



Ampère

Unité Mixte de Recherche du CNRS - UMR 5005

Génie Electrique, Electromagnétisme, Automatique, Bioingénierie

Sujet de thèse : Mesure de bioimpédance individualisée sur cultures cellulaires 3D, application au suivi de la réaction à un traitement physique et /ou chimique

Date de début : Octobre 2024

Type de financement : Contrat doctoral de l'École Doctorale EEA 160

Lieu de la thèse : École Centrale de Lyon

Comité d'encadrement / contacts :

Directrice de thèse : Marie Frénéa-Robin marie.robin@univ-lyon1.fr

Co-encadrants : Julien Marchalot julien.marchalot@insa-lyon.fr

Andrei Sabac andrei.sabac@insa-lyon.fr

Collaboration :

Charlotte Rivière, Institut Lumière Matière (ILM)

Mots-clefs : Bioimpédance, électroporation, sphéroïdes, hydrogel, microfluidique, électrochimiothérapie.

Domaine et contexte scientifiques :

Les sphéroïdes sont des agrégats cellulaires tridimensionnels qui peuvent être employés comme modèles de microtumeurs et simuler le micro-environnement tumoral avec plus de précision que les cultures cellulaires 2D traditionnelles [1]. Ils reproduisent plus fidèlement la structure d'un organe ou d'un tissu, dans lequel chaque cellule interagit avec ses voisines via la formation de jonctions, assurant la cohésion cellulaire et la communication. Dans le cadre de travaux antérieurs, les laboratoires Ampère et ILM ont développé une plateforme microfluidique permettant la culture et l'observation par microscopie d'un large réseau de sphéroïdes cultivés dans des puits formés dans un hydrogel [2], ainsi que l'application de champs électriques pour l'étude du traitement du cancer par électrochimiothérapie [3].

Objectifs de la thèse :

En complément des méthodes optiques existantes, nous souhaitons mettre au point une nouvelle méthode de suivi de la réponse individualisée de chaque sphéroïde à un traitement par mesure de bioimpédance (suivi de croissance, mesure de viabilité, etc.). Cela nécessite d'adapter le dispositif existant pour pouvoir cultiver les sphéroïdes sur un réseau d'électrodes adressables individuellement. Le microsystème ainsi développé pourra permettre l'étude de la réponse individuelle des sphéroïdes à des champs électriques (électroporation) et à plus long terme à d'autres stimuli physiques ou chimiques (criblage de médicaments).

Programme de recherche et démarche scientifique proposée :

Le ou la doctorant.e recrutée devra dans un premier temps dimensionner et fabriquer en salle blanche un réseau de microélectrodes pour la mesure d'impédance individuelle [4,5] et assurer son alignement avec les puits de culture des sphéroïdes, suivant une méthode déjà mise au point à l'ILM. Il ou elle devra également participer au développement de l'électronique de commande (multiplexage). Le travail de dimensionnement sera effectué à l'aide du logiciel de simulation multiphysique Comsol. Lorsque le système sera opérationnel, la mesure d'impédance sera appliquée à l'étude du suivi de croissance de sphéroïdes par approches optique (microscopie à fluorescence) et électrique (mesure d'impédance).

La configuration d'électrodes ainsi que l'électronique de commande seront ensuite adaptées pour permettre l'enchaînement de l'électroporation des sphéroïdes (traitement physique visant à perméabiliser temporairement ou non la membrane des cellules par application de champs électriques pulsés pour permettre la pénétration de molécules [6]) et le suivi en temps réel de la réponse électrique. Les signatures électriques obtenues seront analysées à partir des modèles électriques cellulaires connus (ex: détection d'une perte de viabilité des cellules). Enfin, le ou la doctorant.e cherchera à complexifier la composition des sphéroïdes (ajout de matrice extra-cellulaire) pour permettre l'étude de l'effet du microenvironnement tumoral sur la réponse à un traitement anti-cancéreux, et à augmenter la densité de puits sur la puce, pour faciliter les analyses statistiques.

Profil recherché :

Le ou la candidate aura de préférence un cursus dans le domaine de l'ingénierie biomédicale, du génie électrique ou de la biophysique, avec si possible une expérience en microfabrication/microfluidique. Un bon niveau d'anglais et de rédaction sont attendus, de même qu'un goût marqué pour l'expérimentation. Une expérience de la manipulation d'objets biologiques serait un atout mais n'est pas exigée.

Références bibliographiques en lien avec le sujet :

1. W. Asghar et al., "Engineering cancer microenvironments for in vitro 3-D tumor models," *Mater. Today*, 18, 10, 2015, doi: 10.1016/j.mattod.2015.05.002.
2. P. Bregigeon et al., "Integrated platform for culture, observation, and parallelized electroporation of spheroids," *Lab Chip*, 22, 13, 2022, doi: 10.1039/d2lc00074a.
3. Rivière, C., Prunet, A., Fuoco, L. & Delanoë-Ayari, H. Plaque de micropuits en hydrogel biocompatible. FR 1870349, 2020.
4. Cottet, J., Kehren, A., van Lintel, H. et al. How to improve the sensitivity of coplanar electrodes and micro channel design in electrical impedance flow cytometry: a study. *Microfluid Nanofluid* 23, 11 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10404-018-2178-6>
5. Schmid, Y. R. F., Bürgel, S. C., Misun, P. M., Hierlemann, A. & Frey, O. Electrical Impedance Spectroscopy for Microtissue Spheroid Analysis in Hanging-Drop Networks. *ACS Sensors* 1, 1028-1035 (2016). 10.1021/acssensors.6b00272
6. Geboers, B. et al. High-Voltage Electrical Pulses in Oncology: Irreversible Electroporation, Electrochemotherapy, Gene Electrotransfer, Electrofusion, and Electroimmunotherapy. *Radiology* 295, 254-272 (2020)

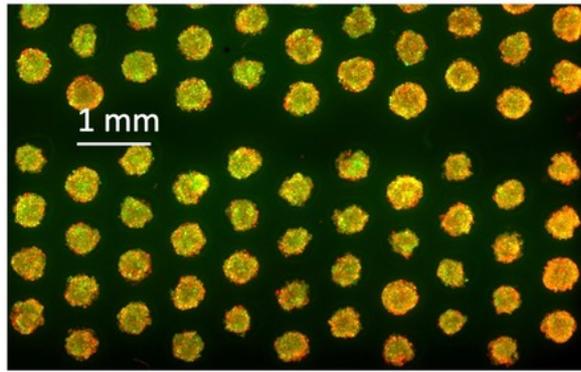


Fig. 1 Sphéroïdes cultivés dans un hydrogel suivant l'approche développée par Rivière et al. [3].