


Mesures des propriétés physiques des cellules



Rhéologie cellulaire

⇒ rhéologie : étudie la plasticité, l'élasticité, la viscosité et la fluidité caractéristiques des corps déformables

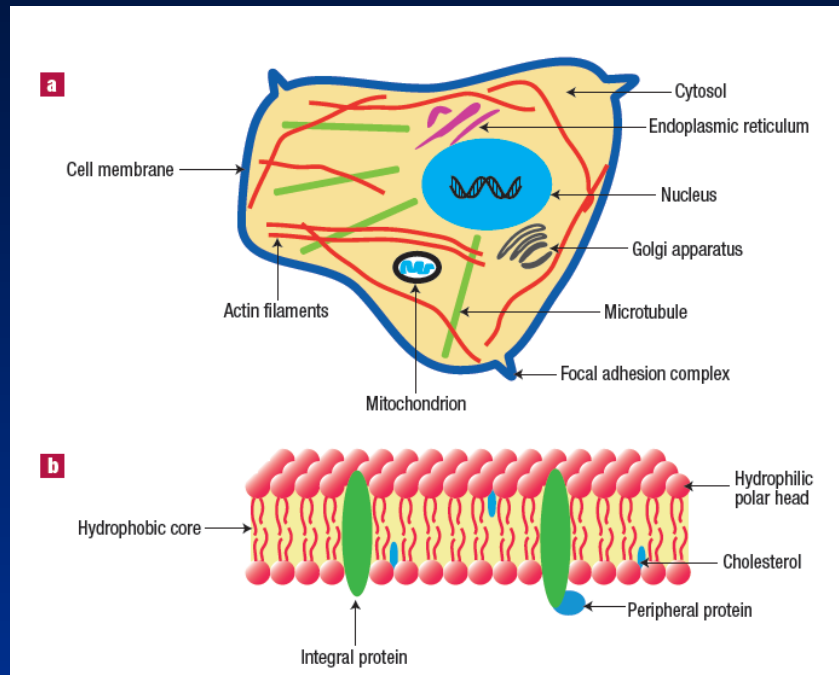
⇒ microrhéologie

⇒ interactions cellule-cellule ou cellule-substrat : déformations

⇒ Mécanismes cellulaires impliquant des déformations :

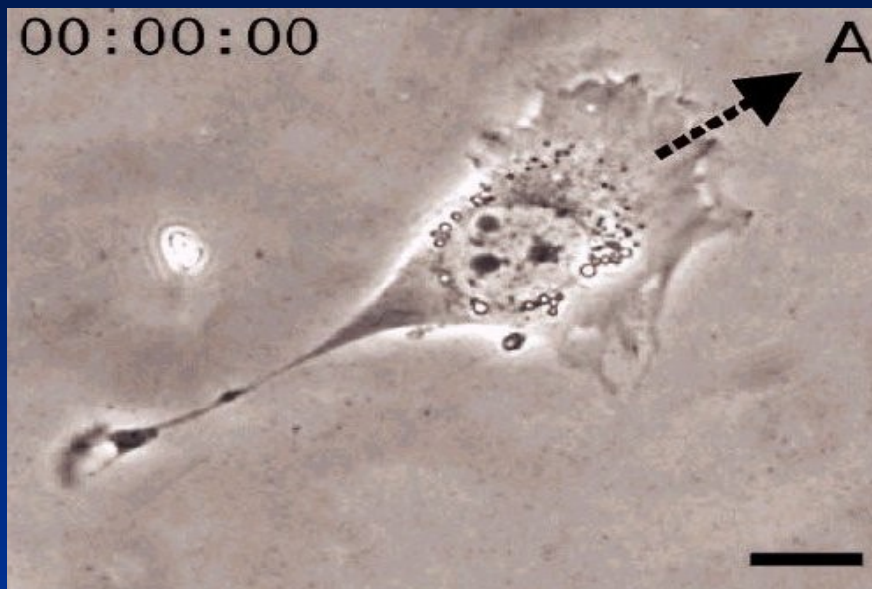
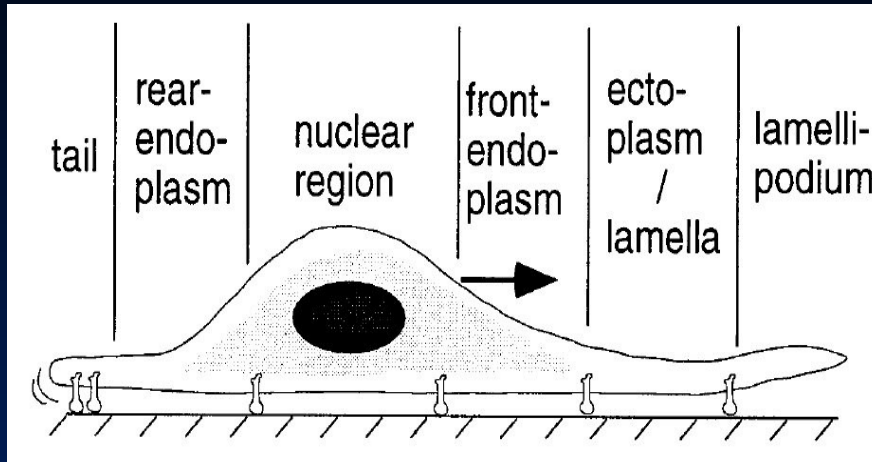
Migration, extravasation, division cellulaire, angiogenèse, embryogenèse...

⇒ propriétés rhéologique locales + Membrane



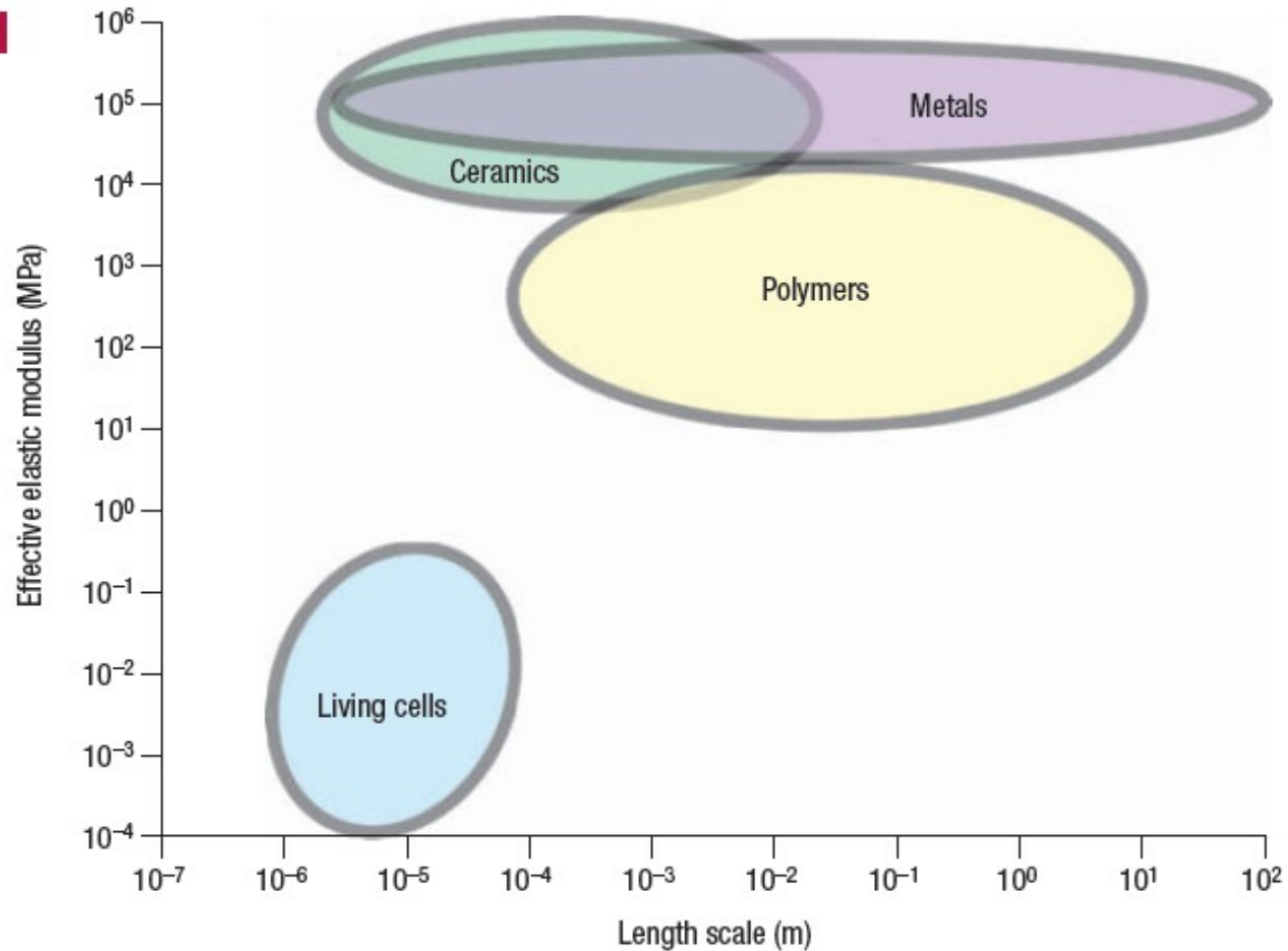
Cytoplasme : Gel de protéines, filaments, dans un solvant aqueux

Rhéologie cellulaire : influence sur la migration



- Changement de la **viscoélasticité locale**
- polarité cellulaire
- **adhésions focales** : traction
- Formation de lamellipodes et de filopodes
- rôle de la **polymérisation de l'actine** et **interaction myosine**

G



Module élastique d'une cellule : 10^2 à 10^5 Pa

Mesures des propriétés « mécaniques »

⇒ Les cellules vivantes peuvent réagir à des forces mécaniques

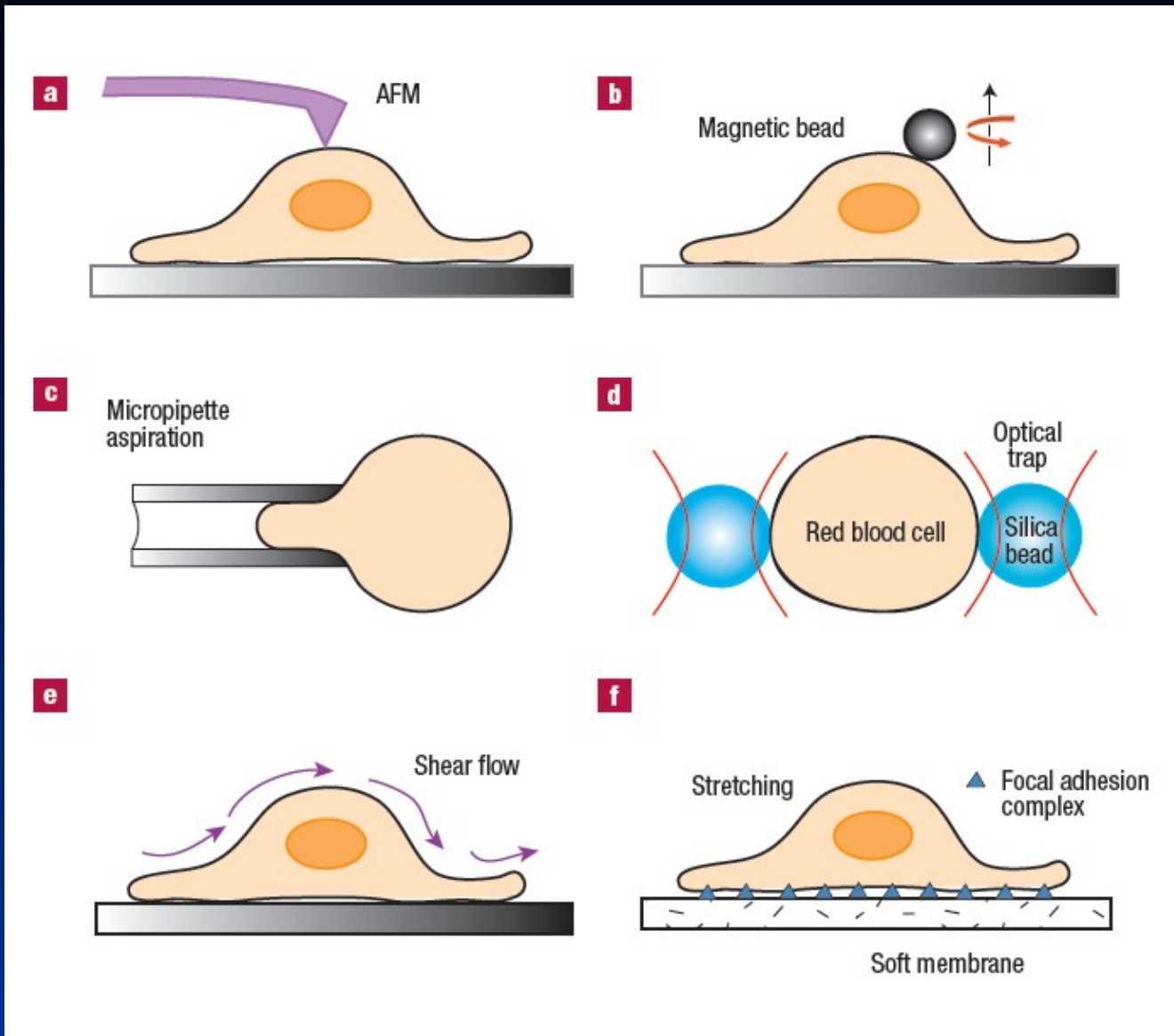
⇒ Les propriétés « viscoélastiques » des cellules peuvent varier (normale/tumorale)

⇒ nouveaux dispositifs de mesures :

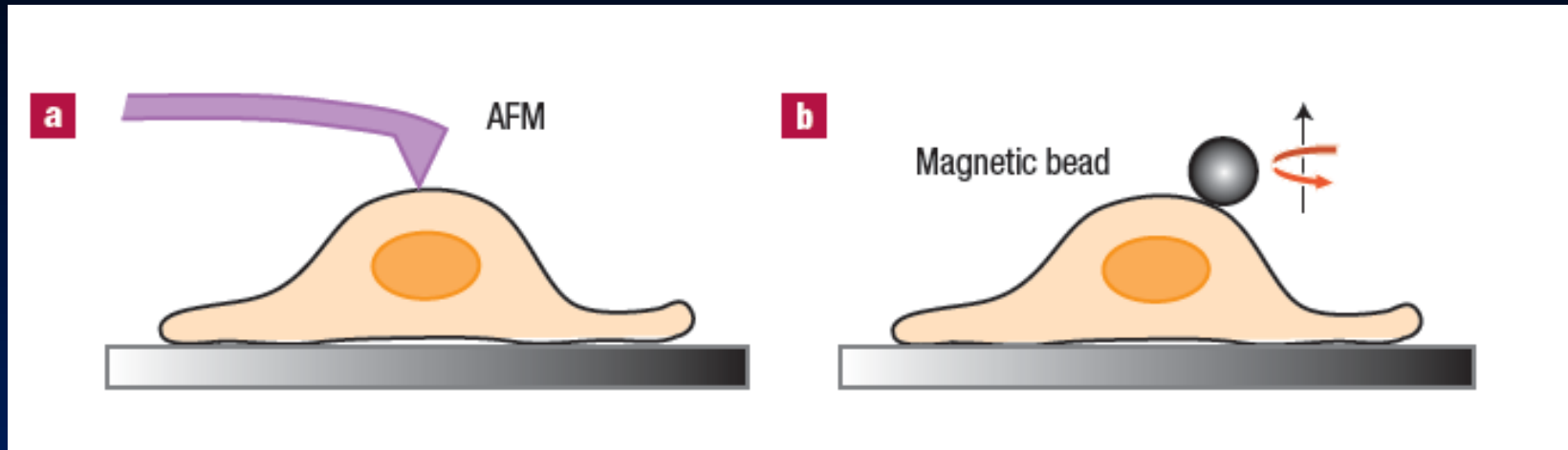
Résolution : pN, nm

Progrès de l'imagerie biologique

Quelques systèmes de mesure



Sondes locales, sollicitant une partie de la cellule

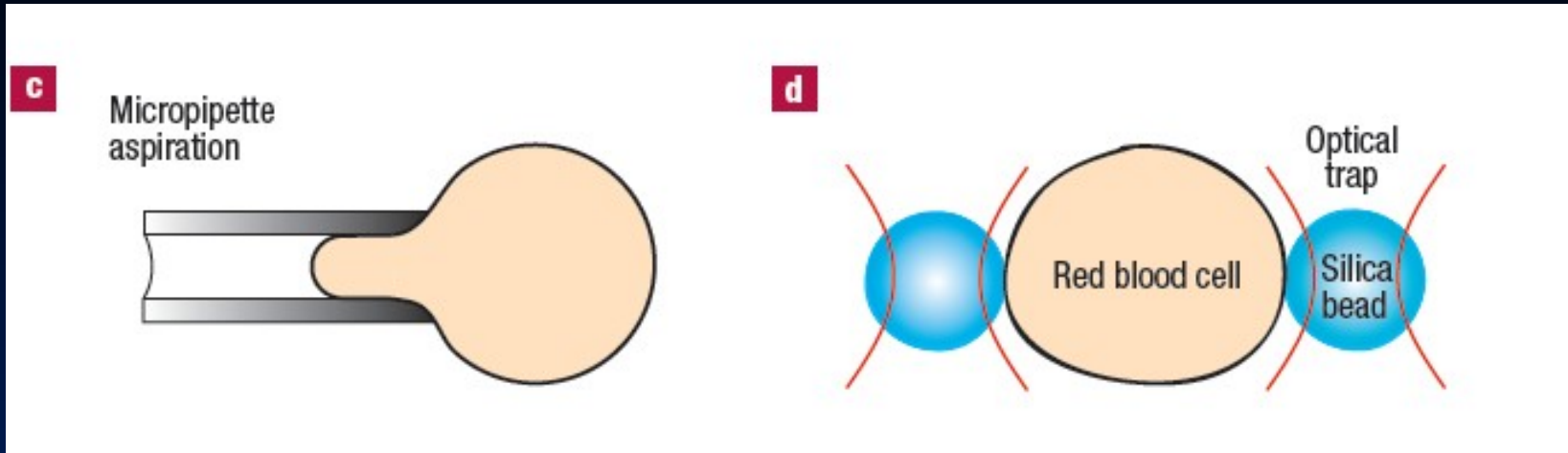


⇒ AFM : microscopie de force atomique : mesure de la déflexion du levier. résolution 10^{-10}N , 1nm

⇒ Billes magnétiques : mesure de la déformation locale, pN, qqs nms

⇒ Niveau moléculaire aussi

Systemes sollicitant toute la cellule

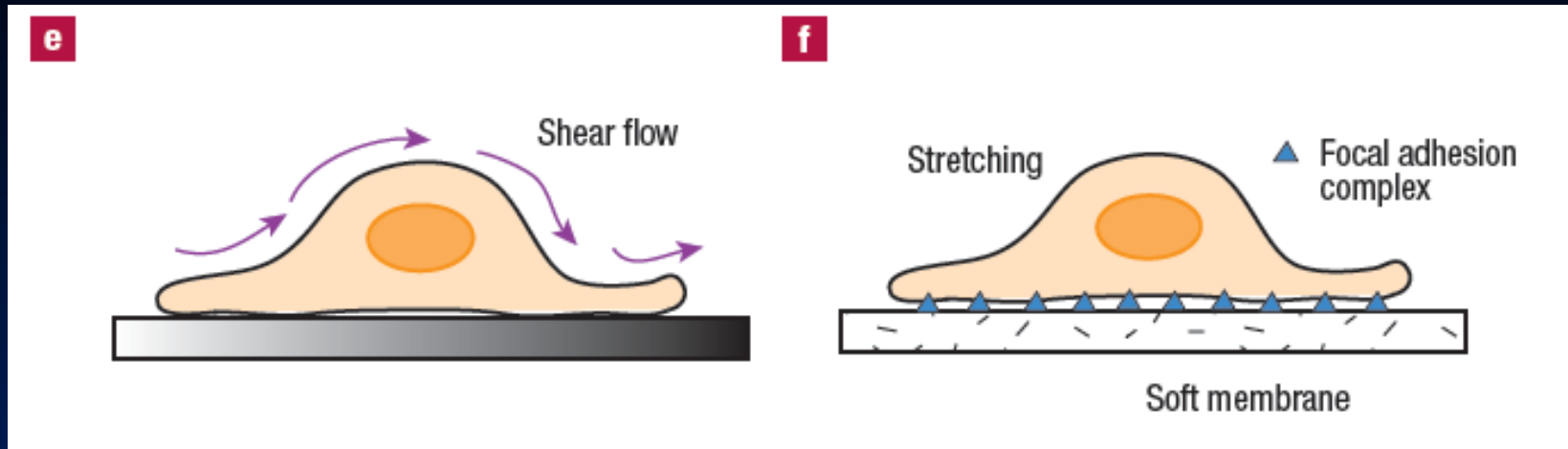


⇒ Aspiration avec une micropipette, mesure du changement de forme (10^{-10}N)

⇒ Manipulation par pinces optiques (10^{-11}N)

⇒ Peuvent s'appliquer aux molécules

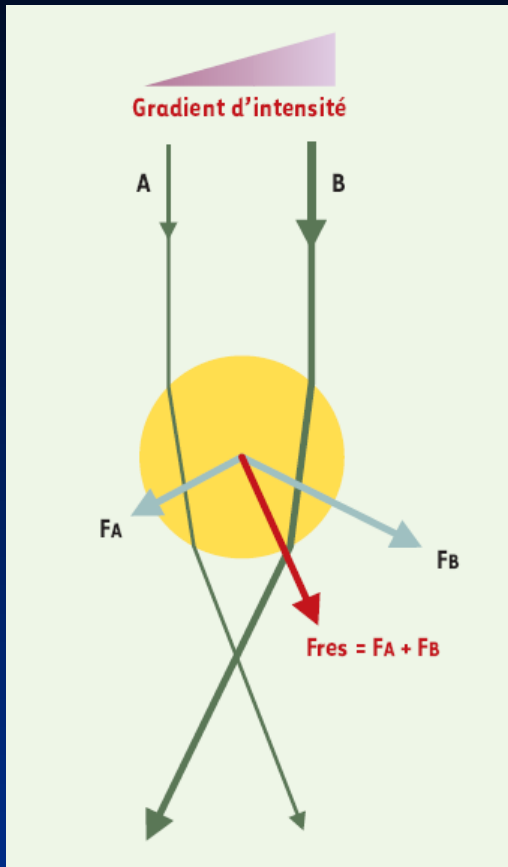
Sollicitation d'une population de cellules



⇒ Dispositifs de flux : analogie avec la circulation sanguine

⇒ Etirement d'un substrat élastique, effet sur les cellules, effet des cellules (migration)

Manipulation par pinces optiques



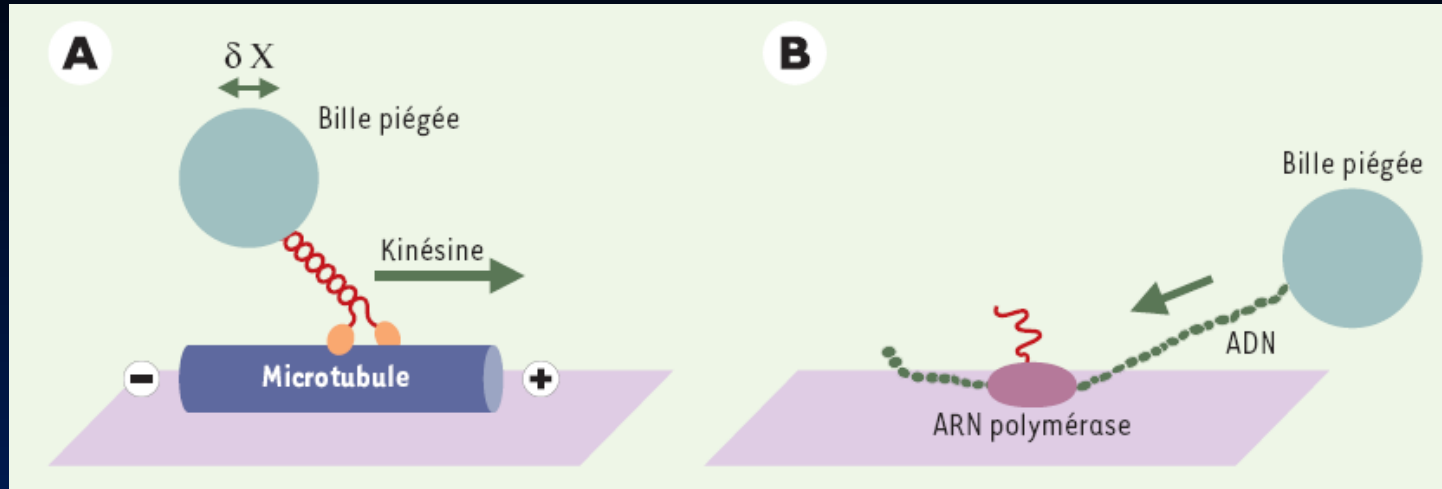
⇒ Lasers de faible puissance : 0,1-1W

⇒ Longueur d'onde 950-106nm
(minimise l'absorption des cellules)

⇒ Force 0,5-50 pN

⇒ Ressort linéaire, déplacement par rapport au centre proportionnel à la force exercée par la cellule ou la molécule

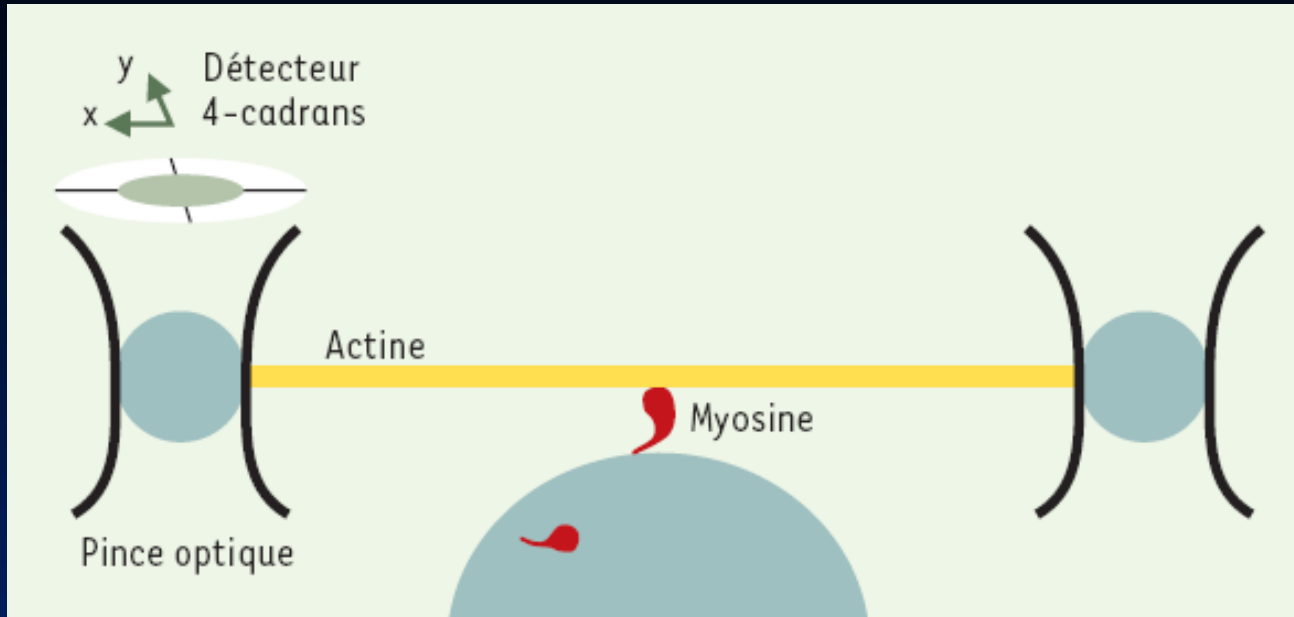
Pinces optiques...



⇒ Kinésine : pas élémentaire 8nm, force maxi 5-7pN,
 V_{max} 800 nm/sec

⇒ ARN polymérase : 25 pN

Pinces optiques...

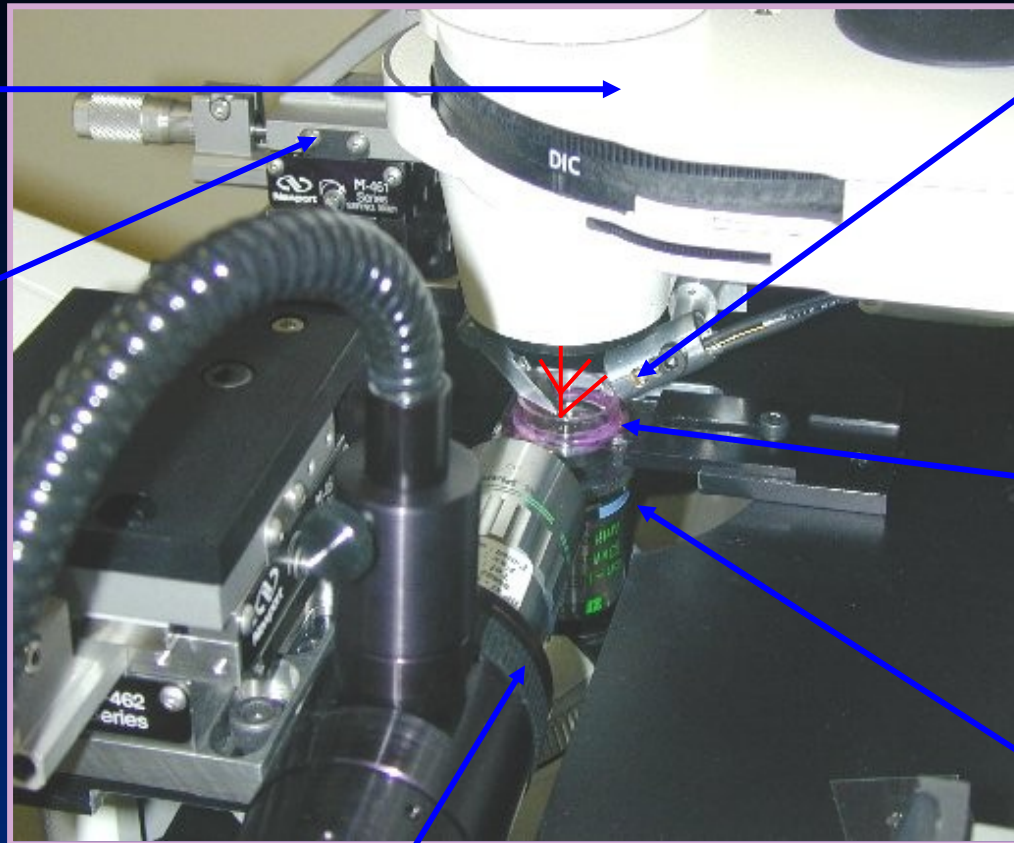


- ⇒ Deux billes fixées aux extrémité d'un filament d'actine
- ⇒ Déplacement élémentaire 4-10 nm, F_{max} 3-6 pN
- ⇒ Phénomène rapide → détecteurs photodiodes 4 cadrans

AFM: expérience d'étirement

Inverted microscope

Piezoelectric translator



2-segment photodiode
(AFM cantilever deflection \Rightarrow signal of force)

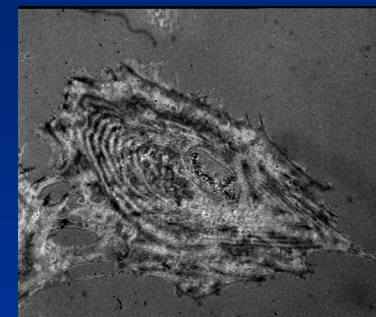
Cells on coverglass

Microscope objective
(Fluorescence; Phase contrast; **RICM**)

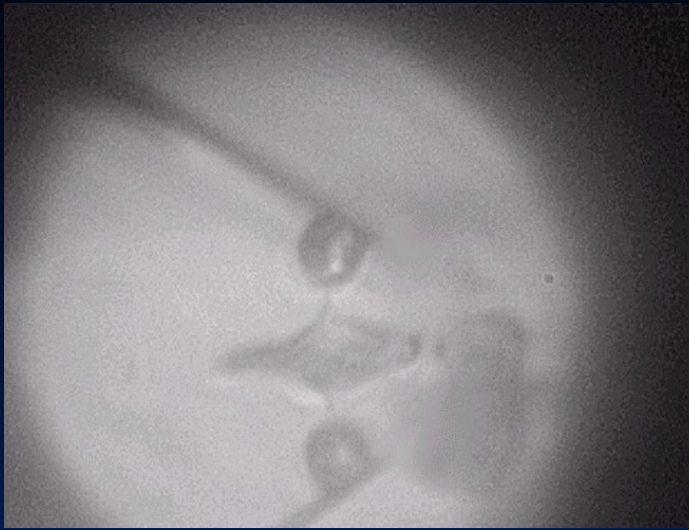
Canetta et al., 2005



Ultrazoom (lateral visualisation)



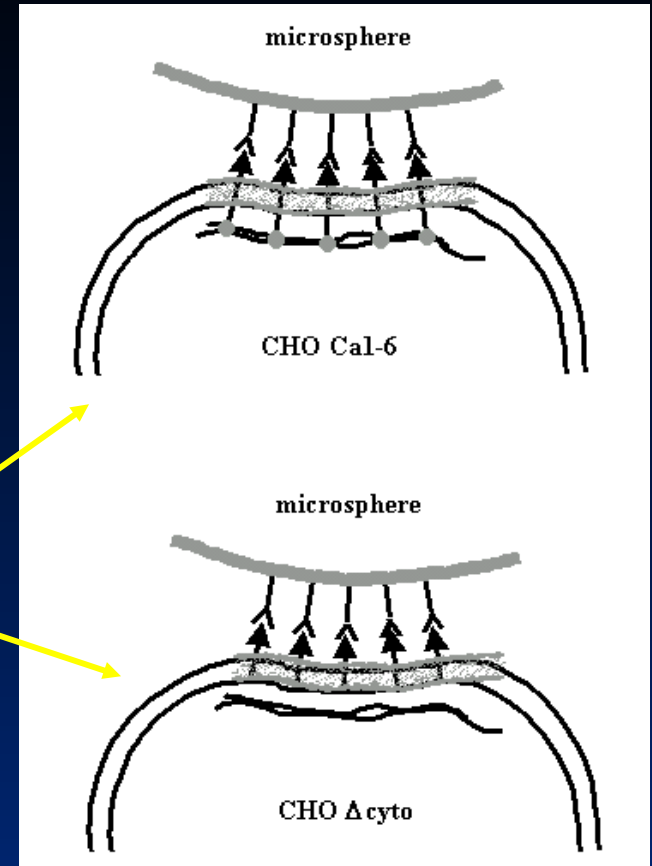
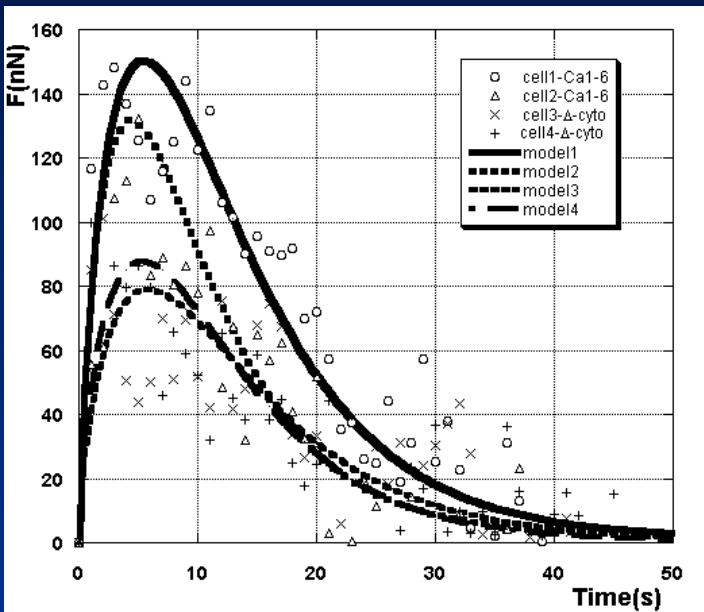
AFM et rhéologie



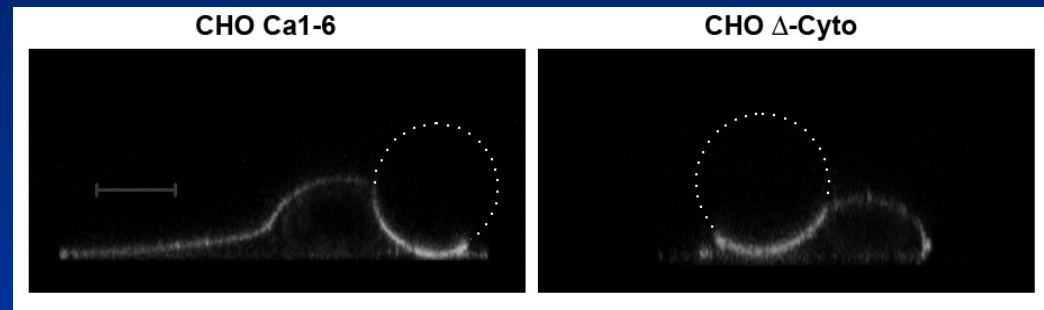
3D viscoelastic model :
 E elasticity modulus
 λ relaxation time

Ca1-6
 $E=1.8-2.1$ kPa
 $\lambda=5$ s

Δ -cyto
 $E=0.6-0.8$ kPa
 $\lambda=6$ s

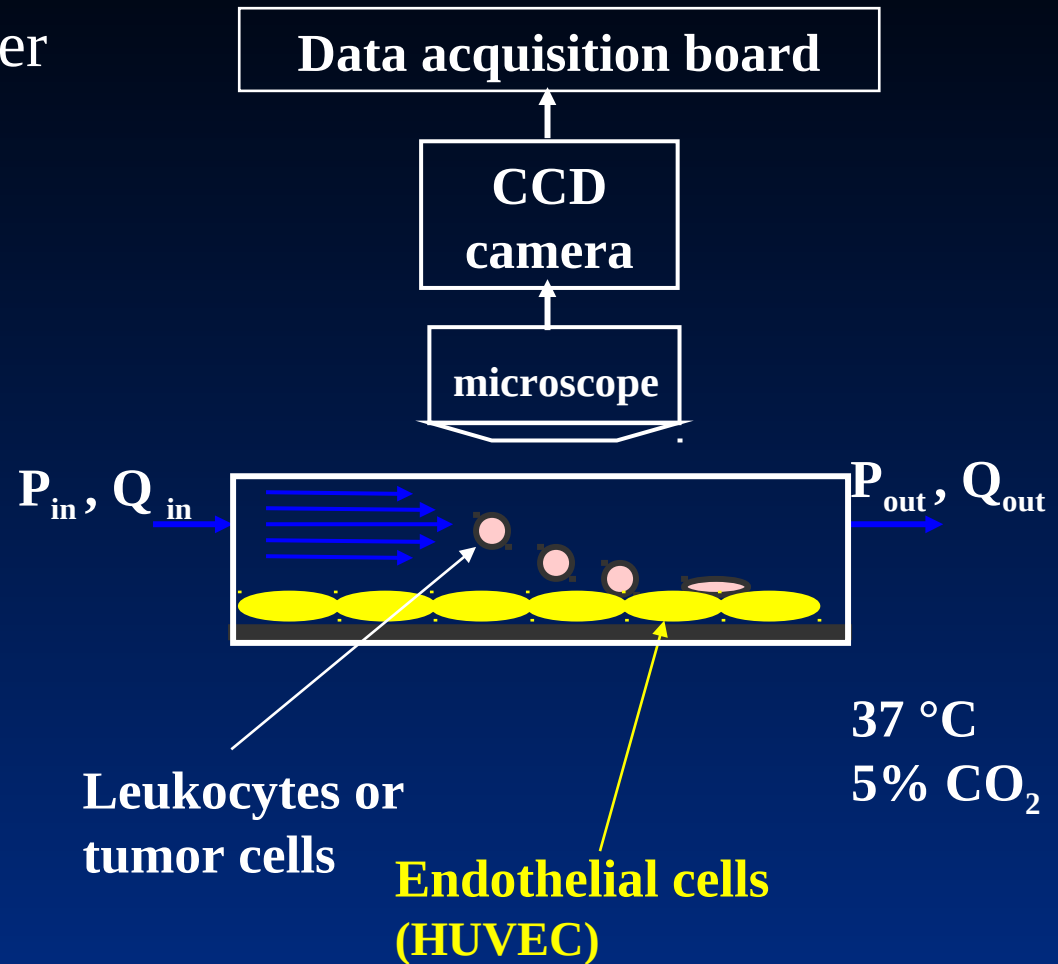
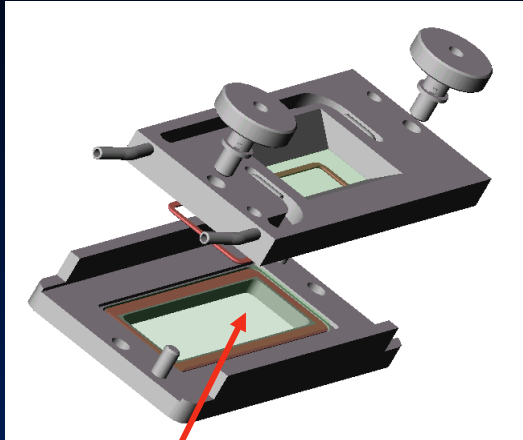


Canetta et al. (2005)



Expériences en chambre d'écoulement

Parallel-plate flow chamber



Chotard-Ghodsnia et al., (2003)

Expériences en conditions dynamiques

- TNF- α activated endothelial cells
- flow velocity \approx mm/s

flow
→



Leukocytes

Rolling (velocity \approx $\mu\text{m/s}$)
Membrane tethering

flow
←



Tumor cells

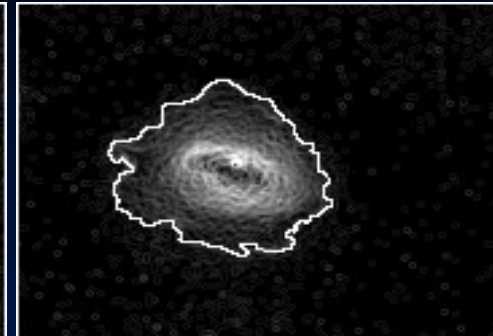
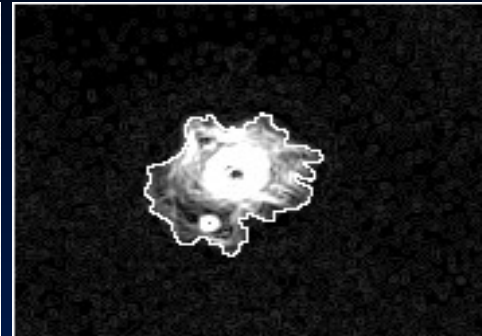
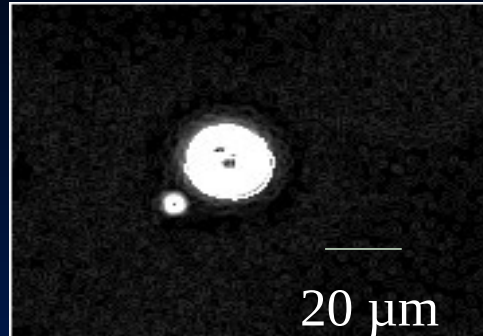
Cell deformation and
transmigration

Cell interactions : mechanisms of spreading

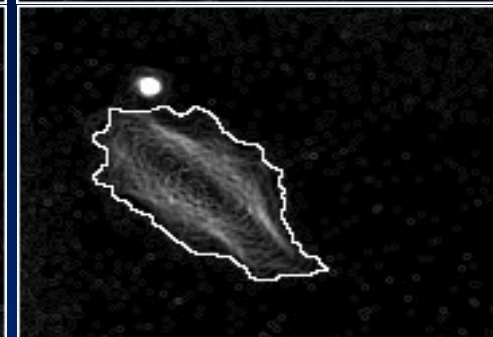
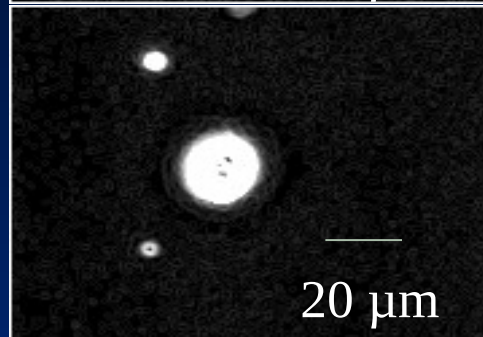
flow



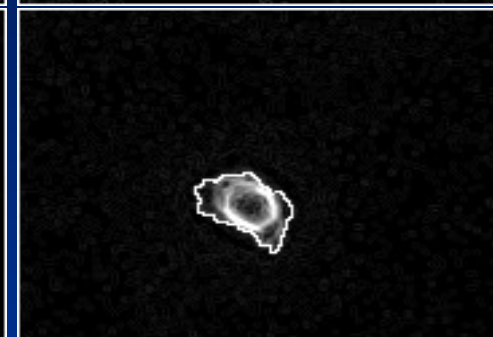
Radial spreading



Axial spreading



Reduced spreading



t = 0 min

t = 20 min

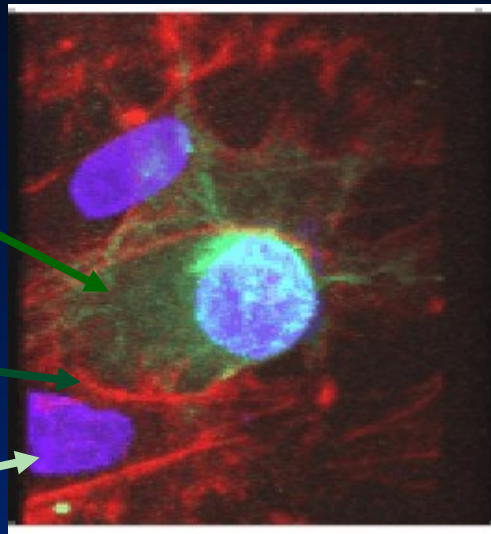
t = 45 min

Localisation en 3D des cellules tumorales dans la monocouche endothéliale (microscopie confocale)

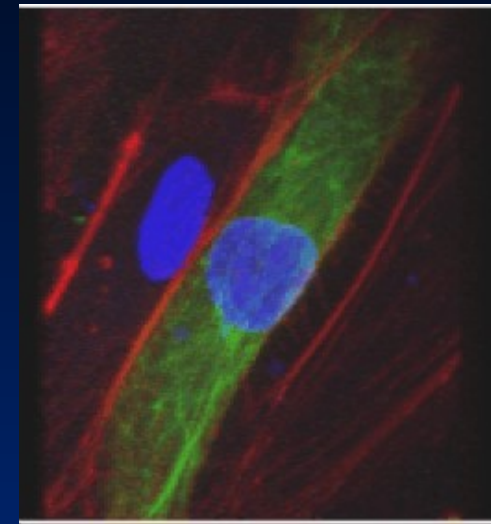
tumor cell
cytokeratin

actin
filaments

nucleus

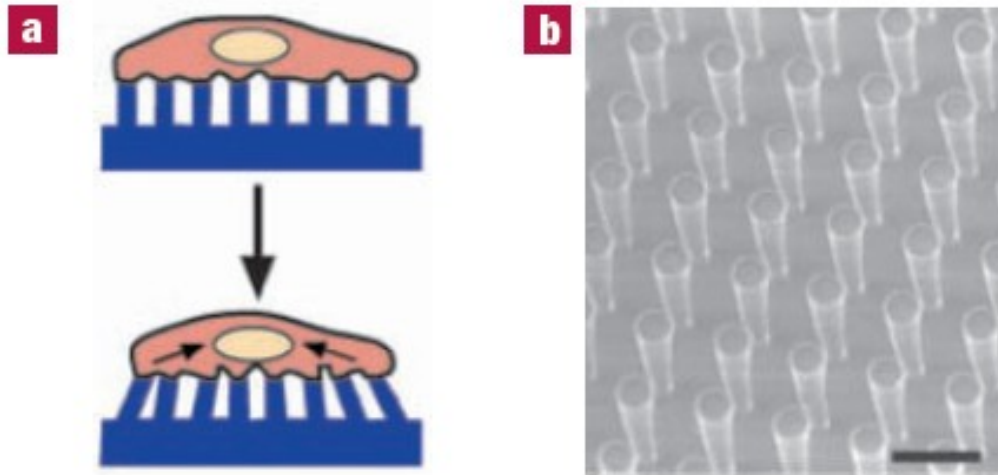


Etalement radial:
→ Extravasation



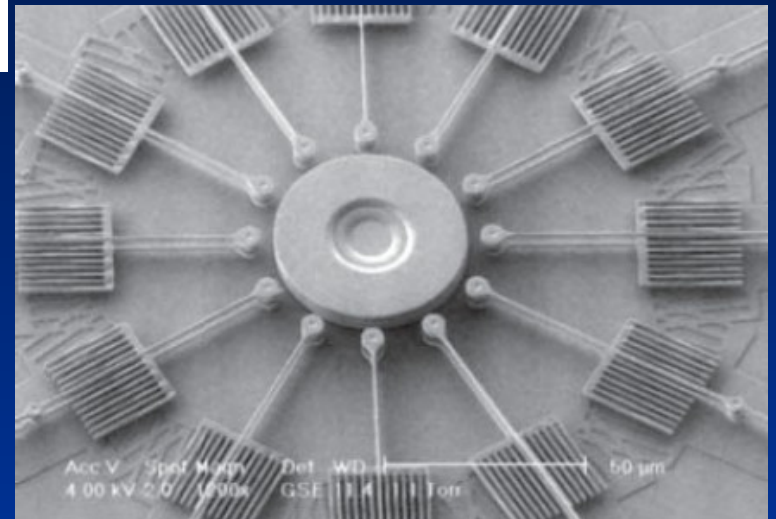
Etalement axial:
→ monocouche
mosaïque

Micro (Nano) fabrication

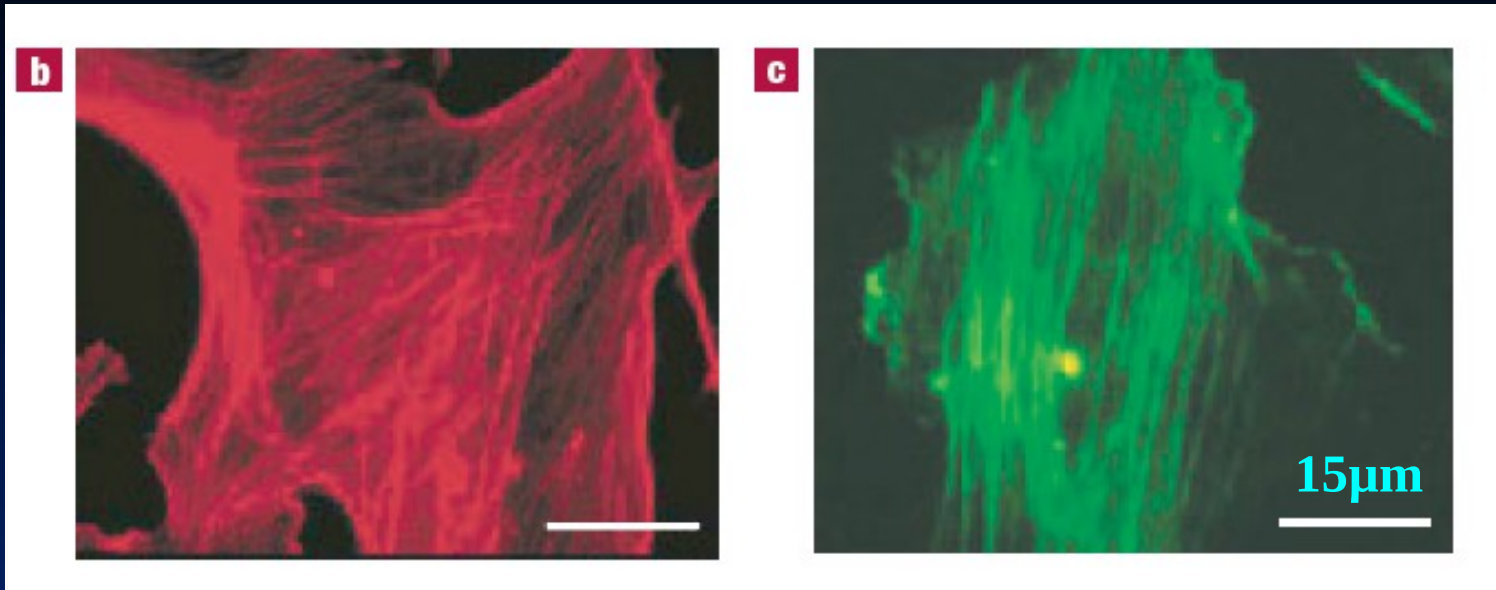


Moulage en
PDMS sur résine
pre-formée
(lithographie)

Micropiliers
déformables
→ Forces



Étirement des cellules



Cellules endothéliales, cytosquelette d'actine,
Étirement 3 heures → fibres de stress
perpendiculaires à la direction de l'étirement