

Chapitre 3

Culture cellulaire et études fonctionnelles *in vitro*

Dr Laurent PELLETIER

Plan du cours

- La culture cellulaire

 - Introduction

 - Isolement et sélection des cellules

 - Cultures primaire et secondaire

 - Conditions de culture

 - Greffe de cellules *in vivo*

 - Transfert de gène

- Méthodes d'étude *in vivo*

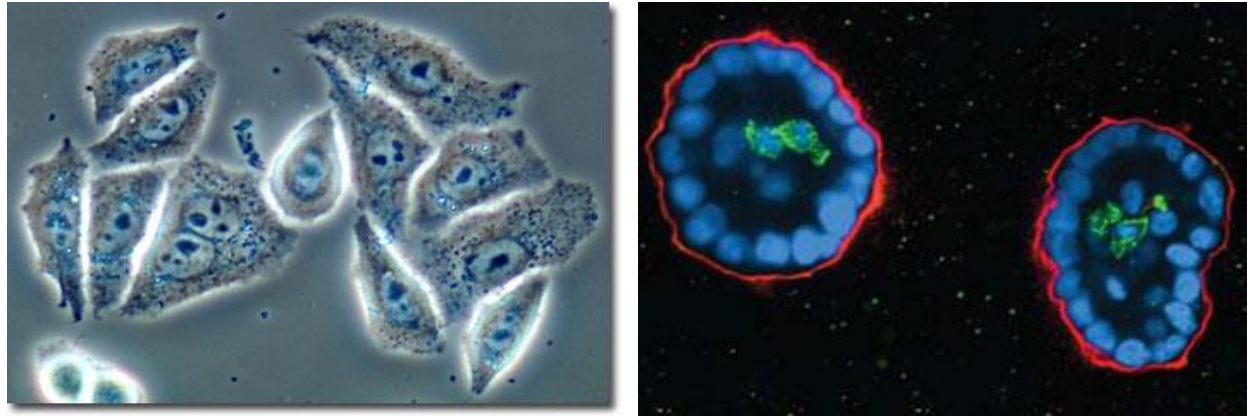
 - Gène rapporteur

 - Autres Organismes Génétiquement Modifiés (OGM)

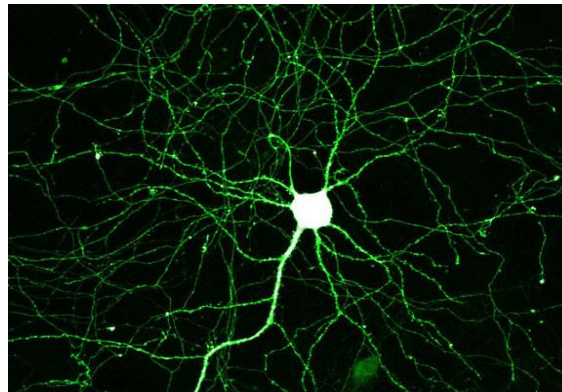
Objectifs pédagogiques du cours

Les cellules et les organismes pluricellulaires sont des modèles d'étude.

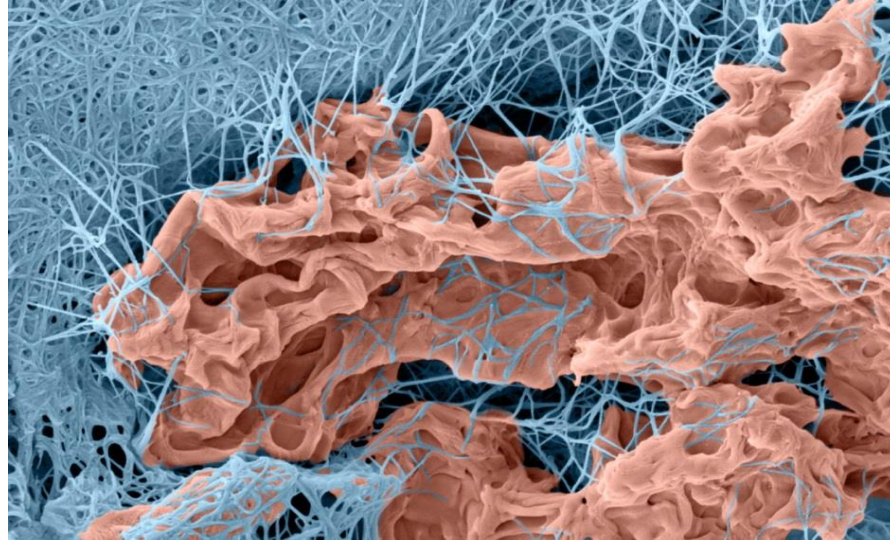
Introduction



Culture cellulaire 1907 : doctrine neuronale



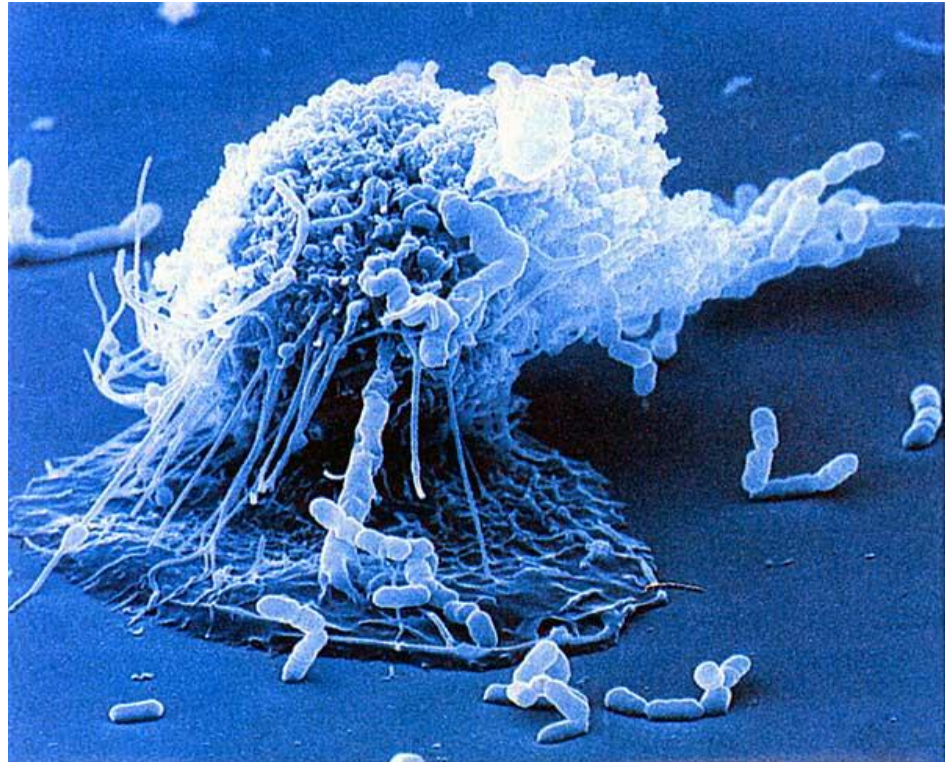
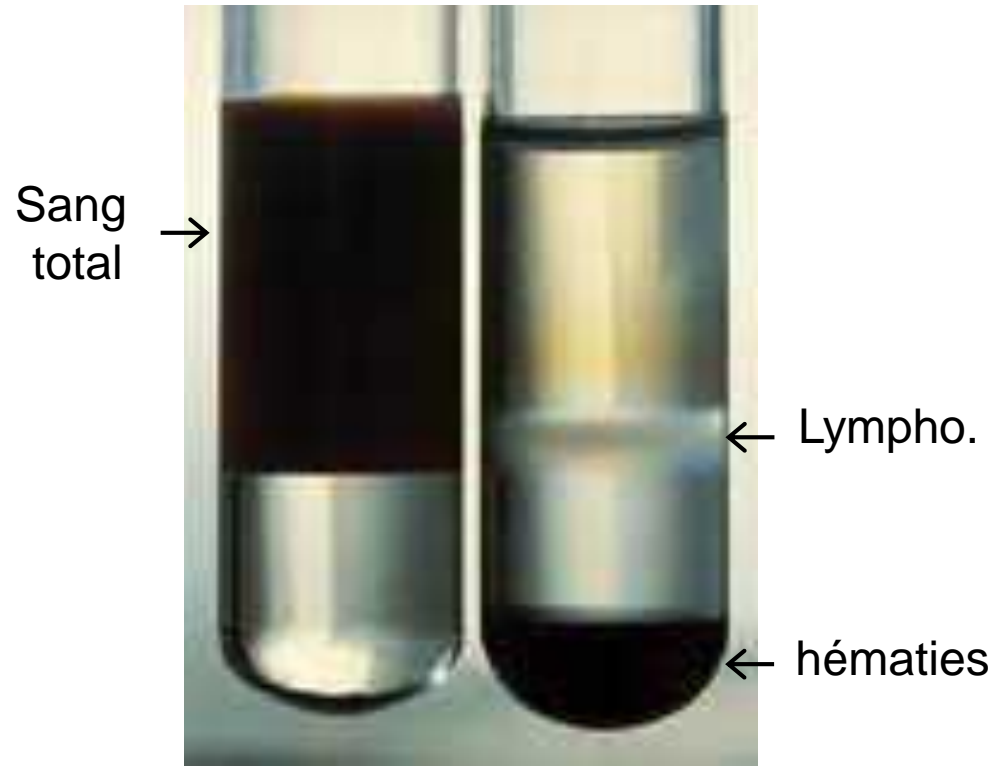
Isolement et sélection des cellules



Dissociation mécanique, enzymatique, EDTA

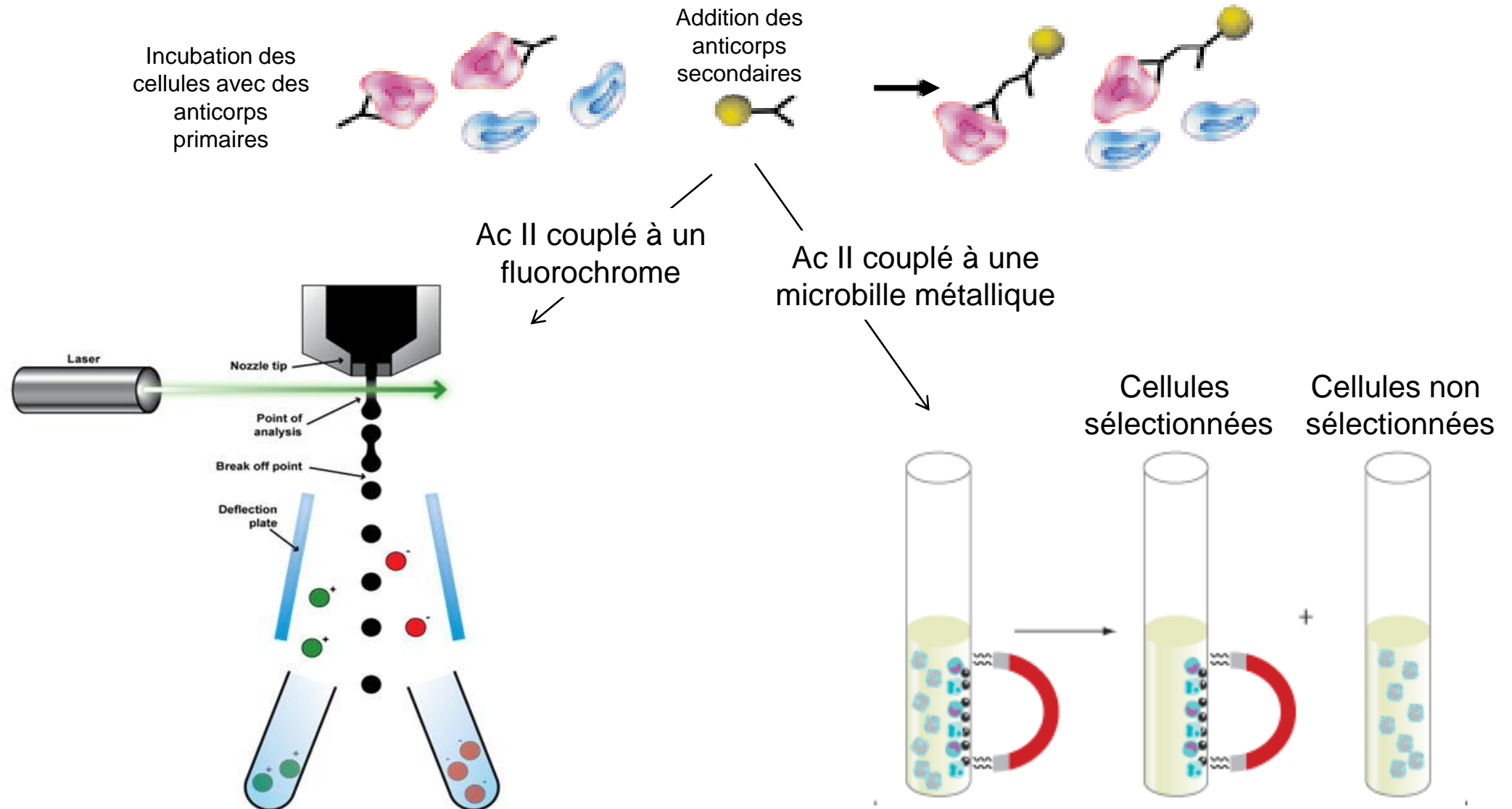
EDTA : Acide éthylène diamine tétracétique

Isolement et sélection des cellules



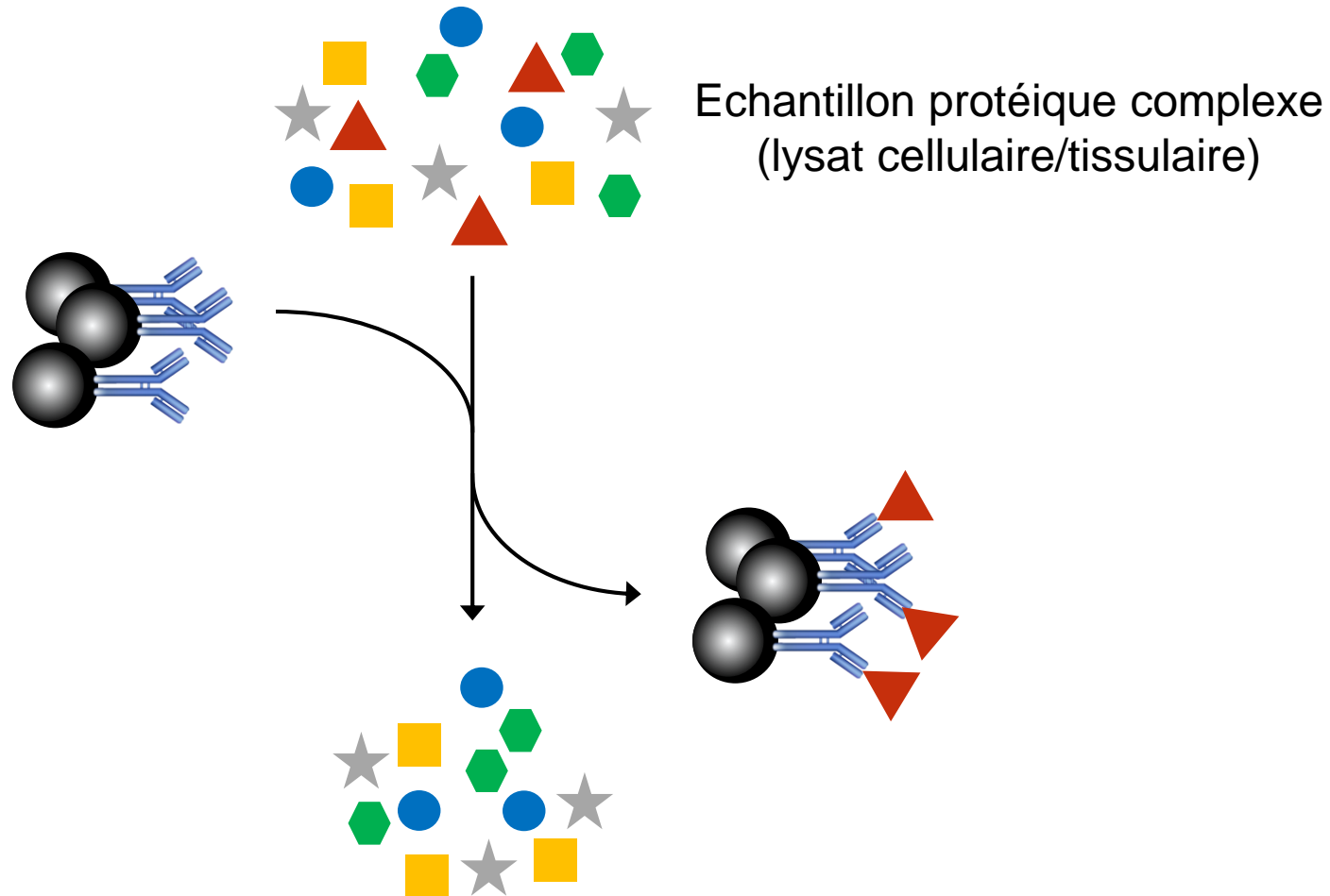
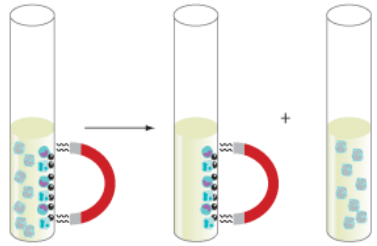
Macrophage

Isolement et sélection des cellules

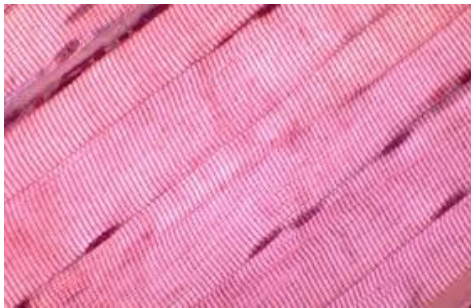


Isolement et sélection des cellules

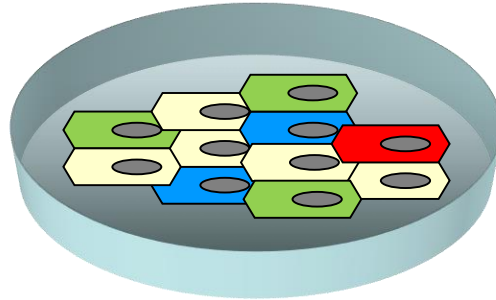
Application aux protéines : immuno-précipitation et co-immuno-précipitation



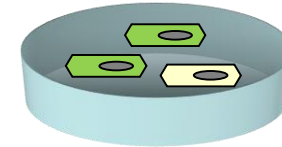
Cultures primaire et secondaire



Mise
en culture

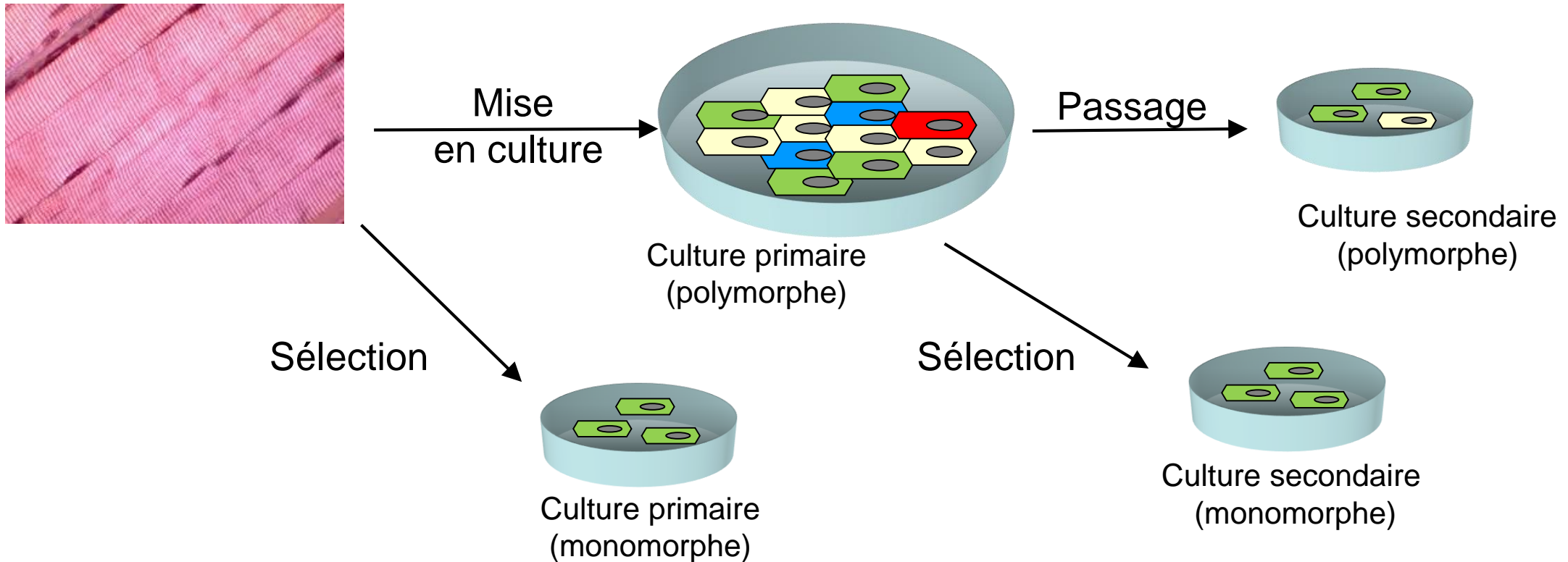


Passage

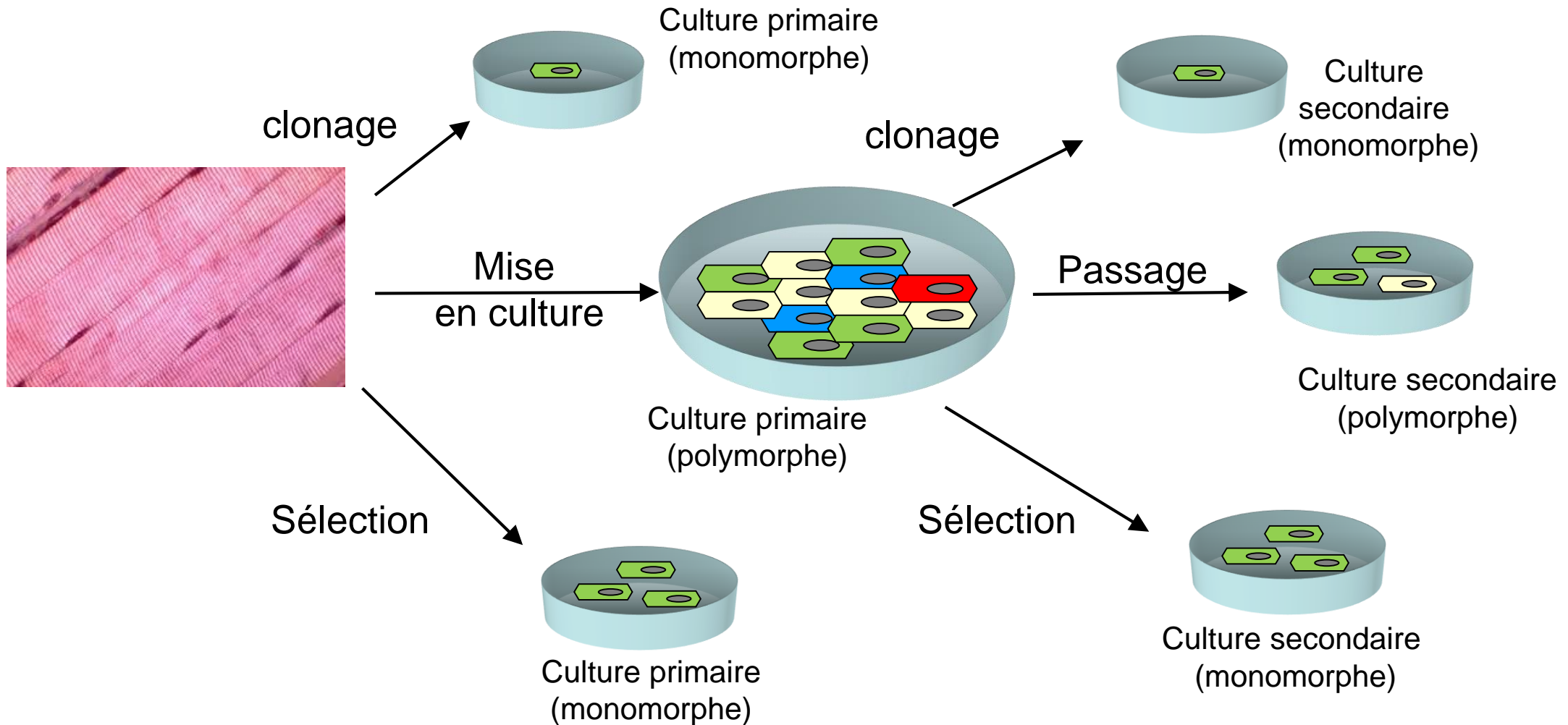


Culture secondaire
(polymorphe)

Cultures primaire et secondaire



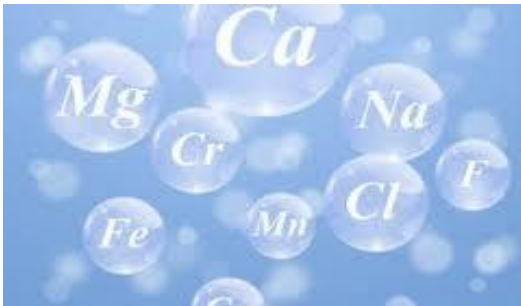
Cultures primaire et secondaire





Conditions de culture

Le milieu



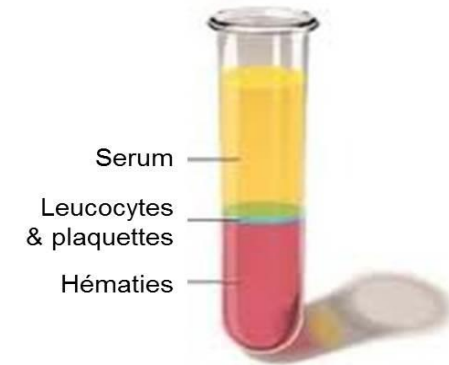
- 37° C, pH, sels, CO₂

- Milieu de culture

✓ Milieu de base

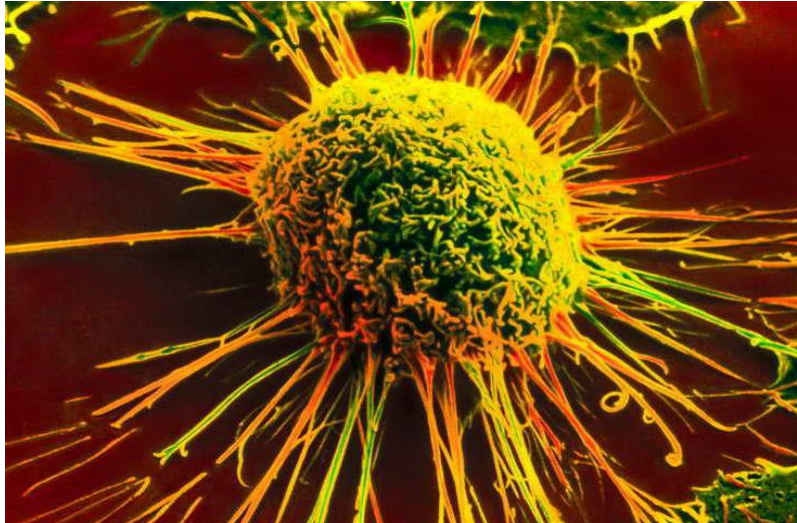
✓ +/- Sérum

✓ Facteurs de croissance



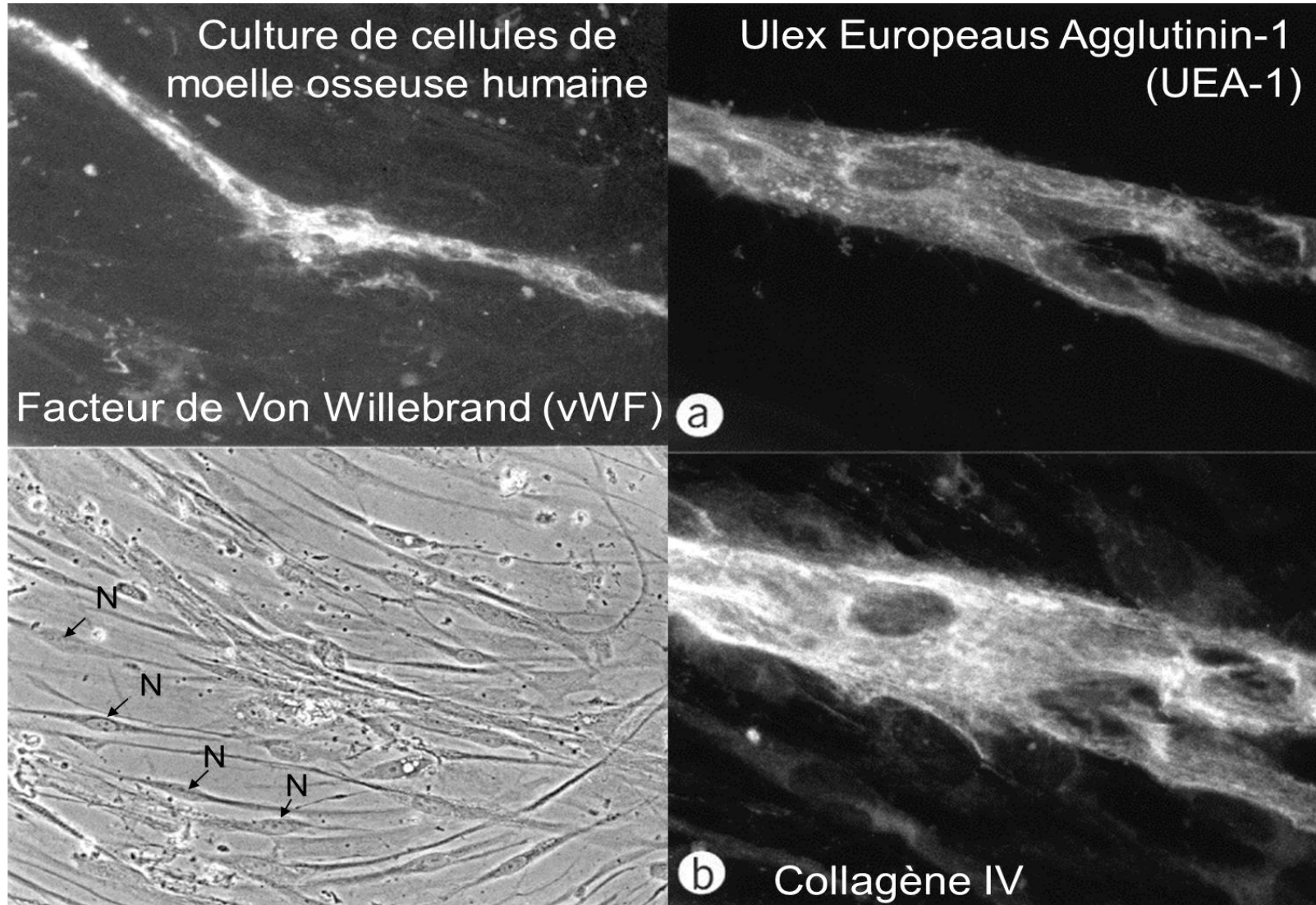
Conditions de culture

Support matriciel

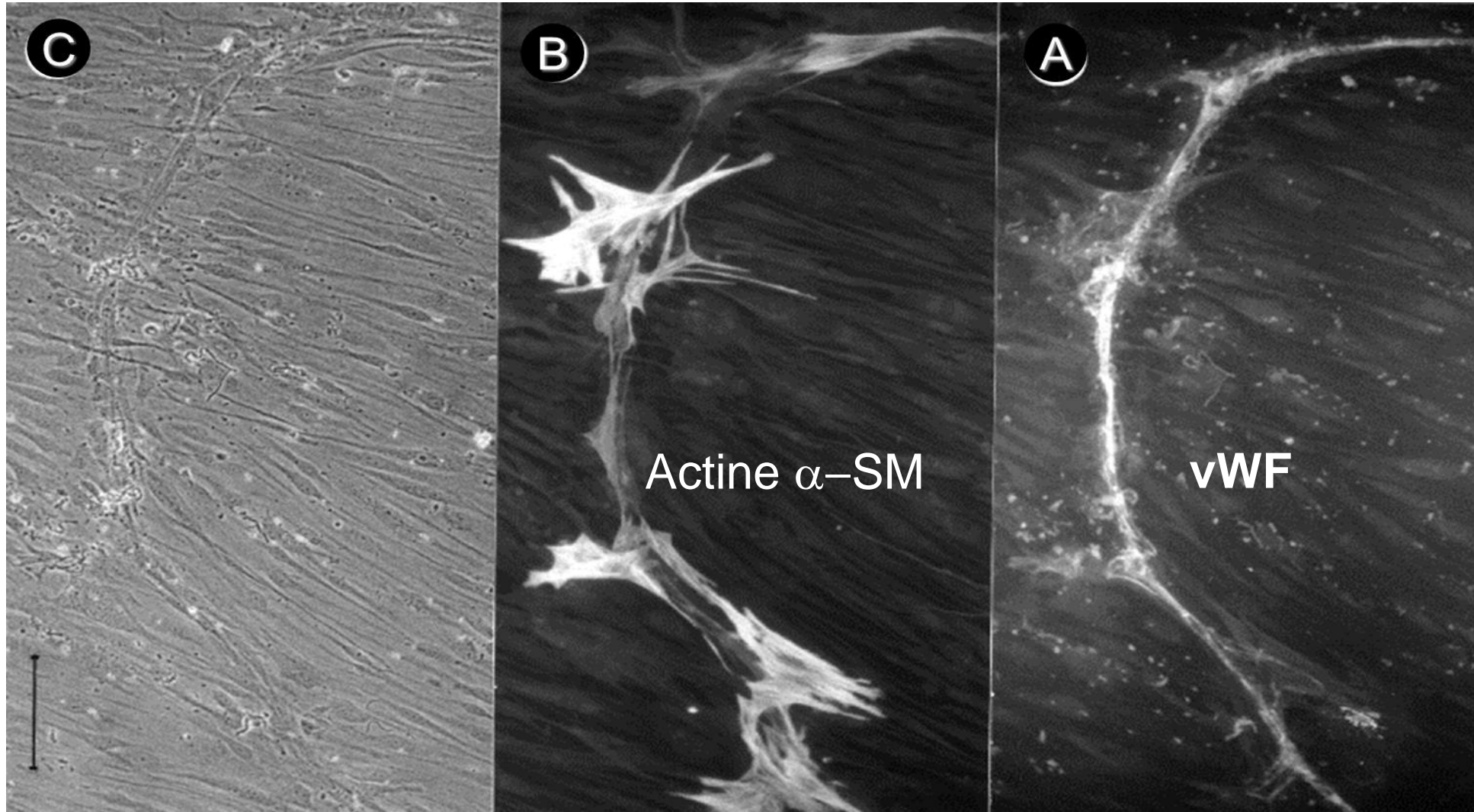


Adhérence =
Nécessité mécanique (cohésion tissulaire)
+
Signalisation

Exemple de culture cellulaire



Exemple de culture cellulaire



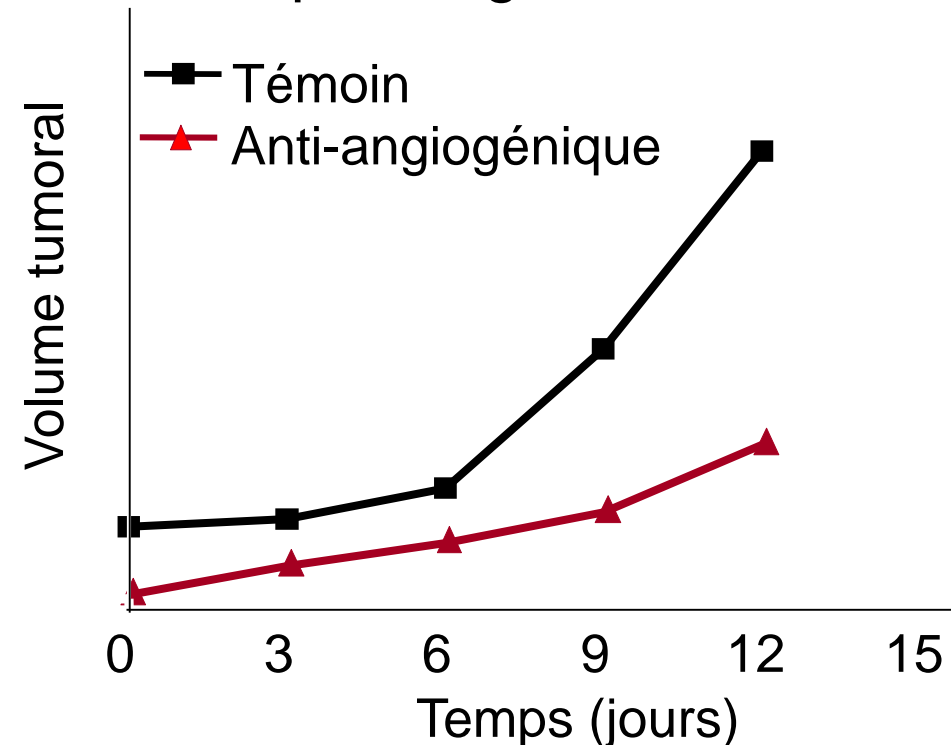
Greffe de cellules *in vivo*

Greffes de cellules

- cellules souches
- cellules tumorales

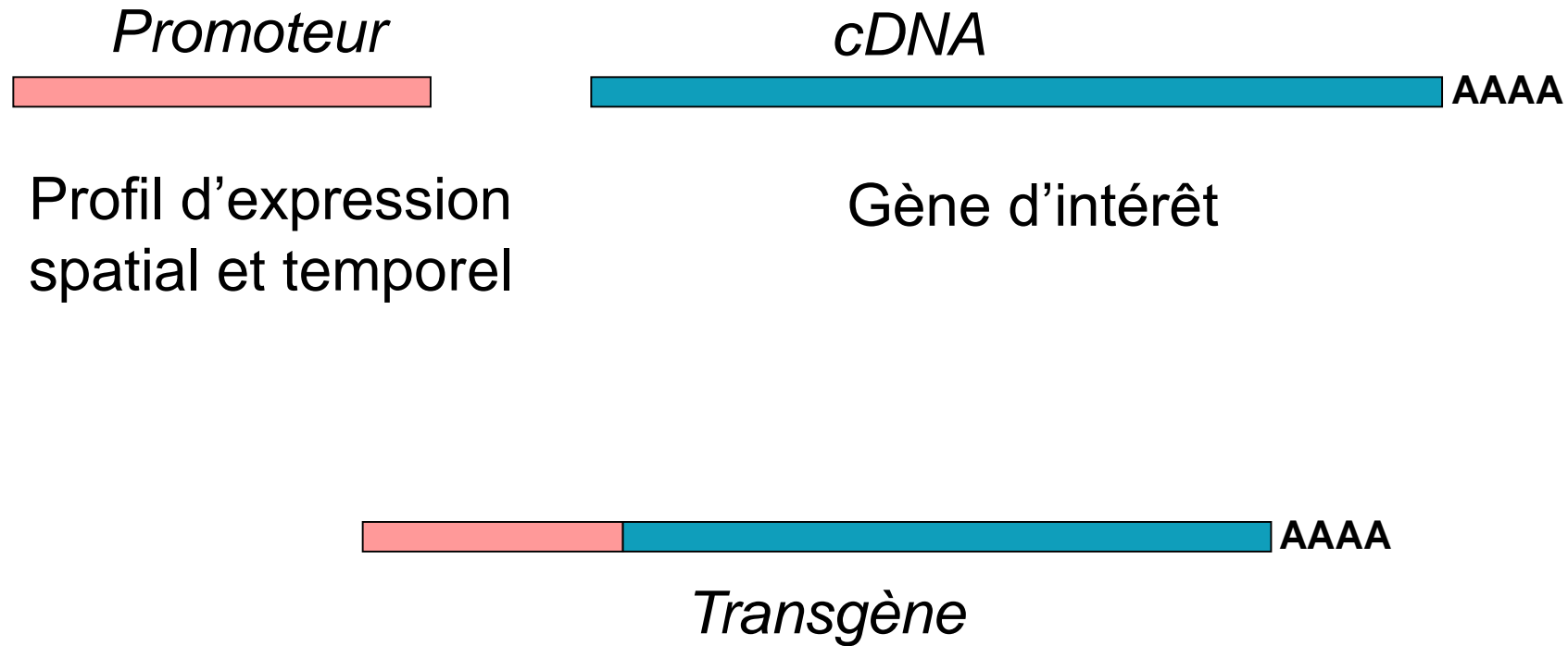


Exemple de greffe tumorale



Transfert de gène

Principe



Transfert de gène

Principe

Promoteur



- 1- Constitutif
- 2- Spécifique d'un tissu (Cerveau, foie, muscle ...)
- 3- Inductible (tétracycline, interféron...)

Transfert de gène

Principe



Gène d'intérêt

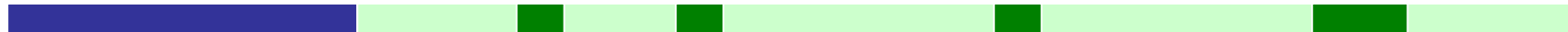
- 1- Gène endogène, séquence normale, gène endogène
- 2- Gène endogène, séquence mutée (fonction + ou -)
- 3- Gène exogène, fonction rapportrice

Transfert de gène

Gène rapporteur

Promoteur
du gène X

Gène X

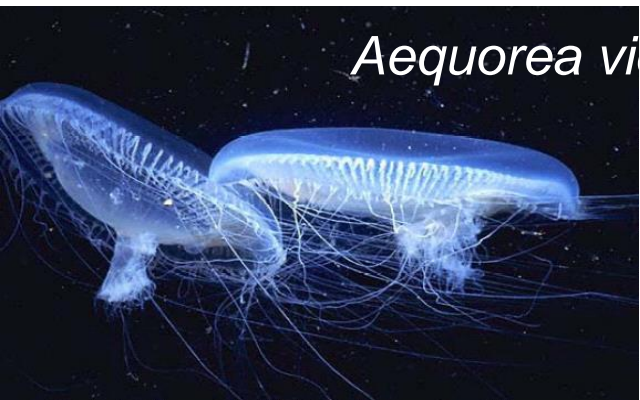


Promoteur
du gène X

Gène rapporteur



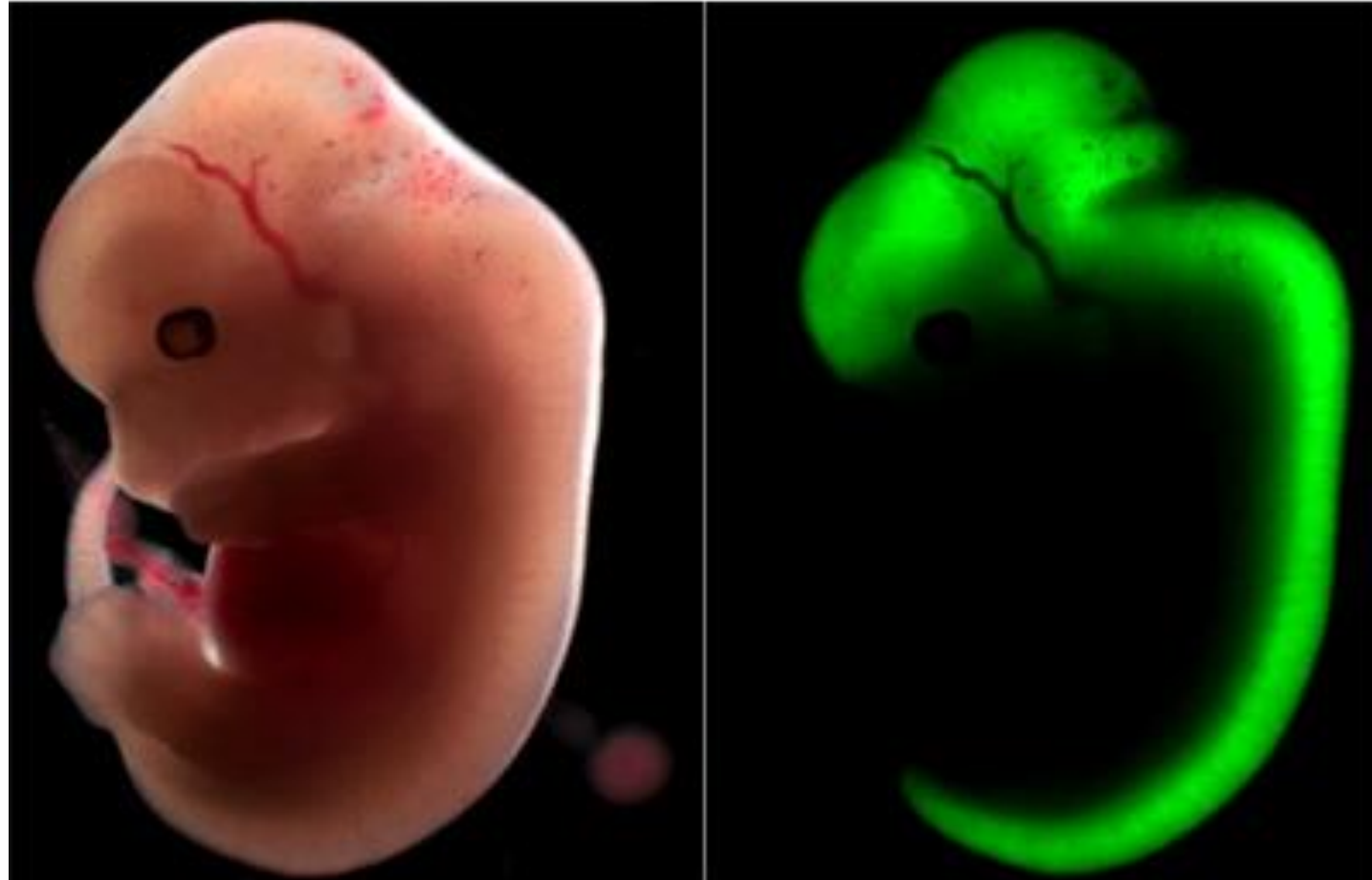
- β galactosidase
- Luciférase
- GFP
- autres....



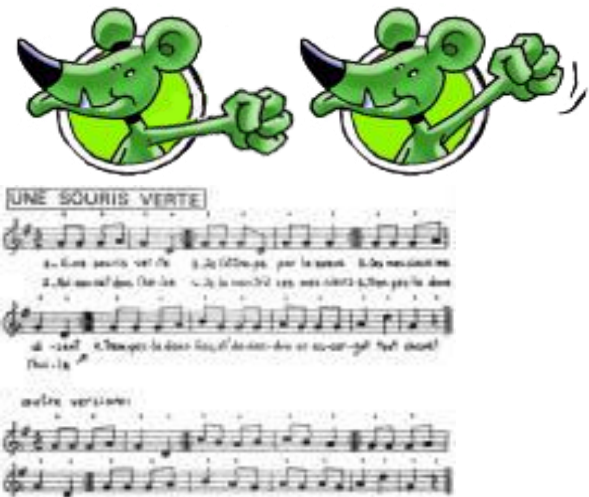
Aequorea vi

GFP : Green Fluorescent Protein

Gène rapporteur *in vivo*



Gène rapporteur *in vivo*



Autres OGM

Autres Organismes Génétiquement Modifiés (OGM)

- Souris *Knock-In* (KI) : Souris prédisposées au cancer du sein
- Souris *Knock-Out* (KO) : Souris « mucoviscidose »

Mentions légales

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Grenoble Alpes (UGA), et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.