



# Le Service Commun de Culture Cellulaire de l'UMR 8612



## Introduction

L'Institut Galien Paris Saclay – UMR CNRS 8612 – a pour objectif de concevoir et de développer des systèmes pharmaceutiques permettant la délivrance contrôlée et l'administration ciblée de différents principes actifs.

En effet, ceux-ci, une fois administrés par exemple par voie orale ou intraveineuse, se heurtent à des barrières biologiques (la molécule n'arrive pas à atteindre son lieu d'action) ou enzymatiques (le principe actif est dégradé rapidement). Il en résulte une diminution de son efficacité d'autant que le principe actif est distribué de façon aléatoire dans l'organisme entraînant souvent des effets toxiques. Les principes actifs véhiculés dans un vecteur de taille nanométrique sont protégés et peuvent être adressés directement à leur cible thérapeutique : on parle alors de **Nanomédicaments**.

De telles innovations thérapeutiques sont permises grâce à la rencontre de disciplines : pharmaciens galénistes, chimistes et physico-chimistes œuvrent ensemble à la formulation et à la caractérisation des nanomédicaments. **In fine, la biologie est une composante essentielle à la caractérisation des nanomédicaments en termes de cytotoxicité, d'internalisation cellulaire ou encore de potentiel inflammatoire.**

## Responsable du Service de Culture Cellulaire

Stéphanie DENIS, Assistante Ingénieure CNRS, est titulaire d'un DESS Génie Cellulaire. Elle est responsable de la plateforme et coordonne son fonctionnement général et son utilisation collective.

Son bureau est localisé en Tour D5, premier étage, pièce 115.

[stephanie.denis@universite-paris-saclay.fr](mailto:stephanie.denis@universite-paris-saclay.fr) / 06.15.39.24.93

## Les modalités d'accès

L'accès de la salle est réservé aux personnes ayant suivi la formation dispensée par Stéphanie Denis.

L'accès est contrôlé par un lecteur de badge et est autorisé de 8 heures à 21 heures.

Un système de réservation par internet permet de réguler et d'optimiser l'occupation des postes de travail. Les comptes et mots de passe sont fournis lors de la formation.

## La structuration de la plateforme

L'IGPS dispose de six postes de manipulation répartis dans deux laboratoires : salle DB83 et salle DH25. Ces deux entités seront rassemblées lors du déménagement sur le Plateau de Saclay.

Ces espaces de travail contrôlés répondent aux exigences de type 2 et sont conformes aux bonnes pratiques de laboratoire.

Les consommables, destinés uniquement à la culture cellulaire, sont stockés dans la salle DB-59.

## **La formation fondamentale et expérimentale**

Dans un premier temps, un entretien permet de définir le projet et de fixer les objectifs.

La formation théorique et pratique est ensuite dispensée par Stéphanie Denis, en français ou en anglais jusqu'à ce que les utilisateurs soient en position d'autonomie pour les manipulations de bases. De nombreux supports écrits (règlement intérieur, procédures, protocoles) facilitent l'apprentissage et doivent être consultés correctement et régulièrement.

L'accompagnement se fait aussi pour la conception des expériences et l'élaboration des protocoles adaptés à la finalité du projet. Les utilisateurs sont soutenus tout le long de leur projet pour le suivi du plan expérimental jusqu'à l'analyse des résultats.

## **Les missions et prestations du service de culture cellulaire**

C'est un plateau technique qui apporte aux chercheurs et jeunes chercheurs l'expertise et met à disposition le matériel et les moyens expérimentaux permettant la caractérisation biologique des nanomédicaments.

Il mutualise les connaissances fondamentales et techniques et les méthodologies pour conduire des projets sous forme de **participations classiques ou collaboratives, internes ou externes ou des prestations de service**.

Le service propose des modèles cellulaires classiques et les tests effectués permettent principalement d'évaluer la cytotoxicité des formulations.

Mais selon les besoins, d'autres systèmes cellulaires et approches expérimentales peuvent être configurés sur mesure.

## **Les modèles cellulaires :**

- Lignées cellulaires humaines ou murines, tumorales, saines
- Lignées fluorescentes, luminescentes
- Cultures primaires, commercialisées ou réalisées à partir d'exérèses
- Modèles de co-culture mimant la barrière intestinale
- Modèles mimant la barrière hémato-encéphalique
- Cultures en trois dimensions ou sphéroïdes qui peuvent être mono ou multicellulaires

## **Les méthodologies d'analyse *in vitro*:**

- Tests de cytotoxicité :**
  - MTT,
  - LDH
  - Rouge neutre
  - Alamar blue
  - .....

- Cytométrie en flux**
  - Détections de marqueurs cellulaires
  - Etude de l'internalisation de particules
  - Répartition des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire
  - Etude des cellules en apoptose (IP, annexine V)
  - Dosage des cytokines inflammatoires
    - BD Cytometric Bead Array (CBA) : Mouse Inflammation Kit 552364
    - BD Cytometric Bead Array (CBA) : Human Inflammation Kit 551811
  
- ELISA**
  - Mouse TNF $\alpha$  Uncoated Elisa Kit – Invitrogen 88-7324-88
  - Mouse IL-2 Uncoated Elisa Kit – Invitrogen 88-7024-88
  - Mouse IL-6 Uncoated Elisa Kit – Invitrogen 88-7064-88
  
- Analyses transcriptomiques** **Passerelle avec la Plateforme ACTAGen (TRANSPROT)**
  - Extraction des ARNs
  - Dosages et Contrôle Qualité des ARN
  - RT-qPCR
  
- Analyses protéomiques**
  - Extraction et dosages des protéines
  - Western Blot
  
- Analyses microscopiques** **Passerelle avec la Plateforme MIPSIT**
  - Marquage des cellules
  - Distribution cellulaire des nanoparticules
  
- Analyses *in vivo*** **Passerelle avec la Plateforme Animex**
  - Amplification des cellules
  - Injections aux animaux

## **Liste des principaux équipements**

- 5 Postes de Sécurité Microbiologique de classe II, EN 12469 NF : Thermo MSC Advantage
- 1 PSM de classe II, VBH 48 MP, EN 12469 NF, réservé à la manipulation des acides nucléiques
- 2 incubateurs Panasonic MCO-18AC-PE
- 1 incubateur Panasonic MCO-5M-PE
- 1 incubateur Thermo 8000 WJ (Hypoxie)
- 1 incubateur Narco 6101 C
- 1 incubateur LEEC Touch 190S
- 2 microscopes inversés Olympus CKK53
- 2 microscopes inversés NIKON Eclipse TS100
- 1 caméra Olympus EP50
- 1 centrifugeuse JOUAN CR4i
- 1 centrifugeuse Thermo Sorvall ST16R
- 1 centrifugeuse Eppendorf 5418
- 1 compteur de cellules Life Technologies Countess II FL

- 1 cytomètre BD Accuri C6, lasers 488 et 630 nm
- 1 lecteur de microplaques Labsystems Multiskan MS + Imprimante Epson LX300
- 1 lecteur de microplaques Labtech LT 5000 MS – AMPRS-900
- 1 agitateur 6 plaques Heidolph Titramax 1000

## **Sensibilisation aux Bonnes Pratiques de Laboratoire**

Une attention particulière est apportée sur :

- La qualité, la fiabilité, la traçabilité des expériences :**
  - Gestion rigoureuse des banques de cellules
  - Banques de données sur chaque type cellulaire
  - Test de détection des mycoplasmes : MycoAlert PLUS Mycoplasma Detection Kit - LONZA
- La reproductibilité des résultats**
  - Bonnes pratiques de Pipetage : pipetage inverse
  - Rédaction détaillée de protocoles standardisés ou adaptés selon les conditions expérimentales spécifiques
- Le respect des consignes d'Hygiène et Sécurité :**
  - Procédures strictes d'élimination des déchets biologiques
  - Port des EPI