

FIG.1 : Etude des propriétés mécaniques des gels d'agarose low melting point. **a** : Schéma de fonctionnement de la machine à traction Instron munie d'un extensomètre. La flèche rouge indique la compression que subit la pastille d'agarose. **b** : Courbe de charge en compression à 20°C du gel d'agarose à 2,5 % en masse obtenue grâce au montage présenté en a. Le module d'Young correspond à la pente de la partie linéaire encadrée en rouge. La partie initiale (vert) correspond à l'établissement d'un contact homogène sur l'échantillon qui n'est pas parfaitement plan. La chute de contrainte (orange) correspond à une première rupture du gel. **c** : Courbe présentant l'évolution du module d'Young des gels d'agarose en fonction de la proportion massique d'agarose utilisée pour couler le gel, à deux températures données (température ambiante 20°C et température d'incubation des sphéroïdes 35°C).

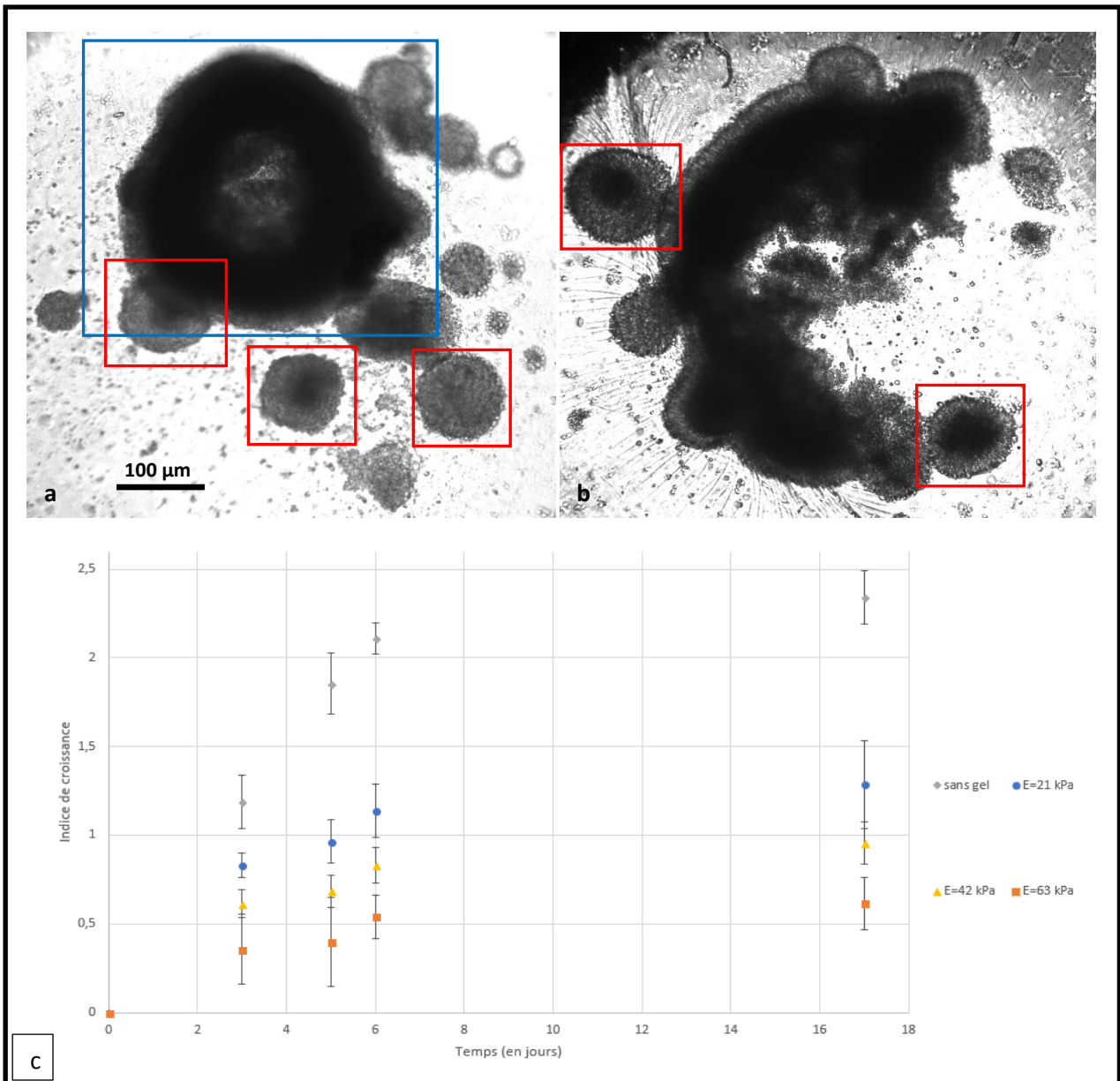


FIG.2 : Evolution de la taille des sphéroïdes en compression. **a** : image de sphéroïdes d'hépatocytes hors gel (dans le milieu de culture DMEM-GlutaMAX) obtenue au microscope à contraste de phase en grossissement x20. L'objet encadré en bleu est un amas de sphéroïdes et non un seul sphéroïde (encadrés en rouge). **b** : après perturbation du puits à la pipette pasteur l'amas est désagrégé et les sphéroïdes (encadrés en rouge) restent intacts. **c** : Evolution de l'indice de croissance des sphéroïdes (défini par la variation de la surface d'un sphéroïde mesurée avec ImageJ par rapport à la surface initiale) en fonction du temps pour des gels de différents modules d'Young. La croissance maximale est obtenue pour le sphéroïde hors gel. Plus le gel possède un module d'Young important, plus la croissance des sphéroïdes est faible. Afin de vérifier si les valeurs sont significativement différentes lors du chevauchement des barres d'erreur, nous avons réalisé des t-tests au seuil de 95% (valeur-p de gauche à droite : 0,06 ; 0,09 ; 0,04) : on ne peut donc pas rejeter avec certitude l'hypothèse selon laquelle les sphéroïdes grandissent effectivement moins vite dans le gel. Dans tous les cas un palier est observable au-delà d'un délai de culture de six jours.

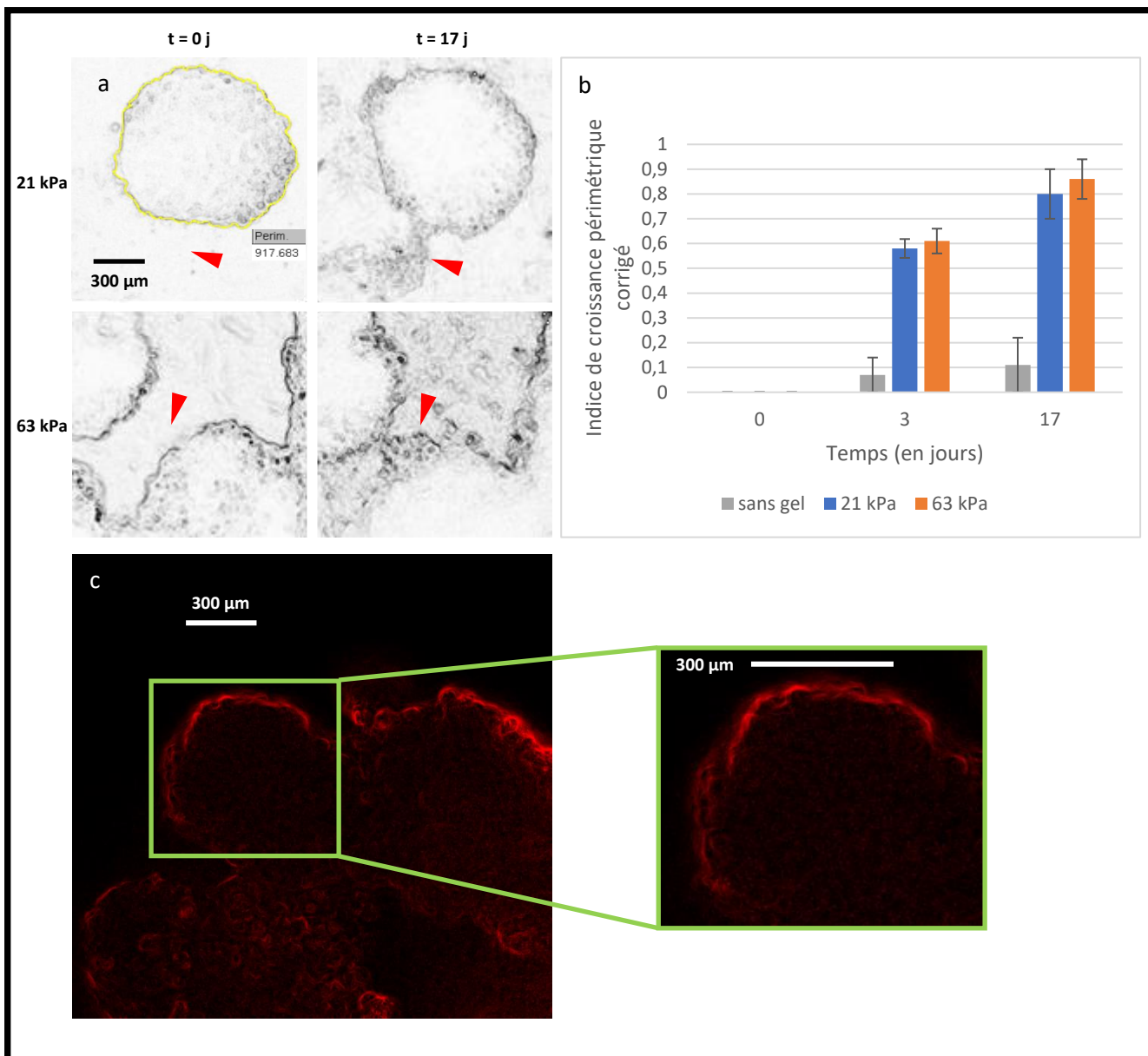


FIG.3 : Evolution de la structure des sphéroïdes en compression. **a** : image obtenue au microscope à contraste de phase en grossissement x20 après traitement avec ImageJ. On observe, en parallèle à la croissance naturelle du sphéroïde, une diminution de la cohérence de sa surface (interfaces moins nettes, cellules moins jointives, aspérités plus importantes) illustrée par des flèches rouges. **b** : Quantification de ce phénomène par la mesure du périmètre (grâce à ImageJ) du sphéroïde placé dans des milieux de module d'Young différents, après 3j et 17j. Le paramètre affiché est un taux d'accroissement du périmètre, corrigé pour s'affranchir de la croissance naturelle du sphéroïde (on ne tient compte que de la création d'irrégularités superficielles). **c** : Caractérisation de la structure corticale du sphéroïde (placé dans un milieu à 21 kPa depuis 7 jours). L'actine a été marquée par SiR-actin, puis observée par microscopie à fluorescence (x20). L'image est ensuite traitée sur ImageJ. On remarque une plus forte présence d'actine au niveau du cortex du sphéroïde.