

Validations biologiques et physico-chimiques d'un revêtement cellulosique de boîtes pour cultures cellulaires bioactives.

E. Velzenberger

(thèse octobre 2005 – octobre 2008)

Les propriétés de surface des biomatériaux conditionnent l'adsorption des protéines présentes dans l'environnement physiologique. La nature de la couche protéique adsorbée influence la morphologie et les orientations fonctionnelles des cellules adhérentes. Cette thèse a pour objet de combiner une approche biologique et physico-chimique pour caractériser un support cellulosique (CEL) original pour culture cellulaire et mieux comprendre les interactions protéine-surface et cellule-surface. L'objectif de ce projet pluridisciplinaire est de corréler les propriétés de surface avec les activations biologiques. Trois lignées cellulaires adhérentes murines ont été utilisées (les fibroblastes Swiss 3T3, les pré-ostéoblastes MC-3T3 et des cellules de mélanome B16F10). L'utilisation des mesures d'angles de contact en milieu liquide et de l'AFM a permis la caractérisation physico-chimique du substrat avant et après adsorption de fibronectine.

Les principaux résultats obtenus pour CEL sont:

- o L'agrégation cellulaire
- o L'inhibition de la prolifération cellulaire accompagnée d'un arrêt en phase G1 du cycle cellulaire
- o L'induction de l'apoptose
- o Le revêtement est très hydrophile et la fibronectine s'adsorbe peu et dans une conformation inadaptée pour l'adhésion cellulaire (mauvaise accessibilité RGD)
- o L'affinité instantanée négligeable de la Fn pour le revêtement cellulosique.

Cette étude montre que CEL est un biomatériau anti-adhésif donnant des résultats démonstratifs et reproductibles. En outre, cette étude souligne la nécessité d'associer plusieurs approches (ELISA, angles de contact en milieu liquide, spectroscopie de force) pour caractériser les interactions protéine-surface en conditions physiologiques, sur les biomatériaux.

mots-clés : "revêtement cellulosique" "adsorption de fibronectine" "angles de contact en milieu liquide"

Surface properties of biomaterials may influence protein adsorption and the composition of the protein layer may affect the morphology and the functional orientations of adherent cells. In this work, both biological and physico-chemical approaches were combined to characterize an original cellulosic coating (CEL) for cell culture and to better understand the interactions involved between a surface, proteins and finally cells. The aim of this multi-disciplinary project is to correlate surface properties (at the micrometric and at the nanometric scale) with biological activations. Three adherent murine cell lines were chosen (fibroblasts Swiss 3T3, pre-osteoblasts MC-3T3 and melanoma cells B16F10). Liquid-liquid contact angle measurements and AFM enabled to characterize the physico-chemical properties of the cellulosic substratum before and after fibronectin adsorption.

The principal results obtained with the cellulosic substratum are summarized below:

- o Cell aggregation,
- o A cellular proliferation inhibition with a blocking in G1-phase,
- o An induction of apoptosis,
- o CEL is hydrophilic and a little amount of fibronectin is adsorbed on the substratum in a conformation which is not appropriate for cell adhesion (bad accessibility to RGD site),
- o Instantaneous affinity negligible of fibronectin for the cellulosic material.

This study evidences that CEL is an anti-adhesive biomaterial which gives reproducible and demonstrative results. Moreover, this work underlines the necessity to combine several approaches (ELISA assays, liquid-liquid contact angle measurements, force spectroscopy) to characterize the interaction between a protein and a biomaterial surface under physiological conditions.

mots-clés en anglais : "cellulosic coating" "cell aggregation" "apoptosis" "fibronectin adsorption" "liquid-liquid contact" "angle measurements" "force spectroscopy" "atomic force microscopy"