



## Une meilleure efficacité grâce à l'automatisation des méthodes de culture cellulaire 3D

Par Brad Larson, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT – [www.biotek.com](http://www.biotek.com)

Les dosages *in vitro* permettent aux chercheurs de mieux comprendre les mécanismes cellulaires avant d'effectuer des études plus onéreuses *in vivo*. Cependant, les cultures cellulaires traditionnelles (2D) peuvent rapidement perdre certaines de leurs caractéristiques fondamentales du fait des différences avec un environnement *in vivo*. De plus, les cellules en culture monocouche ne peuvent pas interagir correctement avec les cellules adjacentes ou la matrice extracellulaire pour des processus de communication liés à la prolifération, la migration ou l'apoptose.

De nouvelles techniques de culture cellulaire en 3D permettent aux cellules de s'agréger et de former des réseaux de communication qui miment plus précisément les fonctions cellulaires à l'intérieur de tissus vivants. En combinaison avec des méthodes automatisées, ces cultures 3D permettent de réduire les erreurs et biais expérimentaux, et d'augmenter le nombre d'expériences effectuées en parallèle.

Une de ces méthodes de culture est le système « Real Architecture for 3D Tissue » (RAFT™) de Lonza BioSciences (Walkersville, MD, Etats Unis). Cette méthode utilise le collagène de type I pour générer des cultures transparentes et stables de ~120 µm d'épaisseur, avec une viabilité cellulaire élevée. Comme décrit sur la Figure 1, les cellules et la solution de collagène sont mélangées, distribuées dans une

microplaque et incubées. Après incubation, une plaque spéciale RAFT est utilisée pour transférer le milieu de culture sur une matrice d'hydrogel : cette matrice est déposée au fond des puits d'une nouvelle microplaque et du milieu de culture est ajouté. L'utilisation d'un distributeur automatique durant cette procédure facilite cette étape et en améliore la qualité et reproductibilité.

La validité du modèle RAFT automatisé est testée à l'aide d'expériences utilisant des cellules HCT116 cultivées sous forme de tumoroides. Une valeur de  $z'$  de 0.73 est observée lors de ce test. Un distributeur de liquide MultiFlo FX (BioTek Instruments, Winooski, VT, Etats Unis) est utilisé pour toutes les étapes de distribution et aspiration de liquides, y compris le mélange cellule/collagène, milieu de culture, et réactifs, ainsi que l'aspiration de milieu de culture usé

et réactifs en excès. Le MultiFlo est aussi utilisé pour préparer les étapes d'inhibition, lyse et détection. Un Imageur Cellulaire Multi-Mode Cytation (BioTek Instruments) est utilisé pour les mesures quantitatives ainsi que pour l'imagerie de confirmation de formation des tumoroides.

La Figure 2 illustre les valeurs d' $IC_{50}$  observées lors de la mesure de niveau de phosphorylation d'eIF4E en présence de cercosporamide, un inhibiteur directe de phosphorylation d'eIF4E. Une disparité pharmacologique est observée entre le modèle 2D (Figure 2C) et le système 3D RAFT (Figure 2D). L'inhibition semble être 3 fois plus importante dans le modèle 2D, ce qui peut être du à un changement métabolique lié aux interactions cellule:cellule ou cellule:matrice.

Les récentes techniques de culture *in vitro* 3D permettent de mieux reproduire les conditions cellulaires *in vivo*, et les techniques d'automatisation améliorent la qualité des résultats et limitent les étapes laborieuses de manipulation de liquide.

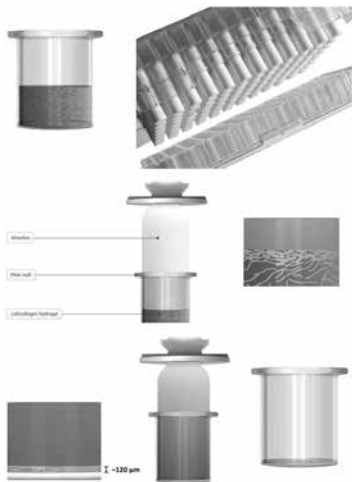


Figure 1. Création de l'hydrogel cellules/collagène RAFT 3D

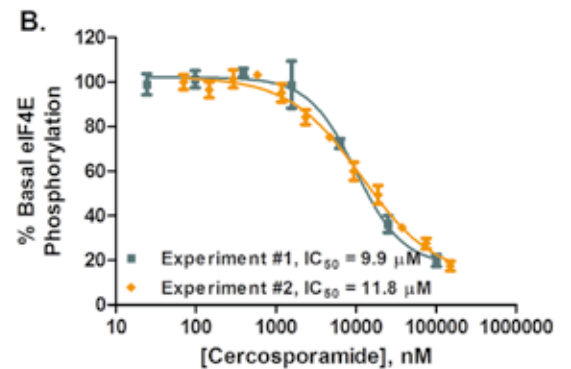
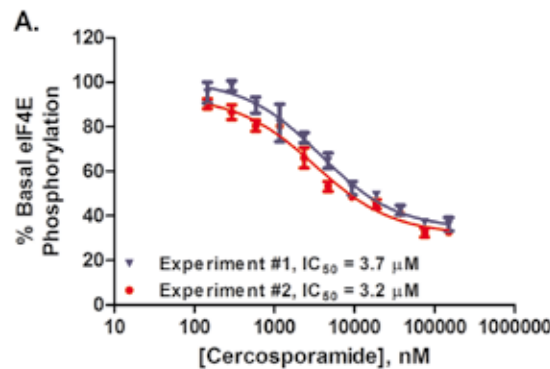


Figure 2. Pharmacologie du test d'inhibition de p-eIF4E

## Huber Kältemaschinenbau présente les nouveaux Unistat® „P“, avec pompe de pression plus puissante, pour les applications avec des pertes de pression élevées

Peter Huber Kältemaschinenbau GmbH

Tél. : +49 (0) 781 9603-0 - [www.huber-online.com](http://www.huber-online.com) - [info@huber-online.com](mailto:info@huber-online.com)

Contact France : Philippe Muraro - Tél. : +33 (0)778 260 449 - [pmu@huber-online.com](mailto:pmu@huber-online.com)

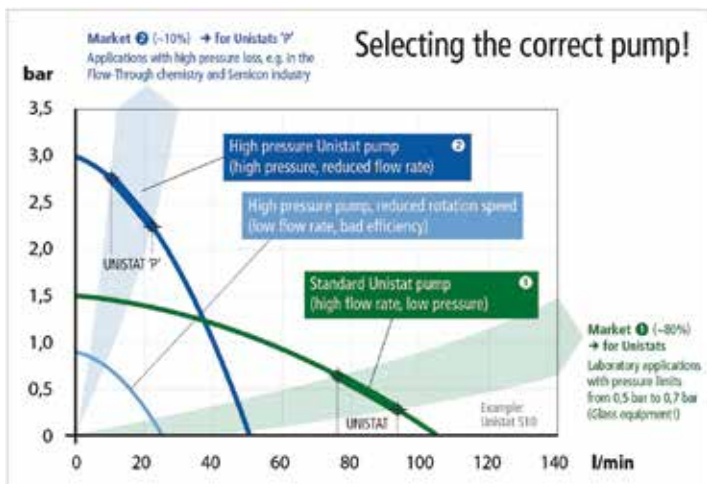
Depuis 1980, les systèmes Unistat représentent la solution de haute technologie pour une thermorégulation efficace dans le domaine des processus. Le principe Unistat permet une sécurité et une stabilité maximales des processus et il garantit des résultats de thermorégulation reproductibles. Les pompes Unistat sont systématiquement conçues de manière à

ce qu'une circulation maximale permette un écoulement le plus turbulent possible, un coefficient de transfert de chaleur élevé (valeur alpha) et de ce fait un transfert de chaleur hautement efficace au niveau des échangeurs thermiques (évaporateur et chauffage). Dans le cas de réacteurs de vitrification et dans environ 80% des applications, la pression

admise du système est inférieure à 1 bar dans la pratique. Les pompes Unistat génèrent de la quantité de circulation plutôt que de la pression de circulation et, en règle générale, il leur faut pour cela une puissance de moteur (de pompe) nettement plus faible. La courbe de fonctionnement de pompe est plus plate par rapport aux pompes optimisées au

niveau de la pression qui présentent souvent un entraînement magnétique et une puissance de moteur élevée.

Des applications, en nombre nettement plus réduit, présentent - du fait de leur conception - des sections transversales étroites et des chutes de pression importantes. De ce fait, elles permettent (et nécessitent) une pression de pompe plus élevée. Dans ces cas, et uniquement dans ces cas, l'utilisation de pompes de circulation dotées d'une pression de refoulement élevée est indiquée. Une régulation et de ce fait une réduction de la pression de circulation ne sont alors pas nécessaires, car même dans le cas de ces systèmes, il est nécessaire de disposer de la meilleure quantité de circulation possible pour un transfert de chaleur optimum. On trouve des applications typiques dans la chimie des fractions non retenues et dans l'industrie des semi-conducteurs.



Les nouveaux Unistats „P“ dotés de pompes haute pression sont prévus pour les applications nécessitant une pression élevée



Pour ces applications, Huber Kältemaschinenbau a élargi la gamme Unistat avec de nouveaux modèles qui sont équipés de pompes de circulation à pression particulièrement élevée. Ces nouveaux Unistats sont repérés avec la lettre supplémentaire „P“ (pour pression).

Les spécifications de puissance de refroidissement des Unistats sont toujours indiquées à la vitesse de rotation maximale de la pompe. Souvent, ce n'est pas le cas dans les autres marques. Il convient de regarder les spécifications de puissance de refroidissement de plus près : à la puissance maximale de la pompe, les machines frigorifiques doivent compenser une chaleur de moteur plus élevée de la pompe. Si les spécifications de puissance de refroidissement ne sont pas indiquées pour la puissance maximale de la pompe, on dispose de 200 à 900 Watt de puissance de refroidissement en moins pour le processus de thermorégulation - les températures finales ne sont alors plus atteintes non plus.