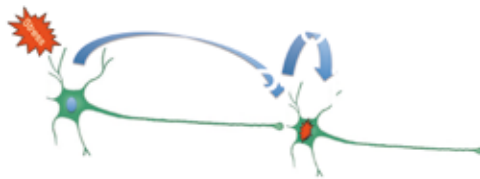


Systèmes microfluidiques pour l'étude des phénomènes de dégénérescence axonale et synaptique.

Bernard BRUGG (Coordinateur) Equipe SMN, CNRS UMR 7102 & Jean Louis VIOVY, Laboratoire de Physicochimie Curie CNRS / Institut Curie, UMR 168

Modélisation des phénomènes neurodégénératifs dans des systèmes de cultures microfluidiques permettant un contrôle fin du microenvironnement cellulaire.

Des résultats récents montrent qu'au cours de la maladie d'Alzheimer (MA) la mort neuronale est précédée de signes de dysfonctionnements synaptiques, puis de dégénérescence axonale, engendrant ainsi la perturbation de la communication entre les neurones. Les systèmes expérimentaux utilisés pour étudier cette pathologie comprennent des modèles d'animaux transgéniques dont l'avantage est de maintenir l'intégrité structurale du cerveau mais dont la complexité empêche les études moléculaires et cellulaires fines. A l'autre extrémité du spectre, les modèles de cultures cellulaires neuronales dissociées permettent de détailler les mécanismes moléculaires mais ne recréent pas l'environnement hautement ordonné du cerveau. Le but de ce projet a consisté à étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les phénomènes de dégénérescence axonale et synaptique du système nerveux central, après la mise en place de nouveaux outils expérimentaux : des cultures neuronales de type microfluidique.



L'avènement très récent des technologies microfluidiques dans le champ de la biologie cellulaire permet de procéder à la miniaturisation et la sérialisation des systèmes expérimentaux, et présente l'avantage d'offrir la possibilité de contrôler très finement les écoulements fluides dans un environnement à l'échelle micrométrique. Récemment, la preuve de l'intérêt de ces dispositifs pour la neurobiologie a été objectivée par la description d'un système permettant de compartimentaliser, *in vitro*, des corps cellulaires de neurones, de leurs terminaisons nerveuses (Taylor, 2005). Néanmoins, ce système reste perfectible dans la mesure où il ne permet pas la reconstruction de réseaux de neurones orientés *in vitro*.

Publications:

Paul D, Saias L, Pedinotti JC, Chabert M, Magnifico S, Pallandre A, De Lambert B, Houdayer C, Brugg B, Peyrin JM, Viovy JL. (2011) A "dry and wet hybrid" lithography technique for multilevel replication templates: Applications to microfluidic neuron culture and two-phase global mixing. *Biomicrofluidics*. 14:5(2):24102.

Kilinc D, Peyrin JM, Soubeyre V, Magnifico S, Saias L, Viovy JL, Brugg B. (2011) Wallerian-like degeneration of central neurons after synchronized and geometrically registered mass axotomy in a three-compartmental microfluidic chip. *Neurotox Res*. 19(1):149-61.

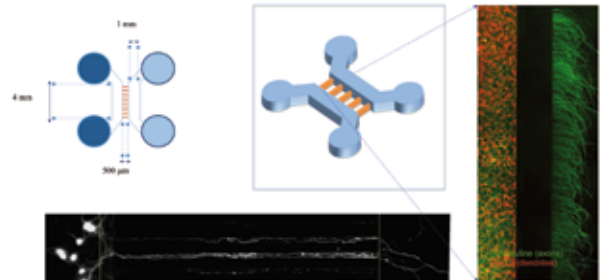
Peyrin JM., Deleglise B, Vignes M, Gougis P, Saias L, S. Magnifico, S. Betuing, M.Pietri, P.Vanhoutte, J.L. Viovy & B. Brugg (2011) Microfluidic chips with "axon diodes" for directed axonal outgrowth and reconstruction of complex live neural networks. *In press*, Lab on a Chip

Magnifico S., Saias L., Deleglise B., Dupuis E., Kilinc D., Miquel M.C., Viovy J.L., Brugg B., Peyrin J.M. (2011). CNS neuron dying back involves axonal caspase activation: implication for Alzheimer Disease. *Submitted*

Brevet :
Microfluidic chips with "axon diodes" for reconstruction of complex live neural networks. Peyrin JM, Saias L, Gougis P, Viovy JL and Brugg B. *Patent pending*.

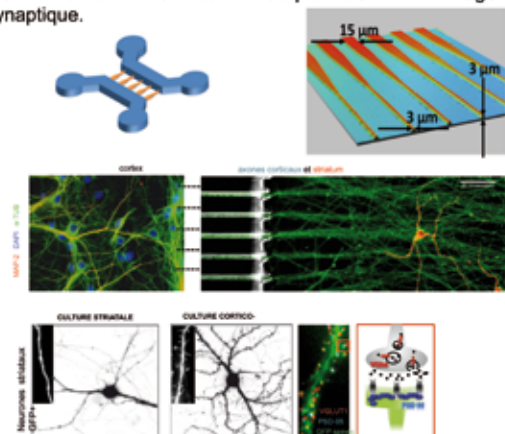
Nos travaux ont permis de mettre au point, valider et proposer à la communauté scientifique, des cultures microfluidiques, permettant de modéliser plusieurs aspects de la problématique de la dégénérescence neuronale:

1) de caractériser les mécanismes moléculaires impliqués dans la fragmentation axonale observée dans les phénomènes de « dying back » dans des neurones du système nerveux central.



L'application d'un stress au niveau du compartiment somato-dendritique sur des neurones du SNC provoque une dégénérescence axonale très précoce, ce qui est à distance au niveau de la portion distale de l'axone, et faisant intervenir ses composants de la machinerie apoptotique. D'autre part, nos résultats révèlent que la décision de déclencher une apoptose axonale est sous le contrôle du soma.

2) de mettre au point des modèles de réseaux de neurones interconnectés dans les dispositifs microfluidiques dans le but d'étudier les mécanismes et les conséquences de la dégénérescence synaptique.



Pour obtenir des co-cultures dans lesquelles non seulement la direction mais également le sens de croissance des projections axonales sont contrôlés, un système dit de "diodes axonales" a été mis au point. Ce nouveau modèle de culture de neurones en réseaux se révèle donc adapté pour étudier les mécanismes moléculaires associés à des phénomènes neurodégénératifs au niveau des terminaisons synaptiques (Peyrin et al. *sous press*).

CONTACT :

Bernard.brugg@upmc.fr

