

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم البيولوجية بوهران
Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biologie Moléculaire

Création d'une mini entreprise de commercialisation des lames de métaphase

Présenté par :

BELKENDAIL Khaoula

BENHAMOU Chahinez

Soutenu publiquement le : 31 /08 / 2020

Devant le jury :

Pr. BABA HAMED M.B	Professeur	ESSB Oran	Président
Mme BOUGHRARA Wefa	MCA	ESSB Oran	Encadrante
Mme BENAYAD Sarah	MCB	ESSB Oran	Examinatrice
Mr BOUKADOUM Ali	MCB	ESSB Oran	Examinateur

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

*Nous adressons nos vifs remerciements au **Pr. BABA HAMED M.B** ; Professeur à l'École Supérieure en Science Biologique d'Oran (ESSBO), Algérie. Chef de l'équipe « Bioremédiation » au laboratoire d'Aquaculture et bioremédiation (AQUABIOR) ; qui a eu la bonté d'accepter d'être président de ce jury. Assurée de l'intérêt que vous portez à ce travail, nous restons convaincues que votre présence nous assurera de la valorisation et de la teneur de notre projet. Veuillez croire en notre éternel respect et notre sincère gratitude.*

*Nos remerciements au Mme. **BENAYAD Sarah** ; maitre de conférence classe B à l'école supérieure en science biologique d'Oran (ESSBO) ; pour l'honneur qu'elle nous avons fait en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir de ses éminentes compétences scientifiques dont son enseignement et sa passion resteront des exemples pour nous. Veuillez accepter ce travail, en gage de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.*

*Nous remercions tout particulièrement notre encadrante **Dr. BOUGHRARA Wefa** maitre de conférences classe A, pour son encadrement, son orientation, ses conseils sa disponibilité, ses encouragements, sa sympathie, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques qu'elle nous a témoignée pour nous permettre de mener à bien ce travail. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer notre respect et notre reconnaissance.*

*Nos remerciement au Monsieur **BOUKADOUM Ali** ; maitre de conférence classe B à l'école supérieure en science biologique d'Oran (ESSBO) ; d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez accepter Monsieur notre respectueux hommage.*

*Nos vifs remerciements vont également à notre cher enseignant Monsieur **Guelil Aissa** ; Général Manager dans la société de l'import / export : Dispo SYSTEM pour l'intérêt qu'il a porté à notre recherche en acceptant de nous aider dans la partie entrepreneuriale et de l'enrichir par ses propositions, son soutien, ses précieux conseils et son orientation, qui nous ont été d'une grande utilité afin de pouvoir mener notre travail à bon port.*

Dédicace

A mes très chers parents

Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers vous. Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous êtes fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves, J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je sois. Ce titre d'Ingénieur d'état en biologie moléculaire je le porterai fièrement et je vous le dédie tout particulièrement.

A mes meilleures amies Imen et Houda

J'aurais toujours à l'esprit le souvenir des agréables années qu'on a mené à trois, avec les inoubliables moments de joie et de tristesse qu'on savait adroitement éluder en s'épaulant mutuellement. Puisse Dieu vous protéger et nous laisser unies et solidaires à jamais.

A mon binôme et ma plus proche et merveilleuse amie Khaoula

Toujours compréhensives attentionnés, compétente, intelligente et de bonne humeur. Je t'offre ce travail en souvenir du bon vieux temps qu'on a passé ensemble. Je t'exprime par ce travail que nous avons préparé ensemble toute mon affection et j'espère que notre amitié restera intacte et durera pour toujours. Puisse Dieu te procure, bonheur, succès et prospérité.

A tous les membres de ma famille

Je voudrais pouvoir vous apporter ici la chaleur de mon affection et de mon amour.

A tous mes maîtres, professeurs de l'école supérieure en science biologique d'Oran A tous ceux qui me sont chers.

BENHAMOU Chahinez.

Dédicace

Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux. Louange à dieu qui m'a aidé durant des années, éclairé et ouvert les portes du savoir. Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père
Pour leur patience, amour, soutien et leur encouragement

A mes chers frères et sœurs tout particulièrement Fatima et Sara
Source d'espoir et motivation

A Chahinez, chère amie avant d'être binôme

A toute ma famille et mes amies

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire du moyen du
secondaire ou de l'enseignement supérieur*
Tout particulièrement Mme Boughrara
A vous cher lecteur.

BELKENADIL Khaoula.

Résumé

La faiblesse ou l'absence de l'esprit entrepreneurial en Algérie, qui est affirmé par des experts, constitue un obstacle du développement durable et économique. De ce fait, l'université est hautement sollicitée pour développer des projets qui visent la création d'entreprise.

Ce projet essaie d'émerger cette culture entrepreneurial pour aboutir à des bénéfices sur le plan économique et éducatif à savoir la création de notre Startup WCK Slides (Wefa Chahinez Khaoula Slides) ; qui va fabriquer des kits de lames des caryotypes réalisées sur différents syndromes tels que ; syndromes de Down, Turner et Klinefelter.

Le caryotype est une technique longue qui nécessite une culture cellulaire et qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Ceci offre la possibilité de visualiser la totalité du génome et la division cellulaire.

Les lames qui sont réalisées par le Startup WCK Slides, seront un outil indispensable pour appuyer la théorie à savoir la compréhension de la division cellulaire, la structure des chromosomes et l'identification de l'aberration chromosomique.

Pour la réalisation de ces lames nous avons fait le recrutement des patients atteints par ces syndromes au niveau de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran. La méthode utilisée est une culture cellulaire sur les cellules blanches du sang. Par la suite, nous avons préparé des lames qui seront représentées sous forme d'un kit pour les commercialiser. Ce kit de lames de caryotype sera utilisé à des fins pédagogiques par les enseignants en biologie et en génétique.

La partie entrepreneuriale, sera la stratégie de notre startup qui a débuté par l'étude du Macro-environnement et Le micro-environnement et l'analyse SWOT qui ont pour but de déterminer les opportunités et les menaces. Ensuite, l'étude de marché qui comporte l'analyse de la demande et l'offre. Tandis que, l'étude marketing va définir la politique du produit et prix du kit commercialisé par la startup WCK slides. Et enfin, une stratégie de marketing est tracée afin de faire connaître le kit sur le marché. Ceci sera un premier pas pour la réalisation de notre mini entreprise WCK Slides.

Ce kit de lames répondra à un véritable besoin qui va réduire l'importation de ce type de produit. Ceci va engendrer des prix réduits et gain de temps entre la commande et la livraison.

Mots clé: Culture cellulaire, Caryotype, Métaphase, Lame, Entreprise, Startup.

Abstract

The weakness or absence of the entrepreneurial spirit in Algeria that is affirmed by experts constitutes an obstacle to sustainable and economic development. As a result, the university is highly solicited to develop projects aimed at business creation.

This project tries to emerge this entrepreneurial culture to lead to economic and educational benefits, namely the creation of our Startup WCK Slides; which will manufacture Karyotype slides kits made on different syndromes; such as Down, Turner and Klinefelter syndromes.

The karyotype is a long technique that requires cell culture and allows the study of an individual's chromosomes. This offers the ability to visualize the entire genome and cell division.

The slides that are made by the Startup WCK Slides will be an indispensable tool to support the theory namely the comprehension of the cell division, the structure of the chromosomes and the identification of the chromosomal aberration.

For the realization of these slides we have made the recruitment of patients affected by these syndromes at the university hospital establishment of Oran. The method used is a cell culture on white blood cells. Subsequently, we have prepared slides that will be represented in the form of a kit to market. This karyotype slide kit will be used for teaching purposes by biology and genetics teachers.

The entrepreneurial part will be the strategy of our startup that began with the study of the Macro-environment and the micro-environment and the SWOT analysis which aim to determine the opportunities and threats. Next, the market study that includes the analysis of demand and supply. While, the marketing study will define the product policy and price of the kit commercialized by the startup WCK slides. And finally, a marketing strategy is drawn up to make the kit known to the market. This will be a first step for the realization of our mini company WCK Slides.

This slides kit will meet a real need that will reduce the import of this type of product. This will generate reduced prices and save time between order and delivery.

Keywords: Cell culture, karyotype, Metaphase, slides, company, Startup.

المخلص

يشكل ضعف أو غياب روح المبادرة في الجزائر التي أكدها الخبراء عقبة أمام التنمية المستدامة والاقتصادية. وبالتالي، فقد أصبح لمطلوب بشدة من الجامعة أن تعمل على تطوير المشاريع الرامية إلى خلق مؤسسات. يحاول هذا المشروع أن يبرز ثقافة تنظيم المشاريع هذه قصد تحقيق فوائد اقتصادية وتعليمية، عبر المؤسسة الناشئة WCK slides؛ التي ستصنع مجموعات من شرائح لأنماط نووية لمتلازمات مختلفة كمتلازمة داون ، ترنر و كلينفيلتر.

إن النمط النووي في الكروموسومات عبارة عن تقنية طويلة تتطلب زرع الخلايا والتي تسمح بدراسة كروموسومات الفرد. وهذا يوفر القدرة على تصور الجينوم بالكامل والانقسام الخلوي. الشرائح التي تصنعها المؤسسة الناشئة WCK Slides ستكون أداة لا غنى عنها لدعم الجانب النظري أي فهم الانقسام الخلوي وهيكل الكروموسومات، و تحديد استنفاها

ولتحقيق هذه الشرائح قمنا بتجنيد المرضى المصابين بهذه المتلازمات على مستوى المؤسسة الاستشفائية الجامعية بوهران. الطريقة المستخدمة لذلك هي زراعة الخلايا بخلايا الدم البيضاء متنوعة بإعداد الشرائح المجهرية التي ستكون على شكل مجموعة لتسويقها. و سيتم استخدام هذه المجموعة من الشرائح المجهرية لأنماط النووية لأغراض تعليمية من قبل مدرسي علم الأحياء والجينات.

سيكون الجزء الخاص بتنظيم المشاريع هو استراتيجية البداية التي شرعت بدراسة البيئة الكلية والبيئة الجزئية وتحليل SWOT الذي يهدف إلى تحديد الفرص والتهديدات. وبعد ذلك، دراسة السوق التي تشمل تحليل الطلب والعرض. بينما ستحدد دراسة التسويق سياسة المنتج وسعر المجموعة التي تم تسويقها WCK Slides وأخيرا يتم وضع استراتيجية تسويقية لجعل المجموعة معروفة للسوق، ستكون هذه الخطوة الأولى لتحقيق المشروع المصغر WCK slides. سوف تلبى مجموعة الشرائح المجهرية هذه ،حاجة حقيقية من شأنها أن تقلل استيراد هذا النوع من المنتجات. وهذا من شأنه ان يؤدي إلى خفض السعر وتوفير الوقت بين الطلب والتسليم.

الكلمات الرئيسية:

زراعة الخلايا، النمط النووي، المرحلة الاستوائية، شريحة، مؤسسة، شركة ناشئة.

TABLE DES MATIERE

LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DES ANNEXES	12
LISTE DES ABREVIATIONS	13
Introduction.....	14
Revue Bibliographique.....	16
I. Description de la culture des cellules	17
II. Historique.....	17
III. Origine des cellules	17
III.1. La méthode de dissection mécanique	17
III.2. La méthode par digestion enzymatique	18
IV. Types de culture cellulaire	18
IV.1. Culture primaire	18
IV.2. Culture secondaire.....	18
V. L'évolution des cellules en culture.....	19
VI. Les conditions de culture	19
VII. Les milieux de culture	21
VII.1. Les Minéraux.....	21
VII.2. Les glucides	21
VII.3. Les protéines.....	22
VII.4. Les vitamines.....	22
VIII. Les contaminants	23
IX. Application des cultures cellulaires.....	23
X. Le caryotype.....	24
Problématique et objectif.....	26
Population d'étudeEt méthodes.....	28
I. Matériels	29
II. Méthodes.....	29
II.1. Culture cellulaire	29
II.2. Choc hypotonique de la culture cellulaire	31
II.3. Fixation de la culture cellulaire	32
II.4. Lavage.....	32
II.5. Etalement et coloration de la culture cellulaire	33
Résultats et discussion.....	35
I. Résultats.....	36
II. Présentation du kit	39
II.1. Conservation des lames	39
II.2. Le kit proposé.....	40
III. Notice.....	42

Partie Entrepreneurial.....	44
I. Présentation de projet	45
II. L'environnement de projet.....	45
II .1. Le macro-environnement	45
II .2 Le micro-environnement.....	46
II.3 Analyse SWOT.....	47
III. Etude de marché	47
III.1 Définir son marché	48
III.2.Analyser la demande	50
III.3. Analyse de l'offre.....	51
IV. Etude marketing	52
IV.1.Politique de produit.....	52
IV.2.Politique de prix.....	53
IV.3.Politique de distribution	54
IV.3.1.Le marketing B to B	54
IV.4.Politique de communication	54
V. Business Model CANVAS	54
Conclusion et perspective.....	56
Annexes.....	58
Référence Bibliographiques	63

Liste des figures

Figure 1: Résultat de la centrifugation du sang total, la flèche noire montre un amas de globules blancs.	29
Figure 2: Milieu de culture (Lympho medium avec PHA-M).	30
Figure 3: Mise en étuve des tubes Falcon.	31
Figure 4: L'ajout de la colchicine dans les tubes Falcon.	31
Figure 5: L'oxydation des échantillons après ajout de carnoy.	32
Figure 6: Résultat après deuxième lavage.	33
Figure 7: Résultat final de la culture cellulaire après troisième lavage.	33
Figure 8: Observation sous microscope optique d'une cellule bloquée en métaphase après une colorationGiemsa.	34
Figure 9: Microphotographie optique des cellules bloquée en métaphase avec un grossissement X10.	36
Figure 10: Microphotographie optique des cellules bloquée en métaphase avec un grossissement X100.	36
Figure 11: Caryotype standard d'un individu atteint du syndrome de Down.	38
Figure 12: Caryotype standard d'un individu atteint du : syndrome de Turner (a), syndrome de Klinefelter (b).	39
Figure 13: Représentation de la forme de lame proposée par notre mini-entreprise.	40
Figure 14: Exemple d'un coffret étagé pour organiser les lames.	41
Figure 15: La boîte en plastique dans laquelle les coffrets vont être organisés.	41
Figure 16: Boîte en bois dans laquelle les lames vont être organisées.	41
Figure 17: L'emballage dans lesquelles les boîtes vont être organisées.	42
Figure 18: Diagramme circulaire représente le pourcentage des problèmes de démotivation.	48
Figure 19: Diagramme circulaire représente le pourcentage des méthodes traitées par les enseignants à fin de motiver les étudiants.	49
Figure 20: Diagramme circulaire représente le pourcentage des problèmes qui handicapent le déroulement ou la réalisation des TP.	49
Figure 21: Diagramme représente le prix unitaire des lames de caryotype.	50

Liste des tableaux

Tableau I:Classification des chromosomes selon la taille et le placement du centromère.37

Tableau II:Analyse SWOT.....47

Tableau III:Profil de la clientèle potentielle.51

Tableau IV:Profil des concurrents.51

Tableau V:Marketing de produit.....53

Tableau VI:Marketing de prix.53

Tableau VII: Business Model CANVAS.55

Liste des annexes

Annexe 0 1:Consentement de prélèvement Identité du Médecin.59
Annexe 0 2:Fiche patient.60
Annexe 0 3:Questionnaire.....61

Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique.
%: Pourcentage.
ARN : Acide Ribonucléique.
ATP : Adénosine Triphosphate.
EHUO: Etablissement Hospito-Universitaire d'Oran.
SVF : Sérum de Veau Fœtal.
SVNN: Sérum de Veau Nouveau-Né.
NORS: Nucleor Organizer Regions.
RPMI: Roswell Park Memorial Insitue.
EDTA: EthylèneDiamine Tétra Acétique.
PH: Potentiel Hydrogène.
CO₂ : Dioxyde de Carbone.
NA⁺: Sodium.
K⁺ : Potassium.
Mg²⁺: Magnésium.
Ca²⁺: Calcium.
P: Phosphor.
Cl: Chlore.
HCO₃⁻ : Bicarbonate.
KCl : Chloride de potassium.
%: Pourcentage.
°C : Degré Celsius.
Mb: Millions de Bases.
Ml: Millilitre.
µl: Microlitre.
mn: Minute.
H: Heure.
Tr /mn: Tour par Minute.
EPE cotton: Expandable Polyethylene cotton.
TP: Travaux Pratiques.
DA: Dinar Algérien.
SWOT: Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats.
SARL : Société A Responsabilité Limite.
ANSEJ: Agence Nationale de Soutien à l'Emploi des Jeunes.
ONS: Office Nationale des Statistiques.

Introduction

En Algérie l'entrepreneuriat est né à partir des années 1990 suite aux changements économiques surtout les plans, internes et externes qui ont fait que l'Algérie s'oriente vers une nouvelle organisation ayant pour pierre angulaire encourager et développer l'esprit d'entreprise (*Aknine Souidi R et al, 2014*).

La place de l'entrepreneuriat dans l'économie Algérienne semble devenir une préoccupation majeure et récurrente (*Guechtouli W. 2014*). Le nombre de mesures mises en place par l'Etat Algérien ces dernières années en atteste. Des formations en entrepreneuriat voient le jour dans l'enseignement supérieur et des colloques autour des thématiques entrepreneuriales (*Guechtouli W. 2014*). Cette effervescence autour des pratiques de l'entrepreneuriat résulte d'abord d'une amélioration des conditions sécuritaires et politiques dans le pays et d'une prise de conscience du gouvernement quant à l'importance de la création d'entreprise pour la relance économique (*Leghima A. 2014*). En effet, l'entrepreneuriat serait pour l'Algérie un moyen de développement économique permettant en plus de la réalisation de la valeur ajoutée et de l'amélioration de la croissance nationale, de lutter contre le chômage et le travail informel (*Maalej A. 2013*).

Dans ce projet, un intérêt tout particulier a été porté sur la commercialisation des lames de culture des cellules sanguines et le caryotype humain. La culture cellulaire est l'un des principaux outils utilisés en cytogénétique standard et moléculaire, fournissant ainsi, un excellent modèle pour étudier la physiologie cellulaire et plus précisément, les aberrations chromosomiques (*Thermo Fisher Scientific. 2016*).

Dans un premier temps, nous envisageons de faire un recrutement des patients au niveau du service de biologie moléculaire et cellulaire de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHU). Ces patients sont atteints des différents syndromes tels que syndrome de Down, Turner, Klinefelter.

Dans un second volet, nous réaliserons une culture cellulaire des cellules sanguines de ces patients ceci nous permettra d'obtenir les lames de caryotypes. Ces caryotypes correspondent à l'analyse morphologique (nombre et structure) des chromosomes. L'étude chromosomique existe depuis une quarantaine d'années avec la découverte du chromosome 21 surnuméraire.

Dans le dernier volet, nous envisageons de dresser un plan d'action pour une création d'entreprise afin de commercialiser ces lames de caryotypes.

*Revue
Bibliographique*

I. Description de la culture des cellules

La culture cellulaire est devenue un des outils majeurs utilisés aujourd'hui dans les sciences de la vie (*Barlovatz-Meimon G et al, 2014*). La culture des cellules animales en dehors de l'organisme permet l'observation des cellules vivantes dans des conditions favorables (*EDP de Robertis. 1983*). En biologie, la culture cellulaire désigne un ensemble de techniques utilisées pour faire croître des cellules hors de leur organisme (*ex-vivo*) ou de leur milieu d'origine, dans un but d'expérimentation scientifique (*Masson P et al, 2005*).

II. Historique

Bien que la culture de cellules animales ait été réussie pour la première fois par *Ross Harrison* en 1907(*Harrison R. G. 1914*), il a fallu attendre la fin des années 1940 pour voir apparaître la culture cellulaire proprement dite. Plusieurs développements après ont rendu la culture cellulaire largement disponible comme outil pour les scientifiques (*Freshney R. I. 2010*). Ensuite se sont développées des techniques telles que l'utilisation de trypsine pour retirer les cellules récipients de culture nécessaire pour obtenir des lignées cellulaires cultivées en continu (comme cellule HeLa) (*Dupont-Monod J. 2014*). Enfin à l'aide de ces lignées cellulaires les scientifiques ont pu développer des milieux de culture cellulaire standardisés chimiquement définis facilitant énormément la culture de cellules (*John Ryan. 2007*).

D'autre part en 1934 *Gauthier et White* établissent les premières cultures de tissus végétaux et obtiennent des cals ou cellules indifférenciées (*White P. R. 1939*). En 1952 *Morel et al* démontrent la totipotence de cellules (*Morel G et al, 1952*). En 1976 *zenk et al* démontre que bien que certains métabolites secondaires ne sont produits dans la plante qu'à un endroit particulier l'on peut arriver à sélectionner une lignée cellulaire productive en culture indifférenciée (*Zenk MH et al, 1976*).

III. Origine des cellules

Il existe deux types de cellules dans l'organisme ; les cellules circulantes dites libres, tels que les cellules sanguines qui sont obtenues par prélèvement et centrifugation et les cellules organisées en tissus dites solides qui nécessitent la mise en œuvre de plusieurs techniques (*Kohler C. 2010*).

III.1. La méthode de dissection mécanique

Cette méthode facilement réalisable et n'entraînant pas de dommage cellulaire, reste la technique de choix pour les fragments de petite taille (*Dupont-Monod J. 2014*).

III.2. La méthode par digestion enzymatique

Cette méthode repose sur la digestion enzymatique de la trame protéique entourant les cellules en ajoutant des enzymes de digestion; telles que la trypsine ou la collagénase, permettant ainsi leur libération (*Dupont-Monod J. 2014*). Il est important lors de la réalisation de cette technique, d'adapter la concentration des 38 enzymes à la nature du tissu traité de façon à obtenir la meilleure dissociation possible sans atteinte des membranes cellulaires. (*Macleod et al, 2004*). La méthode par dissection est souvent utilisée quand le tissu à mettre en culture est très petit (*Adolphe M et al, 1988*).

IV. Types de culture cellulaire

IV.1. Culture primaire

La culture primaire peut consister en la culture d'un organe ou d'un tissu complexe, d'un mélange défini de cellules, ou de cellules hautement purifiées isolées directement de l'organisme (*Mather J P et al, 1998*). Plus communément, des techniques peuvent être utilisées pour purifier le type de cellule d'intérêt et commencer une culture primaire composée en grande partie de ce type de cellule (*Robert F et al, 2012*). Ces cultures commencent habituellement au placage initial comme contenant 60 à 95% du type de cellule d'intérêt, bien que ce pourcentage puisse augmenter ou diminuer au cours de la période de culture subséquente (*Mather J P et al, 1998*). Cependant, les cultures de cellules et d'organes primaires ont un avantage dans la mesure où elles sont récemment retirées de la situation *in vivo* (*Barnes, D et al, 1980*).

IV.2. Culture secondaire

Le repiquage, ou encore « passage », est une technique de culture cellulaire réalisée dès lors que les cellules recouvrent 70 à 90 % de la surface du flacon de culture. Ou que le milieu change de couleur, synonyme d'une acidification et donc d'un appauvrissement en nutriments (*Macleod et al, 2004*).

Par le biais d'une dilution des cellules, précédée ou non d'une étape de dissociation enzymatique selon le procédé de culture, elle permet ainsi, une diminution de la densité cellulaire afin de maintenir une croissance optimale. Cette technique constitue la première étape menant à une lignée cellulaire, et est indispensable pour le maintien d'une bonne croissance cellulaire (*Macleod et al, 2004*). Une attention particulière sera apportée également aux contaminations avec la réalisation de dépistage avant chaque passage, et le respect des règles d'asepsie. Une fois les cellules repiquées (*Macleod et al, 2004*).

V. L'évolution des cellules en culture

Nous distinguons trois périodes d'évolution des cellules durant une culture: phase d'adaptation, exponentielle et stationnaire. Lorsque les cellules arrivent à confluence elles arrêtent de se diviser : inhibition de contact (*Rembur J. 1974*). Il faut alors procéder à un repiquage ou passage, c'est-à-dire, redistribuer les cellules dans plusieurs flacons ou bien en jeter une partie et rajouter du milieu neuf. De cette façon, les cellules disposent de nouveaux éléments nutritifs et de place pour adhérer. À partir du premier repiquage nous parlons de lignée cellulaire. (*Cezard F. 2009*).

D'une part, lorsque les cellules sont mises dans un milieu de culture, il s'opère une sélection entre les cellules viables et les cellules mortes. D'autre part, il existe une compétition entre les cellules viables (*Barlovatz-Meimon G. 2014*).

Toutefois, en ce qui concerne la longévité d'une culture cellulaire, nous distinguons deux types. Premièrement ; cultures normales ou définies où les cellules ne se multiplient que pendant un nombre limité de générations (30 à 50 repiquages) puis meurent (leur vie et leur mort sont programmées). Il s'agit d'une diminution de leur vitesse de prolifération, phase de sénescence. Deuxièmes ; culture continue, lignées transformées ou immortelles : la vitesse de multiplication ne diminue pas, ce qui permet un nombre de repiquage indéfini (*Madigan et Martinko. 2007*). Les cellules constituant ces cultures perdent l'inhibition de contact et se cultivent en amas ou multicouche (*Madigan et Martinko. 2007*).

VI. Les conditions de culture

Pour que la culture donne des résultats, elle doit contenir tous les composants nécessaires *ex vivo*. L'environnement cellulaire doit être un mélange d'azote, d'oxygène, de CO₂ et de vapeur d'eau (*Froger et al, 1988*).

Ainsi, le système tampon utilisé étant le plus souvent le tampon bicarbonate. Il est très courant d'utiliser des incubateurs à CO₂ permettant de maintenir une atmosphère à 95 % d'air et 5 % de CO₂ (*Froger et al, 1988*). Dont la teneur optimale en oxygène varie selon le type cellulaire. En effet, la majorité des cellules se cultivent en normoxie c'est-à-dire avec une teneur de 21 % d'oxygène ambiant (*Dupont-Monod J. 2014*).

Cependant, l'hyperoxie devient toxique pour les cellules au-delà de 50 %, à l'inverse de l'hypoxie qui peut être bénéfique dans certains cas, notamment chez les cellules embryonnaires qui présentent une augmentation de leur capacité proliférative sous faible tension en oxygène (5 %) (*Macleod et al, 2004*). Le taux d'azote est identique à la concentration de l'air, soit environ 78 %. L'atmosphère doit être saturée en vapeur d'eau pour

limiter les phénomènes d'évaporation (*Macleod et al, 2004*). Ce phénomène est responsable d'une augmentation de l'osmolarité dans le milieu de culture et donc de la concentration en sel, entraînant alors une lyse cellulaire par appel d'eau à l'extérieur de la cellule (*Dupont-Monod J. 2014*). L'osmolarité du milieu doit être maintenue autour de 270 milli moles pour la majorité des cultures cellulaires avec une saturation en vapeur d'eau se situant autour de 84 à 85% (*Cezard F. 2009*).

Toutefois, la température optimale pour la croissance des cellules de mammifère se situe entre 35,1°C et 37,1°C, et nécessite ainsi, une conservation des cultures cellulaires dans un incubateur (*Dupont-Monod J. 2014*). Certaines cellules peuvent croître et proliférer à des températures plus basses. Toutefois, les hautes températures sont généralement mal supportées avec une augmentation de la mortalité très marquée au-dessus de 40°C (*Macleod et al, 2004*).

Concernant le pH optimal, ceci ne sera pas le même et dépend du type de cellules cultivées (*Cézard F. 2009*). C'est ainsi que pour les cellules de mammifère, il a été établi qu'il doit se situer dans les normes sanguines soit entre 7,2 et 7,4 (*Froger et al, 1988*). Une modification du pH peut être observée en cas de contamination de la culture (*Langdon S P. 2004*). Associé à ces phénomènes, la culture cellulaire peut être également sujette à une acidification spontanée du milieu en raison du dégagement de CO₂ généré par le métabolisme cellulaire lorsque le nombre de cellules devient trop important, ou, lors de mort cellulaire, à une basification provoquée par la libération de protéines alcalinisantes au cours de la lyse des cellules. Les conditions d'incubation influencent donc ce paramètre (*Dupont-Monod J. 2014*).

Le pH du milieu de culture et le pH intracellulaire étant des facteurs clés du bon fonctionnement métabolique, on comprend aisément que toute variation de ce dernier peut entraîner de graves conséquences sur la croissance cellulaire (*John R. 2007*).

En effet, on observe un effet direct du pH intracellulaire sur le cycle cellulaire et sur la régulation de l'apoptose. Si le pH se maintient entre 7,0 et 8,0, une modification de 0,2 unité entraîne seulement une augmentation temporaire de l'apoptose cellulaire avec un retour rapide au niveau initial de la fraction apoptotique assuré par le maintien de la croissance cellulaire. Tandis que pour des valeurs au-delà de ces seuils, toute croissance cellulaire est inhibée de façon irréversible. De façon indirecte, une modification du pH peut aussi entraîner une diminution de la croissance cellulaire en modifiant le métabolisme cellulaire ou la synthèse des protéines, via le métabolisme du glucose : toute augmentation du pH entraîne une augmentation de la consommation de glucose, ainsi qu'une modification de la glycosylation responsable des anomalies structurales des protéines (*Butler M. 2004*).

VII. Les milieux de culture

Le milieu de culture a pour but de reproduire le plus fidèlement possible les conditions de l'environnement cellulaire *in vivo*, permettant ainsi aux cellules à la fois de survivre mais aussi de se multiplier tout en conservant leurs fonctions cellulaires principales (Dupont-Monod J. 2014). Selon les milieux cellulaires de base et l'objectif de culture pour lesquels on les utilise, les composants ne seront pas les mêmes (Dupont-Monod J. 2014). Néanmoins il existe des éléments essentiels qui seront retrouvés dans la plus grande majorité des milieux de bases et qui sont indispensables pour la survie des cellules (Froger et al, 1988).

VII.1. Les minéraux

Sept ions sont indispensables et constituent la base des solutions salines telles que les solutions de Hanks ou encore d'Earle : le sodium (Na^+), le potassium (K^+), le calcium (Ca^{2+}), le magnésium (Mg^{2+}), le phosphore (P), le chlore (Cl^-), les bicarbonates (HCO_3^-) (Gautheret R J. 1959). Ces constituants minéraux permettent la survie de la cellule en intervenant à plusieurs niveaux. Leur action au niveau des membranes cellulaires repose sur leur activité électrique (Na^+ , K^+ , Cl^-) et se traduit entre autres par le maintien du potentiel membranaire qui permet de conserver une stabilité membranaire et un bon fonctionnement métabolique. (Cézard F. 2009).

Ils assurent également le fonctionnement des pompes et canaux ioniques permettant ainsi à la fois un apport d'éléments nutritifs mais aussi le passage de molécules du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire, ou encore d'un compartiment cellulaire à un autre.

Au niveau du cytosol, leur rôle principal est le maintien du métabolisme cellulaire, que ce soit par leur action au niveau de la respiration dans les mitochondries ou encore par la synthèse d'ATP (Dupont-Monod J. 2014). Ils jouent également un rôle de second messenger (Ca^{2+}) permettant la transduction de signaux extracellulaires assurant ainsi la communication intercellulaire.

Les minéraux ont également une action extracellulaire qui permet d'optimiser l'environnement de la cellule : ils permettent le maintien de la pression osmotique mais aussi l'étalement et l'adhésion des cellules à leur support (Dupont-Monod J. 2014). Outre les minéraux, des éléments métalliques sont également présents à l'état de trace dans les milieux de culture. Trois sont particulièrement importants : le Fer, le Cuivre et le Cobalt (Cézard F. 2009).

VII.2. Les glucides

Le principal glucide utilisé pour le métabolisme cellulaire énergétique est le D-glucose à dose de 1 g/L dans le milieu cellulaire, ce qui correspond environ à la concentration sanguine

physiologique (*Brou P. R. J. 2014*). En outre, d'autres substances énergétiques peuvent être utilisées en remplacement comme le mannose, le galactose ou encore le fructose qui possèdent les mêmes propriétés énergétiques que le glucose (*Ancelin R. 2004*).

Certains milieux particulièrement enrichis, comme les milieux de HAM F10 ou de HAM F12, sont complétés avec des acides cétoniques, des acides α -cétoglutariques ou encore avec du pyruvate qui sont des précurseurs du glucose stimulant ainsi sa synthèse par les cellules en culture (*Dupont-Monod J. 2014*).

Ces molécules peuvent être également synthétisées par les cellules elles-mêmes, en présence d'un apport exogène de L-glutamine ne nécessitant pas alors l'ajout supplémentaire de glucides (*Dupont-Monod J. 2014*). De par leur composition moléculaire, elles sont la principale source en carbone des cellules cultivées, et sont ainsi garantes également des synthèses métaboliques améliorant ainsi la survie cellulaire en culture (*Barbouche N. 2008*).

VII.3. Les protéines

Les protéines étant des polymères d'acides aminés, la moindre carence en ces molécules entraînerait un défaut de protéines à la fois structurel et fonctionnel et donc la mort cellulaire. En plus de ce rôle primordial, les acides aminés régulent à la fois les systèmes enzymatiques mais aussi le cycle cellulaire en jouant sur la synthèse des acides nucléiques tels que l'ADN ou les ARN (*Barbouche N. 2008*). L'incapacité totale des cellules à synthétiser certaines de ces molécules, rend ainsi indispensable la présence de douze acides aminés dans tous milieux de culture (*Brou P. R. J. 2014*). Parmi ces acides aminés on retrouve les huit acides aminés essentiels qui ne peuvent être synthétisés par aucune cellule que ce soit *in vivo* ou *in vitro* (Phénylalanine, Lysine, Leucine, Méthionine, Isoleucine, Valine, Thréonine, Tryptophane), associés à quatre autres dont la synthèse *in vitro* est également impossible : Tyrosine, Arginine, Histamine et L-glutamine. La dose d'acides aminés sera alors à adapter selon les conditions dans lesquelles on se trouve (*Froger et al, 1988*).

VII.4. Les vitamines

L'exigence des cellules en vitamine ne sera pas la même d'une culture à l'autre. Huit vitamines sont indispensables à la culture cellulaire : La choline, l'acide folique, le pyridoxal, la riboflavine, l'acide nicotinique, la thiamine, l'inositol, et l'acide pantothénique (*Dupont-Monod J. 2014*).

L'utilisation de la vitamine C et de la vitamine B8, ou biotine, ne sont pas systématiques et dépendent de la nature des cellules en culture (*Brou P R. 2014*). D'autres molécules peuvent être rajoutées au milieu de culture comme des hormones, des précurseurs d'acides nucléiques ou encore des substances lipidiques. L'utilité de ces ajouts est discutable en sachant que le

sérum contient lui-même les hormones et les lipides nécessaires à la croissance cellulaire, et que certaines molécules peuvent être synthétisées par les cellules elles même en présence des éléments primaire du milieu de culture (*Barbouche N. 2008*).

Cela implique une composition qui répond aux besoins nutritifs des cellules étudiées, mais également de présenter des conditions optimales de croissance (pH, force ionique...) (*Dupont-Monod J. 2014*). Ces milieux de culture pour cellules eucaryotes doivent assurer : la nutrition et le support des cellules, un pH optimal, la tonicité (*Barbouche N. 2008*).

Il existe différentes compositions, mais qui assurent toutes les besoins nutritifs des cellules qu'on y cultive. Les milieux sont en général composés comme suit :

- Une base minimale ou milieu minimum, contenant les éléments indispensables, de composition parfaitement maîtrisée (synthétique) (*Barbouche N. 2008*).
- Un additif complexe (la plupart des cellules ne se contentant pas de ce milieu minimum) : le sérum (sérum de veau foetal SVF, ou sérum de veau nouveau-né SVNN), dont le rôle est multiple : adhérence, apport d'oligo-éléments et de facteurs de croissance cellulaires (*Brou Paul R. 2014*).

VIII. Les contaminants

Chaque culture doit être réalisé dans des conditions strictes d'asepsie afin d'éviter toutes contaminations. Il existe deux types principaux de contamination des cultures cellulaires: chimique et biologique (*Yao T et al, 2017*).

Premièrement, La contamination chimique ; est la plus difficile à détecter car elle est due à des agents, tels que les endotoxines, plastifiants, ions métalliques ou traces de désinfectants chimiques qui sont invisibles (*Unchern S. 1999*).

Deuxièmement, Les contaminants biologiques ; sous forme de levures à croissance rapide (*Yao T et al, 2017*), bactéries et champignons ont un effet visible sur la culture et sont ainsi plus faciles à détecter. Cependant, deux autres formes de contaminations biologiques, les mycoplasmes et les virus, ne sont pas visuels (*Unchern S. 1999*).

L'utilisation soigneuse et sélective (limitée) d'antibiotiques conçus pour être utilisés en culture cellulaire peut également aider à éviter les pertes de cultures consécutives à une contamination biologique (*Yao T et al, 2017*).

IX. Application des cultures cellulaires

Il existe plusieurs domaines importants dans lesquels la culture cellulaire joue actuellement un rôle majeur (*Furger C. 2016*). Ils fournissent de bons systèmes de modèles pour étudier la biologie et la biochimie cellulaires de base (*Tachdjian G et al, 2011*), les

interactions entre les cellules et les agents induisant des maladies, les effets des médicaments sur les cellules, le processus et le déclenchement du vieillissement et les études nutritionnelles (*Uppangala N. 2010*).

Les cellules en culture sont largement utilisées seules ou en conjonction avec des tests de toxicité (*Gerin-Roze, G et al, 1979*), pour étudier les effets de nouveaux médicaments, cosmétiques et produits chimiques sur la survie et la croissance d'une grande variété de types de cellules. De plus il est possible d'utiliser les cultures cellulaires dans la recherche sur le cancer, les cellules normales et les cellules cancéreuses pouvant toutes deux être cultivées.

Aussi les cellules cultivées peuvent être utilisées pour produire de nombreux produits importants, trois domaines se sont montrés plus intéressants (*Uppangala N. 2010*). Le premier est la production à grande échelle de virus pour une utilisation en production de vaccins (*Uppangala N. 2010*). Le deuxième est la production à grande échelle de cellules génétiquement modifiées pour produire des protéines présentant une valeur médicale ou commerciale. Ceci inclut les anticorps monoclonaux, l'insuline, et autres. Le troisième est l'utilisation de cellules en remplacement de tissus et d'organes. Dans l'amniocentèse, qui est un outil important pour le diagnostic précoce d'affections fatales. Ces cellules peuvent être examinées pour rechercher des anomalies dans leurs chromosomes (*Bouhanna P et al, 2015*). Dans le domaine de génie génétique la capacité de transférer ou de reprogrammer les cellules en culture par du nouveau matériel génétique (ADN et gènes) a fourni un outil précieux aux biologistes moléculaires désireux d'étudier les effets cellulaires de l'expression de ces gènes (*Mulsant P et al, 1985*).

X. Le caryotype

Le caryotype est une technique qui nécessite une culture cellulaire et qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Le caryotype offre la possibilité de visualiser la totalité du génome. Cependant, La résolution est limitée à environ 5 Mb (millions de bases) (*Abairrou A. 2013*).

Il convient de noter que le caryotypage classique est long, la préparation des cellules en vue de leur examen pouvant prendre plusieurs jours. De plus, les lymphocytes doivent être vivants, ce qui signifie que, pour réussir la culture cellulaire, les échantillons sanguins doivent parvenir au laboratoire tout au plus 48 heures (de préférence moins) après le prélèvement (*Belaud-Rotureau M. A et al, 2003*).

Le caryotype est indiqué chez le nouveau-né devant un petit poids de naissance, une hypotonie, une ambiguïté sexuelle ou un syndrome malformatif, aussi l'enfant devant un retard staturo-

pondéral, psychomoteur ou pubertaire. Chez l'adulte, il est indiqué dans les bilans de stérilité ou de fausses couches à répétition ainsi qu'en cas d'antécédents familiaux d'anomalies chromosomiques (*Rooney D. E et al, 2001*).

Des techniques complémentaires de coloration spécifiques ou de cytogénétique moléculaire (hybridation in situ en fluorescence, NORs, bandes C...) sont réalisées en cas d'anomalies mises en évidence par les techniques de routine (*Jaffray J. Y et al, 2002*).

Cependant, la lame métaphasique préparée via un caryotype reste un outil pédagogique adéquat pour comprendre le cycle cellulaire et la cytogénétique. Ceci est commercialisé au même titre des lames qui contiennent des coupes histologique.

Problématique et objectif

En biologie, la culture cellulaire désigne un ensemble de techniques utilisées pour faire croître des cellules hors de leur organisme. Cette technique permet d'obtenir un caryotype d'un individu qui nous permet d'avoir une vision globale sur les chromosomes et offre la possibilité de détecter des éventuelles anomalies génétiques.

Ces lames métaphasiques peuvent être un bon moyen pédagogique pour comprendre la physiologie cellulaire et la structure des chromosomes. De plus, d'apprendre et de se familiariser avec la détection des aberrations chromosomiques.

A ce jour, aucune entreprise ne commercialise les lames métaphasiques en Algérie. Au même titre que les lames qui contiennent des coupes histologiques, l'importation reste les seuls moyens de faire parvenir ces lames pour des fins pédagogiques.

L'objectif de ce mémoire est de dresser un plan d'action afin de créer une entreprise nationale de type *Startup* pour la commercialisation des lames métaphasiques à des fins pédagogiques. L'enseignement secondaire et supérieur sera le marché à cibler.

De ce fait, et en premier volet, nous allons réaliser un recrutement des patients normaux ou atteints d'anomalies chromosomiques de nombre au niveau d'une structure hospitalo-universitaire.

En deuxième volet, nous effectuerons des cultures cellulaires à partir du prélèvement sanguin des patients reçus. Ceci nous permettra d'obtenir des lames de caryotypes.

En dernier volet, et parallèlement, nous allons réaliser une étude de marché, dresser un plan marketing en utilisant les quatre *Pet* enfin se positionner sur la communication pour rendre la mini *Startup* plus visible.

Population d'étude
Et méthodes

I. Matériels

Notre étude a porté sur un échantillon de 10 patients atteints de différents syndromes tels : Turner, Klinefelter, Down. Le recrutement a eu lieu au niveau de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO). Au moment du recrutement, les patients étaient âgés entre 60 et 88 ans tous originaires de l'Ouest Algérien. Après recueil du consentement éclairé (**Annexe 01**), un volume de 5 ml de sang a été prélevé par sujet dans un tube d'éthylène diamine tétra acétique (EDTA). Une fiche de renseignement (**Annexe 02**) regroupant les informations afin de collecter les données cliniques relatives à leurs maladies. Toutes les précautions visant le respect de l'anonymat et la confidentialité des informations ont été rigoureusement respectées.

II. Méthodes

Le caryotype est une technique d'analyse numérique et structurale de l'ensemble des chromosomes, resté pendant plus de 50 ans le seul moyen d'étude globale du génome, Le caryotype est réalisé via une culture cellulaire qui se déroule en plusieurs étapes.

II.1. Culture cellulaire

Après prélèvement de 5 ml de sang total dans un tube Falcon stérile contenant un anti coagulant l'héparinate de lithium. Les tubes parfaitement étiquetés sont placés directement dans la centrifugeuse à 4000 tr/min pendant 2 min (**SIGMA 3-18K**), afin de séparer les différentes composantes du sang. (**Figure 1**).

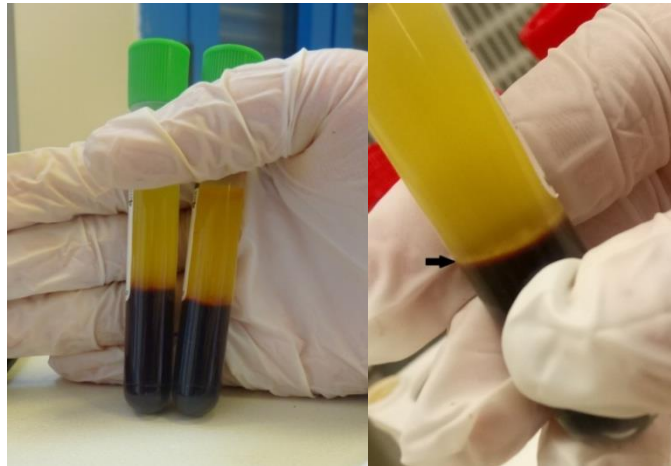


Figure 1: Résultat de la centrifugation du sang total, la flèche noire montre un amas de globules blancs.

Par la suite, nous prélevons 1000 μ l de cellules nucléées à l'aide d'une pipette et nous les déposons dans les tubes Falcon contenant 5 ml d'un milieu de culture spécifique que nous avons préparé en préalable.

Le milieu de culture *RPMI* et sérum de bovin, recueilli aseptisé du fœtus par ponction cardiaque, élément riche en facteurs de croissances, hormones, fibronectine et d'albumine essentiel à la bonne circulation des molécules ainsi que des facteurs de stabilisation et de détoxification des milieux de cultures. Cet ensemble de molécules agissant en synergie afin d'optimiser la prolifération et le maintien de la différenciation cellulaire (Gstraunthaler, 2003). Le milieu de culture comprend également des antibiotiques qui permettent d'inhiber la prolifération bactérienne et d'acide aminé (L-glutamine) source majeure d'énergie. Il possède également une propriété érythro-agglutinante puissante utilisé à l'origine pour séparer les leucocytes du sang total (**Figure 2**).

Le milieu contient précisément ; 20 ml de *RPMI* 1640 (1X), liquide, 4ml du sérum foetal bovin (inactivé : 30 mn au bain marie à 60 C °), 2ml phytohemagglutinine (Mform), 0.4ml L-glutamine 200 mM (100X) ,0.3 ml pénicilline /streptomycine 10.000 U/ml et 0.2 ml héparine sodique 1% pour un volume finale de 26.5 ml (équivalent de 5 aliquote .5ml dans chaque tube). Nous déversons 800µl de sang contenant principalement du buffycale dans un autre tube de 5ml du milieu de culture. Puis, nous homogénéisons délicatement et incubons les tubes inclinés dans l'étuve à 37c° pendant 72h, permettant ainsi une division cellulaire par stimulation antigénique et une plus grande surface pour la prolifération cellulaire des lymphocytes. (**Figure 3**).



Figure 2: Milieu de culture (Lympho medium avec PHA-M).

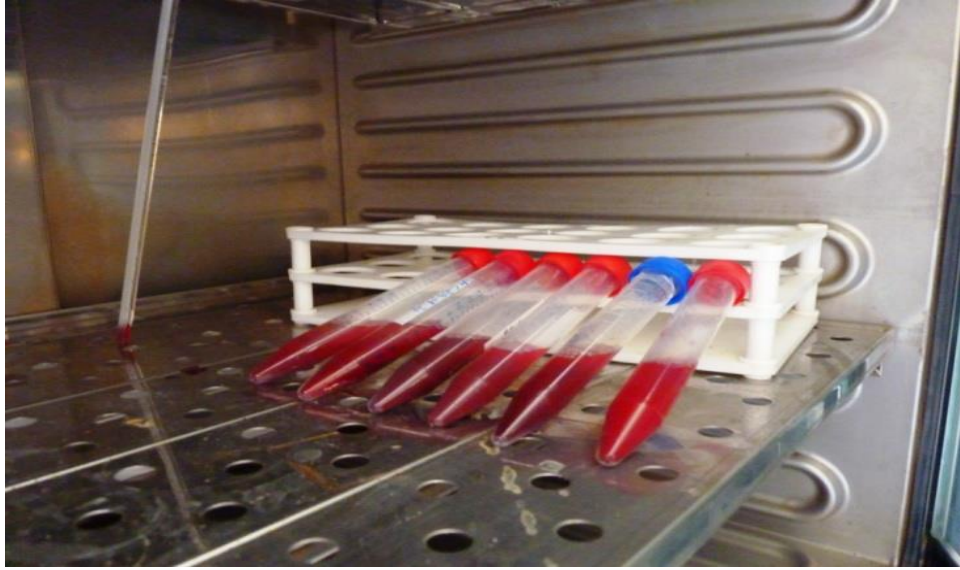


Figure 3: Mise en étuve des tubes Falcon.

A 70h après la mise en culture, les tubes sont retirés de l'étuve pour ajouter 50µl de colchicine dans chaque tube et remettre dans l'étuve pendant 2h à 37°C.

La colchicine a pour effet de bloquer les cellules au stade de métaphase interrompant la formation des fibres du fuseau mitotique par inhibition de la polymérisation des microtubules libérant ainsi les chromosomes de la plaque équatoriale et induisant la contraction des chromosomes (**Figure 4**).

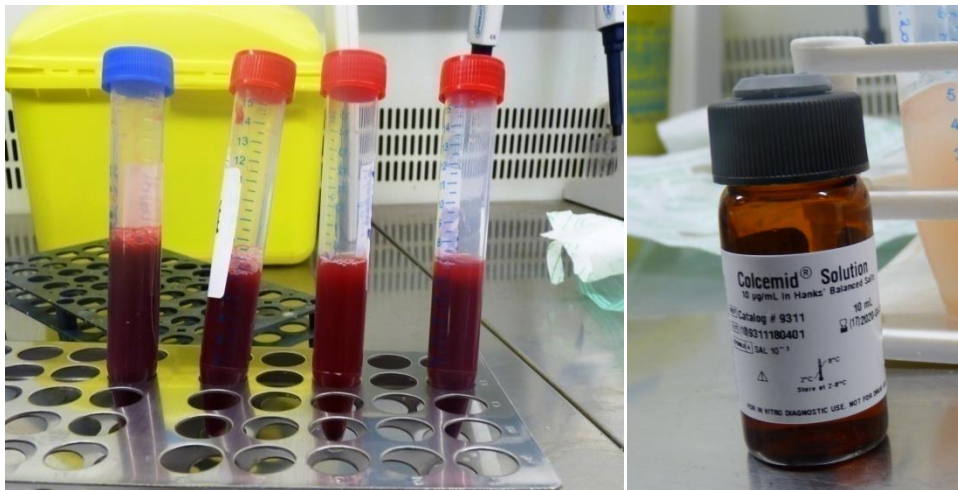


Figure 4: L'ajout de la colchicine dans les tubes Falcon.

II.2. Choc hypotonique de la culture cellulaire

Centrifuger les tubes à 4000 tr/min pendant 5min dans une température réglée à 37°. Cela est nécessaire pour éliminer le milieu de culture et garder uniquement l'amas cellulaire (le culot) qui représente la culture cellulaire. Afin de réaliser le choc hypotonique, nous

ajoutons du Chlorure de potassium (KCl) (0.075M) et nous plaçons dans l'étuve pour une durée de 35 min. le gradient osmotique provoqué par le KCl aura pour effet l'induction d'un choc hypotonique fragilisant ainsi la membrane nucléaire.

II.3. Fixation de la culture cellulaire

Nous ajoutons une goutte de la solution de Carnoy dans chaque tube avant la centrifugation pour éviter de perdre les échantillons qui seront centrifugés pendant 2 min à 4000tr/min (**Figure 5**).

La solution de Carnoy est composée d'un volume d'acide acétique et de trois volumes de méthanol ayant pour rôle la fixation des métaphases et le maintien de la forme des noyaux.

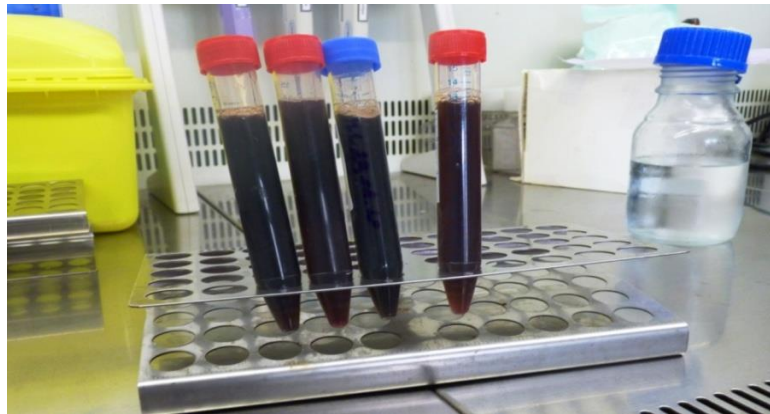


Figure 5: L'oxydation des échantillons après ajout de la solution de Carnoy.

II.4. Lavage

Nous prélevons ensuite le surnageant et procédons au premier lavage avec la solution de Carnoy préparée au préalable puis centrifuger à 4000tr/m pendant 5 min à 15°C. Nous éliminons le surnageant, puis les tubes sont vortexés pour procéder à un second lavage avec la solution de Carnoy. Cette étape est répétée jusqu'à purification de l'échantillon (Culot blanchâtre et surnageant transparent). Enfin à cette étape la culture cellulaire peut être conservée au congélateur plusieurs jours. Le culot ne doit être ni trop dense, ni trop dilué, l'idéal serait pour 1/3 de culot, mettre 2/3 de surnageant. (**Figure 6**).

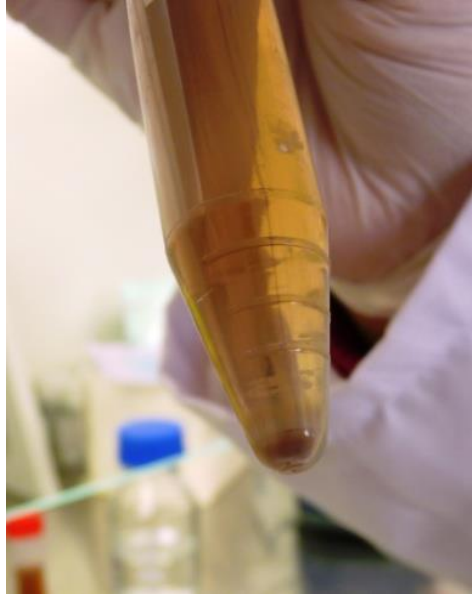


Figure 6:Résultat après deuxième lavage.

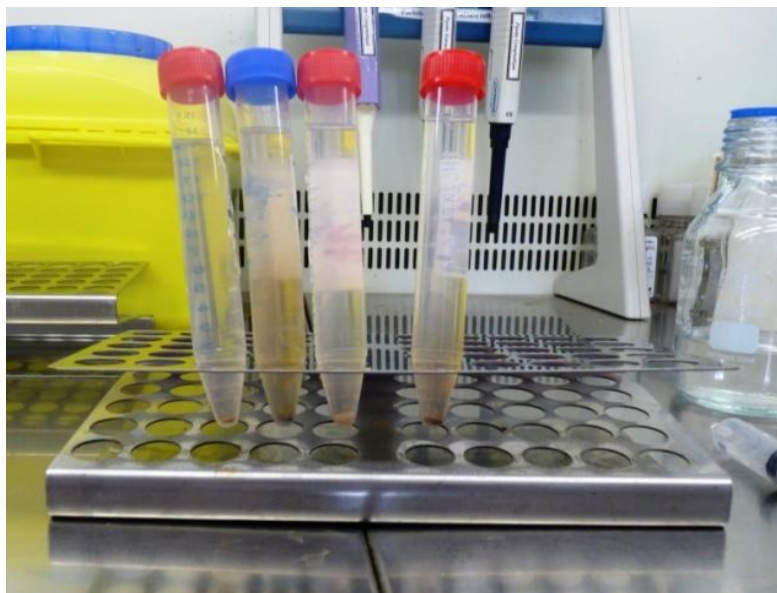


Figure 7:Résultat final de la culture cellulaire après troisième lavage.

II.5. Etalement et coloration de la culture cellulaire

Les lames sont conservées dans l'éthanol au congélateur pendant au moins 48h afin d'éliminer la graisse. Après les avoir bien essuyés, nous versons à l'aide d'une pipette pasteur quelques gouttes de carnoy sur les lames et quelques gouttes de la culture cellulaire à 30 cm de hauteur de la lame Cette étape provoque l'éclatement des cellules et l'étalement des chromosomes sur la lame. (**Figure8**).

Après nous déposons les lames dans le colorant GIEMSA (20 ml du GIEMSA et 80ml d'eau) pendant 3 min ensuite nous les mettons dans la plaque chauffante, Les lames sont ensuite observées en microscopie optique.

La solution de Giemsa est un mélange d'éosine et de bleu de méthylène (azur). L'éosine colore la chromatine du parasite en rouge, tandis que le bleu de méthylène colore le cytoplasme parasitaire en bleu (*Gonsales G. 2016*).



Figure 8: Observation sous microscope optique d'une cellule bloquée en métaphase après une coloration Giemsa.

Malheureusement, la partie pratique, à savoir la réalisation des Kits de lames est juste théorique. Car à cause de la pandémie du COVID 19 et confinement exigé par la tutelle par mesure de sécurité, nous n'avons pas pu réaliser cette partie.

Résultats et discussion

I. Résultats

Suite à la réalisation des cultures cellulaires et coloration des lames contenant des cellules sanguines bloquées en métaphase mitotique (où la chromatine est condensée et les chromosomes sont alors visibles) de chaque patient, nous obtenons des lames de caryotype.

Une visualisation sur microscope optique de chaque lame permettra de confirmer le bon déroulement de la culture cellulaire.

Les résultats attendus pour un grossissement X10 du microscope optique seront des cellules éclatées contenant des métaphases qui sont bien dispersées (**Figure 9**) et d'autres cellules gonflées non éclatées.

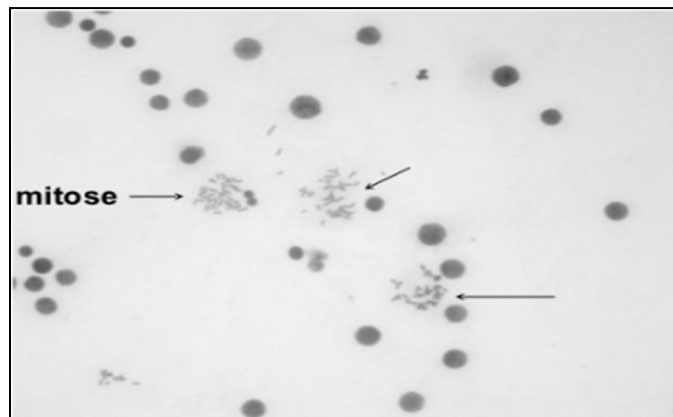


Figure 9: Microphotographie optique des cellules bloquées en métaphase avec un grossissement X10.

Une sélection de métaphase et une observation avec un objectif à grande grossissement tout en disposant une goutte d'huile d'émersion à la surface de la lame suivie par photographie permet de détecter des anomalies concernant le nombre de chromosomes. Ainsi nous pourrions étiqueter les lames en précisant les aberrations chromosomiques identifiées sur elle (**Figure 10**).



Figure 10: Microphotographie optique des cellules bloquées en métaphase avec un grossissement X100.

De plus, il est impératif de classer les chromosomes par paires (chaque chromosomes homologue possédant la même taille, la même position des centromères), ainsi que par ordre décroissante ceci permettra de visualiser quelle paire de chromosome est concerné.

Cette classification repose sur deux critères : la taille des chromosomes et l'indice centromérique ($p/p+q$) (**Tableau I**), ce dernier permet de distinguer les chromosomes métacentriques, submétacentriques et acrocentriques. Les chromosomes métacentriques ont un bras court et un bras long dont la taille est assez proche à la différence des chromosomes submétacentriques pour lesquels la taille du bras court est nettement inférieure à celle du bras long. Les chromosomes acrocentriques ont un centromère très distal, les bras courts sont très réduits, surmontés de tiges (organiseurs nucléolaires) porteuses de satellites. Les chromosomes acrocentriques sont impliqués dans les translocations Robertsoniennes. Les télomères sont les extrémités distales des chromosomes.

Tableau I: Classification des chromosomes selon la taille et le placement du centromère.

	Métacentrique	Submétacentrique	Acrocentrique
Groupe A	1, 3	2	
Groupe B			4,5
Groupe C		6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X	
Groupe D			13, 14,15
Groupe E		16, 17,18	
Groupe F	19,20		
Groupe G			21, 22, Y

Les patients qui ont une trisomie 21 (Syndrome de Down) possèdent un caryotype spécifique dont la présence d'un chromosome surnuméraire sur la 21 ème paire de chromosomes c'est à dire qu'au lieu d'avoir au total 46 chromosomes, l'individu trisomique en possède 47(**Figure11**).La nomenclature chromosomique est : 47, XX, +21 ou 47, XY, +21. Bien que le syndrome ait été décrit des milliers d'années auparavant, il a été nommé d'après *John Langdon Down* qui a rapporté sa description clinique en 1866(*John Langdon H. 1866*). L'association présumée du syndrome de Down à une anomalie chromosomique a été

confirmée en janvier 1959 par Jérôme Lejeune et al quand il est confié à son Journal : "Décidément les mongoliens semblent bien avoir 47 chromosomes. Hier de nouvelles photos ont achevé de me convaincre. La note pour l'Académie est écrite, prudente." Très simple, la note fait état de trois cas du syndrome associés à la présence de 47 chromosomes (Lejeune J. T. R. G. M et al, 1959).

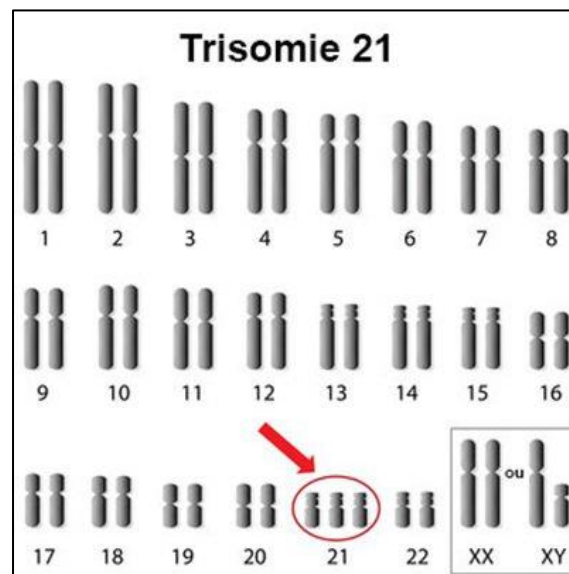


Figure 11: Caryotype standard d'un individu atteint du syndrome de Down.

Tandis que, les patientes atteintes du syndrome de Turner présentent un caryotype marqué par l'absence totale ou partielle de l'un des deux chromosomes X normalement présents chez le sexe féminin (**Figure 12**). La nomenclature chromosomique est : 45, XO. L'attention est attirée sur la description originale faite par Šereševskij en 1925, de ce que plus tard dans la littérature américaine et d'Europe occidentale, a également été appelé le syndrome de Turner, basé sur la description de Turner en 1938 (Turner H. H. 1938).

Toutefois, selon le degré d'anomalie du chromosome X, les manifestations cliniques peuvent varier. Ainsi, la perte totale d'un chromosome X va entraîner des symptômes plus graves qu'une perte partielle de ce même chromosome. En prénatal sur des signes échographiques : hygroma coli, anasarque ; à la naissance en cas de lymphœdème, de petite taille ; pendant l'enfance en cas de retard statural ; à l'adolescence en cas d'absence de puberté, d'aménorrhée primaire et de petite taille, et à l'âge adulte en cas de stérilité et de retard statural.

Cliniquement, on peut observer une petite taille (<1.50m), un pterygium colli, une implantation des cheveux en trident, des oreilles basses, un palais ogival, une micrognathie, un thorax large avec écartement exagéré des mamelons, un cubitus valgus, un genu valgum,

des naevi pigmentaires, une brièveté du IV^{ème} métacarpien, une coarctation de l'aorte (25%), des reins en fer à cheval (50%), une dysgénésie gonadique avec des ovaires atrophiques (bandelettes fibreuses). Les filles n'ont pas de retard mental, mais peuvent présenter des difficultés modérées dans les apprentissages, nécessitant un soutien scolaire.

Par contre, les patients présentant le syndrome de Klinefelter ont un chromosome sexuel X supplémentaire dans leur caryotype (**Figure 12**). La nomenclature chromosomique est : 47, XXY. Le premier patient qui a été décrit avec cette anomalie de nombre était en 1942 par Harry F. Klinefelter (*Klinefelter Jr, H. F et al, 1942*).

Cliniquement, les individus ont une grande taille (gène SHOX en triple exemplaire), peuvent présenter une gynécomastie, des petits testicules, une stérilité. Les caractères sexuels secondaires sont peu développés avec parfois une virilisation incomplète. Néanmoins, la sexualité est normale. Ils n'ont pas de retard mental, mais peuvent présenter un retard de langage à type de dyslexie.

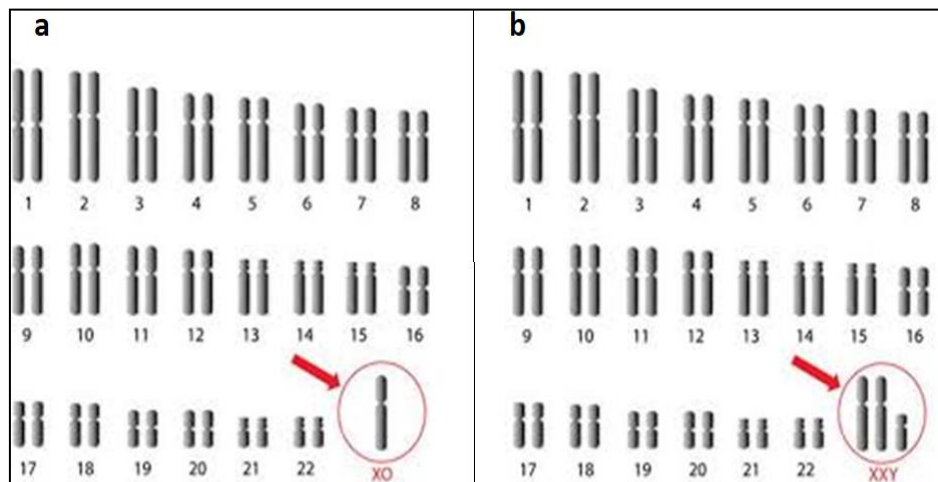


Figure 12: Caryotype standard d'un individu atteint du : syndrome de Turner (a), syndrome de Klinefelter (b).

II. Présentation du kit

II.1. Conservation des lames

Les préparations colorées au Giemsa ont tendance à se décolorer et le matériel coloré pose d'avantage de difficultés car il se décolore souvent après plusieurs mois. Il est conseillé de stocker les lames colorées dans une boîte dans un endroit sec à température ambiante.

Toutefois, il est possible de restaurer une lame décolorée en décollant délicatement la lamelle et en recolorant la lame au Giemsa classique.

Des lames dupliquées conservées à -20 °C et qui n'ont jamais subi de coloration peuvent également être colorées classiquement au Giemsa de nombreuses années plus tard. Il est également de bonne pratique de conserver des cellules fixées en surplus en cas d'investigation relative à une surexposition. Pour faciliter leur stockage, elles peuvent être concentrées dans de petites ampoules (2 ml) et conservées à -20 °C. Les lames préparées à partir de ces cellules peuvent, des années plus tard si nécessaire, être colorées.

II.2. Le kit proposé

Nos lames préparées seront des produits de haute qualité. Préparées à partir des cellules sanguines des patients volontaires sains ou atteints de syndrome de Down, Klinefelter ou Turner. Les chromosomes sont bien fixés et colorés sur les lames pour une meilleure observation sous microscope optique à utiliser dans l'éducation biologique. L'inspection du kit sera deux fois stricte avant l'entrepôt pour assurer la qualité.

Chaque lame sera étiquette en langue anglaise (ou toute autre langue selon la demande de client) sur le côté droit avec le propre logo du client et l'étiquette du logo de l'entreprise à gauche(**Figure13**).



Figure 13:Représentation de la forme de lame proposée par notre mini-entreprise.

Les lames seront organisées dans des coffrets étagés, chacun comporte 5 lames (**Figure14**) pour qu'elles soient bien séparées en évitant les dommages comme des reliures.

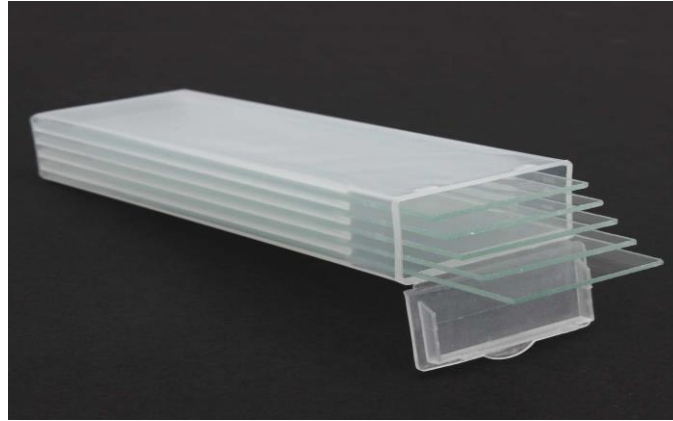


Figure 14:Exemple d'un coffret étagé pour organiser les lames.

De plus nous proposerons une boîte en plastique qui va comporter quatre coffrets(**Figure15**) et aussi des boites en bois comportent 15 lames préparées (**Figure 16**).



Figure 15:La boîte en plastique dans laquelle les coffrets vont être organisés.



Figure 16:Boîte en bois dans laquelle les lames vont être organisées.

Enfin en ce qui concerne l'emballage, des boîtes en carton y compris les boîtes en bois ou plastique sont couvertes par le coton EPE (Expandable Polyéthylène coton), accompagnée avec une notice pour l'utilisation et la conservation, contiendra les boîtes (**Figure 17**).



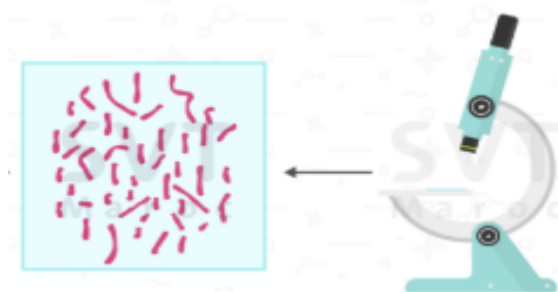
Figure 17: L'emballage dans lesquelles les boîtes vont être organisées.

III. Notice

La notice sera comme suit :

I. A propos de WCK Slides

Lame de caryotype permet de visualiser les métaphases et détecter les anomalies chromosomiques des syndromes de Down, Klinefelter et Turner sous microscope optique.



II. Comment utiliser

- 1- Installez le microscope.
- 2- Enlevez soigneusement les lames de la boîte
- 3- Sélectionnez le type de caryotype souhaité à observer.
- 4- Placez la lame sur la platine et la sérer avec les valets.
- 5- Préparez la mise au point avec l'objectif le plus faible

III. Comment conserver ?

Les préparations colorées au Giemsa ont tendance à se décolorer et le matériel coloré pose d'avantage de difficultés car il se décolore souvent après plusieurs mois. Il est conseillé de stocker les lames colorées dans un endroit sec à température ambiante. Toutefois, il est

possible de restaurer une lame décolorée en décollant délicatement la lamelle et en recolorant la lame au Giemsa classique.

IV. Attention 

- 1- Il ne faut pas toucher les lames avec les doigts dans la zone de l'échantillon.
- 2- Faire attention à ne pas écraser la lame avec l'objectif du microscope lors de la mise en point.
- 3- Quand vous terminez vos manipulations, il faut les remettre dans les boites.
- 4- Assurez-vous que vous avez placé chaque lame dans un étage.

Les résultats relatés dans cette partie sont des résultats attendus car la réalisation du Kits n'a pu être réalisée à cause du confinement suite à la pandémie du covid 19.

Partie Entrepreneurial

Pendant ces dernières décennies, les préoccupations des chercheurs et des décideurs, dans les pays développés comme dans ceux étant en voie de développement, se sont de plus en plus rapportées au rôle de l'entrepreneuriat dans le développement économique et social (*Boutiller S et al, 1994*). D'un point de vue anthropologique, l'entrepreneuriat peut se définir comme une culture à part entière qui est susceptible, de ce fait, de se développer dans différents contextes (les sociétés, les entreprises) (*Bourguiba M. 2007*). A cette approche correspondent plusieurs configurations dont la recherche et la collecte des invariants qui caractérisent cette culture (*Redien C. 2005*).

Dans ce mémoire nous avons réalisé des lames métaphasiques suite à des cultures cellulaires des différents syndromes du a de l'aberration chromosomique. Nous envisageons de mettre en place un Startup qui pourra commercialiser ces lames a des fin pédagogique car il ne peut y avoir de connaissance et de développement sans acquis, sans connaissances, voire sans éducation ni formation.

I. Présentation du projet

Promoteur : WCK Slides



Description du projet : commercialisation des lames de métaphase préparées.

Statut juridique : société à responsabilité limitée SARL.

Secteur d'activité : produit.

Emplacement de l'entreprise : Ville d'Oran.

Financements : via ANSEJ.

II. L'environnement du projet

L'étude de l'environnement du projet est un élément d'analyse important pour le management des risques des projets complexes et stratégiques. Il s'agit de l'étude de l'environnement externe et l'étude de l'environnement interne, ainsi que l'analyse des facteurs de risque et d'opportunité qui y sont associés. Le but est de qualifier les menaces-opportunités et les forces-faiblesses du projet lié à son environnement appelé aussi : Analyse SWOT (*Tepelie E et al, 2012*).

On peut distinguer deux types d'environnement : le macro-environnement et le microenvironnement.

II.1. Le macro-environnement

Il s'agit de l'étude de tous les éléments qui entourent l'entreprise. Il correspond aux composants généraux pouvant avoir une influence sur la totalité des organisations. Il concerne généralement les aspects politique, juridique, économique et socio-culturelle.

Une analyse de plusieurs dimensions a été réalisée pour étudier l'environnement de notre mini-projet.

Politique: Aujourd'hui l'Algérie est parmi les pays qui connaissent une stabilité politique et une paix qui offre un milieu favorable avec des conditions permettant l'installation des entreprises, à la lumière de la construction de la nouvelle Algérie. Le gouvernement cherche à restructurer l'économie, y compris le soutien aux *startups*, sur lequel repose un ministère spécialisé appelé ministère des petites et émergentes entreprises et de l'économie du savoir.

L'économie: Avec l'instabilité des prix du pétrole qui a affecté l'économie Algérienne, les mesures prises par le gouvernement restent une incitation pour la création des entreprises. Le Président de la République, Abdelmadjid Tebboune, a indiqué que l'amendement de la constitution donnera lieu à une adaptation par la révision du code de commerce pour simplifier les conditions de création des entreprises.

Le social : Selon l'Office National des Statistiques (ONS), l'évolution démographique de la population Algérienne a atteint ces dernières années 43,9 millions de personnes, ce qui constitue une relation directe avec le nombre d'étudiants qui s'élève plus de 9 millions pendant 2020. Le niveau d'éducation est alors en développement grâce à l'obligation d'enseignement. Cela crée une opportunité concrète pour notre *startup*.

La technologie : L'Algérie est un pays en développement technologique et c'est ce qui fait le progrès technologique en termes d'innovation ce qui crée une source d'opportunité pour mettre au point de nouveaux produits qui intègrent de nouvelles technologies.

La législation : À cet égard, un ministère spécialisé contribue à encourager les idées et les projets de jeunesse, en particulier les start-up qui bénéficient de l'Agence nationale pour le soutien à l'emploi des jeunes et cela via les décisions prises par le gouvernement, notamment la fixation du cadre juridique qui définit les concepts d'institutions et d'incubateurs émergents.

II .2 Le micro-environnement

Comprend les acteurs qui influencent immédiatement l'entreprise, il regroupe les quatre facteurs analysés comme suit :

Fournisseurs : ils ont une forte influence sur l'entreprise en raison de leur impact efficace et direct sur la fourniture, la qualité et le prix du produit.

Clients : En Algérie, plusieurs établissements formateurs sont créés comme les universités (39 universités incluent la biologie ou la médecine dont 8 se trouvent à l'ouest), les centres universitaires (6 centres incluent des instituts SNV dont 3 se trouvent à l'ouest), 5 écoles normales supérieures des enseignants incluent des classes des sciences de nature et de vie et 6

écoles supérieures ont une formation en biologie aussi 2073 lycées ce qui génère une demande considérable.

Concurrents : Des concurrents directs sont les entreprises qui produisent des lames métaphasiques préparées internationaux et des concurrents indirectes qui sont les importateurs locaux qui vont répondre au même besoin.

II.3 Analyse SWOT

La synthèse obtenue grâce à la matrice SWOT (**Tableau II**) permet de repérer les forces (Strengths) et les opportunités (Opportunities), afin de les maximiser ; les faiblesses (Weaknesses) et les menaces (Threats), quant à elles, seront identifiées pour être analysées avec attention, afin de réduire les risques. La matrice SWOT est utilisée dans le cadre de la création d'une nouvelle prestation, le lancement d'un nouveau produit, la mise en place d'un plan d'action commerciale, ou simplement une réflexion sur des projets entrepreneuriaux potentiels.

Tableau II: Analyse SWOT.

<p><u>Strengths</u> Capacité d'innovation Employés qualifiés et compétents. Premier sur le marché Algérien Produit de haute qualité. En recherche permanente de solutions innovantes pour réduire les coûts. Communication moderne</p>	<p><u>Weaknesses</u> Base de clients réduite Faible part de marché Gamme de produit insuffisamment étendue Nouvelle entreprise Manque d'expérience Ressources financières limitées.</p>
<p><u>Opportunities</u> Marché en croissance. Nouvelle réglementation favorable. Apparition de nouveaux besoins. Absence de compétition locale. Possibilité d'exportation aux autres pays.</p>	<p><u>Threats</u> Nouveaux entrants Concurrents puissants Environnement économique et juridique incertain. Activité économique faible.</p>

III. Etude de marché

L'étude de marché est une phase clef dans la création d'une entreprise. Elle permet de cerner le marché sur lequel nous pouvons lancer et de convaincre les éventuels financeurs. Pour qu'une étude de marché soit efficace, il faut respecter une démarche ordonnée et

structurée et répondre à quatre sujets majeurs : le marché, l'offre, la demande et l'environnement de projet.

III.1 Définir son marché

L'objectif est de réaliser une photographie générale du marché en identifiant ses évolutions. Il faut répondre à plusieurs questions : Sur quel(s) marché(s) l'entreprise va-t-elle évoluer ? Qui seront les clients ou les utilisateurs (le client, celui qui paye, n'est pas nécessairement l'utilisateur) ? Quelle est la dimension géographique du ou des marchés qu'on souhaite cibler ? Quelles sont les évolutions du marché en valeur et en volume ? Les produits ou services directement ou indirectement concurrents.

Pour notre entreprise, le marché que nous ciblons est le secteur d'éducation secondaire et le secteur de l'enseignement supérieur. Nos clients seront les enseignants de biologie ou génétique qui utiliseront ces lames afin d'inculquer des notions de division cellulaire et la structure des chromosomes et l'aspect des caryotypes chez des personnes atteintes de syndrome suite à des aberrations chromosomiques.

Ces lames pourront être un atout pédagogique vivant qui illustre ces notions pour les étudiants. A moyen terme la startup vise la région de l'Oranie et le marché national à long terme car à ce jour les lames métaphasiques qu'ils utilisent sont importées.

Pour cela, nous avons établi une enquête de terrain auprès des étudiants (n=14), des enseignants universitaires (n=9) et quelques fournisseurs (n=2) afin d'évaluer la demande (**Annexe 03**). Le résultat obtenu démontre que la moitié des enseignants attribuent les problèmes de démotivation de l'étudiant au non-perception du lien entre ce qui s'enseigne théoriquement et ce qui doit avoir en pratique (**Figure 18**).

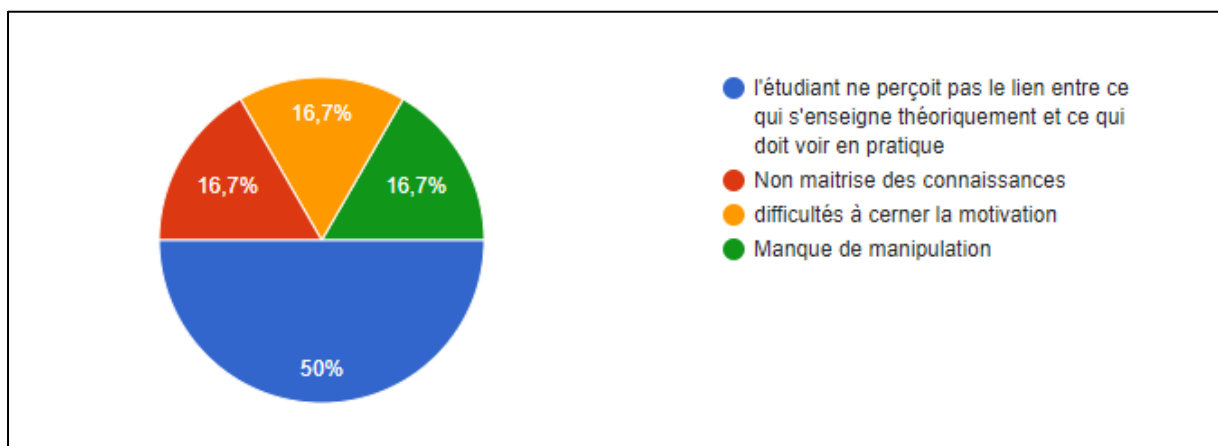


Figure 18: Diagramme circulaire représente le pourcentage des problèmes de démotivation.

De plus, la plus part des participants qui sont conforté à ce problème suggèrent l'amélioration des explications théoriques par des observations et des manipulations pratiques, ainsi l'illustration avec des exemples concrets (**Figure 19**).

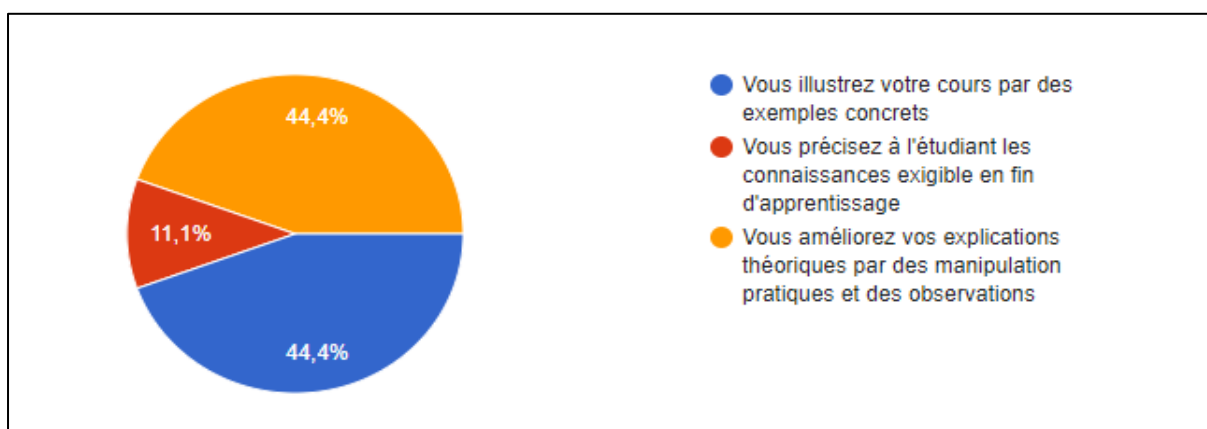


Figure 19:Diagramme circulaire représente le pourcentage des méthodes traitées par les enseignants à fin de motiver les étudiants.

Ce questionnaire nous a permis d'observer que tous les enseignants utilisent des procédés de motivation, ils voient que les travaux pratiques aident les élèves et les étudiants à comprendre la démarche scientifique, aussi ils pensent qu'une observation sous microscope optique des cellules en division et des chromosomes colorés va améliorer significativement la compréhension du cours et élargie l'imagination.

De plus, 100% des enseignants confirment que l'absence ou l'arrivée tardive des produits influence négativement sur le déroulement des recherches et que la disponibilité des produits au niveau national constitue une motivation pour le bon déroulement des enseignements.

Tandis que, les étudiants universitaires et du secondaires trouvent que les travaux pratiques sont très intéressants mais ils souffrent du manque de matériels et d'autre problèmes (**Figure 20**).

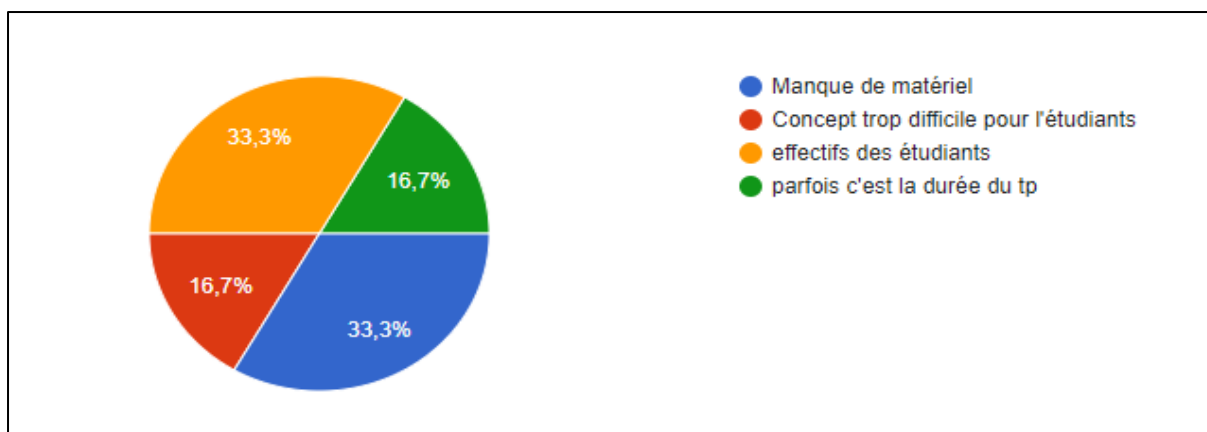


Figure 20:Diagramme circulaire représente le pourcentage des problèmes qui handicapent le déroulement ou la réalisation des TP.

Les étudiants qui ont déjà réalisés des observations des coupes histologiques et des chromosomes dans les cellules pensent que ce type d'observation aide à mieux comprendre les notions biologiques, ils souhaitent aussi d'utiliser des lames préparées pour faire le lien entre les notions théoriques et la réalité.

Cela va créer un véritable besoin dans le domaine scientifique ce qui favorise la commercialisation de notre produit.

Aussi bien que, les fournisseurs encouragent la production nationale et confirment qu'il y a une demande sur les lames de caryotype où les prix sont représentés dans (**Figure21**).

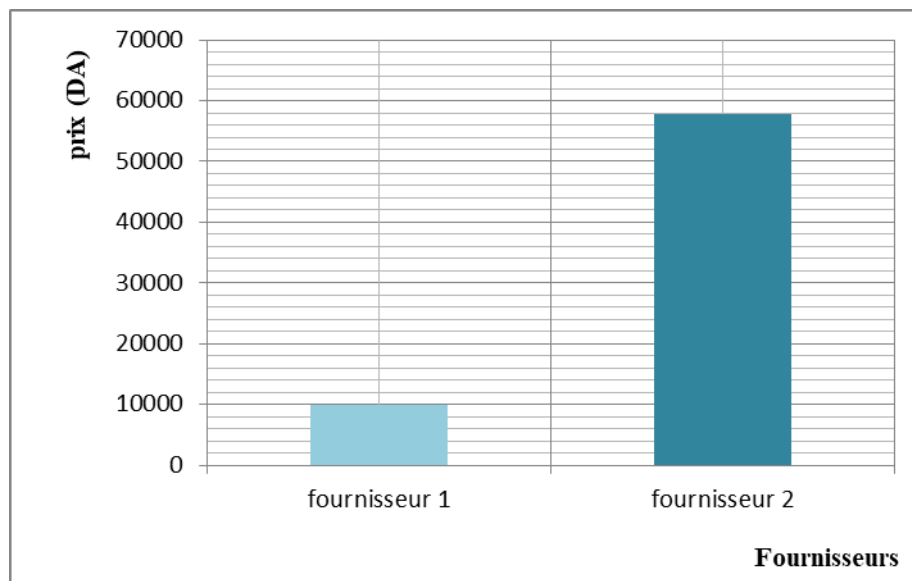


Figure 21: Diagramme représente le prix unitaire des lames de caryotype.

Dans un second temps, il faut rechercher quels sont les produits qui seront les concurrents directs, mais également indirects, c'est-à-dire qui peuvent se substituer à son produit. Les acteurs (concurrents, clients, utilisateurs, prescripteurs...) l'identification et la définition des principaux acteurs est importante pour une connaissance pointue du marché.

Dans notre mini-projet, nos concurrents directs sont les producteurs des lames métaphasiques préparées internationaux, mais aussi les importateurs locaux qui sont les concurrents indirects. Les principaux acteurs du marché sont les concurrents mentionnés précédemment, les clients potentiels sont à savoir les écoles secondaires et l'université tandis que les utilisateurs seront les enseignants de biologie et génétique et les étudiants.

III.2. Analyser la demande

C'est la première étape qui va permettre d'esquisser les grandes lignes de la demande, mais il faut obtenir davantage d'informations pour pouvoir, par la suite, prendre des

décisions. Un portrait précis des clients et/ou des utilisateurs (**Tableau III**) a été réalisé pour déterminer leur comportement résumé. L'évolution globale de la demande est appréciée en interrogeant sur les tendances d'évolution de la demande : Quelle est la taille du marché et quelles sont les quantités vendues ?

Comment Quelles sont leurs motivations ? Quels sont leurs freins ? Quelle est leur perception du produit et/ou du service ?

Tableau III: Profil de la clientèle potentielle.

Qui seront vos clients ?	Etudiant, enseignants de biologie, commerçant
sexe	Homme et femme
Lieu	Algérie
Niveau de revenu	Bas – moyen – élevé
Décrire les circonstances qui entourent l'achat du produit	Régulier
A quelle fréquence utilisent-ils ce produit	Pendant les TP, workshop
Taille future du marché	Augmentation
Pourquoi les clients ont-ils besoin de ce produit	illustratif, motivant,
Canal de distribution	B to B
Satisfaction	Satisfaits
Perception du produit	Kit fixe de Haute qualité : 5, 15 et 20 pièces.
les caractéristiques du produit	Lame de microscope en verre, préparée, conservable.

III.3. Analyse de l'offre

De même que pour l'analyse de la demande, une analyse fine de l'offre permettra d'établir plus précisément la stratégie. Evolution globale de l'offre en présentant les différents produits (et/ou services) et entreprises présents sur le marché ainsi que les leaders, caractéristique de l'offre et des entreprises concurrentes. Une analyse de manière détaillée concernant les concurrents directs est illustrée dans le (**Tableau IV**).

Tableau IV: Profil des concurrents.

Caractéristiques des concurrents	Concurrent A	Conçurent B
Nom	HYEDU	Vic Science
Type de produits/ services	offre éducative	offre éducative
Prix	50,00 \$US/14 pièces	25.00\$/10 pièces
Qualité du produit	Lame en verre préparées	Lames en verre, quartz et plastique préparées
Taille des lames	25.4*76.2*1.2mm	25.4*76.2*1.2mm
Emballage	Ensemble fixe à partir de lames préparées au microscope HYEDU 1. Coton EPE dans la boîte 2. carton d'exportation	Paquet de carton de papier, preuve de l'eau, taille: 35*40*30 cm, G. w. 16 KG, 25 cartons = 1 CBM.
Capacité	100000 Pièce/Pièces per	200000 Pièce/Pièces per Month

d'approvisionnement:	Month	
Lieu/Implantation	Henan, China	Henan, China
Distribution utilisée	e-commerce via le site Alibaba	e-commerce via le site Alibaba
Promotion / publicité utilisée	- 49 Ensembles 50,00\$ US >=50 Ensembles 48,00 \$US	\$70.00% de réduction Commandez plus que \$8,000.00 \$30.00% de réduction Commandez plus que \$4,000.00 \$15.00% de réduction Commandez plus que \$1,400.00 \$5.00% de réduction Commandez plus que \$550.00
Chiffre d'affaire total	Moin de 1 million \$	Confidential
A qui vendent-ils ?	<u>Marché intérieur 20.00%</u> <u>Europe de l'Ouest 15.00%</u> <u>Moyen-Orient 15.00%</u>	<u>Marché intérieur 30.00%</u> <u>Amérique du Nord 15.00%</u> <u>Amérique du Sud 15.00%</u>
Comment communiquent-ils ?	Réseaux sociaux	
leurs clients	étudiants, enseignants, concessionnaires, scientifique etc.	

IV. Etude marketing

Le marketing est l'ensemble des actions ayant pour objectif de prévoir ou de constater, et le cas échéant, de stimuler, susciter ou renouvelé les besoins du consommateur, en telle catégorie de produits et de services, et de réaliser l'adaptation continue de l'appareil productif et de l'appareil commerciale d'une entreprise aux besoins ainsi déterminés (Armstrong G et al, 2013).

Notre mini-entreprise a pour but de faciliter l'achat et offrir des lames a production local, économique et consiste à faciliter la manipulation au élèves de lycée et les étudiants de biologie afin de mieux comprendre les notion scientifique et aussi aider l'enseignant à convertir l'information théorique en pratique. Pour atteindre nos objectifs il est nécessaire de suivre un plan marketing (4P).

IV.1.Politique de produit

La politique de produit est un élément du marketing mix comprend notamment les choix relatifs aux caractéristiques des produits ou services (design, packaging, marque, labels) décrite dans le tableau ci-dessous (**Tableau V**).

Tableau V:Marketing de produit.

Marque	WCK Slides
Qualité	Lame en verre de haute qualité
Style	le packaging : les lames de caryotype seront préparées, organisées et conservées dans des boîtes accompagnées avec une notice.
Taille	25.4x76.2mm (1"x3") 25x75mm 26x 76mm.
Caractéristique	Caryotype de différents syndromes
Emballage	Kit de 20 pièces dans un coffret en plastique protégé dans une boîte en plastique couvertes par le coton EPE emballée dans une boîte en carton. Kit de 15 pièces organisées dans une boîte en bois couvertes par le coton EPE emballée dans une boîte en carton.
Service après-vente	Livraison

IV.2.Politique de prix

La politique de prix comprend la démarche de fixation d'un prix pour un produit ou celle relative à la fixation des prix au sein d'une gamme. Elle prend en compte (Coûts ou prix de revient, l'image du produit, ...Etc.) (**Tableau VI**).

Tableau VI:Marketing de prix.

Cout de revient	Boite en plastique	Boite en bois
	70904, 308 DA / boîte à 20 Pièces	42209 ,187DA/ boîte à 15 pièces
Tarif	92174,6DA	54871 ,9361
Taux de marge	30%	
Justification du prix	Idée nouvelle, inexistante en Algérie Prix fixé pour couvrir les charges plus un bénéfice en s'alignant par rapport au concurrent	
Justification du crédit	Améliorer le cadre éducatif et motiver les étudiants.	

Après avoir comparé le prix avec le concurrent direct, le prix fixé par notre entreprise est plus bas par rapport au concurrent car nous assurons une production locale tandis que le prix du concurrent qui est considéré comme produit importé soumis à d'autres procédures mener à

s'envoler le cout des frais préventifs, frais de douane et les frais de transport sans oublier les bénéfiques. Donc le prix va se doubler ou tripler. Ce qui constitue un avantage pour nous.

IV.3.Politique de distribution

Pour atteindre ses clients et leur proposer son produit ou son service, une entreprise s'appuie sur des canaux de vente. Dès la création de son business plan, toute entreprise se retrouve confrontée au choix délicat, mais pourtant stratégique des multiples canaux existants sur lesquels diffuser son offre. Que votre canal principal soit une boutique physique ou un site de e-commerce, il s'agit d'identifier le type de canal le plus avantageux ou rentable en fonction de votre stratégie. Sur le marché des prestations de services. Vu que nos cibles sont des professionnels on a adapté la stratégie B to B.

IV.3.1.Le marketing B to B

Le marketing business to business ou marketing B to B est le marketing des entreprises qui vendent à des professionnels, par opposition au marketing de la grande consommation où acheteurs et consommateurs sont des individus ou des familles (*Lendrevie J et al, 2012*).

Le marketing B to B est un domaine vaste qui influe non seulement la distribution mais aussi le prix, le produit et la communication.

IV.4.Politique de communication

La politique de communication entendue au sens large dans le cadre du marketing mix regroupe principalement les actions de publicité, de marketing direct et de promotion des ventes (*Singh M.2012*).

La stratégie de communication que nous allons adopter c'est la publicité sur les réseaux sociaux qui sont souvent utilisés en Algérie. Facebook est la plateforme la plus adaptée pour faire connaître notre produit. Sur d'autres réseaux tels qu'Instagram ou Pinterest, le clic sera redirigé vers la page du produit ou l'offre qui suscite l'intérêt de notre client.

V.Business Model CANVAS

Le Business Model Canvas est un outil qui permet de structurer et de visualiser le modèle économique .Il est défini par son désigner Alexander Osterwalder comme « un outil conceptuel qui comporte un ensemble de composante et leurs relations et qui permet d'exprimer la logique d'affaires d'une entreprise spécifique ».

IL sert à formaliser le modèle économique d'un projet entrepreneurial et de structurer les idées, à pousser à la réflexion et à la créativité.

Tableau VII: Business Model CANVAS.

Nom de l'entreprise : WCK Slides		Date: 04/06/2020		
Partenaires clés <ul style="list-style-type: none"> Les universités, les établissements secondaires. Fournisseurs : 	Activités clés Développement du côté pratique dans le cadre éducatif.	Offre (proposition de valeur) <ul style="list-style-type: none"> Kit de lames de caryotype préparées. Quadrillage des lames pour repérer les métaphases. Disponibilité des lames au niveau national au lieu d'importer Faciliter la manipulation et gagner le temps pendant les TP 	Relation client <ul style="list-style-type: none"> Une assistance 24h/24h 7jrs/7jrs présence sur les réseaux sociaux (service en ligne) cout réduit 	Segments de clientèle Les enseignants de biologie et génétique, étudiants universitaire de biologie, élève de lycée.
Ressources clés <ul style="list-style-type: none"> Les laboratoires de recherches Les producteurs des lames en verre Les producteurs de réactifs Les patients volontaires. 		Canaux de distribution <ul style="list-style-type: none"> B to B 		
Structure des coûts <ul style="list-style-type: none"> Les couts des lames Les couts des réactifs Les couts d'emballage 				Sources de revenus <ul style="list-style-type: none"> produit de haute qualité Service de vente et de livraison rapide Prêts à payer jusqu'à... Païement en ligne

Conclusion et perspective

La culture des cellules est l'un des outils les plus importants dans la science de la vie, elle consiste à faire croître des cellules en dehors de l'organisme par l'utilisation de plusieurs techniques. La culture cellulaire représente un système expérimental simple pour l'utiliser dans différents aspects, parmi eux : les tests de toxicité, les effets de médicaments sur les cellules ainsi pour étudier les différences de base entre deux cultures cellulaires cancéreuse et saines, elle sert aussi comme usine de production de nombreux produits tels que les protéines à valeur médicale ou commerciale. Et encore les cellules cultivées peuvent être examinées pour rechercher des anomalies à l'aide de caryotypes.

Le caryotype est alors le point de départ pour atteindre des objectifs bien précis via la startup WCK Slides.

Ce mini-projet a pour promouvoir la culture entrepreneuriale en Algérie et faciliter la compréhension des concepts scientifiques, en particulier ceux nécessitant un travail pratique à travers la commercialisation des lames des caryotypes. Il fallut dans un premier temps, faire cultiver des cellules sanguines prélevées des patients atteints des syndromes de Down, Turner et Klinefelter afin d'étudier la structure des chromosomes.

La structure chromosomique détectée via la conception des caryotypes sur des lames représentées sous forme de Kit. Les lames seront étiquetées, organisées dans des coffrets étagés et mises dans des boîtes en plastique ou en bois et bien emballées dans des boîtes en carton couvrant par le coton EPE.

Il convenait alors ensuite d'adopter une étude entrepreneuriale consiste à analyser le micro et le macro-environnement du Start up WCK Slides, ainsi de réaliser une étude de marché tout en le décrire, mesurer leur taille, définir le client, le fournisseur et le concurrent. Et finir par un plan Marketing qui comporte les 4 p : produit, prix, promotion et politique de distribution pour ce dernier P nous y avons été adoptés la stratégie B to B.

Ce travail de mémoire voulait principalement à encourager la production locale pour faire avancer l'économie nationale tout en exploitant les concepts biologiques dans le commerce ce qu'est encouragé par le financement fourni par l'ANSEJ, mais dans cette nouvelle perspective il convient d'élargir l'ambition, de réaliser des caryotypes d'autres syndromes tels que le syndrome de : Prader Willi, Swyer, Cris de chatetc., de cibler d'autres clients ; les enfants par exemple et leur fournir des lames sous forme de jeux ou une carte synthétique pour assembler, classer les chromosomes et définir le syndrome ; et encore aller vers la commercialisation des lames de coupes histologiques et d'autres formes de lames pédagogiques pour étudier d'autres phénomènes biologiques et physiologique.

Annexes

Annexe 0 1:Consentement de prélèvement Identité du Médecin.

Consentement de prélèvement dans un but d'étude génétique et / ou de conservation dans une banque d'ADN chez une personne MAJEURE Consentement établi en deux exemplaires dont un a été remis à l'intéressé(e). Je soussigné(e).....né(e) le : Demeurant à..... accepte que soit effectué chez moi un prélèvement sanguin afin de faire réaliser une étude de génétique moléculaire, qui peut aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie : pour moi-même ou des membres de ma famille, selon la proposition du Docteur Dans certains cas, la connaissance de mon origine géographique est nécessaire pour orienter les études génétiques. J'en autorise le recueil. Je n'en autorise pas le recueil. (Rayer la mention inutile) Cette étude sera faite à partir de l'ADN extrait du sang prélevé, qui sera conservé dans la banque d'ADN du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire de l'USTO. Dans certains cas, cette étude peut s'étendre sur plusieurs années. A tout moment je peux demander que mon ADN me soit restitué ou détruit. Je déclare avoir été pleinement informé(e) de la nature des études qui seront effectuées et des conséquences éventuelles des résultats qui peuvent m'être donnés. Ces résultats seront transmis uniquement au Docteur Je souhaite Je ne souhaite pas (rayer la mention inutile) en être informé(e) par lui. Je consens au recueil, à la saisie et au traitement des données contenues dans mon dossier médical par des personnes tenues au secret professionnel. Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles. Je n'en autorise la consultation qu'aux personnes qui collaborent à l'analyse. Je pourrai à tout moment demander que mon dossier soit détruit. Conformément à la loi Informatique et Libertés, je peux exercer mon droit d'accès aux données qui me concernent par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix. L'utilisation éventuelle de mon ADN à des fins de recherche médicale, pour une étude non directement liée à celle à laquelle je consens ce jour, nécessitera un nouveau consentement de ma part.

Fait à :.....

le :.....

Signature du médecin recueillant le consentement

Signature de L'intéressé(e)

Annexe 0 3:Questionnaire.

Les étudiants sont amenés à observer des lames préparées (coupes histologique, caryotypes...) pour analyser et retirer les critères de diagnostic pertinents à fin de reconnaître les anomalies de chaque patient et savoir différencier entre le caryotype d'un patient sain, atteint et le type de syndrome.

Le cours théorique développe le savoir être, tandis que, les travaux pratiques développe plutôt le savoir-faire.

Ce questionnaire s'adresse aux fournisseurs, enseignants, chercheurs et aux étudiants .Les réponses resteront anonymes.

Dans le contexte d'améliorer l'environnement éducatif et la recherche scientifique, cette enquête vise à mieux connaître les besoins ainsi les obstacles qui entraver le développement dans le domaine scientifique.

1. Questions destinées aux fournisseurs :

Quelles sont le type de lame que vous commercialisez. Ex : coupe histologique, caryotype.....etc.?

.....
.....

Est qu'il y a une demande sur les lames de caryotype ?

- Oui
- Non

Quelle est le prix unitaire de ces lames de caryotype ?

.....
...

Assurez-vous un service après-vente ?

- Oui
- Non

Si oui, veuillez le préciser

.....
.....

Encouragez- vous la production nationale ?

- Oui
- Non

2. Questions destinées aux enseignants:

Quel moyen utilisez-vous pour motiver l'étudiant

- Vous illustrez votre cours par des exemples concrets
- Vous précisez à l'étudiant les connaissances exigible en fin d'apprentissage
- Vous améliorez votre explication théorique par des manipulations en pratique

A quoi attribuer vous les problèmes de démotivation chez l'étudiant ?

- L'étudiant ne perçoit pas le lien entre ce qui s'enseigne théoriquement et ce qui doit voir en pratique
- Non maîtrise des connaissances
- Difficulté à cerner la motivation
- Manque de manipulation
- Autre

Utilisez-vous des procédés de motivation dans votre enseignement de biologie

- Oui
- Non

Est-ce que vous voyez que la manipulation pendant les TP permet aux étudiants à mieux comprendre la démarche scientifique

- Oui
- Non

Pensez-vous qu'une observation sous microscope optique des cellules en division et des chromosomes colorés va améliorer la compréhension et élargit l'imagination de l'étudiant

- Oui
- Non

A votre avis la disponibilité des lames préparées (des coupes histologique, de métaphase de caryotype...) dans l'établissement va aider les étudiants /élèves à développer leur maîtrise de méthodes scientifiques

- Oui
- Non

Est-ce que l'absence ou l'arrivée tardive des produits influence le déroulement de votre recherche

- Oui
- Non

Pensez-vous que la disponibilité des produits au niveau nationale constitue une motivation pour le bon déroulement des enseignements ?

- Oui
- Non

3. Question destinées aux étudiants

Année d'études

- 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} année secondaire.
- Université

Comment trouvez-vous les travaux pratique de SNV

- Très intéressant
- Peu intéressant
- Inintéressant

Quelles difficultés rencontrez-vous pendant le TP

- Manque de matériel
- Concept trop difficile pour l'étudiant
- Effectifs des étudiants
- Autre

Est-ce que vous avez déjà manipulez avec le microscope optique et réaliser des observations histologique et des chromosomes dans les cellules ?

- Oui
- Non

Pensez-vous que ce type d'observations va vous aidez à mieux comprendre les notions de biologie ?

- Oui
- Non

Souhaitez-vous utiliser des lames préparées pour faire le lien entre les notions théoriques et la réalité ?

- Oui
- Non

Référence
Bibliographiques



A.

Abaïrou, A. (2013). Application des cytogénétiques conventionnelle et moléculaire dans les syndromes myélodysplasiques (Doctoral dissertation).

Akine, R., & Ferfera, Y. (2014). Entrepreneuriat et création d'entreprise en Algérie: une lecture à partir des dispositifs de soutien et d'aide à la création des entreprises. *Revue Sciences Économiques et de Gestion*, (14), 64-78.

Ancelin, R. (2004). Glucides et santé: Etat des lieux, évaluation et recommandations. Agence.

Armstrong, G., & Kotler, P. (2013). *Principes de marketing*, 11^{éd.}

B.

Barbouche, N. (2008). Réponse biologique de cellules animales à des contraintes hydrodynamiques: simulation numérique, expérimentation et modélisation en bioréacteurs de laboratoire (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).

Barnes, D., & Sato, G. (1980). Serum-free cell culture: a unifying approach. *Cell*, 22(3), 649-655.

Belaud-Rotureau, M. A., Elghezal, H., Bernardin, C., Sanlaville, D., Radford-Weiss, I., Raoul, O., & Romana, S. P. (2003, April). Le caryotype spectral (SKY): principe, avantages et limites en cytogénétique constitutionnelle et tumorale. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 61, No. 2, pp. 139-46).

Bouhanna, P., Bernabé-Dupont, C., Benoist, G., & Jacquemard, F. (2015). Cytomégalo virus chez la femme enceinte: indication de la sérologie et implications. *Médecine de la Reproduction*, 17(1), 38-43.

Bouque, V. (1997). Étude de la production de métabolites secondaires par des cultures in vitro de Psoralées (leguminosae) (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).

Bourguiba, M. (2007). De l'intention à l'action entrepreneuriale: approche comparative auprès de TPE françaises et tunisiennes (Doctoral dissertation).

Boutillier, S., & Uzunidis, D. (1994). La légende de l'entrepreneur: le capital social ou comment vient l'esprit d'entreprise, Syros, 1999. Bourdieu P., *Raisons pratiques: sur la théorie de l'action*, Editions du Seuil.

Brou, P. R. J. (2014). Culture de cellules animales dans l'industrie pharmaceutique: production de protéines thérapeutiques d'une petite échelle à une échelle industrielle (Doctoral dissertation).

Butler, M. (2004). *Animal cell culture and technology*. Taylor & Francis.

C.

Cezard, F. (2009). *Biotechnologies en 27 fiches*.

D.

Dupont-Monod, J. (2014). Etablissement et exploitation d'une lignée cellulaire de gliome canin pour la recherche thérapeutique (Doctoral dissertation).

Di Donna, S., Mamchaoui, K., Cooper, R. N., Seigneurin-Venin, S., Tremblay, J., Butler-Browne, G. S., & Mouly, V. (2003). Telomerase Can Extend the Proliferative Capacity of Human Myoblasts, but Does Not Lead to Their Immortalization. *Université Pierre et Marie Curie; Centre National de la Recherche Scientifique; Association de Recherche contre*



le Cancer (ARC); Association Française contre les Myopathies (AFM); European Community (contract QLK6-1999-02034); and the Parent's Project (Netherlands). SDD was supported successively by ARC, the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM), and by AFM. RNC was supported by the AFM. *Molecular Cancer Research*, 1(9), 643-653.

F.

Freshney, R. I. (2010). Culture of animal cells a manual of basic technique and specialized applications. In *Physiologies, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain* (pp. 633-641). Springer, Paris.

Froger, B., & Adolphe, M. (1988). Besoins nutritifs des cellules en culture. *Culture de cellules animales Méthodologies–Applications*. INSERM, Paris, 9-15.

Furger, C. (2016). *Les tests cellulaires: De la recherche aux applications industrielles en toxicité et santé*. ISTE Group.

G.

Gautheret, R. J. (1959). Milieux de culture. *La Culture des Tissus Végétaux*, 11-34.

Georgia, B. M., & Xavier, R. O. N. O. T. (2014). *Culture de cellules animales* (3^e Éd.). Lavoisier.

Gerin-Roze, G., Hemon, D., Berger, C., & Festy, B. (1979). Utilisation de cultures de cellules de lignée continue HeLa pour la mise en évidence de potentialités toxiques in vitro. *Water Research*, 13(8), 739-743.

Guechtouli, W., & Guechtouli, M. (2014). *L'entrepreneuriat en Algérie: quels enjeux pour quelles réalités?*. IPAG Business School, Paris.

H.

Handbook, C. C. B. (2016). Thermo Fisher Scientific.

Harrison, R. G. (1914). The reaction of embryonic cells to solid structures. *Journal of Experimental Zoology*, 17(4), 521-544.

J.

Jaffray, J. Y., Giollant, M., Perissel, B., & Vago, P. (2002). Du caryotype «monocouleur» au caryotype «multicouleur»: applications de la M-Fish en hématologie et en oncologie. *Bulletin du cancer*, 89(2), 174-80.

John Langdon, H. (1866). Down was the first to describe the disorder. Down JLH, "Observations on an ethnic classification of idiots." *London Hospital Reports*, 3, 259-62.

John Ryan, Ph.D. 2007. Introduction à la culture de cellules animales Bulletin technique Corning Incorporated Printed in E.U. 6/05 KP 5M CLS-AN-042 Français.

K.

Klinefelter Jr, H. F., Reifenshtein Jr, E. C., & Albright Jr, F. (1942). Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without A-Leydigism, and increased



excretion of follicle-stimulating hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology*, 2(11), 615-627.

Kohler, Chantal. (2010). *Les épithéliums*, Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC).

L.

Leghima, A., & Djema, H. (2014). PME et innovation en Algérie: limites et perspectives. *Marche et organisations*, (1), 73-98.

Lejeune, J. T. R. G. M., Turpin, R., & Gautier, M. (1959). Le mongolisme, premier exemple d'aberration autosomique humaine. *Ann Genet*, 1(4), 1-49.

Lendrevie, J., & Lévy, J. (2012). *Mercator 2013: Théories et nouvelles pratiques du marketing*. Dunod.

M.

Maâlej, A. (2013). Les déterminants de l'intention entrepreneuriale des jeunes diplômés. *La Revue Gestion et Organisation*, 5(1), 33-39.

Macleod, M.R., O'Collins, T., Howells, D.W., Donnan, G.A., 2004. Pooling of animal experimental data reveals influence of study design and publication bias. *Stroke* 35, 1203–1208.

Madigan, M., & Martinko, J. (2007). *Brock. Biologie des micro-organismes*. 11^e édition. Edition Person Education France, 599-601.

Masson P.L., Sanlaville C., 2005- *Biologie moléculaire de la cellule*, 3^{ème} édition, Boeck & Larciens .a., Paris, 235-238 P.

Mather, J. P., & Roberts, P. E. (1998). *Introduction to cell and tissue culture: theory and technique*. Springer Science & Business Media.

Morel, G., & Martin, C. (1952). Virus-free Dahlia through meristem culture. *CR Hebd. Seances Acad. Sci. Paris*, 235, 1324-1325.

Mulsant, P., Dalens, M., Echard, G., Gellin, J., Yerle, M., & Gillois, M. (1985, November). Perspectives d'applications du génie génétique en sélection porcine. In *Journées de la Recherche Porcine en France*. INRA.

R.

Radu Lefebvre, M., & Redien-Collot, R. (2013). "How to do things with words": The discursive dimension of experiential learning in entrepreneurial mentoring dyads. *Journal of Small Business Management*, 51(3), 370-393.

Rembur, J. (1974). Cycle cellulaire et teneurs en ADN nucléaire de cellules en suspension de l'Acer pseudoplatanus en phase exponentielle de croissance. Hétérogénéité de la culture. *Canadian Journal of Botany*, 52(7), 1535-1543.

Robert, F., Cloix, J. F., & Hevor, T. (2012). Ultra structural characterization of rat neurons in primary culture. *Neuroscience*, 200, 248-260.

Rooney, D. E., & Czepulkowski, B. (Eds.). (2001). *Human cytogenetics: constitutional analysis: a practical approach* (Vol. 1). Oxford University Press, USA.

S.

Singh, M. (2012). Marketing mix of 4P's for competitive advantage. *IOSR Journal of Business and Management*, 3(6), 40-45.



Stöckigt, J., Treimer, J., & Zenk, M. H. (1976). Synthesis of ajmalicine and related indole alkaloids by cell free extracts of *Catharanthus roseus* cell suspension cultures. *FEBS letters*, 70(1-2), 267-270.

Supramaniam, A., Cartier-Michaud, A., Charrière-Bertrand, C., Malo, M., & Barlovatz-Meimon, G. (2014). Dynamique du microenvironnement cellulaire. Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), Rapport, 167.

T.

Tachdjian, G., Féraud, O., Bas, C., Magniez, A., Oudrhiri, N., & Bennaceur-Griscelli, A. L. (2011). Cellules souches embryonnaires et cellules pluripotentes induites, aspects biologiques et applications.

Tepeli, E., Breyse, D., Demilecamps, L., Taillandier, F., Denat, A., & Hudrisier, B. (2012). Etude de l'environnement d'un projet de construction complexe et stratégique. In Conférence nationale AUGC, Chambéry, Mai 2012.

Thouvenot, D., Billaud, G., & Morfin, F. (2004). Actualité de la culture cellulaire et de son application au diagnostic des infections virales. *Virologie*, 8(4), 297-309.

Turner, H. H. (1938). A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus. *Endocrinology*, 23(5), 566-574.

U.

Unchern, S. (1999, August). Basic techniques in animal cell culture. In *Drug Deliv. Syst. Workshop* (pp. 19-20).

Uppangala, N. (2010). Application of animal cell culture technique. *Biotech articles*.

W.

White, P. R. (1936). Plant tissue cultures. *The Botanical Review*, 2(8), 419-437.

Y.

Yao, T., & Asayama, Y. (2017). Animal-cell culture media: history, characteristics, and current issues. *Reproductive medicine and biology*, 16(2), 99-117.

Résumé

La faiblesse ou l'absence de l'esprit entrepreneurial en Algérie, qui est affirmé par des experts, constitue un obstacle du développement durable et économique. De ce fait, l'université est hautement sollicitée pour développer des projets qui visent la création d'entreprise.

Ce projet essaie d'émerger cette culture entrepreneurial pour aboutir à des bénéfices sur le plan économique et éducatif à savoir la création de notre *Startup WCK Slides* ; qui va fabriquer des kits de lame des caryotypes réalisées sur différents syndrome tels que ; syndromes de Down, Turner et Klinefelter.

Le caryotype est une technique longue qui nécessite une culture cellulaire et qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Ceci offre la possibilité de visualiser la totalité du génome et la division cellulaire.

Les lames qui sont réalisées par la *Startup WCK Slides*, seront un outil indispensable pour appuyer la théorie à savoir la compréhension de la division cellulaire, la structure des chromosomes et l'identification de l'aberration chromosomique.

Pour la réalisation de ces lames nous avons fait le recrutement des patients atteints par ces syndromes au niveau de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran. La méthode utilisée est une culture cellulaire sur les cellules blanches du sang. Par la suite, nous avons préparé des lames qui seront représentées sous forme d'un kit pour le commercialiser. Ce kit de lames de caryotype sera utilisé à des fins pédagogiques par les enseignants en biologie et en génétique.

La partie entrepreneuriale, sera la stratégie de notre startup qui a débuté par l'étude du Macro-environnement et Le micro-environnement et l'analyse SWAT qui ont pour but de déterminer les opportunités et les menaces. Ensuite, l'étude de marché qui comporte le l'analyse de la demande et l'offre. Tandis que, l'étude marketing va définir la politique du produit et prix du kit commercialisé par la startup *WCK slides*. Et enfin, une stratégie de marketing est tracée afin de faire connaître le kit sur le marché. Ceci sera un premier pas pour la réalisation de notre mini entreprise *WCK Slides*.

Ce kit de lames répondra à un véritable besoin qui va réduire l'importation de ce type de produit. Ceci va engendrer des prix réduits et gain de temps entre la commande et la livraison.

Mots clé: Culture cellulaire, Caryotype, Métaphase, Lame, Entreprise, Startup.