

Conservation des cultures cellulaires

Les cellules sont conservées par la congélation selon divers protocoles dans de l'azote liquide en présence des agents cryo-protecteurs comme le DMSO (diméthylsulfoxyde) et le Glycérol (Le DMSO protège les membranes lysosomiales et empêche le relargage des protéines).

Les cellules peuvent alors rester dans l'azote liquide s'il n'y a pas de problème dans la présence d'azote liquide, mais si les cellules sont bien dans l'azote ça peut rester comme ça des années et quand on va décongeler 90% des cellules vont repousser si la congélation est relativement récente.

Pour la décongélation, on place les cellules à 37 ° très vite, on laisse même un petit bout de glaçon puis on met le contenu de l'ampoule dans du milieu de culture, suivie d'un lavage et d'un contrôle de viabilité

En résumé Les conditions de conservation des cultures cellulaires sont les suivantes :

1. Cryoconservation : congélation d'une suspension cellulaire :

- Sous hotte, conditions aseptiques
- Après dissociation à la collagénase, ou après culture cellulaire et passage.
- En présence d'un cryoprotecteur diméthylsulfoxyde (DMSO) ou glycérol) et de sérum de veau fœtal.
- Refroidissement progressif (4 °C, puis -20 °C, puis -80 °C) pour éviter la formation de cristaux intra-cellulaires et conservation en azote liquide (-195 °C)
- Traçabilité annotation des données concernant la congélation

2. Décongélation d'une suspension cellulaire :

- Sous hotte, conditions aseptiques
- A 37 °C dans milieu de culture
- Rinçage pour éliminer DMSO
- Poursuite de la culture en conditions habituelles
- Vérification du caryotype importante