

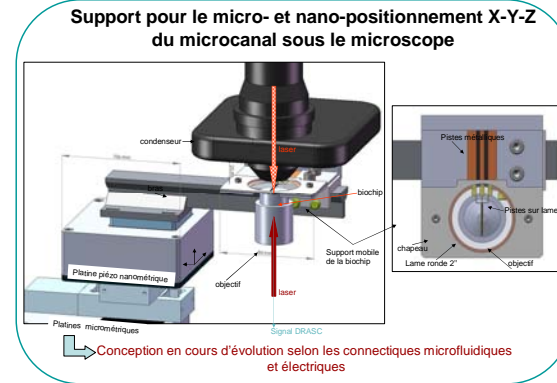
## Dispositifs microfluidiques pour l'exposition et l'observation de cellules biologiques à des impulsions électriques nanosecondes

UMR8121 CNRS-IGR: Lluís M. Mir, Jean-Rémi Bertrand, Vanessa Joubert, Aude Silve ; IFR 121 I. d'Alembert – ENS Cachan: Bruno Le Pioufle, Olivier Français, Jean-Pierre Lefevre, Julien Villemejeane ; ONERA - DMPH: Nelly Dorval, Brigitte Trétout, Thomas Schmid, Frédéric Grisch ; CNRS-XLIM: Philippe Levêque, Delia Arnaud-Cormos, Vincent Couderc

### Descriptif du projet

Les effets d'impulsions électriques d'une durée de l'ordre d'une ou de quelques nanosecondes (dits nanopulses) et de fortes intensités (plusieurs kV/mm) sur les cellules animales sont en cours d'étude. Une nouvelle voie à la manipulation d'organites intracellulaires (mitochondries, noyau) s'ouvre avec l'utilisation de nanopulses. Presque sans perturber la membrane externe de la cellule, les nanopulses permettent de pénétrer à l'intérieur de la cellule (nanoporation). Une étude globale pour comprendre les phénomènes d'interaction nanopulse-cellule nécessite de disposer et/ou de développer des outils à la frontière entre les microtechnologies et les nanotechnologies. En effet, il faut pouvoir disposer de générateurs d'impulsions nanosecondes, comme ceux qui sont en développement dans le XLIM du CNRS. Il faut pouvoir disposer d'outils d'imagerie optique capables de visualiser de façon non invasive et instantanément les membranes avant, pendant et après l'application de ces nanopulses, comme le microscope à Diffusion Raman Anti-Stokes Cohérente (DRASC) développé conjointement par le DMPH de l'ONERA et l'UMR 8121 du CNRS. Et il faut réaliser un microdispositif fluide permettant d'exposer les cellules à des nanopulses et de les visualiser sous microscope. C'est ce microdispositif qui constitue le cœur de ce projet intitulé « Nanopulsebiochip » que le consortium se propose de développer. Deux types de chambres fluidiques sont proposées par l'UFR121/CNRS : des microcanaux pour cellules en suspension dans lesquels un réseau microfluidique permettra d'amener les cellules entre les électrodes de façon séquentielle, pour les exposer aux nanopulses et les observer les unes après les autres sans avoir à refaire les réglages du microscope, et des microcanaux pour cellules en situation d'adhérence, pour lesquels il faudra préparer des surfaces nanostructurées permettant l'auto-positionnement des cellules.

### Support sous microscope



### Microdispositifs fluidiques pour l'exposition des cellules - IFR d'Alembert

#### Microdispositif à électrodes métalliques

Axe optique perpendiculaire au champ électrique

**Electrodes fines**  
 Dépôt de 100 nm d'or par pulvérisation  
 + Réalisation technologique maîtrisée  
 + Biocompatible  
 - Champ non-homogène dans l'ensemble du canal

**Electrodes épaisses**  
 Electrodeposition de 15 à 20 µm de cuivre  
 + Champ homogène dans l'ensemble du canal  
 - Planarité des électrodes  
 - Nécessité d'une couche d'or pour biocompatibilité

#### Microdispositif à matériau conducteur

Axe optique parallèle au champ électrique

**Matériau conducteur transparent (ITO)**  
 Dépôt d'ITO (Indium Tin Oxide) sur lame et lamelle de verre  
 Résistance : 30 Ω / carré  
 + Champ homogène dans l'ensemble du canal  
 + Planarité des électrodes  
 + Biocompatibilité  
 - Connectique électrique sur 2 plans différents

#### Design des électrodes

**Impédance de charge**

Hauteur canal :  $h = 50 \mu\text{m}$   
 Largeur canal :  $e = 100 \mu\text{m}$   
 Conductivité milieu :  $\sigma = 1 \text{ S/m}$   
 Longueur canal :  $l = 2 \text{ cm}$   
 $R = \frac{l}{\sigma \cdot e \cdot h} = 50 \Omega$   
 Energie dissipée dans le milieu

**Ligne de transmission**

Isolation des électrodes avec du parylène  
 Propagation le long du canal

### Analyses électromagnétiques des microdispositifs et générateurs de nanopulses - XLIM - CNRS (Limoges)

#### Modélisations EM par méthode numérique (fdtd)

**Microdispositif 1**

• discrétisation spatiale : 50 µm dans la solution  
 • résolution en transitoire => domaine temporel  
 • source localisée et câble coaxial (50 Ohms)  
 + Homogénéité du champ dans le canal, - légère déformation des fronts de montée

**Distribution spatio-temporelle de tension**

#### Génération des impulsions nanosecondes

- Laser compact (fréquence de récurrence > 5 kHz)
- Switch optoélectronique
- Pulse : 3 à 4 kV<sub>cc</sub>
- Profil ajustable

+ Contrôle du profil de l'impulsion  
 + Synchronisation de l'impulsion électrique et du CARS via l'impulsion laser

### Caractérisation optique des matériaux des microdispositifs - ONERA-DMPH

#### Transmission optique visible de couches microniques et nanométriques de

**Parylène C = Isolant électrique**

$T = 86\%$  de 500 à 850 nm  
 • Pertes par réflexion  
 • Pas de bandes d'absorption

**ITO = électrodes conductrices**

$T = 88-83\%$  de 500 à 850 nm  
 • Pertes par réflexion  
 • Pas de bandes d'absorption

### Avancement des travaux et perspectives

#### Résultats

- Validation du modèle de calcul de l'impédance par la simulation
- Validation du design des électrodes pour une impédance de charge par la simulation (pour des impulsions > 1 ns)
- Validation du choix des matériaux utilisés par la caractérisation optique

#### Prochains travaux

- Mise au point du microscope DRASC\* (ONERA-DMPH et CNRS UMR 8121)
- Tenues des matériaux aux flux laser du microscope DRASC\* (ONERA-DMPH)  
Valider la compatibilité des matériaux de la biochip pour microscopie
- Etudes des contraintes géométriques des faisceaux laser et des dimensions des microcanaux (ONERA-DMPH et IFR d'Alembert) Valider le dimensionnement micronique de la biochip pour microscopie
- Packaging complet du système fluide (IFR d'Alembert)  
Valider la faisabilité d'un système microfluidique à électrodes métalliques
- Prototypage d'un microdispositif à électrode en matériau transparent et conducteur (IFR d'Alembert) Valider la faisabilité du système à électrodes en matériau type ITO
- Conception des microsystèmes type ligne de transmission (IFR d'Alembert et CNRS-XLIM) Valider la conception d'une micro-ligne de transmission