ....	123
Main-d'œuvre. ....	123
Formation du personnel. ....	123
Hygiène et sécurité. ....	124
Milieu : le laboratoire de culture cellulaire. ....	124
Niveaux de sécurité biologique et organisation. ....	124
Désinfection des locaux. ....	124
Évacuation des déchets. ....	124
Méthodes. ....	125
Conclusion. ....	126
Annexe. ....	127

<b>Chapitre 9. Cryopréservation des cellules</b>	X. RONOT, M. KADRI, V. MARTEL-FRACHET	128
Aspects physicochimiques de la formation des cristaux		128
Effets biophysiques de la formation de glace		129
Déshydratation cellulaire		129
Stress mécanique		129
Cristallisation intracellulaire		129
Choc thermique		129
Effets biologiques de la formation de glace		129
Agents cryoprotecteurs		131
Conditions de congélation		132
Matériel cellulaire		132
Identification des cryotubes pour l'archivage		132
Dispositifs de congélation		132
Cryoconservateurs		132
Congélation à -80 °C		133
Décongélation		133
Hygiène et sécurité		134
Congélation sans sérum		134
Conservation de courte durée		134
Transport des cellules		134
Conclusion		135
Annexe		136

## PARTIE II TECHNIQUES ET MÉTHODES

<b>Chapitre 10. Viabilité, cytotoxicité, génotoxicité</b>	A. BAEZA-SQUIBAN, K. ANDRÉAU	139
Méthodes d'étude de la viabilité cellulaire		140
Approches morphologiques		140
Méthodes de quantification de la viabilité cellulaire		140
Quantification des cellules mortes par la perte d'intégrité de la membrane plasmique		143
Méthodes utilisant l'exclusion de colorants vitaux		143
Méthodes utilisant la libération d'enzymes intracellulaires		143
Détection couplée des cellules mortes et des cellules vivantes		144
Cytotoxicité : étude spécifique des différentes voies de mort cellulaire		144
Classification des différents types de mort cellulaire		144
Détection et mesure spécifique de l'apoptose		144
Détection et mesure spécifique de la nécrose régulée		149
Détection et mesure spécifique de l'autophagie		149
Méthodes d'étude de la prolifération cellulaire		149
Dénombrement des cellules		149
Quantification des acides nucléiques		149
Incorporation d'un précurseur de l'ADN		150
Mesure de l'impédance électrique cellulaire		150
Étude du cycle cellulaire		150
Méthodes d'étude de la génotoxicité : le test des comètes		150
Conclusion		151

<b>Chapitre 11. Apport de la cytométrie en flux à la culture cellulaire</b>	J.-F. MAYOL.....	153
Principe de la cytométrie en flux.....		153
Réseau fluide.....		153
Système optique.....		153
Interface informatique.....		155
Différents types de marquages.....		155
Anticorps.....		155
Sondes.....		156
Transfection.....		156
Compensations de fluorescence.....		157
Interprétation des résultats.....		157
Régions et conditionnement des graphes.....		157
Pourcentages.....		157
Valeurs absolues.....		157
Intensités de fluorescence.....		158
Applications.....		159
Caractérisation phénotypique de sous-populations présentes.....		159
Mesure d'une intensité de fluorescence.....		159
Étude de la viabilité, de la mort cellulaire.....		159
Cycle cellulaire et prolifération.....		161
Fonctions cellulaires.....		163
Cellules souches.....		164
Biologie végétale.....		164
Microbiologie, virologie.....		165
Tri cellulaire.....		165
Nouveaux développements.....		165
<b>Chapitre 12. Imagerie cellulaire</b>	J.-P. KLEMAN, D. GRUNWALD.....	168
Préservation du vivant.....		168
Conditions de culture et maintien de l'homéostasie.....		168
Maintien de la température.....		169
Milieux de culture spécifiques, maintien du pH.....		169
Stress radiatifs, stress oxydatifs.....		170
Microscopes pour l'observation des cellules vivantes.....		170
Principes généraux de la microscopie.....		170
Microscopie optique.....		172
Microscopie de fluorescence.....		174
Dépasser les limites techniques de la résolution optique.....		185
<b>Chapitre 13. Transfert de gènes dans les cellules en culture</b>	P. LOYER.....	188
Définitions et historique du transfert de gènes.....		188
Transfert horizontal de gènes : le modèle bactérien.....		190
Captation d'ADN par les cellules d'eucaryotes en culture.....		190
Transfection d'ADN par des molécules polyanioniques : lipofection et polyfection.....		191
Transfection par procédés physiques.....		191
Transfert de gènes par infection virale : la transduction.....		192
Plasmides et génomes viraux modifiés pour le transfert de gènes.....		193
Transfection, transduction, oligonucléotides antisens et ARN interférence.....		195
Applications du transfert d'acides nucléiques dans les cellules en culture.....		195
Études de la fonction des gènes et des protéines.....		196
Établissement de lignées cellulaires recombinantes.....		202
Thérapie génique <i>ex vivo</i> .....		205
Choix méthodologique du transfert de gènes : quels outils pour quelles applications ?.....		205
Études de séquences régulatrices de la transcription et de la maturation des ARN.....		206



Localisation subcellulaire de protéines et identification de leurs partenaires. ....	206
Impact de la surexpression accrue et de l'extinction de gènes sur les cellules en culture .....	207
Établissement de lignées cellulaires recombinantes .....	208
<b>Chapitre 14. Méthodes informatiques en biologie</b> G. BARLOVATZ-MEIMON, S. SENÉ.....	217
Vision globale de la bio-informatique actuelle .....	218
Bio-informatique des séquences.....	218
Bio-informatique des structures .....	220
Bio-informatique des réseaux .....	221
Traitement de l'information.....	223
Une application traditionnelle : la phylogénie .....	224
Réseaux et modélisation .....	225
Modélisation théorique : le cas des réseaux d'automates.....	226
Modélisation appliquée.....	230
Conclusion.....	232
Annexes.....	235

### PARTIE III PHARMACOTOXICOLOGIE *IN VITRO*

<b>Chapitre 15. Voies de signalisation majeures impliquées dans la survie et la prolifération cellulaire</b> M. GUYOT, G. PAGÈS .....	241
Généralités sur le fonctionnement du couple ligands/récepteurs .....	241
Différents modes de transmission du signal .....	243
Récepteurs membranaires majeurs .....	244
Récepteurs à activité tyrosine kinase.....	244
Récepteurs couplés aux protéines G .....	245
Récepteurs des cytokines couplés à la kinase JAK .....	245
Récepteurs du <i>Transforming Growth Factor</i> $\beta$ (TGF $\beta$ ) .....	246
Voies de signalisation principales .....	247
Voie de l'AMP cyclique (AMPc) .....	247
Voie de la phospholipase C (PLC).....	247
Voie de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K).....	248
Voies des <i>Mitogen Activated Protein Kinases</i> (MAPK) .....	248
Modifications pathologiques .....	251
Convergence, divergence et interférence entre les différentes voies de signalisation.....	252
Conclusion.....	252
<b>Chapitre 16. De la cible à la molécule</b> S. MOURAH, F. CALVO .....	255
Angiogenèse tumorale .....	255
Mécanisme de l'angiogenèse tumorale.....	255
« Switch » angiogénique .....	255
Processus de l'angiogenèse tumorale .....	256
Les facteurs VEGF et leurs récepteurs (VEGFR) .....	257
VEGF (VEGF-A) .....	257
Récepteurs des VEGF.....	258
Activités biologiques du système VEGF/VEGFR .....	258
Les anti-angiogéniques .....	258
Objectifs de la thérapie anti-VEGF.....	259
Bevacizumab (Avastin®) .....	259

## PARTIE IV

### SYSTÈMES INTÉGRÉS ET CULTURES SPÉCIALISÉES

<b>Chapitre 17. Cellules souches</b> .....	263
Cellules souches et cellules souches embryonnaires B. PAIN.....	263
Totipotence et clonage .....	263
Pluripotence et cellules souches embryonnaires .....	264
Conclusion .....	267
La niche des cellules souches : enjeux conceptuels et technologiques pour l'étude des mécanismes normaux et tumoraux V. MAGUER-SATTA, N. ROCHET .....	269
Concepts et problématiques .....	269
Exemple de modélisation de la niche osseuse en culture 3D au sein d'un biomatériau .....	277
Conclusion générale et perspectives .....	285
<b>Chapitre 18. Ingénierie de la cornée : vers des modèles de plus en plus complexes</b>	
C. VIGOUROUX, O. DAMOUR, D. ABERDAM, C. AUXENFANS .....	291
Modèles 3D .....	291
Épithélium pluristratifié sans stroma .....	291
Épithélium avec stroma (hémi-cornée) .....	292
Cornée reconstruite complète .....	293
Sources potentielles de cellules capables de se différencier en cellules épithéliales de cornée humaine ...	294
Cellules souches embryonnaires humaines (hESC) .....	294
Cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPS) .....	294
<b>Chapitre 19. La peau reconstruite : un outil d'étude de pharmacotoxicologie et de création d'un modèle <i>in vitro</i></b> M. DOS SANTOS, A. THEPOT, O. DAMOUR, C. AUXENFANS .....	297
De la peau humaine aux équivalents cutanés : motivations ayant suscité leur développement .....	297
Modèles simples développés pour les tests d'innocuité .....	298
Modèles tridimensionnels et tests d'efficacité .....	299
Peaux reconstruites dans les matrices d'origine humaine ou animale .....	299
Peaux reconstruites dans une matrice biologique d'origine biosynthétique .....	300
Création de modèle <i>in vitro</i> : exemple du vieillissement .....	302
Modifications chimiques du support .....	302
Modifications biologiques .....	303
Conclusion .....	303
<b>Chapitre 20. Culture de cellules nerveuses</b> J. BROCARD, S. FRABOULET .....	305
Cultures primaires de cellules nerveuses .....	305
Phylogénie des cellules nerveuses .....	305
Neurones du système nerveux central .....	307
Neurones granulaires du cervelet : un modèle de migration .....	307
Autres cellules nerveuses en culture .....	308
Lignées cellulaires .....	308
Différenciation de cellules souches .....	309
Cas des cellules humaines .....	309
Modifications de cultures matures .....	309
Substrats et supports .....	311
Transfection/infection .....	312
Protocoles .....	313
Considérations générales .....	313
Culture de ganglions spinaux de poulet .....	314
Culture de neurones hippocampiques ou corticaux .....	314

Culture de neurones granulaires de cervelet .....	315
Co-cultures à partir de neurosphères .....	316
Transfection au phosphate de calcium .....	317
<b>Chapitre 21. Muscle squelettique : structure, origine et techniques de culture cellulaire</b>	
F. EDMOND-VOVARD, D. VALLESE, E. NEGRONI, V. MOULY .....	319
Structure et origine du muscle squelettique .....	319
Structure du muscle squelettique adulte : les fibres musculaires .....	319
Origine du muscle squelettique .....	320
Cellules satellites .....	322
Technique de culture cellulaire .....	325
Complexité de l'organe .....	325
Pourquoi utiliser les cultures de cellules ? .....	325
Cultures primaires .....	326
Lignées et immortalisation .....	327
Fibres isolées .....	329
Culture en trois dimensions (3D) .....	329
<b>Chapitre 22. Cellules cardiaques</b> F. ROCHAIS .....	333
Introduction .....	333
Structure et fonction du cœur .....	333
Développement du cœur .....	334
Cellule cardiaque .....	336
Cultures de cellules cardiaques .....	337
Quelques rappels historiques .....	338
Isolement et culture primaire de cellules cardiaques .....	338
Lignées cellulaires établies .....	342
Cardiomyocytes issus de cellules souches pluripotentes .....	343
Cultures de modèles complexes .....	344
Culture d'explants .....	344
Ingénierie tissulaire .....	344
Conclusion .....	344
<b>Chapitre 23. Culture de cellules endothéliales : applications à l'étude de l'angiogenèse</b>	
D. VITTET, S. BROUILLET, P. HOFFMANN, N. ALFAIDY, J.-J. FEIGE .....	347
Fonctions et propriétés physiologiques de l'endothélium vasculaire .....	347
Angiogenèse .....	348
Caractérisation des cellules endothéliales .....	348
Morphologie .....	348
Marqueurs cellulaires .....	349
Protocoles de préparations de cultures cellulaires endothéliales (méthodes d'isolement) .....	350
Cellules macrovasculaires. Exemple des cellules endothéliales humaines de la veine ombilicale (HUVEC) .....	351
Cellules microvasculaires. Exemple des cellules endothéliales humaines placentaires (HPEC) .....	352
Préparations commerciales .....	353
Intérêt des cultures de cellules endothéliales .....	353
Modèles 2D (bidimensionnels) d'angiogenèse .....	353
Modèles 3D (tridimensionnels) d'angiogenèse .....	354
Perspectives futures des cultures de cellules endothéliales .....	357
<b>Chapitre 24. Culture de cellules ostéoblastiques</b> P. MARIE, D. MODROWSKI, O. FROMIGUÉ .....	360
Origine et différenciation des ostéoblastes .....	360
Obtention de cellules ostéoblastiques .....	361
Cellules provenant du stroma médullaire .....	361

Cellules dérivées de l'os .....	362
Autres sources de cellules de type ostéoblastique .....	362
Ostéocytes .....	362
Lignées cellulaires .....	362
Utilisation des cellules ostéoblastiques .....	363
Études phénotypiques .....	363
Études phénotypiques <i>ex vivo</i> .....	364
Applications thérapeutiques des cellules ostéoblastiques .....	366
Analyse transcriptomique et protéomique .....	366
Thérapie cellulaire et génique .....	366
Conclusions et perspectives .....	368
<b>Chapitre 25. Système hématopoïétique</b> M. MAYNADIÉ, F. GIRODON .....	372
Hématopoïèse .....	372
Localisation de l'hématopoïèse .....	372
Cellules de l'hématopoïèse .....	372
Microenvironnement ou stroma médullaire .....	374
Facteurs régulateurs de l'hématopoïèse .....	375
Cultures de cellules hématopoïétiques .....	377
Cultures et érythropoïèse .....	377
Techniques de cultures .....	377
Les différents types de cellules cultivables .....	378
Exemples d'application des cultures cellulaires .....	378
<b>Chapitre 26. Hépatocytes et foie : modèles de référence et nouvelles approches stratégiques</b>	
M.-A. ROBIN, C. GUGUEN-GUILLOUZO .....	382
Cultures primaires d'hépatocytes issus de parenchyme hépatique adulte .....	383
Nécessité de déstructurer le tissu par digestion enzymatique : principe et bilan fonctionnel .....	383
Cultures primaires en monocouche (2D) .....	384
Modulation fonctionnelle par les facteurs environnementaux .....	385
Obtention et différenciation d'hépatocytes à partir de cellules souches .....	390
Cellules souches d'origine tissulaire adulte .....	390
Cellules souches embryonnaires (ESC) .....	390
Lignées cellulaires immortalisées et/ou transformées .....	393
Lignées d'hépatomes issues de tumeurs .....	393
Lignée humaine HepaRG .....	394
Lignées d'hépatocytes immortalisées .....	397
Innovations technologiques .....	397
Développement de microsystèmes ou « puces » à cellules .....	397
Cultures tridimensionnelles (3D) .....	398
Structuration de bioréacteurs avec fluidique associée .....	398
Applications des modèles hépatiques <i>in vitro</i> .....	398
Étude des fonctions hépatiques et de leur régulation .....	398
Étude du métabolisme et de la toxicité des xénobiotiques .....	399
Applications thérapeutiques .....	402
<b>Chapitre 27. Système intestinal</b> B. DUCAROUGE, M. PELISSIER-ROTA, M. ROLLI-DERKINDEREN, B. LARDEUX, M. LAINÉ, M. NEUNLIST, M. JACQUIER-SARLIN .....	409
Généralités sur le système digestif .....	409
Principales populations cellulaires de l'épithélium digestif .....	412
Cellules souches et organoïdes .....	414
Cellules prolifératives des cryptes (cellules non transformées) .....	416
Cellules épithéliales intestinales immortalisées .....	418

Cellules différenciées dérivées des villosités intestinales (cellules non transformées) .....	419
Lignées d'adénocarcinomes : modèles de la différenciation épithéliale .....	420
Régulation des fonctions de la barrière épithéliale .....	426
Par le mésenchyme et la matrice extracellulaire .....	426
Par le système nerveux entérique .....	433
Conclusion .....	440
<b>Chapitre 28. Cultures de cellules rénales</b> B. L'AZOU, J. CAMBAR .....	448
Rappels .....	448
Structure et fonctions du rein .....	448
Cibles des principaux xénobiotiques .....	451
Techniques des cultures cellulaires rénales .....	454
Modèles rénaux <i>in vitro</i> complexes .....	454
Différents types de cultures de cellules .....	456
Cultures de cellules glomérulaires .....	456
Cultures de cellules vasculaires corticales rénales .....	461
Cultures de cellules tubulaires .....	462
Cultures et complexification des modèles .....	467
Conclusion .....	469
<b>Chapitre 29. Culture de cellules épithéliales respiratoires</b> V. PRULIÈRE-ESCAPASSE, J. BOURBON .....	476
Organisation et fonctions des épithéliums du tractus respiratoire chez les mammifères .....	476
Description morphologique .....	476
Fonctions de l'épithélium mucociliaire des voies de conduction .....	479
Fonctions de l'épithélium alvéolaire .....	485
Modèles de culture primaire des cellules épithéliales des voies aériennes de conduction .....	487
Culture d'explants .....	487
Culture de cellules dissociées .....	487
Épithélium respiratoire humain reconstitué en xénogreffe .....	489
Modèles de culture primaire des cellules épithéliales alvéolaires .....	489
Isolement et purification .....	489
Maintien des pneumocytes en culture primaire : milieux et supports de culture .....	490
Lignées cellulaires épithéliales respiratoires .....	493
Lignées exprimant un phénotype cellulaire des voies de conduction .....	494
Lignées exprimant un phénotype cellulaire alvéolaire .....	495
Dérivation <i>in vitro</i> de cellules épithéliales respiratoires à partir de cellules souches .....	496
Applications des cultures de cellules épithéliales respiratoires .....	497
<b>Chapitre 30. Culture cellulaire de testicule et d'ovaire pour l'étude de la fonction de reproduction</b> P. FROMENT, N. QUIGNOT, A. LEGENDRE, V. ROUILLER-FABRE, G. LIVERA, J. DUPONT, R. HABERT, E. LEMAZURIER .....	502
Fonction de reproduction .....	502
Fonction testiculaire .....	502
Fonction ovarienne .....	508
Développement des gonades .....	512
Cultures cellulaires testiculaires .....	516
Modèles d'études fondamentales <i>in vitro</i> .....	516
Protocoles de culture de cellules testiculaires .....	518
Cultures cellulaires ovariennes .....	528
Modèles cellulaires .....	528
Protocoles de culture de cellules ovariennes .....	529

<b>Chapitre 31. Culture primaire de cellules pancréatiques exocrines de souris.</b>	
<i>Un outil indispensable pour la compréhension de l'étiologie de la carcinogénèse pancréatique</i> U. VALCOURT, R. M. POMMIER, D. F. VINCENT, L. BARTHOLIN	544
Biologie du pancréas	545
Culture des cellules acineuses dispersées ou d'acini dispersés	548
Isolement et culture d'acini dispersés	549
Considérations générales et précautions	549
Protocole	550
Analyse du phénotype des cellules pancréatiques primaires	555
Extraction des protéines	556
Extraction des acides ribonucléiques messagers	556
Analyse du phénotype des cellules	557
Protocoles complémentaires d'isolement et de culture des cellules acineuses pancréatiques	558
Concentration en acides aminés	558
Importance du pH	558
Méthode de Sphyris et al. (2005)	558
Méthode de Bläuer et al. (2011) : culture organotypique	559
Conclusion	561
<b>Chapitre 32. Culture de cellules de l'oreille interne de mammifère : de la physiopathologie à la thérapie</b> F. FRANÇOIS, S. GABOYARD-NIAY, J.-L. PUEL, F. VENAIL	564
Cultures de cellules de cochlée	564
Culture organotypique d'explant de cochlée	565
Culture organotypique de tranche de cochlée	565
Applications des cultures organotypiques de cochlée	566
Cultures primaires de vestibule	567
Les différentes techniques	568
Applications	569
Conclusion	570
<b>Chapitre 33. Caractéristiques moléculaires et propriétés fonctionnelles des cellules épithéliales mammaires</b> A. DI-CICCO, M.-A. DEUGNIER	572
Développement de la glande mammaire	572
Caractéristiques moléculaires des cellules épithéliales mammaires	572
Organisation et marqueurs spécifiques de l'épithélium mammaire	572
Fractionnement des cellules épithéliales mammaires et analyse par cytométrie en flux	573
Interactions paracrines	575
Propriétés fonctionnelles des cellules épithéliales mammaires	575
Potentiel régénératif et clonogénique des cellules basales/myoépithéliales	575
Activité clonogénique des cellules luminales	576
Conclusion	576
<b>Chapitre 34. Système adipocytaire</b> I. DUGAIL	578
Fonction des adipocytes	578
Modèles adipocytaires en culture	579
Pré-adipocytes de la fraction stroma-vasculaire du tissu adipeux	579
Lignées adipocytaires	580
Conditions de culture	580
Milieux de culture	581
Exigences en sérum	581
Repiquages	581
Induction de la différenciation, contrôles de qualité	582

Transfert de gènes .....	582
Intérêt des cultures d'adipocytes.....	582

## PARTIE V AUTRES MODÈLES

<b>Chapitre 35. Cultures primaires de cellules cardiaques de bivalves marins</b> G. DORANGE, M. DROGUET, H. TALARMIN .....	587
Espèces cibles.....	588
Choix du cœur.....	589
Anatomie et structure du cœur .....	589
Anatomie.....	589
Structure .....	589
Physiologie.....	592
Cultures primaires de cellules cardiaques.....	592
Prélèvement du cœur.....	592
Isolement des cellules cardiaques .....	594
Conditions de culture .....	595
Évolution des cultures.....	595
Croissance cellulaire .....	597
Capacité fonctionnelle des cellules cardiaques en culture.....	599
Essais de subculture.....	600
Cryopréservation des cellules isolées .....	601
Quelques exemples d'application des cultures en toxicologie.....	602
Effet de l'acide okadaïque sur les cellules cardiaques de palourde.....	602
Effet du tributylétain sur des cardiomyocytes d'huître.....	603
Effet du cadmium sur les cardiomyocytes d'huître .....	604
Conclusion.....	604
<b>Chapitre 36. Cultures primaires de branchies et de muscles de truite arc-en-ciel</b> I. LEGUEN, J.-C. GABILLARD.....	607
Conditions de culture cellulaire pour poissons téléostéens .....	607
Culture primaire de branchies de truite.....	607
Isolement des cellules branchiales.....	608
Culture sur support solide .....	609
Culture sur support perméable.....	609
Culture primaire de cellules satellites de truite.....	611
Méthode d'extraction des cellules satellites de truite .....	612
Caractérisation des cellules satellites en culture.....	612
<b>Chapitre 37. Enjeux fondamentaux et biotechnologiques de la culture des cellules d'arthropodes</b> F. COUSSERANS, Y. BOUBLIK, F. SALASC, M. CERUTTI, T. DUPRESSOIR.....	615
Pourquoi cultiver des cellules d'arthropodes ?.....	615
Génomique structurale .....	615
Génomique fonctionnelle.....	615
Modèles animaux .....	616
La culture de cellules d'arthropodes existe depuis le début du 20 <sup>e</sup> siècle.....	616
Culture de cellules d'arthropodes et agents infectieux .....	616
« Montée en puissance » des cultures de cellules d'arthropodes .....	617
Spécificités techniques .....	618

Production de protéines hétérologues et/ou recombinantes .....	620
Les différents systèmes .....	620
« Humanisation » des systèmes de production de protéines recombinantes en cellules d'insecte .....	623
Glycosylation dans les cellules d'insecte .....	623
« Humanisation » de la voie de biosynthèse des N-glycanes .....	624
Perspectives .....	626
Production de particules virales .....	627
Vaccins .....	627
Vecteurs .....	629
Conclusion .....	630

## PARTIE VI LÉGISLATION

<b>Chapitre 38. Aspects éthiques et réglementaires de l'utilisation des cellules, tissus et produits du corps humain : applications aux études <i>in vitro</i></b> I. FABRE, A. DE GUERRA .....	639
Législation : historique des lois relatives à la bioéthique .....	639
Les premières lois de bioéthique .....	639
Sanctions en cas d'infractions en matière d'éthique médicale .....	641
Organes .....	641
Prélèvements à fins scientifiques sur personnes décédées .....	642
Tissus, cellules, produits du corps humain et dérivés .....	642
Dispositions communes .....	642
Prélèvement et collecte .....	642
Autorisation des établissements effectuant les prélèvements .....	643
Préparation, conservation et utilisation des tissus, des cellules et de leurs dérivés .....	643
Recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires .....	644
Autres modèles cellulaires prospectifs issus d'éléments du corps humain : un cadre législatif moins contraignant .....	644
Cellules souches adultes .....	644
Cellules souches pluripotentes induites .....	645
Textes relatifs à l'importation et à l'exportation d'organes, de tissus et de cellules du corps humain .....	645
Pour les organes .....	645
Pour les tissus, cellules .....	645
Brevetabilité des éléments du corps humain et de ses dérivés .....	646
Directive européenne relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques .....	646
Encadrement juridique communautaire et international dans les différents domaines de la bioéthique .....	646
Droit communautaire .....	646
Droit international .....	647
Conclusion .....	647
<b>Postface – Considérations éthiques sur l'usage futur des cultures cellulaires</b> J. DEMONGEOT .....	649
<b>Index</b> .....	663