

Septembre 2020 (NL N°1) : les gels de polyacrylamide

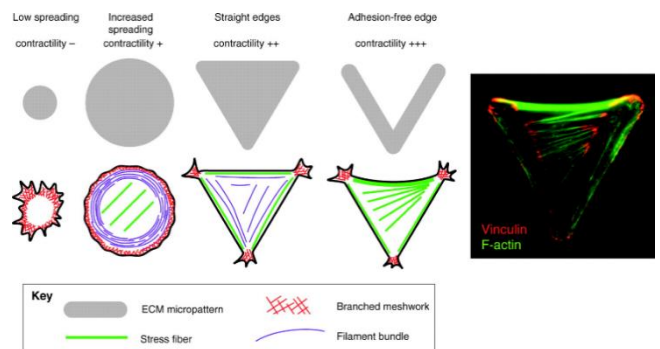
Novembre 2020 (NL N°2) : zoom sur l'IncuCyte et ses applications

... sont à retrouver sur le site web de BioMecan'IC (<https://intranet.institutcochin.fr/les-plateformes/plateau-technique-biomechanique-de-la-cellule-1/newsletters>)

zoooooOM... sur la micro-impression pour faciliter l'étude des mécanismes cellulaires

In vivo, l'environnement cellulaire (matrice extracellulaire et cellules voisines) impose des conditions qui influencent l'architecture et la mécanique de la cellule mais aussi sa polarité et ses réponses biologiques (prolifération, expression génique, différenciation...). *In vitro*, dans des conditions classiques de culture cellulaire, ces propriétés importantes du microenvironnement cellulaire sont abrogées : perte de la topographie de l'environnement et rigidité très largement supérieure à la plupart des tissus (cf NL N°1). La micro-impression des molécules d'adhérence en mimant les conditions d'étalement cellulaire sur des substrats de rigidité adaptée peut contribuer à la reconstitution de conditions proches de celles du tissu.

Jouer sur les formes, aires et molécules d'adhérence facilite l'étude des mécanismes cellulaires. Cette approche permet par exemple d'uniformiser les formes des cellules en les confinant de façon à étudier un paramètre qui pourrait être impacté par la forme cellulaire. De même, comme illustré ci-contre et dans les références ci-dessous, cette approche permet d'étudier un grand nombre de cellules dont les images peuvent être superposées afin de mettre en évidence la réponse représentative de l'ensemble des cellules. La micro-impression peut être mise en œuvre pour des questions relatives à l'architecture cellulaire, la polarité, la migration, la prolifération, l'apoptose, la différenciation, les interactions cellules-cellules... (Théry, *J. Cell Sci.* 2010 **123**, pp4201-4213 ; Nakamoto, T et al. *Coll and Surfaces B : Biointerfaces* 2014 **122**, pp316-323 ; Charrier EE et al. *Biophysical Journal* 2016 **110** pp470-480).



Il existe différentes techniques de micro-impression basées principalement sur deux principes. A côté de la technique sophistiquée et très versatile développée par la start-up Alvéole, qui utilise la photo-impression sans masque, "Primo" (Strale P.O. et al, *Adv Mater.* 2016), d'autres techniques utilisent un moule ou un masque sur lesquels les formes à imprimer sont dessinées. On citera par exemple et sans exhaustivité le "Plasma Microcontact Patterning" (PμCP), la micro-impression par deep UV et la micro-impression par tampon... Les deux dernières techniques sont les plus couramment utilisées. BioMecan'IC est en mesure de les proposer.

La micro-impression par tampon

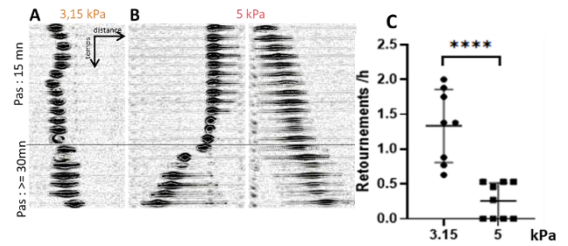
Principe général de la micro-impression par tampon

Son principe est basé sur l'utilisation d'un tampon modelé avec les formes à imprimer sur le substrat (verre, élastomère de PDMS, gel de polyacrylamide). Pour cela, un moule est fabriqué (par l'expérimentateur ou acheté), du PDMS est coulé dans le moule et, une fois le PDMS réticulé, il sera utilisé comme tampon après avoir été recouvert de la molécule d'adhérence à imprimer. Enfin, la molécule d'adhérence est transférée sur le substrat. Ce protocole de base doit être adapté à la nature et les propriétés du substrat.



Application de la micro-impression par tampon

Sur la plateforme, Axelle Guédon a, au cours de son M1, participé à la mise au point de la micro-impression de lignes de 5µm de large sur des gels de polyacrylamide de 3.15 et 5 kPa. La figure ci-contre représente des kymographes de migration des cellules C2C12 (cellules musculaires de souris) sur fibronectine au cours du temps (A et B) et le nombre de retournements que les cellules ont effectués par heure (C). Sur des gels de 5kPa, les cellules sont plus persistantes que sur 3.15 kPa.

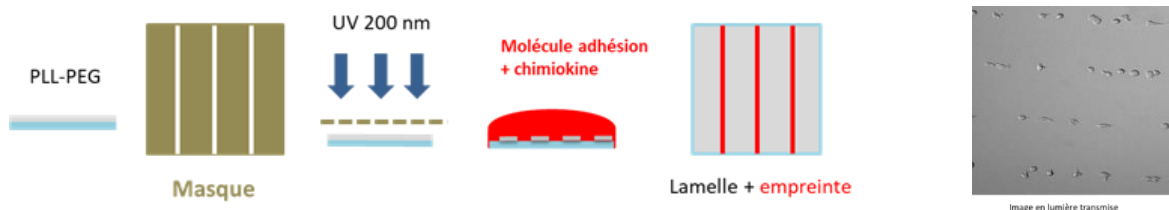


La micro-impression par deep UV

Le principe est basé sur l'utilisation des UV profonds (émis par un banc « Deep UV ») capables de photoconvertir les groupements chimiques du substrat (PLL-PEG) en groupements carboxyl permettant alors une bonne fixation de protéines d'adhérence. Dans un premier temps nos lamelles de verre sont recouvertes de la solution hydrophobe de PLL-PEG.

Dans un second temps un masque permettant ou non le passage des UVs selon les zones et les dessins conçus, est placé dans le tiroir de l'appareil. Ce masque s'interpose entre les lampes UV et les lamelles à imprimer. Le motif d'intérêt ainsi démasqué est alors prêt à fixer molécules d'adhérence puis cellules (Azioume A et al. [10.1016/S0091-679X\(10\)97008-8](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(10)97008-8)).

Précautions : se protéger des UV (sécurité sur l'appareil) et de l'ozone produite (piège à ozone et travail sous hotte chimique).



IAL -FLASH SPECIAL - FLASH SPECIAL - FLASH SPECIAL - FLASH SPECIAL - FLASH

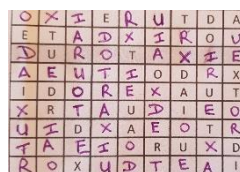
Pour créer des blessures dans un tapis cellulaire ou réaliser des expériences de migration collective, visitez ce site : <https://www.idylle-labs.com/stencell-by-stencil>.

BioMecan'IC a acheté quelques échantillons à votre disposition.

C'est l'instant du petit jeu...

17 21 5 12 13 15 20 9 6 21 20 9 12 9 19 5 18 5 26 22 15 21 19

Solution dans la prochaine newsletter
La solution du Sudoku de la newsletter N°2 :
DUROTAXIE



Toutes les infos sur le site intra/internet de BioMecan'IC. <https://intranet.institutcochin.fr/les-plateformes/plateau-technique-biomecanique-de-la-cellule-1>

Comité éditorial :

Mireille Lambert
Institut Cochin

Bâtiment Gustave Roussy, 8^{ème} étage, pièce 805
27, rue du Faubourg Saint-Jacques 75014 Paris
Tel : 01 40 51 65 54/06 14 95 62 42
E-mail : mireille.lambert@inserm.fr

Clotilde Randriamampita/Fabienne Régnier
Institut Cochin
Bâtiment Gustave Roussy, 3^{ème} étage
27, rue du Faubourg Saint-Jacques 75014 Paris
Tel : 01 40 51 65 60
E-mails : clotilde.randriamampita@inserm.fr
fabienne.regnier@inserm.fr

