



HAL
open science

Analyse en temps réel du phénomène d'électroporation de cellules individuelles

Anne Calvel, Katia Grenier, David Dubuc, Marie-Pierre Rols

► **To cite this version:**

Anne Calvel, Katia Grenier, David Dubuc, Marie-Pierre Rols. Analyse en temps réel du phénomène d'électroporation de cellules individuelles. GDR HappyBio, Nov 2022, Albi, France. hal-04281279

HAL Id: hal-04281279

<https://hal.science/hal-04281279>

Submitted on 12 Nov 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.

Analyse en temps réel du phénomène d'électroporation de cellules individuelles

Anne Calvel^{a,b*}, Katia Grenier^{b**}, David Dubuc^{b***}, Marie-Pierre Rols^{a****}

^a Institut de pharmacologie et de biologie structurale (IPBS), 205 rte de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 4, FRANCE (CNRS UMR 5089)

^b Laboratoire d'analyse et d'architecture des systèmes (LAAS-CNRS), 7. Av. du Colonel Roche, F-31031 Toulouse, FRANCE

* anne.calvel@ipbs.fr, ** katia.grenier@laas.fr, *** david.dubuc@laas.fr, **** marie-pierre.rols@ipbs.fr

Mots-clés : électroporation, in situ, cellule unique, temps réel.

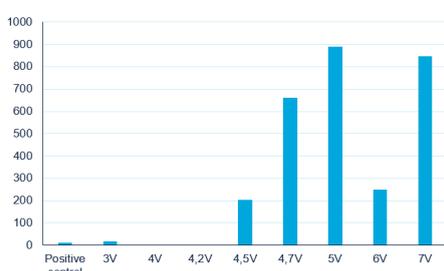
Résumé :

Contexte : L'électroperméabilisation (EP) est une approche prometteuse pour le traitement ciblé de maladies telles que le cancer. Cette technique permet la formation transitoire de pores dans les membranes cellulaires, facilitant l'accès d'agents thérapeutiques tels que la bléomycine et le cisplatine dans le cas de l'électrochimiothérapie. Bien que son efficacité et son innocuité ont été démontrées, des questions subsistent et freinent l'utilisation de l'EP. Mener des études à l'échelle de la cellule unique pourrait permettre de mieux comprendre et maîtriser l'EP à plus grande échelle. Les microcomposants sont adaptés pour réaliser de telles études *in vitro* et *in situ*, tout en ne nécessitant que de faibles tensions électriques.

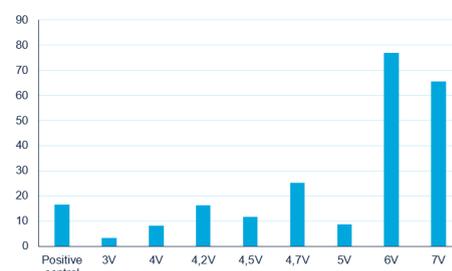
Méthodes : Nous réalisons des études *in situ* avec un microcomposant initialement conçu pour analyser des cellules par spectroscopie diélectrique hyperfréquence [1]. Le microcomposant est constitué en trois parties : (a) un canal microfluidique (b) un guide d'onde coplanaire métallique composé de deux plans de masse et d'un ruban métallique central qui contient une coupure capacitive de 10 µm en son centre et (c) un piège cellulaire placé au centre du canal microfluidique. Le canal microfluidique, réalisé en polymère, est transparent, ce qui permet d'observer la cellule piégée. Il est également possible d'étudier l'effet de l'EP sur la cellule en utilisant des biomarqueurs fluorescents. Une solution contenant des milliers de cellules (PC3-GFP) est ajoutée à l'entrée fluidique du microcomposant. Grâce à un flux maintenu constant par un pousse-seringue, la solution cellulaire s'écoule à travers le canal microfluidique. Une cellule peut être capturée par un piège mécanique spécialement conçu pour capturer et maintenir une seule cellule pendant l'étude. Une fois la cellule piégée, des impulsions électriques sont délivrées dans une solution tampon. Un générateur (AFG3022C Tektronix) applique les impulsions à travers des électrodes en tungstène positionnées de part et d'autre des lignes de signaux coplanaire. Nous étudions l'effet de différentes tensions électriques (de 3 V à 7 V) afin de déterminer le seuil de perméabilisation. L'impact des impulsions sur la cellule unique est visualisé avec deux biomarqueurs fluorescents différents : (a) la calcéine AM pour évaluer l'intégrité membranaire et la viabilité cellulaire et (b) l'iodure de propidium pour quantifier la perméabilisation. Un suivi en temps réel de l'intensité des fluorophores est effectué.

Résultats : 8 impulsions de 5 ms de largeur à une fréquence de 1 Hz sont appliquées à différentes cellules uniques. Nous observons que l'application de faibles tensions électriques (inférieures à 4,5 V) n'entraînent pas de perméabilisation et maintiennent l'intégrité des cellules. Des tensions électriques plus élevées (supérieures à 4,5 V) entraînent une perméabilisation de la membrane, comme le montre la présence d'iodure de propidium dans la cellule.

A. Increase of fluorescence intensity of iodide propidium (%)



B. Decrease of fluorescence intensity of calcein AM (%)



Intensité de fluorescence de A. l'iodure de propidium et B. la calcein AM, 20 minutes après l'application de 8 impulsions électriques de durée 5 ms et de fréquence 1 Hz, pour différentes tensions électriques. Les études sont menées sur des cellules uniques PC3-GFP. Pour chaque condition de voltage, 3 mesures ont été réalisées.

Conclusion:

Nous avons démontré que le microcomposant conçu et développé au sein de l'équipe permet d'électroporer *in situ* des cellules uniques et de mener des analyses en temps réel. Les études réalisées permettent de déterminer les seuils de perméabilisation pour différents types d'impulsions électriques.

Références :

[1] : T. Chen ; F. Artis ; D. Dubuc ; J. -J. Fournié ; M. Poupot et K. Grenier, *Microwave biosensor dedicated to the dielectric spectroscopy of a single alive biological cell in its culture medium*, 2013, 2013 IEEE, MTT-S International Microwave Symposium Digest (MTT), pp. 1-4.