

<b>Titre Thèse</b> <b>Title</b>	Cytométrie biophysique en flux pour détecter les cellules cancéreuses métastatiques au sein d'un échantillon sanguine Biophysical flow cytometry to detect metastatic cancer cells in whole blood	
<b>(Co)-Directeur</b>	Cagatay TARHAN	E-mail : cagatay.tarhan@junia.com
<b>(Co)-Directeur</b>	Chann LAGADEC	E-mail : chann.lagadec@inserm.fr
<b>(Co)-Encadrant (s)</b>	Soo Hyeon KIM (LIMMS/CNRS-IIS, The University of Tokyo)	E-mail : shkim@iis.u-tokyo.ac.jp
<b>Laboratoire(s)</b>	IEMN	Web :
<b>Groupe(s)</b>	BioMEMS	Web :
<b>Financement acquis ?</b>	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input checked="" type="checkbox"/>
<b>Financement demandé</b>	Contrat Doctoral <input checked="" type="checkbox"/>	Etablissement porteur : Univ. Lille <input checked="" type="checkbox"/> Centrale Lille <input type="checkbox"/> JUNIA <input type="checkbox"/>
	Région <input checked="" type="checkbox"/>	Co-financement acquis : Oui <input type="checkbox"/> Non <input checked="" type="checkbox"/> Préciser son origine (qu'il soit acquis ou non) : Pas encore acquis mais discussions positives en cours avec la SATT.
	Autre :	

### Résumé :

La présence de métastases est un pronostic dévastateur, car engendre une morbidité et une mortalité importantes chez les patients atteints de cancer. Des preuves de plus en plus nombreuses ont montré que les cellules tumorales circulantes (CTC) reflètent la progression de la maladie et les réponses aux traitements. Elles sont donc très prometteuses en tant que "biopsie liquide" pour surveiller la biologie active des tumeurs. Aussi prometteuses soient-elles, les CTC sont des cibles difficiles à manipuler en raison de leur fréquence extrêmement faible. De plus, il n'existe pas de méthodes simples pour les caractériser. Il est donc essentiel de développer une méthode fiable, pratique et rapide afin de pouvoir l'inclure à l'analyse des examens médicaux de routine. Ainsi, ces contraintes exigent des approches alternatives sans marqueur ni étiquette. De nombreux processus cellulaires sont influencés par les changements de forme et d'intégrité structurelle des cellules, ce qui permettrait aux propriétés mécaniques des cellules de refléter leur état. Des études antérieures ont montré que les lignées cellulaires invasives présentent des propriétés biophysiques distinctes de leurs homologues non invasives : une réduction de la rigidité cellulaire a été corrélée avec une efficacité métastatique croissante. Ainsi, l'étude des propriétés biophysiques des cellules cancéreuses est d'une grande importance pour développer des outils de diagnostic ou des actions thérapeutiques.

Ce projet propose de développer un système de cytométrie de flux alternatif pour analyser les propriétés biophysiques de cellules uniques à haut débit afin d'étudier leur potentiel métastatique. L'analyse sera effectuée à l'aide d'un dispositif hybride MEMS/microfluidic pour mesurer les propriétés électriques en utilisant la cytométrie d'impédance, et les propriétés mécaniques en utilisant des actionneurs/capteurs à base de silicium. Le processus se déroulera en trois étapes : (i) A partir d'échantillons sanguins, une technique d'enrichissement des CTC permettra de trier les CTC - (ii) La suspension cellulaire obtenue sera introduite dans le système de cytométrie en flux pour la caractérisation de différents paramètres biophysique, par exemple la rigidité, la viscosité, la taille, la capacité de la membrane et la conductivité du cytoplasme, au niveau de la cellule unique - (iii) Après cette étape, les cellules collectées seront analysées pour leurs propriétés biologiques, par exemple migration/invasion, prolifération, analyse FACS et Western blot, afin créer un lien entre les propriétés biophysiques et biologiques des CTC.

Les caractéristiques interdisciplinaires du projet exigent de combiner les microtechnologies avec la biologie et la clinique, et doivent donc être menées dans un environnement interdisciplinaire offert par l'institut ONCOLille. Les échantillons cliniques, fournis par le Centre Oscar Lambret, seront enrichis en utilisant la technique CTC-FIND, développée par le Pr. S-H Kim, LIMMS/CNRS-IIS, Université de Tokyo (Japon), et transférée aux SMMiL-E à ONCOLille, au plus près de la cytométrie de flux biophysique (dont l'efficacité a été démontrée à l'aide de lignées cellulaires par le Dr. C. Tarhan, IEMN, l'équipe BioMEMS). Les analyses biologiques en aval seront effectuées au laboratoire Canther (Dr. C. Lagadec), toujours à ONCOLille.

En résumé, le projet interdisciplinaire et international proposé sera, à notre connaissance, la première tentative de distinguer les CTC dans des échantillons de patients en fonction de leurs signatures biophysiques multiparamétriques corrélés à un potentiel biologique et un développement métastatique chez le patient.

### Abstract:

Metastasis has a devastating prognosis and accounts for significant morbidity and mortality in cancer patients. Mounting evidence has shown that circulating tumor cells (CTCs) reflect disease progression and treatment responses and therefore have considerable promise as a "liquid biopsy" for monitoring active tumor biology. As promising as they are, CTCs are challenging targets to handle due to their extremely low frequency. Moreover, methods for their practical characterization

are missing. Therefore, a reliable, practical, and rapid method is crucial to include cancer cell analysis in routine medical examinations, which demands alternative label- and marker-free approaches. Many cellular processes are influenced by changes in cell shape and structural integrity, which potentially allows the mechanical properties of cells to reflect the state of their health. Past studies showed that invasive cell lines exhibit biophysical properties distinct from their non-invasive counterparts: a reduction in cell stiffness was reported with increasing metastatic efficiency. Thus, studying the biophysical properties of cancer cells is of great importance to developing diagnostic tools or therapeutic actions.

This project proposes developing an alternative flow cytometry to analyze the biophysical properties of single cells in a high-throughput manner for investigating their metastatic potential. The analysis will be performed with a hybrid MEMS/microfluidics device to measure electrical properties using impedance cytometry, and mechanical properties using silicon-based actuators/sensors. The process will be handled in three steps: (i) Starting from whole blood, a CTC enrichment technique will be sorting CTCs from blood samples. (ii) The resulting cell suspension will be fed to the proposed biophysical flow cytometry for characterization of different parameters, e.g., rigidity, viscosity, size, membrane capacitance, and cytoplasm conductivity, at the single cell level. (iii) Following this step, collected cells will be analyzed for their biological properties, e.g., migration/invasion, proliferation, FACS analysis, and Western blot, to validate the process and create a link between the biophysical and biological properties of CTCs.

The interdisciplinary characteristics of the project demand combining micro technologies with biology and clinics, and thus, needs to be conducted in a clinical environment, i.e., the ONCOLille Institute. The clinical samples, provided by Centre Oscar Lambret, will be enriched using the CTC-FIND technique developed by Pr. S-H Kim, LIMMS/CNRS-IIS, The University of Tokyo, Japan. The CTC-FIND technology has been transferred to the SMMiL-E facilities in the ONCOLille Institute, where the biophysical flow cytometry, too, was demonstrated for cell lines (Dr. C. Tarhan, IEMN, BioMEMS group). Downstream biological analyses will be performed at Canther Laboratory (Dr. C. Lagadec), also in ONCOLille.

In short, the proposed interdisciplinary and international project will be -up to our knowledge- the first attempt to distinguish CTCs in patient samples according to their multi-parameter biophysical signatures correlated with biological properties and metastatic development in patients.