

## Caractérisation des propriétés mécaniques de cellules adhérentes : Interprétation des mesures issues de la technique de pinces optiques.

Alain Kamgoué, Jacques Ohayon, Philippe Tracqui

Institut de l'Ingénierie et de l'Information de Santé  
Laboratoire TIMC-IMAG, Equipe Dynacell, CNRS UMR 5525  
Faculté de Médecine de Grenoble, 38706 La Tronche cedex, France  
\*auteur à contacter : [Jacques.Ohayon@imag.fr](mailto:Jacques.Ohayon@imag.fr)      <http://www-timc.imag.fr/dynacell/>

### Résumé :

*La caractérisation précise des propriétés mécaniques de cellules animales est cruciale pour comprendre et analyser comment celles-ci répondent à des stimuli mécaniques (mécanotransduction) in vivo. Parmi les différentes techniques expérimentales mises en oeuvre, la micromanipulation de microbilles par pinces optiques, déjà utilisée avec succès pour quantifier l'élasticité des globules rouges, a été appliquée aux mesures de rigidité de cellules adhérentes. Cependant, les rapports force externe imposée/translation de la bille issus des mesures expérimentales dépendent fortement des caractéristiques géométriques de l'interface bille-cellule et notamment de l'angle d'imprégnation  $\gamma$  de la microbille, de son rayon  $R$  et de l'épaisseur  $h$  de la cellule.*

*En simulant par éléments finis la déformation d'une cellule adhérente par pinces optiques, nous avons pu établir des fonctions de correction qui permettent de remonter au module de Young intrinsèque du milieu cellulaire à partir du module d'élasticité apparent déterminé expérimentalement.*

### Abstract :

*The precise characterization of animal cell mechanical properties is crucial to understand and analyze the cellular response to mechanical stimuli (mechanotransduction) in vivo. Among the various experimental techniques implemented, the bead micromanipulation by optical traps, already used successfully to quantify red blood cell elasticity, was applied to measure adherent cells rigidity. However, the ratios external forces imposed/bead translation resulting from experimental measurements strongly depend on the geometrical characteristics of the interface bead-cell and in particular the embedding angle  $\gamma$ , the bead radius  $R$  and the cell thickness  $h$ .*

*Using finite element method, adherent cell deformation by optical tweezers was computed. Thus, we could establish correction functions which allow to derive intrinsic cell Young's modulus from the apparent cell elasticity modulus determined in experiments.*

### Mots-clefs : Pinces optiques ; Elasticité ; Cellule

#### 1 Introduction

Chez tout être vivant, les cellules sont constamment soumises à des stimulations mécaniques exogènes et endogènes. L'importance de ces stimuli mécaniques sur le contrôle de l'activité cellulaire a été clairement mise en évidence par de très nombreux travaux expérimentaux au cours de ces dix dernières années. Cependant, l'analyse de la réponse cellulaire à ces stimuli mécaniques, par différents processus de mécanotransduction, n'est possible que si l'amplitude et la distribution spatio-temporelles des contraintes et des déformations intracellulaires peuvent être déterminées avec précision. Dans ce contexte, il est nécessaire de caractériser aussi finement que possible les modules d'élasticités des différents

types cellulaires concernés. Plusieurs techniques de micromanipulation, à plus ou moins haute technicité, ont ainsi été développées, depuis l'aspiration par micropipette Boudou *et al.* (2006a, 2006b) jusqu'à la microscopie par force atomique Dimitriadis *et al.* (2002), en passant par les techniques de magnétocytométrie Wang *et al.* 1993 ; Laurent *et al.* (2002) ; Ohayon *et al.* (2004) et de pinces optiques Henon *et al.* (1999).

C'est à cette dernière approche que nous nous intéressons ici. Rappelons brièvement que la micromanipulation de cellules par pinces optiques consiste à exercer, par l'intermédiaire d'un piège optique, une force contrôlée de quelques dizaines de pN sur une microbille de silice ( $2.1\mu\text{m}\sim 5.5\mu\text{m}$  de diamètre) Hénon *et al.* (1999). Dans le cas de cellules adhérentes, les billes sont fonctionnalisées pour qu'elles puissent se fixer sur des récepteurs transmembranaires. Ces billes sont alors partiellement immergées dans le cortex de la cellule, l'angle d'imprégnation  $\gamma$  de la bille pouvant être caractérisé par imagerie confocale.

Habituellement, le rapport force imposée / translation de la bille issu des mesures expérimentales est utilisé comme mesure directe du module d'élasticité de la cellule. Pourtant cette dérivation n'est valable qu'en faisant l'hypothèse d'un déplacement de la bille dans un milieu élastique linéaire infini ou semi-infini. Or il apparaît clairement que la valeur expérimentale mesurée pour la translation de la bille va dépendre fortement des conditions aux limites imposées par les caractéristiques géométriques de l'interface bille-cellule (angle d'imprégnation  $\gamma$  et rayon  $R$  de la microbille), ainsi que par le degré d'étalement de la cellule sur le substrat (épaisseur  $h_u$  de la cellule sous la bille).

Le but de ce travail est de comprendre comment ces différents facteurs géométriques influencent la réponse mécanique d'une cellule adhérente sollicitée par pinces optiques. En suivant une méthodologie analogue à celle développée dans Ohayon *et al.* (2005) et Tracqui *et al.* (2004), nous avons développé un modèle aux éléments finis représentant la géométrie 3D des interfaces billes / cellule / substrat et simulant le déplacement de la bille dans le piège optique. La réponse mécanique de cette cellule virtuelle a été simulée pour différentes valeurs du rayon de la bille, de son angle d'imprégnation et pour différents degrés d'étalement de la cellule. En nous appuyant sur un ensemble de données expérimentales fixant les valeurs possibles de ces paramètres, nous avons reconstitué plus de 300 géométries réalistes de l'interface bille-cellule. Pour chaque configuration, la simulation par éléments finis de la réponse cellulaire nous a permis de comparer les valeurs des modules d'élasticité apparent et intrinsèque de la cellule, et donc d'établir un ensemble de coefficients de correction qui permettent de déterminer le module de Young du milieu cellulaire à partir du module d'élasticité apparent dérivé des mesures expérimentales.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Modèle aux éléments finis

*Géométrie* : La cellule est représentée par un volume parallélépipédique de dimension ( $l \times l \times h$ ). La bille est située au centre de la surface supérieure de la cellule (Fig.1). L'interface bille-cellule a été modélisée en considérant des valeurs de paramètres prises dans les intervalles  $1\mu\text{m} \leq R \leq 5\mu\text{m}$ ,  $15^\circ \leq \gamma \leq 90^\circ$  et  $1\mu\text{m} \leq h \leq 20\mu\text{m}$ .

*Propriétés mécaniques du milieu cellulaire* : Comme dans l'étude de Ohayon *et al.* (2005), le milieu cellulaire est supposé homogène et quasi-incompressible. La loi de comportement de ce milieu est modélisée par une fonction d'énergie  $W$  de type néo-Hookienne :

$$W = a(I_1 - 3) \quad (1)$$

où  $a$  est une constante rhéologique. Notons que pour un tel milieu, le module d'Young initial de la cellule ( $E_{\text{cell}}$ ) est relié à cette constante rhéologique par la relation  $E_{\text{cell}} = 6a$ . Par ailleurs, la bille sphérique est vue comme un milieu rigide.

*Conditions aux limites* : Les conditions aux limites considérées pour cette étude sont les suivantes (Fig.1): (i) la cellule est supposée parfaitement adhérente au substrat sur toute sa face basale, ce qui correspond à des déplacements nuls de tous les noeuds du maillage situés à l'interface cellule-substrat, (ii) la symétrie du problème impose un déplacement normal nul pour les noeuds se situant sur le plan de symétrie, (iii) la force est exercée au centre de la bille, parallèlement au plan de symétrie et au plan défini par le substrat, et (iv) les autres contours de la cellule sont supposés libres de toute contrainte.

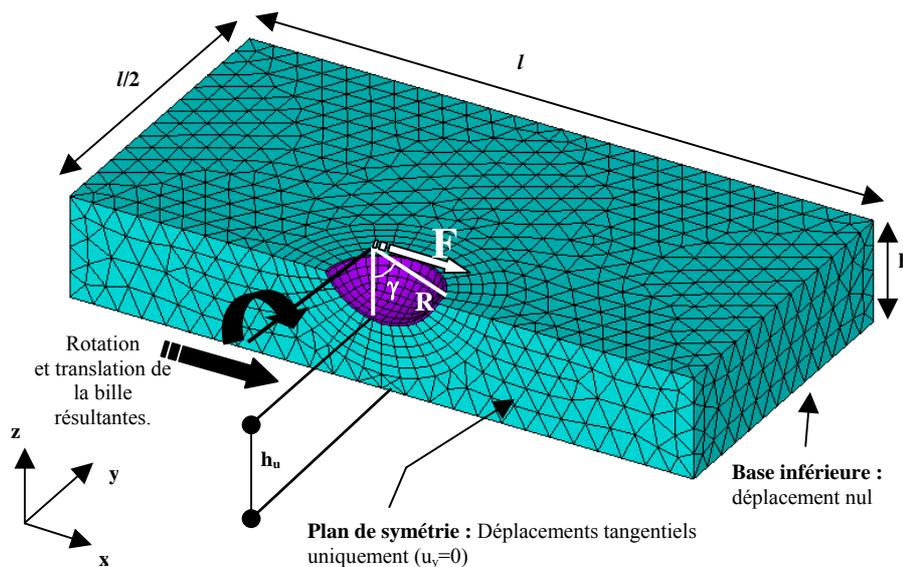


Fig.1 : Modèle et maillage 3D de la cellule - Conditions aux limites imposées aux différentes interfaces

## 2.2 Détermination du module d'Young apparent

Dans le cas d'une bille totalement immergée dans un milieu isotrope, élastique linéaire, infini et incompressible, le module d'Young  $E$  est relié à la force  $F$  imposée et au déplacement résultant de la bille  $U$  par la relation Lin et al. (2006) :

$$F = (1/2) E S \delta \quad (2)$$

où  $S = 4\pi R^2$  est la surface de la bille et  $\delta$  est la translation normalisée de la bille ( $\delta = U/R$ ). A l'inverse, partant de cette relation, on peut déduire à partir d'un couple de valeurs force - déplacement un module d'Young apparent :

$$E_{\text{ap}}^{\delta} = \frac{2F}{S\delta} \quad (3)$$

En réalité, lors des expériences de pinces optiques, la bille n'est pas totalement immergée dans la cellule et la cellule ne constitue pas un milieu infini pour celle-ci. Ainsi le module apparent calculé à partir de la relation (3) doit être corrigé pour obtenir le module intrinsèque de la cellule  $E_{\text{cell}}$ . Dans ce but, on définit un coefficient de correction  $\alpha$  comme étant :

$$E_{app}^{\delta} = \alpha E_{cell} \quad (4)$$

### 3. Détermination du coefficient de correction

Dans les expériences de pinces optiques, le rayon de la bille peut être supposé très petit devant les dimensions de la cellule. C'est pourquoi nous prenons pour notre modèle aux éléments finis  $l=20 \times R$ . De façon intéressante, et en accord avec l'étude précédente de Ohayon *et al.* (2005), les résultats issus d'une série de simulations préliminaires ont montrés que seuls 2 grandeurs, l'angle d'imprégnation  $\gamma$  et le rapport  $\xi=h_u/2R$  entre la hauteur de cellule sous bille et le diamètre de la bille, étaient nécessaires pour quantifier la réponse mécanique cellulaire.

#### 3.1 Influence de la hauteur sous bille normalisée $\xi$

L'influence de la variable  $\xi$  sur la distribution des déformations effectives à l'intérieur d'une cellule sollicitée par la bille soumise à une force  $F$  est clairement mise en évidence sur la Fig.2. Deux épaisseurs sous billes différentes ont été considérées, à savoir  $h_u=0.4\mu\text{m}$  (Fig.2A) et  $h_u=2\mu\text{m}$  (Fig.2B). Dans les deux cas, nous avons conservé le même angle d'imprégnation  $\gamma = 50^\circ$ . Nos résultats montrent que les effets de l'adhérence de la cellule sur le substrat sont d'autant plus importants que la cellule est fine (Fig. 2A, 2B).

#### 3.2 Influence de l'angle d'imprégnation $\gamma$

Afin de montrer l'effet de l'angle d'imprégnation de la bille  $\gamma$  sur la réponse mécanique, nous avons simulé deux cas  $\gamma = 50^\circ$  (Fig.2B) et  $\gamma = 80^\circ$  (Fig.2C), tout en conservant la même hauteur sous bille  $h_u=2\mu\text{m}$ . De façon intéressante nos résultats montrent que c'est, paradoxalement, dans le cas où la bille est la plus enfoncée que la condition d'adhérence affecte le moins la réponse mécanique.

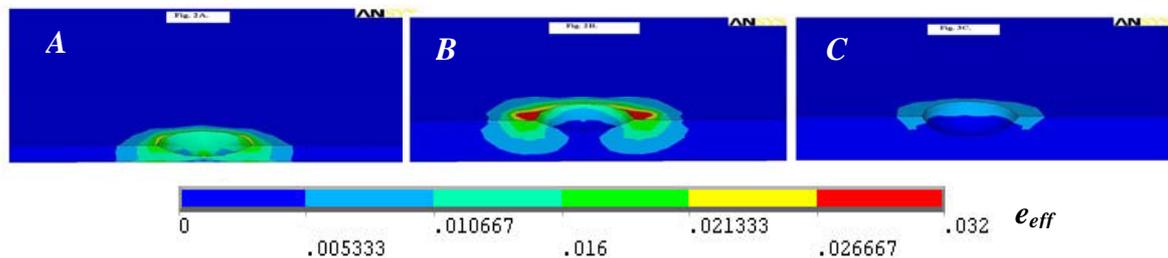


Fig. 2 : Influence des paramètres géométriques sur la distribution des déformations effectives. Cartographies des déformations effectives  $e_{eff}=(2e_{ij}e_{ij}/3)^{1/2}$ , où les  $e_{ij}$  sont les composantes du tenseur déviateur des déformations. A)  $\gamma = 50^\circ$ ,  $h_u = 0.4\mu\text{m}$ . B)  $\gamma = 50^\circ$ ,  $h_u=2\mu\text{m}$ . C)  $\gamma = 80^\circ$ ,  $h_u=2\mu\text{m}$ . Pour ces trois simulations on impose une même force  $F = 50 \text{ pN}$  à la bille, les paramètres suivants ont été maintenus constants :  $E_{cell} = 6a = 500 \text{ Pa}$ ,  $R = 2 \mu\text{m}$ ,  $l = 20 \times R$ .

### 3.3 Facteurs de correction

Les facteurs de corrections calculés à partir de l'ensemble de nos simulations sont présentés sur

la Fig.3. Les résultats obtenus pour chaque angle d'imprégnation  $\gamma_i$  ont été interpolés à l'aide des courbes de types hyperboliques  $\alpha(h_u/2R)$  données par :

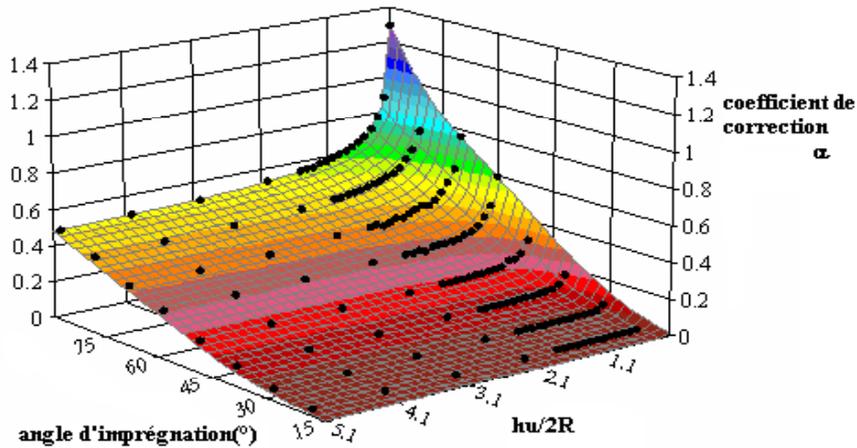


Fig 3. Valeur du coefficient de correction  $\alpha$  en fonction de la hauteur sous bille normalisée  $h_u/2R$  et de l'angle d'imprégnation  $\gamma$

$$\alpha(\gamma_i, h_u / 2R) = A_\alpha(\gamma_i) + \frac{B_\alpha(\gamma_i)}{h_u / 2R} \quad (5)$$

Dans un deuxième temps les valeurs des deux coefficients  $A_\alpha(\gamma_i)$  et  $B_\alpha(\gamma_i)$  ont été aussi interpolés à l'aide de fonctions polynomiales cubiques de l'angle  $\gamma$  :

$$A_\alpha(\gamma) = A_{\alpha 0} + A_{\alpha 1} \gamma + A_{\alpha 2} \gamma^2 + A_{\alpha 3} \gamma^3 \quad (6)$$

$$B_\alpha(\gamma) = B_{\alpha 0} + B_{\alpha 1} \gamma + B_{\alpha 2} \gamma^2 + B_{\alpha 3} \gamma^3 \quad (7)$$

avec  $A_{\alpha 0}=2.321 \cdot 10^{-2}$ ,  $A_{\alpha 1}=-2.054 \cdot 10^{-1}$ ,  $A_{\alpha 2}=5.250 \cdot 10^{-1}$ ,  $A_{\alpha 3}=-1.338 \cdot 10^{-1}$ ,  $B_{\alpha 0}=4.788 \cdot 10^{-3}$ ,  $B_{\alpha 1}=-4.314 \cdot 10^{-2}$ ,  $B_{\alpha 2}=1.020 \cdot 10^{-1}$ ,  $B_{\alpha 3}=-2.698 \cdot 10^{-2}$ .

#### 4 Conclusions

Les micromanipulations par pinces optiques constituent une approche expérimentale intéressante et fréquemment utilisée pour caractériser l'élasticité d'une cellule à partir du déplacement d'une bille partiellement immergée dans le milieu cellulaire. Notre travail montre que la valeur du module de Young qui est habituellement déduite de ces mesures peut s'avérer très différente du module d'élasticité intrinsèque de la cellule, car la bille sollicite un milieu de dimensions finies. Néanmoins, les facteurs de correction que nous avons établis permettent de prendre en compte l'influence de l'angle d'imprégnation et de la hauteur sous bille sur la

réponse mécanique, ces deux paramètres pouvant être mesurés expérimentalement, par exemple par microscopie confocale. Ces résultats peuvent s'appliquer à un ensemble de technique utilisant le même principe de stimulation mécanique, comme les pinces magnétiques. En permettant de quantifier plus exactement l'élasticité des cellules, ils devraient contribuer à une analyse plus fine de la cascade de signalisation mécanique véhiculée depuis les niveaux les plus périphériques des organes et des tissus jusqu'aux noyaux des cellules.

## Références

- Boudou, T.; Ohayon, J.; Arntz, Y.; Finet, G.; Picart, C.; Tracqui, P. 2006 An extended modeling of the micropipette aspiration experiment for the characterization of the Young's modulus and Poisson's ratio of adherent thin biological samples: numerical and experimental studies. *Journal of biomechanics* **39**, 1677-85.
- Boudou, T.; Ohayon, J.; Picart, C.; Tracqui, P. 2006 An extended relationship for the characterization of Young's modulus and Poisson's ratio of tunable polyacrylamide gels. *Biorheology* **43**, 721-8.
- Dimitriadis, E. K.; Horkay, F.; Maresca, J.; Kachar, B.; Chadwick, R. S. 2002 Determination of elastic moduli of thin layers of soft material using the atomic force microscope. *Biophys J* **82**, 2798-810.
- Henon, S.; Lenormand, G.; Richert, A.; Gallet, F. 1999 A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers. *Biophys J* **76**, 1145-51.
- Laurent, V. M.; Henon, S.; Planus, E.; Fodil, R.; Balland, M.; Isabey, D.; Gallet, F. 2002 Assessment of mechanical properties of adherent living cells by bead micromanipulation: comparison of magnetic twisting cytometry vs optical tweezers. *Journal of biomechanical engineering* **124**, 408-21
- Lin, D. C.; Langrana, N. A.; Yurke, B. 2005 Force-displacement relationships for spherical inclusions in finite elastic media. *Journal of applied physics* **97**,
- Ohayon, J.; Tracqui, P. 2005 Computation of adherent cell elasticity for critical cell-bead geometry in magnetic twisting experiments. *Ann Biomed Eng* **33**, 131-41.
- Ohayon, J.; Tracqui, P.; Fodil, R.; Fereol, S.; Laurent, V. M.; Planus, E.; Isabey, D. 2004 Analysis of Nonlinear Responses of Adherent Epithelial Cells Probed by Magnetic Bead Twisting: A Finite Element Model Based on a Homogenization Approach. *Journal of Biomechanical Engineering* **126**, 685-698
- Tracqui, P.; Ohayon, J. 2004 Transmission of mechanical stresses within the cytoskeleton of adherent cells: a theoretical analysis based on a multi-component cell model. *Acta Biotheor* 2004 **52**, 323-41.
- Wang, N., J.P. Butler, and D.E. Ingber. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science* **260**:1124-1127,1993.