

<b>IMI</b>	<b>Projet : SHOCKPORATION</b>		
Correspondant :	Jérôme Giordano	jerome.giordano@univ-amu.fr	Durée contrat : 1 an

## Interaction d'une onde de choc avec des cellules biologiques : étude des mécanismes de transfection

### Contexte, positionnement et objectifs de l'étude :

La transfection permet le passage de matériel biologique exogène (ADN, ARN, protéines, etc.) à travers la membrane bi-lipidique des cellules. La réussite de la transfection est donc une des étapes clés aux procédés d'ingénierie génétique. Actuellement, les principales méthodes de transfection utilisées sont basées sur des procédés biologiques, chimiques ou électrochimiques [1]. On citera, en particulier, l'utilisation de virus ou l'électroporation qui sont devenues courantes. Si ces méthodes donnent des résultats satisfaisants sur des cellules de cultures, un manque d'efficacité est constaté dans les tentatives de transfusions de cellules dites primaires. En effet, celles-ci, qui sont directement extraites de l'organisme vivant que l'on souhaiterait traiter, ont des mécanismes de protection qui empêchent fortement le passage de matériel biologique exogène à travers leur membrane. Ainsi, la communauté scientifique doit travailler au développement de méthodes alternatives de transfection pour que les avancés du génie génétique puissent bénéficier à terme à l'homme.

Parmi les méthodes alternatives développées depuis les deux dernières décennies, certaines semblent prometteuses. Ces méthodes, basées sur des techniques mécaniques et physiques, sont : la *sonoporation* (focalisation d'ultrasons dans le bain [2]), l'*optoporation* (claquage laser dans le bain [3]) et la *shockporation* (bain soumis au passage d'une ou plusieurs ondes de choc intenses [4]). Ces trois méthodes ont pu montrer une capacité à transférer des cellules primaires. Cependant, les mécanismes conduisant à la poration de la membrane cellulaire ne sont pas compris. D'ailleurs, aucun consensus expliquant ces processus ne se dégage dans l'état de l'art [5][6][7].

Il apparaît donc nécessaire de poursuivre leur étude sur le plan fondamental. En outre, ces trois méthodes mettent en jeu des phénomènes hydrodynamiques similaires associés à l'utilisation de chocs. Notre hypothèse, non étudiée dans l'état de l'art, est que l'onde de choc, couplée à la configuration géométrique (sphéricité des cellules et courbure différente des discontinuités) et aux gradients de masse volumique entre les cellules et le milieu environnant seraient générateurs de phénomènes hydrodynamiques menant à la déstabilisation de la membrane. Plus précisément, l'interaction de la discontinuité de pression avec les cellules présente pour nous les caractéristiques menant au développement de l'instabilités de type Richtmyer-Meshkov [8][9]. Si tel était le cas, le dépôt d'une nappe de vorticités à l'interface de la cellule induit par cette instabilité pourrait expliquer la perméabilisation transitoire de la bi-couche lipidique.

### L'objectif de cette étude se formulera donc ainsi :

**Compréhension et caractérisation des mécanismes hydrodynamiques présents lors de l'interaction d'une onde de choc avec des cellules ; application à la transfection de matériel biologique exogène.**

### Sujet d'étude post-doctorale : développement d'un diagnostic de visualisation de l'interaction du choc avec des cellules ou vésicules.

Le contrat post-doctoral s'inscrit dans le cadre de la problématique scientifique que nous venons de décrire. Le ou la collègue recrutée participera ainsi à nos côtés au développement d'un banc de diagnostic optique en microscopie ultra haute vitesse pour visualiser l'interaction d'une onde de choc avec des cellules biologiques ou des vésicules. Pour ce faire, nous nous orientons vers l'utilisation d'un laser de puissance pour réaliser un claquage dans un bain de cellules ou vésicules directement observé sous microscope. Ce claquage laser doit conduire à la génération d'ondes de choc (dus au claquage donc, mais aussi, aux implosions des bulles de cavitation) qui interagiront avec les objets d'étude. C'est ces interactions que nous souhaitons caractériser.

<b>IMI</b>	<b>Projet : SHOCKPORATION</b>		
Correspondant :	Jérôme Giordano	jerome.giordano@univ-amu.fr	Durée contrat : 1 an

par l'expérience et confronter à notre modélisation. Deux difficultés majeures sont à surmonter : la génération contrôlée du choc de claquage et la visualisation des phénomènes microscopiques à haute vitesse.

Dans un premier temps, nous ne chercherons pas à visualiser directement l'onde de choc (autour de 1500 m/s), car cela implique d'utiliser une caméra rapide dont le shutter serait proche de la nanoseconde pour figer correctement le choc (champ de visualisation inférieur à 2mm). Notre objectif sera donc en première intention d'observer les effets du choc induits sur les objets en chronophotographie ultra-rapide sous microscope optique ([20KHz,100KHz]). Ceci devrait nous permettre de mieux caractériser la réponse mécanique des membranes phospholipidiques au passage de l'onde de choc et les phénomènes de relaxation. Des marqueurs fluorescents (de types GFP ou calcéine) pourront en outre être utilisés pour objectiver la poration des membranes. Ainsi, cette visualisation pourrait nous permettre de valider plus directement notre hypothèse et apporterait des éléments de références potentiellement utiles aux simulations numériques (Navier Stokes, dynamique moléculaire, etc.) de l'interaction choc-membrane - choc/vésicules.

En parallèle, nous envisageons également de développer un dispositif de claquage laser portatif. Ce dispositif expérimental a pour but de pouvoir réaliser des expériences sur des cellules humaines directement dans les laboratoires de biologie. Cela nous permettra en outre de mieux appréhender les écarts de comportement entre les vésicules (cellules modèles) et diverses cellules biologiques qui sont la cible de l'étude.

L'ensemble de l'approche expérimentale comporte de grandes difficultés, mais nous pensons que cet objectif reste accessible grâce aux compétences cumulées par le consortium du projet ainsi qu'à l'expérience acquise sur la problématique. **Le ou la candidate devra donc garder à l'esprit que si le potentiel de valorisation est grand, l'aspect fondamental de ce sujet de recherche n'est pas sans risque.**

Le ou la candidate devra idéalement posséder des compétences en optique et en instrumentation laser, ainsi qu'en mécanique des fluides expérimentale. **Les financements pour l'équipement sont acquis.**

**Mots clés : laser, choc, optique, expérimental, mécanique des fluides compressible, matière mole, micro-fluidique, biomécanique.**

### Équipe scientifique :

Le sujet de recherche est portée par 5 équipes concernent 5 laboratoires dont 4 rattachés à Aix Marseille Université et 2 appartenant à l'institut IMI (IUSTI et IRPHE). Ce travail préliminaire, engagé depuis 2018, nous a permis à la fois d'assimiler les difficultés liées à l'interdisciplinarité du projet, de regrouper autour de la problématique un large spectre de chercheuses et chercheurs reconnus dans leurs domaines mais surtout, de structurer notre approche commune pour aborder la problématique posée [10].

### Consortium :

IUSTI [AMU, CNRS - UMR 7343, Marseille]

IRPHE [AMU, Centrale Marseille - CNRS - UMR 7342, Marseille] L

P3 [AMU, CNRS UMR 7341, Marseille]

C2VN [AMU, INRA, INSERM - UMR 1263, Marseille]

PIMM [Arts et Métiers – ParisTech, CNRS – PIMM UMR 8006, Paris]

<b>IMI</b>	<b>Projet : SHOCKPORATION</b>		
Correspondant :	Jérôme Giordano	jerome.giordano@univ-amu.fr	Durée contrat : 1 an

## Références :

- [1] K. Kamimura, T. Suda, G. Zhang, and D. Liu, "Advances in gene delivery systems," *Pharmaceut Med.*, vol. 25, no. 5, pp. 293–306, 2011.
- [2] P. Huber and P. Pfisterer, "In vitro and in vivo transfection of plasmid dna in the dunning prostate tumor r3327-at1 is enhanced by focused ultrasound," *Nonviral Transfer Technology*, vol. 7, pp. 1516–1525, 2000.
- [3] M. Waleed, S.-U. Hwang, J.-D. Kim, I. Shabbir, S.-M. Shin, and Y.-G. Lee, "Single-cell optoporation and transfection using femtosecond laser and optical tweezers," *Biomedical Optics Express*, vol. 4, no. 5, pp. 1533–1547, 2013.
- [4] T. Kodama, A. G. Doukas, and M. R. Hamblin, "Shock wave-mediated molecular delivery into cells," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1542, pp. 186–194, 2002.
- [5] K. Koshiyama, T. Kodama, T. Yano, and S. Fujikawa, "Structural change in lipid bilayers and water penetration induced by shock waves: Molecular dynamics simulations," *Biophysical Journal*, vol. 91, pp. 2198–2205, 2006.
- [6] K. Koshiyama, T. Kodama, T. Yano, and S. Fujikawa, "Molecular dynamics simulation of structural changes of lipid bilayers induced by shock waves: Effects of incident angles," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1778, pp. 1423–1428, 2008.
- [7] G. C. Ganzenmüller, S. Hiermaier, and M. O. Steinhauser, "Shock-wave induced damage in lipid bilayers: a dissipative particle dynamics simulation study shock-wave induced damage in lipid bilayers: a dissipative particle dynamics simulation study," *Soft Matter*, vol. 7, no. 4307, 2011.
- [8] J. Giordano, G. Jourdan, Y. Burtshell, C. Mariani, and L. Houas, "On the mutual penetrations of two fluids whose interface is accelerated by a shock wave.," *Shock Waves*, vol. 15, no. 5, pp. 375–382, 2006.
- [9] J. Giordano and Y. Burtshell, "Richtmyer-meshkov instability induced by shock-bubble interaction: numerical and analytical studies with experimental validation," *Physics of Fluids*, vol. 18, march 2006.
- [10] N. Gaci, D. Normanno, J. Deschamps, P. Perrier, M. Modesti, and J. Giordano, "Shockporation: study of transfection mechanisms induced by shock wave on human cells," in *53rd 3AF International Conference on Applied Aerodynamics*, (Salon de Provence), March 2018.