

ANNEXE I LA CULTURE CELLULAIRE

Cette technique offre de grands avantages, parce qu'elle fournit aux biologistes des quantités pratiquement illimitées de cellules présentant des caractères uniformes. Le procédé initial développé par Carrel et ses collaborateurs consistait à inclure de petits fragments de tissu dans des caillots de sang, qui étaient ensuite placés dans des chambres d'observation montées sur des lames de microscope. Au bout de quelques jours, des cellules en multiplication rapide commençaient à rayonner autour des fragments de tissu. Elles constituent la culture primaire. Pour pérenniser celle-ci, il suffisait de couper au moyen d'un scalpel le voile de cellules en prolifération et de transférer le prélèvement dans une autre chambre contenant du plasma frais. Tout cela réclamait des conditions d'asepsie rigoureuse, puisqu'à l'époque, il n'existait pas d'antibiotiques.

De nombreuses améliorations ont été apportées à la méthode initiale. Les chambres ont été remplacées par des boîtes à fond plat, d'abord en verre, puis en plastique. Si on s'abstient de les agiter, les cellules se fixent sur le fond et le recouvrent peu à peu d'un tapis continu. En fait, elles doivent adhérer à un substrat solide pour se multiplier activement. Lorsqu'elle devient confluyente, la culture cesse de croître, parce que les cellules reçoivent de leurs voisines un signal qui leur interdit de se diviser encore. Pour relancer la culture, il faut disperser les cellules et ensemercer une nouvelle boîte, ce qui constitue un passage. Le moyen le plus couramment utilisé consiste à traiter les cellules par une protéase (la trypsine), qui digère les protéines adhésives qui couvrent leur surface. Les repiquages peuvent se faire à des densités différentes, divisant le nombre de cellules dans une boîte par un facteur variable, mais pas trop élevé, parce qu'une dispersion excessive empêche les cellules de proliférer. Après quelques jours, la culture devient de nouveau confluyente (*fig. 1*).

Beaucoup d'efforts ont été déployés pour définir un milieu minimal permettant de soutenir la prolifération cellulaire. De la sorte, il devenait possible de préparer le même milieu dans tous les laboratoires et d'uniformiser les conditions de culture. Pour les cellules de mammifère, le milieu de base défini vers 1960 contient du glucose, sept ions inorganiques, huit vitamines et 13 des 20 acides aminés principaux que renferment les protéines. La plupart des cellules réclament pour adhérer au substrat et pour se diviser un apport de protéines sériques, de préférence d'origine foétale. Le sang du fœtus est riche en facteurs de croissance, indispensables à la survie et à la multiplication des cellules. On pense qu'en s'étalant sur le fond des boîtes, les cellules augmentent leur surface, ce qui leur permet de mieux capter les facteurs de croissance présents dans le milieu.

Pour mesurer la capacité de prolifération des cellules, on a souvent utilisé le protocole **3T3**, qui consiste à ensemercer une boîte de 5 cm de diamètre avec 3×10^5 cellules, puis à transférer (**T**) au bout de **3** jours le même nombre de cellules dans une nouvelle boîte. Peu importe que les cellules transférées soient déjà sénescents ou encore capables de se multiplier.

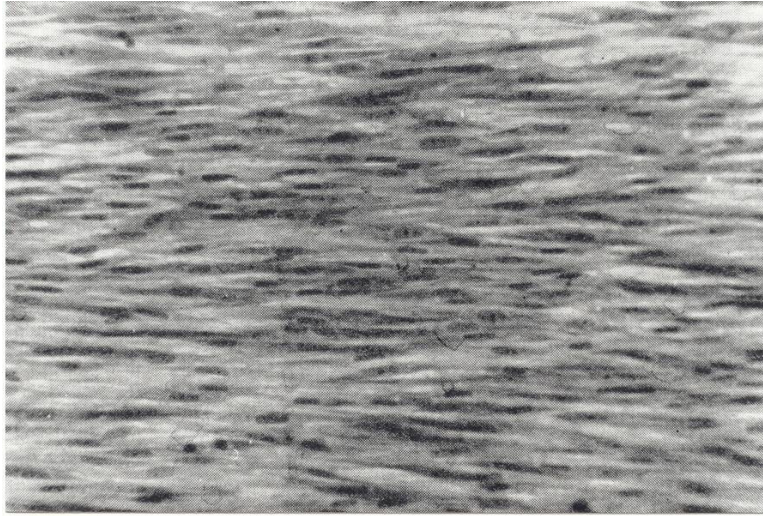


Fig. I. Aspect des fibroblastes humains en culture.

Ce cliché montre des cellules pulmonaires de fœtus après neuf mois de culture et 35 passages. Les cellules sont devenues confluentes trois jours après la dernière dispersion et s'étalent sur le fond de la boîte en tapis d'aspect fibreux. Les cellules devenues jointives cessent de se diviser parce qu'elles reçoivent des signaux cyostatiques émis par leurs voisines. Ce phénomène est appelé inhibition de contact.

BIBLIOGRAPHIE

Eagle H. Amino acid metabolism in mammalian cell cultures. *Science* 1959 **130**: 432-7.

Todaro GJ, Green H. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. *J Cell Biol* 1963; **17**: 299-313.