

CARACTÉRISATION MÉCANIQUE CELLULAIRE PAR AFM

Claude Verdier, Y. Abidine, V. M. Laurent, R. Michel *Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy), CNRS et Université Grenoble Alpes 38000 Grenoble, France. Téléphone : 04 76 63 59 80, Télécopie : 04 76 63 54 95 Adresse(s) électronique(s) : Claude.Verdier@ujf-grenoble.fr*

A. Duperray *Institut Albert Bonniot, INSERM et Université Grenoble Alpes 38000 Grenoble, France. Téléphone : 04 76 54 94 52, Télécopie : 04 76 54 94 14 Adresse(s) électronique(s) : Alain.Duperray@ujf-grenoble.fr*

Mots clés : AFM, microrhéologie, cellules cancéreuses, modèle viscoélastique, métastase

1 CONTEXTE

L'étude des propriétés mécaniques des cellules est d'un intérêt croissant comme le montrent les nombreuses études développées ces dernières années. Elle est d'un intérêt médical tout d'abord car elle pourrait aider à la compréhension de pathologies, ou simplement de comprendre la physiologie cellulaire. De plus les cellules sont présentes dans les tissus biologiques en interaction avec des éléments de la matrice extra-cellulaire, et il est essentiel de comprendre leur fonctionnement et leur mécanique intrinsèque. En tant que matériau, une cellule se définit comme hétérogène, dotée de composants différents (membrane, cytosquelette, organelles, noyau) dont certains sont passifs et d'autres composants (complexe acto-myosine, moteurs moléculaires) ont un rôle actif, et peuvent être activés grâce à l'énergie interne de la cellule qui vient de l'apport des nutriments. C'est donc une mécanique très complexe, multi-échelle et multi-physique, qu'il faut appréhender. On peut donc se douter que peu de modélisations actuelles sont capables de rendre compte de cette complexité.

Dans cet article, on passera tout d'abord en revue les approches expérimentales et/ou modèles développés pour comprendre la mécanique cellulaire. Ensuite, on décrira des avancées récentes apportées grâce à la microscopie à force atomique (AFM) qui permet de sonder des cellules vivantes. Enfin, on envisagera quelques perspectives de ces travaux.

2 ÉTAT DE L'ART

Les travaux développés depuis une quinzaine d'année sont issus de la physique/mécanique expérimentale et visent au départ à appréhender le comportement mécanique de la cellule, soit dans son ensemble, soit au niveau plus local. C'est bien sûr une question essentielle de savoir quel comportement cellulaire étudier. La réponse est à placer au niveau de l'intérêt envisagé, à savoir :

- Cherche-t-on à déterminer des propriétés locales ?
- A-t-on besoin de connaître de manière approchée un paramètre (module élastique, etc.) d'une cellule pour l'utiliser dans un modèle de tissu ?

Dans ces deux cas, l'approche à mener sera différente.

2.1 Quel comportement pour la cellule ?

Pour comprendre quel est le comportement d'une cellule, on doit s'intéresser à sa microstructure, comme il est fait en mécanique des matériaux. Passons donc en revue les différents constituants cellulaires, tels qu'ils sont décrits en biologie (Alberts *et al.*, 1994). La cellule est dotée de :

- sa membrane plasmique (une bicouche lipidique), à la surface de laquelle on trouve des protéines.
- un noyau qui contient l'information génétique (ADN), le cerveau de la cellule.
- un cytoplasme où l'on trouve le cytosquelette, c'est à dire des filaments (microtubules, actine, filaments intermédiaires), mais aussi des organelles (vésicules, mitochondries, etc.), et des protéines.

En première approche, la cellule a été étudiée de manière simplifiée et les auteurs se sont accordés pour dire qu'elle possède un comportement quasi-élastique mais hétérogène. Ainsi, les AFM se sont développés, et comme ils possèdent la propriété d'effectuer des scans grâce à des piezos très résolus,

on peut assez facilement faire une cartographie, et en parallèle mesurer des modules par indentation. Dans ce cas, avec une pointe pyramidale, on va utiliser la formule de Hertz :

$$F_0 = \frac{3 E \tan \theta}{4 (1 - \nu^2)} \delta_0^2 \quad (1)$$

où F_0 est la force appliquée, θ le demi-angle de la pyramide, E le module d'Young, ν le coefficient de Poisson et δ_0 l'indentation. C'est ce que l'on peut faire dans un premier temps : l'image d'une cellule est réalisée en mode contact, suivie d'indentations répétées donnant le module d'Young local, comme présenté en figure (1).

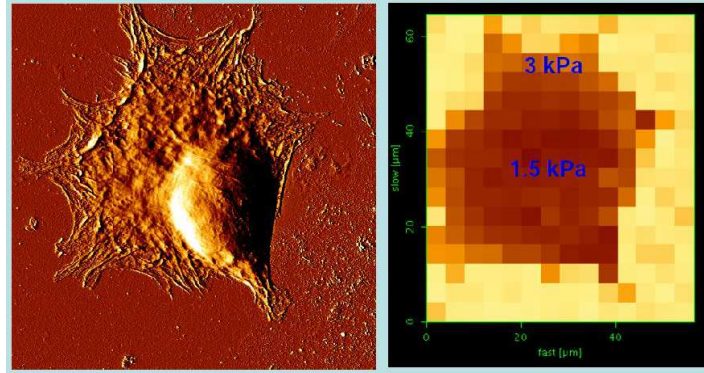


FIGURE 1 – à gauche : image AFM d'une cellule vivante (fibroblaste) ; à droite cartographie des modules élastiques E associés.

L'image de gauche est meilleure avec le signal d'erreur de l'AFM (différence entre la hauteur attendue et la hauteur réelle), qui permet de voir très clairement les différents constituants décrits ci-dessus. On voit bien le noyau à l'arrière de la cellule, cette dernière est polarisée, c'est à dire en position de migration. L'extension lamellaire est aussi très bien visible et l'on constate la présence de filaments d'actine (en paquets) sur les bords de cette lamelle. A droite en figure (1), on a représenté les modules élastiques qui montrent que le noyau est moins élastique (1.5kPa) que la périphérie (3kPa), du fait de la présence de l'actine. Attention, ici, le calcul est brut et la formule de Hertz n'a pas été corrigée par le logiciel. Nous verrons plus loin qu'il est nécessaire d'appliquer une correction du fait de l'effet du proche substrat (Santos *et al.*, 2012).

Ce schéma ne permet pas de comprendre le comportement mécanique de la cellule dans sa complexité, il devrait être proche de celui d'un gel, à la fois solide ou liquide (Verdier *et al.*, 2009). De plus, certains moteurs moléculaires (comme le complexe acto-myosine) sont des éléments capables de s'assembler et de se désassembler en permanence ce qui confère des propriétés viscoélastiques à la cellule (Etienne *et al.*, 2015).

Ainsi, pour pallier à cette première approche simplifiée, différentes méthodes ont été proposées au cours des années récentes, ce qui est l'objet de la partie suivante.

2.2 Méthodes dites de microrhéologie

Nous désignerons par microrhéologie toute méthode permettant d'avoir accès à des propriétés rhéologiques de la cellule (où d'autres composés), c'est à dire qu'elle permet de prendre en compte l'aspect temporel des sollicitations. Quant à l'aspect spatial, il est obtenu grâce à la petitesse (échelles microniques voire nanométriques) des sondes utilisées. Ces méthodes donnent accès à des comportements de fluage (contrainte imposée) ou relaxation (suivant l'application d'une contrainte constante), ou encore un comportement viscoélastique. Assez souvent c'est ce dernier qui est utilisé dans le cas des petites déformations. On applique une déformation $\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t)$ et on mesure la réponse en contrainte $\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \phi)$, où $\omega = 2\pi f$ est la pulsation, f la fréquence, ϕ le déphasage, et τ_0 et γ_0 désignent respectivement les contrainte et déformation maximales. En supposant qu'il y a proportionnalité entre contrainte et déformation, on détermine un module viscoélastique $G^* = \frac{\tau^*}{\gamma^*} = G' + i G''$, qui contient le module élastique G' (en phase avec la déformation γ), et le module visqueux G'' (en phase avec le taux de déformation $\dot{\gamma}$). Ce calcul concerne le cisaillement ici, mais peut être généralisé à d'autres types de déformations. Voici quelques exemples de techniques développées permettant d'acoir accès à ces paramètres.

2.2.1 Micropipettes. A l'origine, les premières méthodes de mesure de propriétés microrhéologiques sont des outils simples tels que les micropipettes. L'idée consiste à étirer une cellule dans une petite pipette calibrée (diamètre 2–8mm) en exerçant des pressions contrôlées (0.1–100 Pa). A l'aide de ce système, on peut mesurer les déformations cellulaires et les relier aux forces appliquées (Evans *et al.*, 1973). La méthode de calibration utilise souvent un globule rouge attaché à la micropipette qui présente une raideur bien connue.

2.2.2 Pincettes optiques. En 1989, Ashkin *et al.* découvrent une nouvelle méthode pour piéger une particule dans un faisceau laser, grâce à la focalisation de la lumière qui permet de créer des forces de radiation de l'ordre de 100–200 pN. Après avoir calibré la relation force–déplacement des particules, on peut ainsi avoir accès à des forces intracellulaires, si des particules sont attachées aux divers éléments de la cellule. De telles méthodes ont par exemple été employées pour mesurer le module élastique de la membrane de globules rouges (Hénon *et al.*, 1999). Encore plus récemment, elles ont été modifiées pour avoir accès aux modules viscoélastiques. Yeung et Evans (1989) utilise un modèle de cellule pour interpréter les déformations induites par la pression de suction. La cellule est représentée par une membrane (dotée d'une tension) entourant le cytoplasme visqueux. Grâce à ce modèle, on peut obtenir des valeurs de la tension corticale (typiquement 0.03 dyn/cm) et de la viscosité (entre 10^3 et 10^4 Poises).

2.2.3 AFM. C'est la méthode la plus communément utilisée dans les vingt dernières années. Les expériences peuvent être réalisées en milieu liquide, et les cellules sont adhérentes au fond d'une boîte de Pétri. Le levier de l'AFM est doté d'une pointe (pyramide, cône ou sphère) qui vient au contact de la cellule. Le laser se réfléchit sur le levier (recouvert d'or sur la face supérieure) et vient frapper une photodiode 4 quadrants, ce qui permet de déterminer la déflexion latérale et verticale du levier. En pratique, c'est surtout la déflexion verticale qui est utilisée pour mesurer la force. On calibre les leviers par la méthode des fluctuations thermiques (Hutter et Bechhoefer, 1993), qui est très précise. Typiquement les leviers se doivent d'avoir une constante de raideur entre 0.01 et 1 N/m, pour solliciter des cellules vivantes. Le scan d'une cellule est relativement difficile, car la cellule résiste aux forces appliquées (mécanotransduction) et met en place ses défenses. On voit néanmoins sur la figure (1) que le scan d'une cellule fixée permet de révéler toute son architecture (=cytosquelette). Il en résulte des propriétés mécaniques spatialement variables, qui sont liées à cette architecture. Par exemple, le module mesuré par indentation (formule de Hertz, équation (1)) semble plus important au bord de la cellule (3 kPa) qu'au dessus du noyau (1.5 kPa). Mais l'AFM peut être utilisé en mode modulation de force (contact oscillatoire), ce qui permet d'avoir accès aux modules viscoélastiques (Abidine *et al.*, 2015a). Cette méthode sera présentée ci-dessous.

2.2.4 Microplaques. Elles sont une variante de la méthode AFM, en ce sens que l'on vient attraper une cellule entre deux plaques dont l'une est rigide et l'autre déformable. C'est la déflexion de la plaque déformable (Thoumine et Ott, 1999) qui permet d'avoir accès aux forces exercées sur ou par la cellule. Plus récemment, cette méthode a été étendue grâce aux travaux de Mitrossilis *et al.* (2009) en faisant varier la rigidité de la plaque déformable très rapidement. De cette manière, la cellule est sondée en fonction d'environnements différents. On constate que la cellule s'adapte à l'environnement en augmentant les liaisons acto–myosines qui renforce la contractilité. Ce comportement est analogue au comportement musculaire.

2.2.5 Suivi du mouvement de particules au sein d'une cellule. Une méthode élégante proposée par Mason et Weitz (1995) consiste à insérer des particules dans le cytoplasme de la cellule et d'observer le mouvement Brownien de ces particules. Soumises à un environnement variable, les particules fluctuent en fonction des propriétés mécaniques de l'environnement, en particulier la viscosité. Le coefficient de diffusion des particules D est donné par la formule de Stokes–Einstein selon $D = k_B T / 6\pi\eta a$, ou k_B est la constante de Boltzmann, T la température, η la viscosité du milieu et a le rayon de la particule. On peut généraliser cette expression en milieu linéaire viscoélastique (Mason *et al.*, 1997) et s'intéresser à la moyenne des déplacements carrés (MSD) qui est donnée par $\text{MSD}(t) = \langle \Delta \mathbf{x}^2(t) \rangle = \langle |\mathbf{x}(t + \tau) - \mathbf{x}(\tau)|^2 \rangle_\tau$, cette grandeur varie comme $\text{MSD}(t) \sim t^\alpha$, ou α désigne l'exposant. Lorsque $\alpha \leq 1$, le mouvement est sub–diffusif, pour $\alpha = 1$, il est diffusif, et si $\alpha \geq 1$, le mouvement est super–diffusif voir directionnel pour $\alpha = 2$. L'expression précédente se généralise pour donner $r^2(s) = k_B T / \pi a s G(s)$ où s est la fréquence de Laplace, et $r^2(s)$ et $G(s)$ désignent les transformées de Laplace de la MSD et de la fonction relaxation. Ensuite, en prenant la transformée de Fourier de $G(s)$, on obtient le module complexe $G^*(\omega) = G' + iG''$. Cette méthode est relativement simple et

permet de sonder de manière non intrusive les propriétés d'un milieu complexe, comme par exemple les propriétés rhéologiques locales du cytoplasme cellulaire.

2.2.6 Magnétocytométrie. La magnétocytométrie consiste à venir attacher des billes magnétiques à la surface de la cellule et d'appliquer un couple tout en contrôlant les déformations des billes. Une moyenne globale permet d'obtenir la relation couple-déformation. Schmidt *et al.* (1996) ont par exemple mesuré les propriétés de réseaux d'actine. Laurent *et al.* (2003) utilisent cette méthode pour sonder la surface cellulaire et démontrent que la réponse est viscoélastique mais que deux couples module-temps (de relaxation) sont obtenus, un caractérisant le cortex, et le second le cytosol.

2.3 Principaux résultats

Au cours des dernières années, un certain nombre de travaux se sont attachés à caractériser la rhéologie cellulaire. Il est clairement montré aujourd'hui que la cellule est viscoélastique. On peut modéliser la viscoélasticité par des modèles de Maxwell en série comportant plusieurs temps de relaxation (Balland *et al.*, 2005), ou encore utiliser les modèles de type Sollich ou SGR pour "Soft Glassy Rheology" (Bursac *et al.*, 2005). Le premier est classique en dynamique des polymères tandis que le second correspond à une description des états successifs métastables d'un matériau. Ceci se traduit par une pente quasi constante (en échelle log-log) des modules G' et G'' . Ce dernier résultat reste un sujet de controverse et certains auteurs ont montré que cet état n'est pas suffisant pour décrire le comportement hautement complexe de la cellule (Stamenovic *et al.*, 2007), qui se traduit par des pentes différents de $|G^*(\omega)|$, en fonction de ω . Nos résultats ci-dessous sont en accord avec cette dernière hypothèse.

Une des questions qui se pose est le rôle des précontraintes sur les propriétés viscoélastiques. Cet aspect peut être pris en compte en regardant des comportements dynamiques superposés à des grandes déformations. Des résultats importants ont été obtenus en observant la dépendance du module différentiel $K(\sigma) = d\sigma/d\epsilon$ en fonction de la précontrainte σ . Storm *et al.* (2005) ont montré que la plupart des gels biologiques formés de filaments peuvent posséder un comportement élastique non linéaire. Il se produit ainsi un durcissement sous contrainte du fait de la présence de protéines filamenteuses (actine, tubuline, etc.), avec aussi des cas d'adoucissement.

Afin de mieux relier les propriétés mécaniques à la microstructure cellulaire, les nouvelles techniques microscopiques sont devenues essentielles aujourd'hui (microscopie confocale, bi ou tri-photonique, DIC, FRÉT, FRAP, etc.) pour mieux comprendre la réponse des structures cellulaires – hautement complexes – aux sollicitations mécaniques. Mais il reste encore du chemin pour améliorer cette compréhension.

Dans le domaine du cancer, un des principaux résultats des dernières années a été de comprendre que la capacité des cellules cancéreuses à migrer et à se faufiler au travers de la paroi vasculaire (pour aller former des tumeurs secondaires) est liée à leur plus grande déformabilité. Cross *et al.* (2008) ont montré que la rigidité des cellules cancéreuses est plus faible que celle de cellules normales du même type. Ces résultats ont été confortés par des études récentes (Rother *et al.*, 2014 ; Abidine *et al.*, 2015b) qui font l'objet du chapitre suivant.

3 AVANCÉES RÉCENTES

Alcaraz *et al.* (2003) proposent une nouvelle méthode de caractérisation par AFM de cellules. Ils appliquent à l'aide d'un AFM (fait maison) des petites déformations superposées à une indentation initiale, correspondant à l'équation (1). Ils appliquent cette méthode à une cellule au dessus du noyau. En linéarisant l'équation (1), en remplaçant δ_0 par $\delta_0 + \delta$, et F_0 par $F_0 + F$, on obtient le résultat suivant :

$$G^*(\omega) = \frac{1 - \nu}{3 \delta_0 \tan \theta} \left\{ \frac{F^*(\omega)}{\delta^*(\omega)} - i\omega b(0) \right\} \quad (2)$$

où δ_0 est l'indentation initiale, θ le demi-angle de l'indenteur (une pyramide), ν le coefficient de Poisson du matériau cellulaire, $G^*(\omega)$ le module de cisaillement complexe, $F^*(\omega)$ et $\delta^*(\omega)$ la force et l'indentation complexes respectivement. Le dernier terme est associé à la traînée visqueuse que l'on déclenche lors des sollicitations sinusoïdales dans le milieu fluide. $b(0)$ est le facteur de correction correspondant à la traînée obtenue à hauteur nulle ($h = 0$), car on est au contact de la cellule.

Dans notre travail (Abidine *et al.*, 2015b), nous avons réutilisé cette méthode pour obtenir le comportement viscoélastique de la cellule en figure (2). Une cellule cancéreuse (lignée T24, cellule épithéliale invasive du cancer de la vessie) est testée par AFM et l'on constate un comportement élastique à basse

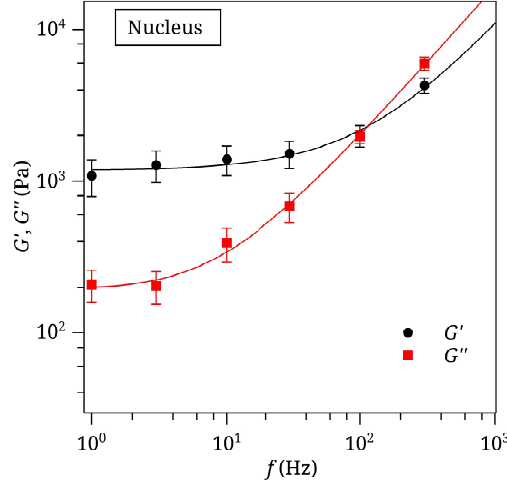


FIGURE 2 – Modules G' et G'' mesurés sur le noyau d'une cellule cancéreuse T24.

fréquence (G' quasi constant) puis une transition vitreuse avec des variations rapides des modules G' et G'' qui semblent avoir des pentes proches aux hautes fréquences.

Nous proposons alors un modèle viscoélastique empirique qui a été déjà étudié précédemment pour décrire le comportement de gels (Abidine *et al.*, 2015a) de manière plus complexe, en utilisant des dérivées fractionnaires. Ici, le comportement est donné simplement par :

$$G'(\omega) = G_N^0 + k_1 \omega^a \quad (3)$$

$$G''(\omega) = k_0 \omega^{-n_f} + b k_1 \omega^a \quad (4)$$

Les paramètres importants sont le module de plateau G_N^0 , la pente a des modules à hautes fréquences, le paramètre b qui représente le rapport G''/G' aux hautes fréquences, la fréquence de transition f_T (à laquelle $G' = G''$) estimée par $f_T = \frac{1}{2\pi} \left(\frac{G_N^0}{(b-1)k_1} \right)^{1/a}$. k_0 et k_1 sont des modules d'ajustement.

On va ensuite utiliser cette méthode pour sonder localement les propriétés des cellules en relation avec leur cytosquelette. Dans ce cas, nous sondons une faible épaisseur (membrane lamellaire). De ce fait l'indentation, même petite, peut donner lieu à une réponse dépendant du substrat. Nous utilisons une formule proposée par Santos *et al.* (2012) qui donne une correction de l'effet du substrat dur en fonction de l'indentation relative $\chi = \delta_0 \tan \theta / h$, où h est la hauteur cellulaire, et que nous adaptons en régime dynamique AFM linéarisé (Abidine *et al.*, 2015b) :

$$G_c^*(\omega) = \frac{1 - \nu}{3 \tan \theta \delta_0} \frac{F^*(\omega)}{\delta^*(\omega)} g(\chi_0)^{-1} \quad (5)$$

La fonction de correction est donnée par :

$$g(\chi_0) = 1 + 0.945 \chi_0 + 1.447 \chi_0^2 + 3.108 \chi_0^3 - 1.0668 \chi_0^4 \quad (6)$$

Cette formule est appliquée aux différentes zones cellulaires que nous allons sonder :

- Le noyau (N)
- La zone autour du noyau (P)
- La périphérie ou laméllipode (E)

Les résultats sont présentés en figure (3). On constate une augmentation des modules en allant vers l'extérieur de la cellule (N vers P vers E), ce qui est lié au réseau d'actine beaucoup plus dense, augmentant ainsi la rigidité. Ceci est illustré sur l'image de fluorescence à gauche en figure (3), où l'on voit une intensité de fluorescence importante au bord. Le paramètre f_T est aussi une signature de ce phénomène car il augmente en allant vers l'extérieur de la cellule. Ces paramètres, en particulier G_N^0 , f_T , a , b et n_f , peuvent donc être utilisés pour différencier des cellules.

Pour aller plus loin, nous caractérisons des cellules de lignées différentes, qui possèdent des propriétés invasives différentes $J82 > T24 > RT112$ (invasivité décroissante). Les résultats sont présentés ici seulement au bord de la cellule (E). De manière générale, tous les modules diminuent lorsque l'on passe d'une cellule peu invasive à très invasive. Par contre, au niveau du bord de la cellule, on constate

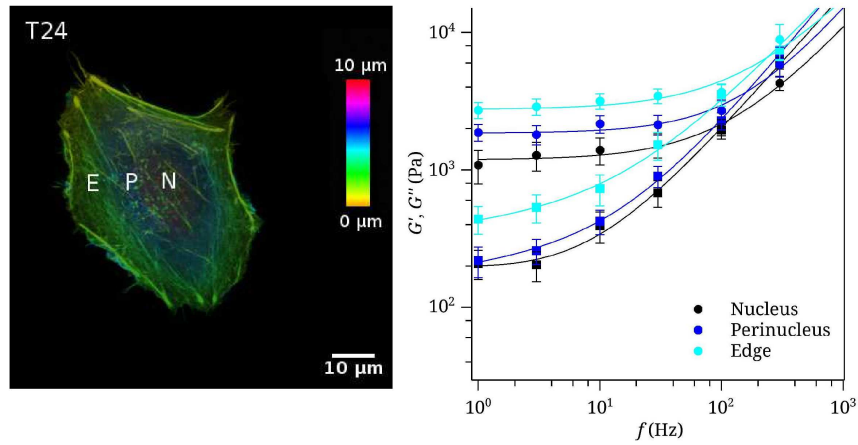


FIGURE 3 – Modules G' et G'' mesurés en trois points de la cellule cancéreuse T24. A gauche, visualisation du cytosquelette d'actine par projection des plans confocaux. Les zones sont indiquées : Noyau (N), zone perinucléaire (P) et bord de la cellule (E). A droite modules viscoélastiques.

une inversion qui peut être liée à des propriétés particulières du lamellipode (position E, pour "Edge"). En tout cas, ces résultats sont liés au réseau d'actine très présent à la périphérie. Enfin, le paramètre f_T diminue avec l'invasivité, ce qui traduit un décalage en fréquence. Ainsi, les cellules plus invasives semblent avoir des propriétés viscoélastiques très différentes, avec une activité particulière au niveau du lamellipode.

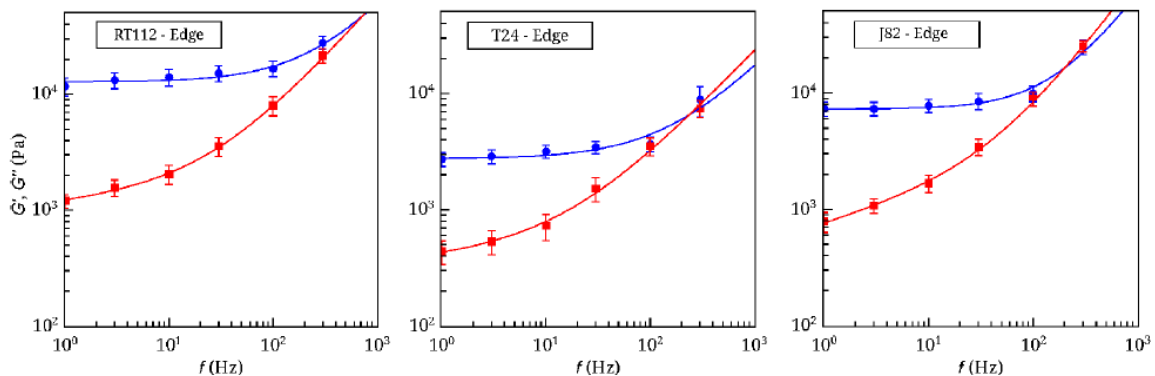


FIGURE 4 – Modules G' et G'' au bord de la cellule (formules corrigées par l'effet du substrat) pour les trois lignées cellulaires RT112, T24, J82.

4 PERSPECTIVES

Ces travaux récents sont prometteurs car ils permettent d'obtenir une modélisation simplifiée de la cellule en tant qu'objet viscoélastique déformable. Nous avons identifié des paramètres faciles à déterminer qui permettent de différencier des cellules plus ou moins invasives. Des applications thérapeutiques peuvent être envisagées. Il faudra alors prévoir d'acheminer des cellules via des microcanaux et les analyser rapidement. De telles études ont déjà été réalisées (Cai *et al.*, 2013).

D'un point de vue plus fondamental, ce travail ouvre des perspectives pour la compréhension de la mécanique et de la déformabilité cellulaire. En effet, il est possible d'envisager maintenant des mécanismes de déformations locaux qui mènent à la transmigration cellulaire, un des stades clés de la formation des métastases.

REFERENCES

Abidine Y., Laurent V.M., Michel R., Duperray A., Palade L.I. et Verdier C., "Physical properties of polyacrylamide gels probed by AFM and rheology", *Europhys. Letters*, **109**, (2015), pp. 38003.

- Abidine Y., Laurent V.M., Michel R., Duperray A. et Verdier C., "Local mechanical properties of bladder cancer cells measured by AFM as a signature of metastatic potential", *Eur. Phys. J. Plus*, **in press**, (2015).
- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. et Watson J.D., "Molecular Biology of the cell", 3rd Ed. *Garland Pub.*, (1994).
- Alcaraz J., Buscemi L., Grabulosa M., Trepas X., Fabry B., Farré R. et Navajas D., "Microrheology of human lung epithelial cells measured by atomic force microscopy", *Biophys. J.*, **84**, (2003), pp. 2071-2079.
- Ashkin A. et Dziedzic J.M., "Internal cell manipulation using infrared laser traps", *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **86**, (1989), pp. 7914-7918.
- Balland M., Desprat N., Icard D., Féréol S., Asnacios A., Browaeys J., Hénon S. et Gallet F., "Power laws in microrheology experiments on living cells : Comparative analysis and modeling", *Phys. Rev. E*, **74**, (2006), pp. 02191.
- Bursac P., Lenormand G., Fabry B., Oliver M., Weitz D.A., Viasnoff V., Butler J.P. et Fredberg J.J., "Cytoskeletal remodelling and slow dynamics in the living cell". *Nat. Mater.*, **4**, (2005), pp. 557-561.
- Cai P., Mizutani Y., Tsuchiya M., Maloney J.M., Fabry B. et Okajima T., "Quantifying Cell-to-Cell Variation in Power-Law Rheology", *Biophys. J.*, **105**, (2013), pp. 1093-1102.
- Cross S.E., Jin Y.-S., Tondre J., Wong R., Rao J. et Gimzewski J.K., "AFM-based analysis of human metastatic cancer cells", *Nanotechnology*, **19**, (2008), pp. 384003.
- Etienne J., Fouchard J., Mitrossilis D., Bufi N., Durand-Smet P. et Asnacios A., "Cells as liquid motors : Mechanosensitivity emerges from collective dynamics of actomyosin cortex", *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **112**, (2015), pp. 2740-2745.
- Evans E., "New membrane concept applied to the analysis of fluid shear- and micropipette-deformed red blood cells", *Biophys. J.* **13**, (1973), pp. 941-954.
- Hénon S., Lenormand G., Richter A. et Gallet F. "A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers", *Biophys. J.* **76**, (1999), pp. 1145-1151.
- Hutter J. L. et Bechhoefer J., "Calibration of atomic-force microscope tips", *Rev. Sci. Instrum.*, **64**, (1993), pp. 1868-1873.
- Laurent V.M., Planus E., Fodil R. et Isabey D., "Mechanical assessment by magnetocytometry of the cytosolic and cortical cytoskeletal compartments in adherent epithelial cells", *Biorheology*, **40**, (2003), pp. 235-240.
- Mason T.G. et Weitz D.A., "Optical measurements of the frequency-dependent linear viscoelastic moduli of complex fluids", *Phys. Rev. Lett.*, **74**, (1995), pp. 1250-1253.
- Mason T.G., Ganesan K., van Zanten J.H., Wirtz D. et Kuo S.C., "Particle tracking microrheology of complex fluids", *Phys. Rev. Lett.*, **79**, (1997), pp. 3282-3285.
- Mitrossilis D., Fouchard J., Guirouy A., Desprat N., Rodriguez N., Fabry B. et Asnacios, A., "Single-cell response to stiffness exhibits muscle-like behavior", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, (2009), pp. 18243-18248.
- Rother J., Nöding H., Mey I. et Janshoff A., "Atomic force microscopy-based microrheology reveals significant differences in the viscoelastic response between malign and benign cell lines", *Open Biology*, **4**, (2014), pp. 140046.
- Santos J.A.C., Rebêlo L.M., Araujo A.C., Barrosa E.B., et de Sousa J.S., "Thickness-corrected model for nanoindentation of thin films with conical indenters", *Soft Matter*, **8**, (2012), pp. 4441-4448.
- Schmidt F.G., Ziemann F. et Sackmann E., "Shear field mapping in actin networks by using magnetic tweezers", *Eur. Biophys. J.*, **24**, (1996), pp. 348-353.
- Stamenovic D., Rosenblatt N., Montoya-Zavala M., Matthews B.D., Hu S., Suki B., Wang N. et Ingber D.E., "Rheological behavior of living cells is timescale-dependent", *Biophys. J.*, **93**, (2007), pp. 39-41
- Storm C., Pastore J.J., MacKintosh F.C., Lubensky T.C. et Janmey P.A., "Nonlinear elasticity in biological gels", *Nature*, **435**, (2005), pp. 191-194.
- Thoumine O. et Ott A., "Time scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblasts probed by microplate manipulation", *J. Cell Sci.*, **110**, (1997), pp. 2109-2116.
- Verdier C., Etienne J., Duperray A. et Preziosi L., "Review : Rheological properties of biological materials", *C. R. Acad. Sci. Phys.*, **10**, (2009), pp. 790-811.
- Yeung A. et Evans E., "Cortical shell-liquid core model for passive flow of liquid-like spherical cells into micropipets", *Biophys. J.*, **56**, (1989), pp. 139-149.