

Domaine de recherche : Sciences pour l'ingénieur

Instrumentation

Intitulé du sujet :

µ-Cellule de traitement parallélisée pour la caractérisation mécanique cellulaire

Résumé du sujet :

Problématique :

Malgré les avancées importantes réalisées dans le domaine de la microrobotique, de nombreux thèmes de recherche restent encore à explorer notamment dans les domaines situés aux différentes interfaces de la cellule biologie. L'étude de la cellule reste un enjeu majeur dans le cadre de la compréhension et l'analyse des mécanismes biophysiques et chimiques régissant les fonctions cellulaires élémentaires. Cette étude peut être produite à différents niveaux d'échelles dimensionnelles et/ou temporelles. Cet aspect multidimensionnel est le fondement de la complexité de ce champ de recherche. Une des problématiques récurrentes apparue ces dernières années porte sur la compréhension de la réponse mécanique cellulaire aux stimuli mécaniques extérieurs. En effet, la recherche en biologie a atteint un niveau où l'étude des corps isolés est privilégiée à celle des tissus des réseaux organiques en raison de nouvelles hypothèses définissant des corrélations entre les facteurs mécaniques et certaines fonctions biologiques. Cette problématique est appelée la mécanotransduction, elle est le cœur du travail de recherche proposé dans le cadre de cette thèse. Plusieurs expérimentations ont montré que l'application de contraintes mécaniques extérieures (stimuli) sur certaines cellules biologiques (Humaine et animales) permettaient de déclencher des mécanismes génétiques particuliers telle que l'auto-réparation cellulaire. A titre d'exemple, nous citerons le cas des cellules Chondrocytes, organismes qui sont au cœur de tous les mécanismes de croissance chez les individus invertébrés. Sous l'effet d'un champ de contraintes mécaniques, ces cellules produisent une substance nutritive gélatineuse (collagène) qui favorise la régénération et le développement des tissus osseux. Dans ce contexte, les biologistes s'intéressent de nos jours à étudier l'impact de la modulation de l'amplitude des contraintes mécaniques sur la production de collagène. Ce dernier étant un élément essentiel de la réactivation des tissus osseux. La mécanotransduction est apparue très vite comme un champ de recherche complexe. En effet, pour répondre aux différents thèmes associés, il ne suffit pas de se doter d'un système expérimental existant et de l'adapter, mais il s'agit de concevoir des dispositifs dédiés. La particularité de cette approche repose sur la maîtrise globale de chaque composante. Ainsi, spécifiquement, la maîtrise des interactions mécaniques à l'interface cellulaire est primordiale. Cette maîtrise se traduit par un control précis des amplitudes de efforts et des déformations imposés aux échantillons biologiques. Ainsi des méthodes de conception de capteurs d'efforts et de calibration associées à des commandes référencées capteurs doivent être développées pour atteindre des mesures expérimentales pertinentes et reproductibles. Une difficulté supplémentaire apparaît aussi avec la nécessité de reproduire les expérimentations en milieu de type in vitro. Cette complexité inhérente au thème de la mécanotransduction est nécessaire. Ainsi, les changements d'états cellulaires sont un processus continu dont la mesure instantanée est insuffisante.

La littérature portant sur la conception de systèmes microrobotiques dédiés pour la l'étude de la mécanotransduction nous renseigne sur la complexité des recherches qui y sont menées [1-10]. Plusieurs approches ont été adoptées pour étudier la réponse mécanique des cellules biologiques. Une des approches la plus couramment adoptée consiste à utiliser les techniques de microscopie à champ proche tel que le microscope à force atomique. Cet outil, détourné de ses fonctions initiales, permet une mesure précise des modifications mécaniques multidimensionnelles d'une cellule unique [11-18]. Les trois quart de la littérature qui a trait à la mécanotransduction repose sur l'utilisation de cet outil. De l'analyse bibliographique poussée que nous avons réalisée, nous n'avons pas rencontré d'études portant sur la caractérisation mécanique d'une population de cellules biologiques en sein d'un même substrat. En effet, afin que les études de mécanotransduction soient viables, il est nécessaire de pouvoir conduire une étude sur un plus grand nombre de cellules afin de produire une étude statistique pertinente. Le microscopie à force atomique, de par son mode de fonctionnement sériel, ne permet pas de réaliser cette étude en un temps en adéquation avec les constantes cellulaire.

Ce sujet de thèse, à caractère recherche et développement, a donc pour ambition principale l'étude et la réalisation d'une cellule compacte de traitement parallélisé adapté à l'étude de la mécanotransduction. Les applications visées par les recherches menées concernent la caractérisation mécanique de population de cellules pour l'extraction des propriétés bio-mécaniques. Ce projet de recherche, de par son caractère pluridisciplinaire et les applications visées, propose une véritable alternative aux travaux actuels en proposant une approche novatrice pour la quantification du comportement biophysique de la cellule biologique dans son environnement.

Structure du projet de recherche :

Le travail mené dans le cadre de cette thèse s'articule autour trois thématiques principales relevant de champs pluridisciplinaires. Dans un premier temps, l'étude sera focalisée sur l'exploration et la sélection de principes physiques pouvant adresser l'agencement automatique et ordonnés des cellules biologiques sur un substrat. Des premières réflexions que nous avons menées (guidés par des développements peu coûteux en terme de temps), il semblerait que le choix d'un substrat fonctionnalisé à la fibronectine soit le plus adapté. En parallèle à cette étude, nous nous intéresserons également aux conditions de culture cellulaire. Les recherches que nous avons effectuées dans ce domaine montrent qu'il existe des solutions commerciales efficaces. Il s'agira donc de sélectionner le matériel adéquat pour conduire cette étude. Le second volet de cette étude s'attache à l'étude et la réalisation du dispositif positionnement et d'application des contraintes mécaniques sur les cellules. De par la nature de l'environnement aqueux de culture de cellules, une approche d'application des contraintes mécaniques en mode sans contact sera privilégiée. En effet, la plupart des principes physiques compatibles avec les gammes d'efforts et de déplacements désirés (piézoélectriques, électrostatiques, ...) ne sont pas compatibles avec un environnement de type aqueux. Cette phase d'étude pourra s'appuyer sur les travaux effectués en microscopie à champ proche de type MFM (Magnetic Force Microscopy). Nous attacherons une attention particulière à l'application visée lors de l'étape de conception pendant les deux phases précédemment citées. Aussi, des expérimentations seront conduites sur des cellules biologiques afin de valider l'approche adoptée et vérifier la viabilité de celle-ci. Ce travail s'appuiera notamment sur l'expertise des partenaires, issus des sciences du vivant, associés à ce projet. Dans le dernier volet de cette étude, les activités de recherche porteront sur le développement de méthodes automatiques de calibration et d'évaluation de la justesse de mesure en adéquation avec les spécificités attendus en terme de positionnement de d'application d'efforts. Des méthodes de filtrage numérique et d'automatique avancée (commande adaptative, LQR, ...) seront utilisées afin de répondre au caractère automatique visée.

Partenaires :

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse au sein du CEA (LIST/DTSI) s'appuieront sur la collaboration et l'expertise des organismes de recherche et partenaires industriels et universitaires associés à ce projet de recherche ambitieux. Nos partenaires du Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS - CNRS) et du Laboratoire de Robotique de Paris (LRP- FRE2507) spécialistes de la caractérisation mécanique cellulaire pourront participer à l'optimisation de la conception du prototype à réaliser dans le cadre applicatif de la caractérisation mécanique fixée dans ce projet. Enfin, l'expertise de notre partenaire du Laboratoire de Génétique de la Radiosensibilité CEA (DSV/DRR/LRG), dont les activités de recherche sont centrées autour de la caractérisation des effets biologiques produits par les génotoxiques physiques et chimiques sur les cellules de mammifères in vitro et in vivo, constitue un atout scientifique supplémentaire dans le cadre de ce projet.

Bibliographie :

- [1] Y. Sun, M. A. Greminger, and B. J. Nelson. Investigating protein structure with a microbotic system. In Proceedings of the 2004 IEEE ICRA, pages 2854–59, New Orleans, USA, April 2004.
- [2] A. Ichikawa, F. Arai, H. Maruyama, T. Fukuda, and T. Katsuragi. Single cell trap on a chip using in-situ microfabrication with photo-crosslinkable resin and thermal gelation. In Proceedings of the 2004 IEEE ICRA, pages 2848–53, New Orleans, USA, April 2004.
- [3] D-H Kim, B. Kim, S. Yun, and S. Know. Cellular force measurement for force reflected biomanipulation. In Proceedings of the 2004 IEEE ICRA, pages 2412–17, New Orleans, USA, April 2004.
- [4] F. Arai, K. Motoo, T. Fukuda, and T. Katsuragi. High sensitive micro touch sensor with piezoelectric thin film for micropipetting works under microscope. In Proceedings of the 2004 IEEE ICRA, pages 1352–57, New Orleans, USA, April 2004.
- [5] M. Lukkari and P. Kallio, "Multi-purpose impedance-based measurement system to automate microinjection of adherent cells", Proc. Int. Sympos. on Computational Intelligence in Robotics and Automation, pp. 20-26, 2005.
- [6] J.-M. Sharp, A.-R. Clapp and R.-B. Dickinson, "Measurement of longrange forces on a single yeast cell using a gradient optical trap and evanescent wave light scattering", Colloids and Surface B:Biointerfaces, vol. 27, pp. 355-364, 2003.
- [7] Yu Sun, Wan K.T., Roberts K.P., Bischof J.C., and Nelson B.J. Mechanical property characterization of mouse zona pellucida. IEEE Transactions on NanoBioscience, 2(4):279 – 286, Dec. 2006.
- [8] Mehdi Boukallel, Joël Abadie et Emmanuel Piat, "Levitated Micro-nano Force Sensor using Diamagnetic Levitation", International Conference on Robotics and Automation (ICRA). Septembre 2003. Taiwan.
- [9] M., Radmacher, "Measuring the elastic properties of biological samples with AFM", IEEE Engineering in Medicine and Biology, pp. 47-57, 1997.
- [10] O. Sahin, G. Yaralioglu, R. Grow, S. -F. Zappe, A. Atalar, C. Quate and O. Solgaard, "High-resolution imaging of elastic properties using harmonic cantilevers", Sensors and Actuators A, vol. 114, pp. 183-190, February 2004.
- [11] S. Park, K. Costa and G. Ateshian, "Microscale frictional response of bovine articular cartilage from atomic force microscopy", Journal of Biomechanics, vol. 37, 1687-1697, February 2004.

- [12] Maxime Girot, Mehdi Boukallel et Stéphane Régnier, " Modeling Soft Contact Mechanism of Biological Cells Using an Atomic Force Bio-Microscope ", IEEE International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS), Octobre 2006, Pékin, Chine.
- [13] X. Yao, J. Walter, S. Burke, S. Stewart, M.-h. Jericho, D. Pink, R. Hunter and .-J. Beveridge, "Atomic force microscopy and theoretical considerations of surface properties and turgor pressures of bacteria", Colloids and Surfaces B: iointerfaces, vol. 23, pp. 213-230, May 2002.
- [14] K. Costa and F, -C. Yin, "Analysis of indentation: implications for measuring mechanical properties with atomic force microscope", J. Biomeh. Engr. Trans. ASME, vol. 121, pp. 462-471, 1999.
- [15] Mehdi Boukallel, Maxime Girot et Stéphane Régnier, " Elastic Properties Exploration of In Vitro Cultured Microscopic Cells based on Haptic Sensing ", IEEE International Conference on Virtual Environments, Human-Computer Interfaces, and Measurement Systems, Juillet 2006, La Coruna, Espagne.
- [16] Maxime Girot, Mehdi Boukallel, et Stéphane Régnier, "An Hybrid Micro-Force Sensing Device for Mechanical Cell Characterization", IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference (IMTC), Avril 2006, Sorrento, Italie.
- [17] Mehdi Boukallel, Maxime Girot et Stéphane Régnier, "In Situ Autonomous Biomechanical Characterization ", European Robotics Symposium (EUROS), Mars 2006, Palerme, Italie.
- [18] Mehdi Boukallel, Maxime Girot et Stéphane Régnier, " The Force Sensing Bio-Microscope: An Efficient Tool for Cells Mechanotransduction Studies", IEEE International Conference of the Engineering in Medicine and Biology Society, Septembre 2006, New York, USA.
- [19] Christian Bergaud , "Mems-based approaches for surface biopatterning ", Micro and Nano Robotics Symposium, Octobre 2006, Paris, France.

DEA recommandés :

Profil du Candidat :De formation universitaire ou grande école, de profil mécatronique titulaire d'un mastère recherche. Vous procédez une bonne autonomie et un goût prononcé pour les développements technologiques et la recherche scientifique. Vous maîtrisez les outils classiques de CAO (Solidworks, Catia) de simulation numérique (Comsol, ANSYS, ...) et possédez de bonnes connaissances dans le domaine de la conception micromécanique. Des connaissances dans le domaine de la microfabrication par des techniques salles blanches seraient un atout supplémentaire.

Informations pratiques :

Direction de la Recherche Technologique/Département des Technologies des Systèmes Intelligents (LIST)

Service Robotique Interactive

Date souhaitée pour le début de la thèse : 01/10/2008

Personne à contacter par le candidat :

Mehdi BOUKALLEL

-- laboratoire --

18 route du Panorama- PB 6, 92265 Fontenay aux roses

Téléphone : 0146547082

E-mail : mehdi.boukallel@cea.fr