



**HAL**  
open science

## Dispositif de mesures hyperfréquences de cellules biologiques individuelles et suivi du comportement cellulaire vis à vis d'un stimulus thermique

Amel Zedek, Amar Tamra, David Dubuc, Katia Grenier

### ► To cite this version:

Amel Zedek, Amar Tamra, David Dubuc, Katia Grenier. Dispositif de mesures hyperfréquences de cellules biologiques individuelles et suivi du comportement cellulaire vis à vis d'un stimulus thermique. Journées de Caractérisation Microondes et Matériaux (JCMM), Mar 2018, Paris, France. hal-01951735

**HAL Id: hal-01951735**

**<https://hal.laas.fr/hal-01951735>**

Submitted on 11 Dec 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Dispositif de mesures hyperfréquences de cellules biologiques individuelles et suivi du comportement cellulaire vis à vis d'un stimulus thermique

A. Zedek<sup>1</sup>, A. Tamra<sup>1</sup>, D. Dubuc<sup>1</sup> and K. Grenier

<sup>1</sup>LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France

azedek@laas.fr, atamra@laas.fr, dubuc@laas.fr, grenier@laas.fr

**Résumé** — Ce papier présente un dispositif, qui permet de caractériser diélectriquement dans la gamme des micro-ondes des cellules individualisées mesurées directement dans leur milieu de culture et de suivre le comportement des cellules suivant différents stimuli. Le biocapteur micro-ondes spécialement développé pour l'analyse de cellules uniques comporte une partie sensible constituée d'une coupure capacitive de 5  $\mu\text{m}$  de large, sur laquelle la cellule est piégée à l'aide d'un bloqueur mécanique. Nous avons pu montrer que les valeurs extraites des contrastes capacitif et conductif de cellules uniques de 40 MHz à 40 GHz révèlent l'état pathologique de cellules. Une étude plus approfondie sur l'impact d'un stress thermique en fonction de la durée d'exposition a été menée et montre le possible suivi du comportement de cellules vis à vis d'un stimulus. Ce résultat complète les différents atouts présentés par la technique de spectroscopie diélectrique micro-onde, à savoir une analyse cellulaire non invasive et non destructrice.

## I. INTRODUCTION

L'un des plus grands défis dans le domaine de la biologie est de pouvoir évaluer le comportement cellulaire en fonction de stimuli externes si possible sans interférer avec la cellule, afin de mieux comprendre ses mécanismes de fonctionnement et à terme les contrôler [1].

Les techniques d'analyse cellulaire les plus utilisées dans les laboratoires sont de type optique tel que le microscope ou la cytométrie en flux car ces deux techniques ciblent des fonctions cellulaires et permettent d'être précises et efficaces. Néanmoins, leurs principaux inconvénients résident (1) dans le fait qu'elles nécessitent l'utilisation de biomarqueurs invasifs, qui peuvent altérer la cellule, ou qui peuvent également interagir avec d'autres molécules, et (2) dans la préparation des échantillons coûteuse et chronophage.

Avec l'accroissement considérable des combinaisons possibles entre échantillons et réactifs, et afin de contourner les inconvénients des techniques optiques cités plus haut, le développement de laboratoires sur puce [2] est en pleine explosion depuis quelques décennies, avec l'exploitation associée de techniques de détection mécaniques, optiques ou encore électriques.

Parmi ces techniques, nous nous sommes particulièrement intéressés à la spectroscopie diélectrique hyperfréquence, qui permet aussi bien l'analyse de cellules en suspension que de cellules à l'échelle unique directement dans leur milieu de culture. Cette technique permet également d'étudier les cellules sans additifs, colorant ou marqueur, et peut révéler des modifications du milieu intracellulaire avec le suivi de processus biologiques en temps réel.

L'avantage de pouvoir étudier des cellules à l'échelle unique est de pouvoir mieux analyser les variations unitaires et l'hétérogénéité intrinsèque liée au vivant qui ne seraient pas visible avec l'étude simultanée d'un ensemble de cellules [1].

Ainsi, nous nous sommes intéressés à la caractérisation de cellules uniques dans leur milieu de culture dans la gamme des micro-ondes, de 40 MHz à 40 GHz [3]. Outre le développement d'un capteur dédié, nous avons mis en place une méthodologie permettant d'extraire les paramètres électriques de la cellule en termes de contrastes capacitif et conductif vis à vis du milieu de culture des cellules. Nous avons ensuite mis en application cette technique au suivi du comportement de cellules soumises à un stress thermique de durée variable.

Ce papier commence donc par une brève introduction du biocapteur microondes utilisé. Les cellules employées ainsi que le protocole d'extraction des paramètres diélectriques sont ensuite décrits. Enfin, la technique de spectroscopie diélectrique micro-onde est alors évaluée pour suivre le comportement de cellules soumises à un stimulus contrôlé.

## II. MESURES HYPERFREQUENCES DE CELLULES UNIQUES

Cette partie décrit le biocapteur développé pour réaliser la spectroscopie diélectrique de cellules biologiques uniques dans la gamme des hyperfréquences.

### A. Architecture du biocapteur et protocole expérimental

Le biocapteur est constitué de deux fonctions principales, la première est dédiée à la caractérisation hyperfréquences, et la seconde est consacrée à la fluidique et piégeage de particule unique, comme décrit dans la Fig. 1.

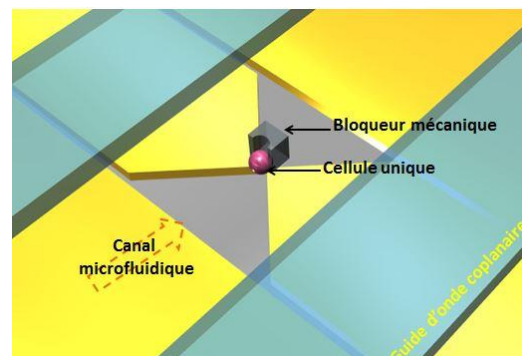


Fig. 1. Architecture du biocapteur, composé d'un gap capacitif de largeur 5  $\mu\text{m}$  et d'un piège mécanique, dans un canal microfluidique, réalisé par procédés de microfabrication.

La fonction de caractérisation micro-ondes est assurée par un guide d'onde coplanaire en or d'une épaisseur de 300 nm sur un substrat en quartz. Ses caractéristiques géométriques telles que largeur du conducteur et des fentes coplanaires sont définies afin d'assurer une impédance caractéristique de 50  $\Omega$  dans l'air. Une coupure capacitive de 5  $\mu\text{m}$  de large est située au centre du capteur. La taille de cette coupure a été optimisée afin de focaliser le champ électromagnétique au niveau de la cellule sous test et ainsi d'augmenter la sensibilité du capteur [5].

La seconde fonction est assurée par un canal microfluidique qui permet l'écoulement du fluide biologique, et un bloqueur mécanique, qui permet le blocage précis de la cellule au-dessus de la coupure capacitive.

Les cellules biologiques étudiées sont des cellules circulantes humaines de leucémie THP1, généralement utilisées par les biologistes pour des recherches en cancérologie. Les cellules sont incubées à 37°C dans leur milieu de culture RPMI (Roswell Park Memorial Institute), implémenté de 10% de sérum de veau foetal. Avant mesure micro-ondes, les cellules sont collectées, compter puis placées dans un milieu de culture frais.

### B. Mesures microondes et extraction des propriétés électriques

Le protocole de mesures micro-ondes est fractionné en plusieurs temps.

Tout d'abord, les paramètres S du biocapteur chargé du milieu seul, puis chargé par une cellule piégée dans son milieu de culture sont mesurés.

Un modèle électrique du biocapteur a ensuite été développé et est indiqué sur la Fig. 2.

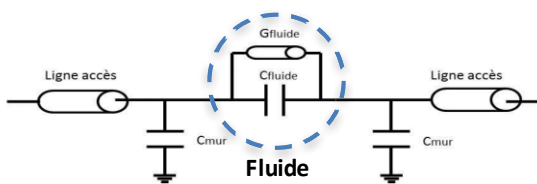


Fig. 2. Modèle électrique du biocapteur chargé par un fluide.

Pour chacun des cas indiqués précédemment (avec milieu seul ou avec cellules dans le milieu de culture), sont extraits les paramètres électriques C milieu, G milieu ou C cellule, G cellule, respectivement.

Il est alors possible de calculer les contrastes capacitif (1) et conductif (2) d'une cellule piégée dans son milieu de culture à l'aide des 2 équations données ci-dessous.

$$\Delta C = C_{\text{cellule}} - C_{\text{milieu}} \quad (1)$$

$$\Delta G = G_{\text{cellule}} - G_{\text{milieu}} \quad (2)$$

La Fig. 3. présente les spectres capacitifs et conductifs moyennés de cellules THP1 suivant leur état pathologique,

c'est-à-dire vivantes ou stressées thermiquement durant 100 minutes à une température de 50 °C. Etant donné que la mesure du milieu de culture sert de référence, celui-ci est donc représenté avec la ligne zéro en ordonnée.

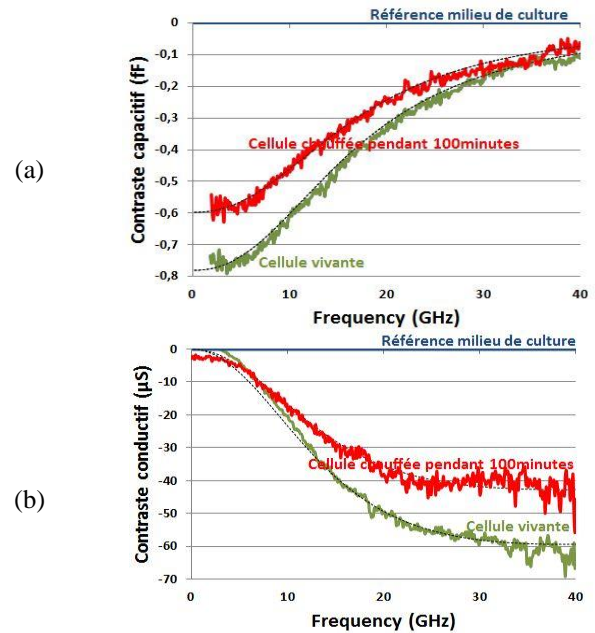


Fig. 3. Valeurs moyennes du contraste (a) capacitif et (b) conductif de cellules biologiques vivantes, et de cellules soumises un stress thermique de 50°C pendant 100 min.

Issues de la Fig. 3, nous pouvons remarquer que les signatures capacitives et conductives diffèrent suivant l'état pathologique de la cellule sous test. Comme attendu [4], le contraste capacitif ou conductif de cellules stressées se rapproche du milieu de référence, tandis que les cellules vivantes présentent des contrastes les plus forts en valeur absolue. Pour la suite de notre étude, nous utilisons le contraste capacitif maximum atteint à 5 GHz, et le contraste conductif maximum à 30 GHz.

Outre le fait de révéler « l'état de santé » de cellules biologiques par leur caractéristiques électriques, nous nous sommes intéressés à suivre diélectriquement l'impact d'un stress en fonction de son temps appliqué. Ceci constitue la troisième partie de cette étude.

### C. Suivi diélectrique du comportement de cellules uniques soumises à un stress thermique

Pour cette étude, les cellules THP1 ont été soumises à un stress thermique à 50°C pendant différentes durées, de 0 à 120 minutes. Les cellules sont ensuite placées à 20°C pendant 5 minutes avant d'effectuer les mesures hyperfréquences.

La Fig 4. présente les résultats obtenus en termes de contrastes capacitif et conductif, extraits pour chacun des échantillons cellulaires..

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été partiellement soutenu par la plateforme de micro-nanotechnologie du LAAS-CNRS, membre du réseau national RENATECH.

## REFERENCES

- [1] D. Di Carlo, L. P. Lee, "Dynamic single-cell analysis for quantitative biology," *anal. Chem.*, pp. 7918-7925, Dec. 2006.
- [2] G. M. Whitesides, « The origins and the future of microfluidics », *Nature*, vol. 442, n° 7101, p. 368-373, juill. 2006.
- [3] T. Chen, D. Dubuc, M. Poupot, J-J. Fournié, K. Grenier ' Microwave biosensor dedicated to the dielectric spectroscopy of a single alive biological cell in its culture medium', *IEEE MTT-S proceedings*, June 2013.
- [4] Amar Tamra, Marie-Pierre Rols, D. Dubuc, Katia Grenier, 'Microwave Monitoring of Single Cell Monocytes Subjected to Electroporation, *IEEE T-MTT*, 2017, DOI: 10.1109/TMTT.2017.2653776.
- [5] W. Chen, D. Dubuc, K. Grenier. " Microwave dielectric spectroscopy of a single biological cell with improved sensitivity up to 40 GHz," in *IEEE MTT-S International Microw. Symp. Dig.*, May 2015, pp. 1-3.

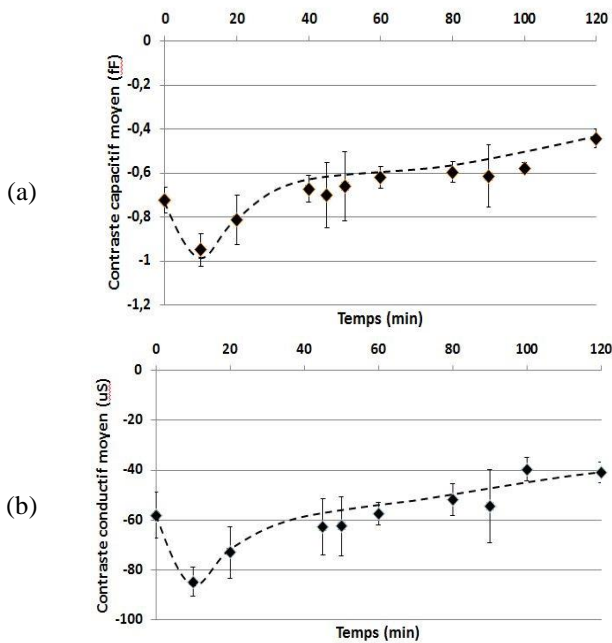


Fig. 4. Valeurs moyennes et déviation standard du contraste (a) capacitif à 5 GHz et (b) conductif à 30 GHz de cellules biologiques vivantes, et de cellules soumises à un stress thermique de 50 °C pour différentes durées.

On remarque que les deux paramètres électriques présentent le même comportement, décomposable en deux phases distinctes. La première montre un décroissement des contrastes capacitifs et conductifs atteignant -0,95 fF et -84,7  $\mu$ S respectivement, ce qui traduit de grandes modifications intracellulaires. La seconde montre une augmentation des deux contrastes, atteignant les valeurs de -0,44 fF et -41  $\mu$ S après un stress thermique de 50°C pendant une durée de 120 minutes. Ses derniers contrastes se rapprochent progressivement du milieu de culture, ce qui semble révéler une altération majeure des cellules au cours du stress thermique appliqué.

Ainsi le capteur présenté et la méthodologie d'extraction des paramètres diélectriques nous permet d'extraire les contrastes électriques de cellules individuelles révélateurs de différents états cellulaires et d'en faire le suivi.

## III. CONCLUSIONS

Ce papier présente une méthode de caractérisation de cellules biologiques directement dans leur milieu de culture, sans besoin d'additif ou autre technique de visualisation pouvant être coûteuse et chronophage. La technique développée consiste à réaliser la spectroscopie diélectrique dans la gamme micro-ondes de cellules individuelles et d'en extraire leur contrastes capacitif et conductif. L'étude a été menée sur cellules individuelles vivantes de type THP1, ainsi que sur cellules stressées thermiquement à 50°C pour différentes durées de stimulus (de 0 à 120 minutes). Les résultats obtenus montrent que les caractéristiques diélectriques des cellules sont révélatrices de l'état pathologique des cellules. La spectroscopie diélectrique micro-onde constitue donc un moyen attractif d'analyse cellulaire qui complémente les techniques déjà établies.