

Fig. 1 : (A) Protocole de tamponnage permettant de préparer un support sur lequel les cellules n'adhèrent que dans certaines zones recouverte d'une matrice extracellullaire de fibronectine de géométrie contrôlée : a. dépôt de la solution de fibronectine sur le tampon en PDMS b. Après rinçage au PBS une fine couche de fibronectine adhère à la surface du tampon c. boite de pétrie éventuellement traitée au plasma oxygène d. Tamponnage e. Après rinçage au PBS, fine couche de fibronectine de forme contrôlée f. Traitement au pluronic afin d'empêcher l'adhésion des cellules sur la boite de pétrie nue g. Boîte prête pour ensemencement (B) On utilise un anticorps anti-fibronectine fluorescent afin de mesurer la qualité du tamponnage. On obtient trois images en microscopie fluorescente dont l'intensité est une mesure de la présence de fibronectine à la surface de la boîte : a. Boîte de Pétri nue b. Tampon traitée à la fibronectine c. Tampon sans fibronectine. On détecte peu de fibronectine sur la figure 2.b et un dépôt inconnu sur la figure 2.c.

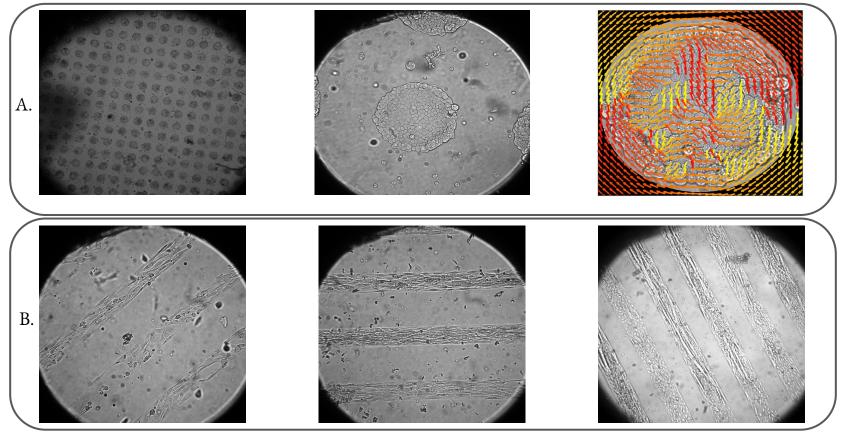


Fig. 2: Résultats obtenus par ensemencement des motifs de matrice extracellulaire de fibronectine réalisés par la technique de photolithographie — les cellules poussent selon deux géométries, ligne et rond suivant le motif. (A) Rond: a. Motifs cellulaires en contraste de phase (4x) b. Motifs cellulaires en contraste de phase (16x) c. Traitement informatique d'un motif via le plug-in Orientation J d'Image J afin d'observer son champ d'orientation et d'éventuels défauts topologiques (la couleur du jaune au rouge donne l'intensité de l'orientation). (B) Lignes: observations en contraste de phase (16x) a. Après un jour b. Après deux jours c. Après cinq jours. On observe la différenciation d'un nombre croissant de cellules de par l'allongement de leur membrane au cours du temps — il se forme des fibres suivant l'orientation des lignes.

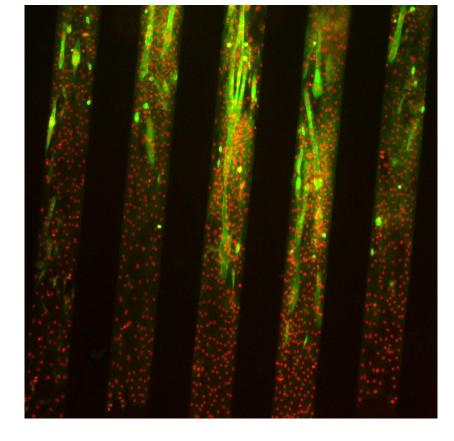


Fig. 3 : Photographie en fluorescence des motifs ligne en 16x, fixés 6 jours après dépôt des cellules. En rouge, les noyaux marqués avec DAPI. En vert, les filaments d'actine marqué avec la Phalloïdine. L'allongement des filaments d'actine et le rassemblement des noyaux sont des marqueurs de la différenciation.