

Mise au point d'un modèle de culture original de cellules musculaires squelettiques à partir de biopsies musculaires humaines

A. Florin (1) ; C. Lambert (1) ; C. Sanchez (1) ; J. Zappia (1) ; Y. Henrotin (1)
(1) musculoSkeletal Innovative Research Lab (mSKil), ULiège, Liège, Belgique

Introduction

L'objectif de ce travail était la mise au point d'un modèle de culture de cellules musculaires squelettiques primaires obtenues à partir de biopsies musculaires humaines.

Matériels et méthodes

Les biopsies musculaires ont été prélevées post-mortem au niveau du *vastus lateralis*. Les biopsies ont été digérées avec de la collagénase 1A 1mg/mL et de la dispase II 4,8mg/mL pendant 60 minutes à 37°C afin d'isoler les fibroblastes et les cellules satellites. Ensuite, les cellules satellites ont été purifiées selon deux méthodes : le pré-placage ou le tri cellulaire immunomagnétique en utilisant un anticorps anti-CD56, une glycoprotéine transmembranaire s'exprimant à la surface des myoblastes. Le rendement de ces méthodes de purification des cellules satellites a été évalué par FACS. Nous avons également comparé deux milieux de prolifération (10%FBS vs. 10%FBS+2%Ultrosor G (UG)) sur le paramètre du temps de dédoublement des cellules. Deux milieux de différenciation (2%FBS vs. 0,5%UG) ont été testés sur l'index myogénique qui correspond à la proportion de cellules ayant fusionnées pour former des myotubes. Cet index a été déterminé par la détection de la myosin heavy chain (MYH) par immunofluorescence. Enfin, nous avons étudié l'expression de plusieurs marqueurs de la différenciation des cellules musculaires au cours de la myogenèse par qRT-PCR et immunofluorescence.

Résultats

Les cellules provenant de la digestion de la biopsie contiennent des proportions variables de cellules satellites CD56+ (83,79±11,88%). La méthode de tri cellulaire immunomagnétique a permis d'enrichir plus l'extrait cellulaire en cellules satellites CD56+ (95,59±3,36%) que la méthode du pré-placage (81,29±7,76%). Le milieu de prolifération contenant 10% de FBS et 2% d'UG permettait d'obtenir un temps de dédoublement significativement plus court et une meilleure reproductibilité que le milieu de prolifération contenant seulement 10% de FBS (25,46±4,9h vs. 70,19±22,9h, p=0,0286). Le milieu de différenciation contenant du 0,5% d'UG permettait d'obtenir un meilleur index myogénique que le milieu contenant 2% de FBS. (55,97±18,63% vs. 59,09%±12,84%). Enfin, l'augmentation de MyoD1, myogenin et MYH témoignait de la transition phénotypique de nos cellules en phénotype myogénique.

Discussion

Le tri cellulaire immunomagnétique permet de mieux séparer les cellules satellites et les fibroblastes que la technique du pré-placage classiquement utilisé. Le substitut de sérum UG permet d'accélérer la prolifération cellulaire et d'améliorer la différenciation des myoblastes en myotubes. Les marqueurs MyoD1, myogenin et MYH sont de bons marqueurs de la différenciation myogénique des cellules satellites.

Conclusion

Ce modèle permet de purifier des cellules satellites musculaires à partir de biopsies musculaires humaines. Ces cellules peuvent être utilisées lors d'études *in vitro* afin d'étudier les mécanismes physiopathologiques des maladies musculaire et les mécanismes d'action de traitements.

Numéro : **000378**

Orateur : **A. Florin**

Orateur poster : **A. Florin**

Structure : **Structure 2**

Thème : **12 Pathologie musculo-tendino-ligamentaire**

Liste des mots-clés :

- biopsies musculaires humaines
- cellules satellites musculaires
- Modèle de culture

Conflit d'intérêts : **non**

Engagement de cession de droits

Mis à jour le : **lundi 31 août 2020 16:05**