

# Charte à l'usage des utilisateurs de la plateforme de culture de cellules humaines pluripotentes induites.

**Responsable de la plateforme :** Frédérique Magdinier ([frederique.magdinier@univ-amu.fr](mailto:frederique.magdinier@univ-amu.fr) ; Tél: 04 91 32 49 08)

**Personnels référents de la plateforme :** Claire El-Yazidi ([claire.elyazidi@univ-amu.fr](mailto:claire.elyazidi@univ-amu.fr)), Morgane Thomas ([morgane.thomas@univ-amu.fr](mailto:morgane.thomas@univ-amu.fr)), Natacha Broucqsault ([natacha.broucqsault@univ-amu.fr](mailto:natacha.broucqsault@univ-amu.fr))

## ✓ Missions de la plateforme

Production de cellules pluripotentes induites

Stabilisation post-reprogrammation

Stockage de cellules reprogrammées

Validation et contrôle qualité pré- et post-reprogrammation

Fourniture de cellules pluripotentes induites « contrôles »

Formation des utilisateurs

Aide à la différenciation cellulaire

En fonction du contexte, ces différentes prestations peuvent faire l'objet d'une facturation (voir plus bas pour détails).

Les demandes de reprogrammation doivent faire l'objet d'une demande préalable auprès de la responsable de la plateforme qui détaillera les prestations qui seront réalisées ainsi que les coûts et établira avec le personnel de la plateforme et le demandeur le calendrier de la prestation.

### ✓ Engagements

Dans le cadre d'une mise à disposition des équipements de la plateforme, l'utilisateur s'engage à :

- Laisser les surfaces de travail propres
- Respecter les consignes d'utilisation des hottes et du matériel de paillasse (centrifugeuse, microcentrifugeuse, bain marie, microscopes ...). Nettoyer et éteindre les appareils en fin d'utilisation.
- Respecter le calendrier de réservation des hottes
- Participer au ménage du P2 selon le planning établi
- Respecter les règles d'hygiène et sécurité en vigueur dans un laboratoire de confinement L2
- Signaler immédiatement tout problème ou dysfonctionnement au personnel de la plateforme (incident matériel ou humain)
- Fournir les surnageants de culture pour les tests mycoplasme mensuels.

### ✓ Accès à la plateforme

Seules les personnes ayant suivi une formation validée par le personnel de la plateforme sont habilitées à manipuler dans la pièce de culture « plateforme hiPSC ». L'utilisation de cette pièce de culture **est restreinte** à la culture de cellules humaines dérivées de cellules induites à la pluripotence ou destinées à la production de ces dernières.

### ✓ Formation

Une formation théorique et pratique est assurée par le personnel de la plateforme (responsable : Claire El Yazidi). Seul le personnel de la plateforme est habilité à assurer cette formation **qui est un préalable obligatoire** à l'accès à cette pièce. Cette formation ne peut pas s'appliquer aux stagiaires de courte durée (L3, M1). L'autorisation d'accès de façon autonome doit être validée par Claire El Yazidi et accompagnée de la signature de la charte.

✓ Sécurité

Il convient aux utilisateurs de la plateforme hPSC de se conformer au « Guide de travail dans un laboratoire de niveau de confinement L2 » disponible en annexe du règlement intérieur de l'Unité UMR\_S910.

✓ Réservation des Postes de Sécurité Microbiologique

La réservation est **obligatoire** sur l'agenda de réservation des hottes. La demande d'accès à cet agenda est à adresser à Claire El-Yazidi ([claire.elyazidi@univ-amu.fr](mailto:claire.elyazidi@univ-amu.fr)).

✓ Lignées cellulaires autorisées

La plateforme est dédiée à la production et à la culture des cellules **humaines** induites à la pluripotence et de cellules différenciées dérivées de ces mêmes cellules **humaines** induites à la pluripotence. Hormis les cellules utilisées pour les reprogrammations, l'introduction de tout autre type cellulaire est proscrite.

✓ Test Mycoplasme

Dans un souci de contrôle qualité, les cellules maintenues sur la plateforme doivent être dépourvues de traces de mycoplasmes. Un test est effectué mensuellement le premier vendredi de chaque mois (responsable : Natacha Broucqsault). A cet effet, un courriel est envoyé en début de semaine pour préciser la date et les modalités de récolte du milieu (récolte de 1mL de milieu de culture frais dans un eppendorf 1,5mL). Les résultats sont communiqués au personnel de la plateforme, sa responsable et aux équipes concernées si le test est positif.

**Ces tests sont obligatoires** et les contrevenants s'exposent à l'élimination des cellules voire à un refus d'accès sur la plateforme sauf s'ils s'engagent à fournir un test négatif la semaine suivante.

✓ Astreintes

Une astreinte est assurée les week-end et jours fériés par l'ensemble des utilisateurs de la plateforme. Un planning est établi à l'avance. Il convient aux utilisateurs de prévenir le plus rapidement le personnel référent de la plateforme, en cas d'absence

prévue ou de dernière minute afin de trouver un remplaçant dans les plus brefs délais.

Lors des astreintes, il est demandé à la personne responsable de réaliser :

- Une observation microscopique des cellules
- Un changement des milieux pour les cultures de cellules humaines induites à la pluripotence, des corps embryoides et des cellules en cours de reprogrammation.
- Un passage mécanique des cellules humaines induites à la pluripotence en cas de besoin.

Cependant, lors des astreintes, certaines tâches ne seront pas réalisées pour autrui, notamment :

- La préparation des boîtes de Matrigel (une quantité suffisante devra être préparées à l'avance)
- La congélation de cellules
- La réalisation de culots de cellules
- L'amplification des hIPSC..
- La préparation de milieu de culture
- Le changement de milieu des cellules différenciées ou en cours de différenciation doit rester **exceptionnel**. Dans ce cas, les milieux doivent être préparés à l'avance en quantité adaptée et annotés clairement.

✓ Fermeture de la plateforme et gestion des congés

La plateforme s'autorise deux semaines de fermeture annuelle :

- La semaine du 15 août
- La semaine entre les fêtes de fin d'année

Aucune astreinte ne sera assurée à ces périodes. Cependant la plateforme reste accessible aux utilisateurs.

En dehors de ces périodes un roulement est assuré par les personnels référents de la plateforme afin d'assurer une continuité de service.

Congés des utilisateurs : en cas d'absence, le personnel de la plateforme n'est pas tenu d'assurer le maintien des cultures ou des différenciations, même sur une courte durée. L'implication du personnel de la plateforme doit rester exceptionnelle et planifiée à l'avance.

✓ Gestion des stocks

Les stocks sont gérés par les référents de la plateforme. Le sas est régulièrement achalandé en consommables.

La mission principale de la plateforme est la production de cellules pluripotentes induites. Dans ce cadre, deux clones par lignée primaire reprogrammée sont isolés, maintenus jusqu'au 15<sup>ème</sup> passage (environ), caractérisés et congelés. Pour cela, certains consommables sont fournis par la plateforme.

Les consommables faisant partie du service plateforme sont :

- Les pipettes (25, 10, 5, 2 mL)
- Les boîtes de Petri (100mm, 60mm, 35mm)
- Lors des reprogrammations : les organcells
- Les tubes 1,5mL et 0,5mL
- Les tubes à centrifuger (15mL et 50mL)
- Les cryotubes
- Les pointes non filtrées (1000µL et 200µL)
- Les pointes filtrées (10µL, 20µL, 200µL, 1000µL)
- Les aiguilles (23G, 19G, 18G)
- Les seringues 1mL
- Les cellules de comptage 'Kova'
- Les scrapers
- Les gants, le papier essuie tout, l'aluminium, le désinfectant pour surface, l'éthanol, le savon

Les milieux de culture et liquides faisant partie du service plateforme :

- Le TesR
- Le milieu de congélation (Cryostem pour les IPS, SVF/DMSO pour les différenciations)

- La thiazovivin réservée exclusivement à la culture des hIPSCs. Lorsque la thiazovivin est nécessaire aux différenciations, celle-ci doit être achetée par les utilisateurs.
- Le FGF2 dans le cadre des reprogrammations (c'est à dire jusqu'à la fin de la stabilisation et de la caractérisation des cellules).
- Les enzymes de dissociation (accutase, dispase, relesR, trypsine)
- Le matrigel pour le coating des cellules hIPSCs

Le TesR est reconstitué et aliquoté au besoin. Cependant, si un utilisateur prend directement dans le stock (présent dans le laboratoire), il est tenu d'en informer les référents plateforme afin que le réapprovisionnement se fasse le plus rapidement possible en cas de besoin.

**Au delà de la reprogrammation, une participation sera demandée aux utilisateurs pour le maintien de leurs cellules (plastiques, milieux et réactifs de culture).** Il est également demandé aux utilisateurs d'avoir leurs stocks personnels pour les milieux de culture et les matrices nécessaires aux différenciations. De plus, les consommables spécifiques à certaines expériences (lames avec chambre de culture, lamelles, cellules de comptage ...) sont à la charge des utilisateurs.

✓ Stockage des consommables

Tout produit ouvert doit être annoté : date d'ouverture, initiales de la personne ayant ouvert le produit, date de décongélation.

Tout produit non annoté sera jeté par les référents de la plateforme, **sans préavis**.

Toute modification de produit (ajout de facteurs...) doit être clairement indiquée.

Le personnel doit être tenu informé des stocks afin d'anticiper les commandes et réapprovisionnement.

✓ Participation financière au fonctionnement de la plateforme

L'utilisation des équipements de la plateforme est gratuite. L'utilisation des consommables de la plateforme est restreinte aux étapes de reprogrammation (Cf ci dessus pour le détail). La plateforme bénéficie d'une labellisation AMU. Dans ce

cadre elle est autorisée à réaliser des prestations et à établir une facturation. En fonction des besoins, une étude préalable pourra être réalisée avec la responsable de la plateforme afin de chiffrer les besoins en consommables et établir un devis.

✓ Publications et valorisation

Dans un souci de valorisation de la plateforme, les utilisateurs s'engagent à mentionner le nom de la plateforme dans les remerciements de toutes leurs publications/communications scientifiques écrites et/ou orales.

Un ou des membres de la plateforme pourront être associés au rang d'auteur des publications/communications scientifiques écrites et/ou orales en cas d'implication dans la mise en place du projet ou de sa réalisation.

**En cas de non-respect de la charte des utilisateurs, le responsable scientifique de la plateforme se réserve le droit de refuser l'accès à un utilisateur.**

Je soussigné(e) \_\_\_\_\_

membre de l'équipe \_\_\_\_\_

certifie avoir pris connaissance de la charte des utilisateurs de la plateforme de culture des cellules humaines induite à la pluripotence et à la respecter.

Fait à Marseille le \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Signature de l'utilisateur  
*Précédé de la mention « Lu et approuvé »*

Signature du responsable de l'équipe  
*Précédé de la mention « Lu et approuvé »*

Signature du responsable scientifique de la plateforme  
*Précédé de la mention « Lu et approuvé »*