

Utilisation de cellules vivantes pour le monitoring environnemental

Prof. Philippe Renaud, EPFL

• Premier biocapteur environnemental ?



Projet Nanotera - Livesense

- **Objectif:** Réaliser un **microsystème autonome** de mesure environnementale basé sur l'utilisation de **cellules vivantes**

Étapes:

- Etudier différents modèles cellulaires
- Développer de nouvelles méthodes de mesure de la réponse des cellules
- Développer un microsystème autonome de culture et mesure de cellules

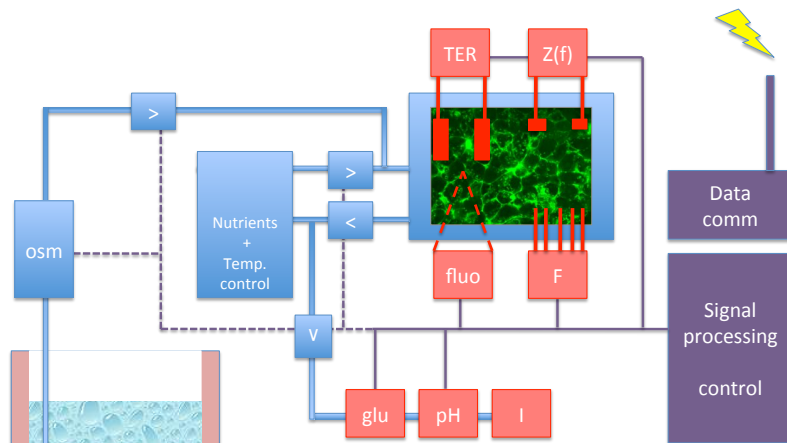
Nouveaux polluants émergents

Table 7 High-priority emerging contaminants and trace pollutants

Compound	Common use	Maximum concentration (µg/l)	Location
Carbamazepine	Antiepileptic	12	EU
1,4-Dioxane	Solvent	18	EU
17α-Ethinyl estradiol	Hormone	0.03	USA
17β-Estradiol	Hormone	0.2	USA
Estriol	Hormone	0.11	USA
Perfluorooctanoic acid	Surfactant	18	USA
Perfluorooctanesulfonic acid	Surfactant	1.4	EU
Hexachlorobenzene	Plasticizer	98	EU
Diazinon	Insecticide	1.3	US
Methoxychlor	Herbicide	1.7	EU
Dieldrin	Insecticide	0.21	USA
N,N-Diethyl-m-toluamide	Insect repellent	1.3	USA
Endosulfan	Insecticide	2.3	US
Acetaminophen	Pain reliever	18	US

Woutersen et al., 2011

Concept général



06.03.14

Pourquoi utiliser des cellules vivantes ?

- Réponse **biologiquement significative pour la toxicité pour les humains**
- Pas spécifique, mais **intégral** à une certaine toxicité
- Peut être très **sensible**
- Permet des mesures **d'accumulation**

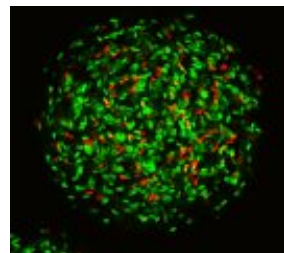
06.03.14

Bactéries génétiquement modifiées

- **spécificité**
- Facile à cultiver
- Déjà utilisé pour le monitoring environnemental

Défis

- **stockage**
- Mesure **continue**
- **référence**
- Nouvelles souches spécifiques



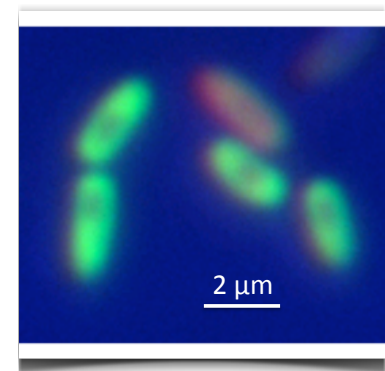
Bacteria in beads, Unil

06.03.14

Biocapteurs bactériens

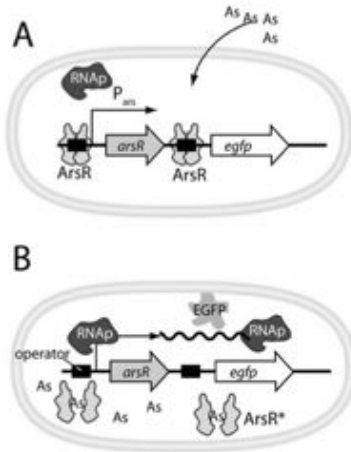
Espèces bactériennes génétiquement modifiées pour exprimer un gène en présence d'un produit chimique particulier

L'expression du gène provoque la production d'une molécule fluorescente



Détecteur d'arsenic avec *Escherichia coli*

Circuit génétique:



En absence de As:

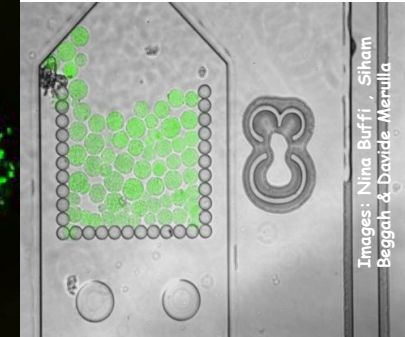
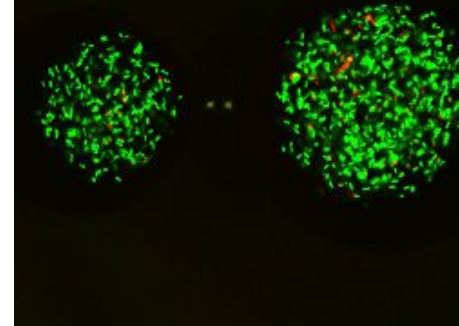
Le système est "OFF": pas d'expression de gène

En présence de As:

Le système est "ON": le gène est exprimé et produit la protéine fluorescente

Système microfluidique

Cells embedded in agarose beads, $d=40-70 \mu\text{m}$



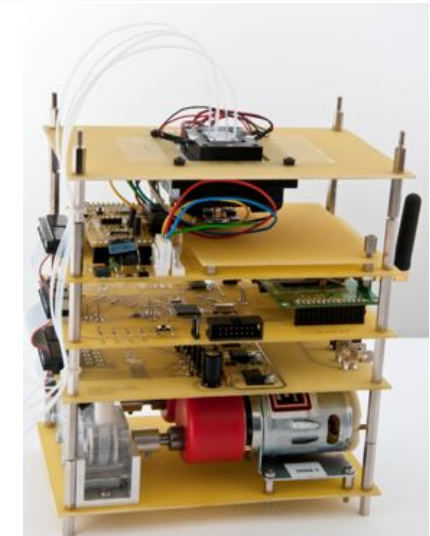
Images: Nirra Buffi, Silham Beggah & Davide Merulla

Préparation et activation

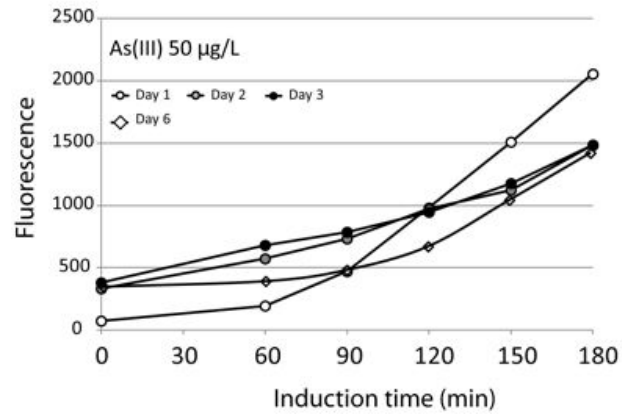


Compact portable biosensor for arsenite detection

- *Escherichia coli* bioreporter.
- Automatique
- Chip microfluidique interchangeable
- telecom



Bacterial culture on-chip : long term activity

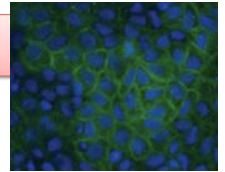


Cellules mamifères

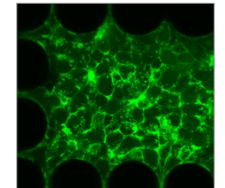
- Déjà utilisées pour la **toxicologie in-vitro**

Défis

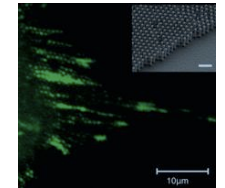
- **Méthode de détection**
- **Stabilité de la culture**
- **Echantillonnage de l'environnement**
- **variabilité**
- **référence**



Epithelial cells on chip, CSEM



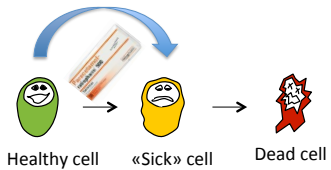
Hepatocytes on-chip, EPFL_LMIS



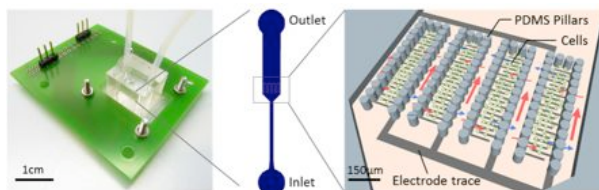
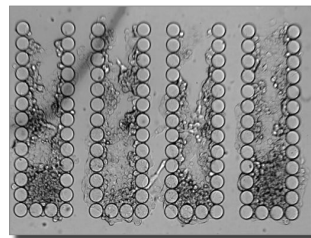
Fibroblasts on nanopillars, ETHZ

Mesures électriques sur les cellules du foie

Low frequency impedance

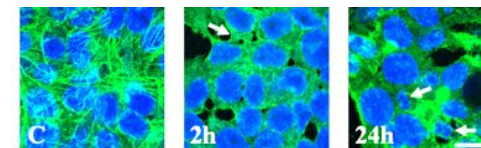
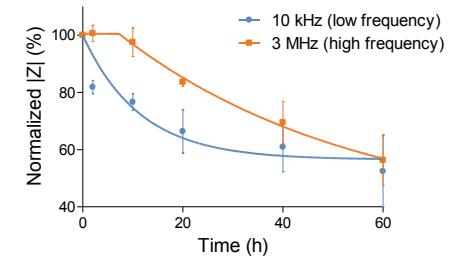


High frequency impedance

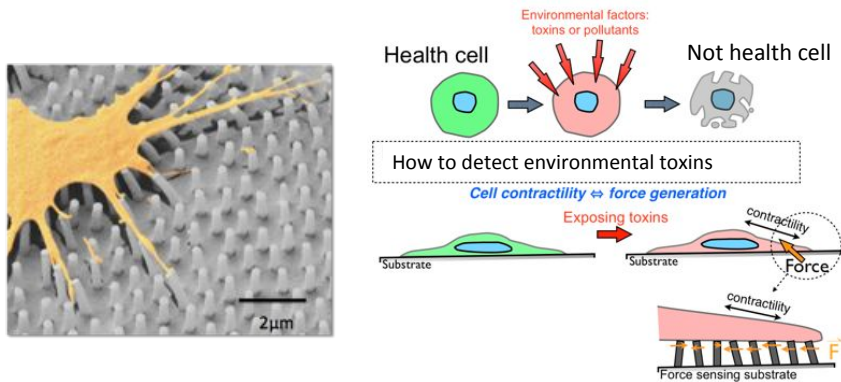


Mesures électriques sur les cellules du foie

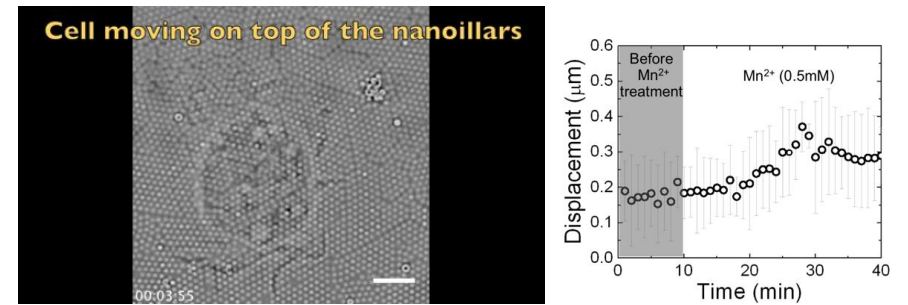
20mM Acetaminophen, n=4



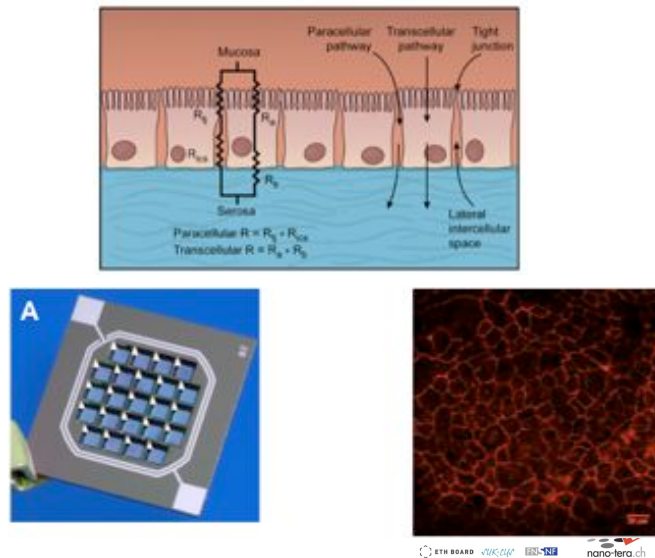
Mesure de contraction des cellules



Monitoring continu de l'effet de toxiques

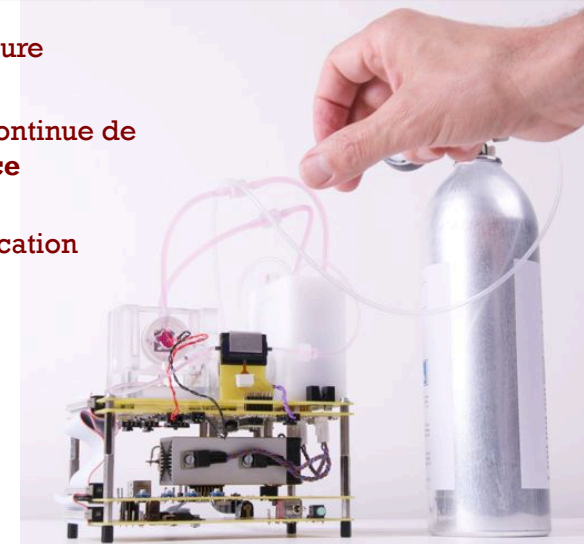


Résistance électrique de cellules épithéliales

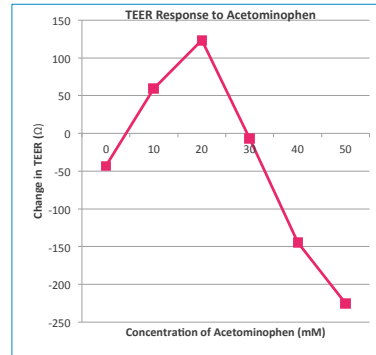
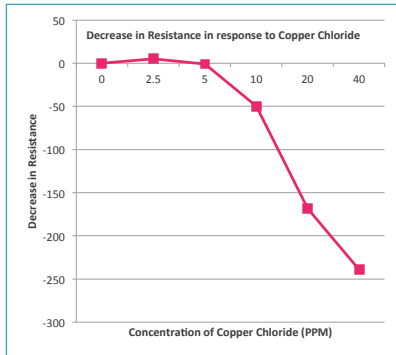


Mini incubateur autonome

- Température
- CO_2
- mesure continue de **résistance**
- wireless communication

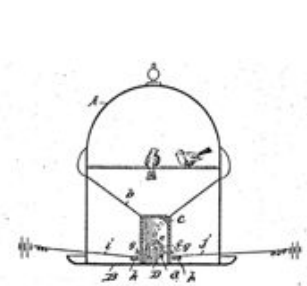


Réponse au chlorure de cuivre



Teams

- EPFL-LMIS** Microsystems Laboratory
 Microfluidics, cell chips, bio-impedance
 Philippe Renaud
- UNIL-DMF** Department of Fundamental Biology
 Cell biology, gene reporters, bacterial sensors
 Jan van der Meer
- HESSO-ISI** Industrial Systems Institute
 Microsystems, electronics, optical sensors
 Martial Geiser
- ETHZ-MAT** Biologically Oriented Materials
 Biomaterial, cell biology
 Viola Vogel
- CSEM** Nanobiotechnology group
 Surface biochemistry, biomaterials
 Martha Liley
- EPFL-LEPA** Electrochemistry and Analytics Laboratory
 Electrochemical sensing, analytical chemistry
 Hubert Girault
- EPFL-IMT** Sensors and Actuators Laboratory
 Microfluidics, microsensors
 Nico de Rooij
 Peter van der Val
- UNIL-IST** Institute of Occupational Health
 Riedicker
 Michael
 Health effect of pollution



Merci pour votre attention