



HAL
open science

Optimisation et évaluation de la stabilité d'un biocapteur HyperFréquence dédié à la caractérisation diélectrique de sphéroïdes de 500MHz à 20GHz

Olivia Peytral-Rieu, David Dubuc, Katia Grenier

► To cite this version:

Olivia Peytral-Rieu, David Dubuc, Katia Grenier. Optimisation et évaluation de la stabilité d'un biocapteur HyperFréquence dédié à la caractérisation diélectrique de sphéroïdes de 500MHz à 20GHz. 17èmes Journées de Caractérisations Microondes et matériaux, Apr 2023, Tours, France. hal-04007888

HAL Id: hal-04007888

<https://hal.science/hal-04007888v1>

Submitted on 7 Mar 2023

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.

Optimisation et évaluation de la stabilité d'un biocapteur HyperFréquence dédié à la caractérisation diélectrique de sphéroïdes de 500MHz à 20GHz

Olivia Peytral-Rieu¹, David Dubuc¹ and Katia Grenier¹

¹LAAS-CNRS, 7 avenue du Colonel Roche, 31400 Toulouse, France

opeytral@laas.fr

Résumé — Les sphéroïdes, agrégats de cellules, constituent un modèle biologique intermédiaire très intéressant entre la culture cellulaire 2D sur tapis cellulaire et les approches *in vivo* 3D. Ils permettent en effet d'obtenir des résultats pertinents vis à vis de la complexité du vivant, tout en évitant des problèmes éthiques et le recours coûteux d'une animalerie et les limitations induites par un modèle biologique 2D plus éloigné des considérations physiologiques. Les techniques actuelles d'analyse de sphéroïdes sont essentiellement optiques. Pourtant, la caractérisation de leurs propriétés diélectriques peut apporter des informations nouvelles et complémentaires. Ainsi, un capteur hyperfréquence dédié a été développé et optimisé. Initialement avec une configuration fluide ouverte qui induisait des dispersions dans les mesures, une structure optimisée a été élaborée avec une configuration fluide plus évoluée, assurant une caractérisation diélectrique micro-ondes stable. La caractérisation de cette amélioration fait l'objet de cet article à l'aide de billes de polystyrène.

I. INTRODUCTION

Les sphéroïdes multicellulaires tridimensionnels (3D) sont reconnus comme des modèles biologiques attrayants pour l'évaluation préclinique des thérapies anticancéreuses en raison de leur représentation plus poussée des tumeurs *in vivo*. Les principales techniques expérimentales utilisées pour étudier les sphéroïdes sont invasives ou destructrices pour l'échantillon biologique testé [1], [2]. Ainsi, des approches électriques sont également développées, notamment par radiofréquence (RF) car sans marquage, et adaptées au suivi de la viabilité cellulaire par exemple [3]. Dans le domaine des micro-ondes, la spectroscopie diélectrique gagne en intérêt comme technique d'analyse cellulaire. Elle exploite l'interaction des champs électromagnétiques avec les matériaux, ce qui permet des investigations biologiques non invasives et non destructives, tout en étant sans marquage et peu coûteuses [3]–[5]. De plus, dans cette gamme de fréquences, les ondes électromagnétiques traversent la membrane plasmique des cellules, donnant accès à une caractérisation intracellulaire. Divers capteurs micro-ondes existent déjà pour l'analyse des différentes échelles du vivant, de l'*in vitro* à l'*ex vivo* ainsi qu'*in vivo* [6]–[8]. Aucun n'a encore été développé pour la taille intermédiaire des micro-tissus, également appelés sphéroïdes, dans la gamme de fréquences des micro-ondes.

Précédemment, nous avons proposé un premier capteur micro-ondes dédié à la détermination des propriétés diélectriques de sphéroïdes biologiques de 300 μm de diamètre, de 500 MHz à 20 GHz [9]. Sa structure avec des réservoirs fluidiques ouverts induisait des dispersions de mesure importantes dues à l'évaporation notamment. Pour résoudre ce problème, un capteur hyperfréquence (HF) optimisé amélioré est introduit dans cet article, assurant un gain en stabilité des mesures obtenues sur le pire cas

possible, des billes de polystyrène particulièrement sujettes à mobilité dans un milieu fluide.

II. MATERIELS ET METHODES

Le biocapteur HF présenté dans la Fig.1 a) et d) est basé sur un guide d'onde coplanaire avec une coupure capacitive de 10 μm située au centre de la structure. Spécifiquement, pour la structure avancée fluide, les masses sont équilibrées grâce à des ponts à air. Pour les deux structures, la zone de détection est placée juste en dessous de l'objet biologique à tester. Pour la structure dite ouverte présentée dans les figures 1 b) et c), l'objet est maintenu par un arc de cercle dans la paroi fluide ouverte uniquement (cf. vue en coupe de la figure 1.c). Pour la structure fluide dite fermée, la vue en coupe de la figure 1 e) montre comment l'objet biologique est bloqué par une forme d'entonnoir permettant le placement par un flux fluide continu.

Pour caractériser le micro-dispositif fabriqué, le dispositif testé est connecté à un analyseur de réseau vectoriel à l'aide de deux sondes coplanaires et de deux câbles coaxiaux, en utilisant une étape préliminaire de calibration SOLT. Les mesures sont effectuées de 500 MHz à 20 GHz.

Afin de maintenir le sphéroïde testé dans son milieu de culture pendant les expériences, le dispositif micro-ondes initial présenté en [9] possède un canal ouvert avec deux réservoirs latéraux. Le placement du sphéroïde est fait manuellement. En raison de la configuration fluide ouverte, l'évaporation du milieu au cours du temps ne peut être évitée et induit des dispersions des mesures diélectriques. Pour pallier cette limitation, un système fluide fermé avec l'objet bloqué par un flux permanent et un piège mécanique placé juste au-dessus de la zone de détection HF est conçu et fabriqué. Ce piège comprend trois ouvertures : une centrale plus grande que les deux autres placées à l'écart. L'ouverture la plus large sert de guide et assure le blocage de l'objet à analyser. Les ouvertures latérales permettent au fluide de s'écouler tandis que l'ouverture centrale est fermée par l'objet à tester, comme l'indique la coupe transversale de la structure à la Fig. 1.f. Un schéma électrique équivalent est utilisé pour modéliser la contribution électrique du sphéroïde dans son milieu liquide hôte et comporte une capacitance C en parallèle avec une conductance G . Un contraste capacitif ΔC et un autre conductif ΔG est définis lorsque le capteur est chargé par l'élément sous test et avec le milieu hôte seul [9].

Pour les expériences, une solution de Phosphate Buffered Saline (PBS) est utilisée comme milieu hôte tandis que le capteur peut être chargé par des sphéroïdes ou des billes de polystyrène comme modèle simplifié.

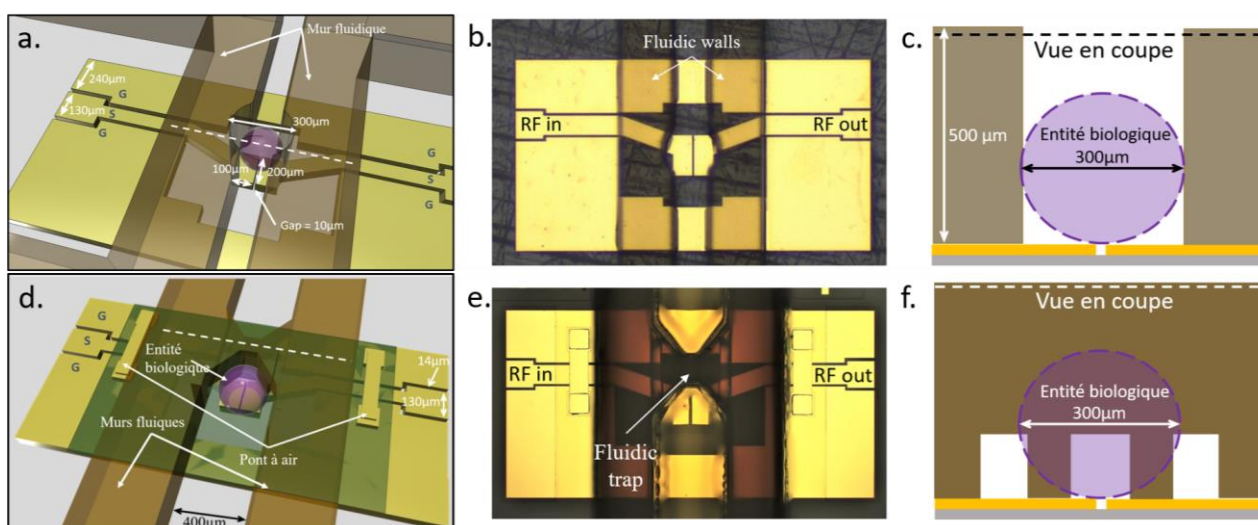


Fig. 1. Présentation des deux configurations de capteurs micro-ondes. Schémas des structures a) CPW avec fluïdique ouverte et d) CPW avec canal fluïdique fermée, avec en jaune la couche métallique en or, en vert la passivation SU8, en brun le système fluïdique. Photographies de b) la structure fluïdique ouverte et e) la structure fluïdique fermée. c) et f) Coupes transversales de c) la structure fluïdique ouverte et f) la structure fluïdique fermée, à l'endroit indiqué par la ligne pointillée en a) et d). La sphère ou le cercle violet représente une entité biologique 3D de 300 µm de diamètre. La couleur grise correspond au substrat de la plaquette, tandis que la couche jaune représente les électrodes en or.

Des sphéroïdes d'environ 300 µm de diamètre fabriqués à partir de cellules de la lignée HepG2 ont alors été utilisés. Ces sphéroïdes ont été fixés avec du paraformaldéhyde puis conservés dans du Phosphate Buffer Saline : Gibco Phosphate Buffered Saline 1X, appelé PBS dans le reste de l'article.

III. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les dispersions de mesure ont été évaluées à l'aide de deux billes de polystyrène dans du PBS pour chaque configuration fluïdique. Leur légèreté les rend très sensibles aux effets d'évaporation. Les mesures micro-ondes sont enregistrées toutes les minutes pendant 15 minutes. Moyenne et écart type sur cette période en sont extraits et donnés dans le tableau I pour une période d'analyse de 11 minutes.

TABEAU I. COMPARAISON ENTRE LE CAPTEUR HF FLUIDIQUE OUVERT ET LE DISPOSITIF FLUIDIQUE FERMÉ

	ΔC à 5GHz		ΔG à 20GHz	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
PBS ouvert	-1,09	0,57	-0,02	0,06
206 µm ouvert	-65,8	1,60	-10,4	0,22
260 µm ouvert	-63,8	5,61	-10,0	0,78
PBS fermé	-1,14	0,15	-0,04	0,01
292 µm fermé	-60,5	0,21	-5,81	0,02
212 µm fermé	-60,1	0,07	-6,95	0,01

Les résultats obtenus confirment la très grande stabilité des mesures micro-ondes avec la structure fluïdique fermée par rapport à la structure ouverte avec une amélioration de

94%. L'écoulement dans le système fermé permet en effet une localisation fixe de la bille de polystyrène au fond du piège mécanique, à proximité immédiate des électrodes micro-ondes. De plus, l'évaporation n'a plus d'influence. Ce nouveau système fermé est donc plus adapté à des mesures précises en temporel et a été appliqué à l'analyse de sphéroïdes, dont la caractérisation sera intégrée au papier final.

REFERENCES

- [1] E. C. Costa, A. F. Moreira, D. de Melo-Diogo, V. M. Gaspar, M. P. Carvalho, et I. J. Correia, « 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis », *Biotechnol. Adv.*, vol. 34, n° 8, p. 1427-1441, déc. 2016, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.11.002.
- [2] S. Nath et G. R. Devi, « Three-dimensional culture systems in cancer research: Focus on tumor spheroid model », *Pharmacol. Ther.*, vol. 163, p. 94-108, juill. 2016, doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.03.013.
- [3] T. Gerasimenko *et al.*, « Impedance Spectroscopy as a Tool for Monitoring Performance in 3D Models of Epithelial Tissues », *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 7, p. 474, janv. 2020, doi: 10.3389/fbioe.2019.00474.
- [4] P. Mehrotra, B. Chatterjee, et S. Sen, « EM-Wave Biosensors: A Review of RF, Microwave, mm-Wave and Optical Sensing », *Sensors*, vol. 19, n° 5, p. 1013, févr. 2019, doi: 10.3390/s19051013.
- [5] H. P. Schwan, « Electrical properties of blood and its constituents: Alternating current spectroscopy », *Blut*, vol. 46, n° 4, p. 185-197, avr. 1983, doi: 10.1007/BF00320638.
- [6] M. Lazebnik *et al.*, « A large-scale study of the ultrawideband microwave dielectric properties of normal, benign and malignant breast tissues obtained from cancer surgeries », *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, n° 20, p. 6093-6115, oct. 2007, doi: 10.1088/0031-9155/52/20/002.
- [7] H. Li *et al.*, « Differentiation of live and heat-killed E. coli by microwave impedance spectroscopy », *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 255, p. 1614-1622, févr. 2018, doi: 10.1016/j.snb.2017.08.179.

- [8] A. Tamra, M. Deburghraeve, D. Dubuc, M.-P. Rols, et K. Grenier, « Microwave dielectric spectroscopy for single cell irreversible electroporation monitoring », in *2016 IEEE MTT-S International Microwave Symposium (IMS)*, San Francisco, CA, mai 2016, p. 1-4. doi: 10.1109/MWSYM.2016.7540429.
- [9] O. Peytral-Rieu, K. Grenier, et D. Dubuc, « Microwave Sensor Dedicated to the Determination of the Dielectric Properties of 3D Biological Models from 500MHz to 20GHz », in *2021 IEEE MTT-S International Microwave Symposium (IMS)*, Atlanta, GA, juin 2021, p. 4.