

Stage M2 ou ingénieur (6 mois, 1^{er} semestre 2027) :

Modèle de cancer-sur-puce : intégration de cellules immunitaires du microenvironnement tumoral pour l'évaluation d'une thérapie cellulaire ciblée.

Contexte

Ce stage s'intègre dans le cadre du projet Européen **Biolmp** « Bioprocesses Improvement » financé par l'Union Européenne et la région Bourgogne Franche-Comté (BFC000802). De multiples acteurs publics et privés de la région (institut FEMTO-ST, laboratoire Right, EFS, CellQuest...) forment le consortium impliqué dans Biolmp. Une partie de ce projet consiste au développement d'un **organe-sur-puce** pour la modélisation d'une tumeur vascularisée afin de permettre l'évaluation d'une biothérapie (cellules médicaments). Une doctorante travaille actuellement sur cette thématique, et participera avec ses encadrants de thèse au suivi du ou de la stagiaire.

A la frontière des microtechniques, de la microfluidique et de la biologie, les organes-sur-puce se développent comme alternatives à l'expérimentation animale. Ils permettent de recréer *in vitro* le microenvironnement de tissus sains ou pathologiques, notamment grâce à l'intégration de paramètres physiologiques (matrice tridimensionnelles, cisaillement...) pendant la culture [1]. Le type de cancer que nous étudions se localise dans le foie. Le modèle développé contient actuellement en plus de cellules cancéreuses, des cellules endothéliales sinusoidales du foie (LSEC), des cellules stromales (fibroblastes) et des cellules type hépatocytes.

Objectifs du stage

L'objectif principal du stage est de complexifier le **microenvironnement tumoral** du modèle, notamment en introduisant des cellules de Kupffer (macrophages hépatiques). En effet, *in vivo*, les **cellules immunitaires** représentent près de 50% de la population cellulaire localisée au niveau d'une tumeur [2].

Dans un premier temps, l'objectif sera d'établir les conditions de culture et de coculture des cellules de Kupffer avec les autres types cellulaires présents. Les essais de coculture seront d'abord réalisés en 2D, puis dans en 3D dans des hydrogels avant de premiers essais sur puce. Les conditions de coculture seront validées par observations morphologiques et fonctionnelles (immunofluorescence, tests de viabilité) par microscopie confocale principalement.

La seconde partie du stage portera sur l'évaluation de l'impact des macrophages dans le modèle tumoral. Le phénotype des cellules de Kupffer ainsi que leur activité tumorale seront étudiés.

Si les avancées le permettent, des tests pourront être envisagés afin d'étudier l'interaction des macrophages avec la thérapie cellulaire.

Missions du stage

Le travail attendu porte principalement sur la partie biologie et culture cellulaire du projet.

- Travail bibliographique sur les cellules de Kupffer (conditions de coculture et implication dans le microenvironnement tumoral)
- Planifier et réaliser les essais de culture cellulaire, analyser les résultats, et proposer des solutions d'amélioration.
- Optimisation des conditions de coculture, y compris un travail potentiel sur la composition de l'hydrogel pour la culture 3D.
- Validation du modèle à l'aide de tests couramment utilisés en biologie cellulaire.
- Etude du phénotype des macrophages et de leurs effets sur la croissance de la tumeur vascularisée.
- Participation à la fabrication de la puce par moulage de PDMS possible.
- (Evaluation des effets de la présence des cellules de Kupffer sur l'efficacité de la thérapie cellulaire).

Compétences recherchées

Le ou la candidate devra avoir un goût prononcé pour la recherche. Il/elle aura acquis des compétences en recherche bibliographique, et biologie cellulaire. Un intérêt particulier pour les modèles *in vitro* et/ou la biologie du cancer est attendu. Une formation ou une première expérience dans la microfluidique ou l'ingénierie tissulaire serait un plus.

Compétences acquises

- Culture cellulaire
- Développement de modèles de coculture 3D.
- Conception et validation de modèles expérimentaux.
- Travail au sein d'une équipe de recherche pluridisciplinaire.

Environnement de travail

FEMTO-ST est un des centres leader de la recherche française en sciences de l'ingénieur et microtechniques (<https://www.femto-st.fr/fr>). Au cœur d'un environnement pluridisciplinaire, il combine du personnel du CNRS, de SupMicroTech, et de l'Université Marie et Louis Pasteur. Le site de Temis, situé à Besançon profite de cette ville historique et culturelle, aux sites classés au Patrimoine mondial de l'UNESCO, et qui laisse la part belle aux activités de plein air. Le stage se déroule dans l'équipe BioInterface and Devices (BIND) (<https://teams.femto-st.fr/BIND/>), dans laquelle sont présents plusieurs doctorant.e.s et stagiaires. L'équipe BIND évolue dans un environnement multidisciplinaire où le ou la stagiaire pourra bénéficier de compétences complémentaires en biologie, ingénierie, chimie, microfluidique et technologies organe-sur-puces.

Références

- [1] Z. Baka *et al.*, « Cancer-on-chip technology: current applications in major cancer types, challenges and future prospects », *Prog. Biomed. Eng.*, vol. 4, n° 3, p. 032001, juill. 2022, doi: 10.1088/2516-1091/ac8259.
- [2] H. Massalha *et al.*, « A single cell atlas of the human liver tumor microenvironment », *Molecular Systems Biology*, vol. 16, n° 12, p. e9682, déc. 2020, doi: 10.15252/msb.20209682.

Contacts

agathe.figarol@femto-st.fr; louna.blasco@femto-st.fr

M2 or engineer internship (6 months, 1^{er} semester 2027):

Cancer-on-a-chip model: integration of immune cells from the tumor microenvironment for the evaluation of targeted cell therapy.

Context

This internship is part of the European BioImp project ("Bioprocess Improvement"), funded by the European Union and the Bourgogne-Franche-Comté region (BFC000802). Numerous public and private organizations in the region (the FEMTO-ST Institute, the Right Laboratory, EFS, CellQuest, etc.) make up the consortium involved in BioImp. Part of this project involves developing an **organ-on-a-chip** to model a vascularized tumor, with the aim of evaluating a biotherapy (cell-based therapy). A Ph.D. student is currently working on this topic and, along with her thesis advisors, will assist in supervising the intern.

At the intersection of microtechnology, microfluidics, and biology, organ-on-chip systems are emerging as alternatives to animal testing. They enable the in vitro recreation of the microenvironment of healthy or pathological tissues, particularly through the integration of physiological parameters (three-dimensional matrices, shear stress, etc.) during culture [1]. The type of cancer we are studying is localized in the liver. The model we have developed currently contains, in addition to cancer cells, liver sinusoidal endothelial cells (LSECs), stromal cells (fibroblasts), and hepatocyte-like cells.

Internship objectives

The main objective of the internship is to increase the complexity of the **tumor microenvironment** in the model, specifically by introducing Kupffer cells (liver macrophages). In fact, in vivo, **immune cells** account for nearly 50% of the cell population located within a tumor [2].

Initially, the goal will be to establish the conditions for culturing and co-culturing Kupffer cells with the other cell types present. Coculture experiments will first be conducted in 2D, then in 3D in hydrogels, before proceeding to initial on-chip assays. The coculture conditions will be validated through morphological and functional observations (immunofluorescence, viability assays), primarily using confocal microscopy.

The second part of the internship will focus on evaluating the impact of macrophages in the tumor model. The phenotype of Kupffer cells as well as their tumor-related activity will be studied.

If progress allows, experiments may be considered to study the interaction of macrophages with cell therapy.

Tasks

The expected work focuses primarily on the biology and cell culture aspects of the project.

- Literature review on Kupffer cells (coculture conditions and role in the tumor microenvironment).
- Plan and conduct cell culture experiments, analyze the results, and propose improvements.
- Optimization of coculture conditions, including potential work on the composition of the hydrogel for 3D culture.
- Validation of the model using tests commonly employed in cell biology.
- Study the phenotype of macrophages and their effects on the growth of the vascularized tumor.
- Possible participation in the fabrication of the chip via PDMS casting.
- (Evaluation of the effects of the presence of Kupffer cells on the efficacy of cell therapy).

Required skills

The candidate must have a strong interest in research. He or she must have acquired skills in literature review and cell biology. A particular interest in in vitro models and/or cancer biology is expected. Training or initial experience in microfluidics or tissue engineering would be a plus.

Acquired skills

- Cell culture
- Development of 3D coculture models.
- Design and validation of experimental models.
- Work as part of a multidisciplinary research team.

Working environment

FEMTO-ST is one of France's leading research centers in engineering sciences and microtechnology (<https://www.femto-st.fr/fr>). At the heart of a multidisciplinary environment, it brings together staff from the CNRS, SupMicroTech, and Marie and Louis Pasteur University. The Temis site, located in Besançon, benefits from this historic and cultural city, home to UNESCO World Heritage sites, which offers ample opportunities for outdoor activities. The internship takes place within the BioInterface aNd Devices (BIND) team (<https://teams.femto-st.fr/BIND/>), which includes several doctoral students and interns. The BIND team operates in a multidisciplinary environment where the intern will benefit from complementary expertise in biology, engineering, chemistry, microfluidics, and organ-on-a-chip technologies.

References

- [1] Z. Baka *et al.*, « Cancer-on-chip technology: current applications in major cancer types, challenges and future prospects », *Prog. Biomed. Eng.*, vol. 4, n° 3, p. 032001, juill. 2022, doi: 10.1088/2516-1091/ac8259.
- [2] H. Massalha *et al.*, « A single cell atlas of the human liver tumor microenvironment », *Molecular Systems Biology*, vol. 16, n° 12, p. e9682, déc. 2020, doi: 10.15252/msb.20209682.

Contacts

agathe.figarol@femto-st.fr; louna.blasco@femto-st.fr