

## Sujet de thèse

### École doctorale EEA de Lyon

*Merci de compléter l'ensemble des rubriques et de lire les notes de bas de page.*

<b>Etablissement d'inscription :</b> Université Claude Bernard Lyon 1 <sup>1</sup>
<b>École doctorale :</b> ED 160 EEA de Lyon dirigée par Mr Delachartre Philippe
<b>Intitulé du doctorat :</b> Ingénierie pour le vivant <sup>2</sup>
<b>Sujet de la thèse :</b> Une puce microfluidique pour le tri et le comptage des CTC à partir du sang total
<b>Unité de recherche :</b> INL <sup>3</sup> , dirigée par Bruno Masenelli
<b>Directeur/trice de thèse :</b> Mme DEMAN Anne-laure
<b>Co-directeur/trice de thèse (le cas échéant)<sup>4</sup> :</b>
<b>Co-directeur/trice de thèse en entreprise (le cas échéant) :</b>

<sup>1</sup> A impérativement choisir dans la liste suivante : Ecole Centrale de Lyon, INSA de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1

<sup>2</sup> A impérativement choisir dans la liste suivante : Automatique // Electronique, Nanotechnologie, Optique et Laser // Génie Electrique // Ingénierie pour le vivant Traitement du signal et de l'Image)

<sup>3</sup> A impérativement choisir dans la liste suivante : Laboratoire Ampère, CITI, CREATIS, INL, LAGEP, LGEF

<sup>4</sup> Un/une co-encadrant-e n'est pas nécessairement co-directeur/trice de thèse puisque pour remplir ce rôle, il est nécessaire d'être habilité à diriger des recherches (pour plus de précision, voir le règlement intérieur de l'ED EEA, section 3.

**Collaboration(s)/partenariat(s) extérieur(s) éventuels<sup>5</sup> :**

Hospices Civiles de Lyon, Start-up Inovotion

**Domaine et contexte scientifiques :**

L'isolement des cellules tumorales circulantes (CTC) directement à partir du sang par biopsie liquide pourrait entraîner un changement de paradigme dans le traitement clinique du cancer en permettant un diagnostic plus précoce, un pronostic plus précis et un traitement personnalisé. Néanmoins, les défis spécifiques des CTC, notamment leur rareté et leur hétérogénéité, ont jusqu'à présent limité l'utilisation des CTC dans les études cliniques. Les technologies d'isolement basées sur la microfluidique sont des outils prometteurs pour contourner ces limitations, mais ne répondent toujours pas aux contraintes de grande pureté et de temps de traitement court nécessaires pour assurer la compatibilité avec le suivi clinique. Les méthodes de séparation des CTC des globules blancs sont basées soit sur les propriétés physiques des cellules, soit sur les propriétés biologiques des cellules. Nous avons récemment démontré l'intérêt de combiner une étape de pré-enrichissement basée sur la taille, en utilisant le système commercial ClearCell FX1<sup>®</sup> et une étape d'isolement, réalisée dans notre dispositif microfluidique immunomagnétique, la puce MagPure. Notre objectif est maintenant de développer la prochaine génération de la puce MagPure.

**Mots-clefs :** Lab-on-a-chip, microfluidic, circulating tumor cell, immunomagnetic labeling, sorting efficiency

**Objectifs de la thèse :**

Pendant le doctorat, l'étudiant(e) travaillera dans un premier temps sur l'intégration de ces deux fonctions complémentaires de tri. Il s'agira d'optimiser le design de chaque fonction, la première basée sur un tri hydrodynamique, mettant en œuvre les vortex de Dean, et la seconde, sur un tri magnétophorétique, mettant en œuvre un composite magnétique développé par notre équipe. Il faudra ensuite associer ces deux fonctions, en veillant à adapter les débits pour préserver les performances de chaque fonction.

Un autre objectif de la thèse est de développer une fonction de marquage immunomagnétique des globules blancs, entre les deux étapes de tri.

---

<sup>5</sup> Hors contrats doctoraux fléchés UMI par l'établissement, les sujets de thèse en cotutelle ne sont pas acceptés.

Le consortium prévoit de développer une fonction de comptage des CTC en flux, en collaboration avec l'équipe iLUM de l'INL. Il s'agira également dans cette thèse d'intégrer cette nouvelle fonction.

Les performances du tri et de comptage seront caractérisées avec des m-CTC puis avec des CTC issues de patients. L'échantillon trié sera caractérisé en collaboration avec les HCL (Immuno-fluorescence, FISH, culture 2D, 3D), et la start-up inovotion (greffage in-ovo).

### **Verrous scientifiques :**

Un des verrous scientifiques portent sur l'association de plusieurs fonctions fluidiques. Chacune possèdent des conditions optimales de fonctionnement en terme de dimensionnement des canaux et de débit de traitement de l'échantillon. Il faudra que les ajustements réalisés sur ces paramètres pour permettre le bon fonctionnement de chaque fonction, ne pénalisent les performances globales du système microfluidique développé.

Un verrou concerne le taux de marquage des globules blancs. Dans la première version du protocole, cette étape est réalisée hors système, dans des conditions particulières d'agitation, et de température, et permet d'obtenir un taux de 85%. Il s'agira de maintenir une efficacité, au minimum de 85%, dans une fonction intégrée, et nécessairement plus contrainte. Un moyen de contourner ce verrou sera de déporter cette fonction dans un module indépendant.

### **Contributions originales attendues :**

\* Un microsystème intégrant quatre fonctions : deux étapes de tri, une de marquage et une de comptage.

\* Développer un système au format "plaques à puits" facilement utilisable par les biologistes

\* En termes de performances de tri, nous espérons obtenir les performances suivantes : obtenir un échantillon contenant moins de 800 globules blancs /mL, avec un taux de récupération des CTC vivantes de 80% et dans un temps inférieur à 4h.

\* En terme d'application : permettre l'amplification, puis le greffage in-ovo de CTC issues de patients pour participer à la mise au point de traitements personnalisés.

### **Programme de recherche et démarche scientifique proposée :**

- 1- Optimisation de la fonction de tri passif basée sur les vortex de Dean en jouant entre autre sur la géométrie des canaux, le rayon de courbure de la spirale et le débit.
- 2- Association, et donc adaptation, des deux fonctions de tri : passive (Dean) et immuno-magnétique (déjà développée au laboratoire). Caractérisation des performances de tri avec des lignées cellulaires.
- 3- Design de la fonction de marquage immuno-magnétique. Intégration de ces fonctions avec les deux fonctions de tri. Caractérisation des performances de tri avec le marquage magnétique réalisé dans la puce.
- 4- Intégration et caractérisation de la fonction de comptage sans lentille, développée en parallèle dans le projet.
- 5- Caractérisation des échantillons en sortie du laboratoire sur puce : IF, FISH, RNAsequ, culture 2D et 3D, greffage in-ovo.

**Encadrement scientifique :**

- **Description du comité d'encadrement :** [à compléter avec le rôle dans l'encadrement scientifique (en termes de compétences scientifiques, etc.) et le pourcentage d'implication du directeur de thèse <sup>6</sup> et des autres membres du comité<sup>7</sup> ]

Nom Prénom	Labo / Equipe	Compétences scientifiques	Taux d'encadrement %
Mme DEMAN Anne-laure	INL DSE	Microfluidique, laboratoires sur puce, magnetophorèse	50
Mr Le Roy Damien	Institut Matière TNMM / Lumière Equipe	Magnétisme, matériaux	50

- Le comité d'évaluation de l'HCERES ayant demandé à l'école doctorale de limiter la taille du comité d'encadrement à deux membres (directeur de thèse compris), il est impératif de ne proposer des comités d'encadrement de taille plus importante que si cela est absolument nécessaire<sup>8</sup> et **de le justifier soigneusement.**

- **Intégration au sein du (ou des) laboratoire(s)** (Département/Equipe(s) impliquée(s)) (**pourcentage du temps travail au sein de ce ou ces laboratoire(s)**) :

L'étudiant bénéficiera des installations de microfabrication fournies par l'INL (Plateforme Nanolyon, salle blanche de 150m<sup>2</sup>) pour la fabrication et la

<sup>6</sup> Le directeur de thèse doit être un HdR rattaché à l'ED EEA ou en passe de le devenir avant juin de l'année en cours ou bénéficier d'une dérogation du Conseil Scientifique lors du dépôt du sujet de thèse.

<sup>7</sup> Dans le cas d'un comité d'encadrement réparti sur plusieurs établissements, la plus grande partie de l'encadrement est effectuée par des membres de l'établissement. Si l'encadrement de la thèse implique des membres hors de l'ED EEA, la part de l'encadrement des membres ED doit être très supérieure à 50%.

<sup>8</sup> Un certain nombre de commissions type CNU ne reconnaissent un co-encadrement qu'au-delà d'un certain pourcentage. Souvent l'encadrement est considéré comme effectif si > 30%.

caractérisation préliminaire du dispositif microfluidique et, du laboratoire biologique de l'hôpital (Hospices Civils de Lyon, "Centre pour l'innovation en Cancérologie de Lyon" (CICLY), Saint-Genis-Laval) pour la préparation et la manipulation des échantillons biologiques dans le dispositif microfluidique. Le projet est financé par l'ITMO Cancer PCSI 2022 - INSERM.

**Financement de la thèse :** Contrat doctoral de l'établissement d'inscription

**Profil du candidat recherché (prérequis) :**

Ce sujet possède une forte composante expérimentale. Le (la) candidat(e) devra être en possession d'un Master ou d'un diplôme d'ingénieur avec une spécialisation en Micro-Nanotechnologies, Physique ou Chimie. De plus, il (elle) devra démontrer de son intérêt particulier pour le magnétisme, la microfluidique, les applications biologiques et la microfabrication. Des notions en microtechnologies et modélisation seront un plus. Une première expérience dans la manipulation de cellules biologiques serait appréciée. Enfin, il est attendu du (de la) candidat(e) une motivation pour le domaine de la santé.

**Objectifs de valorisation des travaux de recherche :**

Le cas échéant, nous prévoyons de valoriser le travail effectué par la participation de l'étudiant(e) à des conférences nationales et au moins une conférence internationale et à une ou deux publications dans des revues à hauts facteurs d'impact.

**Compétences qui seront développées au cours du doctorat :**

Les compétences qui seront développées au cours de la thèse seront très pluridisciplinaires et concernent la micro-fabrication, la modélisation (Comsol) et la conception de fonctions fluidiques, la manipulation et caractérisation de microsystèmes fluidiques, les propriétés magnétiques des matériaux, la microscopie optique, la magnétophorèse, l'immuno-marquage et la préparation et la caractérisation d'échantillons biologiques. De plus, l'étudiant(e) bénéficiera des infrastructures technologiques de l'INL avec 100m<sup>2</sup> de salle blanche et 40m<sup>2</sup> de culture cellulaire et manipulation biologique. Elle/Il bénéficiera également de l'infrastructure du laboratoire biologique du "Centre pour l'innovation en Cancérologie de Lyon" (CICLY), aux Hospices Civils de Lyon à Saint-Genis-Laval pour la préparation et la caractérisation des échantillons biologiques.

**Perspectives professionnelles après le doctorat :**

Des perspectives professionnelles orientées vers l'académique aussi bien que vers l'industrie peuvent être envisagées. Le caractère multidisciplinaire de la thèse est une garantie d'un environnement scientifique stimulant. Ce sujet sera facilement valorisé en termes de publications scientifiques et de conférences internationales. Pour une éventuelle carrière dans l'industrie, les compétences expérimentales, de caractérisation et en microtechnologies sont hautement prisées dans l'industrie microélectronique ou du diagnostic médical. De plus, le fait de travailler en collaboration avec l'utilisateur final (HCL) et la start-up Inovotion seront un atout pour le ou la candidat(e).

### Références bibliographiques sur le sujet de thèse :

MagPure chip: an immunomagnetic-based microfluidic device for high purification of circulating tumor cells from liquid biopsies, L Descamps, J Garcia, D Barthelemy, E Laurenceau, L Payen, D Le Roy, and A.-L. Deman, Lab on a Chip 22 (21), 4151-4166 (2022) ; DOI: 10.1039/D2LC00443G

Advances in liquid biopsy on-chip for cancer management: Technologies, biomarkers, and clinical analysis Tadimety A et al. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 2018, 55, 140–162, doi:10.1080/10408363.2018.14259

Microfluidic-based technologies for CTC isolation: a review of 10 years of intense efforts towards liquid biopsy, L. Descamps, D. Le Roy and A.-L. Deman, International Journal of Molecular Sciences 23 (4), 1981 (2022) ; <https://doi.org/10.3390/ijms23041981>

Size-selective collection of circulating tumor cells using Vortex technology Sollier, E.; Go, D.E.; Che, J.; Gossett, D.R.; O'Byrne, S.; Weaver, W.M.; Kummer, N.; Rettig, M.; Goldman, J.; Nickols, N.; et al. Lab Chip 2014, 14, 63–77, doi:10.1039/c3lc50689d.

Self-Assembled Permanent Micro-Magnets in a Polymer-Based Microfluidic Device for Magnetic Cell Sorting, L. Descamps, M.-Ch. Audry, J. Howard, S. Mekkaoui, C. Albin, D. Barthelemy, L. Payen, J. Garcia, E. Laurenceau, D. Le Roy, A.-L. Deman, Cells 10 (7), 1734 (2021) ; <https://doi.org/10.3390/cells10071734>



ÉCOLE  
DOCTORALE

160

**EEA**  
ÉLECTRONIQUE  
ÉLECTROTECHNIQUE  
ET AUTOMATIQUE  
UNIVERSITÉ DE LYON

Magnetic polymers for magnetophoretic separation in microfluidic devices, L. Descamps, D. Le Roy, C. Tomba, A.-L. Deman, *Magnetochemistry* 7 (7), 100 (2021) ;  
<https://doi.org/10.3390/magnetochemistry7070100>