



Micropuces à ADN pour études physiologiques



Responsable : *Alain Vian*



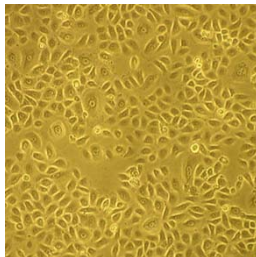
## Approche expérimentale

Ces champs électromagnétiques sont-ils capables d'induire des effets chez l'homme ?



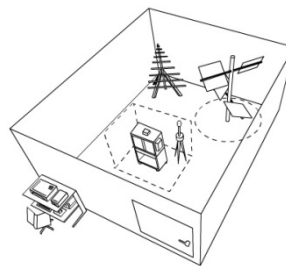
Comment répondre à cette question sans ambiguïté ?

Kératinocytes



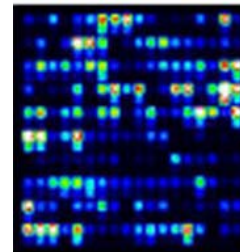
Modèle  
d'étude simple

CRBM

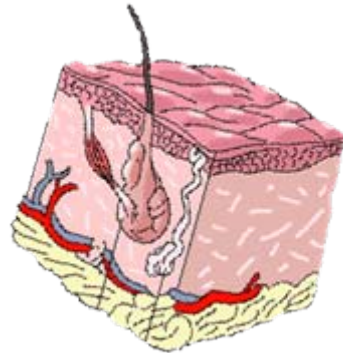
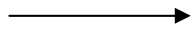


Maîtrise des paramètres  
du champ électromagnétique

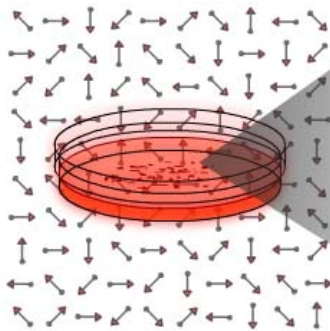
Biopuces



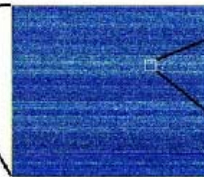
Mesure rapide de  
mécanismes élémentaires



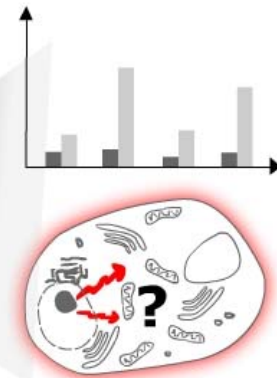
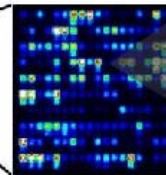
NHEK : Normal Human Epidermal Keratinocytes  
(Interface organisme / environnement)



Exposition des kératinocytes  
au CEM HF



Micropuce à ADN

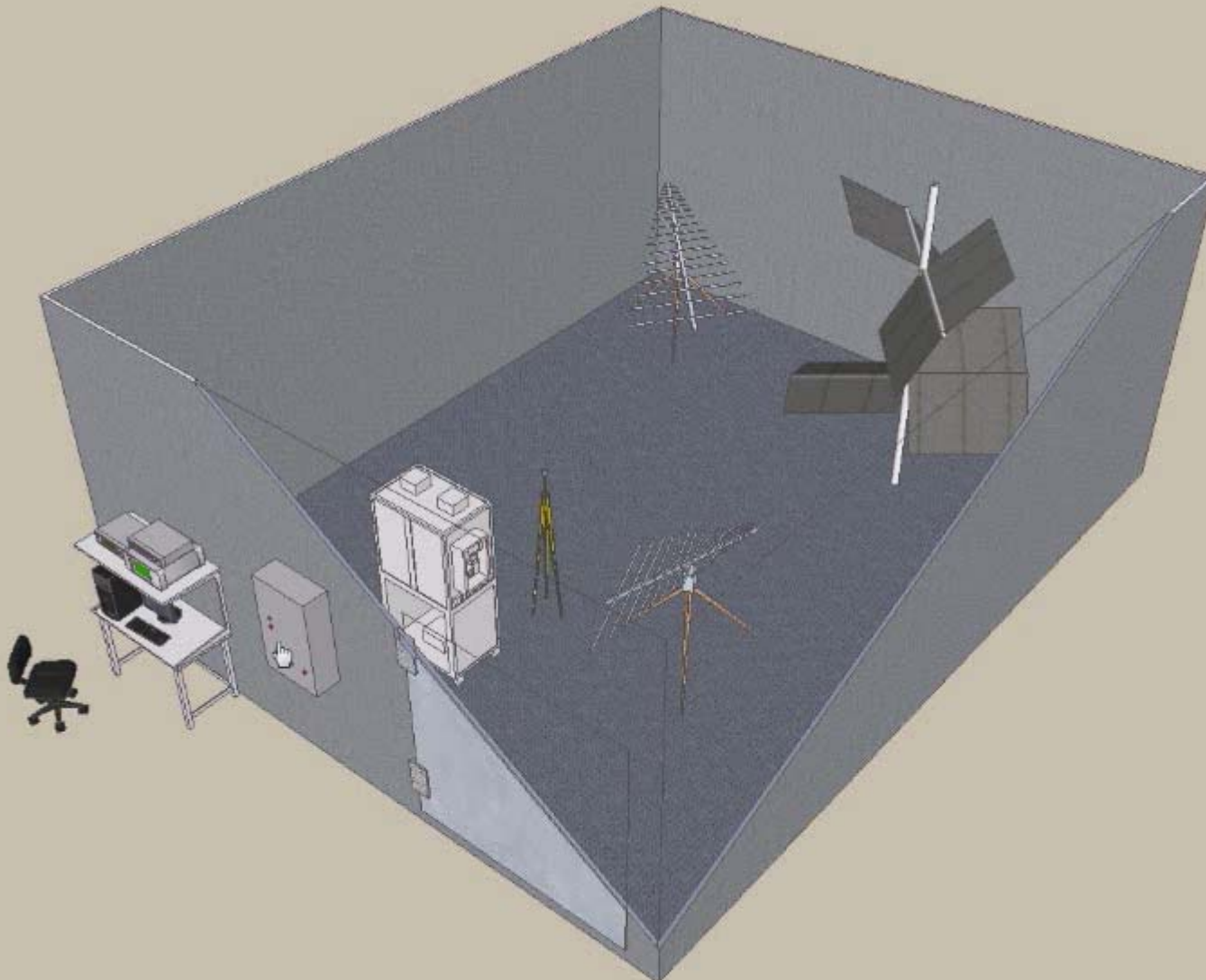


Analyse fonctionnelle



8 V/m x 10 min - 41 V/m x 30 min

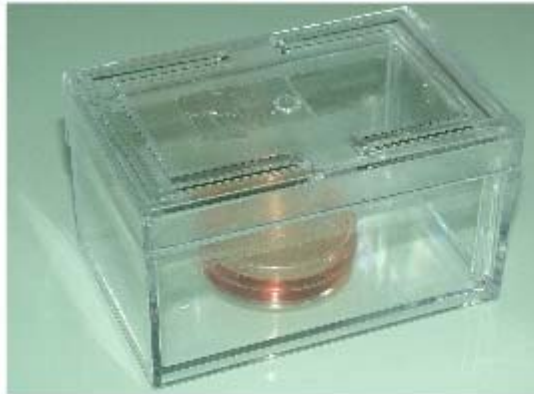




*CRBM*

**Chambre  
Réverbérante à  
Brassage de  
Modes**

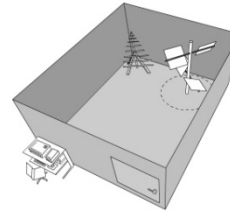
## *Kératinocytes & CRBM*



## Contrôle du CEM

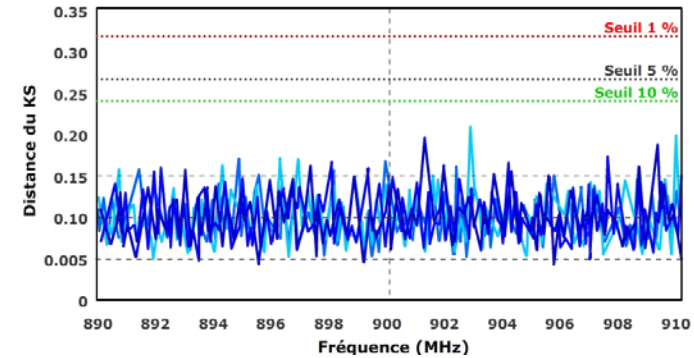
### Contrôle de l'uniformité du CEM

- Mesure du champ électrique par une sonde isotropique en 4 points des volumes testés
- Puissance normalisée à sa valeur moyenne sur une révolution du brasseur
- Comparaison des lois de distribution théorique et expérimentale
- Tests statistiques d'adéquation (Kolmogorov-Smirnoff)

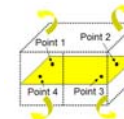
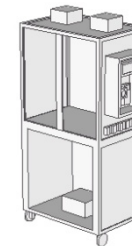
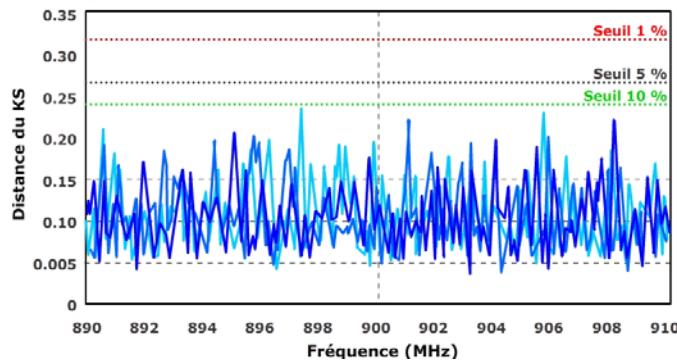


valeurs maximales de l'écart entre les fonctions de répartition théorique et expérimentale

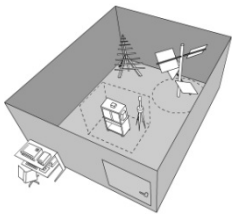
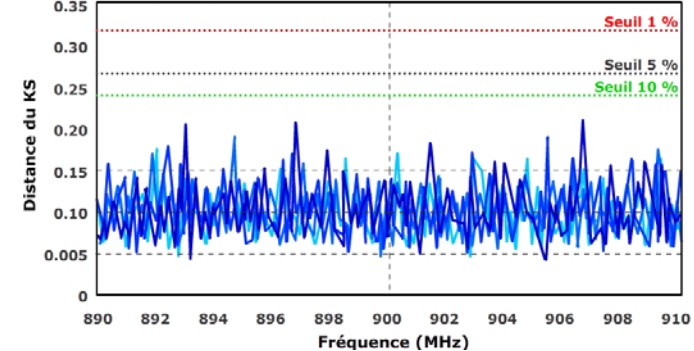
CRBM Vide



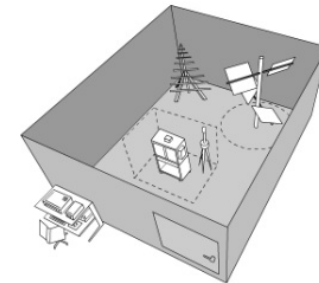
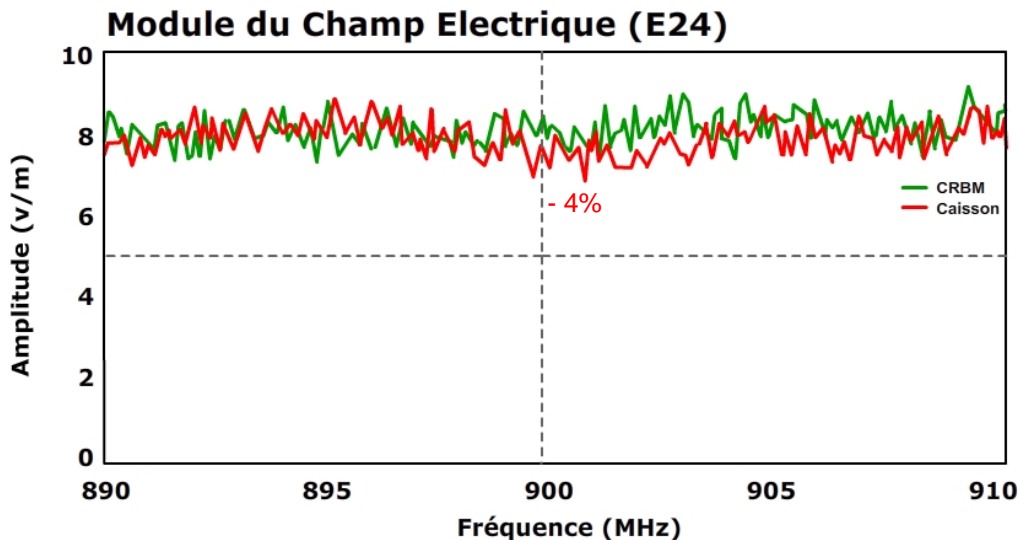
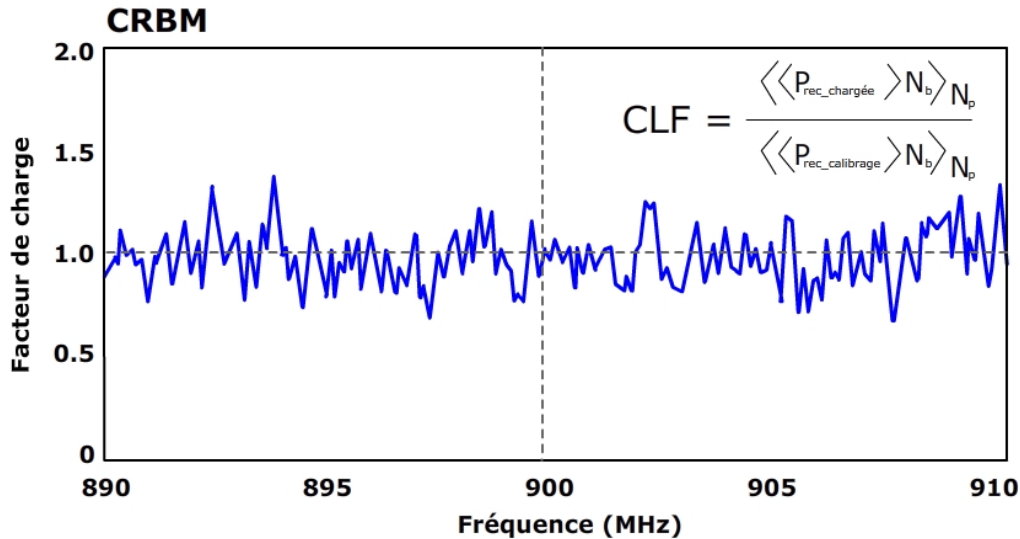
CRBM > Environnement Caisson



Intérieur Caisson



## Calibrage du CEM



→ Pas de modification de l'environnement EM en présence du caisson de culture

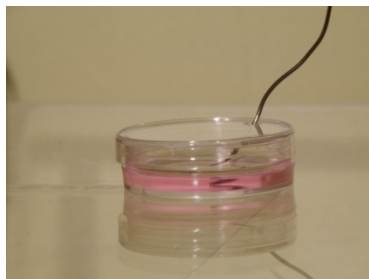
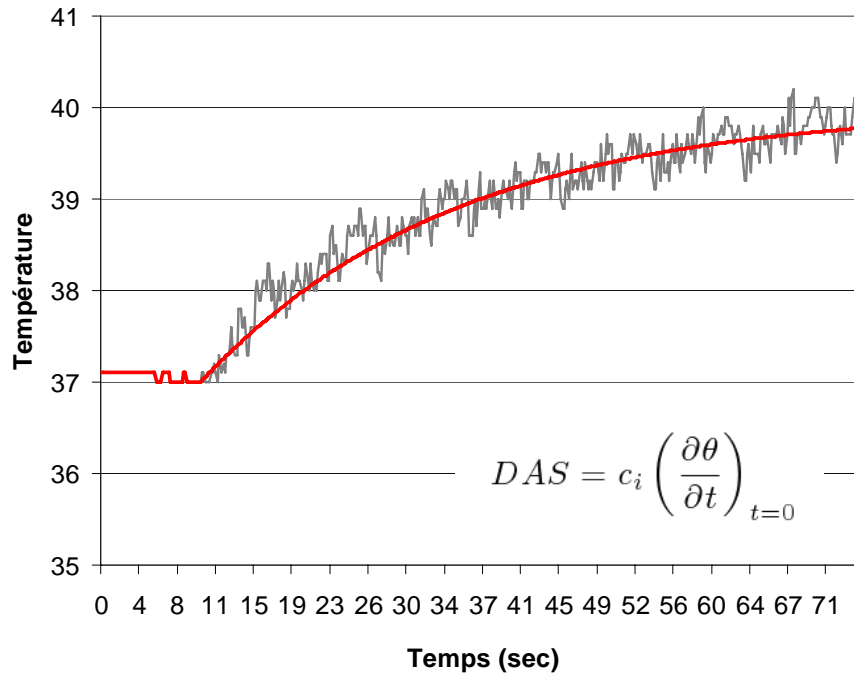
## Module du champ électrique E24

E24 : valeur moyenne sur huit points de mesure de la composante maximale du champ électrique sur une révolution du brasseur



## Détermination du DAS : Méthodes et Modèles

### Expérimentale (température)

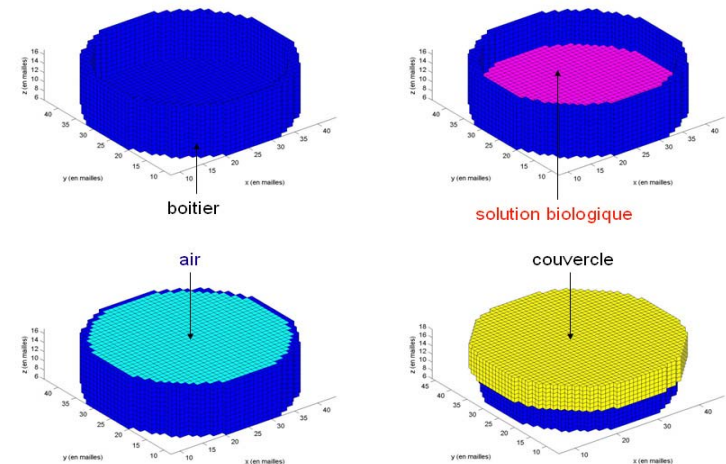


**Sonde de température**

- Temps de réponse : 250ms
- Sensibilité : 0.05°C

### Numérique (champ électrique)

→ FDTD (Finite Difference in Time Domain)



$$DAS = DAS(\mathbf{r}, f) = \frac{1}{2} \frac{\sigma}{\rho} E(\mathbf{r}, f)^2$$

$\sigma$  = conductivité électrique du milieu (2S/m)

$\rho$  = densité du milieu (1000kg/m<sup>3</sup>)

Champ électrique  $E$  mesuré en V/m

$\mathbf{r}$  = position maille FDTD

$f$  = fréquence

## Détermination du DAS : Mesure

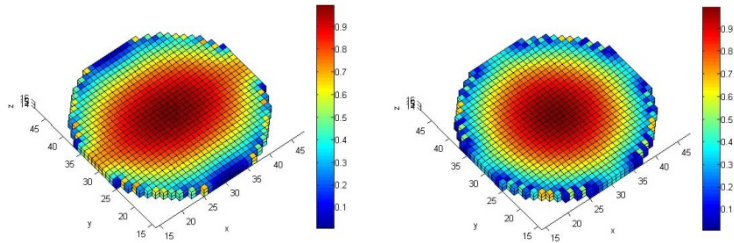
Puissance injectée	45,25 dBm	48,02 dBm	48,93 dBm
Moyenne Puissance Reçue	18,48 dBm	21,24 dBm	22,46 dBm
Valeur moyenne du DAS mesuré	33,44 W/kg	65,21 W/kg	79,42 W/kg
E24	225 V/m	309 V/m	343 V/m
Valeur moyenne du DAS mesuré pour E24=8V/m	0,042 W/kg	0,044 W/kg	0,043 W/kg
Valeur moyenne du DAS mesuré pour E24=41V/m	1,11 W/kg	1,13 W/kg	1,15 W/kg

$$\langle DAS \rangle = \begin{cases} 0,04 \text{ W / kg pour } E_{24} = 8 \text{ V / m} \\ 1,1 \text{ W / kg pour } E_{24} = 41 \text{ V / m} \end{cases}$$

E24 : valeur moyenne sur huit points de mesure de la composante maximale du champ électrique sur une révolution du brasseur



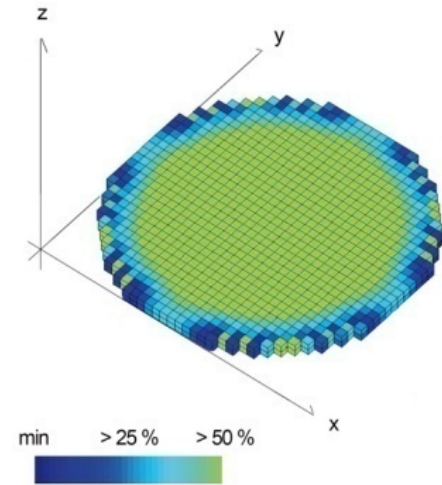
## Estimation du DAS numérique



1 OP polarisée

198 OP aléatoires

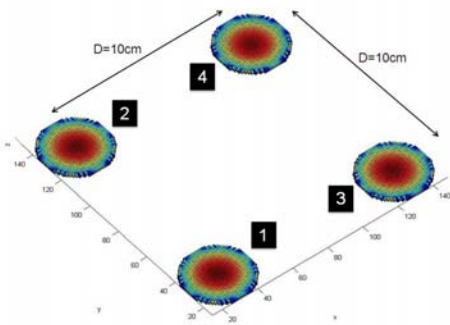
Répartition relative DAS (OP=onde plane)



75% des cellules FDTD  
 DAS > 50 % DAS max

Estimation du couplage (inter-boîtes)

- Source = 198 OP aléatoires
- Différence relative (%) cas '1 boîte' / cas '4 boîtes'



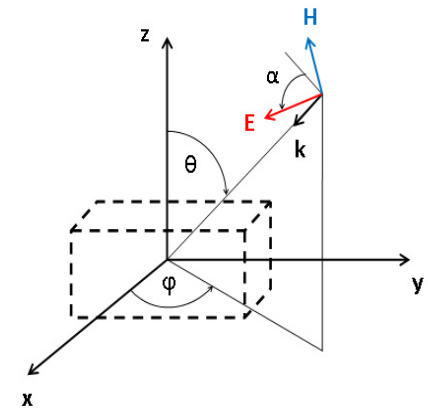
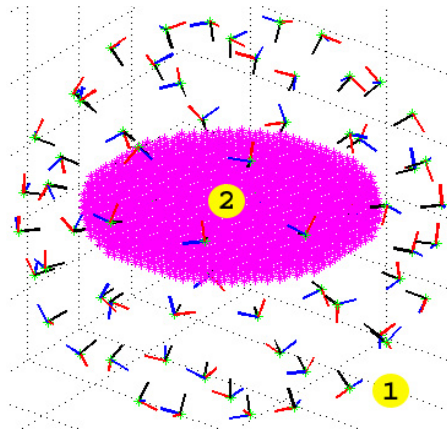
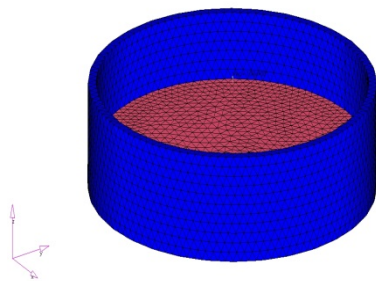
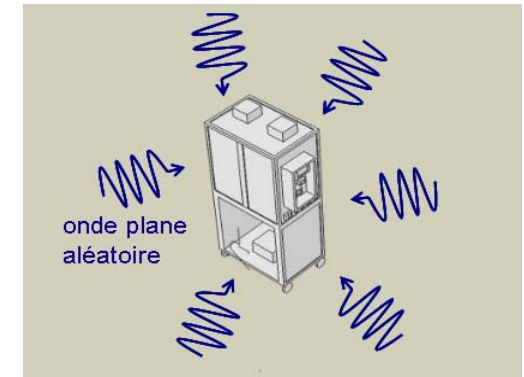
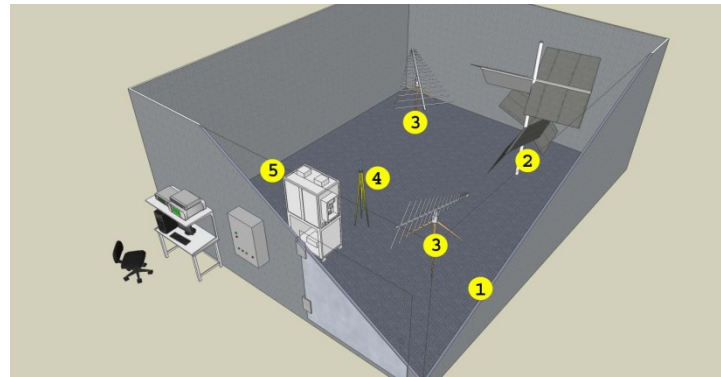
Cas/boîte	MOY (%)	MIN (%)	MAX (%)
1	1.15	0.002	3.68
2	1.42	0.005	4.05
3	1.40	0.007	3.91
4	1.98	0.001	5.03

- > CEM Uniforme
- > Pas d'influence du caisson
- > DAS homogène
- > Couplage très faible

*Modélisation numérique : CRBM et milieu biologique*

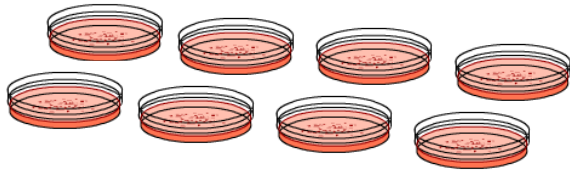
Facteur d'échelle :  $200 \text{ m}^3 / 2 \text{ ml}$

Analogie CRBM / Sommation d'ondes planes aléatoires  
[Musso]

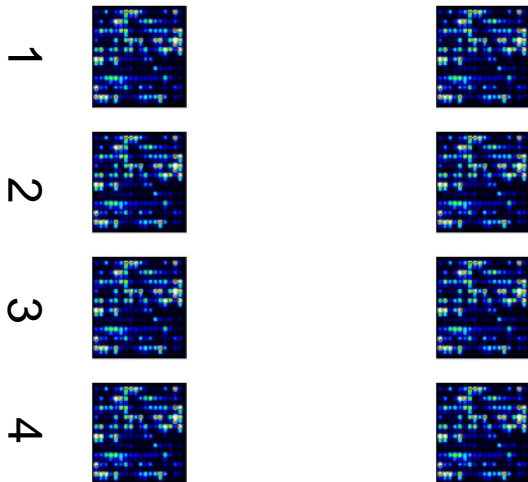


*Biopuces*

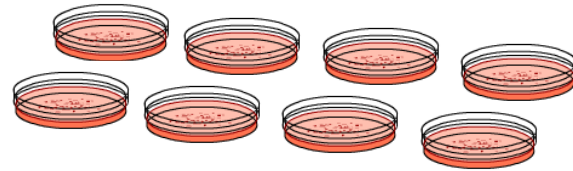
1



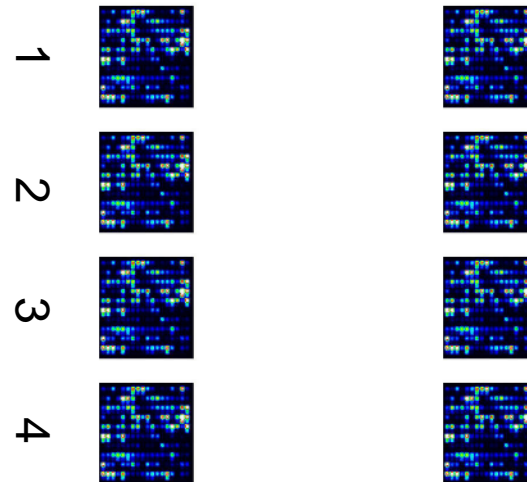
8 V/m x 10 min



2



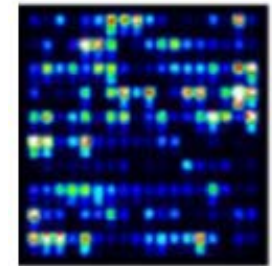
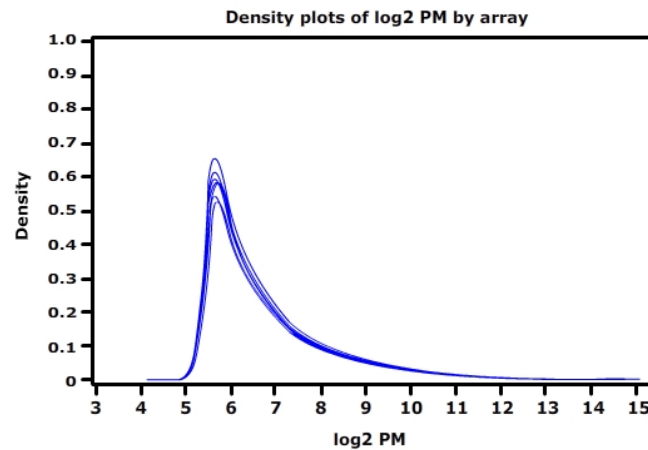
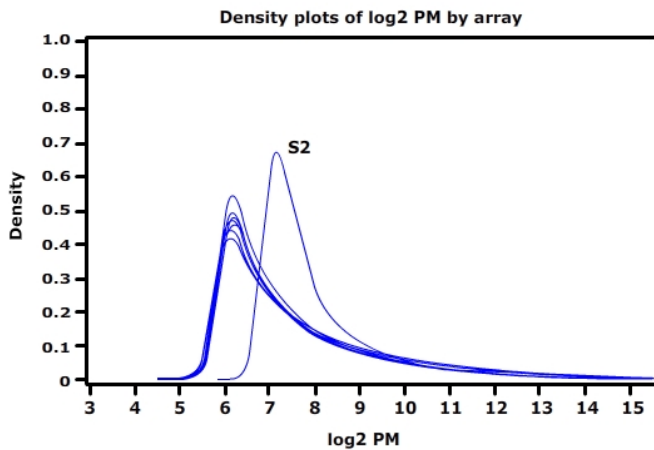
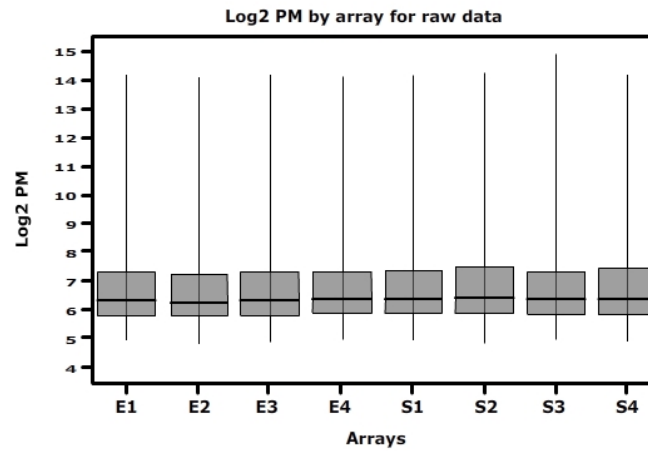
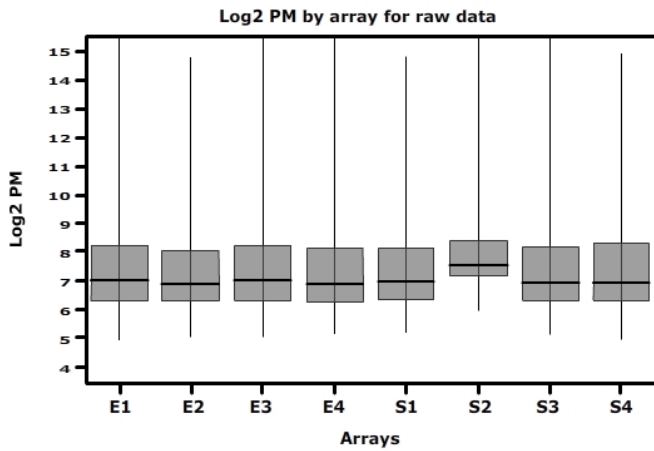
41 V/m x 30 min



*Biopuces : contrôles qualité*

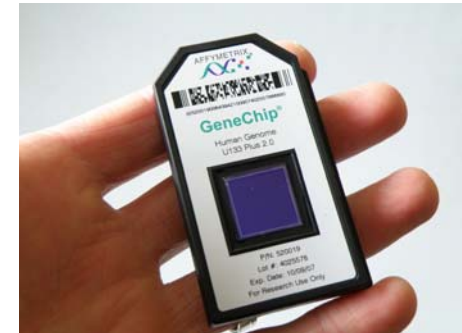
Essai n°1 (8 V/m x 10 min)

Essai n°2 (41 V/m x 30 min)



**IGBMC**  
Strasbourg

Biopuce Affymetrix



47000 gènes humains  
(54000 sondes)

**8 V/m x 10 min**

n°	Probe Set ID	Gene Symbol	Ratio E/S	Gene Title
1	244665_at	no	0.67	Protegrins and protegrin analogs
2	228030_at	no	0.66	RNA binding motif protein
3	241885_at	no	0.65	Contains Alu and MER37 repetitive element
4	244490_at	no	0.59	Hepatocellular carcinoma
5	211541_s_at	DYRK1A	1.58	Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase (DYRK) family, cell proliferation and brain development
6	217317_s_at	HERC2P2	0.69	Possible implications for Prader-Willi and Angelman syndromes
7	217427_s_at	HIRA	0.65	Histone chaperone in nucleosomes, mediate irreversible cell cycle changes in senescent cells
8	221919_at	HNRNPA1	0.68	Ubiquitously expressed heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs), pre-mRNA processing and mRNA metabolism
9	213470_s_at	HNRNPH1	0.68	idem
10	240396_at	IL20RA	1.36	Receptor for interleukin 20 (IL20), cytokine in epidermal function
11	226675_s_at	MALAT1	0.70	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-protein coding)
12	223940_x_at	MALAT1	0.65	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-protein coding)
13	204133_at	RRP9	1.31	Ribosomal RNA processing 9, small subunit (SSU) processome component
14	234989_at	TncRNA	0.59	Non-protein coding RNA 84 (trophoblast derived non-protein coding RNA)
15	224566_at	TncRNA	0.58	idem
16	227062_at	TncRNA	0.54	idem

## Biopuces

### Résultats

0.3 %

### Ratio E/S

Min : 0.46

Max : 1.60

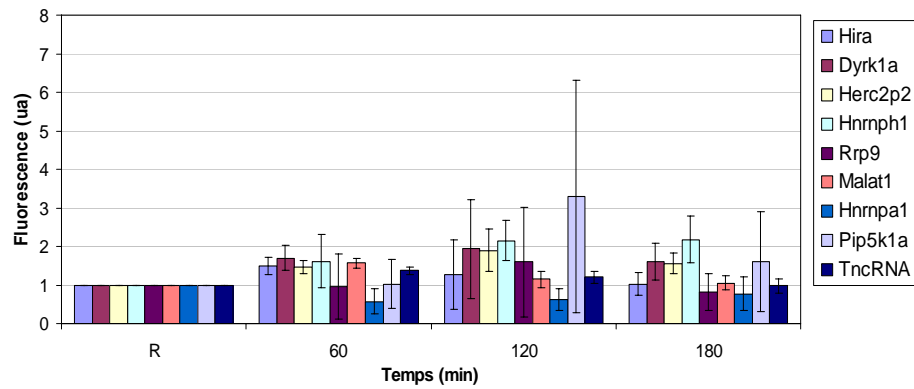
### Statistiques

- Student
- FDR

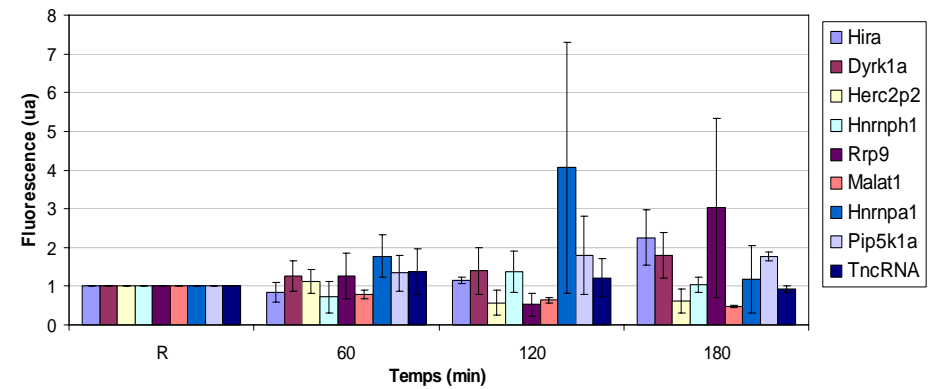
## Validation PCR

8 V/m x 10 min

BP1 - TEST

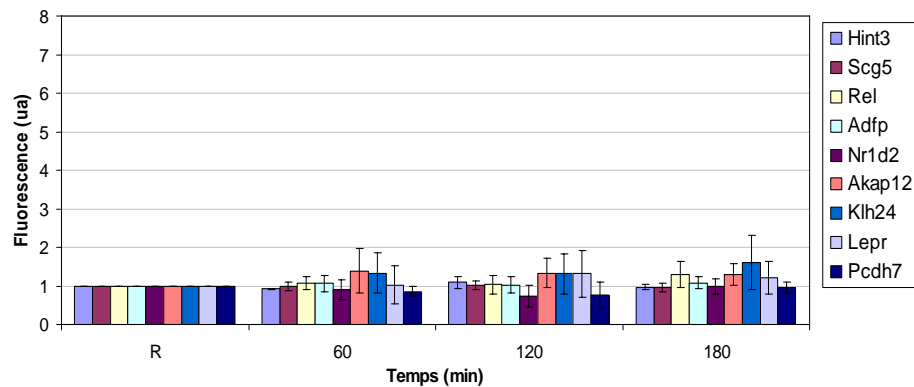


BP1 - TEMOIN

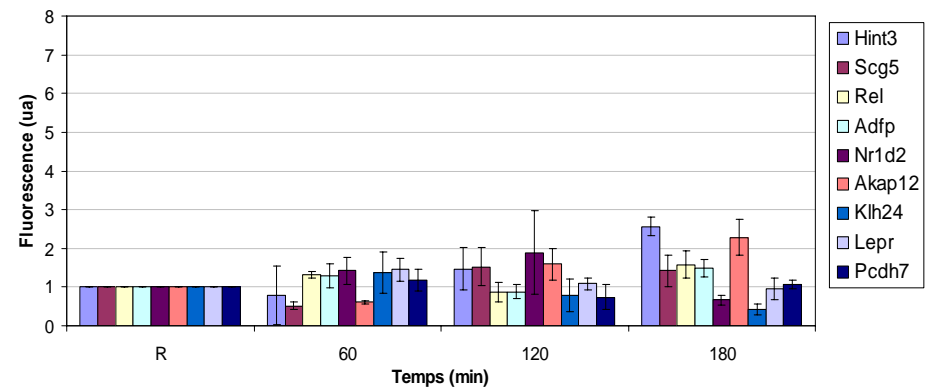


41 V/m x 30 min

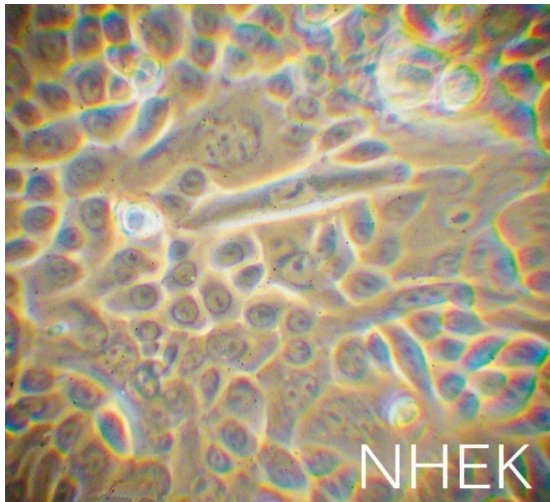
BP2 - TEST



BP2 - TEMOIN







Dans les conditions choisies ici :

- **900 MHz (CEM uniforme),**
- **8 V/m x 10 min,**
- **41 V/m x 30 min,**
- **DAS moy 0.04 ou 1.1 W/kg**

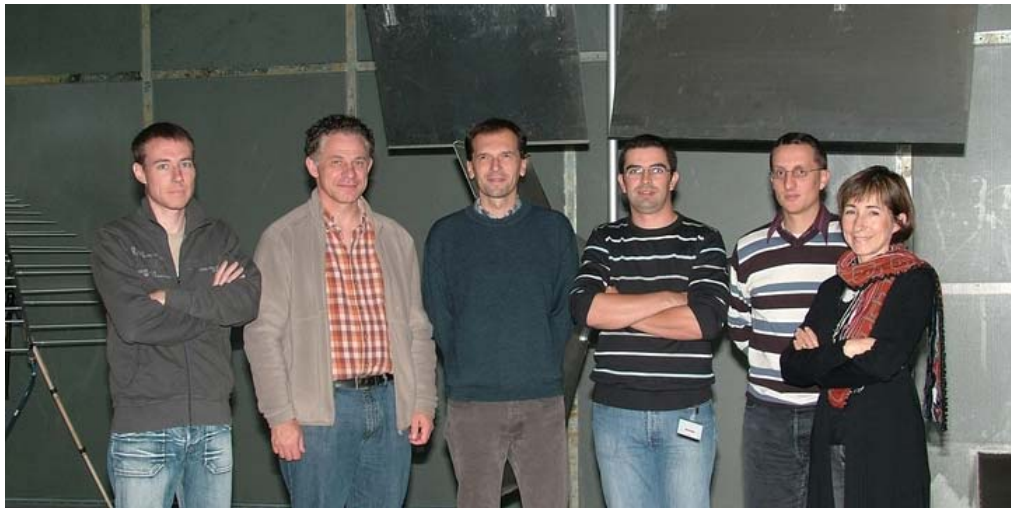
Le champ EM HF ne génère aucun effet significatif en terme de modulation d'expression génique sur des cultures de kératinocytes humains normaux.

**M**APHYS

Micropuces à ADN  
pour études  
physiologiques



Université Blaise Pascal



David ROUX  
Alain VIAN  
Pierre BONNET  
Sébastien GIRARD  
Sébastien LALLECHERE  
Françoise PALADIAN

UMR CNRS 6602 LASMEA  
Université Blaise Pascal  
Clermont-Ferrand



- Catégorie « études in-vitro »
- Durée : 22 mois