

Stage formulation de bio-encre :

Au laboratoire U1026 – ART BioPrint, les équipes travaillent sur le développement d'applications d'ingénierie tissulaire d'os et de réparation vasculaire. Depuis plus de 10 ans, nous nous sommes focalisés sur la biofabrication et notamment la bioimpression pour atteindre ce but. La bioimpression permet d'utiliser des cellules et des biomatériaux (qui forment la bio-encre) pour fabriquer des tissus 3D organisés. Dans ce sens, et en visant à long terme l'utilisation en clinique, le développement de bio-encre d'origine humaine est une plus-value.

Les tissus placentaires humains sont un matériau d'origine humaine intéressant pour le développement de nouveaux biomatériaux pour la bioimpression, compte tenu de leur grande teneur en collagène [1] et leur potentiel régénératif [2]. La membrane amniotique (MA) et le chorion, sont des déchets opératoires obtenus lors d'accouchements par césarienne. La MA est la couche la plus profonde des membranes fœtales et est déjà utilisée en routine clinique comme greffe pour des réparations de la surface de l'œil. De par ses propriétés anti-inflammatoire, antimicrobienne et sa faible immunogénicité, elle favorise la cicatrisation de la surface de l'œil [3]–[5] et en fait un candidat idéal pour fabriquer des « scaffolds » pour l'ingénierie tissulaire [4], [6].

L'objectif du stage est de développer de nouvelles bio-encre humaines à partir de membrane amniotique et de chorion. En comparant les deux compositions, nous déterminerons s'il y a une meilleure formulation pour y intégrer différents types cellulaires.

La première partie du stage portera sur la préparation de ces deux bio-encre.

Pour utiliser la membrane amniotique et chorion comme bio-encre, il est nécessaire de les décellulariser et les solubiliser, puis les méthacryler afin de pouvoir les photo-polymériser post-impression. Nous procéderons à une quantification d'ADN pour vérifier la décellularisation correcte des membranes, et le protocole pourra être optimisé si besoin. Le pourcentage de méthacrylation sera quantifié par colorimétrie ou par RMN et le protocole sera adapté suivant les résultats obtenus.

La seconde partie du stage caractérisera les bio-encre obtenues.

Nous commencerons par évaluer la rhéologie des encre obtenues pour déterminer la technique de bio-impression (micro extrusion, jet d'encre ou laser) et nous testerons l'imprimabilité des encre. Nous caractériserons la composition des protéines présentes dans la membrane amniotique et chorion par spectroscopie de masse MALDI-TOF. Afin de vérifier la non-contamination des encre, nous contrôlerons le taux d'endotoxines présentes par LAL assay.

La troisième partie du stage se concentrera sur l'intégration des cellules dans les bio-encre.

Nous commencerons par intégrer des cellules endothéliales (HUVEC) et fibroblastes et nous vérifierons la viabilité cellulaire dans le temps par Live Dead assay et Alamar Blue, et leur capacité à former des réseaux. D'autres types cellulaires pourront être testés.

- [1] L. I. Sous Naasani *et al.*, "Decellularized human amniotic membrane associated with adipose derived mesenchymal stromal cells as a bioscaffold: Physical, histological and molecular analysis," *Biochem. Eng. J.*, vol. 152, p. 107366, Dec. 2019.
- [2] T. J. Koob *et al.*, "Angiogenic properties of dehydrated human amnion/chorion allografts: therapeutic potential for soft tissue repair and regeneration," *Vasc. Cell*, vol. 6, p. 10, May 2014.
- [3] A. K. Riau, R. W. Beurman, L. S. Lim, and J. S. Mehta, "Preservation, sterilization and de-epithelialization of human amniotic membrane for use in ocular surface reconstruction," *Biomaterials*, vol. 31, no. 2, pp. 216–225, Jan. 2010.
- [4] H. Niknejad, H. Peirovi, M. Jorjani, A. Ahmadiani, J. Ghanavi, and A. M. Seifalian, "Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering," *Eur. Cell. Mater.*, vol. 15, pp. 88–99, Apr. 2008.

- [5] M. B. McDonald *et al.*, “Treatment outcomes in the DRy Eye Amniotic Membrane (DREAM) study,” *Clin. Ophthalmol. Auckl. NZ*, vol. 12, pp. 677–681, Apr. 2018.
- [6] S. Khalil *et al.*, “A Cost-Effective Method to Assemble Biomimetic 3D Cell Culture Platforms,” *PLoS ONE*, vol. 11, no. 12, Dec. 2016.