



**HAL**  
open science

# Systèmes microfluidiques modèles : Transport en milieux poreux, nano-objets et membranes biomimétiques sur puce

Pierre Joseph

► **To cite this version:**

Pierre Joseph. Systèmes microfluidiques modèles : Transport en milieux poreux, nano-objets et membranes biomimétiques sur puce. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier), 2019. tel-02067183

**HAL Id: tel-02067183**

**<https://laas.hal.science/tel-02067183>**

Submitted on 14 Mar 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## MANUSCRIT

En vue de l'obtention de l'

## HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Délivrée par l'Université Toulouse III Paul Sabatier

### Systemes microfluidiques modèles

*Transport en milieux poreux, nano-objets et membranes biomimétiques sur puce*

Présentée par

Pierre JOSEPH

Le 11 février 2019

Travaux de recherche effectués au LAAS-CNRS, UPR 8001

Jury :

Patricia Bassereau, Directrice de Recherche CNRS à l'Institut Curie Paris - Présidente

Annie Colin, Professeur à l'ESPCI Paris - Rapportrice

Anne-Marie Gué, Directrice de Recherche CNRS au LAAS-CNRS - Garante

Marc Prat, Directeur de Recherche CNRS à l'IMFT Toulouse - Examineur

Jean-Paul Rieu, Professeur à l'Université Lyon 1, ILM - Rapporteur

Benoît Scheid, Professeur à Université Libre de Bruxelles, TIPS lab - Rapporteur

---



# SOMMAIRE

---

<b>Sommaire .....</b>	<b>3</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>5</b>
<b>Préambule .....</b>	<b>7</b>
<b>I Modèles microfluidiques du transport dans les milieux poreux .....</b>	<b>9</b>
I.1 Nanofluidique : spécificités de la nano-échelle .....	10
I.1.1 Eléments de Contexte : des micromodèles aux nanomodèles ? .....	10
I.1.2 Technologies pour la nanofluidique .....	13
I.1.3 Imbibition et drainage de nanocanaux .....	18
I.1.4 Ecoulements sub-micrométriques : cas d'écoulements à bulles et gouttes .....	22
I.1.5 Ecoulements osmotiques pour des nanocanaux perméables .....	24
I.2 Cristallisation en situation confinée .....	25
I.3 Contrôle de l'évaporation par la topologie .....	26
I.4 Modèles du colmatage de membranes de filtration .....	29
<b>II Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la santé .....</b>	<b>33</b>
II.1 Canaux biomimétiques : vectorisation de nano-médicaments .....	33
II.1.1 Transfert « simple » de nano-objets .....	35
II.1.2 Transfert de nano-objets en présence de globules rouges : lien avec la margination .....	39
II.2 Tri hydrodynamique de nanoparticules .....	41
II.3 Concentration et séparation de l'ADN pour le diagnostic en oncologie .....	44
<b>III Objectifs / Projet de recherche : des systèmes modèles de poreux, des modèles pour le vivant ..</b>	<b>47</b>
III.1 Modèles du transport dans les milieux poreux : perspectives .....	47
III.1.1 Echelle « sub-10 nm » .....	47
III.1.2 Films de coin .....	47
III.1.3 Couplage fluide structure : déformation des canaux, pervaporation .....	48
III.1.4 Complexité de la géométrie : vers un poreux réaliste ? .....	49
III.1.5 Mécanismes de la filtration (colmatage) .....	50
III.2 Membranes biologiques modèles et nanoparticules .....	51
III.2.1 Contexte et état de l'art : microfluidique, matière molle, et membranes artificielles .....	51
III.2.2 Axe de recherche 1 : fabriquer des objets asymétriques .....	59
III.2.3 Axe de recherche 2 : sonder les interactions vésicules / nano-objets .....	60
III.2.4 Axe de recherche 3 : Vésicules ou cellules sous microenvironnement contrôlé .....	68

III.3	Mise en forme de gels supramoléculaires pour l'ingénierie tissulaire.....	70
III.3.1	Préambule : travaux passés sur l'agrégation de l'amyloïde Beta .....	70
III.3.2	Contexte : gels supramoléculaires, études de biocompatibilité .....	71
III.3.3	Mise en forme des gels : extrusion, wet-spinning, vers l'impression 3D .....	72
<b>IV</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>75</b>
<b>V</b>	<b>Références .....</b>	<b>76</b>
<b>VI</b>	<b>Annexes .....</b>	<b>89</b>
VI.1	Curriculum Vitae .....	89
VI.2	Publications scientifiques .....	90
VI.2.1	Revue internationale à comité de lecture.....	90
VI.2.2	Actes de colloques à comité de lecture .....	92
VI.2.3	Chapitres d'ouvrages .....	95
VI.2.4	Sélection de communications à des conférences et séminaires .....	95
VI.3	Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique.....	97
VI.3.1	Thèses, post-doctorats et stages encadrés .....	97
VI.3.2	Enseignement .....	102
VI.3.3	Participation à l'organisation de conférences, workshops, congrès .....	102
VI.3.4	Participation à des revues ou ouvrages de vulgarisation .....	103
VI.3.5	Participations à des travaux d'expertise .....	103
VI.4	Contrats de Recherche .....	103
VI.4.1	Projets en cours .....	103
VI.4.2	Projets passés .....	104
VI.5	Animation et management de la recherche .....	105
<b>VII</b>	<b>Résumé / Abstract.....</b>	<b>106</b>

# REMERCIEMENTS

---

Merci à mes rapporteurs, Annie Colin, Jean-Paul Rieu, et Benoît Scheid, d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Merci aux autres membres du jury, Patricia Bassereau, Marc Prat et Anne-Marie Gué, pour avoir apporté eux aussi un regard critique mais constructif sur mes travaux.

Merci à l'ensemble des étudiants en thèse et post-doctorants, responsables de l'essentiel des résultats présentés dans ce manuscrit, obtenus en plus de dix ans passés au LAAS : merci Alaa, Vincent, Maud, Fabien, Sébastien, Hakim, Clément, Marius, Antoine, Chen, Rémi, Anaïs, Olivier, Léo, Marianne, sans oublier les stagiaires (Karima, Abdelkrim, Louise, Ange, Sabri, Mohamed, Juliette, Akash, Morgane, ...)

Merci aussi à tous les collègues et étudiants de l'équipe MILE, et aux anciens MIS puis N2IS, pour vos contributions à ce travail, et pour tous les moments partagés : merci Anne-Marie, Aurélien, Morgan, Ali ; Sébastien, Marc, Hubert, Qihao, Houssam ; Jeffrey, Inga, Bayan, Amani, Marion, Lyne, Nicolas, ....

Merci aux collègues chercheurs d'autres équipes du LAAS qui ont participé à ces travaux ou les ont suivis ou les ont inspirés : Thierry, Laurent, Antoine, Olivier, Marie, Georges,... ; aux ingénieurs des services techniques TEAM (Fabien, David, Samuel, Adrian, Pascal, Aurélie, Laurent, Rémi, Benjamin, Hugues, ...) et I2C (Sandrine, Charline, Julien, Xavier,...) ; aux services support (Régine, Laurent, Pascale, Anaïs, Brigitte, Marie-Laure, Anna, Eric, ...), et aux directions LAAS successives en particulier par des financements internes très appréciables pour explorer de nouvelles pistes risquées.

Merci aux collègues des laboratoires avec qui j'ai la chance de travailler, ou au moins de discuter pour des collaborations futures : avec Toulouse à l'IMFT (Marc, Paul, Olivier, Sylvie, Thierry, ...), aux IMRCP (Anne-Françoise, Juliette, Clément, Laure, ...), au LGC, LMDC, IPBS, LISBP, souvent grâce à la Fédération Fermat (Sandrine, Martine, Yannick, Patrice, Micheline, Christine, ...) ; avec New-York mais en local avec la chaire de Jeffrey Morris; à Lyon (Choongyeop, Christophe, Cécile, ...) ; en Italie au CSGI-Florence qui m'a accueilli un an en 2015 (Debora, Costanza, Chiara, Lucrezia, Massimo, ...).

Merci bien sûr à toutes les autres étincelles qui nous mettent dans de bonnes conditions professionnelles pour ce beau métier ; famille, amis, musique et vie privée compris... à ton tour Barbara !



# PREAMBULE

---

Après une formation académique en physique complétée par l'agrégation de physique en 2001 et un DEA en physique des liquides en 2002, j'ai commencé mes activités de recherche par une thèse expérimentale soutenue en 2005, au laboratoire Microfluidique, MEMS et Nanostructures de l'ESPCI à Paris, sous la direction de Patrick Tabeling, sur une question fondamentale de l'hydrodynamique : celle de la vitesse de glissement d'un liquide simple à une paroi solide. J'ai mis en place un système de vélocimétrie dont la résolution de l'ordre de cent nanomètres a permis d'infirmer l'existence de glissements géants qui faisaient débat : ils sont sensibles seulement à l'échelle nanométrique pour des solides classiques<sup>1</sup>. Ce sujet que j'avais choisi pour son intérêt conceptuel en dynamique des fluides s'est aussi révélé une formidable porte d'entrée vers un domaine applicatif en plein boom dans les années 2000 : la microfluidique, et les laboratoires sur puce qui allaient révolutionner l'analyse chimique et le diagnostic médical<sup>2</sup>. La métrologie que j'avais développée nous a par exemple permis de réaliser la rhéologie d'un fluide complexe sur puce<sup>3</sup>.

J'ai ensuite poursuivi par un post-doctorat de deux ans au LPMCN (actuel Institut Lumière Matière, ILM) à Lyon dans l'équipe d'Elisabeth Charlaix et Lydéric Bocquet. Le projet visait à amplifier le glissement grâce à un effet de super-hydrophobie amené par la structuration du substrat. Les effets obtenus, cette fois-ci sensibles à l'échelle du micron<sup>4,5</sup>, reposaient sur la stabilité d'interfaces liquide/air piégés à l'interface avec le solide.

Avec ce bagage en fluidique à petite échelle, en présence de ménisques et d'interfaces, c'est tout naturellement que j'ai construit avec Anne-Marie Gué un projet de recherche visant à développer des systèmes microfluidiques à bulles et gouttes, et ai intégré à l'automne 2007 le Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes du CNRS (LAAS-CNRS). J'y ai en particulier beaucoup appris sur les micro et nanotechnologies capables d'usiner, transformer, graver et caractériser des puces fluidiques. Nous avons, en collaboration avec Aurélien Bancaud et soutenu par le service d'ingénieurs TEAM, œuvré à exploiter ces technologies pour la micro et nanofluidique<sup>6-8</sup>, grâce au formidable potentiel de la plateforme technologique du laboratoire : la nouvelle salle blanche de 1500 m<sup>2</sup>, l'un des piliers du réseau national [RenaTech](#), venait d'être inaugurée à mon arrivée.

Mon projet sur les écoulements diphasiques a en particulier été décliné selon deux volets : l'optofluidique avec l'exploration du potentiel des interfaces fluide-gaz pour l'optique (fort contraste d'indice, reconfigurabilité), programme mené avec l'équipe Photonique du LAAS<sup>9</sup>, et la fabrication de bulles calibrées pour la métrologie acoustique, en collaboration avec S Mensah (LMA, Marseille)<sup>10,11</sup>. Parmi les directions identifiées, la question de la réduction des échelles, vers la nanofluidique, m'a rapidement paru riche de challenges scientifiques. En particulier, j'ai commencé avec Marc Prat (IMFT) à exploiter l'idée d'utiliser les systèmes microfluidiques pour reproduire certaines propriétés d'un milieu nanoporeux, avec des caractéristiques simplifiées, afin de décortiquer les processus en jeu. C'est l'approche « système modèle » que j'ai ensuite suivie pour une bonne partie de mes projets.

J'ai construit ce manuscrit d'habilitation à partir de cette étape de ma carrière. Le schéma de la Figure 1 donne un aperçu de mon parcours, et explicite le déroulé de ce document.



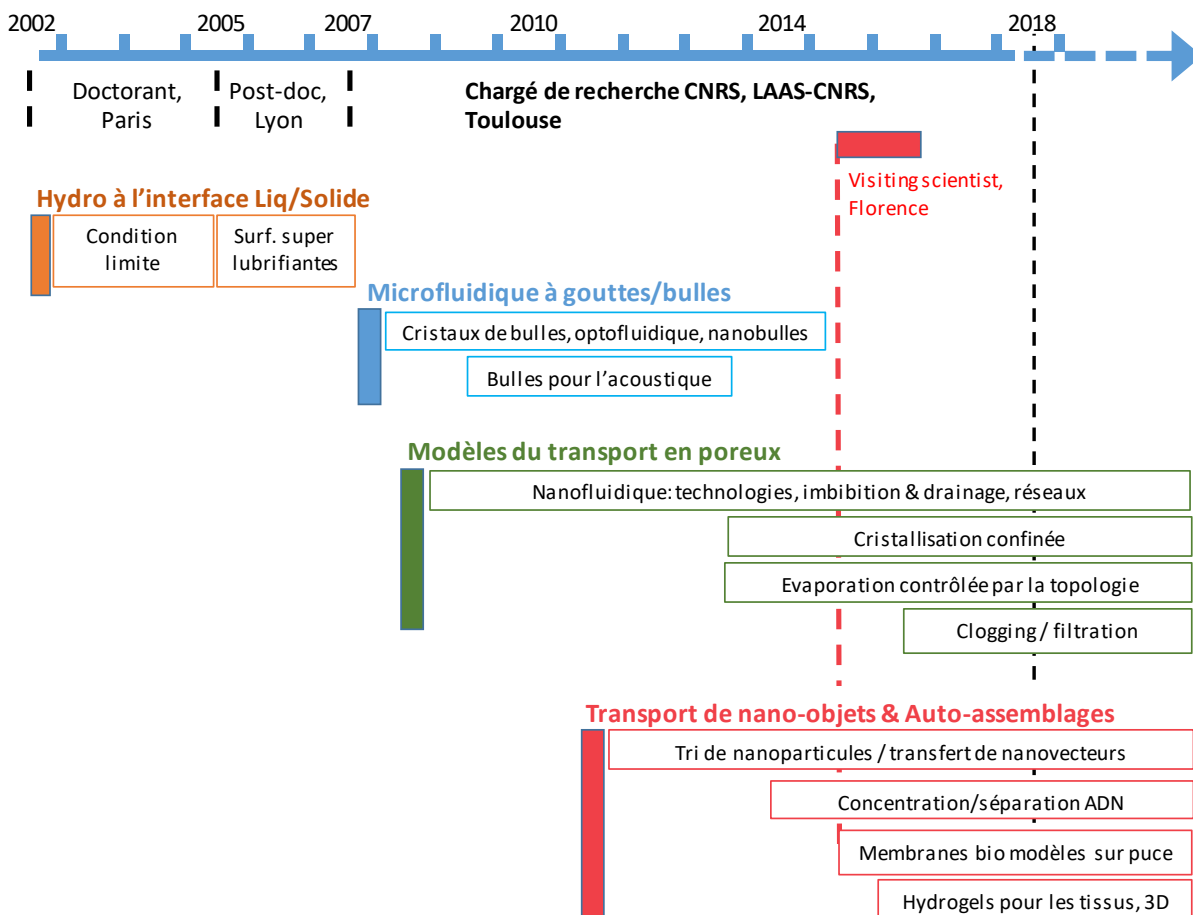


Figure 1- Parcours de recherche

**Le chapitre I de ce manuscrit présente des modèles microfluidiques du transport en poreux.** Une bonne part se concentre sur la nanofluidique (section I.1 : technologies 2,5D<sup>12,13</sup>, écoulements simples<sup>10,14</sup>, drainage<sup>15</sup>, osmose<sup>16</sup>); mais j'ai aussi abordé les situations de cristallisation<sup>17,18</sup> (section I.2), d'évaporation<sup>19</sup> (section I.3), et plus récemment le colmatage de membranes de filtration<sup>20</sup> (section I.4).

**Le deuxième volet de mes activités (chapitre II) porte sur le transport de nano-objets.** Un premier aspect, comparable au chapitre I puisqu'il met en œuvre des systèmes modèles, mais ici biomimétiques, s'attache au transfert de nano-objets<sup>21</sup> dans un contexte de vectorisation de médicaments (section II.1). Les volets II.2 et II.3 sont plutôt dans l'esprit des laboratoires sur puce : il s'agit de développer des puces capables de trier des nanoparticules<sup>22</sup>, ou de concentrer de l'ADN<sup>23</sup>, avec une visée de diagnostic médical.

**Mes projets de recherche sont présentés au chapitre III.** Je poursuivrai mes travaux sur la thématique des **microsystèmes modèles de poreux (section III.1)**, en améliorant le réalisme de la géométrie, et en introduisant un couplage fluide-structure. Les deux dernières parties du manuscrit décrivent une **évolution de mes activités vers la biologie et la santé**, en bonne partie suite à une année sabbatique que j'ai effectuée en 2016 à dans un laboratoire de physico-chimie pour travailler sur des membranes biomimétiques. La section III.2 présente mes perspectives pour de tels **modèles de membranes biologiques** : un aperçu de l'état de l'art sur le potentiel des microsystèmes dans ce domaine, puis **trois axes de recherche pour les fabriquer, sonder leurs interactions avec des nanoparticules, les placer sous microenvironnement contrôlé**<sup>24-26</sup>. Enfin, le dernier volet du manuscrit (section III.3) porte sur l'utilisation des technologies fluidiques pour la **mise en forme d'hydrogels, support de cultures 3D de cellules**<sup>27</sup>.

# I MODELES MICROFLUIDIQUES DU TRANSPORT DANS LES MILIEUX POREUX

---

Une part importante de mes travaux porte sur les phénomènes physiques en jeu dans les écoulements de fluides en situation confinée : la microfluidique permet de fabriquer des réseaux de canaux de dimension, connectivité, morphologie, propriétés de surface contrôlées. Les systèmes « à façon » que l'on peut ainsi obtenir sont bien adaptés pour étudier le mouvement de liquides à petite échelle, et constituent en particulier des **systèmes microfluidiques modèles de milieux poreux**.

Concrètement, je travaille depuis plusieurs années en collaboration étroite avec Marc Prat et Paul Duru (Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse, IMFT), spécialistes des transferts en milieux poreux, et avec Sandrine Geoffroy (Laboratoire Matériaux et Durabilité des Constructions, LMDC). Nous nous sommes intéressés en premier lieu aux **effets spécifiques à la nano-échelle (section I.1)** : technologie de fabrication de nanocanaux (§ I.1.2) et écoulements, en visant des configurations pertinentes pour les écoulements en poreux comme imbibition et drainage (§ I.1.3, thèse d'Antoine Naillon).

Je mentionne aussi brièvement dans cette section (§ I.1.4) une partie de mes travaux sur les systèmes diphasiques liquide/gaz (bulles), que j'ai menés avec Anne-Marie Gué lors de mon arrivée au LAAS (2007-2013), car un objectif que j'ai poursuivi alors était l'obtention de bulles sub-micrométriques, avec des technologies et des comportements fluidiques comparables aux études sur poreux modèles (post-doctorats de Fabien Chauvet, Sébastien Méance, thèse d'Alaa Allouch).

Dans le même esprit, en collaboration avec Christophe Ybert, Lydéric Bocquet (maintenant à l'ENS Paris / IPGG), et Cécile Cottin Bizonne, de l'Institut Lumière Matière (où j'ai effectué mon post-doc en 2005-2007), nous avons démontré un phénomène de transport par gradient de sel dans des nanofentes<sup>16</sup> : il ne s'agit pas de mimer un poreux mais de mettre en évidence de nouveaux modes de transport fluide à très petite échelle (§ I.1.5). Ma contribution à ce projet a principalement porté sur la fabrication des puces (séjours au LAAS de Choongyeop Lee, post-doctorant).

Nous avons (toujours avec l'IMFT et le LMDC) approfondi l'étude de deux autres situations typiques des milieux poreux, en exploitant l'approche « micromodèles » : cinétique et pression de **crystallisation en situation confinée** (2<sup>ème</sup> partie de la thèse d'Antoine Naillon, § I.2) ; et **contrôle de l'évaporation par la topologie** (thèse de Chen Chen, § I.3).

Plus récemment, dans le cadre de la chaire d'attractivité de Jeffrey Morris (Pr au CCNY, New York) à l'Université de Toulouse, nous abordons les **mécanismes de colmatage de membranes de filtration** (§ I.4, post-doctorat d'Olivier Liot, avec Paul Duru, IMFT, et Patrice Bacchin, Laboratoire de Génie Chimique, LGC).

## I.1 NANOFUIDIQUE : SPECIFICITES DE LA NANO-ECHELLE

Ma thèse et mon post-doctorat portaient sur l'hydrodynamique à l'interface liquide-solide, et mon projet proposé pour intégrer le CNRS au LAAS en 2007 proposait de développer des dispositifs diphasiques. C'est donc tout naturellement que j'ai mené depuis mon arrivée au LAAS des recherches sur les écoulements à très petite échelle en présence de ménisques et d'interfaces.

### I.1.1 Eléments de Contexte : des micromodèles aux nanomodèles ?

Les milieux nano-poreux, définis ici comme des matériaux dont la taille typique des pores est inférieure à 100 nm, sont fréquents, tant dans la nature (l'argilite dans le sous-sol) que dans l'industrie (matériaux de la construction). A ces dimensions, le transport de fluides, et en particulier diphasique (présence de deux phases fluides), peut différer de l'échelle micrométrique :

- Les phénomènes liés au mouillage seront en effet sensibles à la pression de disjonction, manifestation de la capillarité lorsque les interactions moléculaires fluides/solide n'ont pas convergé vers leur expression en terme de tension de surface, du fait de la petite taille du système. La portée des interactions (électrostatiques ou de Van Der Waals) étant typiquement de quelques dizaines de nanomètres, cela donne une idée de la taille de transition entre un régime « macro » usuel et un comportement particulier de nano-systèmes. On peut aussi s'attendre à ce que la ligne de contact, dont l'hystérésis et l'accrochage proviennent des très petites échelles (quelques nanomètres), soit source de singularités nano.

- Plus généralement, le saut de pression à une interface de courbure  $C$  est décrit par la pression de Laplace  $\Delta P = \gamma C$ , où  $\gamma$  est la tension interfaciale, énergie par unité de surface de l'interface fluide/fluide.  $\gamma$  vaut typiquement 50 mN/m pour une solution aqueuse, et 20 mN/m pour un système eau/huile en présence de tensioactifs. Pour des fluides présents dans des pores ou canaux de taille typique  $R$ , et pour un angle de contact  $\theta$  qui traduit l'affinité relative des fluides avec le solide, la pression de Laplace s'écrit  $\Delta P = \frac{2\gamma \cos\theta}{R}$ , et sera donc de l'ordre du bar pour un système micrométrique et de plusieurs dizaines de bars pour des puces en deçà de 100 nm. Cela pourra amener à une mise en tension (pression fortement négative) du liquide, à de la cavitation, ou encore favorisera la dissolution rapide du gaz du fait de sa compression.

- Il n'est pas évident a priori de prédire l'évolution de la compétition entre effets visqueux et capillaires à la miniaturisation, puisque tous deux suivent la même loi d'échelle en  $1/R$  : leur rapport, caractérisé par le nombre capillaire  $Ca = \frac{\mu V}{\gamma}$ , où  $\mu$  est la viscosité dynamique du liquide et  $V$  la vitesse typique de l'écoulement, semble indépendant de la taille typique  $R$ , mais la vitesse est souvent décroissante avec  $R$ .

On conçoit donc la richesse de ces situations, et l'intérêt de caractériser de tels nano-écoulements. Du point de vue technologique, les récents progrès en nanofabrication issus de la nanoélectronique permettent de fabriquer des systèmes dont la profondeur peut descendre jusqu'à quelques nanomètres<sup>7,28</sup>. J. Eijkel et A Van Den Berg, ténors et leaders d'opinion de la communauté microfluidique, questionnaient déjà en 2005 le potentiel impact de ces dispositifs avec un article de perspective intitulé « Nanofluidics: what is it and what can we expect from it ? »<sup>29</sup>. Un peu plus de dix ans après, on constate que ces puces sont bien souvent utilisées pour réaliser une fonction fluide de laboratoire sur puce, comme la concentration et séparation de biomolécules<sup>30</sup>, voire l'analyse de biomolécules (allant jusqu'à la lecture de séquences d'ADN) par leur signature à la traversée de nanopores<sup>31,32</sup>. Plus récemment, le nanocanal est l'élément de base de systèmes de conversion d'énergie ou de désalinisation<sup>33</sup> ; là aussi

l'objectif poursuivi est celui d'exploiter les propriétés des nanocanaux. L'approche que j'ai suivie vise plutôt à fabriquer des **systèmes nanofluidiques pour modéliser un milieu nano-poreux**, en étudiant les mécanismes de transport à l'échelle d'un pore unique, et pour des réseaux simples connectant quelques pores de façon contrôlée.

Cette approche de **micromodèles** a déjà été utilisée à plus grand échelle (pores de dimension typique 100  $\mu\text{m}$ ), en particulier à Toulouse avec les travaux précurseurs de Lenormand à l'IMFT dès les années 80<sup>34</sup>, puis a diffusé auprès de quelques groupes dans les années 90 (voir la revue de ces études pionnières par Olbricht<sup>35</sup>). Elle est maintenant revendiquée par une partie de la communauté microfluidique, qui a baptisé « rock on a chip » ou « reservoir on a chip » les puces exploitant l'idée<sup>36</sup>. Le terme, qui semble tout droit dérivé du fameux « lab on chip », est plutôt dans la même veine que celui d'« organ on chip », lui-même en plein boom. Les organes sur puce visent, dans le domaine de la biologie et la santé, à placer des cellules dans des microenvironnements plus proches de l'*in vivo* que celui des boîtes de pétri. Les laboratoires sur puce font une mesure, une analyse chimique ou biochimique, alors que les roches sur puces et organes sur puces sont un outil de compréhension d'une situation réelle, complexe, grâce à la simplification et au contrôle des ingrédients au sein d'un (micro)dispositif où chaque élément est sciemment ajouté.

Un atout clair de ce type de modèles est qu'ils permettent une visualisation directe des deux phases tout en connaissant précisément la géométrie étudiée. Lenormand a par exemple établi grâce à des dispositifs modèles un diagramme pour le drainage. C'est une situation aux enjeux industriels énormes et étudiée depuis longtemps par les compagnies pétrolières et les laboratoires d'hydrologie, puisqu'elle correspond à la récupération du pétrole dans les puits, mais peut aussi s'appliquer à la séquestration du  $\text{CO}_2$  ou à l'hydrologie des réservoirs aquifères. Le diagramme de Lenormand explicite les motifs d'invasion d'un milieu 2D, initialement saturé avec un fluide mouillant (1), par un fluide non-mouillant (2), en fonction de deux paramètres : le rapport  $M = \mu_2/\mu_1$  des viscosités, et le nombre capillaire qui compare les contraintes visqueuses aux contraintes capillaires  $Ca = \mu_2 \frac{V}{\gamma \cos \theta}$ , avec  $\gamma$  la tension interfaciale,  $\theta$  l'angle de contact,  $V$  la vitesse typique d'injection (débit d'injection / section d'entrée). Lorsque les forces capillaires sont négligeables devant les effets visqueux ( $Ca$  élevé), le front est stable pour un fluide déplacé (1) peu visqueux ( $M$  élevé) alors que l'on a une instabilité de digitation visqueuse pour un rapport  $M$  faible (le fluide injecté (2) peu visqueux digite au sein du milieu). En revanche, à nombre capillaire faible, la capillarité pilote le comportement à chaque embranchement du milieu : les pores les plus larges sont les premiers à être envahis par le fluide (2) qui est non mouillant. C'est le régime de digitations capillaires, qui correspond à un phénomène de percolation d'invasion. L'origine en est la pression de Laplace : rappelons que le saut de pression  $\Delta P$  à une interface pour un pore de taille typique  $R$  vaut :  $\Delta P = 2\gamma \cos \theta / R$ . Pour un fluide injecté (2) non mouillant, c'est le pore le plus large qui nécessite la plus faible surpression pour être envahi.

## I - Modèles microfluidiques du transport dans les milieux poreux

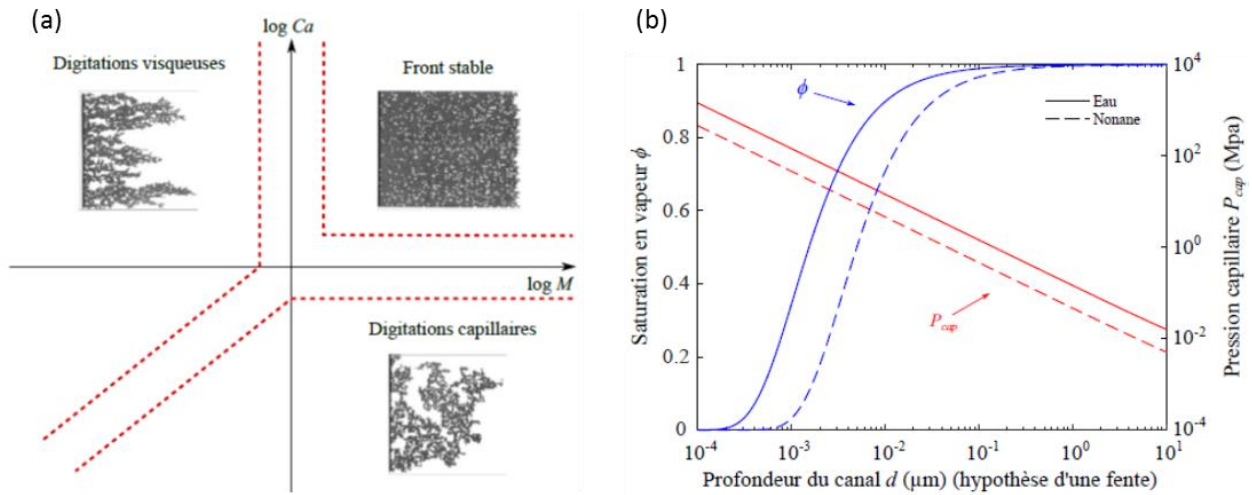


Figure 2- (a) Diagramme de Lenormand décrivant les motifs de drainage d'un milieu poreux (fluide mouillant (1) remplacé par un fluide non-mouillant (2)), en fonction du nombre capillaire  $Ca$  et du rapport des viscosités  $M = \mu_2/\mu_1$ . (b) Conséquences de l'équation de Kelvin : pour une espèce mouillante, la pression de vapeur d'un gaz, représentée ici sous la forme de la saturation en vapeur  $\phi$ , diminue avec le confinement. Figures extraites du manuscrit de thèse d'Antoine Naillon.

Récemment, la communauté microfluidique des « roches sur puce », s'appuyant sur les progrès des capacités de fabrication, des outils de visualisation et de contrôle de très faibles débits, a proposé des généralisations de ce diagramme. Le diagramme de Lenormand s'avère tout à fait valable dans des gammes de tailles 1-100  $\mu\text{m}$ <sup>37,38</sup>. Cottin *et al.* ont développé un modèle de percolation d'invasion prenant en compte la dissipation visqueuse, et ont exploré le rôle de la distribution en taille des pores<sup>39</sup>. L'influence du mouillage est aussi un paramètre que les microsystèmes permettent de sonder<sup>40</sup>. Des situations plus complexes comme le cas d'un mouillage hétérogène, plus réalistes qu'un matériau complètement homogène, commencent tout juste à être explorées<sup>41,42</sup>.

Comme je le mentionnais au début de cette section, nous avons choisi de creuser le cas de **milieux « nano-poreux »**, c'est-à-dire dont l'une au moins des tailles caractéristiques est largement sub-micrométrique, configuration assez vierge malgré sa pertinence dans certains milieux naturels comme l'argilite. Des études expérimentales récentes sur de simples fentes nanométriques indiquent des différences avec des canaux micrométriques : l'imbibition spontanée est plus lente que le prévoit la loi de Washburn classique<sup>43</sup>, voir la section I.1.3 et les références<sup>10,44</sup>. L'évaporation peut être plus rapide que dans des canaux micrométriques en raison de la formation et du piégeage de bulles<sup>45</sup> ; et le couplage avec la déformabilité des murs est important du fait de fortes contraintes (effets d'élastocapillarité<sup>46,47</sup>, couplages poro-mécaniques lors de la cavitation<sup>48</sup>).

Pour les phénomènes impliquant un équilibre liquide-vapeur, comme l'évaporation, un effet important à petite échelle est la réduction de la pression de vapeur d'une espèce avec le confinement. La loi de Kelvin associée correspond à l'équilibre des potentiels chimiques de la phase liquide (mise sous pression fortement négative du fait de la loi de Laplace, dans le cas mouillant) et de la phase vapeur. La saturation en vapeur  $\Phi$  qui quantifie cette réduction vis-à-vis de la pression de vapeur saturante  $P_{v,sat}$  s'écrit pour un fluide placé dans une fente d'épaisseur  $d$  :

$$\frac{P_v}{P_{v,sat}} = \Phi = \exp\left(\frac{2\gamma\cos\theta M_v}{d\rho_l RT}\right),$$

Où  $\gamma$  est la tension interfaciale,  $\theta$  l'angle de contact,  $\rho_l$  la masse molaire du liquide,  $M_v$  la masse volumique de la vapeur,  $R$  la constante des gaz parfaits et  $T$  la température.

Qualitativement, cette équation explique la condensation capillaire : de l'eau peut condenser dans des nanopores hydrophiles même si la vapeur n'est pas saturée. Cependant, comme illustré sur la Figure 2(b) (courbes bleues), un écart significatif au comportement macroscopique n'est observé que pour des dimensions largement inférieures à 100 nm. Ainsi, pour de l'eau dans une fente de 20 nm en mouillage total, le taux de saturation vaut encore 0.95. Un confinement extrême, dans la gamme 1-20 nm, est donc de ce point de vue (effet Kelvin) nécessaire pour obtenir des spécificités vis-à-vis de systèmes macroscopiques.

Par ailleurs, il a été démontré, notamment par les groupes de L Bocquet et E Charlaix (tous deux précédemment au LPMCN, à Lyon, où j'ai fait mon post-doctorat), que les liquides se comportent comme un milieu continu et sont très bien décrits par l'hydrodynamique jusqu'à des tailles étonnamment petite, de l'ordre de quelques nanomètres<sup>49</sup>. Seuls des effets de condition aux limites (sujet de ma thèse de doctorat<sup>1</sup>) peuvent intervenir, et les longueurs de glissement associées restent elles aussi dans des gammes nanométriques<sup>50</sup> la plupart du temps, voire sub-nanométriques pour des surfaces hydrophiles qui sont quasiment les seules à pouvoir être utilisées en nanofluidique sous peine de devoir injecter les fluides à plusieurs dizaines de bars.

Une telle « nanofluidique ultime », en deçà de 20 nm pour l'effet Kelvin, et au nanomètre pour la rupture d'une description continue, est donc riche. La communauté qui s'y intéresse est très active, et la France y tient un rôle de premier plan. J'ai ainsi participé en 2014 à un workshop [Nanofluidics in physics and biology](#) à Lausanne, renouvelé en juin 2018 à [Lyon](#).

Cependant, j'ai choisi de travailler **plutôt dans une gamme de tailles intermédiaires (typiquement 20 nm – 500 nm)**, entre les micromodèles habituels largement supérieurs au micron et des systèmes nanofluidiques de 1 nm à quelques nanomètres. Ce choix est motivé par deux raisons principales : même sans rupture des lois macroscopiques, les lois d'échelles sont susceptibles de modifier fortement des comportements (une suppression de Laplace de plusieurs dizaines de Bars favorisera la dissolution d'un gaz par exemple). Cela me semble d'autant plus vrai pour des écoulements en poreux : les dynamiques à l'échelle du milieu peuvent ainsi radicalement différer si au niveau d'un ou de quelques pores les compétitions entre phénomènes sont modifiées. Plus pragmatiquement, il y a un réel challenge expérimental associé à la nanofluidique ultime, à la fois en termes de fabrication et de visualisation.

Mes travaux en nanofluidique ont donc visé à étudier différentes situations d'écoulements dans des canaux de taille typique 100 nm. Une partie des efforts a porté sur le développement de puces de géométrie, dimensions, propriétés adaptées, que je détaille maintenant.

### I.1.2 Technologies pour la nanofluidique

J'ai travaillé sur des **développements technologiques pour la réalisation de nanocanaux**, bénéficiant de l'expertise LAAS en micro- et nanotechnologies. Le LAAS est plateforme nationale du réseau Renatech et sa salle blanche de 1500 m<sup>2</sup> permet de couvrir l'ensemble des étapes de fabrication : réalisation de masques, photolithographie et nanofabrication (masqueur électronique, nano-impression), dépôt et croissance de matériaux (implantation ionique, épitaxie par jets moléculaires, bâtis d'oxydation et de

dépôts en phase vapeur), gravure physique ou chimique, assemblage de puces, sans oublier la caractérisation (microscopie électronique à balayage SEM, microscope à force atomique AFM,...). Cette plateforme permet aux chercheurs d'autres laboratoires et même à des sociétés de faire réaliser leurs puces, grâce à l'implication d'ingénieurs et techniciens du laboratoire (service TEAM, Techniques et Equipements Appliqués aux Micro/nanotechnologies) pour ces projets dits exogènes. Pour les chercheurs du LAAS, ces moyens techniques et humains représentent évidemment un outil puissant, et bien souvent un élément différenciant lors du montage de projets.

### 1.1.2.1 Nanofentes simples

L'approche que nous suivons généralement est basée sur les techniques classiques de microélectronique appliquée à la fabrication de canaux dans le silicium : photolithographie et gravure plasma sur silicium, fermeture par soudure anodique avec une plaque de verre, voir la Figure 3.

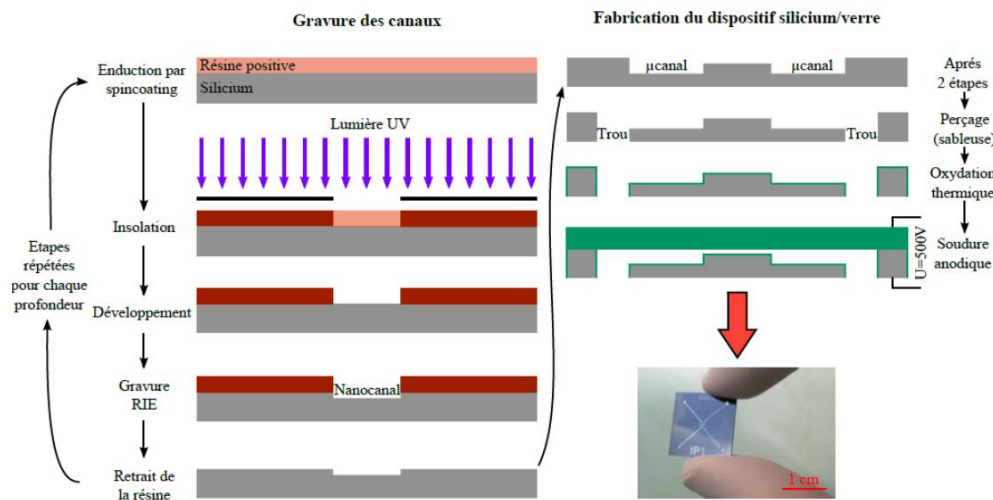


Figure 3- Procédé de fabrication de nanofentes verre-silicium (Illustration A Naillon.)

Les canaux réalisés ont une épaisseur de quelques dizaines de nanomètres seulement (Figure 4(a)), pour des largeurs qui restent micrométriques. Il s'agit donc de « **nanofentes** » plutôt que de nanocanaux à proprement parler. Des nanofentes de rugosité inférieure au nanomètre sur plusieurs microns carrés et morphologie contrôlée (homogénéité de profondeur meilleure que 5% sur l'ensemble de la plaque) sont obtenues en ajustant les paramètres de gravure plasma du silicium. Ces procédés, maintenant bien établis, ont été développés avec Pascal Dubreuil et Aurélie Lecestre, les ingénieurs de la zone gravure. Par exemple (paramètres pour la machine ICP Omega 201), la gravure se fait avec une pression de gaz assez faible ( $\text{CF}_4$  à 10 mtorr pour un débit de 20 sccm), une puissance de bobine 50W et une puissance d'accélération (bias) 25W à 13.56 MHz. Cette dernière, réduite par rapport aux valeurs habituelles, diminue la vitesse de gravure à environ 10 nm/min ce qui limite la rugosité et permet un contrôle de la profondeur obtenue à quelques nanomètres près.



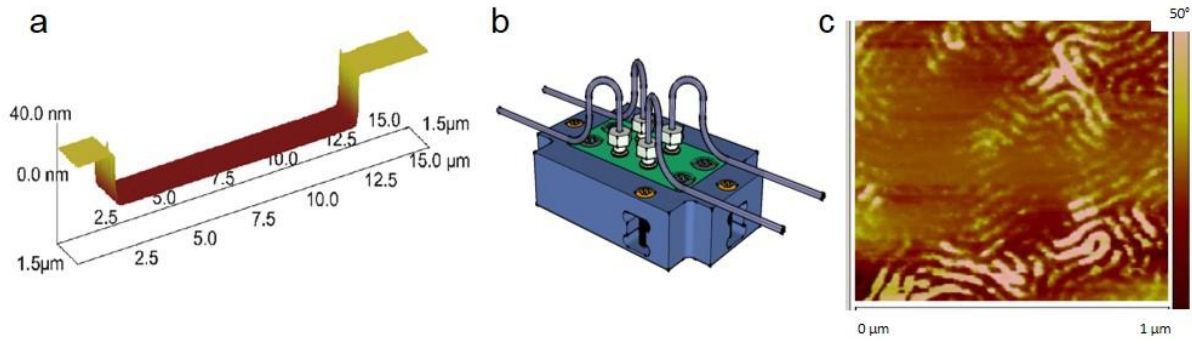


Figure 4 – Technologies et instrumentation nanofluidiques. (a) Image au microscope à force atomique (AFM) d'une nanofente gravée dans le silicium. (b) Conception d'un support expérimental de puce microfluidique capable de résister à des pressions de l'ordre de 100 Bar. (c) Image de phase en AFM de l'auto-organisation de copolymères blocs sur une surface.

Un effort particulier a également été porté ces dernières années sur l'**interface entre la puce microfluidique et le monde**, qui est souvent un point délicat des expériences : conception d'un support de puce et de l'amené des fluides pour résister à des pressions de l'ordre de 100 Bar (Figure 4(b)).

Mentionnons ici un développement que nous avons initié pour obtenir des réseaux denses de nanocanaux de largeur et hauteur de l'ordre de la vingtaine de nanomètres, et espacement inter-canaux du même ordre de grandeur. Ce type d'organisation, dont la Figure 4(c) donne un aperçu, ouvrirait la voie à l'intégration d'un grand nombre de canaux sur une surface réduite. C'est encore un challenge expérimental : la structuration « top-down », comme la lithographie e-beam est chère et longue. Des approches d'auto-organisation « bottom-up » émergent<sup>51</sup> : les copolymères blocs (des macromolécules composées de deux parties de chimies différentes) ont la tendance naturelle à s'auto-assembler en domaines comme des tubes ou des lamelles, avec une période typique de 50 nm. Nous avons travaillé à l'auto-assemblage de tels copolymères blocs sur une surface, dans la perspective d'intégrer ces nanostructures dans des dispositifs nanofluidiques fonctionnels (post-doc de M.-A. Mader). Nous avons confirmé l'importance de l'énergie de surface pour obtenir la bonne organisation spatiale des polymères : l'affinité de la surface avec chacun des deux blocs doit être comparable, sinon les domaines s'organisent parallèlement à celle-ci. Cette voie n'a pas été poursuivie, et nous étions assez loin d'obtenir des dispositifs fonctionnels. Le chaînon manquant était d'atteindre un ordre à longue portée pour connecter ces réseaux à des canaux classiques et les interfacer avec le monde extérieur. Je la mentionne toutefois comme premier exemple de mes activités liant la microfluidique avec les auto-assemblages et la physico-chimie de la matière molle, lien fortement présent dans la partie II de ce manuscrit.

Revenons à la méthode plus classique (top down) de fabrication de nanofentes. Un point délicat est leur caractérisation (profondeur et forme). Pour la métrologie de la profondeur moyenne des fentes, des mesures obtenues par microscopie à force atomique (AFM), par profilométrie mécanique (tous deux calibrés avec des marches de hauteur étalon), et par profilométrie optique (fonctionnant par interférométrie), s'accordent. L'erreur de mesure est de l'ordre du nanomètre, et l'homogénéité de quelques pourcents sur une plaque de 4 pouces de diamètre. La Figure 5 présente une caractérisation de la forme des sections, obtenue par microscopie électronique à balayage après découpe (mesure destructive). Les fentes sont légèrement plus fines près des bords, sur une largeur à peine inférieure au micron.



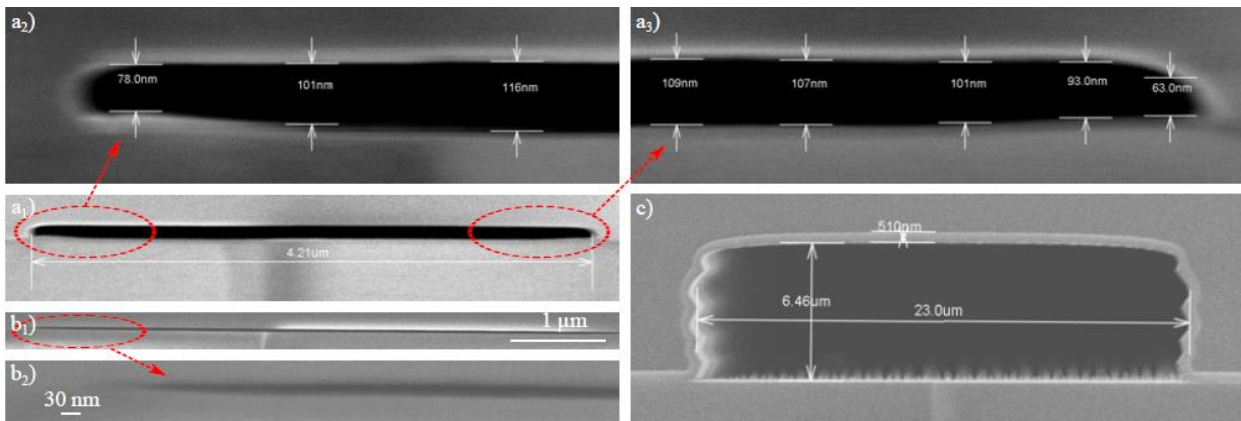


Figure 5- Observation MEB de la section de canaux silicium (en haut) – verre (en bas). Nanofentes de profondeur au centre 114 nm (a) et 27 nm (b), et microcanaux d'alimentation (c). (Illustration A Naillon).

Un challenge important est l'obtention de structures très fines : les largeurs micrométriques ont l'avantage de permettre une observation par microscopie optique et une fabrication assez simple, en revanche des canaux de hauteur trop faible s'effondrent lors de leur capotage, du fait de forces électrostatiques pendant le procédé de soudure anodique (application d'une tension de plusieurs centaines de Volts simultanément à un chauffage modéré). La limite pour une largeur micrométrique est d'une vingtaine de nanomètres, voire quelques nanomètres grâce à une couche épaisse d'oxyde de silicium diminuant ces forces<sup>28,52</sup>. Comme évoqué plus haut, nous n'avons pas pour l'instant exploré cette voie de « nanofluidique ultime », c'est-à-dire dans la gamme de taille 1-20 nm, d'une part car les questions ouvertes sur les écoulements en poreux sont déjà nombreuses pour des canaux de quelques dizaines de nanomètres. De plus, nos mesures reposent sur la visualisation du ménisque, et le contraste devient très faible en dessous de 20 nm. L'équipe de F Mugele à Twente a par exemple développé des puces intégrant un interféromètre de Fabry-Pérot sous la forme de miroirs semi-réfléchissants<sup>53</sup>, mais cette approche est loin d'être simple et universelle.

Nous avons préféré concentrer les efforts vers l'**obtention de géométries plus complexes**, capables de mimer de façon plus réaliste un milieu poreux, grâce à des profondeurs de canaux différentes obtenues en une seule étape.

### 1.1.2.2 Fabrication de nanofentes d'épaisseur non uniforme, en « 2,5D »

Une avancée importante développée par Antoine Naillon (thèse en codirection avec Marc Prat), est la réalisation de **canaux de profondeur non uniforme, grâce à l'écriture directe en niveaux de gris, par lithographie laser** (équipement Dilase 750 acheté en co-développement avec la société Kloé, dans le cadre du projet Equipex LEAF). Ce travail a été publié en 2017 dans la revue *Microfluidics and Nanofluidics*<sup>15</sup>.

Les techniques de nanofabrication standard sont intrinsèquement en deux dimensions (2D) car les procédés reposent sur le dépôt de couches minces (résine ou matériaux structuraux comme les métaux) suivis de leur structuration et / ou de leur gravure<sup>54</sup>. Des canaux de quelques nanomètres peuvent maintenant être fabriqués par de nombreuses méthodes<sup>28</sup>, mais la plupart d'entre eux sont en 2D. Cependant, le relief 3D ouvre la voie à des topologies plus représentatives d'un vrai milieu poreux. Plus généralement, en terme d'application micro et nanofluidique, la 3D permet des fonctionnalités non accessibles en 2D comme la manipulation entropique de l'ADN<sup>55</sup> ou le tri et la caractérisation des nanoparticules<sup>56</sup>.

Dans cette perspective, des efforts ont été faits récemment pour obtenir des nanocanaux en 3D.

La première classe de techniques de nanofabrication 3D est basée sur l'écriture directe point par point de chaque point 3D (voxels) par un faisceau de focalisation très étroit ; le volume de chaque voxel écrit étant dans la gamme  $\text{sub-}\mu\text{m}^3$ . L'absence de masque physique rend cette approche rapidement reconfigurable et donc bonne pour le prototypage. Par exemple, le laser femtoseconde est souvent utilisé en raison de sa capacité à atteindre une densité énergétique élevée avec un chauffage limité<sup>57</sup>. Il permet de fabriquer directement des canaux submicrométriques par claquage optique<sup>58</sup>, des nanocanaux de 50 nm enterrés dans le verre grâce à une interaction faisceau-substrat non linéaire<sup>59</sup>. Les lasers femtosecondes sont également impliqués dans la polymérisation à deux photons<sup>57</sup> pour fabriquer des objets dans la gamme de 10 à 100 nm<sup>60,61</sup>. Une autre technique d'écriture directe est basée sur l'utilisation d'un faisceau d'électrons ou d'ions. Le même type de nanocanaux enfouis que dans la référence<sup>59</sup> a été réalisé par Azimi et al. en combinant l'irradiation par faisceau d'ions, l'anodisation électrochimique et l'oxydation à haute température<sup>62</sup>.

Le deuxième groupe de méthodes d'écriture directe est basé sur la **lithographie en niveaux de gris, compromis entre la fabrication entièrement 3D et 2D et donc souvent noté 2.5D. Son principe est de moduler spatialement la dose d'exposition appliquée à la résine** (Figure 6.a), ce qui permet de construire des structures non uniformes en une seule étape. Erdmanis et al. et Kim et al. ont démontré la structuration en niveaux de gris avec la lithographie par faisceau d'électrons<sup>63,64</sup>.

Les approches précédentes impliquent cependant l'écriture point par point de nano-voxels ou de nano-pixels longue et coûteuse à l'échelle d'une plaquette. Pour éviter cet écueil, deux variantes de méthodes 2.5D ont été proposées : les masques à niveau de gris et le Digital-Micro-mirror Device DMD®<sup>65-67</sup>. Dans la première, la fabrication 2.5D est réalisée en utilisant un masque physique dont la transparence n'est pas uniforme. La variation de la densité optique vient d'un ensemble de petits éléments diffractifs<sup>68</sup> ou d'une variation continue de transparence<sup>69</sup>. Cette méthode a l'avantage d'être compatible avec la lithographie simple. Cependant, elle nécessite un masque par design (coût du masque et temps de fabrication). De plus, elle n'a été mise en œuvre que pour les grandes structures. Dans le seul exemple de cette méthode pour la nanofluidique, Stavis et al. ont fabriqué des canaux par masque gris avec une profondeur de l'ordre de quelques centaines de nanomètres<sup>68</sup> mais avec une résolution latérale démontrée ne dépassant pas environ 100  $\mu\text{m}$ . Dans la technique DMD, une lumière UV est réfléchi sur un réseau de miroirs qui peuvent simultanément insoler différents pixels sur le substrat. Cependant, la taille des pixels est d'environ 10  $\mu\text{m}$ <sup>65</sup> et, à notre connaissance, elle n'a pas été mise en œuvre pour des applications nanofluidiques.

Des canaux de profondeur nanométrique mais de quelques micromètres de largeur peuvent être pertinents pour une étude nanofluidique si le mécanisme impliqué est contrôlé par la plus petite taille. En effet, la largeur micrométrique permet d'utiliser un microscope optique standard pour l'observation. Dans notre cas, les effets capillaires sont contrôlés par la plus petite taille qui impose la courbure du ménisque. Aucune des approches présentées ci-dessus n'est parfaitement adaptée pour réaliser des nanocanaux de profondeur non uniforme avec une taille latérale micrométrique en une seule étape. Pour ce faire, nous développons un procédé basé sur la lithographie par écriture directe en niveaux de gris qui répond à tous ces critères. Cette technique sans masque est idéale pour le prototypage d'expériences nanofluidiques et s'intègre facilement dans un procédé standard. Dans le contexte de la micro-optique, l'approche a été utilisée il y a 20 ans dans les travaux de Gale et al. pour fabriquer des éléments planaires micro-optiques dans une résine positive<sup>70</sup> (Gale et al., 1994). Étonnamment, à notre connaissance, elle n'avait pas encore

été adaptée à la nanofluidique. Nous l'optimisons pour intégrer des nanocanaux avec des profondeurs de 20 nm à 500 nm obtenues en une seule étape, avec une bonne résolution latérale (environ 2  $\mu\text{m}$ ) et un temps d'écriture réduit (quelques minutes pour obtenir un réseau complet, moins de 3 heures pour une plaquette complète de quatre pouces).

En modulant spatialement la dose reçue, et en adaptant le procédé de gravure (vitesses d'attaque de la résine et du silicium comparables), on peut ainsi obtenir (Figure 6c) une complexité topologique intermédiaire (dite 2,5D) entre les canaux simples accessibles par les méthodes standard (2D) et un milieu poreux réel (3D).

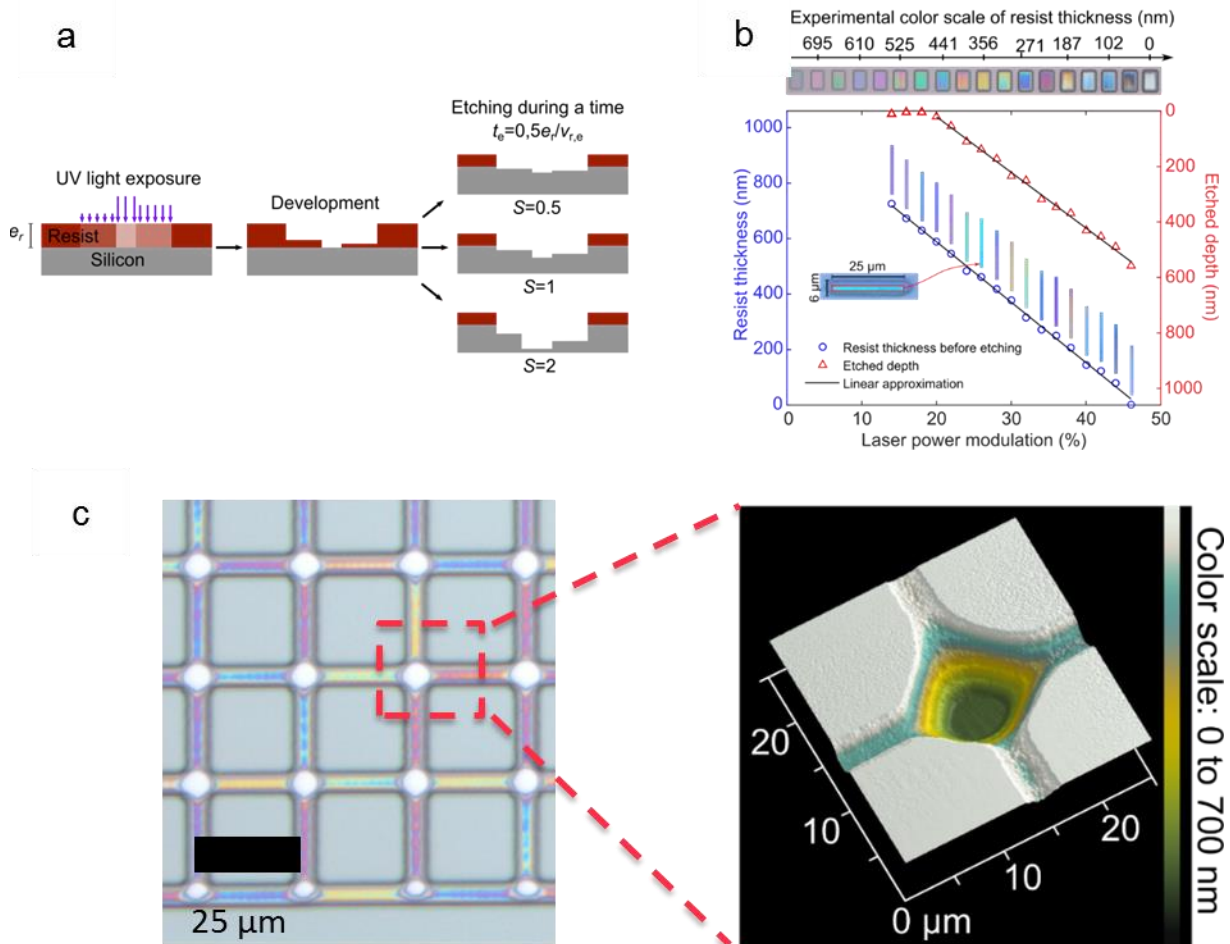


Figure 6 Fabrication 2,5D de nanofentes de profondeur non uniforme. (a) Principe. (b) Epaisseur résiduelle de résine et profondeur gravée en fonction de la dose de lumière. (c) Réseaux aléatoires de canaux : image en réflexion avant retrait de la résine (gauche) et image AFM de la géométrie d'une intersection connectant quatre canaux de profondeurs différentes.

Ces différents développements permettant d'obtenir des nanocanaux de différentes géométries, passons maintenant en revue les résultats principaux obtenus sur les écoulements dans ce type de structures.

### I.1.3 Imbibition et drainage de nanocanaux

La première configuration étudiée en détail est celle d'écoulements très simples dans des structures également minimalistes : la vitesse d'imbibition spontanée, situation universelle dans le domaine des

milieux poreux, est encore controversée pour des canaux nanométriques.<sup>53,71,72</sup> En réalisant des mesures de la cinétique d'invasion de nanocanaux, par microscopie optique en réflexion (Figure 7), nous avons démontré que ce processus suit qualitativement la prédiction macroscopique (loi de Washburn : progression du ménisque proportionnel à la racine carrée du temps) pour des profondeurs descendant jusqu'à vingt nanomètres. L'accord est quantitatif pour les systèmes les plus épais (100 nm), un ralentissement de 25% est mesuré pour les plus fins (20 nm), ce qui clarifie les mesures de la littérature, assez dispersées.<sup>10</sup>

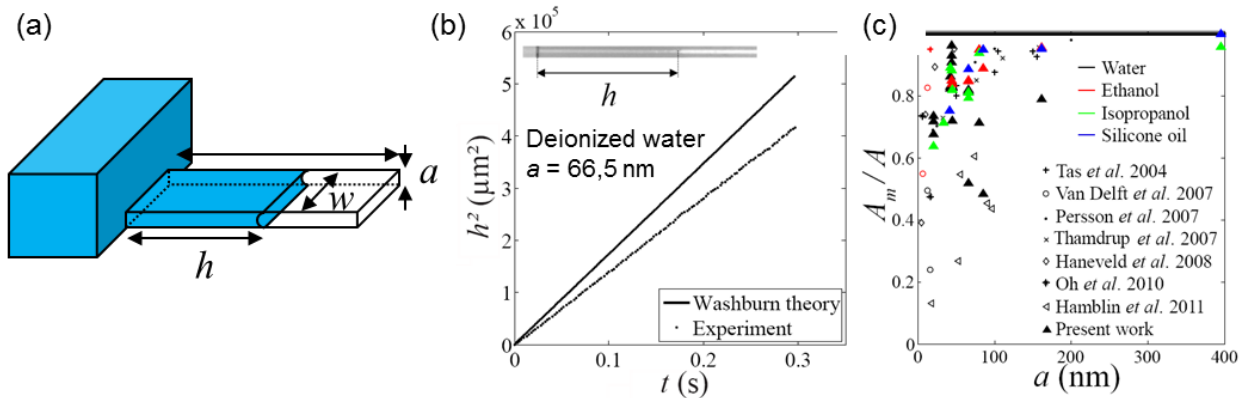


Figure 7 – Cinétique d'imbibition de nanofentes. (a) Schéma de la configuration utilisée : puces en verre-silicium, profondeur  $a$  de 20 nm à quelques centaines de nanomètres pour une largeur micrométrique. (b) Courbe typique de progression du ménisque : carré de la hauteur  $h$  parcourue en fonction du temps durant l'imbibition (eau desionisée dans un canal de 66,5 nm de profondeur). Points : Mesures expérimentales. Ligne : prédiction de l'hydrodynamique macroscopique. Insert : Image au microscope optique montrant la progression du ménisque. (c) Rapports des vitesses mesurées aux prédictions théoriques : bilan regroupant nos mesures (triangles pleins) et les données de la littérature (autres symboles) pour différents liquides en fonction de la profondeur des canaux.

Nous avons également approfondi la dynamique des bulles piégées lors du remplissage, en mettant en particulier en évidence l'existence d'un seuil en profondeur, dépendant du liquide, pour lequel des bulles apparaissent lors du remplissage de nanocanaux (Figure 8a).

Un modèle de type 'milieu effectif' nous a permis de montrer que ces bulles jouent un rôle mineur dans la dynamique, résultat assez contre-intuitif<sup>10</sup>. Nous avons également calculé la pression du gaz présent dans le canal et déplacé par le liquide, et nous avons démontré une pressurisation substantielle du gaz (2 Bar pour des canaux de 20 nm de profondeur). Cette valeur reste cependant faible devant le saut de pression capillaire qui est le moteur de l'imbibition. En effet celui-ci vaut  $2\gamma\cos\theta/a$ , où  $\gamma$ ,  $\theta$  et  $a$  sont respectivement la tension superficielle, l'angle de contact et la profondeur du canal, soit par exemple 70 Bar pour de l'eau dans un canal de 20 nm pour un mouillage total.

L'origine du ralentissement par rapport aux prédictions macroscopiques, observé dans la plupart des résultats publiés, reste donc encore à éclaircir.

## I - Modèles microfluidiques du transport dans les milieux poreux

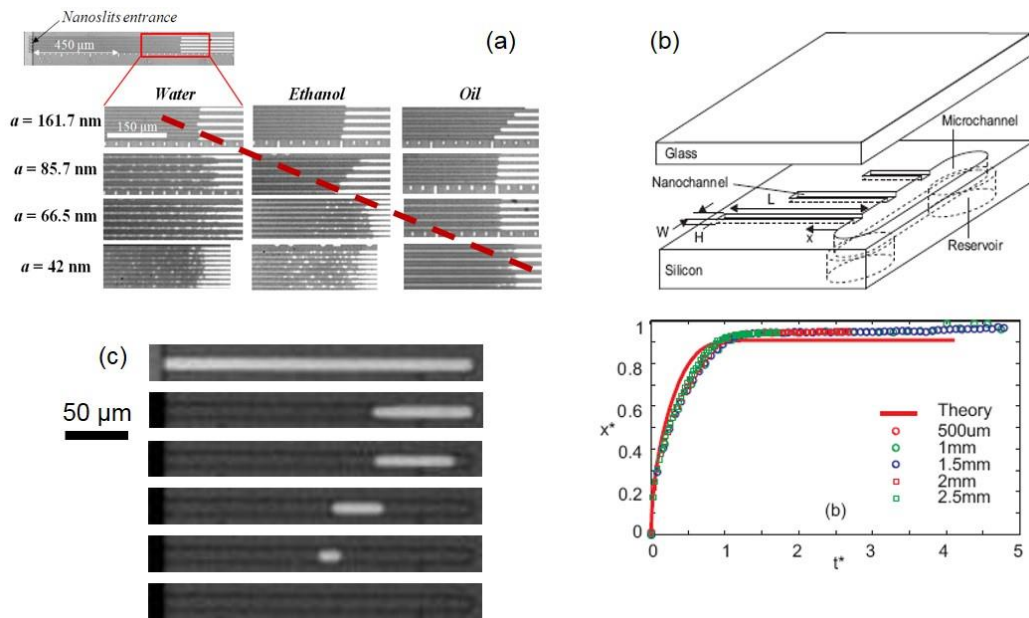


Figure 8 – (a) Seuil en profondeur pour le piégeage de bulles observé lors du remplissage spontané d'un nanocanal, pour différents solvants.  $a$  est la profondeur des canaux. (b) Cinétique de remplissage spontané de nanocanaux en impasse, de profondeur 45 nm et de différentes longueurs par de l'éthanol, représentée sous forme normalisée. (c) Remplissage par le fond observé pour l'imbibition d'un nanocanal en impasse (éthanol, profondeur 209 nm).

Le cas de nanocanaux en impasse, que nous avons traité avec des hypothèses simples en collaboration avec une équipe de Singapour<sup>14</sup> (programme de collaboration Merlion 2007-2010), permet de comprendre l'importance des phénomènes de compression et dissolution du gaz (Figure 8b). Le remplissage se fait jusqu'à l'extrémité des canaux, en trois étapes : tout d'abord, la cinétique n'est pas affectée par le gaz (comme pour un canal ouvert), puis l'air est comprimé par l'avancée du ménisque jusqu'à équilibrer la pression capillaire, et enfin le gaz se dissout rapidement dans le liquide du fait de la forte surpression. Là aussi, nos mesures sont en accord qualitatif avec les prédictions de l'hydrodynamique, même si l'importance des phénomènes (dissolution, surpression capillaire) est très différente de celle à l'échelle macroscopique. Enfin, nous observons dans cette configuration (canaux en impasse) une imbibition par le fond, mais seulement pour une profondeur supérieure à environ 80 nm (Figure 8c), probablement alimentée par des films liquides confinés dans les coins des canaux.

Lors de ces études, nous avons donc étudié en détail des configurations très simples (vitesse d'imbibition spontanée de nanofentes<sup>53,71,72 10</sup>, nanocanaux en impasse<sup>14</sup>). Ces cas sont instructifs (formation de bulles sous une profondeur seuil, ralentissement par rapport aux prédictions de l'hydrodynamique pour des confinements inférieurs à 50 nm) mais restent éloignés de situations réelles. **Grâce au procédé 2,5D, nous avons pu nous intéresser à deux configurations plus complexes :**

**(i) L'imbibition de structures en succession de marches**, ou présentant un gradient de profondeur (Figure 9a)<sup>12</sup>. Les résultats (Figure 9b) sont en bon accord avec un modèle développé par Antoine Naillon pour cette géométrie (généralisation de la loi d'imbibition de Washburn). Toutefois, le ralentissement observé à chaque passage de marche est plus important que prévu, et on obtient une accélération aux temps longs, deux phénomènes non expliqués par le modèle. Nous supposons que ces effets sont probablement liés à **des films de coins** qui pourraient être prédominants à nano-échelle. Leur étude fait partie des perspectives de ce travail.



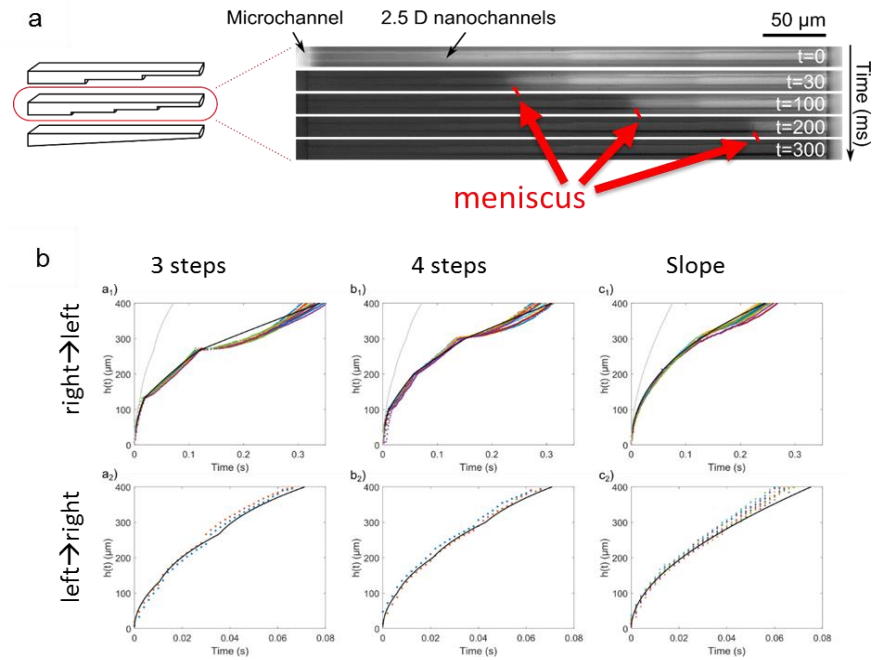


Figure 9- Imbibition de nanofentes de profondeur non-uniforme. (a) Géométries testées et images de la progression du ménisque lors de l'expérience. (b) Cinétique d'imbibition pour trois géométries, et selon deux sens d'imbibition.

**(ii) Le drainage de réseaux aléatoires :** il s'agit d'étudier la façon dont un liquide présent dans un milieu poreux est remplacé par un autre fluide, non mouillant, lorsque ce dernier est injecté dans le milieu. Cette configuration joue un rôle majeur pour la récupération assistée de pétrole par exemple. Si, depuis le travail précurseur de Lenormand *et al.*,<sup>34</sup> les régimes d'envahissement sont bien connus pour des réseaux présentant des pores de plusieurs dizaines de microns, aucune étude ne s'était intéressée au cas des nano-poreux. Nous avons démontré (référence<sup>15</sup>, et Figure 10) que le modèle classique de ce genre de situation, de percolation d'invasion, est parfaitement respecté dans le régime capillaire (chutes de pressions liées à la viscosité négligeables devant celles liées à la capillarité), partie basse du diagramme de la Figure 2a. A chaque embranchement du milieu, le lien le plus profond est envahi à une pression seuil correspondant à la pression capillaire à cette taille. Il est remarquable que ce modèle soit valable pour des réseaux connectés par des pores de profondeurs aussi faibles que 100 nm à 500 nm.

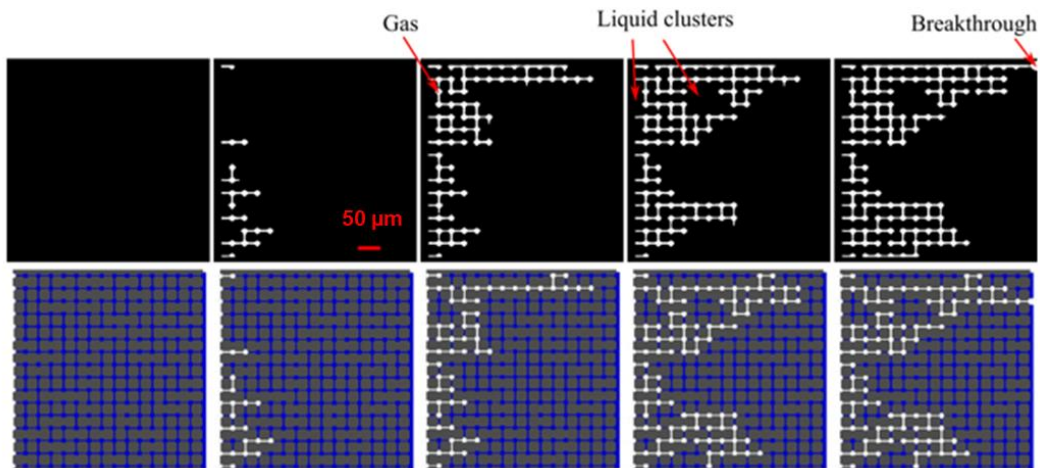


Figure 10- Drainage de réseaux de nanofentes. Séquences d'images lorsque la pression de gaz est augmentée dans les expériences (ligne du haut, phase gaz en blanc et liquide en noir). Ligne du bas : simulations du modèle de percolation d'invasion.

En perspectives, outre l'étude des films de coins déjà évoquée, la situation d'évaporation en nanofentes reste à approfondir. Nous avons par exemple observé la nucléation et migration d'une bulle seulement pour des canaux de profondeur inférieure à 80 nm (Figure 11). Ceci pourrait être en lien avec les phénomènes de cavitation rapportés récemment dans une situation proche, avec toutefois des canaux de profondeur non homogène<sup>45</sup> ; ou bien provenir de films de coin favorisés par le caractère mouillant et très anguleux des canaux.

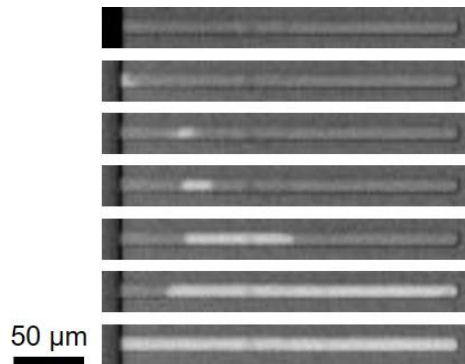


Figure 11 - Evaporation : Nucléation et migration d'une bulle observée lors de l'évaporation d'éthanol pour un canal de 53 nm de profondeur.

Le **couplage fluide-structure** est également un sujet intéressant : prise en compte de l'influence de la déformation du milieu sur les écoulements. L'effet principal, que nous avons commencé à étudier, est le phénomène d'élasto-capillarité<sup>46,73,74</sup>, c'est-à-dire la déformation des structures par les ménisques. Ces éléments seront repris dans la section III.1 de ce manuscrit.

### 1.1.4 Ecoulements sub-micrométriques : cas d'écoulements à bulles et gouttes

J'ai consacré une bonne partie de mes travaux à mon arrivée au LAAS aux systèmes diphasiques liquide/gaz (bulles). Un premier axe visait à aider des équipes d'acousticiens à développer des outils de détection de bulles dans la circulation sanguine, impliquées dans les accidents de décompression en plongée (post-doctorats de Fabien Chauvet puis Sébastien Méance - ANR Smart-US coordonnée par Serge Mensah, Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique à Marseille). Un deuxième volet explorait la voie originale de l'optofluidique, c'est-à-dire la réalisation de fonctions optiques grâce à des fluides (thèse d'Alaa Allouch, co-encadrée par Anne-Marie Gué et en collaboration avec l'équipe Photonique du LAAS). J'ai choisi de ne pas détailler dans ce manuscrit les travaux associés, que je n'ai pas poursuivis par choix thématiques. Les résultats obtenus par Alaa Allouch sur la fabrication de réseaux organisés de bulles, comprenant des défauts intentionnels, sont présentés dans la référence<sup>9</sup>.

L'un des objectifs de ces projets a toutefois été la génération microfluidique de bulles de dimension la plus petite possible, et je résume donc dans cette section, qui traite de nanofluidique, les résultats. Une approche, proposée dans la littérature pour des gouttes seulement<sup>75,76</sup> (liquide-liquide et non liquide-gaz), consiste à envoyer les deux fluides immiscibles à une marche (Figure 12a). Cette géométrie de type 'terrasse' à une jonction nanocanal-microcanal produit dans le cas de deux liquides des gouttes de diamètre de l'ordre de 3 fois la hauteur du nanocanal indépendamment des paramètres d'entrée, selon un mécanisme piloté par la tension interfaciale<sup>77-79</sup>.

Nous avons fait des expériences transposées au système qui nous intéresse, des bulles de gaz dans un liquide. Les résultats obtenus sur une géométrie très proche des configurations publiées pour des gouttes (Figure 12a) montrent que la génération de bulles est possible, cependant les diamètres des bulles générées sont plus de dix fois supérieurs à la hauteur de la marche, et montrent une dépendance avec le débit et la pression d'entrée. Ces différences avec le cas liquide-liquide proviennent principalement de la compressibilité du gaz : la détente des bulles au passage de la marche conduit à un volume bien plus important que celui obtenu pour des gouttes.

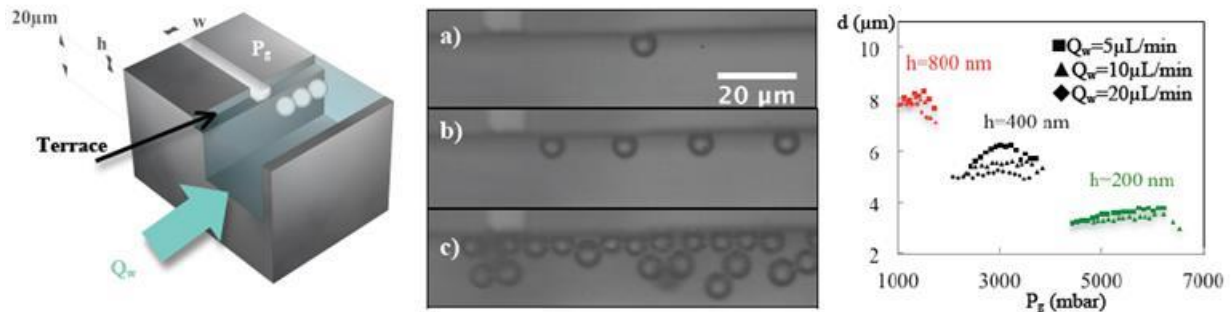


Figure 12 - Génération de bulles à une marche nanocanal-microcanal. à gauche : Géométrie adoptée, inspirée par Stoffel et al.<sup>80</sup> Au centre : images au microscope optique des microbulles produites à l'interface d'un nanocanal de profondeur  $h = 400$  nm avec un microcanal de  $20 \mu\text{m}$ , pour un débit dans le microcanal fixé ( $20 \mu\text{L}/\text{min}$ ) et différentes pressions de gaz (a)  $P_g=4.6$  bar; b)  $P_g=5.1$ bar; c)  $P_g=5.4$  bar). A droite : diamètre des bulles obtenues en fonction de la pression  $P_g$ , pour différents débits  $Q_w$ , et hauteur  $h$ .

Une deuxième différence majeure par rapport aux gouttes est la difficulté à éviter la coalescence des bulles dans le canal microfluidique de sortie. Les origines les plus plausibles pour expliquer ce problème, et les pistes que nous avons explorées pour y remédier, sont les suivantes :

- Les interfaces liquide-gaz sont plus difficiles à stabiliser que les interfaces liquide-liquide, et des tensio-actifs simples semblent insuffisants. Nous avons mené une série d'expériences pour tenter d'améliorer le temps de vie des objets. La stabilité des bulles générées devient critique pour des dimensions de l'ordre du micromètre, avec des durées de vie inférieures à la seconde, d'autant plus courte que les objets sont petits. Pour une stabilisation plus efficace, nous avons travaillé à adapter une approche déjà proposée dans le contexte des agents de contraste ultrasonores utilisés en imagerie médicale<sup>81</sup> : l'utilisation des phospholipides pour modifier les propriétés de surface des bulles. Les mécanismes d'actions de ces molécules sont multiples. Ils combinent un effet tensioactif (réduction de la tension de surface) ; une diminution de la diffusion du gaz à travers l'interface ; une modification des propriétés mécaniques des bulles (effet 'coque' à forte concentration). Ces trois effets les rendent a priori très puissants pour la stabilisation. Nous avons donc généré des bulles tapissées de phospholipides au sein de dispositifs microfluidiques, dans l'esprit des travaux de Talu et al.<sup>82</sup> Les résultats ne furent pas très probants, sans doute du fait de la mauvaise disponibilité des phospholipides pour stabiliser les surfaces des bulles, ces molécules s'associant en double couche et en vésicules, et sont très peu solubles dans l'eau.
- L'injection des deux fluides (liquide et gaz) par le même canal nanofluidique ne permet pas d'obtenir des bulles individuelles, car la résistance hydrodynamique de ce canal limite fortement le débit liquide. La fraction occupée par les bulles est donc très importante, et elles se retrouvent en contact dès leur formation dans le microcanal de sortie, c'est-à-dire en situation de coalescence. Nous avons donc exploré un certain nombre de géométries alternatives pour espacer les bulles : réduction de la longueur de la partie nanofluidique, combinaison de la



génération à une marche avec la focalisation hydrodynamique ou avec une configuration en T. La géométrie la plus concluante est inspirée du schéma proposé par Stoffel *et al.*<sup>80</sup> à plus grande dimension, et nous a permis d'obtenir des bulles individuelles de diamètre 3-8  $\mu\text{m}$ , stables et dépendant très peu des conditions d'injection (Figure 12)<sup>11</sup>.

### I.1.5 Ecoulements osmotiques pour des nanocanaux perméables

En collaboration avec l'ILM (Institut Lumière Matière, Lyon, anciennement LPMCN) dans le cadre du projet ERC Micromega (coordinateur Lydéric Bocquet, maintenant au LPS-ENS à Paris), j'ai participé à un projet dont l'objectif scientifique est de mieux comprendre le couplage entre gradient de concentration et convection (diffusio-osmose<sup>83</sup>), ce qui pourrait constituer un mécanisme de pompage efficace pour la nanofluidique.

Les nanocanaux ont été fabriqués dans la salle blanche du LAAS. J'ai travaillé avec C. Lee, post-doctorant de l'ILM, qui a effectué plusieurs séjours de quelques semaines au LAAS de 2011 à 2013.

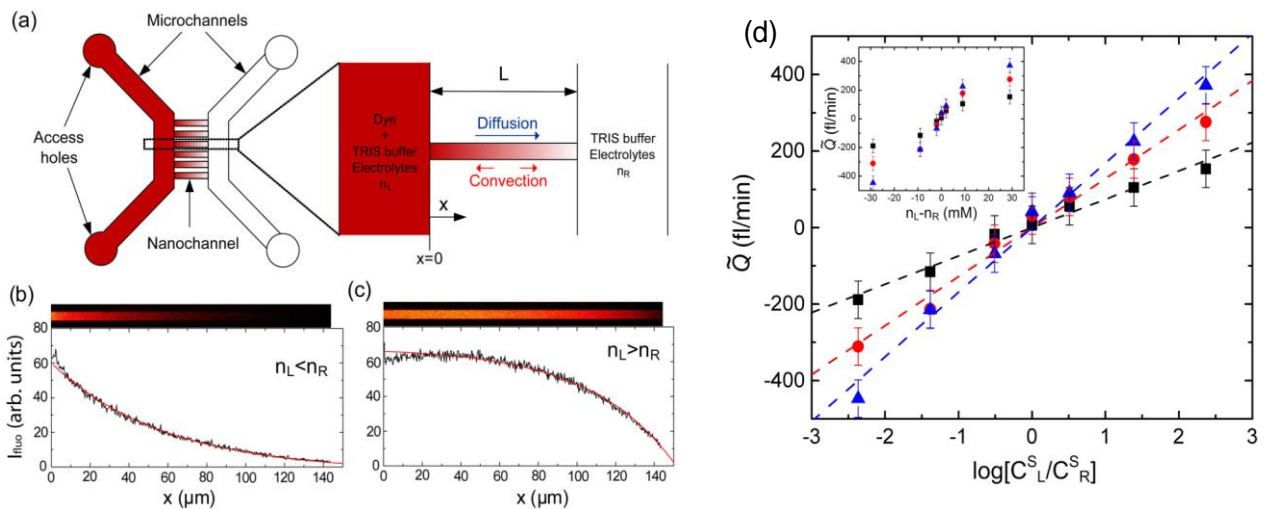


Figure 13 – Flux généré par un gradient de soluté (a) Design du dispositif. Des nanocanaux (hauteur  $h = 163 \text{ nm}$ , largeur  $w = 5 \mu\text{m}$ , longueur  $L = 150 \mu\text{m}$ ) relient deux microcanaux de section  $300 \times 50 \mu\text{m}^2$ , dans lesquels des solutions de différentes concentrations en solutés [ $n_L$  ( $n_R$ ) dans le bras gauche (droit)] peuvent circuler pour contrôler le gradient de soluté le long des nanocanaux. (b),(c) Profil d'intensité de fluorescence le long des nanocanaux pour différents déséquilibres du soluté ( $\Delta n$ ) (b)  $n_L < n_R$  (1 et 30 mM) et (c)  $n_R < n_L$  (30 et 1 mM). Ligne continue (rouge): ajustement selon les équations de diffusion-convection; tous les profils s'écartent du profil linéaire, solution en cas de diffusion seule. (d) Débit mesuré  $Q$  en fonction de la différence entre les logarithmes de concentration en électrolyte  $C^S$  pour trois sels différents: ( $\blacktriangle$ ) KI, ( $\bullet$ ) NaI, ( $\blacktriangle$ ) Lil. Insert: mêmes données tracées en fonction de la différence de concentration de sel ajouté  $n_L - n_R$ .

L'osmose à travers les membranes est intrinsèquement associée à la notion de semi-perméabilité. Cependant, nous avons démontré qu'un flux osmotique peut être généré par des gradients de soluté à travers des nanocanaux non sélectifs, entièrement perméables<sup>16</sup>. En utilisant une technique d'imagerie de fluorescence, mes collègues lyonnais ont mesuré le débit d'eau dans des nanocanaux simples avec une sensibilité sans précédent de l'ordre de quelques dizaines de femtolitres par minute. Ces résultats indiquent un mouvement de convection liquide sous des gradients de salinité, de la plus forte concentration de l'électrolyte vers la concentration faible, ce qui est attribué à un transport diffusio-

osmotique (Figure 13). C'est la première preuve expérimentale et étude quantitative de ce transport interfacial, qui doit être pris en compte dans la dynamique à l'échelle nanométrique. Enfin, le transport diffusio-osmotique sous un gradient de polymère neutre est également démontré. Les expériences mettent en évidence la déplétion entropique de polymères qui se produit à la surface du nanocanal, ce qui entraîne l'écoulement par convection dans la direction opposée à celle observée pour les électrolytes.

## I.2 CRISTALLISATION EN SITUATION CONFINÉE

Après cette première grande orientation de recherche portant sur les écoulements nanofluidiques, détaillée dans la section I.1, je présente ici, de façon plus succincte, un deuxième axe qui se penche sur la façon dont une solution de sel, en séchant, peut endommager – ou non – le solide avec lequel elle est en contact. Pour plus de détails, le lecteur est invité à consulter le manuscrit de thèse d'Antoine Naillon<sup>84</sup> (<http://www.theses.fr/2016INPT0110>), ou la référence<sup>17</sup> à propos des aspects cinétiques, et la référence<sup>18</sup> concernant la pression de cristallisation et le diagramme de contraintes.

La cristallisation du sel peut endommager les roches naturelles, les bâtiments ou les œuvres d'art en exerçant des contraintes sur les parois des milieux poreux constituant le matériau.<sup>85</sup> Ce phénomène est dû à une pression de cristallisation, qui augmente avec la concentration en excès de sel dissous par rapport à l'équilibre cristal-solution (sursaturation  $S$ ,  $S = 1$  à l'équilibre). Il a été démontré que  $S$  peut être beaucoup plus élevé que 1 lorsque le premier germe de sel apparaît.<sup>86</sup> Cependant, la valeur de  $S$  à l'instant où le cristal touche les parois des pores n'est pas triviale à déterminer. En effet, la distribution spatio-temporelle du sel résulte d'une combinaison de la cinétique de réaction avec le transport des ions (convection et diffusion vers le cristal).

Dans ce contexte, nous utilisons une configuration microfluidique simple imitant un pore élémentaire pour étudier la cinétique de précipitation et la génération de contrainte sur les murs. Une solution de sel de chlorure de sodium est concentrée par évaporation dans un canal de verre/PDMS en impasse (section transverse typique et longueur  $5 \times 5 \mu\text{m}^2$  et  $200 \mu\text{m}$  respectivement, Figure 14, à gauche).

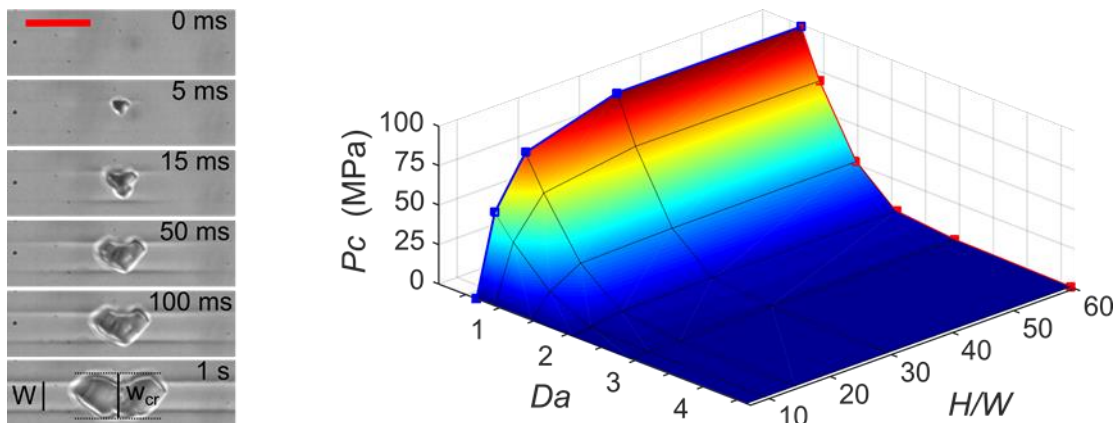


Figure 14- À gauche: Images d'une croissance de cristaux dans un canal verre/PDMS, permettant d'extraire la cinétique de précipitation (premières ms) et la contrainte sur les parois (à partir de la déformation maximale, en bas). Barre d'échelle 10  $\mu\text{m}$ . A droite: diagramme de contrainte. Pression de cristallisation ( $P_c$ ) en fonction du nombre de Damköhler et des paramètres géométriques ( $H$ : longueur du bouchon liquide et diamètre des pores  $W$ ).

À des échelles de temps courtes (acquisition à 1000 images par seconde), nous mesurons la cinétique de la croissance des cristaux avec une résolution temporelle sans précédent (voir Figure 14, à gauche) et montrons que le coefficient de réaction est fortement sous-estimé dans la littérature, le processus étant contrôlé par les phénomènes de transport après seulement quelques ms. Ces résultats sont parus en 2017 dans *J Cryst Growth*.<sup>17</sup>

Nous avons caractérisé la génération de contrainte à la fois numériquement par résolution des équations de transport avec les conditions aux limites appropriées, et expérimentalement en mesurant la déformation des murs du canal pendant la croissance. Nous établissons un diagramme des contraintes simple (Figure 14, à droite) impliquant la géométrie et la compétition entre la cinétique de réaction et le transport des ions vers le cristal en croissance (nombre de Damköhler,  $Da$ ). Ces résultats sont parus en 2018 dans *Phys Rev Lett*.<sup>18</sup>

Ce travail devrait améliorer la compréhension des dommages induits aux milieux poreux par la cristallisation de sels. Il démontre également une nouvelle méthode pour mesurer le coefficient de réaction de la croissance cristalline, facilement adaptable à d'autres sels.

Les perspectives de ce travail (géométries plus réalistes, autres compositions en sel) seront présentées à la section III.1, avec les développements envisagés pour les autres volets du chapitre I de ce manuscrit.

### 1.3 CONTROLE DE L'ÉVAPORATION PAR LA TOPOLOGIE

La section précédente sur la cristallisation de sel fait bien entendu intervenir une étape préalable de concentration de ce sel, par évaporation. Il est donc légitime de s'intéresser à ce phénomène. Plus généralement, la question de l'évaporation au sein d'un milieu poreux joue un rôle majeur pour les bâtiments (séchage du béton, ou détérioration par remontées capillaires par exemple) ; elle est par ailleurs fortement liée aux phénomènes de transport de liquide dans les plantes. Les feuilles de nombreuses espèces sont en effet capables de réguler l'évaporation en modulant la géométrie de stomates, orifices présents à leur surface<sup>87</sup>.

Dans ce contexte, et toujours selon une approche de systèmes microfluidiques modèles simplifiés de milieux poreux, J'ai co-encadré la thèse de Chen Chen avec Sandrine Geoffroy (LMDC, Laboratoire Matériaux et Durabilité des Constructions, INSA Toulouse), en collaboration avec Marc Prat et Paul Duru, de l'IMFT. La problématique principale est ici celle du **rôle de la topologie d'un milieu sur son séchage**.

Un obstacle pratique majeur pour ce projet a été l'impossibilité de l'étudiant à fabriquer lui-même les dispositifs en salle blanche. En effet, il n'a pas été autorisé à travailler au LAAS suite à l'avis défavorable du fonctionnaire sécurité défense du CNRS (classement « ERR » du LAAS à l'époque de la demande). Ce blocage étant intervenu après l'obtention de la bourse de thèse (financement par la Chine, China Scholarship Council) et du visa par l'étudiant, et s'agissant d'une collaboration avec d'autres laboratoires non soumis à cette procédure ERR, nous avons décidé de faire tout de même le projet ; toutefois Chen Chen n'a pas travaillé physiquement au LAAS, et j'ai donc fabriqué les dispositifs en salle blanche.

La configuration principale testée est celle d'un milieu 2D constitué par des piliers placés entre deux plaques circulaires, l'évaporation peut avoir lieu par le centre (l'une des deux plaques étant percée) ou par l'ensemble du pourtour des plaques. Les piliers sont réalisés par photolithographie dans une résine

négative epoxy (SU8), voir la Figure 15. La première génération de dispositifs a été réalisée avec une épaisseur de 500  $\mu\text{m}$  et un diamètre de 3 cm, afin d'avoir un volume suffisant de liquide pour permettre une mesure de l'évaporation par pesée (courbe de la Figure 16). En parallèle, grâce à des simulations de la forme du ménisque avec le logiciel Surface Evolver qui minimise l'aire, c'est-à-dire l'énergie de surface (Figure 15c), nous avons pu déterminer la relation quantitative entre les images de séchage et le volume liquide. Cela permet de travailler sur des systèmes à l'échelle 1/10 par rapport aux précédents (50  $\mu\text{m}$  de hauteur, 3 mm de diamètre, distance entre les piliers comprise entre 10  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$ ) puisque l'analyse d'image suffit à connaître le taux d'évaporation. Dans ce cas, le capotage des systèmes a été réalisé par lamination d'un film sec, technologie récemment développée au laboratoire<sup>88</sup> qui permet l'alignement précis du capot, voir le bas de la Figure 15b.

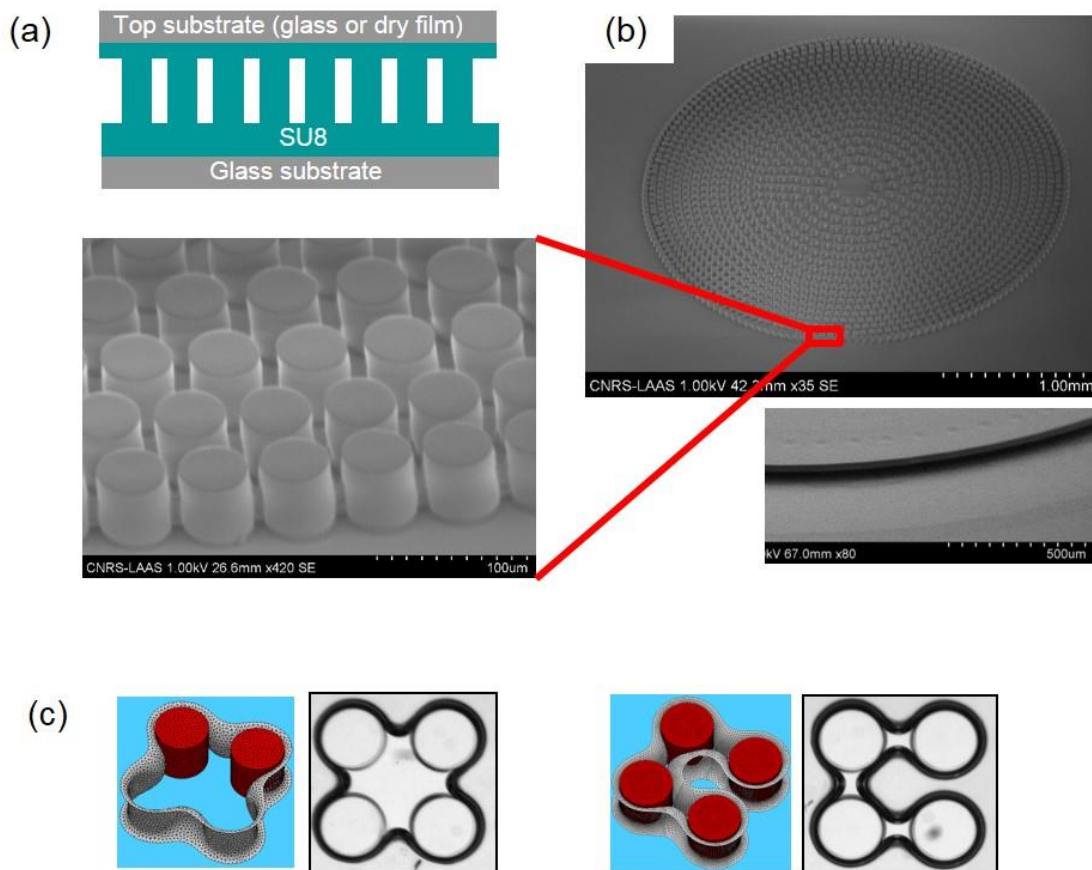


Figure 15 – (a) Vue en coupe de la configuration typique (coupe) des microsystèmes permettant d'étude du rôle du design sur l'évaporation. (b) Images MEB d'un dispositif en SU8 (50  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, piliers de 50  $\mu\text{m}$  de diamètre, espacement inter-piliers de 10 à 100  $\mu\text{m}$ ), ouvert (en haut), et après capotage par un film sec (en bas). (c) Comparaison des formes obtenues par simulation (logiciel Surface Evolver) pour deux valeurs du volume de liquide, et microphotographies des dispositifs en cours de séchage.

Grâce à cette étude, expérimentale et numérique, nous avons établi que la géométrie - plus précisément la façon dont les interstices du matériau (les pores du milieu poreux) sont distribués – contrôle le déplacement des fronts de liquides, et influence ainsi la cinétique de séchage. Deux modes de contrôle sont démontrés, comme illustré Figure 16 :

D'une part, la vitesse de séchage est modulée de plus d'un facteur cinq par la stabilité du front liquide, pilotée par le « gradient de porosité », c'est-à-dire les variations spatiales de la taille typique des pores.

## I - Modèles microfluidiques du transport dans les milieux poreux

D'autre part, nous avons proposé une géométrie biomimétique en double spirale concentrique. Il s'agit d'une famille d'arrangements souvent présents dans la nature (chou romanesco, pomme de pin, fleur de tournesol), dont le nombre de branches est relié à la suite de Fibonacci. Cela permet, en combinant un front liquide stable avec la présence de films liquides connectant les pores, d'obtenir une évaporation rapide bien que continue.

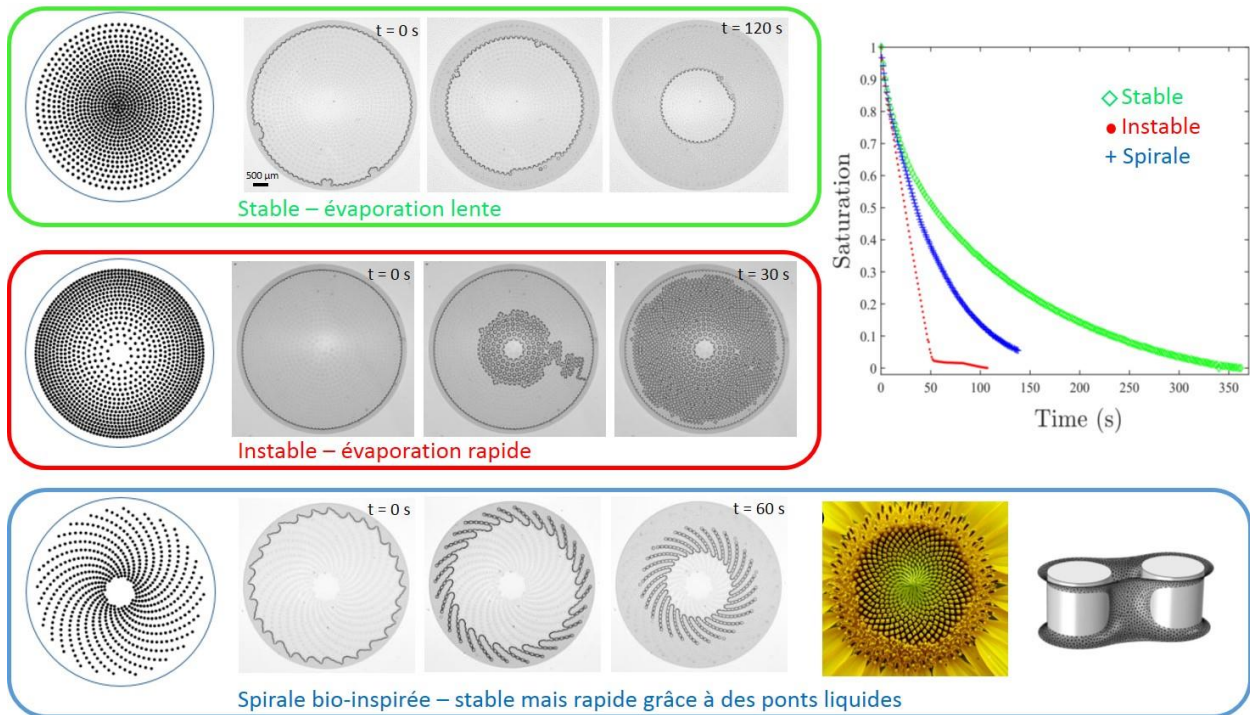


Figure 16 – Différents modes de contrôle de l'évaporation d'un milieu 2D modèle par sa topologie.

Nous avons ainsi pu relier le taux d'évaporation à l'arrangement spatial du milieu et à la morphologie de séchage qui en résulte. Ces résultats démontrent la possibilité d'un contrôle de la vitesse d'évaporation d'un matériau par le design, en jouant simplement sur la structuration.

Le détail de ces résultats est consultable dans l'article <sup>19</sup>.

Nous avons également étudié de façon quantitative la façon dont les compétitions entre dissipation visqueuse et forces capillaires dans les films liquides pilote la longueur de ces films, et donc le taux d'évaporation, pour le cas des spirales « tournesol ». En effet, la propriété intéressante est la possibilité de films liquides connectés sur de grandes distances depuis le centre jusqu'au bord du disque, ce qui minimise la longueur de diffusion pour le gaz et conduit à une évaporation efficace.

L'article <sup>89</sup> présente en détail ces résultats.

Les perspectives principales sont la conception de systèmes capable de mesurer un taux d'évaporation d'une part, et l'évaporation en présence d'un milieu déformable (voir la section III.1).



## I.4 MODELES DU COLMATAGE DE MEMBRANES DE FILTRATION

Le colmatage de pores par des particules browniennes a un rôle clef dans les procédés de filtration, très présents à l'échelle industrielle (traitement des effluents). Nous réalisons des expériences de colmatage de pores sub-micrométriques par des suspensions browniennes. Ce projet, démarré à l'automne 2016, s'effectue dans le cadre du projet NEMESIS, chaire du Pr Jeffrey Morris (City College New-York) à l'Université de Toulouse, avec le post-doctorat d'Olivier Liot en collaboration avec Patrice Bacchin, spécialiste de la filtration (LGC) et Paul Duru (IMFT).

Nous étudions le rôle de la force ionique (qui pilote les forces répulsives entre particules) sur la formation du bouchon. La compétition entre forces de traînée et érosion est également étudiée en utilisant un écoulement transverse dans le canal d'alimentation. Enfin, la façon dont le bouchon se désintègre lors d'un arrêt de l'écoulement renseigne sur sa structure.

Le phénomène de colmatage peut se produire dans les imprimantes à jet d'encre ou de nombreuses autres applications telles que la filtration de l'eau à travers une membrane. Alors que l'encrassement d'une membrane à l'échelle macroscopique est bien compris, les recherches à l'échelle des pores sont encore rares<sup>90</sup>. Des travaux très récents ont utilisé des microcanaux modèles pour étudier l'effet de différents paramètres, tels que la force ionique ou le nombre de Péclet (compétition advection / diffusion) sur le colmatage des pores à l'échelle micrométrique<sup>91-93</sup>. Les dimensions sub-micrométriques sont encore inexplorées malgré des spécificités fortes (mouvement brownien, taille du système comparable aux échelles d'interaction) et leur pertinence (0,2  $\mu\text{m}$  étant une taille de pore industrielle typique). Dans ce contexte, nous étudions le colmatage / décolmatage de canaux en verre-silicium par des particules browniennes. Nous nous intéressons particulièrement à l'influence de la force ionique et à la compétition croissance/érosion en utilisant un écoulement transversal imposé dans le microcanal d'entrée.

Nous utilisons des canaux en verre-silicium, obtenus par les techniques standard de microfabrication. Le design est constitué de deux microcanaux connectés par dix nano-fentes de 10  $\mu\text{m}$  de largeur, 50  $\mu\text{m}$  de long, et une profondeur de quelques centaines de nanomètres. Nous injectons une suspension de billes fluorescentes en polystyrène (diamètre typique 250 nm) à une fraction volumique faible ( $\Phi=4.10^{-5}$ ). La force ionique est fixée par un tampon PBS (Phosphate Buffer Saline). Une différence de pression est imposée entre les deux microcanaux pour provoquer le passage des particules à travers les nanocanaux. L'accumulation des particules est observée par vidéomicroscopie (Figure 17a).

## I - Modèles microfluidiques du transport dans les milieux poreux

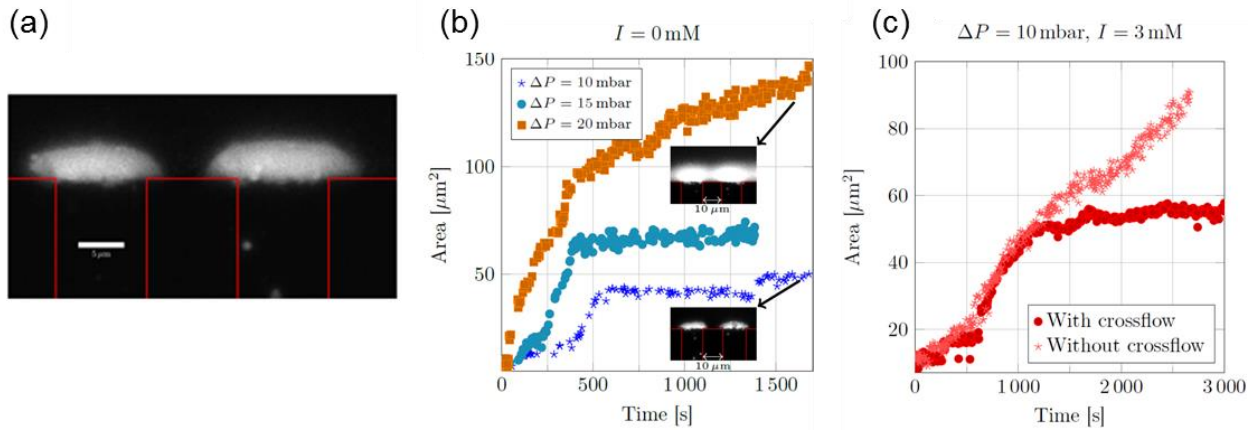


Figure 17- Colmatage de pores modèles par des particules browniennes. (a) Image de formation d'un bouchon. (b) Evolution temporelle de l'aire d'un bouchon à force ionique nulle, pour trois différences de pression. (c) Evolution temporelle d'un bouchon avec et sans écoulement transverse, à force ionique non nulle.

L'évolution temporelle des bouchons pour différentes chutes de pression est représentée sur la Figure 17(b) dans le cas d'une force ionique nulle  $I = 0 \text{ mM}$  (eau désionisée). Pour les faibles chutes de pression ( $\Delta P = 10$  et  $15 \text{ mbar}$ ), on observe une croissance régulière du bouchon puis une saturation, alors que pour  $\Delta P = 20 \text{ mbar}$ , la saturation est remplacée par une croissance lente. La transition apparaît lorsque les forces de traînée deviennent plus faibles que les forces répulsives, qui sont importantes en raison de la faible force ionique (en l'absence de contre-ions en solution, les interactions entre particules, chargées négativement, ne sont pas écrantées). La différence entre saturation et croissance lente mais continue pourrait résulter de la compétition entre les forces de traînée et la diffusion brownienne. L'étude de la désagrégation du bouchon lorsque l'on supprime la chute de pression montre que la partie externe du bouchon est labile : les forces hydrodynamiques ne sont pas suffisantes par rapport aux répulsions électrostatiques pour coller toutes les particules aux parois ou à d'autres particules. L'absence de saturation de la zone sur laquelle s'étend le bouchon lorsque la chute de pression est assez grande est la conséquence de l'apparition d'une troisième "couche" avec une augmentation de la concentration de particules visible sur l'insert de la Figure 17b.

La Figure 17c compare la taille des bouchons avec et sans écoulement transverse dans le microcanal d'entrée pour la même chute de pression à travers les nanocanaux et pour  $I = 3 \text{ mM}$ . Aucune saturation n'est visible à cette échelle de temps sans écoulement transverse en raison de la force ionique importante : les interactions répulsives sont écrantées. La saturation, visible lorsqu'un écoulement transverse est imposé, est due à la compétition entre les forces de traînée et l'érosion.

Nous avons commencé à étudier de façon plus systématique l'influence de l'écoulement transverse et de la force ionique (Figure 18). On constate que la vitesse de croissance des bouchons dépend peu de l'écoulement transverse. En revanche, la taille maximum atteinte par les bouchons (saturation) décroît avec la vitesse  $U$  de l'écoulement transverse. Nous expliquons cette observation par la compétition agrégation/érosion, cette dernière augmente avec  $U$ . La décroissance est plus abrupte pour une force ionique faible, probablement car le bouchon a une structure plus lâche (interactions à longue portée car non écrantée). Cette étude et l'interprétation associées restent à approfondir.

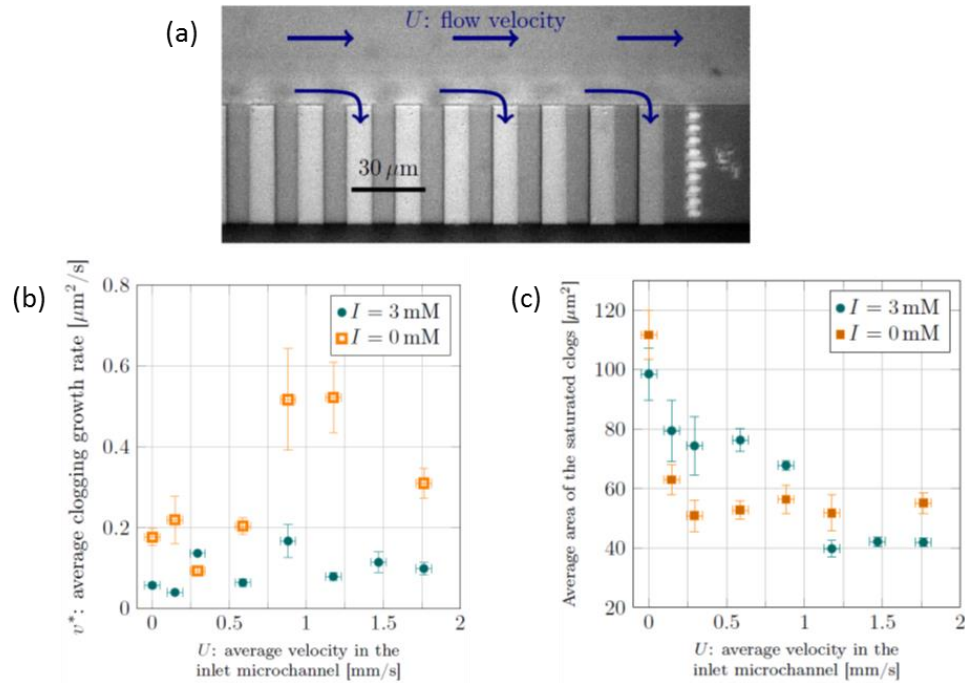


Figure 18- Etude de l'influence d'un écoulement transverse sur le colmatage. (a) Configuration expérimentale. (b) Rôle de la vitesse de l'écoulement transverse  $U$  sur le taux de croissance des bouchons, pour deux forces ioniques. (c) Rôle de  $U$  sur l'aire de saturation des bouchons.

L'autre phénomène que nous avons mis en évidence récemment est le phénomène de **couplage entre les cinétiques de colmatage de pores proches**. En effet, nous observons que le taux de croissance d'un pore augmente avec le nombre de ses voisins qui est déjà saturé. Nous interprétons cette observation par l'idée que, lorsqu'un pore sature, il reste perméable au solvant et agit donc comme un concentrateur de particules. Le pore étant saturé, elles ne s'y accumulent plus. Ces colloïdes étant Browniens, ils sont redistribués vers les lignes de courant passant dans les pores voisins, qui voient donc une solution plus concentrée que la solution initiale (Figure 19).

Ces résultats ont été publiés dans Scientific Reports<sup>20</sup>.

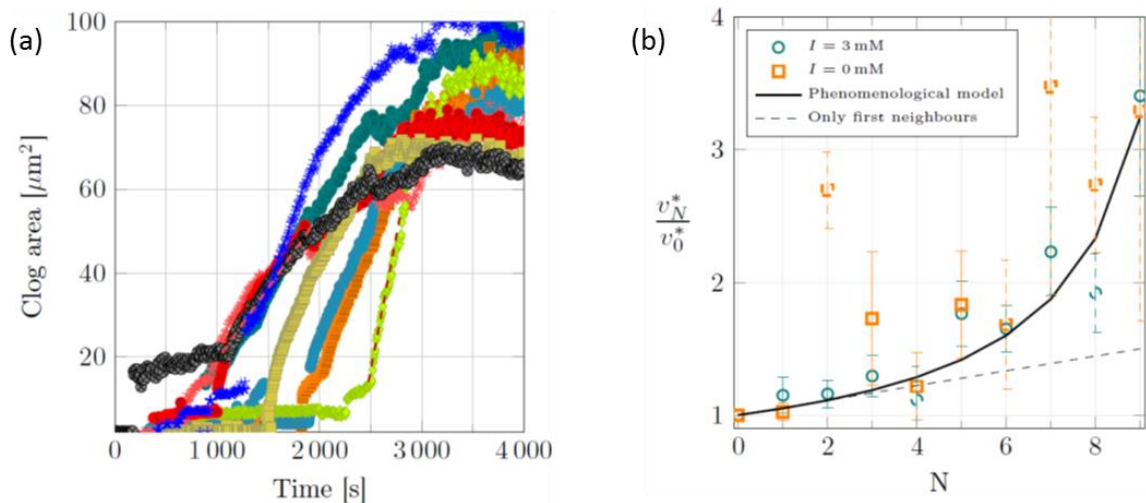


Figure 19 – Phénomène de « cross-talk », couplage entre colmatage de pores adjacents, pour des puces possédant 10 pores. (a) Le taux de croissance de pores augmente de façon systématique avec le nombre de pores déjà saturés (voir les pentes des courbes noires et vertes). (b) Evolution du taux de croissance en fonction du nombre de pores déjà saturées, pour deux forces ioniques, et comparaison avec un modèle de concentration/redistribution des colloïdes vers le plus proche pore non saturé.



## I - Modèles microfluidiques du transport dans les milieux poreux

L'approche système modèle microfluidique permet ainsi de décortiquer les processus en jeu dans la filtration, en se plaçant à l'échelle du pore, et nous démarrons également un travail avec des particules micrométriques mais déformables, toujours dans le cadre du projet Nemesis, en collaboration avec un autre laboratoire (thèse d'Alberto Valencia encadré par C Lafforgues-Baldas, LISBP).

## II TRANSPORT DE NANO-OBJETS ET AUTO-ASSEMBLAGES, POUR LA SANTE

La deuxième thématique de recherche que j'ai suivie durant ces dernières années concerne également le transport à petite échelle et utilise des outils microfluidiques : il s'agit d'écoulements de nano-objets, pour des applications surtout ciblées sur la santé.

La section II.1 présente des systèmes biomimétiques visant à déterminer le taux de passage de nanovecteurs (auto-assemblages polymères) depuis un canal principal à travers des interstices<sup>21</sup>, dans un contexte de vectorisation de médicaments. Les deux autres sections mettent en jeu des dispositifs qui réalisent une fonction de laboratoire sur puce : le volet II.2 porte sur le tri par filtration hydrodynamique de nanoparticules<sup>22</sup>, développé à l'origine pour des capteurs environnementaux mais dont les tailles de tri sont bien adaptées aux microparticules sanguines ; et la section II.3 exploite des forces transverses exercées sur des nano-objets pour concentrer de l'ADN<sup>23</sup>, avec une visée de diagnostic médical.

### II.1 CANAUX BIOMIMETIQUES : VECTORISATION DE NANO-MEDICAMENTS

Je participe depuis fin 2013 au projet ANR PolyTransflow (coordinateur M Léonetti, IRPHE, partenaires IMRCP et IPBS), qui cible la compréhension de certains mécanismes de la vectorisation de nano-médicaments. L'idée initiale pour le LAAS était de mimer par des dispositifs microfabriqués le passage de nano-objets depuis les vaisseaux sanguins vers les tissus et les tumeurs.

Dans le domaine de la vectorisation d'anticancéreux, on constate un énorme décalage entre le nombre très élevé d'articles scientifiques portant sur le relargage de médicament par des vecteurs polymères et l'absence d'explication claire sur leur transport et leur devenir dans le flux sanguin. L'influence de la margination (expulsion de certains objets du centre du vaisseau sanguin vers leur périphérie) sur le passage du vecteur du flux sanguin au tissu tumoral est aussi une étape très peu explorée<sup>94</sup>. Une des raisons peut être que, pour arriver jusqu'à la tumeur, le vecteur doit subir différents événements, liés soit à la physique (hémodynamique, propriétés mécaniques du vecteur...), à la chimie (chimie de surface, taille, charge...) et à la biologie (cellules différentes, protéines sanguines...). Ce projet a donc pour but d'examiner de façon approfondie l'étape qui permet à un certain type de vecteurs, à savoir des polymersomes (des auto-assemblages polymères), de sortir du flux sanguin pour aller vers la tumeur.

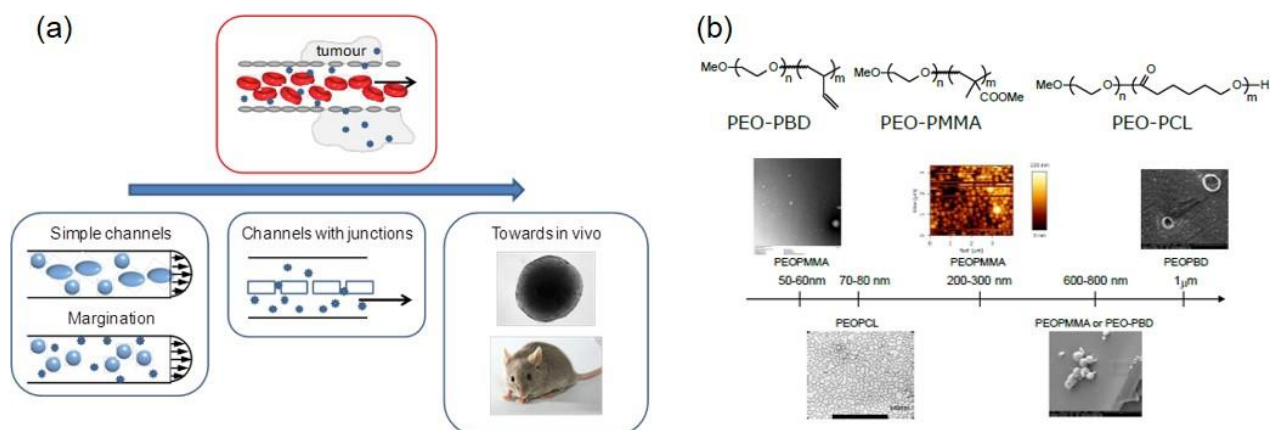


Figure 20 – (a) Schéma de principe du projet PolyTransflow : mécanismes contrôlant le transfert de nano-médicaments. (b) Exemples de nano-objets auto-assemblés formés à partir de copolymères blocs de différentes formules.

## II - Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la santé

Afin d'étudier les différents procédés impliqués dans le transport de ces vecteurs, ce projet a été divisé en trois parties relativement indépendantes, chacune apportant une réponse à une certaine échelle à l'ensemble du problème (Figure 20a). L'organisation des tâches est telle que chaque étape approche de plus en plus de la réalité biologique.

Au préalable, et de façon transverse au projet, les polymersomes sont synthétisés par auto-assemblage de copolymères blocs amphiphiles, principalement par nos collègues chimistes du laboratoire IMRCP. Quelques exemples sont présentés sur la Figure 20b. Notons que lors des post-doctorats de Clément Roux puis Marius Socol, la mise au point de l'obtention des polymersomes s'est faite en collaboration IMRCP-LAAS (avec en particulier des essais de synthèse par voie microfluidique), et j'ai donc également participé à l'identification des critères contrôlant taille et morphologie des nano-objets (article publié en 2016 dans la revue *Soft Matter*<sup>95</sup>).

La première tâche, principalement prise en charge par l'IRPHE (institut de recherche sur les phénomènes hors équilibre), porte sur le phénomène de margination.

La deuxième partie, coordonnée par le LAAS, s'intéresse au passage d'objets depuis les vaisseaux sanguins vers leur entourage, au travers des interstices présents entre les cellules des parois des vaisseaux, des disjonctions cellulaires pouvant être présentes aux alentours des tumeurs. Celles-ci sont en effet indispensables pour le transfert efficace des polymersomes vers les tumeurs, grâce à l'effet dit EPR (« enhanced permeability and retention »). Cet effet, souvent observé, consiste en la localisation dans les tumeurs d'une bonne partie des nanovecteurs lorsqu'ils sont injectés via la circulation sanguine<sup>96</sup>.

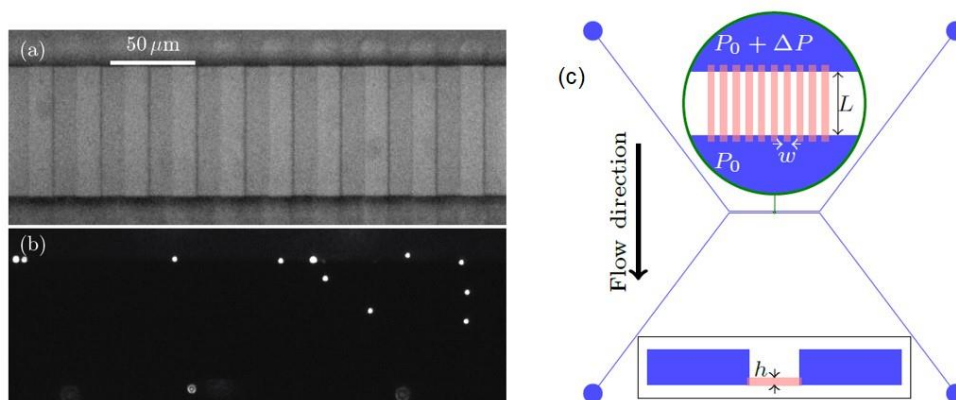


Figure 21- Jonctions nanofluidiques pour mimer le passage de nano-objets polymères des vaisseaux sanguins vers les tissus. (a) Image en microscopie de lumière blanche des jonctions nanofluidiques type (profondeur des canaux  $\sim 830$  nm). (b) Image en microscopie de fluorescence de billes de latex à leur traversée des nanofentes (même échelle que pour le (a)). (c) Design type des puces : les canaux en bleu, d'une profondeur de l'ordre de  $10 \mu\text{m}$ , joue le rôle des vaisseaux, et les nano-fentes (en rouge) celui des jonctions.

Notre approche est comparable à celle décrite dans la partie I de ce manuscrit mais dans un contexte biologique et non plus de celui de milieux poreux : nous fabriquons des **canaux microfluidiques mimant l'architecture des vaisseaux vers les tissus**, et nous suivons chaque nano-objet (polymersome ou colloïde) individuellement (Figure 21). Le passage à travers les bifurcations est analysé statistiquement en fonction de la géométrie, des différences de pression, des propriétés des objets.

Nous abordons deux configurations liées au transport de ces objets dans le contexte biologique de la vectorisation, en nous focalisant sur la partie purement physique des mécanismes (et non sur les interactions biochimiques qui pourraient œuvrer *in vivo*) :

(1) le transfert d'objets à travers des nanocanaux étroits, pour une solution diluée simple (pas de globules rouges), situation assez éloignée du cas réel mais dont la simplicité permet des conclusions quantitatives, et une interprétation claire sur les mécanismes physiques en jeu.

(2) Le transfert d'objets pour le même type d'objets, mais cette fois-ci en présence de globules rouges à une concentration (hématocrite) élevée, proche de l'*in vivo*, pour essayer de déterminer si la margination et le transfert de nano-objets sont liés.

### II.1.1 Transfert « simple » de nano-objets.

Comment un vecteur traverse-t-il une jonction, selon son degré de confinement  $r$  (rapport entre la taille de l'objet et celle de la constriction), et sa nature (polymersome, c'est-à-dire une membrane polymère contenant un compartiment liquide, ou particule pleine, *a priori* plus rigide) ?

Cette question, si on l'envisage comme une simplification extrême du transfert de nano-objets entre des cellules endothéliales, peut renseigner sur la partie purement hydrodynamique du phénomène. Avec un peu de recul à la fin de ce projet, elle est probablement assez éloignée de la situation *in vivo*, (où en particulier, les déformations des murs doivent intervenir, en plus de mécanismes physico-chimiques et biologiques, actifs, dont il faudrait évaluer l'influence relative). Elle est en revanche très pertinente pour des problématiques de filtration et de séparation de micro et nanoparticules, présentes à la fois pour le traitement des eaux usées ou le diagnostic environnemental ou médical (systèmes d'analyse miniaturisés, portant sur les vésicules extracellulaires par exemple, j'y reviendrai dans les perspectives du manuscrit).

Quoi qu'il en soit, pour y répondre nous avons réalisé des expériences systématiques de caractérisation de la distribution de vitesse de billes de latex (en polystyrène, commerciales) et de polymersomes.

**Les modèles hydrodynamiques de transport confiné**, qui prennent en compte la taille des particules (moyenne du champ de vitesse sur leur surface, exclusion des billes des zones proches des parois) selon la théorie de Faxen<sup>97</sup>, et les interactions hydrodynamiques (friction additionnelle due à la condition limite de non glissement au mur) selon le travail semi-numérique de Pasol<sup>98</sup>, **rendent compte des expériences** de façon quantitative. Le rapport  $\beta$  entre vitesse moyenne mesurée  $\langle v_x \rangle$  et prédiction  $V_t$  est en effet proche de 1 dans la plupart des cas (Figure 22a, c).

## II - Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la santé

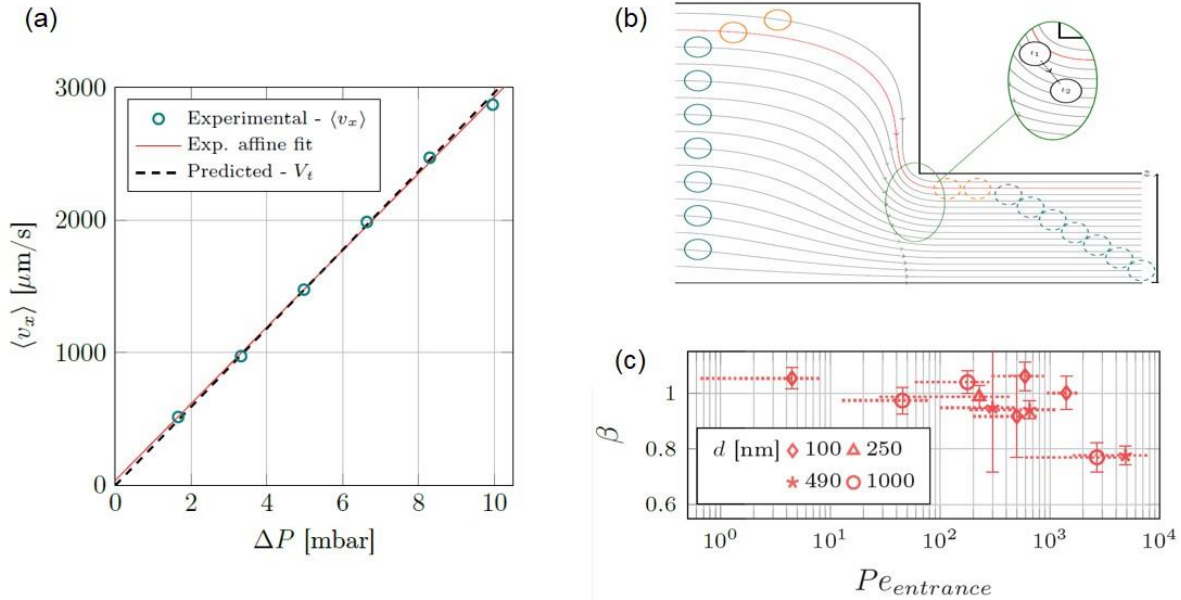


Figure 22- Transport de nano-objets dans des jonctions simples. (a) Variation de la vitesse moyenne de billes de 1000 nm dans des canaux de 1300 nm, en fonction de la différence de pression appliquée. (b) Effet de concentration des billes au voisinage des murs, ré-homogénéisé par la diffusion Brownienne au passage de la jonction (c) Vitesses moyennes mesurées pour différentes configurations, normalisées par la prédiction hydrodynamique, représentées en fonction du nombre de Péclet d'entrée.

Un écart (vitesse moyenne légèrement inférieure à la prédiction) est observé pour certaines situations, voir la Figure 22c. Nous interprétons cette observation par une distribution non homogène des billes dans le nanocanal lorsque la diffusion brownienne au passage de la jonction (microcanal-nanocanal) ne suffit pas à redistribuer les billes sur la hauteur, pendant leur entrée (Figure 22b). Ce comportement, qui met en jeu une compétition advection-diffusion (sur une échelle gouvernée par le confinement) est donc bien décrit en représentant le rapport de vitesse  $\beta$  en fonction d'un nombre de Péclet d'entrée (Figure 22c), défini comme :

$$Pe_{entrance} = \frac{t_{diff}}{t_{adv}} = \frac{1}{2D} \left( \frac{h-d}{2} \right)^2 \cdot \frac{V_t}{d} = \frac{3\pi\eta}{8k_bT} V_t h^2 (1-r)^2$$

Où  $h$  est la hauteur des canaux,  $D$  le coefficient de diffusion des billes de diamètre  $d$ ,  $r = \frac{d}{h}$  le confinement.

En d'autres termes, si l'advection est suffisamment rapide (nombre de Péclet élevé), l'effet de concentration des billes près des parois au passage de la jonction induit une plus grande concentration dans des zones de plus faible vitesse, et donc une vitesse moyenne inférieure à celle déduite d'une répartition homogène.

Nous observons également une deuxième manifestation de ce même phénomène de compétition advection-diffusion pour certaines configurations où l'augmentation de la différence de pression permet d'explorer la transition homogène-inhomogène, voir la Figure 23a. Une analyse plus fine, reposant sur les formes des distributions de vitesse (probabilité pour une bille d'avoir une vitesse donnée), est cohérente avec l'idée avancée plus haut d'une répartition non homogène des billes lorsque l'advection l'emporte ( $Pe_{entrance}$  élevé, soit ici  $\Delta P$  important). En effet, la Figure 23b montre une évolution de la forme des distributions de vitesse (ou densités de probabilité de vitesse, PDF) avec  $\Delta P$  dans ce cas : le poids relatif des vitesses faibles est bien plus important sur la courbe orange ( $\Delta P$  élevé) que bleue ( $\Delta P$  faible). Un peu

plus quantitativement, nous avons utilisé ces distributions de vitesse pour remonter à une répartition spatiale dans la hauteur, en attribuant à chaque vitesse mesurée une altitude  $Z$  (Figure 23c) puisque l'on connaît le profil de vitesse. Sauf dans les zones où une telle mesure (indirecte) est biaisée du fait du mouvement Brownien, très près des murs ( $z/h = 0$ ) et surtout du centre ( $z/h = 0.5$ ), on constate en effet que la répartition à faible vitesse est plate (en bleu) alors que pour celle à vitesse élevée, la concentration en billes est bien plus élevée près des murs que du centre.

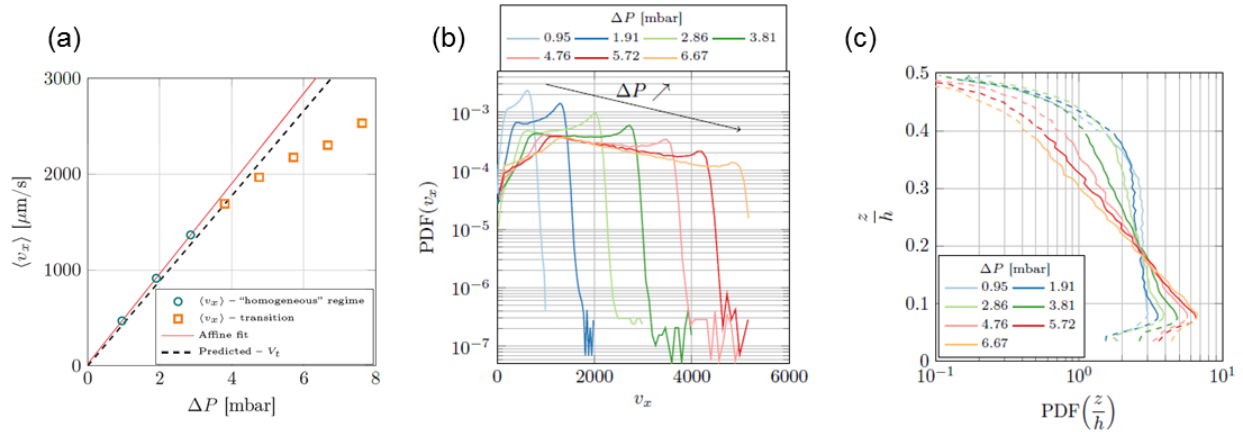


Figure 23 – Transition homogène-inhomogène explorée en variant la différence de pression. (a) Evolution de la vitesse moyenne de billes de 100 nm dans des canaux de 1300 nm. (b) Evolution de la forme des distributions de vitesse (fonction de distribution de la probabilité) pour ces mêmes données. (c) Distribution spatiale transverse des billes dans la hauteur du canal, déduite des distributions de vitesse du (b).

Une statistique de mesures suffisante (plus de 30 000 mesures de vitesse pour chaque point, Figure 22a et Figure 23a) est cruciale ici, et une clé pour cela a été la mise en place de méthodes d'analyse d'images puissantes (calcul parallèle sur des serveurs dédiés), par Olivier Liot.

Nous avons également mené des séries d'expériences pour les mêmes configurations, sur des lots de polymersomes de PEO-PMMA (poly(éthylène glycol-b-méthylméthacrylate), fabriqués et marqués en fluorescence selon la méthode décrite dans la référence<sup>95</sup>, donnant les objets les plus reproductibles dans la gamme de taille 100 nm – 1  $\mu\text{m}$ , par Agathe Figarol lors de son post-doctorat (IMRCP-IPBS).

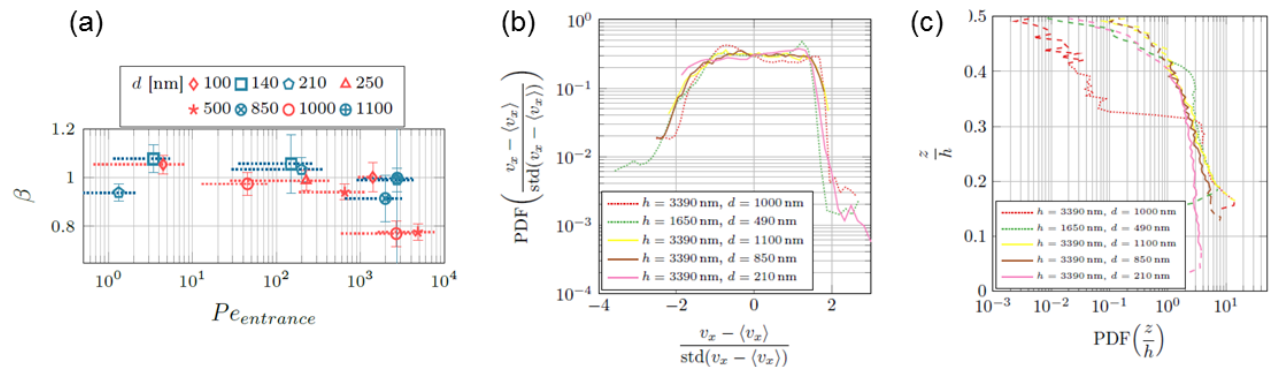


Figure 24 - Transport de polymersomes dans des jonctions. (a) Vitesse moyenne normalisée par la prédiction, (polymersomes en bleu) en fonction du nombre de Péclet d'entrée, pour différents diamètres  $d$  de polymersomes. (b) Distributions de vitesses normalisées, pour ces polymersomes (traits continus) et pour des billes (trait pointillé). (c) PDF de positions (distribution spatiale) déduites des mesures de vitesse, pour des polymersomes (continu) et des billes (en pointillés).

Brièvement, nous observons un accord des vitesses moyennes de ces objets avec la prédiction, en considérant une distribution spatiale homogène, dans une gamme de Péclet comparable aux mesures pour les billes en polystyrène (Figure 24a). Cependant, les analyses des formes des distributions de vitesses semblent indiquer que les objets aux  $Pe_{entrance}$  les plus élevés commencent à ne plus être répartis de façon complètement homogène. En effet, sur la Figure 24b, la courbe rose ( $Pe_{entrance}$  faible, homogénéisation par diffusion) présente un plus fort poids des vitesses élevées que la jaune ( $Pe_{entrance}$  élevé), et sur la Figure 24c la probabilité de présence est relativement homogène pour la rose, alors que la jaune présente un excès de concentration près du mur ( $z/h$  faible). Les propriétés mécaniques des objets pourraient expliquer ces légères différences billes-polymersomes, avec un possible décalage de la transition. Cependant l'analyse quantitative est délicate pour au moins deux raisons. D'une part, il y a très peu de données quantitatives sur la déformabilité des polymersomes : à notre connaissance les seuls travaux concernent d'autres compositions en polymères<sup>99,100</sup>. D'autre part, l'analyse des déformations sous écoulement est complexe<sup>101</sup>. De telles études (outil microfluidique pour caractériser la mécanique d'objets souples, et étude du couplage déformation / écoulement) s'intègrent cependant très bien aux perspectives scientifiques que j'évoquerai dans la dernière partie de ce manuscrit, même si j'envisage plutôt de les appliquer principalement à des membranes lipidiques et à leurs interactions avec des nanoparticules.

Ces résultats ont été publiés en 2018 dans la revue Journal of Physics : Condensed Matter<sup>21</sup>, à l'occasion d'un numéro spécial « [Transport in Narrow Channels](#) ».

Notons enfin, pour ce volet sur les objets isolés, que des objets auto-assemblés bien plus gros (diamètre de l'ordre de 5  $\mu\text{m}$ ) ont également été fabriqués, par électroformation (Figure 25b), puis injectés dans des puces avec des canaux de hauteur bien inférieure à leur taille (1  $\mu\text{m}$  typiquement). L'idée était de pouvoir observer directement par microscopie le cas de déformations de grande amplitude, même si ces objets sont trop gros pour une utilisation en vectorisation.

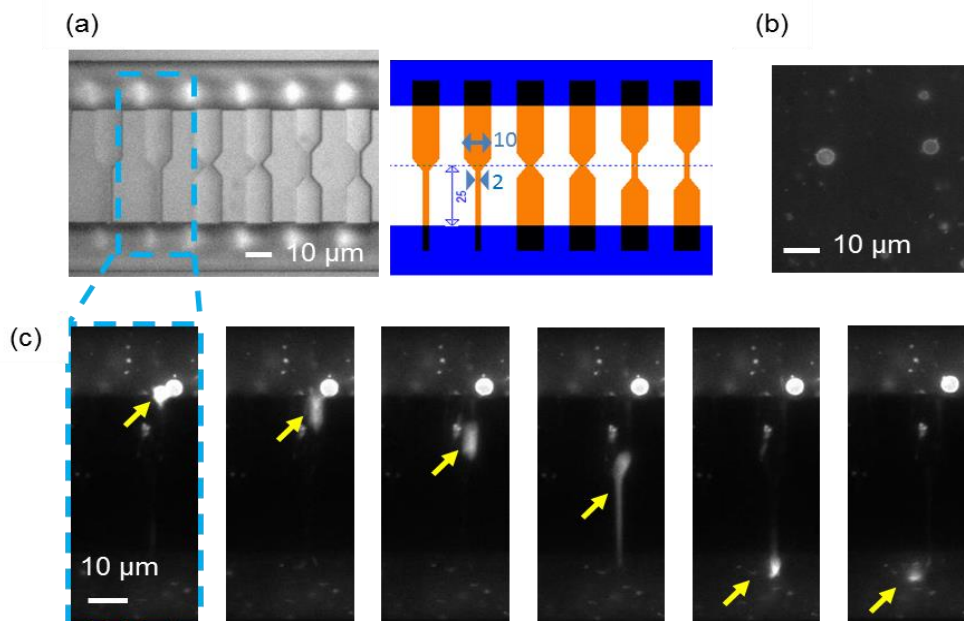


Figure 25- Passage d'objets « géants » au travers de jonctions de dimension bien inférieure à la leur. (a) Design de canaux de 1  $\mu\text{m}$  de profondeur, présentant une constriction de 10  $\mu\text{m}$  à 2  $\mu\text{m}$  de large (en orange sur le masque présenté à droite), connectant deux microcanaux de 10  $\mu\text{m}$  de profondeur (en bleu). (b) Image en microscopie de fluorescence de polymersomes géants de PEO-PBD obtenus par électroformation. (c) Time lapse du passage d'un objet de 4  $\mu\text{m}$  de diamètre à travers une constriction (intervalle de temps entre image  $\sim 0.01$  s), pour une différence de pression de 52 mbar.



Qualitativement, des polymersomes de 3  $\mu\text{m}$  sont capables de traverser des canaux de section  $1 \times 2 \mu\text{m}^2$  en conservant leur intégrité, alors que les objets de plus de 5  $\mu\text{m}$  sont visiblement détériorés dans les mêmes conditions (Figure 25c). Un seuil de pression apparaît pour le passage des plus gros objets.

### II.1.2 Transfert de nano-objets en présence de globules rouges : lien avec la margination

Un effet important et encore mal compris dans le transport d'espèces dans le sang, est celui de la répartition non-homogène dans la section des vaisseaux sanguins. On parle de margination pour la plus forte concentration de certains types d'objets (comme les plaquettes ou les globules blancs) au voisinage des parois des vaisseaux<sup>94,102,103</sup>. Dans le cadre de notre projet ANR, Marc Léonetti (laboratoire IRPHE) étudie de façon systématique ce phénomène en mesurant la distribution spatiale de globules rigidifiés mélangés en faible proportion aux globules rouges non modifiés, dans l'esprit des travaux de Chen<sup>104</sup>.

Côté LAAS nous avons cherché (post-doctorat de Marius Socol) à relier la margination éventuelle des nano-objets dans un canal principal (représentant le vaisseau sanguin) à leurs propriétés de transport dans des jonctions latérales (représentant les interstices entre cellules des parois du vaisseau, chemins de passage des vecteurs du vaisseau vers le tissu).

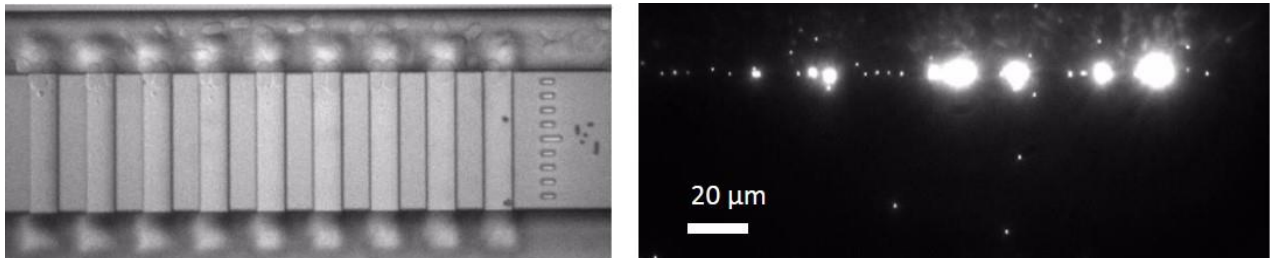


Figure 26 – Expériences en présence de globules rouges et de nanoparticules. Jonctions de 1,6  $\mu\text{m}$  de profondeur, globules rouges à 10%, particules de latex de 250 nm de diamètre. A gauche : Image en lumière blanche. On observe l'entrée partielle des globules à l'entrée des jonctions. A droite : image en fluorescence. L'accumulation de nanoobjets, liée à l'obstruction partielle par les globules rouges, perturbe la mesure.

Pour cela, des expériences sur des géométries microcanaux / nano-jonctions ont été réalisées avec une solution de globules rouges mélangés avec différents types de nano-objets. Les difficultés techniques liées à la présence de composants sanguins (obstruction partielle des nanocanaux par les globules rouges (Figure 26), très déformables, problèmes d'adhérence) ont été des obstacles importants à une analyse quantitative.

Qualitativement, **nous ne mettons pas en évidence de margination** : la répartition spatiale des nano-objets dans le microcanal principal reste homogène. Nous avons mesuré les propriétés de passage des objets transférés à travers les jonctions : leur concentration moyenne dans la fraction de solution qui traverse les jonctions est comparable à la concentration initiale, ce qui est cohérent avec l'absence de margination des nano-objets. Pour approfondir ces résultats nous envisageons de revenir à une situation plus simple en étudiant la margination seule (canal principal sans jonction) : des publications récentes semblent indiquer que des objets trop petits (la taille typique de coupure étant de l'ordre du micron)



## II - Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la santé

marginent peu<sup>105</sup> et que la longueur de canal nécessaire pour établir une margination peut être importante ( $\sim$ cm) selon le taux d'hématocrite (concentration des globules).<sup>103</sup>

Pour conclure sur ce projet, la dernière partie du travail est réalisée *in vivo* par une équipe de biologistes (MP Rols, Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale). L'idée est donc finalement de fournir une analyse à la fois multi-échelle et multi-disciplinaire du transport des vecteurs synthétiques dans les vaisseaux sanguins.

## II.2 TRI HYDRODYNAMIQUE DE NANOPARTICULES

Un point clef de nombreux systèmes d'analyse est la préparation de l'échantillon, ce qui souligne l'intérêt de développer des systèmes microfluidiques capables de purifier, concentrer, trier une solution d'intérêt, en manipulant des nano-objets.

J'ai participé il y a quelques années à un projet (Micro Laboratoires d'Analyse In Situ pour Observatoires Environnementaux, coordinateur Philippe Behra, LCA) dont l'objectif long-terme était le développement de capteurs environnementaux, en particulier pour détecter le mercure dans les eaux continentales sous ses différentes formes (on parle de spéciation, détection indépendante des différentes formes physico-chimiques).

Notre rôle a été de réaliser un module microfluidique de préparation de l'échantillon permettant un fractionnement, c'est-à-dire la séparation par taille de micro et nano-objets en amont de la mesure.

Le tri de microparticules par microfluidique est un sujet très actif (voir par exemple les revues<sup>106,107</sup>, ou notre introduction dans l'article<sup>22</sup>, pour un aperçu de l'état de l'art).

La méthode que nous avons retenue pour le tri est la filtration hydrodynamique, basée sur l'exclusion stérique des particules au niveau d'un embranchement microfluidique (Figure 27), initialement développée par Yamada *et al.*<sup>108,109</sup> à l'échelle de quelques microns, pour le tri de cellules. Elle présente plusieurs avantages, dont les principaux sont la simplicité (une seule entrée de fluide, fonctionnement passif sans champ externe additionnel) et la robustesse (la taille de tri dépend seulement de la géométrie, et elle est petite devant la dimension des canaux, ce qui limite l'obstruction).

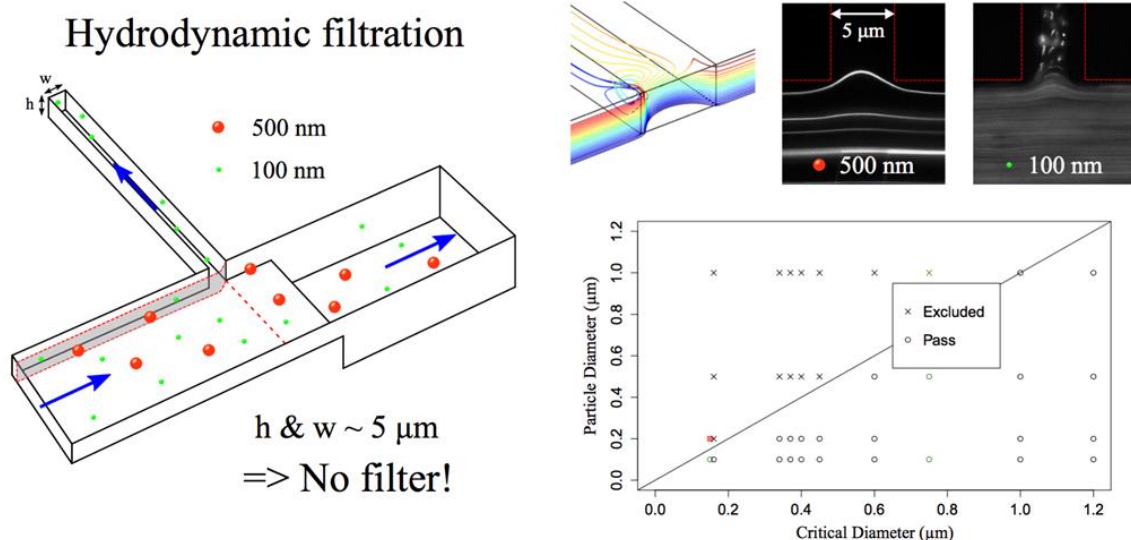


Figure 27- Tri de particules submicrométriques par filtration hydrodynamique. Principe de la méthode, illustré avec en entrée un mélange de particules de deux tailles ; et dessin à deux niveaux permettant de réduire la résistance hydrodynamique de sortie. Mesure en microscopie optique permettant de déterminer si des particules de diamètre connu (des billes en polystyrène fluorescentes de 0,1  $\mu\text{m}$  et 0,5  $\mu\text{m}$  ici) sont triées à une intersection. Ici le canal secondaire a une section de  $5 \times 5 \mu\text{m}^2$  et la taille de coupure prédite est de 0,32  $\mu\text{m}$ . (c) Bilan des résultats expérimentaux obtenus pour un ensemble de particules de différentes tailles, donnant l'exclusion (x) ou la pénétration (o). La ligne pointillée est la prédiction théorique, en bon accord avec nos mesures. Graphical abstract de l'article *Lab Chip* 2016, Fouet *et al.*<sup>22</sup>

## II - Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la santé

Notre travail a principalement porté sur deux points :

(1) Un calcul exact pour prédire la taille de coupure, par une résolution analytique prenant en compte le profil de vitesse réel pour un canal de section rectangulaire, ce qui nous a permis un dimensionnement du système avec l'écoulement réel.

(2) Un design original : le recours à un canal de sortie avec deux épaisseurs très différentes (Figure 27). Cela permet, en diminuant très fortement la résistance hydrodynamique du canal de sortie principal, d'obtenir une très petite taille de coupure (dans la gamme 100 nm - 1 µm) tout en conservant un encombrement raisonnable (de l'ordre du cm<sup>2</sup> pour la puce complète) et une section du canal de sortie secondaire où sont extraites les particules égale à 5x5 µm<sup>2</sup>, soit une dimension bien supérieure à la taille des particules triées.

Nous avons démontré la faisabilité du tri de particules de dimensions largement sub-micrométriques, sans membrane, ce qui constitue un gain de presque un ordre de grandeur par rapport à l'état de l'art.<sup>22</sup>

Nous avons aussi analysé en détail les performances et limites de l'approche. Du fait de la forme du profil de vitesse à la jonction (insert de la Figure 27, la séparatrice n'est pas parfaitement parallèle au mur latéral. Des particules situées à différentes hauteurs dans le canal ne voient donc pas la même taille de coupure, et la taille de tri est donc légèrement bruitée. De plus, du fait de la diffusion Brownienne, les particules peuvent changer de ligne de courant lorsqu'elles traversent l'entrée de la jonction, ce qui rend également moins bien définie la taille de coupure. En comparant advection et diffusion au passage de la jonction (cette comparaison fait intervenir un nombre de Péclet, voir la référence <sup>22</sup>), nous estimons ce

brouillage typique de la taille de coupure  $r$  à  $\Delta r \sim \sqrt{\frac{2kT}{3\pi r^2} \frac{wL}{\Delta P h}}$ , où  $\Delta P$  est la différence de pression appliquée et  $L$  la longueur du canal principal. Ce mécanisme est négligeable pour des objets micrométrique, mais pour  $r = 150$  nm, l'erreur est de l'ordre de la taille des particules ( $\Delta r \sim 60$  nm) pour  $\Delta P = 1$  bar, et pour des nanoparticules l'effet devient très marqué (dépendance en  $1/r^2$ ). Utiliser ce principe hydrodynamique pour des objets colloïdaux est donc intéressant (l'approche est très simple) mais demande de travailler sur le design pour contourner (voire exploiter) ces limites.

Même si les objectifs à long terme (intégration de la détection, passage à des échantillons réels, mesures *in situ*) n'ont pas pu être abordés, nous avons donc montré à travers ce travail la possibilité d'étendre les performances du système de filtration hydrodynamique à des tailles submicroniques pour l'extraction de la phase particulaire.

Les **perspectives de ces travaux concernent l'extraction et la concentration de nano-objets, en particulier les exosomes et vésicules extracellulaires, dans les fluides biologiques**. Ce projet constitue une base solide de travail pour le projet ANR Madness porté par Anne-Marie Gué (thèse de Lyne Pillemont depuis début 2018). L'objectif est d'isoler et analyser des microparticules sanguines, qui sont des nano-objets de 50 nm (exosomes) à quelques centaines de nanomètres, circulant dans les fluides biologiques, et qui sont particulièrement pertinents pour le diagnostic (elles contiendraient par exemple plus de la moitié des microARNs circulants, biomarqueurs du cancer du pancréas)<sup>110</sup>. Le domaine des laboratoires sur puces est très actif sur ce sujet comme en témoigne les nombreuses revues récentes : voir par exemple les trois (!) revues<sup>111-113</sup> ciblant l'isolation, extraction, détection d'exosomes par microfluidique, la revue<sup>114</sup> traitant de façon plus générale des vésicules extracellulaires.

Citons quelques résultats marquants des laboratoires sur puce appliqués à la manipulation de vésicules extracellulaires : une double filtration capable d'isoler et enrichir des vésicules extracellulaire (en vue du diagnostic de cancers) a été démontrée<sup>115</sup>. Des puces réalisant une immunocapture d'exosomes ont été utilisées pour le diagnostic du cancer du sein<sup>116</sup>.

Nous avons retenu pour le projet Madness l'approche de filtration hydrodynamique pour réaliser l'isolation des vésicules, du fait de sa simplicité de mise en œuvre et de son potentiel à être mise en cascade avec un système de détection placé en aval. Parmi les challenges identifiés, nous viserons à améliorer l'efficacité des puces à ces tailles (seule une faible fraction de l'échantillon est purifiée, plus de 99% du volume passe par la sortie principale, non filtrée).

Mentionnons enfin la **séparation d'exosomes dans un fluide non-newtonien**, démontrée par Liu *et al.*<sup>117</sup>, car elle est liée à mes activités sur deux plans :

1. Nous avons réalisé des expériences préliminaires pour l'appliquer, en collaboration avec les Universités de Florence (D Berti) et de Brescia (P Bergese). Ces deux équipes travaillent ensemble pour adapter les méthodes issues de la physico-chimie (concevoir les exosomes comme des colloïdes plutôt que comme des objets biologiques, ce qui permet de mieux les caractériser<sup>118</sup>) et de la physique (mesures nanomécaniques par exemple<sup>119</sup>) pour manipuler et sonder les exosomes. Dans ce cadre, Giacomo Becheri, en stage à Florence et Brescia en 2017, a testé des puces fabriquées au LAAS, reposant sur le design de Liu *et al.*, dans l'idée de combiner ces approches avec les fonctions de préparation d'échantillon permises par la microfluidique. Je reviendrai sur ces collaborations et leurs perspectives dans la deuxième partie du manuscrit.

2. Le principe de la puce repose sur des forces transverses, subies par des objets placés dans l'écoulement d'un fluide viscoélastique, qui sont fonction de leur taille. Ces forces sont à la base du projet  $\mu$ LAS, concentration d'ADN circulant, qui fait l'objet de la section suivante.

## II.3 CONCENTRATION ET SEPARATION DE L'ADN POUR LE DIAGNOSTIC EN ONCOLOGIE

Pour diagnostiquer de nombreuses pathologies impliquant des altérations génomiques (c'est le cas des cancers en particulier), l'ADN circulant dans les fluides biologiques est depuis quelques années un marqueur de choix (la revue <sup>120</sup> propose une comparaison des cellules tumorales circulants CTC, de cet ADN circulant, et des exosomes évoqués au paragraphe précédent). En effet, les « biopsies liquides »<sup>121</sup> permettraient de remplacer les prélèvements de tissus par une simple prise de sang, voire une analyse d'urine ou de salive. Cependant, les défis à relever pour généraliser ce type d'analyses sont encore importants : la concentration de la cible (l'ADN porteur de l'information sur la maladie) est souvent très faible (de l'ordre du ng/mL). De plus, elle est généralement noyée dans un échantillon très riche (le sérum sanguin, obtenu après élimination des globules rouges, globules blancs et plaquettes par centrifugation, contient un ensemble de protéines en plus de résidus d'ADN génomique) ; or la séparation de biomolécules est un processus long et complexe nécessitant une matrice solide (gel d'électrophorèse par exemple). Les puces microfluidiques, permettant de mettre en œuvre de nouveaux principes de séparation ou de détection et de les intégrer, ont une place de choix dans les innovations du domaine.

Dans ce cadre, j'ai depuis 2014 consacré une part de mes activités à un programme ciblant la **séparation et concentration d'ADN par microfluidique**. L'approche, baptisée  $\mu$ LAS, est portée par Aurélien Bancaud, en collaboration avec l'oncopôle de Toulouse (CRCT, Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse). Elle repose sur des brevets récents<sup>122</sup> et Aurélien travaille avec une start-up (Picometrics) pour le transfert technologique vers l'industrie. Plusieurs thèses sont actuellement en cours sur les différents volets du sujet (principes physique et optimisation, cas des longs ADN, automatisation...). J'ai participé à l'encadrement de thèse de Rémi Malbec (soutenue en décembre 2017) qui s'est attaché à améliorer les performances de concentration, aller vers des échantillons biologiques bruts, et appliquer les dispositifs à des questions médicales réelles.

Le principe physique est le suivant. Un actionnement combiné pression hydrodynamique (pour générer l'écoulement) et champ électrique (pour retenir les molécules) dans un fluide viscoélastique induit sur des molécules chargées (l'ADN) des forces transverses à l'écoulement, fonction de leurs propriétés (taille, charge). Cela déplace différentes molécules vers des zones de vitesses différentes, et entraîne leur séparation (Figure 28(a)). Enfin, une géométrie en constriction permet de bloquer l'ADN à une position qui est fonction de sa taille, permettant la concentration en même temps que la séparation.<sup>23</sup>

La Figure 28(c) montre par exemple la concentration d'un « ladder » d'ADN contenant dix tailles de molécules de 100 à 1500 paires de base (le marquage en fluorescence est réalisé par un intercalant (YOYO)). Le dispositif est capable de concentrer d'un facteur supérieur à 100 par minute, tout en séparant les constituants.

## II.3 - Concentration et séparation de l'ADN pour le diagnostic en oncologie

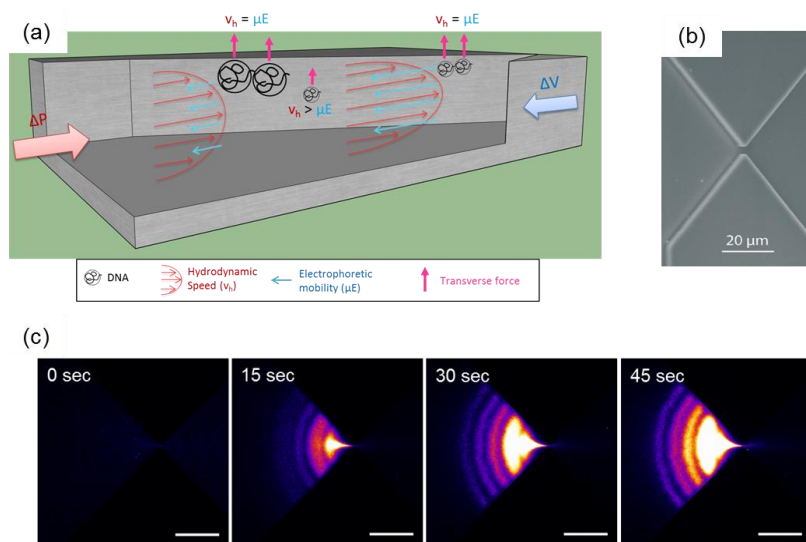


Figure 28 –  $\mu\text{LAS}$  : Séparation et Concentration de l'ADN par actionnement conjoint pression/champ électrique dans un fluide viscoélastique. (a) Principe physique, (b) Image SEM d'une géométrie typique de constriction, (c) Concentration d'un ladder d'ADN 100bp à une constriction en moins d'une minute.

Ces approches requièrent également une détection sensible et sélective, car pour de nombreux cas, l'information sur la pathologie n'est pas simplement la présence d'un certain fragment d'ADN, mais l'existence ou non de mutations génétiques spécifiques dans ce fragment, généralement en faible proportion (pour un cancer, il s'agit de la proportion d'ADN circulant provenant de la tumeur). Nous travaillons donc également à des méthodes de détection de ces mutations basées sur des balises moléculaires (dont la fluorescence change en présence de la cible), en cherchant à exploiter les capacités de concentration de l'approche  $\mu\text{LAS}$  pour optimiser la sensibilité.

Les cibles de détection sont les microARNs circulants, récemment identifiés comme des biomarqueurs pertinents pour le diagnostic précoce du cancer du pancréas<sup>123,124</sup>, dont l'équipe de P Cordelier (oncopôle de Toulouse, CRCT) est spécialiste.

Comme l'approche est bien adaptée pour quantifier le profil de distribution de taille de l'ADN présent dans un échantillon, Rémi Malbec a également cherché à l'appliquer pour des pathologies dans lesquelles la présence d'ADN de longueur « anormale » (par rapport à un patient sain) peut avoir un intérêt diagnostique. En collaboration avec Vincent Dion (Université de Lausanne), nous avons ainsi pu identifier des répétitions de la séquence de nucléotides CAG, caractéristique de l'ADN de patients atteints de la maladie de Huntington<sup>125</sup>, une pathologie neurodégénérative (article en révision à *Scientific Reports*).

Notons que ce projet s'inscrit également dans une dynamique forte de site entre le LAAS et le CRCT, avec le projet Oncodevice qui porte sur le couplage des technologies avec l'oncologie.





## III OBJECTIFS / PROJET DE RECHERCHE : DES SYSTEMES MODELES DE POREUX, DES MODELES POUR LE VIVANT

---

Pour les années à venir, je poursuivrai naturellement les efforts entrepris depuis 2007 sur le transport en milieu poreux, décortiqué grâce à des réseaux microfluidiques (section III.1, prolongeant le chapitre I). Dans la lignée des travaux présentés au chapitre II, abordant le transport et l'auto-assemblage de nano-objets dans un contexte d'application à la santé, j'explorerai principalement deux directions prospectives : les interactions de modèles de membranes biologiques avec des nanoparticules étudiées grâce aux systèmes microfluidiques, sujet initié lors de mon année sabbatique à Florence en 2015-2016 (section III.2), et la mise en forme de gels comme supports à l'ingénierie tissulaire (section III.3).

### III.1 MODELES DU TRANSPORT DANS LES MILIEUX POREUX : PERSPECTIVES

Beaucoup des travaux du chapitre I ne donnent qu'une réponse partielle aux questions posées par le transport en poreux. Voilà les quelques pistes envisagées, la plupart en collaboration avec le groupe d'étude des milieux poreux du laboratoire IMFT, pour approfondir ces recherches. J'ai pris le parti de les classer selon le paramètre qui diffère des études précédentes, ce qui mélange donc les types d'écoulements (évaporation, drainage, cristallisation...) séparés dans le chapitre I.

#### III.1.1 Echelle « sub-10 nm »

Pour l'échelle nanométrique (section I.1), il serait intéressant d'explorer les spécificités de canaux de dimension bien en deçà des 10 nm.

Cela est envisageable grâce à des développements technologiques spécifiques (nanofentes de rapport d'aspect extrêmement petit, lithographie électronique, approche bottom-up d'auto-assemblages de copolymères). Un matériau qui pourrait également être très pertinent comme nanoporeux contrôlé est le silicium poreux, dont Thierry Leichlé a récemment développé au LAAS l'intégration au sein de réseaux fluidiques.<sup>126</sup>

Pour les questions des contraintes exercées sur un poreux lors de la cristallisation, la compréhension des mécanismes microscopiques se situe typiquement à très petite échelle : comment le cristal transmet-il la contrainte aux murs ? Un film liquide, d'épaisseur nanométrique, est invoqué dans les travaux récents<sup>127</sup>. La formation et l'évolution de ce film fait intervenir la pression de disjonction, et met en jeu des écoulements nanofluidiques ; son étude est naturellement dans la lignée de mes travaux évoqués section I.1.

#### III.1.2 Films de coin

Un ménisque liquide se déplaçant dans un canal mouillant forme spontanément des coins, dont la progression peut modifier la dynamique du liquide, et jouer par exemple sur sa cinétique

d'évaporation<sup>128,129</sup>. Nous soupçonnons que ces effets puissent suivre des lois d'échelles les favorisant pour de très petits canaux, et/ou pour des fentes de faible rapport d'aspect ou de section non homogène. Ces effets pourraient par exemple contribuer aux dynamiques d'invasion capillaire en nanocanaux. Ils sont aussi de bons candidats pour expliquer la dépendance d'échelle du remplissage par le fond de nanocanaux en impasse lors de l'imbibition (Figure 8c) ou de la formation de bulles lors de l'évaporation (Figure 11).

### **III.1.3 Couplage fluide structure : déformation des canaux, pervaporation**

Nous avons vu (section I.2), en utilisant la déformabilité du PDMS et des confinements suffisants, dans quelles conditions la cristallisation d'un sel peut exercer une pression sur les parois de canaux jusqu'à les déformer. Pour ce cas, il sera intéressant de se pencher sur la capacité d'autres cristaux à générer des contraintes. Le sulfate de sodium diffère par exemple du NaCl pour la cinétique de croissance, la structure cristalline, et le taux d'hydratation.

On peut généraliser ce type d'observations : dans certaines situations, le milieu poreux lui-même peut donc changer de structure sous l'effet du transport de fluide. Les pressions nécessaires pour provoquer le drainage d'un puits nanoporeux, très peu perméable, sont telles que des effets poro-mécaniques comme la fracture de pores peuvent y apparaître. Même en l'absence de très fortes pressions, un effet important lié à la tension de surface est l'élasto-capillarité<sup>46,73,74</sup>, déformation des parois sous l'effet des contraintes exercées par les ménisques.

Les systèmes microfluidiques sont potentiellement adaptés pour étudier l'influence de la déformation du milieu sur les écoulements, et pour cela la fabrication de structures de fort rapport d'aspect a commencé à être développée. Ainsi, dans le contexte de l'évaporation contrôlée par la géométrie du milieu (Section I.3) nous avons fabriqué des systèmes très élancés en élastomère déformable (du PDMS, PolyDiMethylSiloxane, matériau très classique de la microfluidique), avec un rapport de forme hauteur/largeur supérieur à cinq, capables de se déformer en présence de ménisques liquides du fait des forces capillaires (Figure 29b-c).

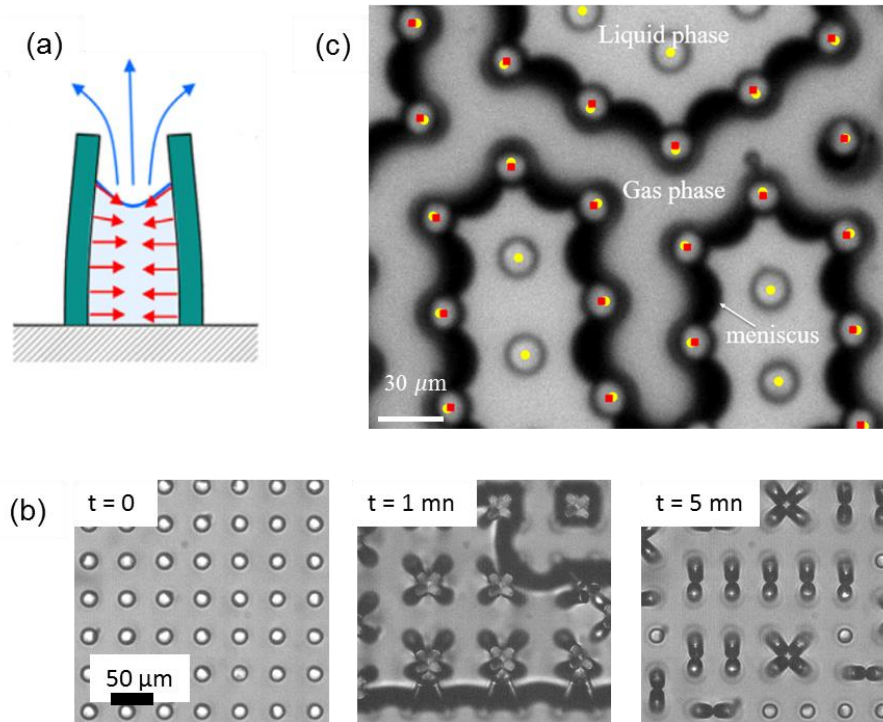


Figure 29 - Perspectives dans le contrôle de l'évaporation par la topologie : couplage entre évaporation, capillarité, et déformation des structures. (a) Principe (design pour des structures sans capot) : le ménisque modifie de façon dynamique la forme du matériau. (b-c) Résultats préliminaires pour l'évaporation d'une goutte d'éthanol sur des piliers en élastomère PDMS de 10 μm de diamètre pour 50 μm de hauteur, espacés de 50 μm : (b) cas extrême de l'effondrement de piliers les uns contre les autres en l'absence de capot (design correspondant au (a)) ; (c) quantification de la déformation des structures pendant l'évaporation, pour des piliers fermés par un capot en verre. La position initiale est repérée en jaune, celle pendant le passage du ménisque en rouge.

Les effets sont très marqués pour des systèmes ouverts, Figure 29a-b (à l'instar de nos cheveux mouillés, selon l'image proposée par J Bico, l'un des spécialistes de l'élastocapillarité<sup>73,74</sup>), en revanche ils sont bien moins importants avec des canaux capotés (Figure 29c), pourtant plus proches de l'intérieur d'un matériau. Nous travaillons donc à obtenir des structures encore plus élancées, et envisageons de passer à des matériaux plus mous comme les hydrogels.

Mentionnons aussi un autre mécanisme susceptible de modifier les écoulements dans le réseau fluide en les couplant au matériau des puces : la pervaporation, ou passage d'un fluide à travers un matériau. Ainsi, la perméabilité du PDMS est utilisée depuis une dizaine d'année par JB Salmon et J Leng pour concentrer des solutions via la pervaporation de l'eau à travers cet élastomère.<sup>130-132</sup> Dans cet esprit, nous commençons à quantifier la façon dont le couplage entre l'évaporation à travers des canaux micrométriques et la porosité nano du matériau influence la cinétique de séchage de réseaux de canaux en PDMS. Notons que ce phénomène fait intervenir une sorte de porosité effective du polymère, dont l'échelle typique est de l'ordre de quelques nanomètres, et rejoint ainsi les perspectives du § III.1.1.

### III.1.4 Complexité de la géométrie : vers un poreux réaliste ?

Réussir à passer progressivement de la complexité élémentaire d'un canal simple (lien connectant deux pores) à un milieu poreux réel (3D, hétérogène en dimension mais aussi en termes de matériaux), tout en conservant le contrôle de la géométrie et chimie locale, doit permettre d'aborder de nombreuses problématiques du transport fluide en poreux. Cela implique toutefois souvent de relever de gros challenges technologiques.

C'est tout à fait la philosophie des développements de réseaux 2D, puis à 2,5D, que j'ai présentés au paragraphe I.1.2.2. Nous avons cependant jusqu'ici seulement appliqué cette approche seulement à quelques configurations d'écoulements, principalement le drainage (section I.1.3). Citons deux cas concrets d'études en cours ou à venir :

1/ En cristallisation (suite de la section I.2) : l'étude de configurations plus réalistes, avec des réseaux 2D de canaux, ouvre des pistes pour répondre à des questions encore ouvertes pour la plupart: où apparaît le premier germe ? Les contraintes seront-elles transmises seulement par celui-ci, ou bien également par les cristaux suivants ? Comment ces premiers cristaux affectent-ils la suite de l'évaporation, la distribution des contraintes ? Quel est le lien entre morphologie du milieu poreux et structure des cristaux : des efflorescences peuvent par exemple apparaître en surface<sup>133,134</sup>, comment celles-ci sont-elles affectées par les caractéristiques du poreux ?

2/ Pour des écoulements gazeux, à nanoéchelle, la raréfaction (décrite par le nombre de Knudsen, rapport du libre parcours moyen des molécules du gaz à l'échelle typique du système) peut devenir importante. Cela a pour conséquence une déviation des propriétés de transport vis-à-vis des équations de milieu continu. Ces déviations sont décrites par différents modèles, dont une bonne part est phénoménologique, et qui n'ont jusqu'ici été testés que sur des canaux simples. J'ai participé récemment, dans le cadre de la thèse de Tony Zaouter (encadré par M Prat de l'IMFT, D Lasseux de l'I2M-Trefle, le laboratoire Maestral du CEA et la société Technetics), à des travaux visant à quantifier la validité des modèles, grâce à des mesures de la relation débit-pressure effectuées sur des puces nanofluidiques 2,5D.

L'axe de développement consistant à complexifier les microsystèmes développés, pour les rendre plus représentatifs de poreux réels, est aussi une perspective riche : topologie 3D (de plus en plus accessible notamment grâce à l'essor de la fabrication additive), matériaux possédant des inhomogénéités chimiques (obtenues par exemple par du patterning).

#### III.1.5 Mécanismes de la filtration (colmatage)

L'étude du colmatage des membranes de filtration (section I.4), est un sujet que j'ai commencé récemment dans le cadre du projet Nemesis (chaire de J Morris, Pr du City College de New-York, à l'Université de Toulouse, avec P Bacchin du LGC, et P Duru de l'IMFT). Je poursuivrai ces activités dans ce cadre, mais aussi à plus long terme en collaboration avec O Liot, recruté en 2018 à l'IMFT et dont une bonne partie du projet de recherche porte sur ce thème.

Les directions prospectives envisagées sont tout d'abord d'approfondir nos résultats concernant la structure du bouchon de colmatage : quelle est l'extension du bouchon irréversiblement collé contre la membrane ? Qu'est-ce qui pilote la présence éventuelle (et la taille) d'une zone réversible de type verre répulsif ? Dans quelles conditions peut-on observer un nuage de colloïdes concentrés au voisinage du pore ? Nous envisageons d'utiliser des mesures sur le « décolmatage », c'est-à-dire la dynamique de disparition partielle du bouchon lorsque l'écoulement à travers la membrane est interrompu, pour étudier ces phénomènes.

Des situations plus complexes, comme celles impliquant des particules déformables, des mélanges de particules, des réseaux 2D de pores, sont aussi à considérer. Une partie fait d'ailleurs l'objet de la thèse d'Alberto Valencia (encadré par C Lafforgues-Baldas), qui a fabriqué avec moi ses dispositifs modèles.

## III.2 MEMBRANES BIOLOGIQUES MODELES ET NANOPARTICULES

Les processus du vivant prenant place au niveau des membranes biologiques constituent l'un des exemples les plus marquants de l'intrication entre physique, mécanique, chimie et biologie. Vu les échelles en jeu (auto-assemblages nanométriques, objets cellulaires micrométriques, inhomogénéité de composition dans les tissus de la centaine de microns au millimètre et plus), il y a fort à parier que certaines questions encore ouvertes ayant trait à ces mécanismes pourraient bénéficier d'une approche microfluidique, capable de contrôler l'environnement à ces différentes échelles, de mettre en contact des molécules pour les assembler, puis de soumettre ces assemblages à des stimuli physico-chimiques maîtrisés.

Dans ce contexte, j'ai initié depuis 2015 un programme de recherche dont l'objectif général est de **combinaison matière molle et microfluidique pour mieux comprendre la physico-chimie des auto-assemblages (principalement des membranes biomimétiques), dans une perspective d'application en biologie.**

### III.2.1 Contexte et état de l'art : microfluidique, matière molle, et membranes artificielles

#### *III.2.1.1 Contexte personnel : mobilité géographique, laboratoire de physico-chimie (Florence)*

Pour mettre en œuvre cette thématique, j'ai séjourné un an (de septembre 2015 à l'été 2016) au laboratoire Self Assembling and Nanosystems, de l'Université de Florence, Italie (UNIFI-CSGI), travaillant principalement avec Debora Berti (Professeur, publications visibles sur [Orcid](#)) et Costanza Montis (post-doctorante, voir [Orcid](#)). Ce laboratoire coordonne un réseau national d'excellence fondé en 1993 : le CSGI, Research Center for Colloids and Nanoscience ([www.csgi.unifi.it](http://www.csgi.unifi.it)). Les activités du CSGI portent sur les nanosciences et les colloïdes (systèmes nanostructurés, structure et dynamique d'assemblées supramoléculaires, procédés innovants et formulations pour la conservation des œuvres d'art). L'unité de Florence, UNIFI-CSGI, mène des activités sur la matière molle (cristaux liquides, fluides complexes, hydrogels), les matériaux intelligents (auto-assemblages stimulables, biomatériaux pour l'ingénierie tissulaire), la chimie des colloïdes, la nanochimie (nanoparticules et nanocomposites), la chimie supramoléculaire (encapsulation par des liposomes, relargage contrôlé), la physico-chimie des formulations (pour l'industrie agro-alimentaire, les revêtements, la cosmétique...).

Utiliser la microfluidique pour ce genre d'auto-assemblages est tout à fait en ligne avec mes intérêts scientifiques. L'approche peut apporter des solutions originales à beaucoup de situations impliquant les objets complexes, microniques de la matière molle, par exemple dans le contexte de la détergence ou la cosmétique : stabilité et propriétés d'émulsions multiples et de capsules, identification des ingrédients clés d'une formulation multi-composants.

Plus particulièrement, les projets sur lesquels je me concentre dans ce cadre sont axés sur les **membranes lipidiques artificielles biomimétiques** dont le partenaire italien est spécialiste.<sup>135-137</sup> L'équipe de Florence a une expertise solide sur ce type de membranes, et sur l'interaction d'assemblages supramoléculaires, conçus à des fins médicales (nanoparticules, liposomes, lipoplexes)<sup>135,136</sup>, avec des modèles de membranes synthétiques, comme des vésicules géantes unilamellaires et des bicouches lipidiques supportées<sup>137</sup>. Plus particulièrement les interactions membranes-nanoparticules (NP) sont ciblées, situation pertinente dans le cadre d'études de toxicité et pour la nanomédecine (administration de médicaments).

Étant l'élément de base des membranes cellulaires, les bicouches lipidiques sont un ingrédient essentiel de nombreux processus biologiques. Afin de comprendre les mécanismes en jeu par exemple dans la translocation des molécules à travers des protéines membranaires, ou l'interaction de la cellule avec des nanoparticules (NP)<sup>138,139</sup>, des membranes artificielles biomimétiques ont été développées, pour décomposer les événements élémentaires en jeu dans des situations biologiques réelles. La question de la pertinence biologique (avantages et limites) de cette approche est vaste, on pourra se référer à la revue de Lagny et Bassereau<sup>140</sup> pour un point de vue général, ou à celle de Rascol *et al.* sur le sujet des interactions NP-membranes<sup>141</sup>. Cependant les méthodes classiques pour fabriquer et manipuler des membranes artificielles (vésicules, compartiments de taille micronique, bicouches supportées ou suspendues) ne permettent qu'une reproductibilité et automatisation limitées (taille, composition chimique de la membrane).

Dans ce contexte, nous combinons la microfluidique (expertise de l'équipe LAAS), qui ouvre une nouvelle méthodologie,<sup>142-144</sup> et la physico-chimie avec pertinence biologique (équipe italienne) afin d'étudier certains processus biologiques des membranes cellulaires. Situons ce travail dans le contexte international, avant de présenter plus précisément les projets scientifiques que je mets en place.

### III.2.1.2 Différentes approches microfluidiques pour les membranes biologiques artificielles

Les technologies microsystèmes, et particulièrement la microfluidique, ont récemment été identifiées comme un outil puissant et versatile pour la fabrication et la manipulation de nombreux types de membranes lipidiques<sup>145</sup>, comme cela est illustré sur la Figure 30.

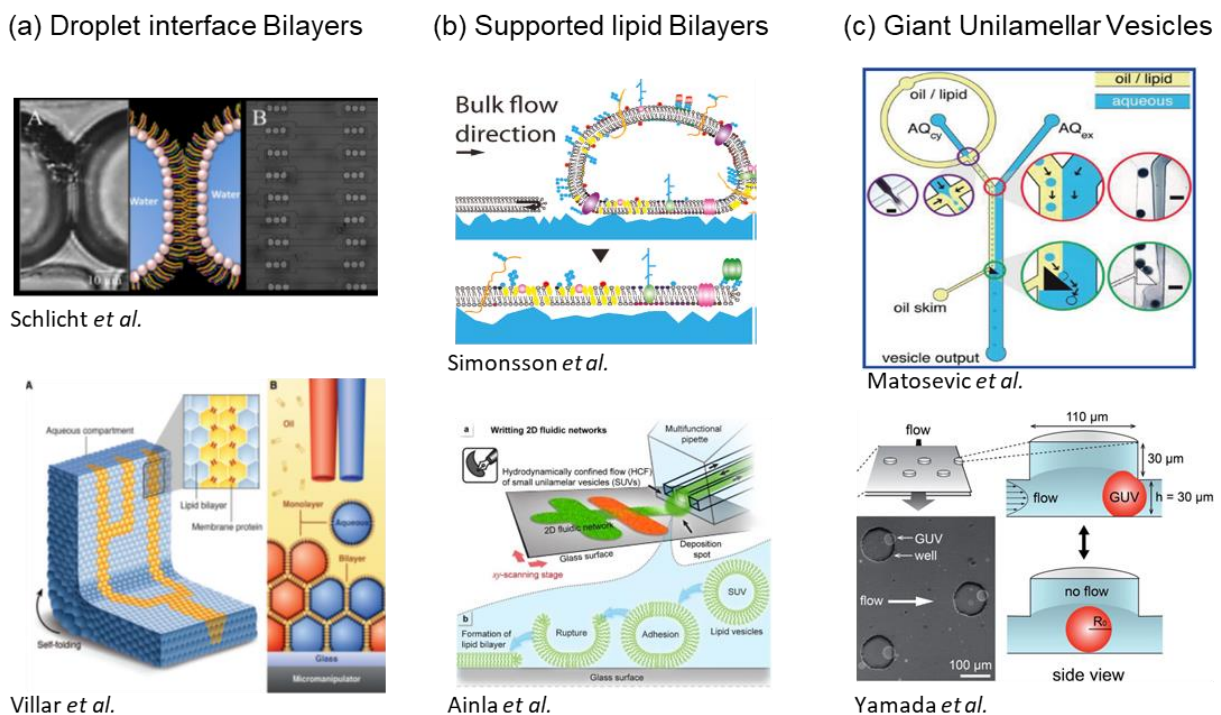


Figure 30 – Approches microfluidiques permettant la formation et la manipulation de bicouches lipidiques : les trois principaux formats. (a) Microgouttes pour contrôler des interfaces (**Droplet Interface Bilayer**) : (haut) leur mise en contact dans des microcanaux<sup>146</sup>, (bas) fabrication en parallèle et mise en contact 3D pour mimer la communication au sein d'un tissu<sup>147</sup>. (b) Membranes supportées sur un substrat (**Supported Lipid Bilayer**), (haut) l'écoulement permet de fusionner des liposomes avec la surface<sup>148</sup>, (bas) une tête incluant deux canaux fluidiques permet de patterner un substrat avec de telles bicouches<sup>149</sup>. (c) **Vésicules Unilamellaires Géantes (GUV)**. (haut) fabrication sur puce de GUV par émulsification puis traversée d'une interface<sup>143</sup>, (bas) piégeage de GUV sur puce pour mesurer leurs propriétés mécaniques<sup>150</sup>.

En effet, la microfluidique permet la manipulation efficace de membranes avec des compositions complexes. Quelques groupes ont commencé à combiner la microfluidique et la matière molle (P Dittrich à l'ETH Zurich, O Ces à l'Imperial College). Plusieurs approches ont été développées :

(a) Bicouches à l'interface de gouttes ou « Droplet Interface Bilayer » : plusieurs équipes utilisent des gouttes avec des phospholipides à leurs interfaces pour former au contact entre elles des membranes, ce qui permet de créer des membranes dissymétriques<sup>146,151</sup>, Figure 30a et donne accès à des cinétiques très rapides<sup>152</sup>. Un intérêt de cette approche est la connectivité entre goutte : faire des assemblées de gouttes permet dans une certaine mesure de mimer un tissu, en particulier pour reconstituer les chemins de communication entre cellules (signalisation)<sup>147,153</sup> comme démontré par l'équipe de Bayley (Oxford, UK).

(b) Manipulation de bicouches supportées (Supported Lipid Bilayer, SLB). Le groupe de Hook a développé la fusion d'une membrane avec des vésicules adsorbées pour créer une membrane supportée de composition impossible à obtenir par les approches classiques (ouverture spontanée de vésicules)<sup>148</sup>, Figure 30b. Cette méthode permet aussi d'extraire la membrane externe d'une cellule réelle, pour la déposer sur un substrat<sup>154</sup>. L'intérêt est ici de parvenir à des objets plans (couche supportée) plus adaptés à certaines caractérisations comme l'AFM (encore que celui-ci nécessiterait un accès mécanique à la surface, ce qui n'est pas le cas pour un canal, fermé) ou le SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy). Une extension de cette approche à des surfaces possédant une structuration micrométrique semble aussi démontrer la possibilité de connecter de façon continue deux réservoirs séparés par des trous micrométriques<sup>155</sup>, ce qui est particulièrement séduisant pour des mesures électriques de perméabilisation et de transport ionique à travers des protéines membranaires (canaux ioniques) par exemple. Ainala *et al.* ont par ailleurs démontré l'utilisation d'une tête d'impression microfluidique intégrée à un bras pour déposer de façon contrôlée des SLB de composition ajustable, non homogène, patternée<sup>149</sup>.

Dans le même esprit, Stimberg *et al.*<sup>156</sup> (équipe de S. Le Gac, Twente) combinent une bicouche supportée avec un orifice de topologie contrôlée, ce qui permet de mesurer de façon quantitative les échanges à travers une bicouche suspendue placée sur le trou.

#### (c) Vésicules Unilamellaires Géantes (GUV) fabriquées et manipulées sur puce

La troisième grande famille d'objets impliquant des membranes artificielles est constituée par les vésicules unilamellaires géantes, objets constitués d'une membrane lipidique contenant un compartiment aqueux, de taille typique 5 à 100  $\mu\text{m}$ . Ces GUV sont habituellement fabriquées par électroformation, selon un procédé assez simple d'électroformation : dépôt et séchage d'un film de lipide sur une lamelle d'ITO, substrat transparent et conducteur, puis application dans une solution sucrée d'une tension de l'ordre du volt à quelques hertz pendant quelques heures, grâce à une deuxième substrat d'ITO placé en regard du film. Ce procédé est toutefois limité : objets très polydisperses, impossibilité de travailler avec une force ionique physiologique (malgré des progrès récents sur ce point<sup>157</sup>), composition des couches internes et externes identiques. Toute une classe de travaux, reposant plus ou moins fortement sur les microtechnologies fluidiques, ont donc cherché à fabriquer des GUV sur puce, comme Matosevic en faisant traverser une interface huile/eau à des gouttes d'eau en présence de lipides dans la phase huile<sup>143</sup> (Figure 30c, en haut). La possibilité de choisir la topologie des canaux se prête également bien à la manipulation de ces GUV, comme illustré par les expériences de la Figure 30c (en bas), où les propriétés mécaniques de vésicules sont déterminées par leur capacité à rester piégées malgré un écoulement<sup>158</sup>.



Les configurations et possibilités de ces différentes approches sont donc complémentaires, ce qui témoigne du potentiel de la combinaison technologie microfluidique/membrane. Une membrane supportée est a priori mieux adaptée à la caractérisation (imagerie et spectroscopie) et l'approche de Hook et Simonsson<sup>148,154</sup> permet de manipuler des bicouches avec une composition que les techniques usuelles (déposées, suspendues) ne permettent pas. La fusion de vésicules sur des membranes<sup>155</sup> est par exemple un cas où des bicouches mixtes supportées/suspendues permettent un procédé de séparation<sup>159</sup>. En revanche, les gouttes permettent des compositions asymétriques (plus proche des membranes biologiques réelles) et autorisent l'étude dynamique au moment du contact entre gouttes, mais sont intrinsèquement moins « propres » car il y a un solvant entre les gouttes avant la fusion de leurs interfaces. Enfin, les vésicules géantes (GUV), compartiments micrométriques, évoquent immédiatement la cellule biologique. Comme ce format est de plus particulièrement adapté à la microscopie optique et à la manipulation dans des canaux, c'est celui que nous avons retenu pour nos projets. Voyons comment on peut fabriquer et manipuler ce type d'objets en microsystèmes.

### **III.2.1.3 La microfluidique, un outil de synthèse : des vésicules aux cellules artificielles ?**

Des microcanaux en Y ou en focalisation hydrodynamique sont utilisés comme microréacteurs depuis les années 2000, et tout un sous-ensemble de travaux ont visé à fabriquer des liposomes selon cette approche<sup>160,161</sup>. Ces objets peuvent être caractérisés par diffusion de rayonnement pour caractériser certains processus membranaires, mais comme leur dimension n'excède pas la centaine de nanomètres, ils sont la plupart du temps plutôt à la base de composition de nanovecteurs, « cargo » dont la fonction est d'amener un médicament vers un endroit du corps ciblé. Cette question rejoint des travaux que j'ai évoqué plus haut dans ce manuscrit, sur le transport de nano-objets (section II.1), mais les liposomes ne sont en revanche pas les plus adaptés pour mimer une cellule. Pour cela, les approches les plus courantes sont basées sur des émulsions<sup>162</sup> ou sur des vésicules géantes. La revue de Kamiya et Takeuchi propose un panorama de l'utilisation de liposomes géants pour la formation de cellules artificielles<sup>163</sup>.

Dans un souci de réalisme, ou plutôt de pertinence vis-à-vis du mécanisme biologique que l'on cherche à reproduire ou décortiquer, bon nombre de travaux s'efforcent d'obtenir des objets intégrant plus de complexité. Il me semble que l'on peut classer ces efforts selon deux caractéristiques :

- **Une composition reproduisant certains éléments des cellules biologiques**, citons quelques exemples. Des lipoplexes (complexes liposomes/ADN) ont été fabriqués par microfluidique<sup>164</sup>. Des membranes mimant celles de bactéries ont été développées, par inclusion de lipides natifs et protéines membranaires dans des bicouches supportées<sup>165</sup>; et leur interaction avec des antibiotiques a pu être testée. Le format de gouttes en contact (DIB) a été mis en œuvre avec une composition de membrane typique des plantes<sup>166</sup>. Des DIB de composition ajustable (par titration microfluidique) ont été démontrés<sup>167</sup>. Mentionnons la fabrication par encapsulation microfluidique d'un cytoplasme de composition biologique pertinente<sup>168</sup>, ou l'obtention de vésicules intégrant des protéines du cytosquelette et transmembranaires<sup>169</sup>. L'asymétrie des membranes (composition en lipides différente pour les feuillettes internes et externes) est aussi un élément important des membranes réelles, que de nouvelles méthodes de fabrication permettent de viser<sup>142,170</sup>.
- **Une architecture de multi-compartiments**, approche présentée de façon exhaustive dans la revue de Trantidou (équipe de Ces et Seddon à l'Imperial College)<sup>171</sup>, dont les différentes déclinaisons sont visibles sur la Figure 31b. Citons là aussi quelques exemples de ce type de



formats : Des gouttes multivésiculaires (groupe de P. Dittrich)<sup>172</sup>, des coacervats dans des liposomes<sup>173</sup>, des vésosomes<sup>174</sup> obtenus par démouillage dans une double émulsion, des vésicules encapsulant des cellules jouant le rôle d'organelles<sup>175</sup>.

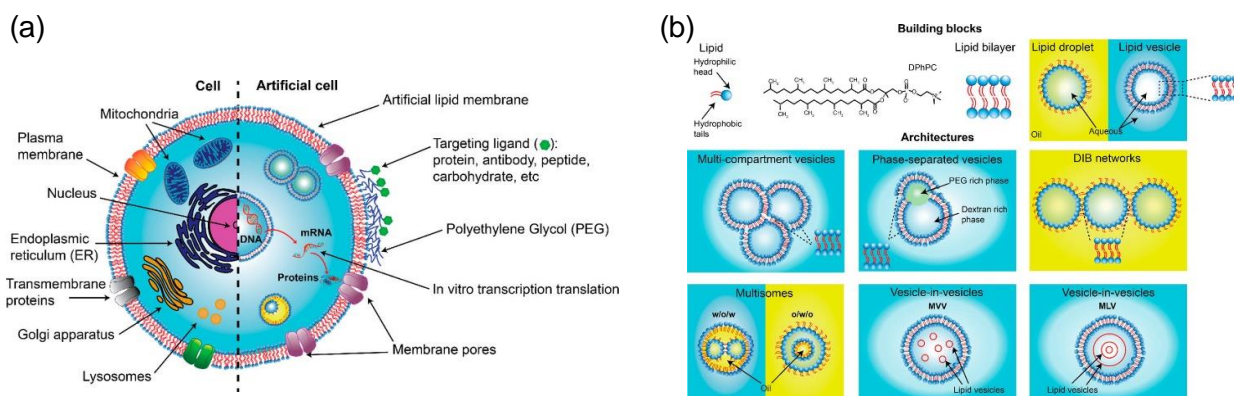


Figure 31- Cellules artificielles incluant des compartiments (a) Analogie cellule – cellule artificielle. (b) Différentes architectures pour des constructions de cellules artificielles basées sur des lipides. D'après la revue <sup>171</sup>.

Ces approches reposent en bonne partie sur la science et les méthodes des émulsions et auto-assemblages, et ne recourent pas systématiquement aux technologies microfluidiques. Ces dernières sont cependant au cœur de la plupart, car elle permet une multitude de fonctions : formation de gouttes ou double émulsion calibrées, mise en contact contrôlée, séquentielle, de constituants.

#### III.2.1.4 Piéger, manipuler, mesurer les propriétés de vésicules et cellules sur puce

L'une des fonctions intéressantes permises par la liberté de design de la microfluidique est de **capturer un objet micrométrique puis le soumettre à un stimulus contrôlé** (solution contenant un réactif, exposition à des UV), et éventuellement de **mesurer simultanément ses propriétés** (forme, modification de volume, conductivité, etc.).

Plusieurs géométries originales ont ainsi été proposées depuis une bonne dizaine d'années pour **capturer vésicules et cellules** (voir par exemple les revues de Laurell *et al.*<sup>107,176</sup>). Citons quelques-unes des plus astucieuses : des méandres (Tan, Takeuchi <sup>177</sup>), des espaces fins (2µm) piégeant des cellules au milieu de canaux plus profonds (Di Carlo <sup>178,179</sup>), des piliers au sein de zones de by-pass (Nuss, Malloggi <sup>180</sup>), des « ancrs » constituées par des zones légèrement plus profondes que le reste du canal, puits de potentiel pour la déformation des GUV (Yamada, Baroud<sup>150</sup>), voir la Figure 32.

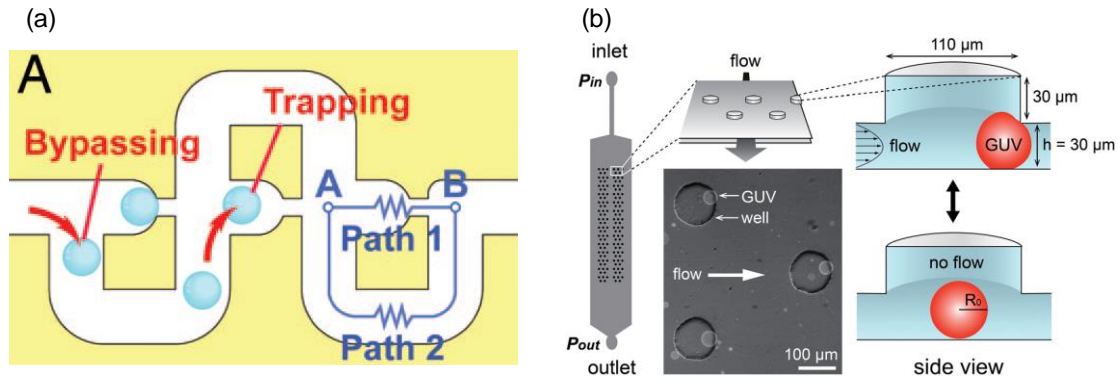


Figure 32- Piégeage de vésicules ou cellules sur puce : (a) Méandres et « by-pass ». (b) Ancres microfluidiques. D'après les références <sup>177</sup> et <sup>150</sup>.

Il est possible de **rajouter à cette étape de piégeage la mesure de propriétés**, en intégrant le design fluide adéquat. Par exemple, Robinson et Dittrich utilisent un piège simple -l'espace entre 2 plots- combiné avec une vanne circulaire « à la Quake » (deux niveaux de canaux superposés séparés par une membrane déformable : augmenter la pression dans le canal supérieur ferme le canal inférieur), Figure 33a. Ils mesurent la perméabilité de la membrane de la GUV enfermée suite à la formation de pores constitués par des protéines<sup>144</sup> (Figure 33b, principe du « leakage essay », test de fuite). La même équipe s'intéresse à l'effet d'un écoulement sur l'organisation en domaines des différents lipides constituant la membrane, grâce à une variante de ce design permettant de moduler les contraintes de cisaillement tout en piégeant une GUV<sup>181</sup> (Figure 33c). La transmission de cette contrainte à travers la membrane, vers l'intérieur de la vésicule, est aussi une question importante que la même configuration permet d'aborder.<sup>182</sup>

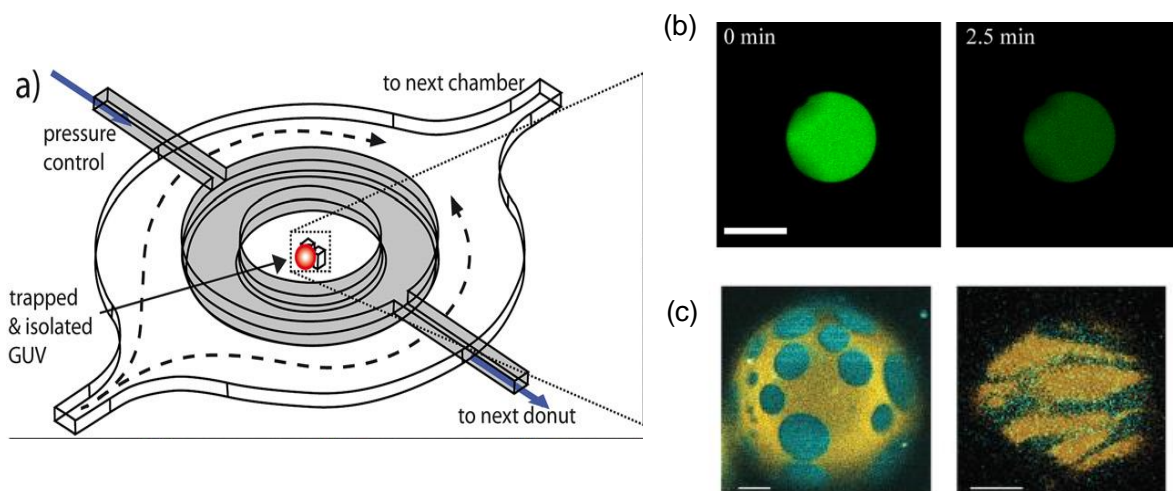


Figure 33- Piège microfluidique (a), et son utilisation pour mesurer l'ouverture de nanopores (b), ou le rôle d'un cisaillement sur les domaines de lipides (c). D'après les références <sup>144,181</sup>

Le piégeage microfluidique peut être combiné à d'autres caractérisations : pour déterminer les facteurs chimiques de la croissance cellulaire dans des conditions minimalistes, Libchaber *et al.* mesurent par exemple la façon dont des vésicules placées dans un bain d'acides gras évoluent, en fonction de la composition du bain et de la pression osmotique<sup>183</sup>.

Les microsystèmes se prêtent particulièrement bien à la mesure des propriétés mécaniques des membranes. C'est l'objet du paragraphe suivant.

### III.2.1.5 Sonder la mécanique : biophysique des membranes et micropipette sur puce

La mécanique des biomembranes est généralement décrite selon l'approche de Helfrich, qui explicite la façon dont l'énergie d'une vésicule est reliée à sa forme<sup>184</sup>. On pourra se référer aux revues de Bassereau *et al.*<sup>185</sup> ou de Dimova<sup>186</sup> sur les approches expérimentales développées suite à ce modèle, qui font partie de l'[édition spéciale du journal Advances in Colloid and Interface Science de juin 2014](#), en l'honneur de Wolfgang Helfrich.

On peut en observant la déformation d'une vésicule sous différentes contraintes remonter à ses propriétés mécaniques. Par exemple, mesurer optiquement les modes et l'amplitude des fluctuations thermiques permet de déterminer le module de flexion (bending modulus) de la membrane. L'expérience de l'aspiration par micropipette, initialement proposée par Evans pour caractériser des globules rouges<sup>187</sup>, repose sur un principe comparable. En exerçant une dépression connue sur une vésicule grâce à un capillaire, et en mesurant sa déformation (avancée dans le capillaire lors de l'aspiration), on peut déterminer à la fois la tension de la membrane  $\tau$  (par la loi de Laplace, les courbures étant fixée par le diamètre de capillaire de la GUV) et son augmentation relative d'aire  $\Delta A/A_0$  (par un calcul géométrique assez simple du fait de la symétrie). Un modèle couplant thermodynamique (les fluctuations de la membrane sont reliées à son module de courbure  $\kappa_c$ ) et mécanique (l'augmentation « réelle » d'aire est déterminée par son module de stretching  $\kappa_A$ ), prédit la relation suivante entre ces deux grandeurs :

$$\frac{\Delta A}{A_0} = \frac{kT}{8\pi\kappa_c} \ln(1 + C\tau A/\kappa_c) + \tau/\kappa_A$$

Où  $k$  est la constante de Boltzmann,  $T$  la température et  $C$  une constante géométrique.

Cette expérience de micropipette, dont un exemple est donné sur la Figure 34a, permet donc selon un principe simple et une configuration élégante (même si sa mise en œuvre est délicate) de caractériser quantitativement les constantes mécaniques d'une membrane.

A faible déformation, on sonde le module de courbure (on absorbe les fluctuations thermiques), et à déformation plus importante, le module de stretching (la capacité à augmenter l'aire par molécule, partie linéaire sur la Figure 34b).

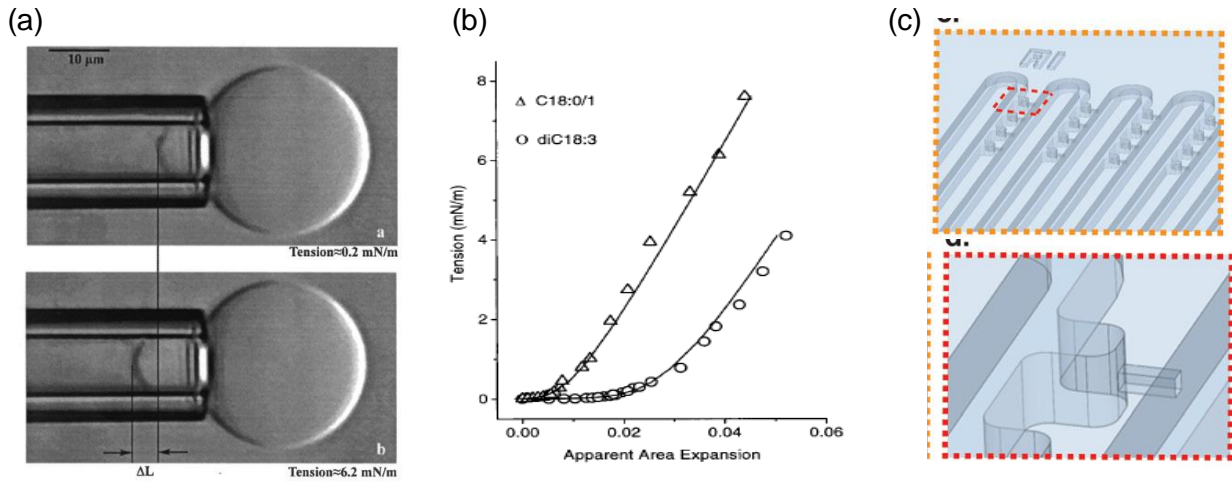


Figure 34 - (a) Principe de la micropipette. (b) Augmentation de la tension de membrane en fonction de son aire pour deux compositions de la membrane. (c) Un exemple de format microfluidique de la micropipette, proposé par Lee et Liu en 2014. D'après les références <sup>188,189</sup>.

Cette méthode est très utilisée sur des objets individuels comme des cellules ou des vésicules, mais ne permet que du bas débit (un seul objet à la fois), et requiert un doigté expérimental significatif. Quelques équipes ont donc naturellement essayé d'adapter l'aspiration par micropipette au format microfluidique : Figure 34c issue de la référence <sup>189</sup>, ou bien la revue de Dahl *et al.* qui donne un aperçu des méthodes microfluidiques pour caractériser la mécanique de cellules ou cellules artificielles <sup>190</sup>.

Quelques variantes de designs ont été développées pour caractériser des cellules (pour lesquelles la mécanique dépend également du couplage du cytosquelette avec la membrane <sup>191</sup>), afin de réaliser un phénotypage mécanique <sup>189,192,193</sup>, ou de tester le rôle de la composition en lipides sur la mécanique de globules rouges <sup>194-196</sup>.

Cet aperçu de l'état de l'art montre que la microfluidique est tout à fait adaptée pour préparer des vésicules, puis les soumettre à un environnement chimique et à des contraintes contrôlées, tout en caractérisant simultanément certaines de leurs propriétés. Dans cet esprit, mes perspectives de travail sur le sujet suivent **deux axes : (1) la fabrication de vésicules géantes (GUV) asymétriques, et (2) la manipulation de GUV pour sonder les interactions de nanoparticules avec des membranes.** Le format GUV nous semble en effet le plus fidèle à la structure des cellules qui inspirent les membranes modèles. De façon plus pragmatique il convient bien à la microscopie optique et au format microfluidique (correspondance des tailles caractéristiques des GUV et des microcanaux). Un troisième axe plus prospectif, mettant en jeu **(3) des effets collectifs (assemblages de GUV), et allant jusqu'aux cellules vivantes**, sera aussi évoqué.

Les sections suivantes développent ces axes prospectifs, le (2) étant celui sur lequel je place pour l'instant le plus d'efforts.

### III.2.2 Axe de recherche 1 : fabriquer des objets asymétriques

Comme présenté au paragraphe III.2.1.3, puisqu'elle permet un contrôle précis des fluides à l'échelle micrométrique (succession de mélange, fabrication de gouttelettes, contrôle d'interfaces fluides), la microfluidique a le potentiel d'ingénierer des objets membranaires avec des propriétés et une complexité mimant les cellules biologiques réelles: vésicules asymétriques,<sup>142</sup> fusion localisée de vésicules avec un substrat.<sup>148</sup>

Nous nous sommes pour l'instant concentrés sur les méthodes à base de gouttelettes pour obtenir des vésicules : leur principe est de fabriquer des gouttes d'eau entourées d'huile contenant un premier lipide (qui constituera le feuillet interne des vésicules), puis de faire traverser à ces gouttes une interface huile-eau (et le lipide présent dans l'huile à cet endroit sera celui qui constituera le feuillet externe des GUV).

Nous envisageons trois pistes :

1/ Lors de mon séjour à Florence (2016, stage de L Marsili), nous avons tout d'abord cherché à reproduire la méthode de Matosevic<sup>143</sup>, voir la Figure 30c (en haut) : formation de gouttes et traversée de l'interface eau-huile sur puce grâce à des obstacles placés sur le chemin des gouttes. Cependant, il est très délicat d'avoir une puce à la fois adaptée pour faire des gouttes d'eau (cela requiert un mouillage préférentiel de la puce par l'huile) puis une interface huile-eau stable (co-écoulement, qui requiert une affinité équivalente des parois pour l'eau et l'huile). Ces essais témoignent de l'écart qu'il y a parfois entre un joli principe présenté sur une publication et sa mise en œuvre pratique. Il faudrait à mon sens patterner la puce pour avoir les mouillages adaptés, différents, dans les zones de la puce qui forment les gouttes d'eau puis leur font traverser l'interface huile-eau. Ce n'est pas hors de portée mais complexifie la fabrication, ou nécessite d'ajouter des étapes préliminaires (traitement de surface) à celle de fabrication des GUV. Notons tout de même que la méthode peut être améliorée en lui ajoutant des canaux latéraux ou des étapes successives de passage de différentes solutions, afin de fabriquer des objets asymétriques<sup>197</sup>, ou des assemblages membranaires plus complexes<sup>198</sup>.

2/ Afin d'éviter cette traversée d'interface sur puce, l'alternative est de faire les gouttes par microfluidique (géométries de type T ou focalisation hydrodynamique), puis de faire la traversée d'interface par centrifugation, comme proposé par Hu et Malmstadt<sup>142</sup>, Figure 35a. On place l'émulsion obtenue (gouttes de saccharose dans du décane contenant du DOPC – dioleoylphosphatidylcholine) dans un tube contenant de l'huile (avec éventuellement un lipide différent si on veut une membrane asymétrique) et de l'eau, et une centrifugation permet aux gouttes de passer dans la phase aqueuse (du glucose, afin que les gouttes, plus denses, ne restent pas à l'interface). Nos résultats préliminaires sont assez encourageants (Figure 35b, mais la méthode est très délicate : manipulation à la pipette de petits volumes contenant des gouttes, stabilité de l'interface dans le tube à centrifuger, et surtout, lors de la traversée de l'interface il faut à la fois vaincre la tension de surface, éviter d'entraîner de l'huile, et ne pas fusionner la goutte (aqueuse) avec la solution de glucose vers laquelle elle est entraînée. Ceci correspond au régime dit de « zipping » moléculaire, dont l'étendue est assez étroite<sup>199</sup>. Notre taux de succès est seulement de l'ordre de 10-20%.

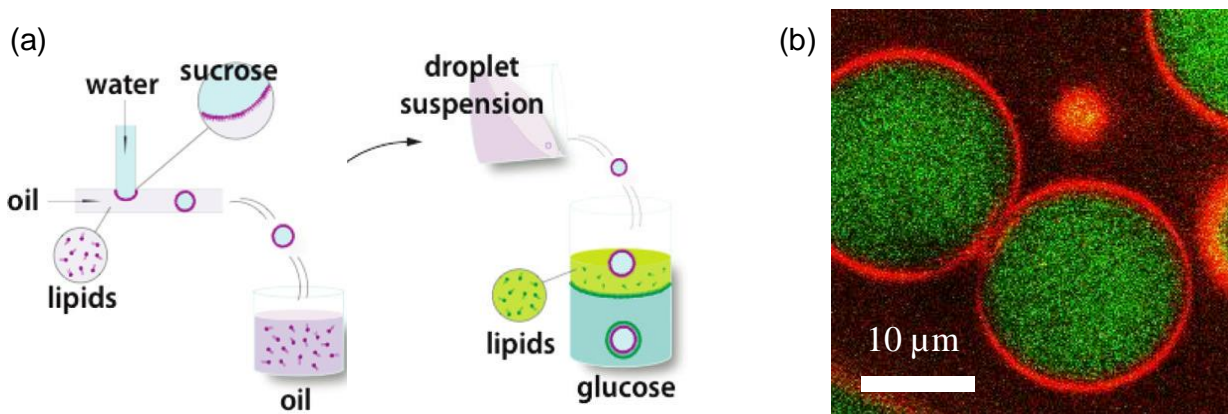


Figure 35- Fabrication de GUV par transfert d'interface. (a) Méthode proposée par Hu<sup>142</sup> : formation de gouttes sur puce, traversée de l'interface en bulk, par centrifugation. (b) Résultats préliminaires : GUV obtenus par cette approche (image de microscopie confocale. La phase aqueuse interne a été marquée par de la fluorescéine, et les lipides (DOPC) sont mélangés à 0.1% avec un lipide fluorescent (Liss-Rhod-PE).

3/ Enfin, nous avons commencé à tester (thèse de L. Caselli à Florence depuis 2017) une approche développée par une équipe de Montpellier<sup>199</sup>, qu'ils ont baptisée cDice pour « continuous droplet Interface crossing. Celle-ci repose sur la fabrication de gouttes à l'extrémité d'un capillaire, inséré dans un petit instrument en rotation qui contient les solutions d'huile et d'eau. Ainsi les forces centrifuges peuvent être exploitées en continu.

Parmi les ouvertures de ces travaux de synthèse de vésicules, mentionnons le lien avec le projet [Multifab](#), plateforme en plein développement, d'impression 3D et de bioimpression au LAAS, coordonné par L Malaquin. Par exemple, les méthodes de dépôts contrôlés en surface ont été exploités par Ainla *et al.* dans un article intitulé « Lab on a biomembrane »<sup>149</sup>, qui rappelle la sonde microfluidique développée par E Delamarche à IBM<sup>200</sup>. Ils démontrent le patterning de différentes bicouches phospholipidiques (qu'ils qualifient de circuits 2D), et sont capables de réaliser des fonctions telles que l'écriture, l'effaçage.

Quelle que soit la méthode utilisée pour fabriquer les vésicules, les microsystèmes se prêtent bien à la manipulation de ces objets micrométriques, en les soumettant à un stimulus donné. Je développe dans le paragraphe suivant les projets visant à tester les interactions de membranes avec des nanoparticules.

### III.2.3 Axe de recherche 2 : sonder les interactions vésicules / nano-objets

#### III.2.3.1 Interaction de membranes avec des nano-objets : contexte et aperçu de l'état de l'art

Nous sommes de plus en plus en contact avec les nanomatériaux dans la vie quotidienne (cosmétiques et protection solaire, encres de tatouage, antibactériens, produits de santé dentaire, inhalation). La question de la pénétration des nanoparticules NP dans le corps humain<sup>139,201</sup> est cruciale pour la nanotoxicité (conséquences d'une exposition aux nanomatériaux) et constitue également une clé pour la nanomédecine (efficacité de la vectorisation par des nano-objets conçus pour libérer des médicaments dans les cellules<sup>202</sup>).



Au niveau cellulaire, la membrane cytoplasmique est la première barrière contre les NP, et de nombreuses études bio-physico-chimiques<sup>139,203,204</sup> ont étudié les mécanismes en jeu dans les interactions NP-membranes. J'entends ici par ce terme d'interactions : (i) le comportement des NP sur la membrane (adsorption, fusion de composés moléculaires NP avec la membrane, internalisation), (ii) les conséquences des NP sur les propriétés membranaires (mécanique et perméabilité). **La chimie de surface (charge et composition) affecte la capacité des NP à modifier les membranes**<sup>205-207</sup>. Cette chimie est souvent modifiée *in vivo* par une couronne de protéines entourant les NP. Cette couronne est liée aux protéines du plasma sanguin, sa composition dépend de celle de la NP. Elle peut amener à une opsonisation par les macrophages (par l'intermédiaire de protéines opsonines reconnues par le système immunitaire). D'autres mécanismes d'internalisation de NP existent : translocation passive ou endocytose (pouvant elle-même s'effectuer selon plusieurs mécanismes impliquant des protéines et l'invagination).

Des quantum dots (QD, souvent de CdSe) forment des nanopores (par agrégation oligomérique) sur des membranes constituées de lipides neutres ou négatif<sup>208</sup>.

Des NP anioniques induisent un shift de la transition gel-fluide pour le DOPC et le DPPC alors que des NP cationiques n'ont pas d'effet sur les phases fluides, et fluidifient seulement à la marge la phase gel (Wang *et al.*, équipe de S Granick<sup>206</sup>). La charge de surface de NP d'or influence leur interaction avec la bactérie *Escherichia coli*<sup>207</sup>, alors qu'un coating PEG altère leurs effets sur des cellules<sup>209</sup>. Des NP cationiques (des polystyrènes de 20 nm) déforment et rendent poreuses des membranes modèles (taille typique des pores ~20nm, caractérisé par transport de macromolécules)<sup>205</sup>.

L'équipe italienne avec laquelle je collabore a démontré que la présence ou non de la couronne de protéines sur des NP d'or modifie en profondeur leur façon de pénétrer une GUV, ainsi que la dynamique des lipides constituant la membrane au voisinage des NP.<sup>138</sup>

La morphologie des NP (taille, forme) a aussi de forts effets, car leur internalisation est une compétition d'adhérence / flexion de la membrane<sup>210,211</sup>. Dans les travaux de Zhang *et al.*, de petites NP s'attachent à la surface, induisent des fuites stables, et la gélification de la membrane ; alors que la membrane s'enroule autour de grosses NP qui semblent plutôt augmenter la fluidité<sup>212</sup>. D'autres travaux indiquent que les NP diminuent la mobilité des lipides constituant la membrane, ce qui entraîne un raidissement local<sup>206</sup>.

La plupart des études concernent les NP inorganiques, mais les NP organiques auto-assemblées (peptidiques, polymériques, lipidiques) ont des spécificités intéressantes liées notamment à une plus faible rigidité, et à la possibilité d'échanger des molécules avec la membrane (revue<sup>213</sup>, issue d'une collection thématique de RSC : [Interaction of nano-objects with lipid membranes](#)) : des homopolymères avec la bonne hydrophobie peuvent traverser les membranes en augmentant la perméabilité du solvant<sup>214</sup> ; des pluronics (copolymères PEO-PPO-PEO) sont capables de rendre les membranes perméables par interaction de leur partie hydrophile avec les têtes polaires des lipides<sup>215</sup>.

Dans une série de travaux sur membrane modèle de composition proche des cellules endothéliales<sup>216</sup>, Peetla *et al.* interprètent les interactions de NP avec des membranes (plasmiques et endosomales) par la biomécanique (modification de la déformabilité, courbure provoquée par les NP)<sup>217</sup> ; ces mêmes auteurs montrent sur des cellules cancéreuses que des membranes moins fluides sont plus résistantes au passage de doxorubicin (médicament modèle), avec un comportement différent lorsque le médicament est sous forme de NP liposomale.<sup>218</sup>

Pour une revue plus complète des développements méthodologiques récents utilisant des membranes modèles, on pourra consulter la référence<sup>219</sup>.

Dans ce cadre, je propose de caractériser l'interaction d'objets individuels, la microfluidique étant particulièrement adaptée pour visualiser la dynamique. Par exemple, on déterminera en temps réel l'effet de nanoparticules sur la structure de vésicules formées par des méthodes classiques en les plaçant/piégeant dans des canaux (mesures de microscopie confocale).

**Manipulation et caractérisation des objets.** Des puces microfluidiques au design approprié permettent de caractériser l'interaction en temps réel de vésicules avec différentes classes de NP. Des pièges géométriques placés après une jonction Y (Figure 36a) sont par exemple adaptés pour mesurer la perméabilité des vésicules et pour déterminer comment elle est affectée après injection de NP (commutation de la solution d'entrée).

On peut aussi utiliser cette configuration (ou bien le même design de piège, mais avec un simple canal et non un Y), pour tester les propriétés mécaniques de GUV, selon une approche dérivée de la micropipette. Par exemple, sur la Figure 36b, la déformation progressive d'une GUV piégée puis la différence de pression critique nécessaire à la libérer ( $P_{rel}$ ), dépendent toutes deux de la résistance de l'objet à se déformer sous contrainte.

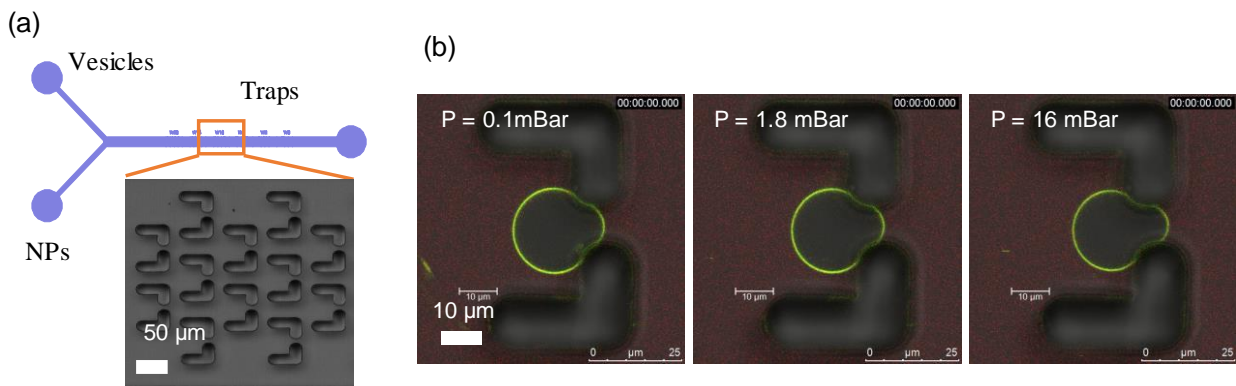


Figure 36 - Membranes modèles manipulées par microfluidique. (a) Géométrie de puce en Y avec des pièges, permettant de sonder la réponse de vésicules à un stimulus, comme la mise en contact avec des nanoparticules. (b) Déformation progressive d'une vésicule piégée, soumise à des contraintes hydrodynamiques croissantes. La vésicule s'échappe pour une différence de pression entrée-sortie  $P_{rel}$  égale à 16,5 mbar.

**Résultats préliminaires- Effet de NPs sur le seuil de libération des GUV.** Nous avons testé, dans des canaux simples contenant des pièges de différentes largeurs  $W$  (Figure 37a), la pression seuil  $P_{rel}$  à laquelle une GUV est chassée par l'écoulement, pour plusieurs compositions. Ces résultats, présentés lors de conférences<sup>24,25</sup>, font l'objet d'un article en préparation.

Pour des vésicules composées uniquement de DOPC (dioleoyl-phosphatidylcholine), la Figure 37b1 présente l'évolution de  $P_{rel}$  avec le diamètre des objets  $D$ . Nous attribuons la dispersion des données observées à une variabilité possible des objets, ainsi qu'au fait que ceux-ci peuvent être piégés à différentes altitudes dans le canal (axe perpendiculaire à la Figure 37a), ce qui induit des contraintes hydrodynamiques différentes. Il est délicat de conclure quant à la dépendance de  $P_{rel}$  avec  $D$ . Il apparaît en revanche (code couleur selon la largeur  $W$  du piège) que des pièges plus larges ( $W=14-20 \mu\text{m}$ , points bleus) piègent des GUV plus grandes que des pièges de taille inférieure (points noirs,  $W=0-10 \mu\text{m}$ , et rouges,  $W=10-14 \mu\text{m}$ ). En moyennant ces données selon le diamètre des GUV, et en les représentant en fonction de la taille du



piège W (Figure 37b2), on constate que  $P_{rel}$  diminue avec W (des pièges plus larges relâchent plus facilement les GUV). Nous travaillons à plusieurs pistes de designs pour réduire la dispersion des données, en particulier à des canaux multi-niveaux limitant à la fois les écarts de position de piégeage et la présence d'un écoulement résiduel autour de la GUV.

Avec ce design, nous avons tout de même réalisé des mesures systématiques de  $P_{rel}$  pour trois compositions différentes (Figure 37c) : DOPC pur, dans une solution aqueuse à 15mM de glucose (identique à celle présente à l'intérieur des GUV, préparés par électroformation) ; DOPC-NP : solution contenant également des nanoparticules d'or stabilisées par du citrate ; et DPPC (dipalmytoyl-phosphatidylcholine).

Nous constatons que les GUV de DPPC ont une pression de libération bien supérieures à celles de DOPC. Cela est cohérent avec le fait qu'à température ambiante, les lipides d'une bicouche de DPPC sont dans un état gel, c'est-à-dire que leur mobilité moléculaire dans le plan de la membrane est très réduite. Cet état est lié au caractère saturé des chaînes carbonées, qui peuvent ainsi s'organiser de façon dense et empêcher des mouvements fluides. Au contraire, les lipides du DOPC sont dans un état cristal liquide (mobilité importante) car l'insaturation (double liaison C-C) empêche l'empilement des lipides.

Par ailleurs, nous mesurons une pression de libération plus importante pour le système DOPC-NP que pour le DOPC pur, ce qui semble indiquer pour ce couple membrane-NP une **rigidification de la membrane par les nanoparticules**. Ceci rejoint un débat très actif sur le rôle mécanique de NP sur les membranes, en lien avec la formation éventuelles de rafts locaux autour des NP.<sup>138,204</sup>

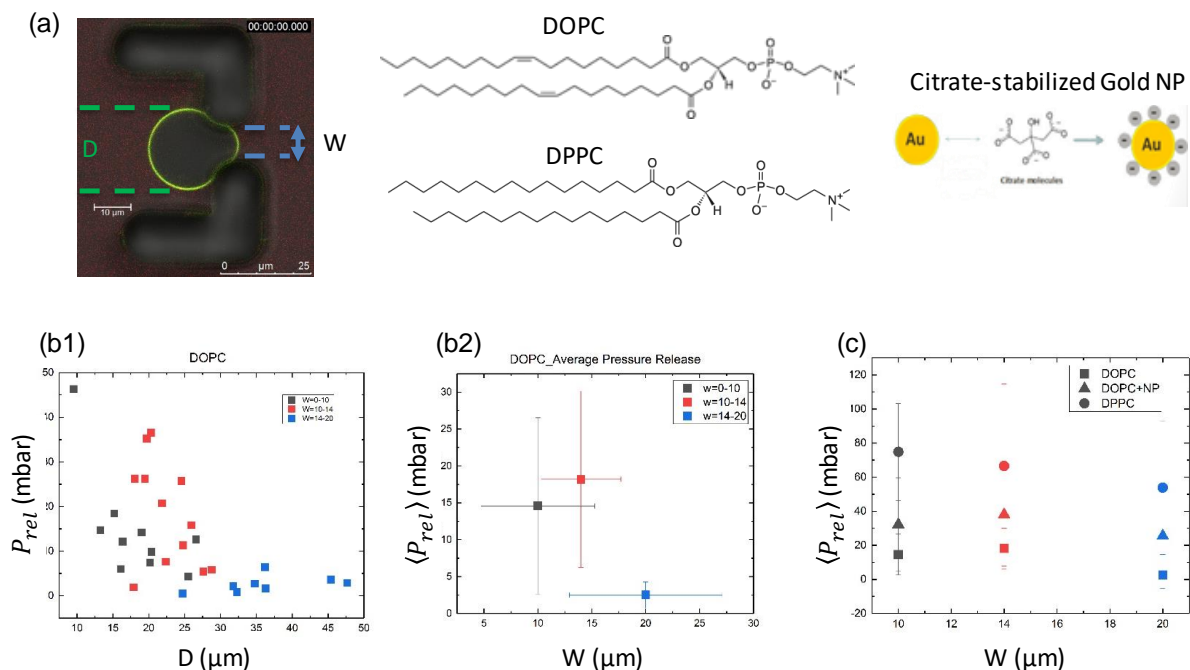


Figure 37- Effet de la composition de GUV et de nanoparticules sur la pression seuil de libération des objets. (a) Objets en présence : pièges de largeur W, GUV de diamètre D. La composition des GUV est soit DOPC (dioleoyl-phosphatidylcholine) pur (incluant 0.1%w/w de sonde fluorescente), soit DPPC (dipalmytoyl-phosphatidylcholine). La solution peut contenir une suspension de nanoparticules d'or, stabilisées par du citrate. (b1-2) Pression seuil de libération  $P_{rel}$  de GUV de DOPC : (b1)  $P_{rel}$  représentée en fonction du diamètre de la GUV. Le code couleur classe la largeur des pièges W en trois familles (0-10 $\mu\text{m}$ , 10-14  $\mu\text{m}$ , 14-20  $\mu\text{m}$ ). (b2) Pression de libération  $\langle P_{rel} \rangle$  moyennée selon le diamètre des GUV, représentée pour les trois familles de largeurs de pièges. (c) Effet de composition : pressions moyennes de libération selon la largeur des pièges, pour trois cas : DOPC pur (carrés), DOPC en présence de NP d'or en solution (triangles), DPPC pur (ronds).

Ces résultats assez excitants ouvrent de nombreuses perspectives pour une **étude approfondie de l'interaction NP-membrane en fonction de la chimie de surface des nanoparticules, de la composition de la membrane, des conditions d'écoulement**.

Nous devons en particulier analyser de façon quantitative les résultats : comprendre, pour ce type de designs, comment les propriétés intrinsèques (modules de flexion et de dilatation de la membrane) sont liées aux mesures. Des analyses comparables à la micropipette pour la déformation progressive, mais aussi aux travaux de Yamada *et al.* pour la pression de libération<sup>158,220</sup>, sont à mener.

Nous avons également la volonté d'intégrer une dimension de **modélisation à l'échelle moléculaire** à ces travaux, pour tenter de relier les mécanismes microscopiques aux propriétés globales observées. Des collaborateurs de mes collègues de Florence ont par exemple recours à des modélisation gros grain pour affronter la complexité de ces systèmes<sup>221</sup>. Nous avons également amorcé un travail avec Marie Brut (équipe M3 du LAAS) qui a développé la méthode des modes statiques<sup>222</sup>. Cette approche combine des modèles physico-chimiques et de la biomécanique, elle est donc très adaptée pour sonder la réponse mécanique d'un système soumis à des sollicitations externes.

Nous envisageons également de mettre en place une approche de simulations mésoscopiques (Dissipative Particle Dynamics) adaptée pour combiner écoulements et interactions physico-chimiques, en collaboration avec Micheline Abbas (LGC).

### **III.2.3.2 Rôle de l'écoulement sur l'interaction membrane/NP**

Un point clé qui n'a été que très peu testé jusqu'ici est le rôle des écoulements fluides dans ces processus, malgré leur pertinence pour le microenvironnement physiologique de nombreuses cellules : cellules pulmonaires épithéliales, cellules endothéliales en microcirculation, et plus généralement toutes les cellules soumises à des écoulements de fluide interstitiel. Les forces hydrodynamiques sont reconnues<sup>201</sup> comme ayant des conséquences profondes, car ce sont les seules interactions à longue portée en jeu, et parce qu'elles peuvent augmenter le flux de NP atteignant les membranes. Cependant, il existe très peu de travaux sur l'interaction NP-membrane impliquant des écoulements. La contrainte de cisaillement affecte la toxicité de NP de TiO<sub>2</sub> et de ZnO sur deux lignées cellulaires<sup>223</sup>. Pour les cultures de cellules 3D, la perfusion continue imite le flux de liquide interstitiel<sup>224</sup>. Un flux peut également modifier la morphologie cellulaire (par exemple celle de cellules endothéliales<sup>225</sup>) et/ou altérer la structure membranaire (en créant par exemple des modèles de domaines lipidiques non-équilibrés<sup>181</sup>), de sorte que l'interaction membrane-NP peut être profondément affectée par le cisaillement.

**Objectifs.** Il reste donc à répondre à des questions scientifiques majeures: l'hydrodynamique ne fait-elle qu'accroître le taux d'interactions NP / membrane? Une contrainte de cisaillement peut-elle favoriser l'internalisation du NP ou la perméation induite par les NP en apportant suffisamment d'énergie pour modifier la morphologie cellulaire, altérer les domaines lipidiques et/ou affecter l'efficacité de l'absorption (rapport du NP adsorbé)? Les NP auto-assemblées (assemblages polymères ou lipides, par opposition aux NP minérales évoquées plus haut) peuvent-elles montrer un comportement spécifique? Quelle est l'importance de la composition et des propriétés mécaniques de la cellule dans les processus? Par conséquent, même si la dynamique des fluides autour de la membrane est identifiée comme un facteur crucial, il n'y a actuellement aucune compréhension claire de ses effets.

J'envisage donc de tenter de clarifier les rôles de l'hydrodynamique de la perfusion dans les interactions NP-membrane, afin de répondre à ces questions. En effet, une NP peut traverser la membrane par endocytose, simplement être adsorbée sur les membranes, ou libérer ses composés moléculaires dans la membrane par fusion. Nous nous intéresserons surtout aux NP auto-assemblées (hybrides polymères, lipidiques ou polymères-lipides): celles-ci permettent un tel échange moléculaire avec la membrane, notamment avec les NP composées de copolymères blocs lipidiques ou amphiphiles, et présentent une compliance mécanique pouvant influencer l'endocytose<sup>226</sup>. Je propose d'étudier dans quelle mesure le cisaillement hydrodynamique peut amplifier ou altérer l'interaction (par exemple induire des transitions entre l'interaction par adsorption / fusion / endocytose). La caractérisation mécanique sera également ciblée, puisque (i) la déformation membranaire est liée à l'entrée de NP dans la cellule (par des voies de translocation passive ou d'endocytose) et (ii) les NP peuvent modifier la rigidité membranaire (modules de flexion et de dilatation). A terme, il sera également intéressant d'étudier comment l'hydrodynamique régit la réponse cellulaire globale (altération de la mécanique, perméabilité).

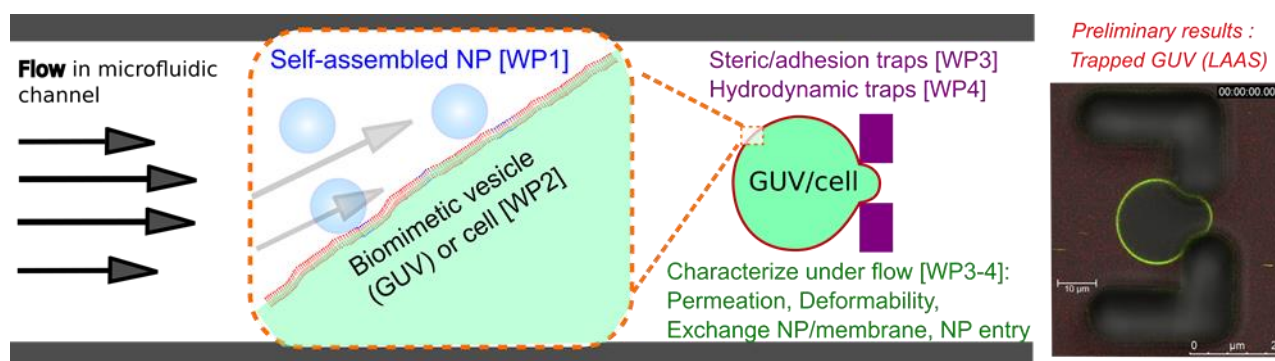


Figure 38- Principe des expériences visant à tester le rôle d'un écoulement sur les interactions membrane-nanoparticules

**Méthodologie.** Nous utiliserons des **membranes modèles**, bien adaptées pour aborder ce problème multi-paramètres<sup>141</sup>, avec un **mouvement progressif vers des situations complexes, biologiquement pertinentes**. La **microfluidique** nous permettra de **contrôler l'environnement** membranaire, à une échelle typique des cellules: stimuli chimiques (concentration de NP, sels, nutriments, pH) et mécanique (contrainte de cisaillement, géométrie d'écoulement, topologie du canal), Figure 38.

Le couplage physico-chimie / hydrodynamique sera aussi considéré, en particulier avec une combinaison de simulation à l'échelle moléculaire (M Brut, équipe M3 du LAAS), mésoscopiques (M Abbas, LGC), et des formulations de nano-objets à façons (B Lonetti, IMRCP).

### III.2.3.3 Ouvertures : objets hybrides lipides/polymères, photosensibilisation

Ces questions d'interactions nano-objets / membranes trouvent de nombreuses déclinaisons. J'explique ici une première piste que nous avons commencé à explorer, puis mentionne quelques directions possibles.

1/ Des **GUV constituées de mélanges lipides-polymères, qualifiées d'hybrides**, sont pertinentes pour la nanomédecine : elles peuvent mimer une membrane biologique lors de sa rencontre avec les nanovecteurs, si les polymères contenus dans les vecteurs sont intégrés à la membrane. D'autre part, on peut imaginer fabriquer des nanovecteurs eux-mêmes hybrides ; et pour l'étude de leurs propriétés intrinsèques des objets géants sont un outil appréciable (les GUV sont ici des modèles de vecteurs).

De tels objets sont développés par le Dr. Barbara Lonetti (IMRCP, Toulouse), en particulier lors du stage de C. Magnani, qui a travaillé surtout aux IMRCP mais a aussi testé les objets développés au LAAS et à Florence. Les propriétés mécaniques des membranes des *GUV* hybrides (par rapport aux vésicules composées uniquement de lipides DPPC, ou composées de copolymères PEO-PBD), ont été testées par la géométrie de pièges microfluidiques de la Figure 39a. La manière dont une augmentation du débit (contrôlée ici par la différence de pression entre l'entrée et la sortie) affecte la forme du *GUV* détermine une relation qualitative entre la contrainte mécanique et la déformation. La contrainte mécanique est une combinaison de (i) la différence de pression en amont / en aval du piège et (ii) la force de traînée due au flux de fluide résiduel autour de l'objet. La description quantitative de ces phénomènes fait partie de mes perspectives, ainsi que la conception de designs de puces adaptés pour moduler la différence de pression amont-aval et l'importance du cisaillement autour de l'objet. C'est l'objet de la thèse de M. Elias, depuis novembre 2017.

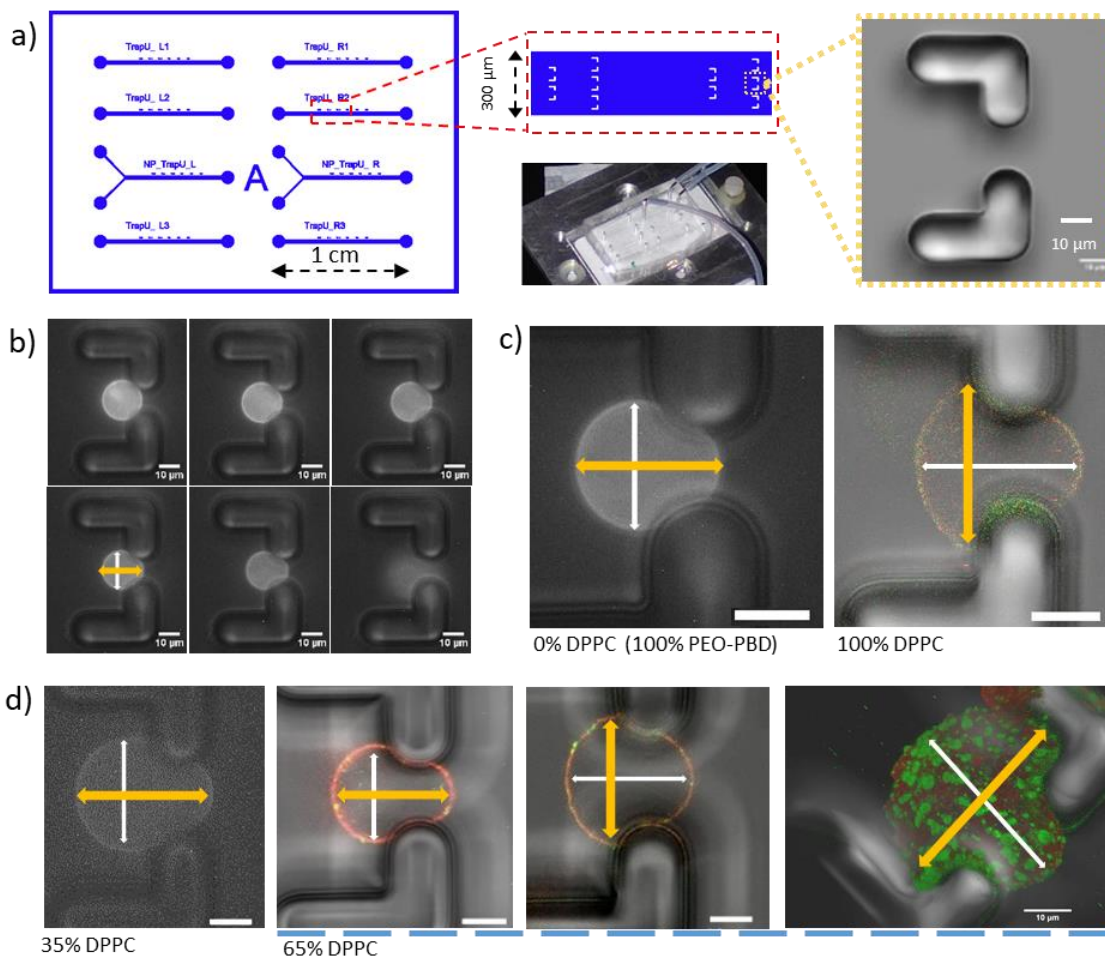


Figure 39- a) Géométrie utilisée pour piéger et caractériser des vésicules hybrides. Pièges de 14 µm de large, pour une hauteur de 50 µm. b) Déformation progressive d'une vésicule avec une composition pure de PEO-PBD (copolymère), lors de l'augmentation de la pression de 1 mBar (en haut à gauche) à 31 mBar (en bas à droite) à laquelle la vésicule s'échappe. c) Modes de déformation observés avec des vésicules polymériques pures (longitudinales, le long de l'écoulement) et des vésicules lipidiques pures (transversales, perpendiculaires à l'écoulement). d) Modes de déformation observés avec les *GUV* hybrides: tous les *GUV* contenant 35% molaires de DPPC se déforment le long du flux, alors que pour 65% molaires de DPPC, une grande variabilité de comportement est observée. Barre d'échelle 10 µm.

Sur la Figure 39b, la déformation progressive typique pour la *GUV* composée de polymère pur est représentée, avec une différence de pression (totale sur le canal, de l'entrée à la sortie) passant de 1 mbar

à 31 mbar, point auquel la GUV s'échappe du piège (écoulement de gauche à droite). Comme visualisé par la flèche jaune épaisse, cette vésicule se déforme dans la direction longitudinale (celle du flux), tandis que sa dimension dans la direction transversale (flèche fine blanche) est presque inchangée. Ce comportement est observé pour toutes les GUV avec une composition polymère pur, comme le montre le panneau de gauche de la Figure 39c (100% PEO-PBD, équivalent à 0% DPPC). Ce comportement assez fluide de la membrane polymère GUV, qui commence à "couler" dans le piège est cohérent avec le fait que le polymère est bien au-dessus de sa température de transition vitreuse, conduisant à des chaînes mobiles dans le polymersome. Au contraire, les vésicules lipidiques purs se déforment de manière transversale (Figure 39(c), panneau de droite). Ces GUV sont aplaties sur le piège, selon un comportement plutôt élastique. Nous attribuons un tel mode de déformation ressemblant à celui d'un solide au fait que le DPPC est en phase de gel à température ambiante. Pour les vésicules hybrides, montrées à la Figure 39d, nous observons deux caractéristiques principales. Tout d'abord, les GUV composées principalement de polymères (35% molaires de DPPC) subissent toutes une déformation longitudinale semblable à celle d'un liquide: ceci indique que leurs propriétés sont régies par les polymères, malgré la formation de domaines à la surface de la membrane (séparation de phase entre des zones riches en lipide et des zones riches en polymère). Deuxièmement, les objets hybrides à 65% molaires de DPPC montrent beaucoup plus de variabilité d'une GUV à l'autre: certaines montrent une déformation longitudinale comme un polymère pur, tandis que d'autres subissent plutôt un aplatissement transversal typique des GUV DPPC. Cela pourrait être dû à une variabilité de la composition du GUV, ce qui est plausible puisque chaque objet provient d'une zone différente du film (préparation des objets par électroformation dont une étape est un film sec de lipides et polymères). Notons cependant que nous observons des domaines de taille micrométrique dans des objets piégés pour les deux types de comportements (voir par exemple la dernière image de la Figure 39d).

Ces résultats sont explicités dans la référence <sup>26</sup>, qui porte plus généralement sur les propriétés d'assemblages lipides-polymères hybrides.

## 2/ Quelques autres déclinaisons :

Un mécanisme original de délivrance de médicament est celui de la photosensibilisation, ou **photothérapie dynamique**. Il s'agit d'amener une molécule photosensible au voisinage du tissu, puis d'éclairer la zone à traiter pour libérer à la demande le principe actif. Travailler sur membrane modèle permet d'identifier les modes d'action. Mes collègues italiens, en collaboration avec Barbara Lonetti (IMRCP, Toulouse), ont démontré l'intérêt d'utiliser un nanovecteur pour transporter la molécule active, très peu soluble dans l'eau sinon, près des tissus visés.<sup>227</sup> En perspective, selon les avantages explicités dans ce contexte dans la revue<sup>228</sup>, les pièges microfluidiques de la Figure 36 sont un design adapté au piégeage puis à l'excitation sous microscope de GUV en présence de molécules photosensibles en solution, afin d'étudier les modifications de la membrane aux temps courts. Nous avons par exemple observé des phénomènes d'augmentation temporaire d'aire de la GUV piégée, lors de l'activation du photosensibilisateur, qui amène soit à l'échappement de l'objet (Figure 40a), soit à sa déformation temporaire (Figure 40b). Il serait intéressant de poursuivre ces études pour quantifier les mécanismes moléculaires (oxydation des chaînes lipidiques, suivies de leur élimination ou non, cinétique).

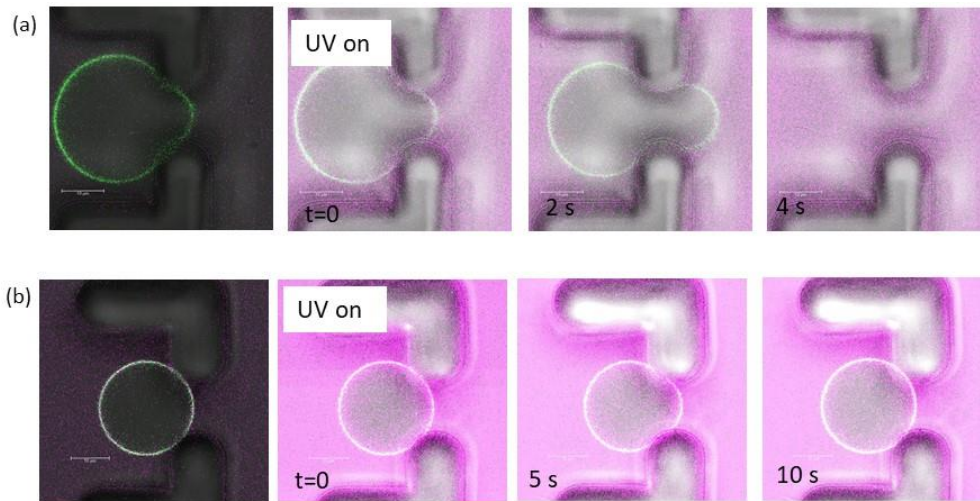


Figure 40- Deux exemples de comportements de GUV lors de l'activation (par l'éclairage laser du microscope confocal) d'une molécule photosensible (phéophorbide) placée, sous forme de nanovecteurs, dans la solution autour des GUV.

Notons aussi un axe potentiel de développement autour du **transport ionique à travers des membranes** (électrophysiologie). Dans l'étude des canaux ioniques, la microfluidique permet manipulation et mise en parallèle des mesures<sup>229,230</sup>. Des nanoparticules augmentent la capacité électrique de membranes<sup>231</sup>. Des nanotubes de carbone insérés dans des membranes peuvent jouer le rôle de canaux ioniques, ou bien celui de nano-capteurs<sup>232,233</sup>. Je n'envisage pas d'explorer ces pistes dans un futur proche.

Mentionnons enfin le lien de ces phénomènes avec mes travaux antérieurs sur le **passage de nano-objets dans des interstices biomimétiques** (section II.1) : leur margination, ainsi que la question de la part active (biologique, par régulation et signalisation) du processus de transfert d'un nanoobjet depuis le sang vers un tissu, sont naturellement reliées aux interactions membranes-NP.

### III.2.4 Axe de recherche 3 : Vésicules ou cellules sous microenvironnement contrôlé

J'envisage d'élargir l'étude de membranes biomimétiques, et de leurs interactions avec des nano-objets, selon deux perspectives :

(1) La première est de travailler non plus sur objet unique, mais sur **un réseau, 2D ou 3D, de GUV, constituant un tissu artificiel extrêmement simplifié**. Ainsi, nous pourrions par exemple sonder la transmission d'un stress hydrodynamique à l'intérieur d'un tissu, ou bien la pénétration de différents nanovecteurs (tels que ceux évoqués dans la section précédente, ou bien les polymersomes du paragraphe II.1, ou encore des objets photostimulables) dans ces assemblages.

(2) La deuxième est de **passer de systèmes artificiels biomimétiques (les GUVs) à des cellules vivantes, et à des assemblées, 2D ou 3D, de ces cellules**.

Ces ouvertures sont liées à deux éléments.



Le premier est le recrutement CNRS récent dans l'équipe de Morgan Delarue, biophysicien. Son projet adresse la façon dont les contraintes mécaniques influencent le vivant, à l'échelle du tissu (comment le taux de réplication change avec le confinement<sup>234,235</sup>) et à l'échelle moléculaire (comment cela est couplé aux échanges régulant les processus biologiques : voies de signalisation, modification par encombrement moléculaire de la rhéologie intracellulaire<sup>236</sup>). Morgan applique, grâce à des outils microfluidiques, ces concepts issus de la physique et la mécanique à différentes questions : contre le cancer (partenariats avec le Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse), mais aussi à propos de microbiologie (transition de morphologie de la levure *C. Albicans* induite par la pression). Il anime un groupe de travail au LAAS-CNRS, auquel je participe, sur le potentiel des microtechnologies pour mettre des cellules dans un environnement contrôlé. Ces systèmes sont qualifiés d'organes-sur-puces<sup>202</sup> lorsqu'il s'agit de reconstruire les spécificités d'un organe particulier comme le cerveau<sup>237</sup> ou les poumons<sup>238</sup>. De façon plus générale le terme microphysiologique<sup>239</sup> traduit bien le concept de mimétisme visé par ce type d'approche.

D'autre part, suite à mon année sabbatique à Florence, je suis **impliqué en tant que coordinateur dans le montage d'un réseau européen de type ETN** (European Training Network, qui finance la formation des scientifiques de demain, principalement des thèses et des dispositifs de formation), avec un consortium d'une dizaine de partenaires publics et privés (France, Italie, Allemagne, Autriche, Hollande, Portugal, Danemark). Le projet est en cours de construction pour une réponse à l'appel [ETN](#) de janvier 2019. Le périmètre de notre projet est le développement de méthodes permettant d'aller au-delà des systèmes *in vitro* 2D classiques, tout en évitant les tests animaux, pour la nanomédecine. Nous ciblons principalement la nanomédecine. Notre approche repose sur la combinaison de systèmes synthétiques (des GUVs surtout) et issus du vivant (des assemblées de cellules), sous conditions contrôlées grâce aux micro et nanotechnologies : contraintes physiques (mécaniques et de cisaillement, topologie) et chimiques (apport de nutriments et de drogues, physico-chimie des surfaces). Notre consortium inclut des académiques (biologistes, physiciens, chimistes, microscopistes) et des industriels (organes-sur-puces, automatisation), et nous souhaitons adresser également les questions d'éthiques et de régulation associées (partenaire spécialiste de ces questions pour les tests animaux).

Le rôle du LAAS dans ce projet (s'il est financé) sera de mettre en œuvre des puces microfluidiques capables d'étudier des vésicules et leur interaction avec des nanovecteurs, mais aussi de caractériser la pénétration de ces vecteurs dans des tissus artificiels constitués de GUVs ou de cellules, représentant différents organes. En plus des partenaires du réseau ETN, j'ai impliqué dans ce montage des chercheurs de mon équipe (M Delarue, A Bancaud, A.-M. Gué) mais aussi L Malaquin qui développe des recherches autour de l'impression 3D et la bioimpression.

Le dernier volet prospectif de ce manuscrit, qui fait l'objet de la section suivante, est tout à fait complémentaires à ces projets sur des vésicules, et fait d'ailleurs partie de la proposition ETN mentionnée plus haut : il s'agit de créer un environnement pertinent pour des cellules et des tissus biologiques.

### III.3 MISE EN FORME DE GELS SUPRAMOLECULAIRES POUR L'INGENIERIE TISSULAIRE

Je suis impliqué dans un projet visant à générer un hydrogel, qui doit servir de support de culture à des neurones. Avant d'expliquer ce sujet, je fais ici un détour historique par un projet passé, portant sur l'agrégation d'une petite protéine, puisque c'est cette étude qui m'a amené à travailler sur la mise en forme de gels supramoléculaires pour l'ingénierie tissulaire, ou plus largement pour le contrôle, grâce aux technologies microfluidiques, de l'environnement de cellules biologiques.

#### III.3.1 Préambule : travaux passés sur l'agrégation de l'amyloïde Beta

Vincent Picot a effectué sa thèse (2010-2012) sur l'agrégation de la protéine amyloïde bêta. Ces travaux m'ont permis d'entrevoir comment **la microfluidique permet d'étudier, contrôler ou déclencher l'auto-assemblage de molécules d'intérêt biologiques**, et sont donc à l'origine des projets plus récents que je détaille dans la section suivante.

L'agrégation de l'amyloïde bêta est à l'origine de la formation de plaques dans le cerveau qui est centrale dans la maladie d'Alzheimer, problème majeur de santé publique. Les mécanismes en jeu ne sont cependant pas encore complètement élucidés du fait de la complexité du processus, dynamique et multi-paramètres<sup>240</sup>. L'utilisation des technologies microfluidiques pour l'étude de la maladie d'Alzheimer est encore très marginale mais prometteuse<sup>241-243</sup>. En collaboration avec P. Faller (Laboratoire de Chimie de Coordination, LCC), nous avons développé une configuration de **réaction diffusion**<sup>244</sup>, schématisée sur la Figure 41, pour sonder la cinétique des **premières étapes de l'agrégation**, difficilement accessibles par les méthodes standard<sup>245</sup>. Celles-ci sont en effet les plus mal connues et sont de plus soupçonnées de correspondre aux formes les plus toxiques d'agrégats.

Nous avons tenté de mesurer l'évolution du coefficient de diffusion D lors de l'agrégation, à la rencontre des réactifs. En effet, D est inversement proportionnel à la taille d'un objet (relation de Stokes-Einstein), une mesure de D devrait donc être particulièrement sensible au passage du monomère à de petits agrégats (oligomères) bien plus gros. Pour les résultats de la Figure 41, l'entrée 1 contient l'amyloïde A $\beta$  14-23, et l'entrée 2 contient une solution tampon ZnSO<sub>4</sub> à 20  $\mu$ M (Zn<sup>2+</sup> est un déclencheur de l'agrégation de ce peptide).

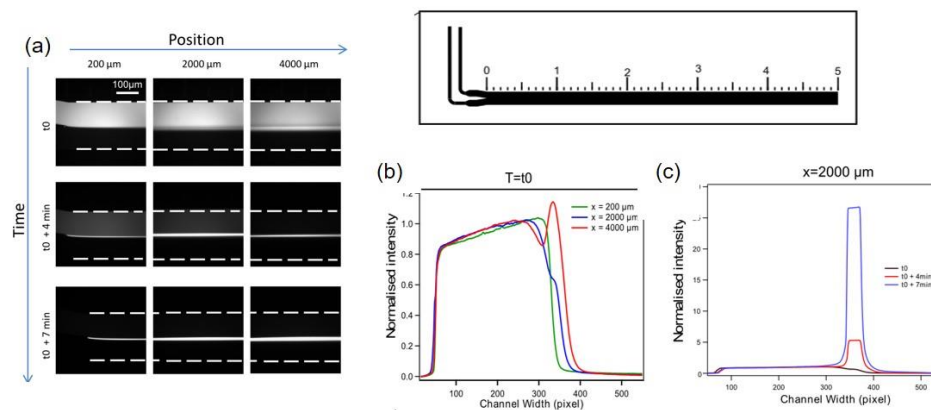


Figure 41 – Résultats obtenus pour la réaction-diffusion pour l'injection dans l'entrée 1 d'un peptide marqué en fluorescence, et dans l'entrée 2 du déclencheur de son agrégation Zn<sup>2+</sup>. (a) Images de microscopie de fluorescence le long du canal, à différents instants après le début de l'expérience. (b) Profils d'intensité à trois distances de l'entrée, à un instant fixé. (c) Profil d'intensité à trois instants différents à une position donnée.



Le comportement observé est plus complexe que prévu : accumulation du peptide dans le canal, due à l'adsorption. Les peptides sous écoulement se coordonnent avec les ions zinc adsorbés, puis agissent comme des germes attachés à la surface: les agrégats en formation peuvent alors s'accumuler dans le canal au lieu d'être transportés par l'écoulement. Un contrôle de la physico-chimie de surface serait nécessaire afin de travailler dans des conditions non-adhérentes. Une alternative pourrait être le recours à des canaux 3D (obtenus par une technique de lamination à plusieurs niveaux développée au LAAS<sup>88,246</sup>) pour déclencher l'agrégation loin des murs.

Ces résultats préliminaires, s'ils n'ont pas réellement permis de fournir un outil quantitatif pour caractériser l'agrégation de l'amyloïde bêta, m'ont donné une première expérience de réaction chimique sous écoulement, dont le produit formé par auto-assemblage devient macroscopiquement connecté, dans un contexte biologique. Ces travaux ont donc logiquement été à la source de ma collaboration avec Juliette Fitremann, dans le cadre d'un projet qui vise à mettre en forme des supports pour la croissance de cellules et la reconstruction de tissus biologiques.

#### III.3.2 Contexte : gels supramoléculaires, études de biocompatibilité

Dans le contexte du projet ANR Neuraxe (démarré en 2016), coordonné par Juliette Fitremann (Laboratoire de chimie IMRCP) et en collaboration avec Isabelle Loubinoux et Laurence Vaysse (équipe INSERM Tonic), nous visons à développer, mettre en forme, et tester en conditions réelles (cultures cellulaires puis *in vivo*) des gels supramoléculaires, pour leur utilisation comme support de cultures de neurones, dans l'esprit des travaux précurseurs de Stupp *et al.*<sup>247-249</sup>. L'application ultime visée est l'aide à la reconstruction neuronale après une lésion du cerveau, on s'attache donc particulièrement à la biocompatibilité du gel (non-toxicité, robustesse et résilience *in vivo*), mais aussi à l'orientation des fibres formant le gel (dans l'idée que celles-ci peuvent guider la croissance des neurones), au caractère injectable du matériau (si on cherche à l'introduire dans une zone lésée du cerveau).

Ces gels sont dits supramoléculaires car ils sont formés par l'auto-assemblage de petites molécules, et non à partir de polymères comme c'est le cas de la plupart des gels. La première année du projet, et de la thèse d'Anaïs Chalard que je co-encadre avec J Fitremann, a principalement été consacrée à tester quelques familles de molécules à base de sucres (des amphiphiles à tête polaire saccharidique). Ainsi, Anaïs a pu montrer, principalement avec mes collègues chimistes et biologistes, que trois gélifiants biocompatibles forment des gels constitués de fibres très larges, qui sont de bons supports aux cellules.

Des changements mineurs dans la structure des molécules (passage de six à huit carbone, Figure 42) influence la structure tridimensionnelle du gel et sa rigidité. Les modules mécaniques des gels sont proches de ceux du cerveau. Des cellules peuvent proliférer en 3D dans ce gel. Mes collègues ont également démontré la culture de cellules souches neurales adultes humaines *in vitro* sur le gel moléculaire de N-heptyl-D-galactonamide (en C7). Ces résultats ont fait l'objet d'un [communiqué de presse national par le CNRS](#), et ont été publiés en 2018 dans la revue ACS Applied Materials and Interfaces<sup>27</sup>.

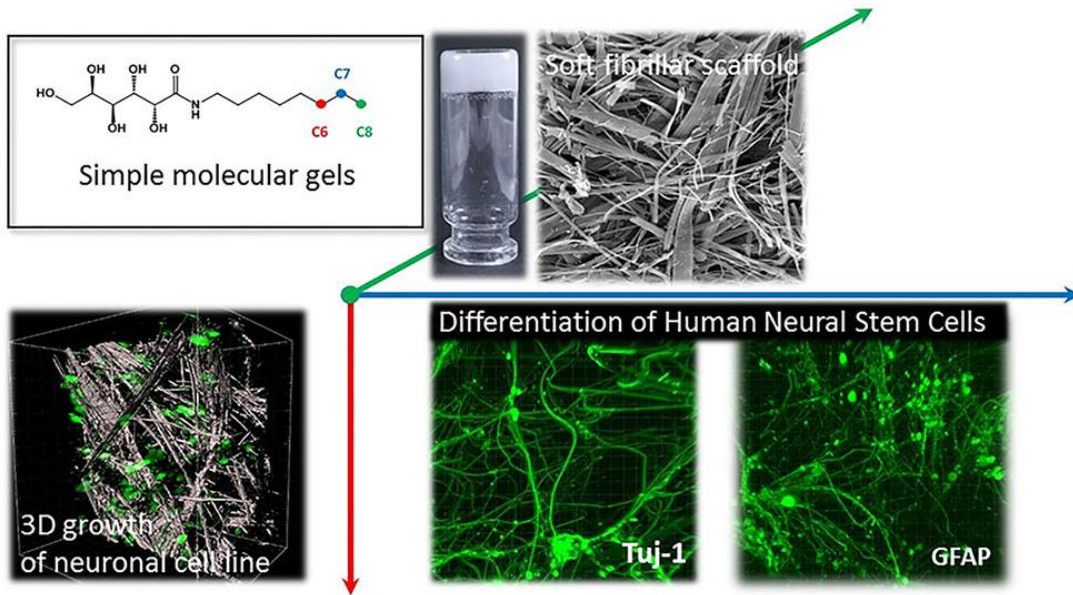


Figure 42- Gels de type galactonamide, capables de former des hydrogels, bon supports de culture cellulaire 3D de lignées cellulaires, mais aussi de cellules souches neurales humaines. D'après la référence <sup>27</sup>.

### III.3.3 Mise en forme des gels : extrusion, wet-spinning, vers l'impression 3D

L'une des étapes suivantes de ce projet est la mise en forme des gels, qui s'inscrit dans le domaine très en vogue de la bioimpression 3D<sup>250,251</sup>, y compris pour des hydrogels supramoléculaires<sup>252</sup>, et pour des neurones<sup>253</sup>. A l'écriture du projet, nous projetions d'utiliser la microfluidique : (i) pour déclencher la gélification (avec un trigger chimique ou bien par choc thermique) ; et (ii) pour aligner les fibres du gel, dans l'idée de guider la croissance des neurones, comme cela est illustré sur la Figure 43a. L'intégration de ces étapes dans une tête d'impression était ensuite envisagée pour atteindre une structuration 3D du biomatériau ainsi obtenu, Figure 43b.

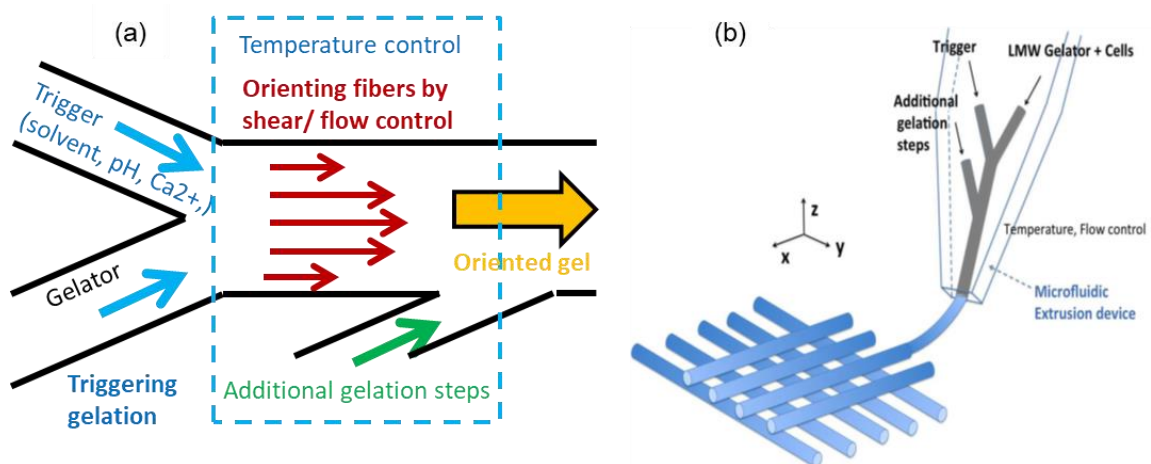


Figure 43- Idées initiales du projet visant à obtenir un gel supramoléculaires biocompatible : (a) déclenchement sur puce de la gélification et alignement des fibres du gel par l'écoulement ; (b) Mise en forme du gel par impression 3D, couplée à la puce microfluidique.

Les deux familles de gels obtenus jusque-là n'ont cependant pas été compatibles avec cette approche. En effet, les tests d'extrusion réalisés sur ces gels n'ont pas été concluants pour deux raisons :

1/ Les gels sont assez fragiles vis-à-vis d'une sollicitation mécanique, et leur extrusion à travers une aiguille provoque leur synérèse (destruction du gel par séparation de l'eau et du gélifiant).

2/ Une façon de déclencher la gélification est le refroidissement de la solution : il faut chauffer à 100°C la solution, puis parvenir à injecter celle-ci dans un tube avec un gradient de température contrôlé. Nos essais en ce sens ont conduit soit à l'obstruction des tubes, soit à la non-gélification.

Nous sommes donc passés à une autre stratégie, reposant sur la gélification par échange de solvant à la sortie d'une aiguille, comme illustré sur la figure. Le gélifiant est dissout dans du DMSO (diméthylsulfoxyde), puis injecté dans un bain aqueux, ce qui provoque la formation d'un filament (Figure 44). Le DMSO, étant miscible à l'eau, est éliminé dans la solution. Ce procédé de wet-spinning (filage par voie humide en français), est très classiquement utilisé depuis plus d'un demi-siècle pour fabriquer des fibres polymères<sup>254</sup>, et a depuis peu été remis au goût du jour dans le contexte des technologies microfluidiques<sup>255-257</sup> et de la bioimpression<sup>258</sup>.

Nous étudions les conditions permettant d'obtenir un filament (Figure 44(b)), c'est-à-dire le diagramme de phase de ce procédé.

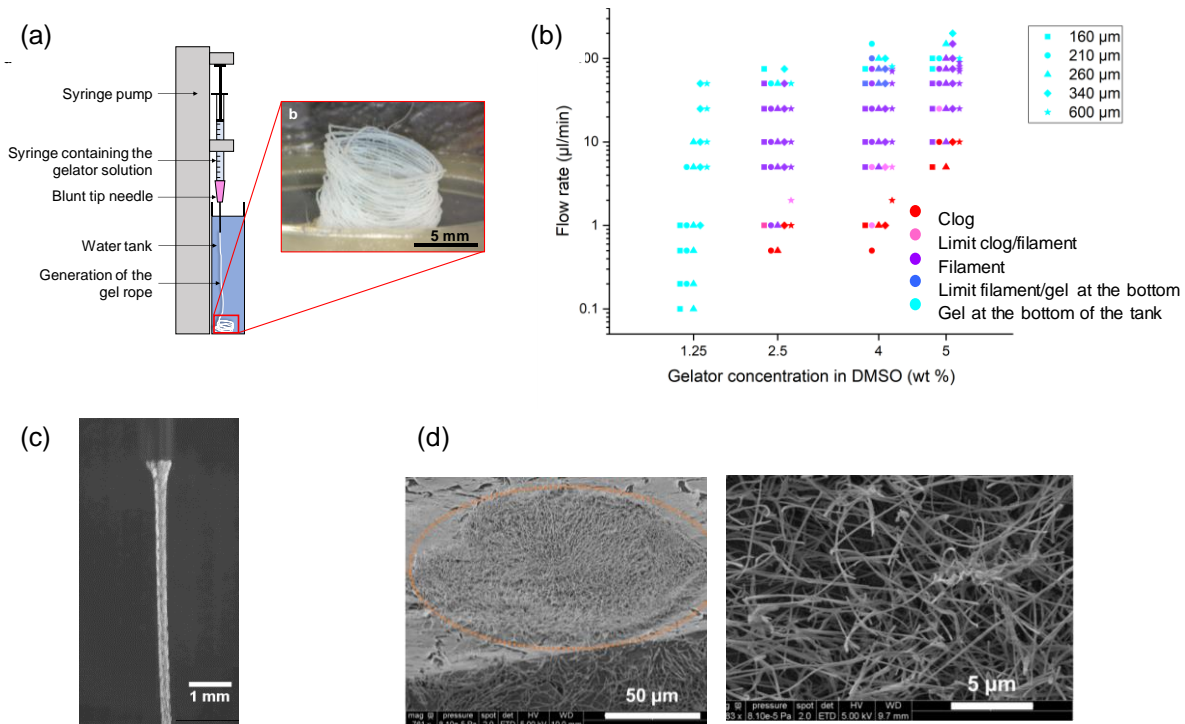


Figure 44- Wet spinning d'hydrogel. (a) Principe: un filament d'hydrogel se forme en injectant une solution de gélifiant dissout dans le DMSO dans un bain d'eau. (b) Diagramme de phase donnant les conditions d'obtention d'un filament, en fonction de la concentration de la solution initiale, du débit d'injection, pour différents diamètres intérieurs de l'aiguille. (c) Image du jet à la sortie de l'aiguille, avec une solution chargée en particules fluorescentes. (d) Images typiques obtenues par Cryo-SEM (congelation puis découpe) des fibres de gel.

Une de mes perspectives court-terme est de comprendre la physique de ce procédé, dans le but d'expliquer ce diagramme, ce qui pilote le diamètre et la structure des filaments, Figure 44c-d.

Une autre perspective est de complexifier la géométrie pour gagner en fonctionnalité : pour cela, nous envisageons une extrusion avec une géométrie cœur-coquille. On pourrait ainsi mieux contrôler la rencontre du gélifiant avec son non-solvant. Il est aussi envisageable d'incorporer des cellules dans le filament formé, en les plaçant dans une phase externe aqueuse qui serait intégrée au gel lors de sa formation. Cela pourra être réalisé par exemple grâce à des capillaires emboîtés (dans l'esprit des travaux d'Orianne Bonhomme<sup>255</sup>) ou bien à l'aide de microfabrication multi-niveaux, moins directe pour des géométries concentriques mais ouvrant à plus de liberté de design.

L'étape suivante de mise en forme de ce matériau, que nous avons abordée récemment (avec Laurent Malaquin et Sandrine Souleille), est le dépôt multiniveaux, structuré, des fibres de gel obtenues par wet spinning sur une surface. Cette impression 3D reprend donc l'idée initiale de la Figure 43b, avec simplement une stratégie de gélification différente. Les résultats préliminaires, visibles sur la Figure 45, montrent l'importance de l'adhésion du matériau sur la surface. Nous avons actuellement recours à une membrane de polycarbonate dont les pores, calibrés, favorisent l'adhésion probablement par la rugosité associée qui permet au gel de s'ancrer au substrat.

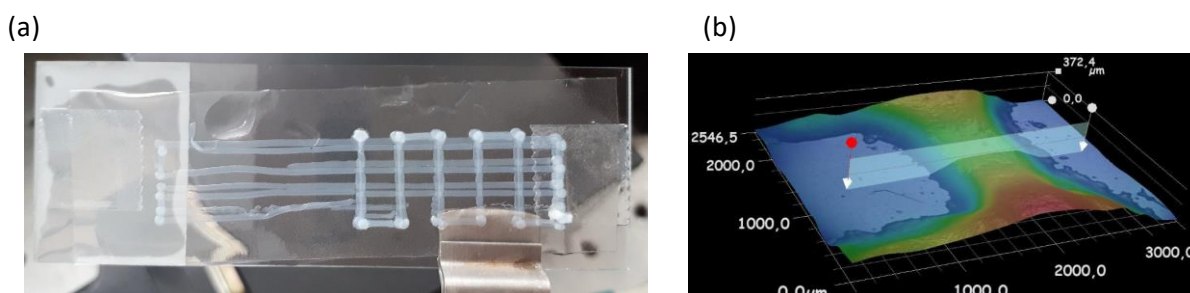


Figure 45- Dépôt de l'hydrogel sur une surface en vue de son impression 3D. (a) Photo après dépôt, après deux passages. (b) Image obtenue par profilométrie optique, montrant la superposition de deux couches.

Nous sommes aux balbutiements de ces expériences d'impression 3D, mais elles ouvrent de nombreuses perspectives liées aux idées, que je mentionnais précédemment, d'utiliser l'ingénierie, les technologies fluidiques, et les auto-assemblages (puisque'il s'agit d'un gel supramoléculaire) pour fabriquer des supports de culture adaptés, afin de mettre des assemblages cellulaires dans des conditions contrôlées.

## IV CONCLUSION

---

**Activités** – Depuis 2007, m'appuyant sur une culture de physicien en microfluidique et sur les forces du LAAS en terme d'ingénierie et de microfabrication, j'ai principalement travaillé sur le transport à petite échelle, suivant deux axes. D'une part en développant des systèmes modèles de poreux, selon plusieurs situations allant de l'échelle sub-micrométrique, à la cristallisation, et au colmatage de membranes de filtration. D'autre part, en caractérisant le transport de nanoparticules et d'auto-assemblages, pour la vectorisation ou la préparation d'échantillon.

**Projet** – Je poursuivrai, dans la continuité de mes recherches en cours, des travaux sur les poreux, avec des perspectives importantes sur le couplage fluide structure, le réalisme des designs et matériaux. J'opère depuis quelques années une montée en puissance de mes activités liées à la biologie, mais toujours selon un point de vue des technologies microfluidiques, une fenêtre de physico-chimie / matière molle que j'affectionne, et souvent avec la même démarche que pour les poreux : utiliser la microfluidique pour concevoir, fabriquer et étudier des systèmes modèles. Ainsi, suite à l'année que j'ai passée dans un laboratoire de physico-chimie à Florence en 2015-2016, je développe des outils pour étudier les interactions de membranes biologiques modèles avec des nanoparticules, et participe au développement de la mise en forme de matériaux hydrogels, supports 3D de culture cellulaire.

**Environnement de travail** – Les travaux décrits dans ce manuscrit ont été pour la plupart faits conjointement avec des collègues du LAAS, chercheurs et ingénieurs, et par des collaborations suivies avec des collègues du transport en milieux poreux (IMFT) et de la physico-chimie des polymères (IMRCP). Mon année sabbatique m'a permis d'acquérir de nouvelles compétences (nanosystèmes auto-assemblés, biomimétiques), mais a aussi été l'occasion d'une prise de recul, qui enrichit ma prospective scientifique. Elle m'encourage aussi à développer, pour le laboratoire, des réseaux de collaboration internationale. Un financement PICS (Projet International de Coopération Scientifique) 2016-2019 du CNRS est en cours, et je prépare, en tant que coordinateur, la réponse à l'appel H2020 ETN (réseau de formation européen) de janvier 2019.

**Interdisciplinarité et cohérence thématique** – La microfluidique est à l'interface de disciplines telles que la micro-nanotechnologie, les écoulements à petite échelle, et ses applications touchent la médecine comme le génie pétrolier. Je suis ainsi confronté à l'interdisciplinarité, qui est une richesse essentielle du domaine, sur la majorité de mes projets. Une bonne partie de ceux-ci ont des applications et contextes médicaux (vectorisation, diagnostic), mais je veille à conserver la cohérence scientifique de mes activités en focalisant ma contribution scientifique sur les phénomènes de transport à petite échelle, les technologies microfluidiques, à l'interface aussi avec la physico-chimie des auto-assemblages.

Finalement, je vise à apporter des éléments de compréhension et/ou des outils à différents domaines, avec une approche, forgée par ma formation et mes expériences de recherche, qui est celle de la physique des liquides, la microfluidique, et la matière molle. Ce sont les challenges scientifiques qui constituent l'essence du travail de chercheur, et j'essaie de contribuer à quelques questions du domaine des milieux poreux (détérioration d'une roche par la cristallisation d'un sel, colmatage d'une membrane de filtration) et de la biologie (interactions nanoparticules-membranes dans le contexte de la nanomédecine, de la toxicité et la bio-élimination des nanomatériaux ; développement de supports de cultures et contrôle de l'environnement de cellules).

## V REFERENCES

---

1. Joseph, P. & Tabeling, P. Direct measurement of the apparent slip length. *Phys. Rev. E* **71**, 035303 (2005).
2. Stone, H. A., Stroock, A. D. & Ajdari, A. Engineering flows in small devices: Microfluidics toward a lab-on-a-chip. *Annu. Rev. Fluid Mech.* **36**, 381–411 (2004).
3. Degré, G. *et al.* Rheology of complex fluids by particle image velocimetry in microchannels. *Appl. Phys. Lett.* **89**, 024104 (2006).
4. Joseph, P. *et al.* Slippage of water past superhydrophobic carbon nanotube forests in microchannels. *Phys. Rev. Lett.* **97**, 156104 (2006).
5. Ybert, C., Barentin, C., Cottin-Bizonne, C., Joseph, P. & Bocquet, L. Achieving large slip with superhydrophobic surfaces: Scaling laws for generic geometries. *Phys. Fluids* **19**, 123601 (2007).
6. Abgrall, P., Bancaud, A. & Joseph, P. Systèmes nanofluidiques. Technologies et applications. *Tech. Ing. NM-250*, 1–15 (2013).
7. Abgrall, P., Bancaud, A. & Joseph, P. Nanofluidic Devices and Their Potential Applications. in *Microfluidic Devices in Nanotechnology* (ed. Kumar, C. S.) 155–214 (John Wiley & Sons, Inc., 2010).
8. Allouch, A. E. D. *et al.* Nanofluidic systems: development of fabrication technologies and characterization of capillary filling rates. in *Proc of the First European Conference on Microfluidics* (ed. S.H.F) (2008).
9. Allouch, A. *et al.* Microbubbles for optofluidics: controlled defects in bubble crystals. *Microfluid. Nanofluidics* **17**, 549–560 (2014).
10. Chauvet, F., Geoffroy, S., Hamoumi, A., Prat, M. & Joseph, P. Roles of gas in capillary filling of nanoslits. *Soft Matter* **8**, 10738–10749 (2012).
11. Méance, S., Pages, L., Gué, A.-M. & Joseph, P. Production of 3-10  $\mu\text{m}$  microbubbles suited for ultrasonic imaging by 2.5D nanofluidic devices. in *18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2014)* (2014).
12. Naillon, A. *et al.* Grayscale lithography to fabricate varying-depth nanochannels in a single step. in *Proc. of MicroTAS 2016 Conference* (2016).
13. Courson, R. *et al.* SAMs VAPOR DEPOSITION: A READY TO USE FUNCTIONALIZATION TECHNOLOGY FOR MONITORING WETTABILITY PROPERTIES IN MICROFLUIDIC DEVICES. in *The 18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2014)* (2014).
14. Phan, V. N. *et al.* Capillary Filling in Closed End Nanochannels. *Langmuir* **26**, 13251–13255 (2010).
15. Naillon, A. *et al.* Quasi-static drainage in a network of nanoslits of non-uniform depth designed by grayscale laser lithography. *Microfluid. Nanofluidics* **21**, 131 (2017).
16. Lee, C. *et al.* Osmotic Flow through Fully Permeable Nanochannels. *Phys. Rev. Lett.* **112**, 244501 (2014).
17. Naillon, A., Joseph, P. & Prat, M. Sodium chloride precipitation reaction coefficient from crystallization experiment in a microfluidic device. *J. Cryst. Growth* **463**, 201–210 (2017).
18. Naillon, A., Joseph, P. & Prat, M. Ion Transport and Precipitation Kinetics as Key Aspects of Stress Generation on Pore Walls Induced by Salt Crystallization. *Phys. Rev. Lett.* **120**, 034502 (2018).

19. Chen, C., Duru, P., Joseph, P., Geoffroy, S. & Prat, M. Control of evaporation by geometry in capillary structures. From confined pillar arrays in a gap radial gradient to phyllotaxy-inspired geometry. *Sci. Rep.* **7**, 15110 (2017).
20. Liot, O. *et al.* Pore cross-talk in colloidal filtration. *Sci. Rep.* **8**, 12460 (2018).
21. Liot, O. *et al.* Transport of nano-objects in narrow channels: influence of Brownian diffusion, confinement and particle nature. *J. Phys. Condens. Matter* **30**, 234001 (2018).
22. Fouet, M. *et al.* Filter-less submicron hydrodynamic size sorting. *Lab. Chip* **16**, 720–733 (2016).
23. Ranchon, H. *et al.* DNA separation and enrichment using electro-hydrodynamic bidirectional flows in viscoelastic liquids. *Lab. Chip* **16**, 1243–1253 (2016).
24. Berti, D., Montis, C., Bergese, P., Milano, G. & Joseph, P. Nanostructured Materials interacting with Synthetic and Natural Lipid Membranes. in *ECIS, 30th Conf of the Eur Colloid and Interface Society* (2016).
25. Montis, C. *et al.* Microfluidics to study interactions of model membranes with nanosystems. in *4th International Soft Matter Conference* (2016).
26. Magnani, C. *et al.* Hybrid vesicles from lipids and block copolymers: Phase behavior from the micro- to the nano-scale. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **168**, 18–28 (2018).
27. Chalard, A. *et al.* Simple Synthetic Molecular Hydrogels from Self-Assembling Alkylgalactonamides as Scaffold for 3D Neuronal Cell Growth. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **10**, 17004–17017 (2018).
28. Duan, C., Wang, W. & Xie, Q. Review article: Fabrication of nanofluidic devices. *Biomicrofluidics* **7**, 026501 (2013).
29. Eijkel, J. C. T. & van den Berg, A. Nanofluidics: what is it and what can we expect from it? *Microfluid. Nanofluidics* **1**, 249–267 (2005).
30. Salieb-Beugelaar, G. B., Dorfman, K. D., Berg, A. van den & Eijkel, J. C. T. Electrophoretic separation of DNA in gels and nanostructures. *Lab. Chip* **9**, 2508–2523 (2009).
31. Howorka, S. & Siwy, Z. Nanopore analytics: sensing of single molecules. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 2360–2384 (2009).
32. Feng, J. *et al.* Identification of single nucleotides in MoS<sub>2</sub> nanopores. *Nat. Nanotechnol.* **10**, 1070–1076 (2015).
33. Pennathur, S., Eijkel, J. C. T. & van den Berg, A. Energy conversion in microsystems: is there a role for micro/nanofluidics? *Lab. Chip* **7**, 1234–1237 (2007).
34. Lenormand, R., Touboul, E. & Zarcone, C. Numerical models and experiments on immiscible displacements in porous media. *J. Fluid Mech.* **189**, 165–187 (1988).
35. Olbricht, W. L. Pore-scale prototypes of multiphase flow in porous media. *Annu. Rev. Fluid Mech.* **28**, 187–213 (1996).
36. Gunda, N. S. K., Bera, B., K. Karadimitriou, N., K. Mitra, S. & Majid Hassanizadeh, S. Reservoir-on-a-Chip (ROC): A new paradigm in reservoir engineering. *Lab. Chip* **11**, 3785–3792 (2011).
37. Zhang, C., Oostrom, M., Wietsma, T. W., Grate, J. W. & Warner, M. G. Influence of Viscous and Capillary Forces on Immiscible Fluid Displacement: Pore-Scale Experimental Study in a Water-Wet Micromodel Demonstrating Viscous and Capillary Fingering. *Energy Fuels* **25**, 3493–3505 (2011).
38. Jung, M. *et al.* Wettability controls slow immiscible displacement through local interfacial instabilities. *Phys. Rev. Fluids* **1**, 074202 (2016).



39. Cottin, C., Bodiguel, H. & Colin, A. Drainage in two-dimensional porous media: From capillary fingering to viscous flow. *Phys. Rev. E* **82**, 046315 (2010).
40. Zhao, X., Blunt, M. J. & Yao, J. Pore-scale modeling: Effects of wettability on waterflood oil recovery. *J. Pet. Sci. Eng.* **71**, 169–178 (2010).
41. Lee, H., Lee, S. G. & Doyle, P. S. Photopatterned oil-reservoir micromodels with tailored wetting properties. *Lab. Chip* **15**, 3047–3055 (2015).
42. Zhao, B., MacMinn, C. W. & Juanes, R. Wettability control on multiphase flow in patterned microfluidics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **113**, 10251–10256 (2016).
43. Washburn, E. W. The Dynamics of Capillary Flow. *Phys. Rev.* **17**, 273–283 (1921).
44. Vincent, O., Sznecier, A. & Stroock, A. D. Capillarity-driven flows at the continuum limit. *Soft Matter* **12**, 6656–6661 (2016).
45. Duan, C., Karnik, R., Lu, M.-C. & Majumdar, A. Evaporation-induced cavitation in nanofluidic channels. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**, 3688–3693 (2012).
46. Honschoten, J. W. van, Escalante, M., Tas, N. R., Jansen, H. V. & Elwenspoek, M. Elastocapillary filling of deformable nanochannels. *J. Appl. Phys.* **101**, 094310 (2007).
47. van Honschoten, J. W., Escalante, M., Tas, N. R. & Elwenspoek, M. Formation of liquid menisci in flexible nanochannels. *J. Colloid Interface Sci.* **329**, 133–139 (2009).
48. Vincent, O., Sessoms, D. A., Huber, E. J., Guioth, J. & Stroock, A. D. Drying by cavitation and poroelastic relaxations in extreme ink-bottle porous media. *Phys. Rev. Lett.* **113**, 1–5 (2014).
49. Bocquet, L. & Charlaix, E. Nanofluidics, from bulk to interfaces. *Chem. Soc. Rev.* **39**, 1073–1095 (2010).
50. Cottin-Bizonne, C., Cross, B., Steinberger, A. & Charlaix, E. Boundary Slip on Smooth Hydrophobic Surfaces: Intrinsic Effects and Possible Artifacts. *Phys. Rev. Lett.* **94**, 056102 (2005).
51. Luo, M. & Epps, T. H. Directed Block Copolymer Thin Film Self-Assembly: Emerging Trends in Nanopattern Fabrication. *Macromolecules* **46**, 7567–7579 (2013).
52. Shih, W.-P. Collapse of microchannels during anodic bonding: Theory and experiments. *J. Appl. Phys.* **95**, 2800–2800 (2004).
53. van Delft, K. M. *et al.* Micromachined Fabry-Perot interferometer with embedded nanochannels for nanoscale fluid dynamics. *Nano Lett.* **7**, 345–350 (2007).
54. Madou, M. J. *Fundamentals of Microfabrication and Nanotechnology*, Third Edition, Three-Volume Set. *CRC Press* (2011). Available at: <https://www.crcpress.com/Fundamentals-of-Microfabrication-and-Nanotechnology-Third-Edition-Three-Volume/Madou/p/book/9780849331800>. (Accessed: 14th July 2016)
55. Stavis, S. M., Geist, J., Gaitan, M., Locascio, L. E. & Strychalski, E. A. DNA molecules descending a nanofluidic staircase by entropophoresis. *Lab. Chip* **12**, 1174–1182 (2012).
56. Stavis, S. M., Geist, J. & Gaitan, M. Separation and metrology of nanoparticles by nanofluidic size exclusion. *Lab. Chip* **10**, 2618–2621 (2010).
57. Sugioka, K. & Cheng, Y. Femtosecond laser three-dimensional micro- and nanofabrication. *Appl. Phys. Rev.* **1**, 041303 (2014).
58. Ke, K., Hasselbrink, Ernest F. & Hunt, A. J. Rapidly Prototyped Three-Dimensional Nanofluidic Channel Networks in Glass Substrates. *Anal. Chem.* **77**, 5083–5088 (2005).



59. Liao, Y. *et al.* Direct laser writing of sub-50 nm nanofluidic channels buried in glass for three-dimensional micro-nanofluidic integration. *Lab. Chip* **13**, 1626–1631 (2013).
60. Li, L., Gattass, R. R., Gershgoren, E., Hwang, H. & Fourkas, J. T. Achieving 1/20 Resolution by One Color Initiation and Deactivation of Polymerization. *Science* **324**, 910–913 (2009).
61. Selimis, A., Mironov, V. & Farsari, M. Microelectronic Engineering Direct laser writing : Principles and materials for scaffold 3D printing. *Microelectron. Eng.* **132**, 83–89 (2015).
62. Azimi, S. *et al.* Buried centimeter-long micro- and nanochannel arrays in porous silicon and glass. *Lab. Chip* **14**, 2081–2089 (2014).
63. Kim, J., Joy, D. C. & Lee, S.-Y. Controlling resist thickness and etch depth for fabrication of 3D structures in electron-beam grayscale lithography. *Microelectron. Eng.* **84**, 2859–2864 (2007).
64. Erdmanis, M. & Tittonen, I. Focused ion beam high resolution grayscale lithography for silicon-based nanostructures. *Appl. Phys. Lett.* **104**, 073118 (2014).
65. Totsu, K., Fujishiro, K., Tanaka, S. & Esashi, M. Fabrication of three-dimensional microstructure using maskless gray-scale lithography. *Sens. Actuators Phys.* **130–131**, 387–392 (2006).
66. Rammohan, A. *et al.* One-step maskless grayscale lithography for the fabrication of 3-dimensional structures in SU-8. *Sens. Actuators B Chem.* **153**, 125–134 (2011).
67. Zhong, K., Gao, Y., Li, F., Zhang, Z. & Luo, N. Fabrication of PDMS microlens array by digital maskless grayscale lithography and replica molding technique. *Opt. - Int. J. Light Electron Opt.* **125**, 2413–2416 (2014).
68. Stavis, S. M., Strychalski, E. A. & Gaitan, M. Nanofluidic structures with complex three-dimensional surfaces. *Nanotechnology* **20**, 165302 (2009).
69. Wu, M. H., Park, C. & Whitesides, G. M. Fabrication of arrays of microlenses with controlled profiles using gray-scale microlens projection photolithography. *Langmuir* **18**, 9312–9318 (2002).
70. Gale, M. T., Rossi, M., Pedersen, J. & Schuetz, H. Fabrication of continuous-relief micro-optical elements by direct laser writing in photoresists. *Opt. Eng.* **33**, 3556–3566 (1994).
71. Abgrall, P. & Nguyen, N. T. Nanofluidic devices and their applications. *Anal. Chem.* **80**, 2326–2341 (2008).
72. Haneveld, J., Tas, N. R., Brunets, N., Jansen, H. V. & Elwenspoek, M. Capillary filling of sub-10 nm nanochannels. *J. Appl. Phys.* **104**, 014309 (2008).
73. Bico, J., Roman, B., Moulin, L. & Boudaoud, A. Elastocapillary coalescence in wet hair. *Nature* **432**, 690–690 (2004).
74. Roman, B. & Bico, J. Elasto-capillarity: deforming an elastic structure with a liquid droplet. *J. Phys. Condens. Matter* **22**, 493101 (2010).
75. Shui, L., Berg, A. van den & Eijkel, J. C. T. Scalable attoliter monodisperse droplet formation using multiphase nano-microfluidics. *Microfluid. Nanofluidics* **11**, 87–92 (2011).
76. Malloggi, F. *et al.* Monodisperse Colloids Synthesized with Nanofluidic Technology. *Langmuir* **26**, 2369–2373 (2009).
77. Dangla, R., Fradet, E., Lopez, Y. & Baroud, C. N. The physical mechanisms of step emulsification. *J. Phys. Appl. Phys.* **46**, 114003 (2013).
78. Hein, M., Afkhami, S., Seemann, R. & Kondic, L. Capillary focusing close to a topographic step: shape and instability of confined liquid filaments. *Microfluid. Nanofluidics* 1–7 (2014). doi:10.1007/s10404-014-1481-0

## V - Références

79. Li, Z., Leshansky, A. M., Pismen, L. M. & Tabeling, P. Step-emulsification in a microfluidic device. *Lab. Chip* (2014). doi:10.1039/C4LC01289E
80. Stoffel, M. *et al.* Bubble Production Mechanism in a Microfluidic Foam Generator. *Phys. Rev. Lett.* **108**, 198302 (2012).
81. Lindner, J. R. Microbubbles in medical imaging: current applications and future directions. *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 527–533 (2004).
82. Talu, E. *et al.* Maintaining Monodispersity in a Microbubble Population Formed by Flow-Focusing. *Langmuir* **24**, 1745–1749 (2008).
83. Abecassis, B., Cottin-Bizonne, C., Ybert, C., Ajdari, A. & Bocquet, L. Boosting migration of large particles by solute contrasts. *Nat. Mater.* **7**, 785–789 (2008).
84. Naillon, A. Écoulements liquide-gaz, évaporation, cristallisation dans les milieux micro et nanoporeux. Études à partir de systèmes modèles micro et nanofluidiques. (Université de Toulouse, 2016).
85. Flatt, R. J., Caruso, F., Sanchez, A. M. A. & Scherer, G. W. Chemo-mechanics of salt damage in stone. *Nat. Commun.* **5**, 4823–4823 (2014).
86. Naillon, A., Duru, P., Marcoux, M. & Prat, M. Evaporation with sodium chloride crystallization in a capillary tube. *J. Cryst. Growth* **422**, 52–61 (2015).
87. Defraeye, T., Verboven, P., Derome, D., Carmeliet, J. & Nicolai, B. Stomatal transpiration and droplet evaporation on leaf surfaces by a microscale modelling approach. *Int. J. Heat Mass Transf.* **65**, 180–191 (2013).
88. Courson, R. *et al.* Low-cost multilevel microchannel lab on chip: DF-1000 series dry film photoresist as a promising enabler. *RSC Adv.* **4**, 54847–54853 (2014).
89. Chen, C., Joseph, P., Geoffroy, S., Prat, M. & Duru, P. Evaporation with the formation of chains of liquid bridges. *J. Fluid Mech.* **837**, 703–728 (2018).
90. Dressaire, E. & Sauret, A. Clogging of microfluidic systems. *Soft Matter* **13**, 37–48 (2016).
91. Wyss, H. M., Blair, D. L., Morris, J. F., Stone, H. A. & Weitz, D. A. Mechanism for clogging of microchannels. *Phys. Rev. E* **74**, 061402 (2006).
92. Dersoir, B., Robert de Saint Vincent, M., Abkarian, M. & Tabuteau, H. Clogging of a single pore by colloidal particles. *Microfluid. Nanofluidics* **19**, 953–961 (2015).
93. Robert de Saint Vincent, M., Abkarian, M. & Tabuteau, H. Dynamics of colloid accumulation under flow over porous obstacles. *Soft Matter* **12**, 1041–1050 (2016).
94. Kumar, A. & Graham, M. D. Margination and segregation in confined flows of blood and other multicomponent suspensions. *Soft Matter* **8**, 10536–10548 (2012).
95. Dionzou, M. *et al.* Comparison of methods for the fabrication and the characterization of polymer self-assemblies: what are the important parameters? *Soft Matter* **12**, 2166–2176 (2016).
96. Fang, J., Nakamura, H. & Maeda, H. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63**, 136–151 (2011).
97. Chen, S. B. & Ye, X. Faxen's Laws of a Composite Sphere under Creeping Flow Conditions. *J. Colloid Interface Sci.* **221**, 50–57 (2000).
98. Pasol, L. *et al.* Motion of a sphere parallel to plane walls in a Poiseuille flow. Application to field-flow fractionation and hydrodynamic chromatography. *Chem. Eng. Sci.* **66**, 4078–4089 (2011).

99. Meins, J.-F. L., Sandre, O. & Lecommandoux, S. Recent trends in the tuning of polymersomes' membrane properties. *Eur. Phys. J. E* **34**, 14 (2011).
100. Jaskiewicz, K., Makowski, M., Kappl, M., Landfester, K. & Kroeger, A. Mechanical Properties of Poly(dimethylsiloxane)-block-poly(2-methyloxazoline) Polymersomes Probed by Atomic Force Microscopy. *Langmuir* **28**, 12629–12636 (2012).
101. Zhu, L., Rorai, C., Mitra, D. & Brandt, L. A microfluidic device to sort capsules by deformability: a numerical study. *Soft Matter* **10**, 7705–7711 (2014).
102. Fedosov, D. A., Fornleitner, J. & Gompper, G. Margination of White Blood Cells in Microcapillary Flow. *Phys. Rev. Lett.* **108**, 028104 (2012).
103. Fitzgibbon, S., Spann, A. P., Qi, Q. M. & Shaqfeh, E. S. G. In Vitro Measurement of Particle Margination in the Microchannel Flow: Effect of Varying Hematocrit. *Biophys. J.* **108**, 2601–2608 (2015).
104. Chen, Y. *et al.* Margination of Stiffened Red Blood Cells Regulated By Vessel Geometry. *Sci. Rep.* **7**, 15253 (2017).
105. D'Apolito, R. *et al.* Red blood cells affect the margination of microparticles in synthetic microcapillaries and intravital microcirculation as a function of their size and shape. *J. Controlled Release* **217**, 263–272 (2015).
106. Sajeesh, P. & Sen, A. K. Particle separation and sorting in microfluidic devices: a review. *Microfluid. Nanofluidics* **17**, 1–52 (2014).
107. Lenshof, A. & Laurell, T. Continuous separation of cells and particles in microfluidic systems. *Chem. Soc. Rev.* **39**, 1203–1217 (2010).
108. Yamada, M. & Seki, M. Microfluidic Particle Sorter Employing Flow Splitting and Recombining. *Anal. Chem.* **78**, 1357–1362 (2006).
109. Yamada, M. & Seki, M. Hydrodynamic filtration for on-chip particle concentration and classification utilizing microfluidics. *Lab. Chip* **5**, 1233–1239 (2005).
110. De Toro, J., Herschlik, L., Waldner, C. & Mongini, C. Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications. *Inflammation* **203** (2015). doi:10.3389/fimmu.2015.00203
111. Liga, A., Vliegthart, A. D. B., Oosthuyzen, W., Dear, J. W. & Kersaudy-Kerhoas, M. Exosome isolation: a microfluidic road-map. *Lab. Chip* **15**, 2388–2394 (2015).
112. Yang, F., Liao, X., Tian, Y. & Li, G. Exosome separation using microfluidic systems: size-based, immunoaffinity-based and dynamic methodologies. *Biotechnol. J.* **12**, n/a-n/a (2017).
113. He, M. & Zeng, Y. Microfluidic Exosome Analysis toward Liquid Biopsy for Cancer. *J. Lab. Autom.* **21**, 599–608 (2016).
114. Gholizadeh, S. *et al.* Microfluidic approaches for isolation, detection, and characterization of extracellular vesicles: Current status and future directions. *Biosens. Bioelectron.* **91**, 588–605 (2017).
115. Liang, L.-G. *et al.* An integrated double-filtration microfluidic device for isolation, enrichment and quantification of urinary extracellular vesicles for detection of bladder cancer. *Sci. Rep.* **7**, srep46224 (2017).
116. Fang, S. *et al.* Clinical application of a microfluidic chip for immunocapture and quantification of circulating exosomes to assist breast cancer diagnosis and molecular classification. *PLOS ONE* **12**, e0175050 (2017).

## V - Références

117. Liu, C. *et al.* Field-Free Isolation of Exosomes from Extracellular Vesicles by Microfluidic Viscoelastic Flows. *ACS Nano* **11**, 6968–6976 (2017).
118. Montis, C. *et al.* Size distribution of extracellular vesicles by optical correlation techniques. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **158**, 331–338 (2017).
119. Federici, S. *et al.* Interaction of Extracellular Vesicles with Si Surface Studied by Nanomechanical Microcantilever Sensors. *Appl. Sci.* **8**, 404 (2018).
120. Zhang, W. *et al.* Liquid Biopsy for Cancer: Circulating Tumor Cells, Circulating Free DNA or Exosomes? *Cell. Physiol. Biochem.* **41**, 755–768 (2017).
121. Crowley, E., Di Nicolantonio, F., Loupakis, F. & Bardelli, A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **10**, 472–484 (2013).
122. Bancaud, A. & Ranchon, H. Method for Separating Biological Molecules and Cells in Solution. (2014).
123. Bhat, K. *et al.* Advances in biomarker research for pancreatic cancer. *Curr. Pharm. Des.* **18**, 2439–2451 (2012).
124. Rooij, E. van. The Art of MicroRNA Research. *Circ. Res.* **108**, 219–234 (2011).
125. MacDonald, M. E. *et al.* A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* **72**, 971–983 (1993).
126. Leïchlé, T. & Bourrier, D. Integration of lateral porous silicon membranes into planar microfluidics. *Lab. Chip* **15**, 833–838 (2015).
127. Desarnaud, J., Bonn, D. & Shahidzadeh, N. The Pressure induced by salt crystallization in confinement. *Sci. Rep.* **6**, 30856 (2016).
128. Chauvet, F., Duru, P. & Prat, M. Depinning of evaporating liquid films in square capillary tubes: Influence of corners' roundedness. *Phys. Fluids* **22**, 112113–112113 (2010).
129. Chauvet, F., Duru, P., Geoffroy, S. & Prat, M. Three periods of drying of a single square capillary tube. *Phys. Rev. Lett.* **103**, 124502–124502 (2009).
130. Leng, J., Lonetti, B., Tabeling, P., Joanicot, M. & Ajdari, A. Microevaporators for kinetic exploration of phase diagrams. *Phys. Rev. Lett.* **96**, 084503–084503 (2006).
131. Leng, J. & Salmon, J.-B. Microfluidic crystallization. *Lab. Chip* **9**, 24–34 (2009).
132. Leng, J., Joanicot, M. & Ajdari, A. Microfluidic Exploration of the Phase Diagram of a Surfactant/Water Binary System. *Langmuir* **23**, 2315–2317 (2007).
133. Veran-Tissoires, S., Marcoux, M. & Prat, M. Discrete Salt Crystallization at the Surface of a Porous Medium. *Phys. Rev. Lett.* **108**, 054502 (2012).
134. Veran-Tissoires, S. & Prat, M. Evaporation of a sodium chloride solution from a saturated porous medium with efflorescence formation. *J. Fluid Mech.* **749**, 701–749 (2014).
135. Montis, C., Baglioni, P. & Berti, D. Monitoring the interaction of nucleolipoplexes with model membranes. *Soft Matter* **10**, 39–43 (2013).
136. Kayal, T. A. *et al.* Lysozyme interaction with negatively charged lipid bilayers: protein aggregation and membrane fusion. *Soft Matter* **8**, 4524–4534 (2012).
137. Berti, D., Caminati, G. & Baglioni, P. Functional liposomes and supported lipid bilayers: towards the complexity of biological archetypes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**, 8769–8782 (2011).
138. Montis, C., Maiolo, D., Alessandri, I., Bergese, P. & Berti, D. Interaction of nanoparticles with lipid membranes: a multiscale perspective. *Nanoscale* **6**, 6452–6457 (2014).

139. Beddoes, C. M., Case, C. P. & Briscoe, W. H. Understanding nanoparticle cellular entry: A physicochemical perspective. *Adv. Colloid Interface Sci.* **218**, 48–68 (2015).
140. Lagny, T. J. & Bassereau, P. Bioinspired membrane-based systems for a physical approach of cell organization and dynamics: usefulness and limitations. *Interface Focus* **5**, 20150038 (2015).
141. Rascol, E., Devoisselle, J.-M. & Chopineau, J. The relevance of membrane models to understand nanoparticles–cell membrane interactions. *Nanoscale* **8**, 4780–4798 (2016).
142. Hu, P. C., Li, S. & Malmstadt, N. Microfluidic Fabrication of Asymmetric Giant Lipid Vesicles. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **3**, 1434–1440 (2011).
143. Matosevic, S. & Paegel, B. M. Stepwise Synthesis of Giant Unilamellar Vesicles on a Microfluidic Assembly Line. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 2798–2800 (2011).
144. Robinson, T., Kuhn, P., Eyer, K. & Dittrich, P. S. Microfluidic trapping of giant unilamellar vesicles to study transport through a membrane pore. *Biomicrofluidics* **7**, 044105 (2013).
145. Zagnoni, M. Miniaturised technologies for the development of artificial lipid bilayer systems. *Lab. Chip* **12**, 1026–1039 (2012).
146. Schlicht, Barbara & Zagnoni, Michele. A High-Throughput Microfluidic System For The Simultaneous Formation Of Droplet-Interface-Bilayer Arrays. in *Proceedings of MicroTAS 946* (Roland Zengerle, 2013).
147. Villar, G., Graham, A. D. & Bayley, H. A Tissue-Like Printed Material. *Science* **340**, 48–52 (2013).
148. Simonsson, L. & Höök, F. Formation and Diffusivity Characterization of Supported Lipid Bilayers with Complex Lipid Compositions. *Langmuir* **28**, 10528–10533 (2012).
149. Ainla, A., Gözen, I., Hakonen, B. & Jesorka, A. Lab on a Biomembrane: Rapid prototyping and manipulation of 2D fluidic lipid bilayer circuits. *Sci. Rep.* **3**, 2743 (2013).
150. Yamada, A., Lee, S., Bassereau, P. & Baroud, C. N. Trapping and release of giant unilamellar vesicles in microfluidic wells. *Soft Matter* **10**, 5878–5885 (2014).
151. Bayley, H. *et al.* Droplet interface bilayers. *Mol. Biosyst.* **4**, 1191–1208 (2008).
152. Thutupalli, S., Fleury, J. B., Steinberger, A., Herminghaus, S. & Seemann, R. Why can artificial membranes be fabricated so rapidly in microfluidics? *Chem. Commun.* **49**, 1443–1445 (2013).
153. Maglia, G. *et al.* Droplet networks with incorporated protein diodes show collective properties. *Nat. Nanotechnol.* **4**, 437–440 (2009).
154. Simonsson, L., Gunnarsson, A., Wallin, P., Jönsson, P. & Höök, F. Continuous Lipid Bilayers Derived from Cell Membranes for Spatial Molecular Manipulation. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 14027–14032 (2011).
155. Jonsson, P., Jonsson, M. P. & Hook, F. Sealing of Submicrometer Wells by a Shear-Driven Lipid Bilayer. *Nano Lett.* **10**, 1900–1906 (2010).
156. Stimberg, V. C., Bomer, J. G., van Uiter, I., van den Berg, A. & Le Gac, S. High Yield, Reproducible and Quasi-Automated Bilayer Formation in a Microfluidic Format. *Small* **9**, 1076–1085 (2013).
157. Stein, H., Spindler, S., Bonakdar, N., Wang, C. & Sandoghdar, V. Production of Isolated Giant Unilamellar Vesicles under High Salt Concentrations. *Front. Physiol.* **8**, 63 (2017).
158. Yamada, A., Lee, S., Bassereau, P. & Baroud, C. N. Trapping and release of giant unilamellar vesicles in microfluidic wells. *Soft Matter* **10**, 5878–5885 (2014).
159. Ronen, R., Kaufman, Y. & Freger, V. Formation of pore-spanning lipid membrane and cross-membrane water and ion transport. *J. Membr. Sci.* **523**, 247–254 (2017).

## V - Références

160. Michelon, M., Oliveira, D. R. B., de Figueiredo Furtado, G., Gaziola de la Torre, L. & Cunha, R. L. High-throughput continuous production of liposomes using hydrodynamic flow-focusing microfluidic devices. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **156**, 349–357 (2017).
161. Carugo, D., Bottaro, E., Owen, J., Stride, E. & Nastruzzi, C. Liposome production by microfluidics: potential and limiting factors. *Sci. Rep.* **6**, 25876 (2016).
162. Huang, Y., Kim, S.-H. & Arriaga, L. R. Emulsion templated vesicles with symmetric or asymmetric membranes. *Adv. Colloid Interface Sci.* **247**, 413–425 (2017).
163. Kamiya, K. & Takeuchi, S. Giant liposome formation toward the synthesis of well-defined artificial cells. *J. Mater. Chem. B* **5**, 5911–5923 (2017).
164. Balbino, T. A., Serafin, J. M., Radaic, A., de Jesus, M. B. & de la Torre, L. G. Integrated microfluidic devices for the synthesis of nanoscale liposomes and lipoplexes. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **152**, 406–413 (2017).
165. Hsia, C.-Y., Chen, L., Singh, R. R., DeLisa, M. P. & Daniel, S. A Molecularly Complete Planar Bacterial Outer Membrane Platform. *Sci. Rep.* **6**, 32715 (2016).
166. Barlow, N. E. *et al.* Engineering plant membranes using droplet interface bilayers. *Biomicrofluidics* **11**, 024107 (2017).
167. Danial, J. S. H., Cronin, B., Mallik, C. & Wallace, M. I. On demand modulation of lipid composition in an individual bilayer. *Soft Matter* **13**, 1788–1793 (2017).
168. Sobrinos-Sanguino, M., Zorrilla, S., Keating, C. D., Monterroso, B. & Rivas, G. Encapsulation of a compartmentalized cytoplasm mimic within a lipid membrane by microfluidics. *Chem. Commun.* **53**, 4775–4778 (2017).
169. Weiss, M. *et al.* Sequential bottom-up assembly of mechanically stabilized synthetic cells by microfluidics. *Nat. Mater.* **17**, 89–96 (2018).
170. Peyret, A., Zhao, H. & Lecommandoux, S. Preparation and Properties of Asymmetric Synthetic Membranes Based on Lipid and Polymer Self-Assembly. *Langmuir* **34**, 3376–3385 (2018).
171. Trantidou, T. *et al.* Engineering Compartmentalized Biomimetic Micro- and Nanocontainers. *ACS Nano* **11**, 6549–6565 (2017).
172. Nuti, N., Verboket, P. E. & Dittrich, P. S. Multivesicular droplets: a cell model system to study compartmentalised biochemical reactions. *Lab. Chip* **17**, 3112–3119 (2017).
173. Deng, N.-N. & Huck, W. T. S. Microfluidic Formation of Monodisperse Coacervate Organelles in Liposomes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**, 9736–9740 (2017).
174. Deng, N.-N., Yelleswarapu, M., Zheng, L. & Huck, W. T. S. Microfluidic Assembly of Monodisperse Vesosomes as Artificial Cell Models. *J. Am. Chem. Soc.* **139**, 587–590 (2017).
175. Elani, Y. *et al.* Constructing vesicle-based artificial cells with embedded living cells as organelle-like modules. *Sci. Rep.* **8**, 4564 (2018).
176. Nilsson, J., Evander, M., Hammarström, B. & Laurell, T. Review of cell and particle trapping in microfluidic systems. *Anal. Chim. Acta* **649**, 141–157 (2009).
177. Tan, W.-H. & Takeuchi, S. A trap-and-release integrated microfluidic system for dynamic microarray applications. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 1146–1151 (2007).
178. Carlo, D. D., Wu, L. Y. & Lee, L. P. Dynamic single cell culture array. *Lab. Chip* **6**, 1445–1449 (2006).
179. Di Carlo, D., Aghdam, N. & Lee, L. P. Single-Cell Enzyme Concentrations, Kinetics, and Inhibition Analysis Using High-Density Hydrodynamic Cell Isolation Arrays. *Anal. Chem.* **78**, 4925–4930 (2006).

180. Nuss, H., Chevillard, C., Guenoun, P. & Malloggi, F. Microfluidic trap-and-release system for lab-on-a-chip-based studies on giant vesicles. *Lab. Chip* **12**, 5257–5261 (2012).
181. Sturzenegger, F., Robinson, T., Hess, D. & Dittrich, P. S. Membranes under shear stress: visualization of non-equilibrium domain patterns and domain fusion in a microfluidic device. *Soft Matter* **12**, 5072–5076 (2016).
182. Sebastian, B., Favero, T. & Dittrich, P. S. The Effects of Shear Force Transmission Across Vesicle Membranes. *J. Phys. Chem. Lett.* **8**, 6128–6134 (2017).
183. Dervaux, J., Noireaux, V. & Libchaber, A. J. Growth and instability of a phospholipid vesicle in a bath of fatty acids. *Eur. Phys. J. Plus* **132**, 284 (2017).
184. Helfrich, W. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z. Naturforschung Teil C Biochem. Biophys. Biol. Virol.* **28**, 693–703 (1973).
185. Bassereau, P., Sorre, B. & Lévy, A. Bending lipid membranes: Experiments after W. Helfrich's model. *Adv. Colloid Interface Sci.* **208**, 47–57 (2014).
186. Dimova, R. Recent developments in the field of bending rigidity measurements on membranes. *Adv. Colloid Interface Sci.* **208**, 225–234 (2014).
187. Waugh, R. & Evans, E. A. Thermoelasticity of red blood cell membrane. *Biophys. J.* **26**, 115–131 (1979).
188. Rawicz, W., Olbrich, K. C., McIntosh, T., Needham, D. & Evans, E. Effect of Chain Length and Unsaturation on Elasticity of Lipid Bilayers. *Biophys. J.* **79**, 328–339 (2000).
189. Lee, L. M. & Liu, A. P. A microfluidic pipette array for mechanophenotyping of cancer cells and mechanical gating of mechanosensitive channels. *Lab. Chip* **15**, 264–273 (2014).
190. Dahl, J. B., Lin, J.-M. G., Muller, S. J. & Kumar, S. Microfluidic Strategies for Understanding the Mechanics of Cells and Cell-Mimetic Systems. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **6**, 293–317 (2015).
191. Lemièrre, J., Valentino, F., Campillo, C. & Sykes, C. How cellular membrane properties are affected by the actin cytoskeleton. *Biochimie* **130**, 33–40 (2016).
192. Raj, A., Dixit, M., Doble, M. & Sen, A. K. A combined experimental and theoretical approach towards mechanophenotyping of biological cells using a constricted microchannel. *Lab. Chip* **17**, 3704–3716 (2017).
193. Guo, Q., Park, S. & Ma, H. Microfluidic micropipette aspiration for measuring the deformability of single cells. *Lab Chip* **12**, 2687–2695 (2012).
194. Kim, J., Lee, H. & Shin, S. Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review. *J. Cell. Biotechnol.* **1**, 63–79 (2015).
195. Guo, Q. *et al.* Microfluidic analysis of red blood cell deformability. *J. Biomech.* **47**, 1767–1776 (2014).
196. Guo, Q., Reiling, S. J., Rohrbach, P. & Ma, H. Microfluidic biomechanical assay for red blood cells parasitized by *Plasmodium falciparum*. *Lab. Chip* **12**, 1143 (2012).
197. Lu, L., Schertzer, J. W. & Chiarot, P. R. Continuous microfluidic fabrication of synthetic asymmetric vesicles. *Lab. Chip* **15**, 3591–3599 (2015).
198. Matosevic, S. & Paegel, B. M. Layer-by-layer cell membrane assembly. *Nat. Chem.* **5**, 958 (2013).
199. Abkarian, M., Loiseau, E. & Massiera, G. Continuous droplet interface crossing encapsulation (cDICE) for high throughput monodisperse vesicle design. *Soft Matter* **7**, 4610–4614 (2011).



200. Juncker, D., Schmid, H. & Delamarche, E. Multipurpose microfluidic probe. *Nat. Mater.* **4**, 622–628 (2005).
201. Nel, A. E. *et al.* Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nat. Mater.* **8**, 543–557 (2009).
202. Bhise, N. S. *et al.* Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *J. Controlled Release* **190**, 82–93 (2014).
203. Feliu, N., Sun, X., Alvarez Puebla, R. A. & Parak, W. J. Quantitative Particle–Cell Interaction: Some Basic Physicochemical Pitfalls. *Langmuir* **33**, 6639–6646 (2017).
204. Alipour, E., Halverson, D., McWhirter, S. & Walker, G. C. Phospholipid Bilayers: Stability and Encapsulation of Nanoparticles. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **68**, 261–283 (2017).
205. Li, S. & Malmstadt, N. Deformation and poration of lipid bilayer membranes by cationic nanoparticles. *Soft Matter* **9**, 4969–4976 (2013).
206. Wang, B., Zhang, L., Bae, S. C. & Granick, S. Nanoparticle-induced surface reconstruction of phospholipid membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 18171–18175 (2008).
207. Mathelié-Guinlet, M. *et al.* Probing the threshold of membrane damage and cytotoxicity effects induced by silica nanoparticles in *Escherichia coli* bacteria. *Adv. Colloid Interface Sci.* **245**, 81–91 (2017).
208. Klein, S. A., Wilk, S. J., Thornton, T. J. & Posner, J. D. Formation of nanopores in suspended lipid bilayers using quantum dots. *J. Phys. Conf. Ser.* **109**, 012022 (2008).
209. del Pino, P. *et al.* Basic Physicochemical Properties of Polyethylene Glycol Coated Gold Nanoparticles that Determine Their Interaction with Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **55**, 5483–5487 (2016).
210. Bahrami, A. H. *et al.* Wrapping of nanoparticles by membranes. *Adv. Colloid Interface Sci.* **208**, 214–224 (2014).
211. Strobl, F. G. *et al.* Intake of silica nanoparticles by giant lipid vesicles: influence of particle size and thermodynamic membrane state. *Beilstein J. Nanotechnol.* **5**, 2468–2478 (2014).
212. Zhang, S., Nelson, A. & Beales, P. A. Freezing or Wrapping: The Role of Particle Size in the Mechanism of Nanoparticle–Biomembrane Interaction. *Langmuir* **28**, 12831–12837 (2012).
213. Schulz, M., Olubummo, A. & Binder, W. H. Beyond the lipid-bilayer: interaction of polymers and nanoparticles with membranes. *Soft Matter* **8**, 4849–4864 (2012).
214. Werner, M., Sommer, J.-U. & Baulin, V. A. Homo-polymers with balanced hydrophobicity translocate through lipid bilayers and enhance local solvent permeability. *Soft Matter* **8**, 11714–11722 (2012).
215. Nawaz, S. *et al.* Interactions of PEO–PPO–PEO block copolymers with lipid membranes: a computational and experimental study linking membrane lysis with polymer structure. *Soft Matter* **8**, 6744–6754 (2012).
216. Peetla, C., Rao, K. S. & Labhasetwar, V. Relevance of Biophysical Interactions of Nanoparticles with a Model Membrane in Predicting Cellular Uptake: Study with TAT Peptide-Conjugated Nanoparticles. *Mol. Pharm.* **6**, 1311–1320 (2009).
217. Peetla, C., Jin, S., Weimer, J., Elegbede, A. & Labhasetwar, V. Biomechanics and Thermodynamics of Nanoparticle Interactions with Plasma and Endosomal Membrane Lipids in Cellular Uptake and Endosomal Escape. *Langmuir* **30**, 7522–7532 (2014).
218. Peetla, C. *et al.* Drug Resistance in Breast Cancer Cells: Biophysical Characterization of and Doxorubicin Interactions with Membrane Lipids. *Mol. Pharm.* **7**, 2334–2348 (2010).

219. Wu, L. & Jiang, X. Recent developments in methodology employed to study the interactions between nanomaterials and model lipid membranes. *Anal. Bioanal. Chem.* **408**, 2743–2758 (2016).
220. Wu, T., Guo, Q., Ma, H. & Feng, J. J. , The critical pressure for driving a red blood cell through a contracting microfluidic channel. *Theor. Appl. Mech. Lett.* **5**, 236–243
221. Marrink, S. J., de Vries, A. H. & Mark, A. E. Coarse Grained Model for Semiquantitative Lipid Simulations. *J. Phys. Chem. B* **108**, 750–760 (2004).
222. Brut, M., Estève, A., Landa, G. & Djafari Rouhani, M. Toward in Silico Biomolecular Manipulation through Static Modes: Atomic Scale Characterization of HIV-1 Protease Flexibility. *J. Phys. Chem. B* **118**, 2821–2830 (2014).
223. Sambale, F., Stahl, F., Bahnemann, D. & Scheper, T. In vitro toxicological nanoparticle studies under flow exposure. *J. Nanoparticle Res.* **17**, 1–12 (2015).
224. Li, Z. & Cui, Z. Three-dimensional perfused cell culture. *Biotechnol. Adv.* **32**, 243–254 (2014).
225. Park, J., Fan, Z. & Deng, C. X. Effects of shear stress cultivation on cell membrane disruption and intracellular calcium concentration in sonoporation of endothelial cells. *J. Biomech.* **44**, 164 (2011).
226. Tang, H., Zhang, H., Ye, H. & Zheng, Y. Wrapping of a deformable nanoparticle by the cell membrane: Insights into the flexibility-regulated nanoparticle-membrane interaction. *J. Appl. Phys.* **120**, 114701 (2016).
227. Montis, C. *et al.* Extended photo-induced endosome-like structures in giant vesicles promoted by block-copolymer nanocarriers. *Nanoscale* **10**, 15442–15446 (2018).
228. Chudy, M. *et al.* Lab-on-a-chip systems for photodynamic therapy investigations. *Biosens. Bioelectron.* **101**, 37–51 (2018).
229. Osaki, T., Suzuki, H., Le Pioufle, B. & Takeuchi, S. Multichannel simultaneous measurements of single-molecule translocation in  $\alpha$ -hemolysin nanopore array. *Anal. Chem.* **81**, 9866–9870 (2009).
230. Baaken, G., Sondermann, M., Schlemmer, C., Rühle, J. & Behrends, J. C. Planar microelectrode-cavity array for high-resolution and parallel electrical recording of membrane ionic currents. *Lab. Chip* **8**, 938–944 (2008).
231. Carney, R. P. *et al.* Electrical Method to Quantify Nanoparticle Interaction with Lipid Bilayers. *ACS Nano* **7**, 932–942 (2013).
232. Geng, J. *et al.* Stochastic transport through carbon nanotubes in lipid bilayers and live cell membranes. *Nature* **514**, 612–615 (2014).
233. Liu, L., Yang, C., Zhao, K., Li, J. & Wu, H.-C. Ultrashort single-walled carbon nanotubes in a lipid bilayer as a new nanopore sensor. *Nat. Commun.* **4**, 2989 (2013).
234. Delarue, M. *et al.* Mechanical Control of Cell flow in Multicellular Spheroids. *Phys. Rev. Lett.* **110**, 138103 (2013).
235. Delarue, M. *et al.* Compressive stress inhibits proliferation in tumor spheroids through a volume limitation. *Biophys. J.* **107**, 1821–1828 (2014).
236. Delarue, M. *et al.* mTORC1 Controls Phase Separation and the Biophysical Properties of the Cytoplasm by Tuning Crowding. *Cell* **174**, 338–349.e20 (2018).
237. Haring, A. P., Sontheimer, H. & Johnson, B. N. Microphysiological Human Brain and Neural Systems-on-a-Chip: Potential Alternatives to Small Animal Models and Emerging Platforms for Drug Discovery and Personalized Medicine. *Stem Cell Rev. Rep.* **13**, 381–406 (2017).
238. Huh, D. *et al.* Reconstituting Organ-Level Lung Functions on a Chip. *Science* **328**, 1662 (2010).

239. Ewart, L. *et al.* Application of Microphysiological Systems to Enhance Safety Assessment in Drug Discovery. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **58**, 65–82 (2018).
240. Roychaudhuri, R., Yang, M., Hoshi, M. M. & Teplow, D. B. Amyloid  $\beta$ -Protein Assembly and Alzheimer Disease. *J. Biol. Chem.* **284**, 4749–4753 (2009).
241. Meier, M. *et al.* Plug-Based Microfluidics with Defined Surface Chemistry to Miniaturize and Control Aggregation of Amyloidogenic Peptides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **48**, 1487–1489 (2009).
242. Jeon, N. L. *et al.* Generation of Solution and Surface Gradients Using Microfluidic Systems. *Langmuir* **16**, 8311–8316 (2000).
243. Dafforn, T. R., Rajendra, J., Halsall, D. J., Serpell, L. C. & Rodger, A. Protein Fiber Linear Dichroism for Structure Determination and Kinetics in a Low-Volume, Low-Wavelength Couette Flow Cell. *Biophys. J.* **86**, 404–410 (2004).
244. Salmon, J.-B. & Ajdari, A. Transverse transport of solutes between co-flowing pressure-driven streams for microfluidic studies of diffusion/reaction processes. *J. Appl. Phys.* **101**, 074902 (2007).
245. Picot, V. *et al.* Microfluidics for Alzheimer's Disease: Screening and Diffusion to Study Amyloid-Beta Aggregation. in *Proceedings of  $\mu$ TAS* (Teruo Fujii, Akihito Hiyama, Shoji Takeuchi and Tatsuhiko Fukuba, 2012).
246. Abgrall, P. *et al.* A novel fabrication method of flexible and monolithic 3D microfluidic structures using lamination of SU-8 films. *J. Micromechanics Microengineering* **16**, 113 (2006).
247. Berns, E. J. *et al.* Aligned neurite outgrowth and directed cell migration in self-assembled monodomain gels. *Biomaterials* **35**, 185–195 (2014).
248. Matson, J. B. & Stupp, S. I. Self-assembling peptide scaffolds for regenerative medicine. *Chem Commun* **48**, 26–33 (2012).
249. Zhang, S. *et al.* A self-assembly pathway to aligned monodomain gels. *Nat. Mater.* **9**, 594 (2010).
250. Murphy, S. V. & Atala, A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat. Biotechnol.* **32**, 773–785 (2014).
251. Yang, Y. *et al.* Automated fabrication of hydrogel microfibers with tunable diameters for controlled cell alignment. *Biofabrication* **9**, 045009 (2017).
252. Nolan, M. C. *et al.* Optimising low molecular weight hydrogels for automated 3D printing. *Soft Matter* **13**, 8426–8432 (2017).
253. Zhuang, P., Sun, A. X., An, J., Chua, C. K. & Chew, S. Y. 3D neural tissue models: From spheroids to bioprinting. *Biomaterials* **154**, 113–133 (2018).
254. Paul, D. R. Diffusion during the coagulation step of wet-spinning. *J. Appl. Polym. Sci.* **12**, 383 (1968).
255. Bonhomme, O., Leng, J. & Colin, A. Microfluidic wet-spinning of alginate microfibers: a theoretical analysis of fiber formation. *Soft Matter* **8**, 10641–10649 (2012).
256. Jun, Y., Kang, E., Chae, S. & Lee, S.-H. Microfluidic spinning of micro- and nano-scale fibers for tissue engineering. *Lab. Chip* **14**, 2145–2160 (2014).
257. Cheng, J., Jun, Y., Qin, J. & Lee, S.-H. Electrospinning versus microfluidic spinning of functional fibers for biomedical applications. *Biomaterials* **114**, 121–143 (2017).
258. Puppi, D. & Chiellini, F. Wet-spinning of biomedical polymers: from single-fibre production to additive manufacturing of three-dimensional scaffolds: Wet-spinning of biomedical polymers. *Polym. Int.* **66**, 1690 (2017).

## VI ANNEXES

---

### VI.1 CURRICULUM VITAE

Pierre JOSEPH. [pjoseph@laas.fr](mailto:pjoseph@laas.fr), +33(0)5 61 33 63 60

Né le 25/12/1977 à Toulon (Var), nationalité française. Marié, 2 enfants.

#### Expérience de recherche :

Depuis 2007 Chargé de Recherche CNRS, Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes  
L'**outil microfluidique** est développé à la fois **pour construire des systèmes modèles** (mimer le transport de nanovecteurs depuis le sang vers les tumeurs, ou des écoulements en milieux poreux) **et pour fabriquer des laboratoires sur puce fonctionnels** (tri de nanoparticules, diagnostic biomoléculaire)

Depuis 2016 Responsable de l'équipe MILE (~15 personnes) – [site web](#)

Microfluidics for Life Science and Environment

2015 – 2016 Séjour Scientifique d'un an à l'Université de Florence, Italie

Département de Chimie et [CSGI](#) (réseau national Colloïdes et Nanosciences)

Microfluidique pour la matière molle : membranes modèles biomimétiques

2005 – 2007 Post-doctorant CNRS puis Agrégé Préparateur,

Laboratoire de Physique de la Matière Condensée et Nanostructures, Lyon

Groupe Liquides complexes et Interfaces, Responsables E. Charlaix & L. Bocquet

Conception et analyse de surfaces super-lubrifiantes

2001 – 2005 Stage de DEA puis Thèse de Doctorat,

Laboratoire de Microfluidique, MEMS et Nanostructures, Paris, directeur P. Tabeling

Etude expérimentale du glissement liquide-solide sur surfaces lisses et texturées

#### Cursus universitaire :

2002 – 2005 Thèse de doctorat de l'Université Paris 6. Spécialité : Physique des Liquides

Théorie et Microfluidique, MMN, ESPCI, Paris, sous la direction de P. Tabeling

<http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00011075/>

2001 – 2002 **DEA de Physique des Liquides**, Université Paris VI

2000 – 2001 Préparation à l'**Agrégation de Physique** à l'ENS Lyon. Reçu (57ème)

1998 – 2000 Elève de l'**Ecole Normale Supérieure de Lyon**. Département Sciences de la Matière

1 semestre Erasmus à l'Université d'Uppsala, Suède (01-06/2000, 6 mois)

#### Communication scientifique :

Plus de 50 articles scientifiques dont :

**28 publications internationales** dans des revues à comité de lecture + 4 soumises ou en préparation,

29 actes de conférences à comité de lecture,

3 chapitres d'ouvrages.

Environ **15 communications orales** à des conférences (dont **4 invitées**), 13 séminaires et workshops.

Sur ISI web of Science : h-index : 10, environ 1200 citations.

## VI.2 PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

La liste de mes publications est consultable sur : [Scholar](#) ou [Orcid](#) <http://orcid.org/0000-0002-3142-8996>

### VI.2.1 Revues internationales à comité de lecture

#### VI.2.1.1 *Articles soumis ou en préparation :*

**Microfluidic “Traps and Y” for micron-sized soft-matter objects: mechanical properties, chemical response**

[P Joseph](#), M Elias, C Montis, A Bartolini, B Lonetti, AF Mingotaud, D Berti  
In preparation (2018)

**Antibacterial Nanoplexes meet Model Bacterial Membranes: the key role of Lipopolysaccharides**

C Montis, [P Joseph](#), C Magnani, A Marin Menéndez, F Barbero, A Checcucci, A Mengoni, D Berti  
In preparation (2018)

**Microfluidics for minute DNA samples analysis: open challenges for genetic testing of cell-free circulating DNA in blood plasma**

Rémi Malbec, Jean Cacheux, Pierre Cordelier, Thierry Leichlé, [Pierre Joseph](#), Aurélien Bancaud  
Under Revision, invited Review in Microelectronic Engineering (2018)

**Sizing of expanded trinucleotide repeats with femtomolar sensitivity in less than 5 minutes using a microfluidic technology**

Rémi Malbec, Lorène Aeschbach, Evgeniya Trofimenko, Bayan Chami, Marius Socol, [Pierre Joseph](#), Thierry Leichlé, Gustavo Ruiz Buendía, Aurélien Bancaud, Vincent Dion  
Submitted to Scientific Reports (2018)

#### VI.2.1.2 *Articles publiés :*

**1. Nanofluidic fluorescence microscopy with integrated concentration gradient generation for one-shot parallel kinetic assays**

P Teerapanich, M Pugnière, C Henriquet, Y-L Lin, A Naillon, [P Joseph](#), C-F Chou, T Leichlé  
Sensors and Actuators B: Chemical, **274**, 338 (2018) <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.07.167>

**2. Pore cross-talk in colloidal filtration**

Olivier Liot, Akash Singh, Paul Duru, Patrice Bacchin, Jeffrey Morris, [P Joseph](#)  
Scientific Reports **8**, 12460 (2018) <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30389-7>

**3. Simple Synthetic Molecular Hydrogels from Self-Assembling Alkylgalactonamides as Scaffold for 3D Neuronal Cell Growth**

Anaïs Chalard, Laurence Vaysse, [Pierre Joseph](#), Laurent Malaquin, Sandrine Souleille, Barbara Lonetti, Jean-Christophe Sol, Isabelle Loubinoux, Juliette Fitremann  
ACS Applied Materials & Interfaces **10**, 17004 (2018) <https://doi.org/10.1021/acsami.8b01365>

**4. Transport of nano-objects in narrow channels: influence of Brownian diffusion, confinement and particle nature**

O Liot, M Socol, J Thiery, L Garcia, A Figarol, AF Mingotaud, [P Joseph](#)  
Journal of Physics: Condensed Matter, **30**, 23 (2018) <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aac0af>

**5. Hybrid vesicles from lipids and block copolymers: Phase behavior from the micro- to the nano-scale**

C. Magnani, C. Montis, G. Mangiapia, A.-F. Mingotaud, C. Mingotaud, C. Roux, [P. Joseph](#), D. Berti, B. Lonetti, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **168**, 18-28 (2018)  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.01.042>

**6. Accelerated transport of particles in confined channels with high roughness amplitude**

Hubert Ranchon, Jean Cacheux, Benjamin Reig, Olivier Liot, Pattamon Terrapanich, Thierry Leichlé, [Pierre Joseph](#), Aurélien Bancaud

Langmuir **34** (4), 1394 (2018)

**7. Ion transport and precipitation kinetics as key aspects of stress generation on pore walls induced by salt crystallization**

A. Naillon, [P. Joseph](#) and M. Prat,  
Physical Review Letters **120**, 034502 (2018)

**8. Evaporation with formation of liquid bridges chains**

C. Chen, [P. Joseph](#), S. Geoffroy, M. Prat and P. Duru  
Journal of Fluid Mechanics **837**, 703-728 (2018) <https://doi.org/10.1017/jfm.2017.827>

**9. Control of evaporation by geometry in capillary structures. From confined pillar arrays in a gap radial gradient to phyllotaxy-inspired geometry**

C. Chen, [P. Joseph](#), S. Geoffroy, P. Duru and M. Prat  
Scientific Reports **7**, 15110 (2017)

**10. Quasi-static drainage in a network of nanoslits of non-uniform depth designed by grayscale laser lithography**

A. Naillon, H. Massadi, R. Courson, J Bekhit, L. Seveno, P.F. Calmon, M. Prat and [P. Joseph](#)  
Microfluidics and Nanofluidics **21**, 131 (2017) <http://rdcu.be/ulxt>

**11. Sodium chloride precipitation reaction coefficient from crystallization experiment in a microfluidic device**

A. Naillon, [P. Joseph](#), M. Prat  
Journal of Crystal Growth **463**, 201-201 (2017) <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2017.01.058>

**12. Hydrogen Silsesquioxane-based Nanofluidics**

S Punniyakoti, R Sivakumarasamy, F Vaurette, [P Joseph](#), J-F Dufreche and N Clément  
Advanced Materials Interfaces, **4**, 1601155 (2017)  
<http://dx.doi.org/10.1002/admi.201601155>

**13. Towards The Computation Of Viscous Flow Resistance Of A Liquid Bridge**

C. Chen, P. Duru, M. Prat, [P. Joseph](#) and S. Geoffroy  
Int. J. Comp. Meth. and Exp. Meas., **4**, 42-49 (2016)  
<https://www.witpress.com/elibrary/cmeme/4/1/1081>

**14. DNA separation and enrichment using electrohydrodynamic bidirectional flows in viscoelastic liquids**

Hubert Ranchon, Rémi Malbec, Vincent Picot, Audrey Boutonnet, Pattamon Terrapanich, [Pierre Joseph](#),  
Thierry Leichle, Aurélien Bancaud  
Lab on a Chip **16**, 1243-1253 (2016)  
<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/lc/c5lc01465d>

**15. Filter-less submicron hydrodynamic size sorting**

M Fouet, M.-A. Mader, S. Iraïñ, Z. Yanha, A. Naillon, S. Cargou, A.-M. Gué and [P. Joseph](#)  
Lab on a Chip **16**, 720-733 (2016) <https://doi.org/10.1039/c5lc00941c>

**16. Comparison of methods for the fabrication and the characterization of polymer self-assemblies: what are the important parameters?**

M Dionzou, A Morère, C Roux, B Lonetti, J-D Marty, C Mingotaud, [P Joseph](#), D Goudounèche, B Payré, M Léonetti, A-F Mingotaud  
Soft Matter **12**, 2166-2176 (2016) <http://dx.doi.org/10.1039/c5sm01863c>

**17. Osmotic Flow through Fully Permeable Nanochannels**

C Lee, C Cottin-Bizonne, A-L Bianco, [P Joseph](#), L Bocquet and C Ybert  
Phys. Rev. Lett. **112**, 244501 (2014) <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevLett.112.244501>

**18. Microbubbles for optofluidics: controlled defects in bubble crystals**

A. Allouch, K. Bournine, A. Monmayrant, O. Gauthier-Lafaye, S. Geoffroy, A.-M. Gué and [P. Joseph](#)

Microfluidics and Nanofluidics **17**(3), 549-560 (2014) <http://dx.doi.org/10.1007/s10404-014-1339-5>

**19. Roles of gas in capillary filling of nanoslits.**

Fabien Chauvet, Sandrine Geoffroy, Abdelkrim Hamoumi, Marc Prat and [Pierre Joseph](#)  
Soft Matter **8**, 10738-10749 (2012) <http://dx.doi.org/10.1039/c2sm25982f>

**20. Fabrication and experimental characterization of nanochannels.**

V.-N. Phan, N.-T. Nguyen, C. Yang, [P. Joseph](#), A.-M. Gué  
ASME Journal of Heat Transfer **134**, N°5, 051012, (2012) <http://dx.doi.org/10.1115/1.4005702>

**21. Capillary Filling in Nanochannels – Modeling, Fabrication and Experiments.**

V.-N. Phan, [P. Joseph](#), L. Djeghlaf, A. Allouch, D. Bourrier, P. Abgrall, A.-M. Gué, C. Yang and N.-T. Nguyen,  
Heat Transfer Engineering **32**(7-8), 1-12 (2011) <http://dx.doi.org/10.1080/01457632.2010.509756>

**22. Capillary Filling in Closed-End Nanochannels.**

V.-N. Phan, N.-T. Nguyen, C. Yang, [P. Joseph](#), L. Djeghlaf, D. Bourrier, A.-M. Gué,  
Langmuir **26**(16), 13251–13255 (2010) <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la1010902>

**23. Amplification of electro-osmotic flows by wall slippage: direct measurements on OTS-surfaces**

Marie-Charlotte Audry, Agnès Piednoir, [Pierre Joseph](#), Elisabeth Charlaix  
Faraday Discussions, **146**, 113-124 (2010)  
<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2010/FD/B927158A>

**24. Achieving large slip with superhydrophobic surface: scaling laws for generic geometries**

C. Ybert, C. Barentin, C. Cottin-Bizonne, [P. Joseph](#), L. Bocquet,  
Phys. Fluids **19**, 123601 (2007) - [Link](#)

**25. Slippage of water past superhydrophobic carbon nanotube forests in microchannels**

[P. Joseph](#), C. Cottin-Bizonne, J.-M. Benoît, C. Ybert, C. Journet, P. Tabeling et L. Bocquet  
Phys. Rev. Lett. **97**, 156104 (2006) - <http://link.aps.org/abstract/PRL/v97/e156104>

**26. Rheology of complex fluids by particle image velocimetry in microchannels.**

G. Degré, [P. Joseph](#), P. Tabeling, S. Lerouge, M. Cloitre et A. Ajdari  
Appl. Phys. Lett. **89**, 024104 (2006) - [Link](#)

**27. Direct measurement of the apparent slip length**

[P. Joseph](#) et P. Tabeling  
Physical Review E. **71**, 035303(R) (2005) <http://link.aps.org/abstract/PRE/v71/e035303>

**28. Second-order slip laws in microchannels for helium and nitrogen**

J. Maurer, P. Tabeling, [P. Joseph](#) et H. Willaime  
Physics of fluids **15**, (9), 2613-2621 (2003) - [Link](#)

VI.2.2 Actes de colloques à comité de lecture

**1. Clogging of model pores with a Brownian suspension**

O. Liot, A Singh, P. Bacchin, P. Duru, [P. Joseph](#), J. Morris  
Proceedings of the 5th European Conference on Microfluidics (μFlu'18), Strasbourg, 2018

**2. Gas Flow in a Network of Nanochannels of Varying Depth Made by Grayscale Laser Litography**

T. Zaouter, D. Lasseux, M. Prat, F. Ledrappier, K. Vulliez, A. Beziat and [P. Joseph](#),  
Proceedings of the 5th European Conference on Microfluidics (μFlu'18), Strasbourg, 2018

**3. Clogging of model pores with Brownian particles**

O. Liot, P. Bacchin, P Duru, [P. Joseph](#) and J. Morris  
Proceedings of μTAS 2017 Conference, Savannah, USA (2017)

**4. Grayscale Lithography to Fabricate Varying-Depth Nanochannels In A Single Step**



- A. Naillon, H. Massadi, R. Courson, P.-F. Calmon, L. Seveno, M. Prat, et [P. Joseph](#)  
 Proceedings of  $\mu$ TAS 2016 Conference, Dublin, Ireland (2016)
- 5. Enrichment, Separation and Characterization of CAG Repeats For Huntington's Disease Diagnosis**  
 R. Malbec, [P. Joseph](#), T. Leïchlé, E. Trofimenko, L. Aeschbach, V. Dion and A. Bancaud  
 Proceedings of  $\mu$ TAS 2016 Conference, Dublin, Ireland (2016)
- 6. Evaporation, capillary invasion and gas dissolution in nanochannels**  
 A. Naillon, H. Tarbague, A. Gourbil, S. Geoffroy, M. Prat, [P. Joseph](#)  
 Proceedings of the 4th European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'14), Limerick, Ireland, 2014
- 7. SAMs vapor deposition technology as a generic functionalization technology for monitoring wettability properties in microfluidic devices**  
 R. Courson, M. Fouet, A. Naillon, [P. Joseph](#), F. Mesnilgrete, V. Conedera, AM Gué  
 Proceedings of the 4th European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'14), Limerick, Ireland, 2014
- 8. Production of 3-10  $\mu$ m microbubbles suited for ultrasonic imaging by 2.5D nanofluidic devices**  
 S. Méance, L. Pages, A.-M. Gué, [P. Joseph](#)  
 Proceedings of  $\mu$ TAS 2014 Conference, San Antonio, USA (2014)
- 9. SAMs vapor deposition: a ready to use functionalization technology for monitoring wettability properties in microfluidic devices**  
 R. Courson, M. Fouet, [P. Joseph](#), F. Mesnilgrete, V. Conedera, AM Gué  
 Proceedings of  $\mu$ TAS 2014 Conference, San Antonio, USA (2014)
- 10. Microfluidics for Alzheimer's Disease: on-chip study of amyloid- $\beta$  aggregation**  
 V. Picot, M. Rossi, B. Alies, X. Dollat, C. Hureau, P. Faller and [P. Joseph](#)  
 Proceedings of the Third European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'12), Heidelberg, Allemagne, 2012
- 11. Microfluidic System For Sample Preparation In Sensors: Submicronic Particles Separation**  
 M.-A. Mader, S. Cargou, [P. Joseph](#) and A.-M. Gué  
 Proceedings of the Third European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'12), Heidelberg, Allemagne, 2012
- 12. Handling Fluidic Flow in SU8 Original 3D Geometries**  
 S. Cargou, H. Kabbara, M.-A. Mader, [P. Joseph](#), A. Boukabache and A.-M. Gué  
 Proceedings of the Third European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'12), Heidelberg, Allemagne, 2012
- 13. Microfluidics for Alzheimer's Disease: Screening and Diffusion to Study Amyloid-Beta Aggregation**  
 V. Picot, M. Rossi, B. Alies, C. Hureau, P. Faller and [P. Joseph](#)  
 Proceedings of  $\mu$ TAS 2012 Conference, pp1030-1032, Okinawa, Japon (2012)
- 14. Nanobubbles and gas dynamics during capillary filling of nanochannels**  
 F. Chauvet, S. Geoffroy, A. Hamoumi, M. Prat, A.-M. Gué and [P. Joseph](#)  
 Proceedings of  $\mu$ TAS 2012 Conference, pp323-325, Okinawa, Japon (2012)
- 15. Microfluidic system for submicronic particles separation in a mercury pollution sensor**  
 M.-A. Mader, V. Picot, [P. Joseph](#), A.-M. Gué  
 International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM 2012), Hsinchu (Taiwan), pp 128-129 (2012)
- 16. Microfluidics for Alzheimer's disease: on-chip study of amyloid-B aggregation**  
 V. Picot, B. Alies, C. Hureau, P. Faller, [P. Joseph](#)  
 International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM 2012), Hsinchu (Taiwan), pp 186-187 (2012)
- 17. Liquid-Gas Microfluidics as a Microstructuring Tool For Optics: Controlled Defects Inside Self-Organized Bubble Crystals**  
 A.E.D Allouch, K. Bournine, [P. Joseph](#), S. Geoffroy, A. Bouchier, A. Monmayrant, O. Gauthier-Lafaye, F. Lozes et A.-M. Gué

Proceedings of  $\mu$ TAS 2011 Conference, pp1983-1985, Seattle, Etats-Unis (2011)

**18. Liquid-Gas Microfluidics as a Microstructuring Tool For Optics**

A.E.D. Allouch, [P. Joseph](#), A. Monmayrant, O. Gauthier-Lafaye, P. Arguel, F. Lozes, S. Geoffroy, A.-M. Gué  
Proceedings of the 1<sup>st</sup> EOS Conference on Optofluidics, Munich, Allemagne (2011)

**19. Liquid-Gas Microfluidic Devices For Optical Applications**

A.E.D. Allouch, [P. Joseph](#), D. Bourrier, A. Monmayrant, O. Gauthier-Lafaye, P. Arguel, F. Lozes et A.-M. Gué  
Proceeding on CDROM of 2nd European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'10). Colin S. and Morini G.L.  
Eds., Toulouse, France: SHF, pp.  $\mu$ FLU2010-079, (2010)

**20. Golden Nanofluidics: an integrated micro-/nanofluidic Platform With Tunable Surface Chemistry**

P. Abgrall, [P. Joseph](#), S. Charlot, C. Escriba, M. Mazas, S. Pinaud, R. Burger, J. Ducrée et A.-M. Gué,  
Proceeding on CDROM of 2nd European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'10). Colin S. and Morini G.L.  
Eds., Toulouse, France: SHF, pp.  $\mu$ FLU2010-160, (2010)

**21. Closed-end Nanochannels: Model platform for Nanofluidic Flows**

[Pierre Joseph](#), Vinh Nguyen Phan, P Dubreuil, P Abgrall, Anne-Marie Gué, et Nam-Trung Nguyen,  
Proceeding on CDROM of 2nd European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'10). Colin S. and Morini G.L.  
Eds., Toulouse, France: SHF, pp.  $\mu$ FLU2010-76, (2010)

**22. Closed-end Nanochannels: Model platform for Nanofluidic Flows**

[Pierre Joseph](#), Vinh Nguyen Phan, Pascal Dubreuil, Patrick Abgrall, Anne-Marie Gué, and Nam-Trung  
Nguyen  
Proceedings of  $\mu$ TAS 2010 Conference, pp1856-1858, Editors S. Verpoorte, H. Andersson-Svahn, J.  
Emnéus, N. Pamme, Groningen, Pays-Bas (2010)

**23. Nanofluidic systems: development of fabrication technologies and characterization of capillary filling rates**

A.E.D. Allouch, Y. Viero, M. Goddefroy, J.-C. Millet, P. Dubreuil, A. Bancaud, [P. Joseph](#), A.-M. Gue, P.  
Abgrall, N.-T. Nguyen,  
Proceeding on CDROM of 1st European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'08), ISBN 2-906831-76-X. Colin  
S. and Morini G.L. Eds., Bologna, Italy: SHF, pp.  $\mu$ FLU2008-91:1-8, (2008)

**24. Glissement sur tapis de nanotubes de carbone, mesuré par  $\mu$ -PIV**

[P. Joseph](#), C. Cottin-Bizonne, J.-M. Benoit, C. Ybert, C. Journet, P. Tabeling, et L. Bocquet.  
Proceedings du Congrès Français de Microfluidique, Toulouse (2006)

**25. Complex fluids rheology in microchannels using a micro-PIV technique**

G. Degré, [P. Joseph](#), H. Willaime, P. Tabeling, S. Lerouge, M. Cloitre, J.-B. Fournier, et A. Ajdari  
Proceedings of  $\mu$ TAS 2005 Conference, Vol. 1, pp. 611-613, Editors K. F. Jensen, Boston, Etats-Unis (2005)

**26. Glissement Liquide-Solide caractérisé par micro-PIV**

[P. Joseph](#), P. Tabeling et F. Okkels.  
Proceedings du Congrès Français de Microfluidique, Toulouse (2004)

**27. A velocity profile measurement system for microfluidics: a direct measurement of the slip length**

[P. Joseph](#) et P. Tabeling.  
Proceedings of  $\mu$ TAS 2004 Conference. Vol 1, p. 186-189, Eds T. Laurell, J. Nilsson, J. Harrison, K. Jensen,  
J.P. Kutter, Malmö, Suède (2004).  
DOI: 10.1039/9781847551429, ISBN (online): 978-1-84755-142-9

**28. Measurement of the slip length in microchannels**

[P. Joseph](#) et P. Tabeling.  
Proceedings of the 21st International Congress of Theoretical and Applied Mechanics, ISBN 1-4020-3559-  
4 (e-book), Eds. W. Gutkowski, T.A. Kowalewski, Springer Verlag 2005. Varsovie, Pologne (2004)

**29. Phénomènes de glissement pour l'Helium et l'azote : dans le régime de glissement et au-delà**

J. Maurer, [P. Joseph](#) et P. Tabeling.  
 Proceedings du Congrès Français de Mécanique, Nice (2003)

### VI.2.3 Chapitres d'ouvrages

#### 1. Nanofluidic Devices and Their Potential Applications

P. Abgrall, A. Bancaud, [P. Joseph](#),  
 Chapter 5 in "[Microfluidic Devices in Nanotechnology: Fundamental Concepts](#)",  
 Coll. Nanotechnologies for Life Science, editor Challa S. Kumar, Wiley, ISBN: 978-0-470-47227-9 (2010)

#### 2. Systèmes Nanofluidiques : technologies et applications

P. Abgrall, A. Bancaud, [P. Joseph](#),  
 Techniques de l'Ingénieur, dossiers Nanosciences et Nanotechnologies NM250 1–15 (2009) - [Link](#)

#### 3. Micro et Nanofluidique: une technologie transversale à fort potentiel applicatif

A.-M. Gué, A. Boukabache, [P. Joseph](#), A. Bancaud, in SEE/CNRS  
 Ed "La Micro-Nanoélectronique. Enjeux et mutation", N°ISBN978-2-271-06829-3, pp.243-248 (2009)

### VI.2.4 Sélection de communications à des conférences et séminaires

#### VI.2.4.1 Conférences invitées :

##### 1. Imbibition and evaporation in model nanofluidic systems

CECAM conference "Nanofluidics in physics and biology" EPFL, Lausanne, Suisse, Oct 2014

##### 2. Imbibition in Nanofluidic Systems

Workshop "The Physics of Natural Reservoirs", Bordeaux, Nov 2012

##### 3. Towards two-phase nanofluidics: model nanopores and bubble crystals for optics

Third Chinese-French Symposium On Microfluidics, Dalian, Chine (2011)

##### 4. A direct measurement of the slip length in microchannels

[P. Joseph](#) et P. Tabeling  
 CECAM meeting on Dynamics of Fluids at Interfaces, Lyon (2004)

#### VI.2.4.2 Sélection de communications

##### 1. Gas Flow in a Network of Nanochannels of Varying Depth Made by Grayscale Laser Lithography

T. Zaouter, D. Lasseux, M. Prat, F. Ledrappier, K. Vulliez, A. Beziat and P. Joseph,  
 5th European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'18), Strasbourg, 2018 (oral de T Zaouter)

##### 2. Clogging of model pores with Brownian particles

O. Liot, P. Bacchin, P Duru, [P. Joseph](#) and J. Morris  
 $\mu$ TAS 2017 Conference, Savannah, USA, Oct 2017 (poster d'O Liot)

##### 3. Sugar-based supramolecular gelators as scaffolds for 3D-neuronal cell growth

Anaïs Chalard, Laurence Vaysse, [Pierre Joseph](#), Laurent Malaquin, Isabelle Loubinoux, Juliette Fitremann,  
 ESB 2017, 28<sup>th</sup> Conference on Biomaterials, Athens, Greece, Sept 2017 (poster d'Anaïs Chalard)

##### 4. Control of evaporation by geometry in capillary structures.

C. Chen, [P. Joseph](#), S. Geoffroy, P. Duru, and M. Prat  
 Flow17 Conference, Paris, July 2017 (poster)

##### 5. Salt Crystallization in Pores: Precipitation Kinetics, Ion Transport, Stress Generation

A. Naillon, [P. Joseph](#), and M. Prat  
 Flow17 Conference, Paris, July 2017 (poster)

**6. Microfluidics for Soft Matter: a few examples from MILE team**

Workshop « Soft Matter in Montpellier and Toulouse », Montpellier, juin 2017 (abstract et oral)

**7. Supramolecular gelators for neuronal cell-growth: biocompatibility, 3D-cell growth, fibre alignment and injectability with microfluidics**

Anaïs Chalard, Delphine Bordignon, Laurence Vaysse, Isabelle Loubinoux, Laurent Malaquin, Sandrine Souleille, Fabien Mesnilgrete, [Pierre Joseph](#), Juliette Fitremann, 16th ECIS European Student Colloid Conference, Florence, Italy, June 2017 (Anaïs Chalard, meilleur oral)

**8. Trapping biomimetic membranes with microfluidics: Probing membrane mechanics and interaction with nanosystems**

Costanza Montis, [Pierre Joseph](#), Barbara Lonetti, Anne-Françoise Mingotaud, Debora Berti 7th International colloids conf, June 2017, Sitges, Espagne (oral de C Montis)

**9. Grayscale Lithography to Fabricate Varying-Depth Nanochannels In A Single Step**

A. Naillon, H. Massadi, R. Courson, P.-F. Calmon, L. Seveno, M. Prat, et [P. Joseph](#) μTAS 2016 Conference, Dublin, Ireland, Oct 2016 (poster)

**10. Enrichment, Separation and Characterization of CAG Repeats For Huntington's Disease Diagnosis**

R. Malbec, [P. Joseph](#), T. Leïchlé, E. Trofimenko, L. Aeschbach, V. Dion and A. Bancaud μTAS 2016 Conference, Dublin, Ireland, oct 2016 (poster)

**11. Mechanism of action of nanostructured antibiotics: interaction pathways with model membranes and model bacteria**

Costanza Montis, A Marín Menéndez, [P Joseph](#), C Magnani, T Diaz Calvo, C J Morris, M McArthur, D Berti 16th ECIS Conference, Rome, Italy, sept 2016 (oral de C Montis)

**12. Microfluidics to study interactions of model membranes with nanosystems**

Costanza Montis, Barbara Lonetti, Ugo Till, Anne-Françoise Mingotaud, Debora Berti, [Pierre Joseph](#) 4th International Soft Matter Conference, Grenoble, sept 2016 (poster)

**13. Evaporation, capillary invasion and gas dissolution in nanochannels**

A. Naillon, H. Tarbague, A. Gourbil, S. Geoffroy, M. Prat, [P. Joseph](#) 4th European Conference on Microfluidics (μFlu'14), Limerick, Ireland, 2014 (oral d'A Naillon)

**14. Production of 3-10 μm microbubbles suited for ultrasonic imaging by 2.5D nanofluidic devices**

S. Méance, L. Pages, A.-M. Gué, [P. Joseph](#) μTAS 2014 Conference, San Antonio, USA, 2014 (poster de S Méance)

**15. Outils microfluidiques pour manipuler des micro et nano-objets.**

Séminaire invité, Journée du Labex Toulouse White Biotechnology. « Microfluidique, Enjeux et Perspectives » Toulouse, septembre 2013

**16. Microfluidic System For Sample Preparation In Sensors: Submicronic Particles Separation**

M.-A. Mader, S. Cargou, [P. Joseph](#) and A.-M. Gué Third European Conference on Microfluidics (μFlu'12), Heidelberg, Allemagne, 2012 (poster S Cargou)

**17. Microfluidics for Alzheimer's Disease: Screening and Diffusion to Study Amyloid-Beta Aggregation**

V. Picot, M. Rossi, B. Alies, C. Hureau, P. Faller and [P. Joseph](#) μTAS 2012 Conference, Okinawa, Japon, 2012 (poster)

**18. Nanobubbles and gas dynamics during capillary filling of nanochannels**

F. Chauvet, S. Geoffroy, A. Hamoumi, M. Prat, A.-M. Gué and [P. Joseph](#) μTAS 2012 Conference, Okinawa, Japon, 2012 (poster)

**19. Imbibition spontanée de nanofentes modèles**

Journées du GDR Liquides aux Interfaces, Lyon, Nov 2012 (oral)

**20. Closed-end Nanochannels: Model platform for Nanofluidic Flows**

[Pierre Joseph](#), Vinh Nguyen Phan, Pascal Dubreuil, Patrick Abgrall, Anne-Marie Gué, et Nam-Trung Nguyen,  
2nd European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'10), Dec 2010 (oral)

**21. Nanofluidics: fabrication and capillary filling rates**

[P. Joseph](#), V.-N Phan, J.-C. Millet, P. Dubreuil, A.-M. Gué, P. Abgrall, N.-T. Nguyen  
Federations FERMAT /IMPACT meeting. Twente, Pays-Bas, octobre 2009 (oral)

**22. Nanofluidic systems: fabrication technologies and characterization of capillary filling rates**

A.E.D. Allouch, Y. Viero, M. Goddefroy, J.-C. Millet, P. Dubreuil, A. Bancaud, [P. Joseph](#), A.-M. Gue, P. Abgrall, N.-T. Nguyen,  
1st European Conference on Microfluidics ( $\mu$ Flu'08), Bologna, Italy, Dec 2008 (oral)

**23. Slippage of water past superhydrophobic carbon nanotube forests in microchannels**

[P. Joseph](#), C. Cottin-Bizonne, J.-M. Benoît, C. Ybert, C. Journet, P. Tabeling et L. Bocquet  
APS, annual meeting Division of Fluid Dynamics. Tampa, Etats-Unis, Nov 2006 (oral)

**24. Complex fluids rheology in microchannels using a micro-PIV technique**

G. Degré, [P. Joseph](#), H. Willaime, P. Tabeling, S. Lerouge, M. Cloitre, J.-B. Fournier, et A. Ajdari  
 $\mu$ TAS 2005 Conference Boston, Etats-Unis, 2005 (poster)

**25. A velocity profile measurement system for microfluidics: a direct measurement of the slip length**

[P. Joseph](#) et P. Tabeling.  
 $\mu$ TAS 2004 Conference. Malmö, Suède, 2004 (poster)

**26. Measurement of the slip length in microchannels**

[P. Joseph](#) et P. Tabeling.  
21st International Congress of Theoretical and Applied Mechanics, ICTAM. Varsovie, Pologne, 2004 (oral)

**27. Phénomènes de glissement pour l'Helium et l'azote : dans le régime de glissement et au-delà**

J. Maurer, [P. Joseph](#) et P. Tabeling.  
Congrès Français de Mécanique, Nice, 2003 (oral)

## VI.3 ENSEIGNEMENT, FORMATION ET DIFFUSION DE LA CULTURE SCIENTIFIQUE

### VI.3.1 Thèses, post-doctorats et stages encadrés

J'ai co-encadré 7 thèses de doctorat (dont 5 déjà soutenues), 19 stages M1 ou M2, et supervisé 8 post-doctorats.

#### VI.3.1.1 Thèses

**Alaa El Dine Allouch - 10/2008 – 10/2011**, soutenue le 30/09/2011. Bourse Ministérielle.

Co-direction avec Anne-Marie Gué. Microsystèmes fluidiques à nanobulles pour applications à l'optique

La thèse a porté sur la réalisation de micro et nanobulles générées au sein de microcanaux pour réaliser de la microstructuration, en vue de futures applications à l'optique et à la science des matériaux. Ce travail a inauguré les activités de l'équipe sur les bulles et gouttes dont nous avons ensuite exploré les applications à l'acoustique (projet Smart-US) ou la santé (criblage d'antibiotiques, projet MicroDROP).

*Devenir* : après un post-doctorat de deux ans à l'université de Strasbourg sur le développement de capteurs de micropolluants dans l'habitat, AED Allouch est actuellement enseignant vacataire à l'Université AlManar de Tripoli MUT au Liban, son pays d'origine. L'obtention d'un poste universitaire au Liban était son objectif dès le début de la thèse.

**Vincent Picot - 10/2009 – 10/2012**, soutenue le 10/12/2012. Bourse Ministérielle.

Laboratoire sur puce pour l'étude des maladies neuro-dégénératives : cinétique de l'agrégation de protéines impliquées dans la maladie d'Alzheimer. Manuscrit disponible sur : [thesesups.ups-tlse.fr/1840/](http://thesesups.ups-tlse.fr/1840/)

Le sujet était le développement d'un laboratoire sur puce pour l'étude des maladies neuro-dégénératives. Nous utilisons les potentialités de criblage et de suivi en temps réel offertes par la microfluidique pour caractériser l'agrégation de la protéine Amyloïde Beta, impliquée dans la maladie d'Alzheimer. Collaboration avec P Faller au LCC (Toulouse) pour leur expertise en biochimie moléculaire.

*Devenir* : Vincent Picot a ensuite effectué un post-doctorat au LAAS sur la miniaturisation de tests de qualité de l'eau (encadré par Ali Boukabache), puis un CDD en tant qu'ingénieur valorisation d'un brevet CNRS (séparation de biomolécules), avec un financement de la SATT toulousaine (Toulouse Tech Transfert), en partenariat avec la société Picométrics. Il a été recruté en CDI par cette société.

**Chen Chen - 10/2012 – 03/2016**, soutenue en mars 2016. Financement par le China Scholarship Council

Co-direction avec Sandrine Geoffroy (Laboratoire Matériaux et Durabilité des Constructions de l'INSA Toulouse). Evaporation contrôlée par la topologie. Il s'agit, grâce à des systèmes microfluidiques modèles de milieux poreux, de montrer comment les propriétés (topologie, déformabilité) d'un milieu artificiel poreux 2D (un réseau de piliers microfabriqués) influencent l'évaporation d'un liquide (forme des fronts d'évaporation, cinétique globale de séchage).

C'est un projet également en collaboration avec l'IMFT (Marc Prat, Paul Duru) où C Chen a été hébergé. Un obstacle majeur au déroulement de la thèse est que Chen n'a pas eu l'autorisation de travailler au LAAS suite à l'avis défavorable du fonctionnaire de sécurité défense (statut ERR et désormais ZRR du LAAS très préjudiciable). J'ai donc fabriqué moi-même ses dispositifs en salle blanche, et il a réalisé les expériences à l'IMFT. La thèse comprenait également un volet modélisation (forme des ménisques et rôle de la résistance hydrodynamique lors de l'évaporation) encadré principalement par S Geoffroy.

*Devenir* : Chen est post-doctorant à Hong-Kong.

**Antoine Naillon - 10/2013 – 12/2016**. Cofinancement Institut INSIS – ANDRA.

Co-direction avec Marc Prat (Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse). Systèmes nanofluidiques modèles de milieux poreux. L'objectif est de mieux comprendre les mécanismes en jeu lors des processus d'écoulements au sein de milieux poreux naturels (roches de type argilite du sous-sol). L'approche est de fabriquer des systèmes nanofluidiques grâce aux technologies salle blanche pour mimer les processus élémentaires de l'imbibition, le drainage, l'évaporation des milieux nano-poreux.

*Prix* : Antoine a obtenu trois prix à l'issue de sa thèse : le prix Léopold Escande de l'INP Toulouse (les meilleurs 15% des thèses 2017 de cet établissement), le prix Jean Nougaro de l'Académie des Sciences et Belles Lettres de Toulouse 2017, et le prix Jean Valembois 2018 de la Société Hydrotechnique de France.

*Devenir* : Antoine est post-doctorant à Grenoble (Laboratoire de Rhéologie et Procédés) depuis 2017.

**Rémi Malbec - 10/2014 – 10/2017**, thèse soutenue le 11/01/2018. Financement LAAS-Institut Carnot.

Co-direction avec Aurélien Bancaud co-encadrement de Thierry Leichlé (biofonctionnalisation et nanofluidique), collaboration impliquant le CRCT (Pierre Cordelier), et l'Université de Lausanne (Vincent Dion).

Laboratoire sur puce pour concentrer et détecter de l'ADN résiduel, application aux biomarqueurs du cancer et au diagnostic de la maladie de Huntington

*Devenir* : Rémi a été embauché en CDI fin 2017 à Lille dans la PME Gènes Diffusion

**Anaïs Chalard - 01/2016 – 01/2019.** Projet ANR Neuraxe.

Co-direction avec Juliette Fitremann (Laboratoire IMRCP), Développement de gels supramoléculaires orientés pour la croissance de neurones. La thèse vise à développer des formulations de gels supramoléculaires, biocompatibles, possédant à la fois des propriétés d'anisotropie (alignement des fibres constituant le gel) pour aider à une croissance dirigée de neurones, et d'injectabilité pour permettre leur utilisation en médecine régénérative.

*Prix* : Anaïs a obtenu le prix de la meilleure présentation orale lors de la conférence ECIS Students 2017 à Florence. Cela lui a permis d'être invitée à donner un oral à une conférence en Australie début 2018.

**Marianne Elias - 11/2017 – 11/2020.** Financement CNRS-INSIS, collaboration mise en place avec l'Université de Florence (PICS CNRS Microfluidics for Soft Matter),

Cotutelle avec Debora Berti (Univ Florence, Italie). Co-direction avec Anne-Marie Gué

La thèse vise à développer des méthodes de fabrication, de manipulation et caractérisation de membranes biomimétiques sur puce, dans l'objectif de sonder les interactions de ces membranes avec des nanoparticules.

#### **VI.3.1.2 Post-doctorats**

**Maud-Alix Mader, 09/2010 – 12/2013,** Financement par la fondation RTRA STAE (Sciences et Techniques pour l'Aéronautique et l'Espace) puis (en 2013) co-financement DGA-LCA. Le post-doctorat, coencadré par Anne-Marie Gué et en partenariat avec Philippe Behra (laboratoire LCA, coordinateur du projet MAISOE), visait à développer les étapes de préparation d'échantillon, pour des capteurs de mercure dans les rivières. La majeure partie a porté sur le tri microfluidique de particules submicrométriques. Durant l'année co-financée par la DGA, MA Mader s'est concentrée sur le développement d'une technologie bottom-up de fabrication de nanocanaux à l'aide de copolymères blocs.

*Devenir* : à ma connaissance, Maud est actuellement employée dans une société d'informatique.

**Fabien Chauvet, 10/2011–08/2012,** Projet ANR Smart-US

Le post-doctorat a visé d'une part à caractériser l'imbibition de nanocanaux, et d'autre part à générer des microbulles contrôlées pour leur utilisation par des acousticiens (Serge Mensah, coordinateur du projet ANR, laboratoire LMA à Marseille). Ceux-ci développent des méthodes de détection de telles bulles, impliquées dans les accidents de désaturation (plongée) ou le refroidissement des centrales nucléaires.

*Devenir* : Fabien a obtenu en 2012 un poste de MCF à l'université Paul Sabatier Toulouse III, Laboratoire de Génie Chimique. Il travaille sur l'utilisation de la microfluidique pour les procédés du génie électrochimique.

**Sébastien Méance, 09/2012–09/2013,** Projet ANR Smart-US, puis 01-12/2015, projet MicroDROP

S Méance a été recruté pour poursuivre le travail de F Chauvet ; il a contribué à transmettre le savoir-faire microfluidique aux partenaires acousticiens (missions au LMA). Il a également développé des systèmes microfluidiques avec une géométrie originale permettant de générer de façon stable des bulles de dimension 3-8  $\mu\text{m}$ .

Après un contrat d'un an au LAAS en partenariat avec la société Pierre-Fabre (Anne-Marie Gué côté LAAS) sur le développement de micro-aiguilles, S Méance a de nouveau effectué un CDD sous ma co-responsabilité en tant qu'ingénieur de recherche sur le projet MicroDROP. L'objectif principal est le développement d'outils microfluidiques pour tester la résistance aux antibiotiques dans les élevages porcins (partenariat avec Olivier Zemb, INRA, et K Grenier au LAAS pour la détection hyperfréquence). Il a ensuite effectué un CDD IR avec Aurélien Bancaud (projet Région Midi-Pyrénées) sur les technologies de concentration et séparation d'ADN sur puce.



*Devenir* : 2017-2018 en post doctorat à l'Université de Chicago, sur le thème des organes sur puce, actuellement post-doctorant à Montpellier.

**Hakim Tarbague, 05/2013 – 04-2014**, Financement de la Fédération de Recherche [Fermat](#).

Collaboration avec Sandrine Geoffroy (LMDC-INSA), et Marc Prat (IMFT). Dans le cadre des caractérisations d'écoulements à nano-échelle par des systèmes nanofluidiques modèles, le post-doctorat a principalement consisté à fabriquer et à caractériser l'imbibition et l'évaporation de nanocanaux de géométries en impasse, conçues pour amplifier les effets encore mal compris liés au gaz (compression et dissolution) et aux films de coin.

*Devenir* : à ma connaissance, il est actuellement en CDI dans une société de conception mécanique.

**Clément Roux, 01/2014 – 08/2014**. Financement ANR PolyTransFlow.

Co-encadrement avec Anne-Françoise Mingotaud (Laboratoire IMRCP, Toulouse). L'idée générale du projet est de mimer la vectorisation de nanomédicaments depuis les vaisseaux sanguins vers les tissus, en particulier vers les tumeurs. Le post-doctorat vise à fabriquer des nano-objets polymères auto-assemblés (des polymersomes, synthétisés principalement au laboratoire IMRCP) et à caractériser leur transfert à travers des jonctions nanofluidiques.

*Devenir* : il a été recruté MCF de l'Université Paul Sabatier en 2014, affecté au Laboratoire IMRCP.

**Marius Socol, 04/2015-04/2016**. ANR PolyTransflow

Ce post-doctorat est la suite du précédent, après le recrutement de C Roux.

*Devenir* : après un deuxième post-doctorat au LAAS dans notre équipe jusqu'à juin 2017 (projet Région, PI : Aurélien Bancaud), il est actuellement en recherche d'emploi.

**Olivier Liot, 09/2016-12/2017**. Chaire d'attractivité de l'Université de Toulouse du Pr Jeffrey Morris (projet NEMESIS)

Collaboration avec P Bacchin (LCC) et J Morris (CCNY, New York). Nous visons à mieux comprendre les processus de la filtration, en visualisant à l'échelle d'un pore unique le colmatage par des colloïdes, grâce à des systèmes microfluidiques modèles.

*Devenir* : après un post-doctorat au laboratoire ILM, Lyon (2018), il a été recruté MCF de l'INP Toulouse, affecté au laboratoire IMFT, à l'automne 2018.

**Léo Garcia, 10/2017-08/2018**. ½ ATER INSA Toulouse.

Il s'agit d'approfondir le travail d'O Liot sur la filtration.

*Devenir* : Vacataire temps complet à l'IUT Mesures Physiques de Toulouse.

### **VI.3.1.3 Stages**

**Alaa Allouch – 2008**, M2 Micro et Nano Systèmes (UPS Toulouse)

« Invasion capillaire de nanocanaux »

**Jean-Charles Millet – 2008**, M1 UPS Toulouse

« Fabrication de nanocanaux par gravure humide »

**Lyes Deghlaf – 2009**, M2 Micro et Nano Systèmes (UPS Toulouse)

« Cinétique d'évaporation de nanocanaux »

**Felipe Sales - 2010**, stage de fin d'études INSA / Université de Technologie Fédérale du Paraná (Brésil).

« Intégration de surfaces super-hydrophobes au sein de microcanaux »

**Karima Bournine - 2011**, M2 Micro et Nano Systèmes (UPS Toulouse).

« Auto-organisation de bulles pour l'optique ». Co-encadré par A Allouch (doctorant)

- Abdelkrim Hamoumi - 2011**, M2 Dynamique Energétique et Transferts de l'INP Toulouse.  
« Invasion capillaire de nanocanaux ». Co-encadré par S. Geoffroy (ICA), avec M. Prat (IMFT)
- Michael Batista – 2012**, M2 IM2P2 (UPS Toulouse).  
« Modélisation du tri de particules sub-micrométriques ». Co-encadré par M Mader (post-doctorante)
- Mathieu Rossi - 2012**, M2 Nanosciences de l'Université Paris-Sud XI.  
« Agrégation de l'amyloïd Beta étudiée par la microfluidique ». Co-encadré par V Picot (doctorant)
- Louise Roux - 2012**, M1 Biochimie Biotechnologies, UPS Toulouse.  
« Fabrication de Polymersomes et Ecoulement en microfluidique pour mimer la vectorisation ». Co-encadrée par A.-F. Mingotaud (IMRCP)
- Ange Gourbil – 2013**, M2 Dynamique Energétique et Transferts de l'INP Toulouse.  
« Evaporation au sein de nanocanaux modèles ». Co-encadré par M. Prat (IMFT)
- Sabri Iraïn - 2013**, M1 Ingénierie du Diagnostic, Instrumentation et Mesure de l'UPS Toulouse III.  
« Expérimentation sur le tri de particules sub-micrométriques ». Co-encadré par M Mader.
- Lucas Pages - 2014**, M2 Ingénierie du Diagnostic, Instrumentation et Mesure de l'UPS Toulouse III.  
« Réalisation de bulles par une géométrie originale, et extraction des bulles hors microsystème ». Co-encadré par S Méance (post-doctorant)
- Mohamed Bendeddouche - 2015**, M1 Ingénierie du Diagnostic, Instrumentation et Mesure de l'UPS  
« Systèmes microfluidiques mimant la vectorisation de nano-objets depuis le sang vers les tumeurs ». Co-encadré par M Socol (post-doctorant)
- Lorenzo Marsili - 2016**, Laurea en chimie, Univ Florence, Italie (équivalent M2)  
« Microfluidics to fabricate biomimetic phospholipidic membranes ». Co-encadré par C Montis et D Berti (à Florence)
- Anna Picone – 2016/17**, Laurea en chimie, Univ Florence, Italie (équivalent M2)  
« Interaction of model membranes with nanoparticles : study with microfluidic tools » Co-encadrée par C Montis et D Berti (à Florence)
- Akash Singh – 2017**, 4th year undergraduate de l'Indian Institute of Technology - IIT, Delhi, India  
« Clogging of model micropores ». Co-encadré par Olivier Liot (post-doctorant).
- Juliette Thiery - 2017**, M1 Génie Physique INSA Toulouse,  
« Transfert de polymersomes dans des nanocanaux ». Co-encadré par Olivier Liot.
- Chiara Magnani – 2017**, Laurea en chimie (équivalent M2), Erasmus Florence-IMRCP-LAAS.  
« Hybrid polymer-lipid vesicles ». Encadrement principal B Lonetti (IMRCP), collaboration Univ Florence.
- Nathan Trouvain- 2017**, Stage de 2<sup>ème</sup> année, prépa des INP, Toulouse,  
« Biomatériaux pour la croissance cellulaire : alignement de gels supramoléculaires grâce à un écoulement microfluidique ». Co-encadré par Anaïs Chalard (doctorante).
- Chloé Oneda - 2018**, Stage de 2<sup>ème</sup> année, prépa des INP, Toulouse,  
« Obtention de fibres de gélifiant biocompatible par wet spinning ». Co-encadrée par Anaïs Chalard.
- Morgane Mauduit - 2018**, Stage Ingénieur (4<sup>ème</sup> année), ESCOM Chimie, Compiègne,  
« Obtention de fibres de gélifiant biocompatible par wet spinning : application en impression 3D ». Co-encadrée par Anaïs Chalard.

### VI.3.2 Enseignement

J'ai été moniteur lors de ma thèse (64h/an) en donnant des TD, TP et tutorats de physique en 1<sup>er</sup> cycle universitaire, puis agrégé préparateur à Lyon en 2006-2007 (150h de cours magistraux et travaux pratiques de physique pour des étudiants préparant le CAPES à l'Université de Lyon).

Depuis 2007, j'assure principalement chaque année une dizaine d'heures de cours d'introduction à mon domaine de recherche aux niveaux Master et doctorat :

En janvier 2010 (Les Houches), 2012 (Agay), puis 2017 (Carcans) j'ai assuré un cours sur les technologies de fabrication de microcanaux, lors d'écoles scientifiques de microfluidique. Le public était principalement constitué d'étudiants en thèse dans des laboratoires français travaillant dans le domaine de la microfluidique, mais des industriels (Formulation, Fluigent, Elveflow), étudiants et intervenants étrangers étaient également présents.

Depuis 2011, j'assure un cours de 3h d'introduction aux microsystèmes et à la microfluidique auprès d'étudiants de dernière année de l'ENSEEIH (école d'ingénieurs).

En 2013 et 2014 j'ai donné un cours (6h) d'introduction à la microfluidique au Master 2 IM2P2 de l'Université Paul Sabatier Toulouse III, coordonné avec 8h de TP numériques sur la modélisation pour la microfluidique (TP assurés par Sandrine Geoffroy, Professeur INSA Toulouse).

Démonstration « Gouttes miniatures : les nouveaux (micro)tubes à essais ? » lors de la journée portes ouvertes du LAAS, avec deux doctorants, Antoine Naillon et Marc Fouet, et un chercheur, Aurélien Bancaud, à l'occasion de la fête de la science 2014.

Lors de mon séjour à l'Université de Florence en 2015-2016, j'ai donné un cours d'introduction aux laboratoires sur puces aux doctorants (une vingtaine) du département de chimie (8h), ainsi qu'un cours de 2h niveau master.

### VI.3.3 Participation à l'organisation de conférences, workshops, congrès

J'ai été **responsable scientifique de l'édition 2017 de l'école thématique CNRS de microfluidique**, qui a eu lieu en Juin 2017 (Carcans, <https://microfluidics17.sciencesconf.org/>). 90 participants (dont 70 apprenants) ont participé.

J'avais participé à l'organisation de cette école aux Houches en Janvier 2010, ainsi qu'à celle de l'édition 2015 (Porquerolles, [http://microfluidics15.univ-lille1.fr/?page\\_id=14](http://microfluidics15.univ-lille1.fr/?page_id=14)).

J'ai été membre du comité technique de la conférence [Flow17](#) : expertise des abstracts soumis, pour sélection.

J'ai été membre du comité d'organisation de la 2<sup>ème</sup> conférence européenne de microfluidique qui s'est tenue à Toulouse en décembre 2010 (plus de 200 participants).

J'ai été membre du comité d'organisation d'un atelier sur les capteurs environnementaux, financé par la fondation STAE (Sciences et Techniques pour l'Aéronautique et l'Espace), en 2014. L'atelier (une cinquantaine de participants) portait sur la préparation d'échantillon et la protection de capteurs dédiés à l'environnement. J'ai contribué au choix des intervenants invités, à la diffusion de l'information, et me suis occupé du site web de l'événement (<http://stae-ice-epp.sciencesconf.org/>).

### VI.3.4 Participation à des revues ou ouvrages de vulgarisation

Sur invitation de l'éditeur Wiley, nous avons avec A. Bancaud et P. Abgrall (ancien doctorant du LAAS 2003-2006, désormais chargé de projet en microfluidique dans la société Formulaction) rédigé un chapitre sur la nanofluidique dans un ouvrage concernant les applications des dispositifs microfluidiques (collection nanotechnologies et sciences de la vie, 2010).

### VI.3.5 Participations à des travaux d'expertise

J'expertise régulièrement des articles de revues et de conférences dans les domaines de la microfluidique, microfabrication, écoulements, matière molle, environ 3 revues par an pour les journaux : Lab on a Chip, Biomicrofluidics, Microfluidics and Nanofluidics, Journal of Fluid Mechanics, J. Phys. D, Journal of Micromechanics and Microengineering, Langmuir, Journal of Colloids and Interface Science.

J'ai expertisé un à deux projets ANR par an sur différents programmes depuis 2010, et ponctuellement sur d'autres programmes nationaux (ANSES) ou internationaux (NWO, Pays-Bas)

J'ai participé en 2011 à deux jurys pour le recrutement de maîtres de conférences (Université Lyon 1, ENSCBP à Bordeaux).

J'ai participé à quatre jurys de thèse de doctorat : Lingguo Du et Amandine Cuenca, tous deux du LOF-CNRS-Université Bordeaux 1 en 2012 ; Raphaël Renaudot, CEA-LETI en 2013 ; ZhenZhen Li, MMN-ESPCI en 2014.

## VI.4 CONTRATS DE RECHERCHE

### VI.4.1 Projets en cours

#### Modèles du transport en milieux poreux

2016-2019 Responsable pour le LAAS du projet *NEMESIS*, montant LAAS **75 k€**  
Chaire d'excellence à l'Université de Toulouse du Pr Jeffrey Morris (CCNY, USA)

Le rôle du LAAS dans cette collaboration multi-laboratoires à Toulouse est de mieux comprendre certains aspects du colmatage de membranes de filtration : effets du mouvement brownien, réversibilité.

2013-2018 Responsable pour le LAAS du projet NEEDS-MIPOR *Nanolab*, montant LAAS **~100 k€**  
Coordinateur Marc Prat (IMFT, Toulouse)

Nous développons (collaboration long-terme avec l'IMFT) des systèmes modèles de milieux poreux. L'objectif est de mieux comprendre les mécanismes d'écoulements en milieu naturel (roches du sous-sol) ou industriel. L'approche est de fabriquer des systèmes nanofluidiques grâce aux technologies salle blanche pour mimer les processus élémentaires de l'imbibition, le drainage, l'évaporation des milieux nano-poreux.

#### Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la matière molle et la santé

2017-2019 Responsable du projet international PICS-CNRS *μFlu-SOFT* montant **~15 k€**  
Coll. Université de Florence, Italie (Pr D Berti), et IMRCP, Toulouse (B Lonetti)

Le projet combine expertises en microfluidique et en physico-chimie pour la synthèse et la manipulation de membranes phospholipidiques, biomimétiques. L'interaction de nanoparticules avec ces membranes est particulièrement ciblée, du fait de son rôle majeur dans la toxicité des nanomatériaux mais aussi dans la vectorisation de nano-médicaments.

2017-2020 Participation au projet ANR  $\mu$ -LAS montant LAAS **150 k€**  
 Coordinateur Aurélien Bancaud (LAAS)

Ce travail s'intègre dans le projet *Oncodevice*, collaboration LAAS - CRCT (Toulouse).

Laboratoire sur puce pour concentrer et détecter des biomarqueurs du cancer. Projet inter-équipe au LAAS (A Bancaud, T Leichle), en partenariat avec le Centre de Recherche sur le Cancer de Toulouse (CRCT, Pierre Cordelier). Le principe est basé sur des forces transverses en milieu visco-élastique, sujet qui fait l'objet de brevets et transferts industriels portés par A Bancaud (LAAS).

2016-2019 Responsable pour le LAAS du contrat ANR *Neuraxe*, montant LAAS **84 k€**  
 Coordinatrice Juliette Fitremann (IMRCP, Toulouse)

Nous visons à synthétiser et mettre en forme des gels supramoléculaires orientés, supports pour la croissance de neurones (médecine régénérative). Le LAAS est chargé d'étudier le caractère injectable des gels obtenus, et leur mise en forme (fibres, impression 3D).

2013-2018 Responsable pour le LAAS du contrat ANR *PolyTransFlow*, montant LAAS **151 k€**  
 Coordinateur Marc Leonetti (IRPHE, Marseille)

Le projet vise à mieux comprendre les phénomènes en jeu lors du passage de vecteurs (des nano-objets polymères) depuis les vaisseaux sanguins vers les tissus et les tumeurs.

## VI.4.2 Projets passés

### Transport de Nano-objets et auto-assemblages, pour la matière molle et la santé

2014-2017 Responsable du projet LAAS-Institut Carnot *LabPuce*, montant **125 k€**

Ce projet, lié au projet  $\mu$ -LAS, concerne la séparation, concentration et détection d'ADN, pour des applications en génomique.

2014-2016 Participation au projet IDEX Toulouse Emergence *MicroDROP*, montant LAAS **60 k€**  
 Coordinateur Oliver Zemb (INRA Toulouse)

L'objectif est de développer des systèmes d'analyse de l'antibiorésistance dans des élevages animaux, par une approche microfluidique en goutte combinée à une détection RF (équipe MH2F du LAAS).

2009-2014 Participation au projet *MAISOE* de la fondation STAE, montant LAAS **125 k€**  
 Coordinateur Philippe Behra (LCA, Toulouse),

Le rôle du LAAS dans ce projet ciblant globalement les capteurs environnementaux et impliquant une dizaine de partenaires de la région Midi-Pyrénées, était de développer les étapes de préparation d'échantillon, pour des capteurs de mercure dans les rivières. Nous avons principalement travaillé sur le tri microfluidique de particules submicrométriques.

### Microfluidique diphasique

2009-2014 Responsable pour le LAAS du contrat ANR *Smart-US*, montant LAAS **160 k€**  
 Coordinateur Serge Mensah (LMA, Marseille)

Notre rôle dans le projet a été la réalisation de micro et nanobulles par microfluidique pour aider les acousticiens partenaires à développer des méthodes de détection de tels objets (applications : diagnostic précoce des accidents de décompression en plongée).

2008-2011 Responsable du projet LAAS *PHOLI*, montant **148k€**

J'ai été coordinateur de 2008 à fin 2011 d'un Projet LAAS (financé sur fond propres du laboratoire et sélectionné selon des critères de pluridisciplinarité) intitulé PHOLI (pour Photonique en phase liquide), en partenariat avec le groupe Photonique du laboratoire. L'objectif a été de démontrer la faisabilité d'une filière technologique de fonctions optiques basées sur l'utilisation de micro et nanobulles générées sur puce.

## VI.5 ANIMATION ET MANAGEMENT DE LA RECHERCHE

Je suis responsable de l'équipe de recherche MILE depuis sa création en 2016 (15 personnes environ : 5 permanents, 8 doctorants, 2 post-doctorants). <https://www.laas.fr/public/fr/mile>

Membre du comité de pilotage du réseau national « GDR Micro et Nanofluidique » depuis 2016, proposé directeur adjoint à la demande de renouvellement du GDR 2019-2023 (directrice : Stéphanie Descroix, Institut Curie & IPGG, Paris)

Membre élu du Conseil de Laboratoire du LAAS de 2013 à 2015, après en avoir été membre suppléant de 2009 à 2011.

2014-2016 : membre du Collège Scientifique EEA de l'Université Paul Sabatier Toulouse III, dont la mission est de constituer les comités de sélection pour les recrutements MCF, et de classer les candidats aux postes ATER.

En interne au LAAS, je fais partie de la « commission TEAM » qui vise à coordonner les interactions entre chercheurs en micro-nanotechnologie et ingénieurs de la salle blanche, et d'un groupe de travail sur « l'amélioration continue » à propos des plateformes technologiques (salle blanche, salles de manip).

## VII RESUME / ABSTRACT

---

**Résumé** - La microfluidique, contrôle de fluides dans des puces microfabriquées, est un outil précieux pour l'analyse chimique ou biologique ; ce sont les laboratoires sur puce. Elle permet aussi, grâce à des configurations simplifiées, de décortiquer et ainsi mieux comprendre certaines situations complexes rencontrées dans des milieux poreux naturels ou industriels, ou des systèmes biologiques. Ce manuscrit présente une synthèse de mes recherches au LAAS-CNRS, reposant pour l'essentiel sur de tels systèmes modèles.

Le transport fluide en milieu poreux, en particulier à nano-échelle, est étudié en fabriquant un réseau microfluidique, voire nanofluidique, mimant l'imbibition, l'évaporation, ou la cristallisation de sel dans une roche, ou encore le colmatage d'une membrane de filtration.

Le transport de nano-objets est abordé selon plusieurs éclairages liés aux biotechnologies: trier ou concentrer les objets avant leur analyse ; évaluer leur devenir dans la circulation sanguine pour la vectorisation de médicaments.

Les perspectives de ces travaux concernent : (1) le transport fluide en poreux ; (2) l'exploitation des technologies microfluidiques pour manipuler des modèles de membranes cellulaires, et ainsi étudier les mécanismes de leurs interactions avec des nano-objets ; (3) la mise en forme d'un hydrogel basé sur des auto-assemblages moléculaires, pour fabriquer un support 3D de culture cellulaire.

**Mots clefs** : Microfluidique, système modèle, milieu poreux, transport fluide, biotechnologie

**Abstract** – Microfluidics, controlling fluids in microfabricated chips, is a valuable tool for chemical or biological analysis; these are labs on a chip. It also allows, thanks to simplified configurations, to dissect and better understand some complex situations encountered in natural or industrial porous media, or in biological systems. This manuscript presents a summary of my research at LAAS-CNRS, based essentially on such model systems.

Fluid transport in a porous medium, in particular at the nanoscale, is studied by manufacturing a microfluidic or nanofluidic network, mimicking imbibition, fluid evaporation, or the crystallization of salt in a rock, or the clogging of a filtration membrane.

The transport of nano-objects is studied in different situations related to biotechnologies: sort or concentrate the objects before their analysis; evaluate their fate in the bloodstream for the vectorization of drugs.

The perspectives of this work concern: (1) fluid transport in porous media; (2) the exploitation of microfluidic technologies to manipulate cell membrane models, and thus study the mechanisms of their interactions with nano-objects; (3) shaping a hydrogel based on molecular self-assemblies to make a 3D cell culture support.

**Key words**: Microfluidics, model system, porous medium, fluid transport, biotechnology