## Encart microfluidique

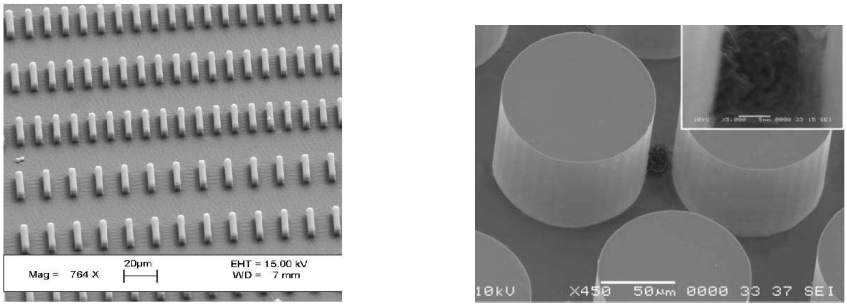
### Les techniques microfluidiques pour la séparation de cellules

Malgré les progrès impressionnants de la génomique et la protéomique avec l'essor et la généralisation des puces ADN dans les laboratoires, la miniaturisation et parallélisation des opérations biologiques restent encore laborieuses. En effet, les traitements des extraits biologiques (culture cellulaire, centrifugation, traitement des cellules, analyses biochimiques) sont réalisés sur des échantillons de grands volumes et nécessitent la présence d'opérateurs pour réaliser l'ensemble des expériences. Par la mise au point de « laboratoire-sur-puce » (« *lab on a chip* »), la microfluidique cherche à apporter une solution à ces problèmes.

La microfluidique est un domaine scientifique émergent qui étudie et développe des microsystèmes traitant des volumes égaux ou inférieurs au µL, ce qui est impossible par les techniques classiques de pipettage. Les « laboratoires-sur-puces » cherchent, tout comme les circuits intégrés en électronique, à intégrer sur un support de dimensions réduites (typiquement d'une taille comprise entre celle d'une lame de microscope et un CD) une multitude de processus à haut débit et de façon automatisée. Ces systèmes exploitent l'augmentation du rapport surface/volume pour parvenir à des vitesses et sensibilités d'analyse hors de portée des systèmes macroscopiques. De plus ils doivent permettre une grande automatisation et un haut débit d'analyse avec un coût de fabrication à l'unité minimal. Il est ainsi permis d'imaginer dans un avenir proche des systèmes miniaturisés réalisant par exemple le traitement d'un échantillon de sang, le tri cellulaire suivi d'une caractérisation morphologique, moléculaire et génotypique des cellules isolées.

### Systèmes de tri cellulaire en microfluidique et séparation de cellules tumorales de la moelle et du sang

Séparer une population homogène parmi un mélange hétérogène de cellules peut être réalisé sur la base de propriétés physiques (taille, masse volumique principalement) ou de propriétés moléculaires de surface ou intracellulaires. Des systèmes microfluidiques exploitent à profit ces différences. Dans un premier système, un microfiltre usiné dans une plaque de silicium reproduit le tri par la taille cellulaire (Fig. 1.a) (67). Ce système démontre la possibilité de fabriquer des filtres très bien calibrés en taille et dans l'espace. Un deuxième exemple exploitant la séparation des cellules sur la base de l'expression de la protéine de membrane EpCam reproduit une chromatographie d'affinité. Ce système a permis de trier des cellules tumorales circulantes (Fig.1 b) (41).



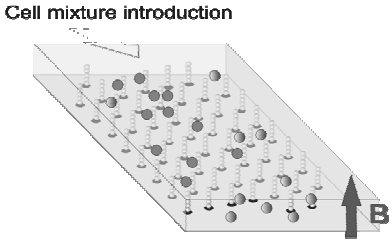

(a) (b)

*Fig. 1 : (a) Filtre utilisé pour le tri cellulaire. (b) Image en microscopie électronique de pilier recouverts de protéines EpCam permettant le tri de cellules tumorales circulantes (42).*

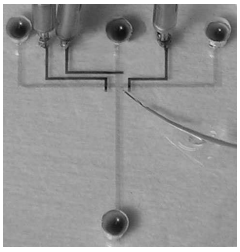
**Système de tri cellulaire développé à l'Institut Curie**

A l'institut Curie, au sein du laboratoire de Physico-Chimie Curie, un microsystème de tri cellulaire original a été développé. Celui-ci repose sur l'organisation de billes magnétiques en un réseau de piliers en 3D (Fig. 2a). Chaque bille étant recouverte d'anticorps dirigés contre une population cellulaire, les cellules seront triées sur la base de leur signature moléculaire de membrane. Cette technologie est introduite dans un système complètement automatisé (Fig. 2b). Il a été démontré que le système atteint des rendements de séparation et des puretés supérieurs à 95% à partir de mélanges de lymphocytes. Ce système permet d'organiser les cellules en réseau (Fig. 2c), où chaque cellule peut être étudiée individuellement tant d'un point de vue morphologique que moléculaire (Fig. 2d). Ce système est aujourd'hui utilisé pour le tri de cellules tumorales circulantes. Ces microsystèmes devraient connaître un développement important dans les années à venir, avec de nombreuses applications en biologie, tant fondamentale que médicale.

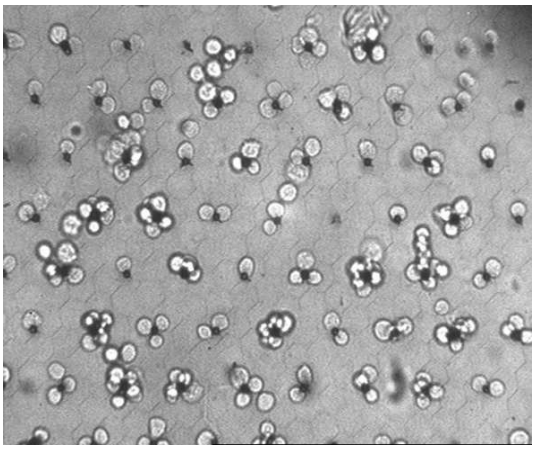
*Fig. 2 : (a) Principe du système de tri cellulaire à partir de billes magnétiques autoorganisées. (b) Image du système microfluidique complet. (c) Cellules capturées (en clair) autour des piliers de billes magnétiques (point foncés ; vue de haut). (d) Marquage des cellules capturées par du DAPI (marquage nucléaire bleu) et un marqueur membranaire (vert).*



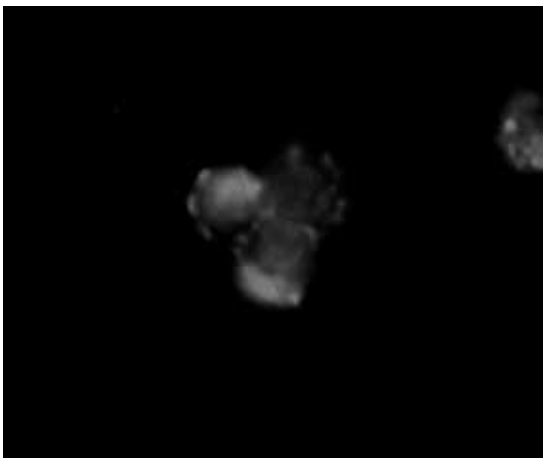

*(a)*



*(b)*



*(c)*



*(d)*