

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

LABORATOIRE SUR PUCE POUR LA SÉPARATION ET DÉTECTION DES
PARTICULES À BASE DE DIÉLECTROPHORÈSE À BASSE TENSION

MOHAMED AMINE MILED
DÉPARTEMENT DE GÉNIE ÉLECTRIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIÆ DOCTOR
(GÉNIE ÉLECTRIQUE)
AVRIL 2013

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

LABORATOIRE SUR PUCE POUR LA SÉPARATION ET DÉTECTION DES
PARTICULES À BASE DE DIÉLECTROPHORÈSE À BASSE TENSION

présentée par : MILED Mohamed Amine

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiæ Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. SAVARIA Yvon, Ph.D., président

M. SAWAN Mohamad, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. PETER Yves-Alain, Ph.D., membre

M. STIHARU Ion, Ph.D., membre

À mes deux petits anges
À ma chère épouse
À mes chers parents et soeur

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au laboratoire de recherche en neurotechnologies Polystim de l'École Polytechnique de Montréal.

Je tiens donc, à exprimer ma profonde gratitude au professeur Mohamad Sawan pour son encadrement, ses conseils et sa contribution à titre de directeur de cette thèse. J'adresse également mes sincères remerciements aux professeurs Yvon Savaria et Yves-Alain Peter de l'École Polytechnique ainsi qu'au professeur Ion Stiharu de l'Université Concordia qui ont bien voulu accepter de prendre de leur temps pour l'évaluation de cette thèse.

J'aimerais remercier tous les collaborateurs, avec qui j'ai travaillé durant la période de ma recherche, pour leur aide et leur échange de points de vue et conseils.

Mes remerciements vont naturellement à mes collègues de laboratoire Polystim et aux techniciens du département de génie électrique pour leur précieux soutien technique.

Dans ces moments importants, je pense très fort à ma famille ici et en Tunisie. Particulièrement mes parents, ma soeur, mes beaux parents, mon beau frère et mes belles soeurs pour leurs encouragements et leur support moral.

Pour terminer, j'embrasse très fort mes deux enfants qui sont ma joie de vivre, ainsi que ma très chère épouse qui a partagé les hauts et les bas de mon doctorat et qui m'a soutenu et motivé par son amour.

A tous un grand merci du fond du cœur.

RÉSUMÉ

Notre recherche est construite autour de la volonté de développer et d'élargir l'utilisation des laboratoires sur puce (LsP), d'y intégrer de nouvelles fonctions et de proposer des approches de modélisation plus rigoureuses. En effet, les travaux de pointe montrent que pour réaliser des modèles mimant le plus fidèlement possible les systèmes vivants, les LsP doivent évoluer des simples supports fonctionnalisés que sont les puces d'analyse et de séparation de l'ADN vers des systèmes intégrant davantage de fonctions.

Pour ce faire, nous proposons tout d'abord un premier prototype d'un LsP comprenant des modules microélectroniques, microfluidiques, de communication radio fréquence et d'alimentation intégrée, pour la séparation des particules avec des validations in-vitro. Cette plateforme a pour objectif d'observer le comportement des particules face à une variation de la fréquence, de la phase ou de l'amplitude du champ électrique avec différentes architectures d'électrodes. De plus, étant programmable et reconfigurable, elle nous a permis de valider plusieurs concepts, notamment l'identification fréquentielle des micro et nanoparticules. Cette dernière représente notre principale contribution qui pourrait, éventuellement, ouvrir la porte à plusieurs recherches notamment celles portant sur l'identification des maladies neurodégénératives.

Notre but étant d'offrir une grande flexibilité dans la modélisation, nous présentons une nouvelle approche pour modéliser les LsP dans laquelle le comportement des particules est modélisé en tenant compte de l'architecture des électrodes, des signaux appliqués et des propriétés biologiques du milieu. Cette première modélisation en son genre est une approche hybride combinant une modélisation par éléments finis à l'aide d'ANSYS et une implémentation d'un algorithme sur Matlab. Elle permet de calculer la position d'une particule dans un microcanal en se basant sur les résultats fournis par ANSYS. Cette modélisation présente de nombreux avantages dont notamment, la possibilité d'identifier l'emplacement d'une particule avec précision en 3D, en plus de valider la séparation des particules à travers toute la profondeur du microcanal, ce qui n'est pas possible en se basant uniquement sur les résultats expérimentaux.

De plus, nous avons fabriqué le système complet avec une architecture 3D de 5 PCB, une plateforme microfluidique, un contrôle sans fil par Bluetooth et un bloc d'alimentation programmable et intégré dans un même microsystème. Toute la partie microélectronique du LsP a été implémentée sur une puce microélectronique fabriquée avec la technologie CMOS 0.18 μm de TSMC. Quant à l'architecture microfluidique, elle a été fabriquée avec les procédés Sonosit et Lionix.

ABSTRACT

Our research project is devoted to develop and extend the use of laboratories on chip (LoC), and to add to them new functions and more rigorous modeling techniques. Without a doubt, the state of art shows that, in order to create models that reflect living organisms best, LoCs need be more evolved systems that serve more functions than simple and limited-function DNA chips.

To do so, we propose a first prototype of a Lab on Chip with microelectronic and microfluidic modules, and integrated radio-frequency communication and power supply to separate the different particles in the cerebrospinal fluid with validations done in vitro. The purpose of this platform is to observe the particles' behaviour when facing a change in the electric field's, frequency, phase, or amplitude, all this using different architectures of electrodes. Moreover, the platform is programmable and reconfigurable, which is important as it allows the validation of many concepts, such as the frequency separation of micro and nanoparticles. This platform actually represents our main focus in this research. We believe that it will eventually lead to many other research and medical advancements, such as identifying the source of many degenerative neurological disorders.

We also came up with an innovative approach to give a greater flexibility to the modeling of LoCs. This approach consists of modeling the behaviour of particles based on the architectural design of the electrodes, the applied signals, and the biological properties of the medium. This first type of modeling is based on a hybrid approach between a Finite element modeling using ANSYS, and an algorithmic implementation on Matlab that makes it possible to calculate each particle's position in a micro canal based on the results provided by ANSYS. Such modeling has many advantages; for example, it can precisely identify the location of a particle in 3D, as well as separate the particles throughout the whole micro canal, all of which is not possible based on experimental results.

Also, we built this system entirely with a 3D architecture of PCB, a microfluidic platform, a Bluetooth wireless controller, and a source of power supply integrated all in one microsystem. The whole microelectronic part of the LoC is put on a microelectronic chip made with the CMOS 0.18 μm TSMC technology. As for the microfluidic architecture, it was fabricated using both the Sensonit and Lionix processes.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	iii
REMERCIEMENTS	iv
RÉSUMÉ	v
ABSTRACT	vi
TABLE DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX	xii
LISTE DES FIGURES	xiii
LISTE DES ANNEXES	xxi
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xxii
INTRODUCTION	1
Objectifs de la recherche	1
Méthodologie de la recherche	3
Contributions	4
Plan de la thèse	5
CHAPITRE 1 Notions fondamentales sur la neurotransmission et les techniques de bio- détECTION	7
1.1 Mise en contexte	7
1.2 Motivations	9
1.3 Détection des neurotransmetteurs	10
1.4 Mise en contexte	12
1.4.1 Manipulation des neurotransmetteurs	13
1.4.2 Manipulation des microsphères artificielles	13
1.5 Techniques de détection et de manipulation	14
1.5.1 Magnétophorèse	14
1.5.2 Méthode optique	15
1.5.3 Diélectrophorèse (DEP)	15

1.5.4	Autres méthodes de détection	17
1.6	Conclusion	18
CHAPITRE 2 Revue de littérature		19
2.1	Évolution des dispositifs médicaux vers les LsP et les défis de la miniaturisation	20
2.2	Principaux travaux de recherche pour l'intégration des LsP	24
2.2.1	Méthodes de manipulation des particules dans des LsP	24
2.2.2	Architecture des LsP	25
2.3	Plateforme de prototypage pour les dispositifs microfluidiques	27
2.4	Modélisation des LsP	28
CHAPITRE 3 Méthodologie de la recherche		32
3.1	Architecture du LsP	32
3.1.1	Architecture microfluidique	33
3.1.2	Système électronique pour la manipulation et la détection des particules	35
3.1.2.1	Plateforme de prototypage	35
3.1.3	Conception du LsP	37
3.1.4	Modules microélectroniques	37
3.1.4.1	Puces microélectroniques	38
3.1.4.2	Module d'alimentation	41
3.2	Assemblage et vérification	41
3.3	Modélisation du LsP	42
CHAPITRE 4 Plateforme de prototypage microfluidique pour la manipulation des par- ticules et détection capacitive		51
4.1	Article 1 - Reconfigurable Rapid Prototyping Microfluidic Platform for Particle Manipulation and Capacitive Detection	51
4.1.1	Abstract	51
4.1.2	Introduction	52
4.1.3	LoC Prototyping System	54
4.1.4	Proposed Prototyping Platform	54
4.1.4.1	Electronics Platform	56
4.1.4.1.1	Manipulation Circuit Design	56
4.1.4.1.2	Detection Circuit Design	57
4.1.4.2	Prototyping Microfluidic Platform	57
4.1.4.3	Prototyping Packaging Solution	59
4.1.4.4	Proposed Communication Protocol	60

4.1.5	Results	60
4.1.5.1	Experimental set-up	60
4.1.5.2	Experimental Results	60
4.1.6	Discussion	63
4.1.7	Conclusion	65
CHAPITRE 5 Laboratoire sur puce pour la manipulation des micros et nanoparticules		
	par diélectrophorèse et détection capacitive	70
5.1	Article 2 - Dielectrophoresis-Based Integrated Lab-on-Chip for Nano and Micro- Particles Manipulation and Capacitive Detection	70
5.1.1	Abstract	70
5.1.2	Introduction	71
5.1.3	LoC System and Background Description	75
5.1.4	Fabricated CMOS Chip Architecture	77
5.1.4.1	The Digital Module	77
5.1.4.1.1	Digital shift phase control	77
5.1.4.1.2	Frequency control	78
5.1.4.1.3	Data acquisition system	79
5.1.4.2	The Analog Part of the Dedicated Processor	79
5.1.4.2.1	Digital-to-analog Conversion Circuit	80
5.1.4.2.2	Amplification Circuit	81
5.1.4.3	Sensing Circuit	82
5.1.5	Fabricated Microfluidic Architecture	83
5.1.6	Simulation and Experimental Results	84
5.1.6.1	Simulation Results	84
5.1.6.2	Experimental Set-up	86
5.1.6.3	Experimental Results	88
5.1.7	Discussion	95
5.1.8	Conclusion	97
CHAPITRE 6 Manipulation diélectrophorétique à basse tension et détection des micros		
	et nanoparticules : Résultats expérimentaux	99
6.1	Article 3 - Low-Voltage Lab-on-Chip for Micro and Nanoparticles Manipula- tion and Detection : Experimental Results	99
6.1.1	Abstract	99
6.1.2	Introduction	100
6.1.3	Dielectrophoresis Background	101

6.1.4	Proposed Low Resistive and High Capacitive Load Circuit	102
6.1.5	Electrode Models	104
6.1.6	Simulation and Experimental Results	105
6.1.6.1	Microelectronics Circuit Results	105
6.1.6.2	Particle Manipulation Results	106
6.1.6.3	Capacitive Sensor Experimental Results	115
6.1.7	Conclusion	115
6.1.8	Acknowledgements	115
CHAPITRE 7	Méthode de modélisation hybride pour les manipulations diélectropho- rétiques des particules	117
7.1	Article 4 - Hybrid Modeling Method for a DEP Based Particle Manipulation .	117
7.1.1	Abstract	117
7.1.2	Introduction	118
7.1.3	DEP-based BioMEMS Modeling Theory	120
7.1.4	Dielectrophoresis Background	120
7.1.5	Modeling Background	122
7.1.6	Proposed Modeling Method	124
7.1.7	Implementation of the Proposed Modeling Technique	125
7.1.8	Simulation and Experimental Results	130
7.1.9	Simulation Results	130
7.1.10	Experimental Set-up	130
7.1.11	Experimental Results	131
7.1.12	Discussion	132
7.1.13	Conclusion	134
CHAPITRE 8	Discussion générale	146
8.1	Nouvelle technique de prototypage rapide pour les LsP	147
8.2	Interface Microfluidique/Électronique	148
8.3	Identification fréquentielle des particules	149
8.4	Nouvelle technique d'assemblage des LsP	150
8.5	Modélisation des LsP	150
8.6	Critiques	151
CONCLUSION	152
PUBLICATIONS RELATIVES A CETTE THÈSE	156

Bibliographie	159
ANNEXES	171
A.1 Niveau microfluidique	171

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Comparaison entre différentes techniques de manipulation cellulaire . .	23
Tableau 2.2	Spécifications techniques des différentes architectures utilisant le principe de la diélectrophorèse	26
Tableau 2.3	Spécification des différentes techniques de diélectrophorèse dépendamment de la cellule étudiée	26
Tableau 3.1	Principales caractéristiques de la plateforme de prototypage	38
3.2	Principales caractéristiques de la version intégrée du LsP	39
Tableau 4.1	Prototyping platform comparison, improved or different characteristics are highlighted in bold font where TWD and ROT refers to travelling wave dielectrophoresis and electrorotation respectively	64
Tableau 5.1	Cells manipulation techniques comparison (Ghallab et Badawy, 2004) .	73
Tableau 5.2	Microfluidic fabricated CMOS chip main characteristics based on experimental results	94
Tableau 5.3	Microfluidic platform main characteristics	95
Tableau 5.4	Properties of the different used polymer microspheres	95
Tableau 5.5	DEP response of polymer microspheres at different frequency range using L-shaped electrodes (E.) and corresponding crossover frequency (Cross. Freq.)	96
Tableau 6.1	Transistor dimensions in μm ; $C_c=2$ pF	104
Tableau 6.2	Unity gain frequency f , phase margin P_M and the positive and negative slew rate SR variation versus the capacitive load C_L	109
Tableau 6.3	Minimum effective operation voltage threshold (MEOVT) determined experimentally for carboxyl-modified polystyrene beads (Bangs laboratories Inc.) of three different diameter sizes ($2.04 \mu m$, $0.97 \mu m$ and $0.22 \mu m$) in function of electrode (E.) architecture (Arch.) and for a specific AC signal frequency (Freq.)	113
Tableau 7.1	Comparison of different modeling techniques	133
Tableau 7.2	Main proposed model features	133

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Structure d'une cellule nerveuse	7
Figure 1.2	Principe de propagation du potentiel d'action	8
Figure 1.3	Transmission des neurotransmetteurs	10
Figure 1.4	Principe d'action de neurotransmetteurs	11
Figure 1.5	Chromatogramme de (a) NE; (b) E; (c) DA; (d) DOPAC; (e) 5-HT; (g) glucose (Zhang <i>et al.</i> , 2003), reproduction autorisée	12
Figure 1.6	Électrodes de fibres de carbone pour la détection de la dopamine (DA) (Zhang <i>et al.</i> , 2003), reproduction autorisée	13
Figure 1.7	Représentation schématique de la FACS (Ghallab et Badawy, 2004), reproduction autorisée	16
Figure 1.8	Principe de séparation des particules par DEP, E étant un champ élec- trique non uniforme	17
Figure 2.1	Exemple d'implantation d'électrodes de stimulation dans le cerveau (Coffey, 2009), reproduction autorisée	20
Figure 3.1	Schéma simplifié de notre LsP : La zone rouge correspond à la zone où des réactifs chimiques sont injectés pour augmenter la sensibilité du LsP, Em correspond à la zone des électrodes de manipulation des particules et Ec aux électrodes de détection.	33
Figure 3.2	Différentes architectures microfluidiques fabriquées en utilisant le pro- cédé (a) Lionix (b) et (c) Sensonit et (d) un nouveau procédé de mi- crofabrication développé dans le cadre de cette thèse et breveté	34
Figure 3.3	(a) Diagramme du circuit de manipulation et détection et (b) matrice de propagation des signaux de contrôle	35
Figure 3.4	Plateformes de prototypage réalisées incluant (a) la partie microflui- dique (b) avec un contrôle manuel et (c) automatique des électrodes et des signaux appliqués	44
Figure 3.5	Puces microélectroniques fabriquées avec la technologie $0.18 \mu m$ pour (a) le contrôle des forces diélectrophorétiques et (b) la configuration des électrodes	45
Figure 3.6	Assemblage de la partie microfluidique pour la plateforme de prototy- page en utilisant (a) le « wire bonding » et (b) l'adhésif conducteur anisotropique	46

Figure 3.7	Assemblage et encapsulation des électrodes avec les différentes architectures : microfluidique et microélectronique	47
Figure 3.8	Assemblage des différents modules du LsP : (a) assemblage des composants discrets pour le contrôle de la puce de génération des signaux de manipulation diélectrophorétique; (b) et (c) assemblage des puces microélectroniques sur leur support de PCB par « wire bonding »; (d) assemblage de l'architecture microfluidique avec son support de PCB . .	48
Figure 3.9	Le LsP proposé dans sa configuration finale.	49
Figure 3.10	Principes de la modélisation proposée : (a) répartition des forces modélisées où la flèche rouge (A), la flèche bleue (B) et la flèche noire (C) représentent respectivement les forces diélectrophorétiques, fluidiques et électrophorétiques; (b) Principe d'échantillonnage, (c) propagation de la tension et (b) répartition du facteur Claussus-Mossotti	49
Figure 3.11	Architecture microfluidique proposée :(a) électrodes en L et (b) électrodes carrées	50
Figure 4.1	Proposed system configuration and diagram	53
Figure 4.2	Microfluidic architecture for precise particle manipulation	55
Figure 4.3	System block diagram	55
Figure 4.4	FPGA memory management module diagram	58
Figure 4.5	Proposed sensing system diagram	58
Figure 4.6	Fabricated microfluidic substrate including 9 microfluidic architectures with in-channel electrodes (S1 to S9), one microfluidic architecture for CMOS chip integration (M) and 4 microfluidic channels for packaging tests (F)	58
Figure 4.7	Examples of designed architectures included in the microfluidic substrate of (a) S9 and (b) S8	59
Figure 4.8	New proposed packaging technique	61
Figure 4.9	Proposed tubing technique using PDMS-based process	62
Figure 4.10	Communication protocol	62
Figure 4.11	Experimental set-up (a) with all testing equipment and (b) prototyping platform	66
Figure 4.12	Reconfigurable electronic board for the rapid prototyping platform . . .	67
Figure 4.13	Extendible microfluidic packaging for prototyping purpose	67
Figure 4.14	Captured particles for horizontal DEP manipulation using L-shaped electrodes	68

Figure 4.15	Rotational electrodes with 2 μm microsphere in case of (a) and (b) pDEP and (c) and (d) ndep	68
Figure 4.16	Microfluidic-PCB connection using ACF	68
Figure 4.17	Capacitance variation in microchannel acquired by the proposed platform	69
Figure 4.18	Glass-PCB connection using ACF : (a) ACF deposition, (b) ACF contact in case of good alignment and (c) in case of misalignment	69
Figure 5.1	DEP-based LoC microsystem architecture using planar electrodes . . .	76
Figure 5.2	Simplified diagram of the LoC system including the output signal processing (OSP) module and the Microfluidic digital microcontroller (MDM) and shows the connection between the microelectronics circuit and the microfluidic structure by wire-bonding	78
Figure 5.3	Signal generation and processing system design : (a) Digital module (DM) configuration, and (b) Memory configuration	79
Figure 5.4	OSP module architecture diagram	81
Figure 5.5	Digital-to-analog conversion design : (a) DAC design, (b) DAC connection, and (c) I/V converter where the length of all transistors is 0.18 μm and their width in μm is shown	81
Figure 5.6	Two-stages operational amplifier circuit with off-chip passive components R_{adj} and R_1 , the length of all transistors is 0.5 μm and their width in μm is shown in the figure	82
Figure 5.7	3×3 sensor array configuration	83
Figure 5.8	Capacitive array circuit design	83
Figure 5.9	Manipulation electrodes : (a) Horizontal and vertical motion and separation electrode and (b) Mixing electrodes; and (c) sensing interdigitated electrodes	85
Figure 5.10	Microchannel configuration for a LoC dielectrophoretic manipulations and capacitive sensing	85
Figure 5.11	Simulation results of potential distribution ((a) and (b)) where blue and red colors show the lowest and the highest voltage respectively and ((c) and (d)) EF propagation using ANSYS where the blue and red colors show the lowest and the highest EF respectively. L-shaped electrodes are used in (a) and (c), and square electrode array are used in (b) and (d) (Miled <i>et al.</i> , 2010)	86
Figure 5.12	Prototyping experimental set-up	87
Figure 5.13	Experimental set-up diagram	87

Figure 5.14	Dielectrophoretic manipulation signals generated from the fabricated CMOS chip : (a) OSP signals generation and (b) output phase-shifted signals where blue/yellow signals phase is 3.44° and yellow/red signals phase is -14.24°	89
Figure 5.15	DM shifting operations from the fabricated CMOS chip : (a) mixing operation disabled ; (b) mixing operation enabled with 120° -phase shift signals	89
Figure 5.16	LoC main components : (a) Microfluidic architecture and (b) CMOS chip	89
Figure 5.17	Experimental results : LoC sensing curve with L-shaped electrodes : (a) electrode space sensitivity and (b) medium sensitivity	91
Figure 5.18	LoC 3^{rd} -level mixing operation device where 8, 9, 20, 42 particles are mixed in (a), (b), (c), and (d), respectively. (e), (f), (g), (h) are the post processed images of (a), (b), (c) and (d) respectively.	91
Figure 5.19	Mixing operation of the LoC : (a) Trapped microspheres in the Polynomial electrodes, (b) Mixing starting operation, (c) and (d) Increased microspheres concentration while an EF is applied	93
Figure 5.20	Mixing operation with (a) 1^{st} and (b) 2^{nd} level mixing stage using 2 mg/ml PC05N $2\ \mu\text{m}$ at a frequency of 1 MHz ; (c) 1^{st} stage with high concentration of PC05N $2\ \mu\text{m}$	93
Figure 5.21	Next mixing structure generation based on eight 90° dephased signals : (a) electrode dimensions and (a) particle manipulation	94
Figure 5.22	Horizontal manipulation in the proposed LoC using L-shaped electrodes : (a), (c) particles are attracted by electrodes; (b), (d) particles are pushed toward the space between electrodes where in a and b electrodes are applied non-dephased signals and 180° -dephased signals respectively	96
Figure 6.1	Output signal processing module with (a) DAC,(b) current mirror and (c) amplification and buffering stage	103
Figure 6.2	Buffer circuit schematic	103
Figure 6.3	Electrical field propagation at (a) 2 kHz , and (b) 1 MHz with octagonal electrode architecture	106
Figure 6.4	Voltage propagation in the case of L-shaped electrodes with (a) $0^\circ/180^\circ$, (b) $0^\circ/90^\circ/180^\circ/270^\circ$ phase shift in the case of $200\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ electrode architecture, and (c) $200\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$ L-shaped electrode architecture.	106

Figure 6.5	Fabricated chip of the proposed circuit using TSMC 0.18 μm technology	107
Figure 6.6	changes of V_A , V_B and I_{qo} versus R_L when $W_{19} = 7 \mu m$	107
Figure 6.7	Lower and upper CMIR according to a resistive load R_L	107
Figure 6.8	Pulse response when C_L is 200 pF	108
Figure 6.9	Dimensions and specific phase shift applied to each studied electrode architecture : (a) U-shaped electrodes, (b) Octagonal configuration electrodes, (c) Square-shaped mixing electrodes.	109
Figure 6.10	f_c range as a function of particle diameter for each implemented electrode architecture.	110
Figure 6.11	Captured images of 0.22 μm diameter polystyrene spheres (dyed green) showing their frequency-dependent DEP behaviour under AC signals in the U-shaped electrode configuration. (a) pDEP : particles collect at the electrode surfaces at frequencies higher than 1.4 MHz (b) pDEP-nDEP transition : particles settle at the electrode surfaced and in the inter-electrodes space at frequencies ranging from 1.2 MHz to 1.4 MHz (c) nDEP : particles are trapped in the inter-electrodes space at frequencies lower than 1.2 MHz.	111
Figure 6.12	Captured images of 0.97 μm diameter polystyrene spheres (dyed red) showing their frequency-dependent DEP behaviour under AC signals in the octagonal electrode configuration. (a) pDEP : particles are repelled from the electrodes and form a rotating sphere at frequencies higher than 575 kHz, (b) pDEP-nDEP transition : particles settle at the electrode surfaced and in the inter-electrodes space at frequency 575 kHz (c) nDEP : particles collect at the electrode surfaces at frequencies lower than 575 kHz	112
Figure 6.13	Captured images of 0.97 μm diameter polystyrene spheres (dyed red) showing their frequency-dependent DEP behaviour under AC signals in the square-shaped mixing electrodes (a) pDEP : particles are repelled from the electrodes and collected in the electrode inter-space at frequencies higher than 100 kHz. A diagonal direction mixing operation occurs in the mixing area, represented by the fine line arrows. (b) pDEP-nDEP transition : particles settle at the electrode surfaced (1) and in the inter-electrodes space (2) at frequencies ranging from 50 kHz to 100 kHz (c) NDEP : particles collect at the electrode surfaces at frequencies lower than 50 kHz.	112

Figure 6.14	Captured video images of $2.04 \mu m$ diameter polystyrene spheres for different applied voltage AC signals at a frequency of 1 MHz, enabling the formation of a rotating particle sphere at the center of the electrodes. (a) $14.8 V_{pp} / 1 \text{ MHz}$: the sphere formed of particles is rotating at a high speed and the degree of compactness is strong (b) $6 V_{pp} / 1 \text{ MHz}$: the sphere formed of particles is rotating at a low speed and the degree of compactness is weak (c) $5 V_{pp} / 1 \text{ MHz}$: the sphere formed of particles is no more rotating and slowly disintegrates, making the rotational mixing operation ineffective.	114
Figure 6.15	LoC sensitivity when a liquid is flowing in the microchannel for different electrode configurations and spaces (E=Empty, F=Full) (Miled et Sawan, 2012b)	114
Figure 6.16	Interference effect (<i>in red</i>) when both manipulation and detection phases are enabled (Miled et Sawan, 2012b)	116
Figure 7.1	Dielectrophoretic effect using a particle with a permittivity of ϵ_1 and medium permittivity ϵ_2	121
Figure 7.2	Variation of real part of the Claussius-Mossotti factor versus frequency showing the crossover frequency effect	122
Figure 7.3	(a) ANSYS/Matlab global and (b) detailed modeling of a particle motion	126
Figure 7.4	Modeling approach set-up steps using implemented Matlab and ANSYS algorithms	129
Figure 7.5	Detailed algorithm of proposed modeling approach for DEP based Bio-MEMS	135
Figure 7.6	(a) Electrode modeling using ANSYS and (b) particle insertion with Matlab in the micro channel within a 4-electrode architecture.	136
Figure 7.7	(a) Particle 3D-displacement in a 4-electrode architecture, where (b), (c), (d) show X, Y and Z displacement respectively. X, Y and Z axis are defined in Fig.7.6a	137
Figure 7.8	Particle motion approximation based on Fig. 7.7a with a 4-electrode architecture	137
Figure 7.9	ANSYS results in the case a 4-electrode architecture : (a) pressure and (b) voltage distribution in the micro channel. Voltage distribution is multiplied by 10 in ANSYS due to simulation constraints.	138
Figure 7.10	(a) ANSYS electrode modeling and (b) Matlab particle insertion in the micro channel within an 8-electrode architecture	138

Figure 7.11	Voltage distribution in the case of 8-electrode architecture using ANSYS. Voltage distribution is multiplied by 10 in ANSYS due to simulation constraints.	139
Figure 7.12	(a) Particle 3D-displacement in an 8-electrode architecture, where (b), (c), (d) show X, Y and Z displacements respectively. X, Y and Z axis are defined in Fig.7.10a	140
Figure 7.13	Particle motion approximation based on Fig. 7.12a with 8-electrode architecture	141
Figure 7.14	(a) The red arrow (A) represents the dielectrophoretic force, the blue arrow (B) represents the fluid force and the black (C) one represents the electrophoretic force, (b) Sampling procedure of the proposed model, (c) Voltage propagation and (b) Claussius-Mossotti factor calculation	142
Figure 7.15	System set-up to test DEP effect on microspheres injected in a custom design of electrode architecture Miled et Sawan (2012a)	143
Figure 7.16	Microfluidic fabricated device using LioniX process	143
Figure 7.17	Experimental results of $0.97 \mu m$ diameter polystyrene microspheres (dyed red) from Bangs Laboratories exposed to DEP forces within (a) a 4-electrode architecture and (b) an 8-electrode architecture	144
Figure 7.18	Image processing with Matlab of captured image from Suss microscope using $0.97 \mu m$ diameter polystyrene microspheres (dyed red) from Bangs Laboratories exposed to DEP forces within (a) a 4-electrode architecture and (b) an 8-electrode architecture	144
Figure 7.19	2D experimental tracking in the case of (a) 4 and (a) 8 electrode architectures	145
Figure 7.20	2D experimental result comparison for (a) X and (b) Y axes in the case of 4-electrode architecture and (c) X and (d) Y axes in the case of 8-electrode architecture	145
Figure A.1	Dessin de masque de l'architecture microfluidique en utilisant la technologie Sensonit	172
Figure A.2	Microsystème proposé pour son intégration dans un LsP	172
Figure A.3	(a)Trous d'accès microfluidique et (b) microcanaux de $25 \mu m$	172
Figure A.4	(a) Traces de connexion de l'architecture microfluidique au circuit électrique, (b) électrodes de manipulation et détection d'épaisseur de 200 nm et (c) surface des électrodes	173

Figure A.5	Contrôle de la propagation du champ électrique dépendamment du nombre d'électrodes : (a) 1 électrode et (b) 4 électrodes utilisées pour propager le champ électrique	173
Figure A.6	(a) Propagation du champ électrique en utilisant (b) l'architecture des électrodes en L	173

LISTE DES ANNEXES

Annexe A Résultats d'implémentation 171

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ACSF	Artificial CerebroSpinal Fluid
Ag	Argent
AO	Acridine Orange
Au	Or
CBCM	Charge-Based Capacitive Measurement
CE	Capillary Electrophoresis
CF	Carboxyfluoscein
CMC	Canadian Microelectronics Corporation
CMOS	Complementary Metal–Oxide–Semiconductor
CNA	Convertisseur Numérique-Analogique
CSF	CerebroSpinal Fluid
Cr	Chrome
DA	Dopamine
DEP	Dielectrophoresis
DMI	Dispositif Médical Intelligent
DOPAC	Acide 3,4-Dihydroxyphenylacétique
E	Epinephrine
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorter
ISFET	Ion-Sensitive Field-Effect Transistor
GABA	Gamma-AminoButyric Acid
LsP	Laboratoire sur Puce
LoC	Laboratory-on-Chip
LCS	Liquide CérébroSpinal
MDPI	Multidisciplinary Digital Publishing Institute
MEMS	Micro Electro Mechanical System
MIT	Massachusetts Institute of Technology
NEMS	Nano Electro Mechanical System
NdFeB	Neodymium magnet
NE	Norepinephrine
NSERC	Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada
nDEP	Negative dielectrophoresis
OG	Oregon Green

PA	Potentiel d'Action
PCB	Printed Circuit Board
pDEP	Positive dielectrophoresis
PDMS	Polydimethylsiloxane
PDF	Pressure-Driven Flow
PI	Propodium Idide
PMMA	Para-Methoxy-N-methylamphetamine
Pt	Platine
PH	Potentiel Hydrogène
SCME	Société Canadienne de Micro-Électronique
SNI	Système Non Intégré
SsP	Système sur Puce
TSMC	Taiwan Semiconductor Manufacturing Company
5-HT	5-hydroxytryptamine
ZIF	Zero Insertion Force
μ FACS	Micro fluorescence-Activated Cell Sorter

INTRODUCTION

Objectifs de la recherche

La manipulation des cellules biologiques à très petite échelle suscite beaucoup d'intérêt de recherche (Zhang *et al.*, 2010; Burgarella *et al.*, 2013; Fritzsche *et al.*, 2013; Kodama *et al.*, 2013). En effet, les analyses du comportement des cellules, de leur morphologie ainsi que de leur concentration permettent de prévenir ou déceler des maladies, des empoisonnements et sont d'une grande utilité dans de nombreuses applications comme le séquençage de l'ADN, la caractérisation des neurotransmetteurs, la mesure du pH et du taux de glucose. Dans une approche conventionnelle, ces analyses nécessitent d'abord un prélèvement puis l'extraction de différents liquides, la purification des échantillons et finalement la quantification des différents éléments s'y trouvant. Par conséquent, la moindre erreur de quantification peut engendrer un mauvais ou faux diagnostic avec les conséquences néfastes qui peuvent en découler, notamment pour le patient, le biologiste ou le médecin. C'est pour cette raison que la quantification est une étape critique qui nécessite des protocoles expérimentaux souvent très élaborés. Par exemple, afin de quantifier les cellules dans des laboratoires dédiés, la première étape consiste à séparer les différents liquides présents par une centrifugeuse. Pour y parvenir, il faut absolument disposer d'un volume significatif de l'échantillon à analyser (quelques millilitres). Or, cette approche s'avère inappropriée pour des mesures avec des échantillons de quelques picolitres ou moins. C'est ainsi que le besoin d'étudier des volumes aux échelles microscopiques et nanométriques a suscité l'intérêt d'avoir des méthodes de séparation qui offrent une grande résolution, un temps d'analyse plus court et qui sont capables de séparer des mélanges comportant de très faibles concentrations de molécules.

De ce point de vue, les laboratoires sur puce (LsP) constituent une solution de choix. Un LsP ou Laboratory-on-Chip (LoC) en anglais, est un ensemble de microsystèmes microélectroniques, chimiques, biologiques et microfluidiques interconnectés pour procéder à l'analyse biologique d'un échantillon, formant ainsi un dispositif médical intelligent (DMI).

Un LsP est à la base composé de deux fonctions principales : l'échantillonnage qui inclut le compartiment de manipulation et la détection qui est composée des modules d'acquisition et d'analyse. Ces procédés peuvent également être réalisés à l'intérieur de microcanaux isolés et de micros chambres.

Dans la présente thèse, nous nous intéressons, particulièrement, à la transmission nerveuse dans le but d'implanter dans le cortex un DMI pour déceler tout dysfonctionnement dans la transmission du flux nerveux. Cette transmission nerveuse est gérée par des molécules

appelées neurotransmetteurs.

L'objectif de nos travaux de recherche est de pouvoir développer un dispositif capable de séparer des micro ou nanoparticules sans aucune incidence sur son environnement qui est le tissu cérébral dans notre cas.

En effet, nous nous intéressons à la manipulation et la détection des neurotransmetteurs présents dans le cortex à l'interface entre les neurones afin d'analyser l'activité chimique. Ainsi, plusieurs aspects importants sont à considérer lors de la conception d'un LsP dédié à cette fin.

Tout d'abord, comme il existe plusieurs types de neurotransmetteurs dans le cortex, tels que la dopamine et le GABA parmi d'autres, il est d'abord nécessaire de disposer d'une méthode appropriée pour les séparer. Pour ce faire, les biocapteurs sont largement utilisés. Le principe de base d'un biocapteur est de transformer une propriété biochimique d'un phénomène biologique en un signal électrique qui peut être traité pour extraire les résultats d'analyse. Toutefois, les dispositifs existants ne permettent de détecter qu'un type de neurotransmetteur particulier. Alors que le besoin réel est de pouvoir identifier plusieurs types de neurotransmetteurs.

Aussi, la majorité des dispositifs de contrôle et d'observation du fonctionnement cérébral existants se basent sur la détection des signaux électriques ou sur la stimulation par des électrodes insérées dans le tissu cérébral. Ces électrodes sont souvent assez profondes (>5 mm), ce qui peut malheureusement générer une inflammation localisée (Fily *et al.*, 2011; Farris *et al.*, 2008). De plus, le corps humain a tendance à considérer les électrodes comme un corps étranger et développe des mécanismes de protection à travers des cellules appelées «Giant cell» en anglais, qui ont pour effet de bloquer la propagation du signal électrique en augmentant l'impédance de l'électrode. En conséquence, le rendement des électrodes décroît au fur et à mesure que le corps s'y adapte. Par ailleurs, des travaux de recherche ont montré que le corps humain a tendance à générer des liaisons neuronales ou cellulaires dans le dispositif lui-même, ce qui contribue à la dégradation de la qualité du signal détecté et transmis (Bosi *et al.*, 2013; Tien *et al.*, 2013).

De plus, dans les dispositifs déjà développés, les électrodes sont implantées directement dans le corps pour détecter des signaux électriques ou pour en envoyer. Dans les deux cas, il s'agit soit d'une interprétation indirecte des phénomènes chimiques ou biologiques ayant lieu ou bien d'une stimulation pour induire des réactions biologiques. La limite principale, dans le cas de la mesure de l'activité électrique, est qu'il est impossible de déduire si les signaux détectés sont influencés par les inflammations dues à l'insertion des électrodes ou à l'application des stimulations.

Aussi, pour procéder à la détection, un système d'échantillonnage et de mélange de réactifs

doit être intégré dans la structure microfluidique et contrôlé par une puce microélectronique.

Par ailleurs, le LsP doit être capable d'analyser les substances dans un intervalle de temps très court. Cette contrainte exige l'échantillonnage d'une quantité de liquide de l'ordre des nano litres pour accélérer l'analyse. Le traitement d'une faible quantité de liquide implique l'utilisation de tensions de faible amplitude pour la séparation des particules, ce qui réduit la consommation d'énergie d'un tel système facilitant ainsi son implantation dans des organismes biologiques et en particulier dans le cortex cérébral.

Un défi est de pouvoir intégrer tout le procédé de manipulation et de détection dans un LsP de quelques millimètres afin de permettre à ces dispositifs d'être placés dans des zones du corps humain ne causant aucun dommage au patient et sans introduire une perturbation majeure à la circulation des liquides corporels ou échanges moléculaires.

Méthodologie de la recherche

La technologie des biocapteurs est le noyau central du microsystème que nous comptons développer. Elle permet de sélectionner les molécules ou les substances chimiques que nous voulons analyser et étudier dans un échantillon de quelques picolitres. De tels dispositifs miniatures et implantables n'existent pas encore. En effet, toutes les approches d'analyse des substances chimiques se réalisent actuellement par des appareillages d'envergure ou des robots qui nécessitent un temps de traitement très long.

Nous nous intéressons aussi à la diélectrophorèse (DEP) comme méthode de manipulation des micro et nanoparticules (500 nm à 4 μ m). La DEP consiste en la manipulation de cellules (particules ou molécules) par le champ électrique. Sous l'effet d'un champ électrique, ces cellules se polarisent et selon leurs propriétés électriques et du milieu de culture dans lequel elles baignent, elles sont attirées vers les zones de champ minimal ou maximal.

De plus, nous proposons une approche complètement différente de ce qui existe déjà. Plus précisément, au lieu d'aller chercher l'information dans le tissu ou le liquide biologique, nous proposons d'échantillonner le liquide biologique et de l'injecter dans des microcanaux dans lesquels des électrodes sont implémentées dans un LsP. Ainsi, les électrodes ne sont plus en contact direct avec le tissu, alors que le LsP l'est. L'avantage d'un LsP est le fait qu'il est un dispositif pouvant regrouper des mécanismes lui permettant de contrecarrer les moyens de protection du corps. Ces mécanismes peuvent être un réservoir contenant des substances permettant d'éliminer le tissu créé autour du LsP.

Nous proposons aussi d'analyser directement la composition chimique ou biologique des liquides échantillonnés dans des microcanaux fabriqués dans des LsP. Ainsi, nous éliminons toute perturbation due au dispositif, plus particulièrement dans le cas des neurotransmetteurs

dont la concentration peut changer suite à n'importe quelle intrusion non biocompatible.

Contributions

Les travaux présentés dans cette thèse offrent plusieurs aspects novateurs. L'innovation s'inscrit, en particulier, dans le cadre de l'introduction d'un système de détection de la variation de la concentration des molécules en temps réel avec un temps de détection très court, une sensibilité accrue et une meilleure précision en se basant sur l'identité fréquentielle des particules. Ainsi, nos principales contributions sont :

- La conception d'un LsP capable d'effectuer une séparation de particules par identification fréquentielle pour une plage de fréquence allant jusqu'à 1.2 MHz. Cette identification se fait par l'entremise de la diélectrophorèse. Nous avons, en effet, réalisé une séparation des microparticules de carboxyl-modifié ayant des diamètres de 0.22 μm , 0.97 μm et 2.04 μm en utilisant la diélectrophorèse (DEP) avec une tension inférieure à 1.7 V et des électrodes de dimensions inférieures à 10 μm (del Carmen Jaramillo *et al.*, 2013; Nakano et Ros, 2013; Invitrogen, 2013) En effet, la manipulation diélectrophorétique conventionnelle nécessite des tensions dans l'ordre des kV et est principalement utilisée dans la séparation de l'ADN (del Carmen Jaramillo *et al.*, 2013; Nakano et Ros, 2013). De notre part, nous sommes parvenus à réduire cette tension par rapport à la majorité des travaux de recherches dans ce domaine. Il nous était possible d'attribuer à chaque particule une fréquence propre qui permet de l'identifier selon l'architecture des électrodes. Nous proposons un prototype basé sur un contrôle en temps réel de la fréquence et du déphasage des tensions appliquées, et ce dans le but d'avoir une meilleure sélectivité des particules dépendamment de leurs dimensions et la conductivité du milieu.

- Le développement d'un système complet capable de réaliser le fonctionnement précédemment décrit dans l'objectif de l'implanter dans le corps humain.

Ce système complet a été fabriqué avec une architecture 3D de 5 PCB incluant une plateforme microfluidique, un contrôle sans fil par Bluetooth et un bloc d'alimentation programmable et intégré dans ce même LsP.

Nous proposons aussi une approche qui se base sur la biodétection à base de LsP intégrant des dispositifs de technologie hybride (microélectronique, microfluidique, encapsulation, MEMS), qui peuvent réaliser toutes les tâches requises comme l'échantillonnage, la séparation, la manipulation, la détection, les analyses et la classification de données pour parvenir à la détection d'une anomalie liée à la concentration des molécules dans

le liquide échantillonné.

Les microsphères ont été testées avec trois différentes architectures d'électrodes (U, L et carrée) pour le mélange et la séparation des particules. La détection capacitive se fait par l'intermédiaire d'électrodes interdigitées qui ont été testées avec de l'éthanol, des solutions salines avec des algues et de l'eau non-ionisée. Les dimensions de la puce permettant ces opérations sont de 1.2 mm x 1.2 mm avec une tension de 1.7 Vpp et un déphasage contrôlé des signaux appliqués de 0° et 180°.

- La proposition d'une approche de modélisation d'un LsP nous permettant d'anticiper le comportement du dispositif, ainsi qu'une plateforme de prototypage pour valider le concept d'un LsP intégré. En effet, nous présentons une nouvelle méthode de modélisation versatile et multidisciplinaire d'un LsP dans laquelle le comportement des particules peut être modélisé en tenant compte de l'architecture des électrodes, des signaux appliqués et des propriétés biologiques du milieu. Cette première modélisation en son genre se base sur une approche hybride combinant une modélisation par éléments finis à l'aide d'ANSYS et une implémentation d'un algorithme sur Matlab permettant de calculer la position de la particule dans un microcanal en se basant sur les résultats fournis par ANSYS. Cette modélisation présente de nombreux avantages, dont notamment la possibilité d'identifier l'emplacement de la particule avec précision en 3D, en plus de valider la séparation des particules à travers toute la profondeur du microcanal, ce qui n'est pas possible en se basant uniquement sur les résultats expérimentaux. Au final, toute la partie microélectronique du LsP a été implémentée sur une puce microélectronique fabriquée avec la technologie CMOS 0.18 μm de TSMC. Quant à l'architecture microfluidique, elle a été fabriquée avec le procédé Sensonit et un autre procédé de microfabrication de haute densité d'électrodes que nous avons développé et breveté.

Plan de la thèse

Les chapitres 1 et 2 introduisent respectivement les notions fondamentales utilisées dans cette thèse et une revue de littérature détaillée. Le chapitre 3 expose la méthodologie de recherche adoptée.

Dans le chapitre 4, nous présentons la plateforme de prototypage qui a pour objectif d'analyser le comportement des particules suite à une variation de la fréquence, de la phase ou de l'amplitude du champ électrique avec différentes architectures d'électrodes. Cette plateforme est programmable et reconfigurable, ce qui est important pour nous permettre de valider plusieurs concepts, notamment l'identification fréquentielle des micro et nanoparticules. Ce

chapitre a fait l'objet d'un article de revue intitulé "New Versatile and Reconfigurable Fast Prototyping Microfluidic System Design for Dielectrophoretic Manipulations and Capacitive Detections" soumis à la revue "Sensors and Actuators B" d'Elsevier.

Le chapitre 5 présente l'architecture détaillée de la puce microélectronique qui a été fabriquée pour contrôler le LsP. La fabrication a été réalisée suite aux résultats obtenus par la plateforme de prototypage qui ont validé la modélisation accomplie. Ces travaux ont été publiés dans la revue "IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems". L'article est intitulé "Dielectrophoresis-Based Integrated Lab-on-Chip for Nano and Micro-Particles Manipulation and Capacitive Detection".

Le chapitre 6 présente les résultats expérimentaux portant sur la séparation des micro et nanoparticules en utilisant la plateforme de prototypage et le système intégré sur puce. Ce chapitre a fait l'objet d'un article de revue publié dans la revue "Analog Integrated Circuits and Signal Processing" de Springer. L'article s'intitule "Low-Voltage Lab-on-Chip for Micro and Nanoparticles Manipulation and Detection : Experimental Results".

Dans le chapitre 7, nous présentons une nouvelle modélisation pour les LsP dans laquelle la modélisation de la DEP a été intégrée pour la première fois dans une simulation à éléments finis pouvant être appliquée à n'importe quelle architecture d'électrodes et de microcanaux. Cette contribution a fait l'objet d'un article de revue intitulé "Hybrid Modeling Method For a DEP Based Particle Manipulation" accepté pour publication dans la revue MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute) Sensors.

Le chapitre 8 présente une discussion générale concernant les travaux élaborés. Finalement, la conclusion est une synthèse de notre recherche et expose les futures perspectives qui en découlent.

CHAPITRE 1

Notions fondamentales sur la neurotransmission et les techniques de biodétection

1.1 Mise en contexte

La neurotransmission est au centre de recherches intensives pour mieux comprendre les interactions chimiques qui se produisent dans le cerveau et qui conditionnent nos comportements, humeurs et émotions. À la base de la neurotransmission, on retrouve de petites molécules de quelques nanomètres de dimension appelées neurotransmetteurs qui sont responsables de toute la chimie cérébrale. Chez un patient en bonne santé, la concentration des neurotransmetteurs dans le cerveau est à des proportions équilibrées permettant l'inhibition et l'activation de plusieurs canaux de sorte que les signaux électriques se propagent correctement à travers un réseau de neurones.

Le neurone est une cellule nerveuse qui est principalement constituée d'un axone, des dendrites, du corps de la cellule et de son noyau, tel qu'indiqué à la Figure 1.1.

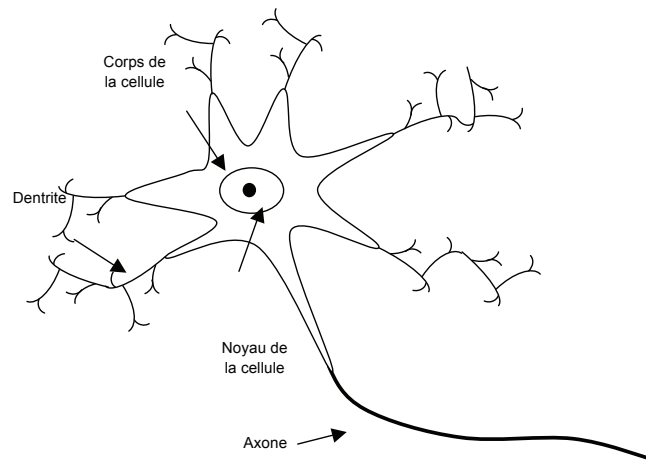


Figure 1.1 Structure d'une cellule nerveuse

Le rôle des dendrites est de collecter l'information, alors que l'axone la transmet. Les axones peuvent avoir une longueur de quelques micromètres jusqu'à quelques mètres chez certains animaux. Les informations émises par le neurone sont acheminées au niveau des terminaisons nerveuses (i.e. la fin de l'axone). Quant au noyau de la cellule, il constitue la partie centrale du traitement de l'information.

D'un point de vue électrique, le potentiel de repos d'une cellule correspond à une inactivité du neurone. L'amplitude et la direction de propagation du potentiel d'action dans un neurone sont conditionnées par les concentrations des ions à l'intérieur et à l'extérieur de la membrane cellulaire. En général, le potentiel d'action varie entre -15 mV et 100 mV. Par exemple, dans les membranes du plasma, les principaux ions en question sont les Na^+ et les K^+ .

La différence de potentiel peut être mesurée par l'insertion de microélectrodes de sorte qu'il soit possible de déceler un excès d'ions correspondant à un excès de charges positives ou négatives. L'électrode est insérée à l'intérieur d'une cellule ou au niveau du cytoplasme et dans le milieu extracellulaire. Une fois qu'une cellule nerveuse est stimulée (i.e. dépolarisée) au dessus de son seuil, une propagation est déclenchée sans la nécessité d'une autre stimulation. C'est ce qui est défini par la loi du tout ou rien. Cette propagation correspond, en réalité, à un mouvement d'ions ou ce que l'on désigne aussi par le potentiel d'action (PA). Le mouvement des ions se fait à travers des canaux qui sont activés par des portes caractéristiques des cellules. La génération du potentiel d'action ou le mouvement d'ions crée une différence de charge entre l'intérieur et l'extérieur de la membrane, ce qui conduit à une dépolarisation locale de la membrane, tel que montré à la Figure 1.2.

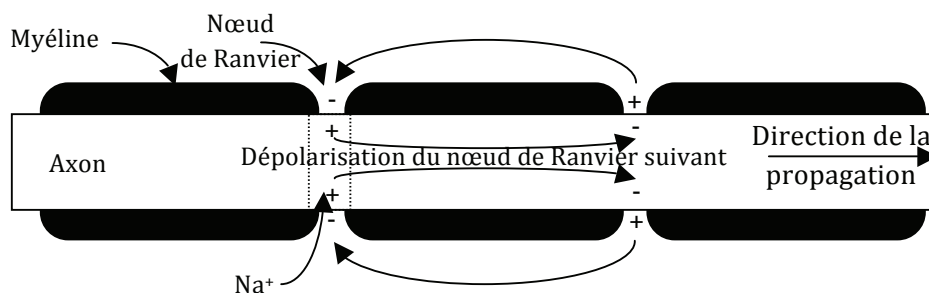


Figure 1.2 Principe de propagation du potentiel d'action

Le potentiel d'action est généré dès qu'une stimulation atteint le seuil minimal de conduction d'une cellule pour le déclenchement du PA. Ainsi, peu importe la puissance de la stimulation, le PA est le même une fois que le seuil est dépassé. La vitesse de propagation du PA dans un axone myélinisé est de 120 m/s, ce qui est 20 fois supérieur à la vitesse dans un axone non myélinisé. De plus, le PA ne peut être généré qu'au niveau du nœud de Ranvier, ce qui correspond à l'endroit où l'axone n'est pas couvert par une couche de lipide appelée myéline. Le rôle de cette couche de myéline est d'augmenter la vitesse de propagation du PA. Son absence peut aboutir à une défaillance du système immunitaire de sorte que le PA ne peut plus se propager dans le système nerveux, ce qui provoque la sclérose en plaque.

Cependant, pour différencier la puissance du stimuli, d'autres méthodes peuvent être

utilisées comme :

- Le nombre de cellules nerveuses activées par la stimulation.
- La fréquence du PA : en effet plus le stimulus est puissant, plus la fréquence du PA est élevée. Par fréquence, nous faisons référence à la vitesse de génération du PA.

1.2 Motivations

Les cellules neuronales sont connectées avec leurs cellules cibles à travers les synapses. Ces connexions ne sont pas directes. L'espace séparant les neurones de leurs cibles est de l'ordre de deux dizaines de nanomètres. Cet espace délimite en fait deux régions qui représentent l'émetteur et le récepteur. Du côté émetteur, le neurone est appelé cellule pré-synaptique, alors que du côté récepteur, il est appelé cellule post-synaptique. Pour assurer la propagation du signal électrique entre le neurone et sa cellule cible, des neurotransmetteurs permettent d'assurer la jonction entre les cellules pré et post-synaptiques. Cette transmission se passe à travers des canaux qui libèrent ces molécules du côté de la cellule pré-synaptique. À titre d'exemple, l'un des neurotransmetteurs responsables de cette transmission pour l'activation musculaire est l'acétylcholine ou la norépinephrine.

Prenons un exemple d'une terminaison neuronale au niveau du plasma. Supposons qu'une impulsion se propage dans un neurone. Arrivée au niveau de la cellule pré-synaptique, l'impulsion provoque la diffusion des ions Ca^{2+} à l'intérieur de cette cellule. L'augmentation de la concentration des Ca^{2+} provoque la libération des neurotransmetteurs. Ces derniers traversent l'espace inter-cellulaire pour se placer au niveau des récepteurs de la cellule post-synaptique. Les neurotransmetteurs peuvent avoir deux effets sur la cellule post-synaptique : Un effet excitateur et un effet inhibiteur. Dans le cas d'une excitation, les neurotransmetteurs activent l'ouverture des canaux permettant le passage des cations et ainsi une augmentation du potentiel qui facilite la propagation d'un PA dans la cellule post-synaptique. Dans le cas d'une inhibition, les neurotransmetteurs activent l'ouverture des canaux permettant le passage des anions, ce qui provoque une hyperpolarisation de la cellule et rend ainsi la propagation du PA plus difficile. Les neurotransmetteurs gamma-aminobutyric (GABA) sont un exemple d'inhibiteurs.

Dans le cas de la membrane du plasma, la propagation du PA est contrôlée par la diffusion des cations Na^+ à l'intérieur de la cellule. Ainsi, une hyperpolarisation implique un potentiel plus négatif qui nécessitera une compensation plus élevée par les Na^+ . La Figure 1.3 montre une connexion neuronale et le principe de communication par l'intermédiaire de neurotransmetteurs.

La plupart des neurones reçoivent, en même temps, des neurotransmetteurs inhibiteurs

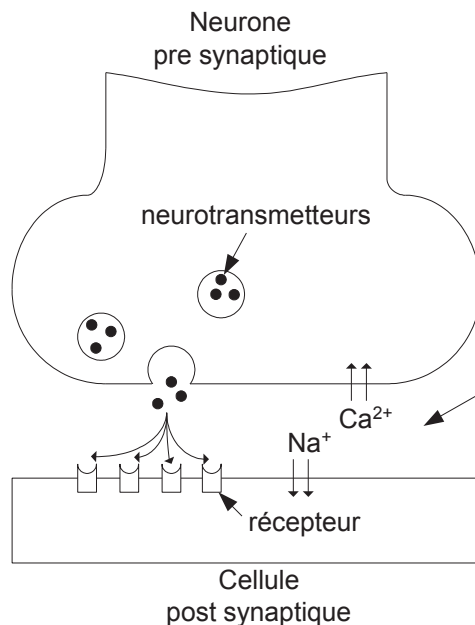


Figure 1.3 Transmission des neurotransmetteurs

et excitateurs. Les neurotransmetteurs sont caractérisés par une durée de vie très courte. Le recyclage des neurotransmetteurs se fait par l'intermédiaires des protéines. En effet, ils sont d'abord collectés par des protéines dans le milieu inter-neuronal puis ils sont ramenés à la terminaison pré-synaptique après avoir été détruits par des enzymes. C'est pour cela que l'effet d'une impulsion ne dure que quelques millisecondes. Un dysfonctionnement de l'élimination des neurotransmetteurs peut avoir un effet néfaste. En effet, ceci induit une impulsion de longue durée. Imaginons que l'acétylcholine n'est pas détruit et sachant que l'acétylcholine provoque une contraction musculaire, par conséquent, il s'ensuivra de violentes contractions du muscle. Un autre exemple consiste en la dopamine qui est un neurotransmetteur qui conditionne l'humeur de la personne et qui se trouve localisé au niveau du système limbique. Certaines drogues peuvent agir sur ce neurotransmetteur en rendant son effet plus permanent.

1.3 Détection des neurotransmetteurs

La principale difficulté technique consiste en la coexistence de plusieurs types de neurotransmetteurs dans le cortex. Observation qui contredit le principe de Dale qui stipule que chaque neurone ne transmet qu'un seul neurotransmetteur et qui aurait, s'il s'était avéré correct, facilité énormément les techniques de détection (Brownstein *et al.*, 1974). Chacun des neurotransmetteurs assure une fonction particulière, mais ils peuvent intervenir dans diverses maladies et fonctions cérébrales. Ainsi, il est important de différencier entre la fonction du

neurotransmetteur et son action. En réalité, la transmission nerveuse résulte d'une combinaison entre neurotransmetteurs inhibiteurs et excitateurs, tel que représenté à la Figure 1.4, ce qui rend leur détection encore plus difficile.

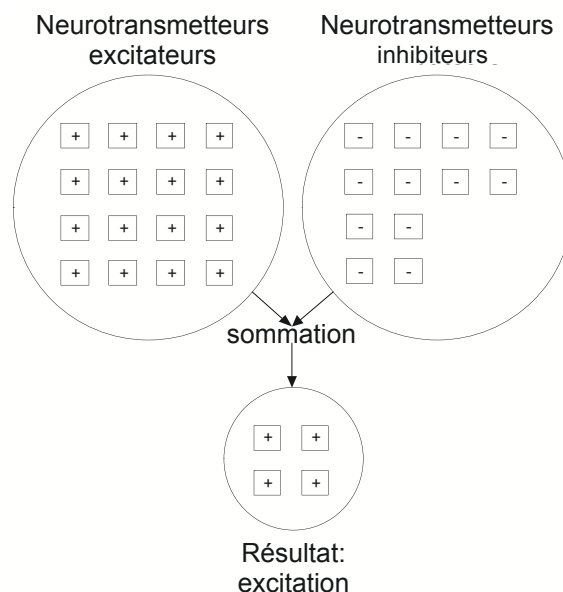


Figure 1.4 Principe d'action de neurotransmetteurs

Parmi les méthodes de détection de la dopamine, nous citons par exemple la spectrophotométrie, les méthodes basées sur la fluorescence, la luminescence chimique, la polarographie et l'électrophorèse capillaire (Ghallab et Badawy, 2004). Cependant, la dopamine qui est un neurotransmetteur monoamine ne figure pas dans la zone de couverture de la spectrométrie et donc l'utilisation des techniques basées sur l'effet fluorescent se trouvent compromise. Par contre, l'une des méthodes les plus utilisées consiste en l'utilisation des électrodes de fibres de carbone dont le schéma est présenté à la Figure 1.6 (Zhang *et al.*, 2003).

Cette technique utilise un filtre perméable aux neurotransmetteurs dopamine ainsi que des électrodes permettant de détecter la présence ou l'absence de ces neurotransmetteurs. Le filtre est utilisé pour bloquer le passage du glucose qui coexiste souvent avec la dopamine. L'un des avantages de cette technique est d'augmenter la sélectivité. Son inconvénient est que le filtre reste perméable à plusieurs substances dont la dopamine. Nous pouvons remarquer à la Figure 1.5 que le courant est extrêmement faible, de l'ordre de 10 nA (au niveau du pic de la DOPAC) et de presque 5 nA au niveau de la DA.

Quant aux neurotransmetteurs GABA, ils sont plus difficiles à détecter, bien que plusieurs méthodes ont été développées pour cette fin. Cependant, la détection ne se fait pas directement pour les raisons suivantes :

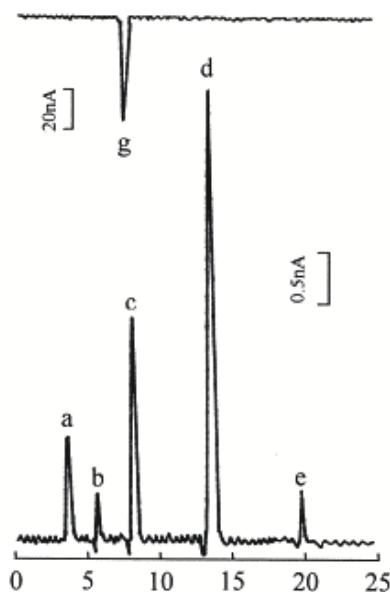


Figure 1.5 Chromatogramme de (a) NE ; (b) E ; (c) DA ; (d) DOPAC ; (e) 5-HT ; (g) glucose (Zhang *et al.*, 2003), reproduction autorisée

- Ils ne sont pas fluorescents ;
- Ils ne sont pas électroactifs.

Pour remédier à ce problème, il s'avère nécessaire de traiter les neurotransmetteurs GABA pour les rendre réactifs.

En conclusion, pour détecter les neurotransmetteurs, il n'existe pas à date une méthode universelle. Ainsi, dans la section suivante, nous explorerons plusieurs autres techniques de détection qui peuvent être utilisées pour cette fin. Nous aborderons également les avantages et les inconvénients de chaque technique.

1.4 Mise en contexte

Les neurotransmetteurs sont libérés à partir de vésicules synaptiques. Le diamètre approximatif d'une vésicule est de 50 nm et il contient approximativement 10000 neurotransmetteurs (Purves *et al.*, 2001). D'autre part le diamètre d'un neurotransmetteur est de l'ordre de quelques nanomètres probablement. Autrement, pour pouvoir quantifier les neurotransmetteurs avec une précision très élevée, il faut que l'espace entre les électrodes soit du même ordre de grandeur qu'un neurotransmetteur. Une telle approche est irréalisable avec les techniques de conception des microsystèmes actuels parce que cela implique un contrôle d'un grand réseau de structures nano-métriques adressées individuellement. Par ailleurs la DEP qui consiste en la manipulation des particules par champs électrique est principalement défini

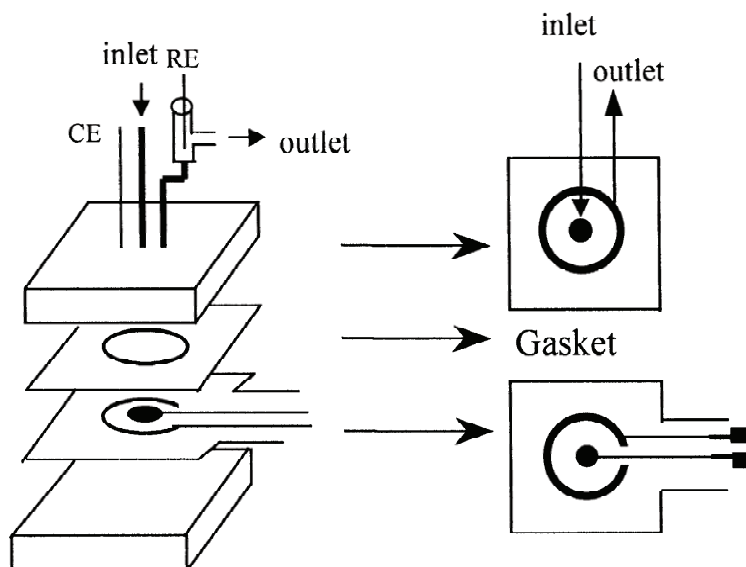


Figure 1.6 Électrodes de fibres de carbone pour la détection de la dopamine (DA) (Zhang *et al.*, 2003), reproduction autorisée

par le facteur Clausius-Mossotti. Ce dernier est à son tour défini par deux principaux paramètres qui sont la permittivité de la particule à manipuler et du milieu. Ainsi deux approches sont envisageables en utilisant la DEP :

1.4.1 Manipulation des neurotransmetteurs

Si on suppose que la particule en question est le neurotransmetteur, cela implique une connaissance de la permittivité d'une seule molécule en plus de l'homogénéité du milieu. Or la permittivité des neurotransmetteurs n'est pas facilement identifiable et le milieu n'est pas homogène puisque plusieurs neurotransmetteurs coexistent ensemble. Ainsi la possibilité de manipuler un seul neurotransmetteur parmi d'autres demeure irréalisable pour le moment étant donné les limitations technologiques.

1.4.2 Manipulation des microsphères artificielles

Une deuxième approche consiste à utiliser des microsphères artificielles de dimensions suffisamment importantes par rapport aux neurotransmetteurs de sorte qu'on peut supposer que le milieu dans lequel beigne les microsphères est homogène. Rappelons que ce milieu est composé de LCS. Nous avons ainsi restreint cette recherche aux microsphères observables au microscope optique sans la nécessité de la fluorescence pour faciliter les manipulations. La dimension approximative des plus petites microsphères utilisées est de 500 nm, qui est

environ 50 fois plus grande que les plus grands neurotransmetteurs. Dans ce cas, on peut supposer que l'effet des neurotransmetteurs se limitera à la permittivité et la conductivité du milieu uniquement et qu'elle aura très peu d'impact sur les microsphères. Nos travaux de recherche consistent donc à pouvoir identifier le centre de masse d'un nuage de microsphères artificielles de dimensions variant entre 500 nm et 4 μm dépendamment de la conductivité du milieu dans un dispositif miniaturisé nécessitant quelques pico-litres de liquide opérant avec des tensions les plus petites possibles en vue de l'implanter dans le cerveau dans une prochaine étape. Cela suppose que les microsphères artificielles auront une identité fréquentielle propre dépendamment de la conductivité et permittivité du milieu. Ainsi, cette méthode proposée mènera à une mesure indirecte de la conductivité et permittivité de la solution à travers l'identification fréquentielle des microsphères. L'identité fréquentielle est définie par la fréquence de passage de la diélectrophorèse négative à positive ou inversement. Cette fréquence est liée au facteur Clausius-Mossotti. La mesure de la conductivité de la solution est à son tour liée à la concentration des neurotransmetteurs.

1.5 Techniques de détection et de manipulation

1.5.1 Magnétophorèse

Avec le développement des techniques de microfabrication avancées pour la microfluidique, la magnétophorèse demeure une approche intéressante. La magnétophorèse consiste à introduire des nanoparticules dans les cellules à étudier pour les marquer (Pamme et Wilhelm, 2006; Tanase *et al.*, 2005). Par la suite, les cellules sont injectées dans une architecture microfluidique dans laquelle un filtre est incorporé. Un champ magnétique est appliqué dans ou sur le LsP pour faire dévier uniquement les cellules marquées par les nanoparticules. Malgré des résultats prometteurs, cette technique présente des inconvénients pour des dispositifs implantables :

- Le coût de l'équipement nécessaire pour réaliser tout le dispositif est élevé.
- Le temps de l'analyse cellulaire se trouve allongé à quelques heures, ce qui va à l'encontre des LsP, où l'on cherche à réduire le temps de détection et de la manipulation cellulaire.
- Le risque d'endommager les cellules est élevé à cause de l'introduction des nanoparticules.
- La nécessité d'un prétraitement avec des marqueurs fluorescents.

Ces inconvénients rendent cette technique difficilement intégrable dans un LsP. À titre d'exemple dans (Pamme et Wilhelm, 2006), les auteurs proposent une nouvelle technique basée sur la magnétophorèse. Les dispositifs qu'ils ont développés, ont nécessité la génération d'un champ magnétique avec du NdFeB ayant une épaisseur de 10 mm et un diamètre de

20 mm, ce qui demeure élevé. Le principe étant de pouvoir séparer des particules par champ magnétique dépendamment de leurs propriétés magnétiques.

La manipulation magnétique des cellules peut aussi se faire indirectement en utilisant des nanotubes (Tanase *et al.*, 2005). En effet, au lieu de manipuler les cellules, on injecte des nanotubes dans des microcanaux et on contrôle leur orientation. Ainsi, les nanotubes jouent le rôle de portes qui laissent passer ou bloquent les cellules magnétisées. Toutefois, cette technique nécessite des équipements trop volumineux pour être implantable.

1.5.2 Méthode optique

Plusieurs techniques ont recours à la méthode optique pour la manipulation cellulaire ou l'utilisent comme un complément à une autre méthode comme la magnétophorèse. Dans cette section, nous présentons l'approche optique basée sur la fluorescence.

L'une des méthodes les plus répandues est la FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorter), représentée à la Figure 1.7 (Ghallab et Badawy, 2004). Pour assurer la détection et la manipulation, cette méthode consiste à injecter des marqueurs fluorescents dans les cellules cibles. Ces dernières passent dans une chambre exposée à un rayon laser. Suite à ce passage, les cellules marquées émettent des rayons lumineux qui sont détectés par des composants optoélectroniques. Par la suite, un signal est envoyé à un système de déviation par champ électrique qui ne fait dévier que les cellules marquées. Pour atteindre une très bonne précision, la FACS procède à un échantillonnage par vibration. En effet, un cycle de vibration avec une vitesse de 40000 cycles permet d'échantillonner le liquide en des gouttes extrêmement petites, ce qui réduit le facteur d'erreur de la machine.

L'intégration de cette technique dans un LsP a donné naissance à la micro FACS (μ FACS) (Tanase *et al.*, 2005). Les avantages de la μ FACS sont sa précision et sa sélectivité élevées. Cependant, son principal inconvénient est la nécessité d'injecter des marqueurs fluorescents, son coût élevé ainsi que la complexité du mode opératoire, ce qui n'est pas très souhaitable pour un LsP.

1.5.3 Diélectrophorèse (DEP)

La DEP est due principalement à la polarisation électrique différentielle des cellules et du milieu dans lequel elles se trouvent (Masuda *et al.*, 1987; Pohl et Kaler, 1979; Li et Kaler, 2002). Ces cellules peuvent être soit attirées (pDEP) soit repoussées (nDEP) par le champ électrique E dépendamment de leurs polarités, tel que montré à la Figure 1.8.

Il est primordial de différencier entre deux phénomènes importants :

- L'électrophorèse qui fait suite à l'application d'un champ électrique uniforme.

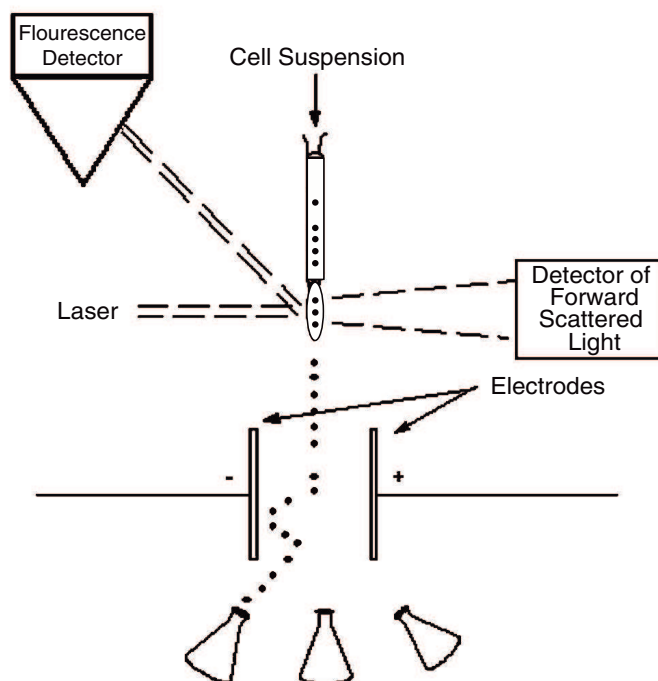


Figure 1.7 Représentation schématique de la FACS (Ghallab et Badawy, 2004), reproduction autorisée

– La diélectrophorèse qui fait suite à l’application d’un champ électrique non uniforme.

Dans le cas de la diélectrophorèse, il y a une interdépendance entre le champ électrique appliqué, la forme des électrodes, l’architecture microfluidique, les dimensions de la particule à manipuler et la tension appliquée. De plus, cette technique s’applique pour n’importe quelle particule, qu’elle soit chargée ou neutre. Aussi, la diélectrophorèse est dépendante de :

- La masse.
- La charge.
- L’uniformité du champ électrique surtout lors de l’utilisation des électrodes planaires.

Cependant, la DEP conventionnelle nécessite l’utilisation de tensions très élevées de l’ordre du kV ce qui n’est pas adapté à des dispositifs miniaturisés et implantables. Ainsi, des architectures d’électrodes planaires permettent de réduire l’amplitude des tensions à appliquer sur les électrodes pour générer le champ électrique adéquat dépendamment de la distance entre les électrodes. En théorie, la diélectrophorèse génère un spectre fréquentiel caractéristique de chaque cellule étudiée, permettant ainsi d’effectuer les séparations adéquates et l’identification des cellules. Ainsi, la diélectrophorèse a suscité beaucoup d’intérêt et a été souvent associée à d’autres techniques utilisées avec différents matériaux.

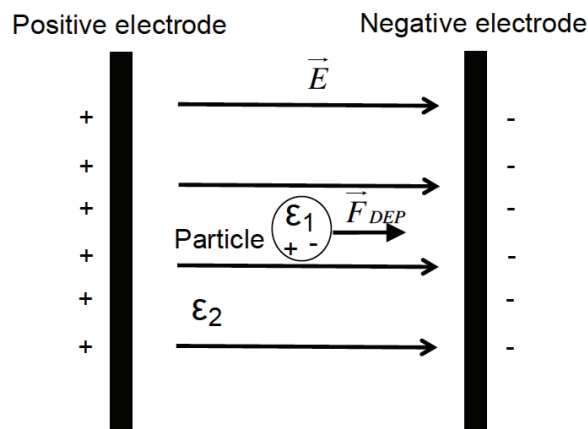


Figure 1.8 Principe de séparation des particules par DEP, E étant un champ électrique non uniforme

1.5.4 Autres méthodes de détection

L'utilisation des transistors "ISFET" demeure parmi les techniques de détection les plus anciennes (Ghallab *et al.*, 2003; Wong et White, 1989). Le principe de cette technique consiste à capturer les molécules présentes dans une solution selon leur pH. Elle est efficace pour des solutions homogènes, mais s'avère inappropriée pour des solutions hétérogènes. La technologie des ISFETs a, initialement, été développée pour connecter la microélectronique à la biologie. Ceci dit, intégrer un ISFET dans un LsP est réalisable, mais exige un traitement de surface préalable et une circuiterie complexe.

Quant à la détection capacitive, elle se base sur la technique de charge et décharge communément connue sous le nom de CBCM (Charge Based Capacitive Measurement). Cette technique permet de mesurer la variation de la capacité entre les électrodes, cependant sa sélectivité demeure limitée. En effet, à date, il n'y a pas de résultats concluants dans la littérature quand à l'efficacité de cette technique d'un point de vue sélectivité (Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008b).

D'autres méthodes existent pour la détection biologique comme les nanoprobés, les MEMS (Micro Electro Mechanical System) et NEMS (Nano Electro Mechanical System). Le problème majeur de ces méthodes est qu'elles sont souvent associées à un autre système de commande et de contrôle encombrant pour un LsP (Zhou et Muthuswamy, 2004; Jang *et al.*, 2007; Kakushima *et al.*, 2001).

1.6 Conclusion

Parmi toutes les techniques de manipulation que nous avons présentées, la diélectrophorèse est la méthode la plus appropriée pour être intégrée dans un LsP. En effet, la validité théorique de la DEP est déjà démontrée. Elle ne nécessite pas une circuiterie encombrante et est peu coûteuse. Concernant la détection, notre choix s'est porté sur la détection capacitive vu sa sensibilité et sa précision très élevées. En plus, cette technique est hautement intégrable dans les LsP. Enfin, il importe de mentionner que dans ce chapitre nous avons présenté les approches de manipulation et détection les plus répandues.

CHAPITRE 2

Revue de littérature

Les microsystèmes électromécaniques (MEMS) ont déjà une certaine maturité en tant que technologie. Ils ont émergé dans les années soixante et se sont répandus dans une variété de produits couramment utilisés tels que les téléviseurs haute-définition ou les coussins gonflables de sécurité, ainsi que dans un grand nombre d'applications telles que les téléphones intelligents actuels ou les contrôleurs de jeux vidéo. En raison de leur taille et de la facilité de les fabriquer à faible coût et à faible consommation d'énergie, les MEMS ont révolutionné de nombreux aspects de l'électronique grand public.

Plus récemment, une nouvelle branche de MEMS a émergé. Il s'agit des systèmes Biomicroélectromécaniques (BioMEMS) (Ghallab et Badawy, 2005; Lee *et al.*, 2007b; Becker *et al.*, 1995) qui sont des dispositifs plus orientés vers les applications médicales et biomédicales, telles que le dépistage des maladies, le séquençage de l'ADN ainsi que la séparation et l'analyse d'échantillons biologiques. En effet, les BioMEMS sont, en partie, destinés au contrôle et à la manipulation de très petites quantités de fluides ou d'entités biologiques à l'échelle micrométrique, éliminant par le fait même, la nécessité d'équipements médicaux coûteux et encombrants (Ghallab et Badawy, 2010; Burleson *et al.*, 2012; Strambini *et al.*, 2012). Le glucomètre pour les patients diabétiques est un bon exemple de l'utilisation des BioMEMS (?).

Cependant, la part du marché global des BioMEMS est encore faible par rapport à d'autres dispositifs médicaux, et ce, malgré le nombre de leurs applications possibles. Toutefois, des études prédisent une forte expansion industrielle des BioMEMS dans les années à venir. En effet, selon le rapport de Yole (Breussin, 2010), le marché des BioMEMS devrait croître de 18,6 %, 24,6 % et 32,5 % dans la recherche pharmaceutique et biologique, les diagnostics *in vitro* et les dispositifs médicaux, respectivement. Aussi, il y a d'importants marchés localisés aux Etats-Unis et en Europe avec 40 % et 33 % de la part du marché mondial, respectivement. Ce marché de dispositifs médicaux est estimé à 267 B\$ alors que la part des BioMEMS dans ce même marché se limite à 512 M\$ (Roussel, 2013).

Dans ce contexte, le temps de mise sur le marché est considéré comme une contrainte importante pour les BioMEMS. En effet, la fabrication de tels dispositifs peut nécessiter beaucoup de temps étant donné qu'on ne dispose pas de méthodes de modélisation standards comme dans le cas des puces microélectroniques. C'est ainsi que plusieurs travaux de recherche se sont consacrés à développer des méthodes de modélisation dédiées aux BioMEMS

(Teymoori et Abbaspour-Sani, 2005; Korsmeyer *et al.*, 2004; Trebotich *et al.*, 2002; White, 2004).

Dans ce chapitre, nous allons tout d’abord, présenter un bref aperçu sur l’évolution des dispositifs médicaux vers les laboratoires sur puce ainsi que la revue de littérature associée. Par la suite, nous allons découvrir davantage les différents travaux effectués dans le domaine de la modélisation des BioMEMS, moyennant une recherche bibliographique plus détaillée.

2.1 Évolution des dispositifs médicaux vers les LsP et les défis de la miniaturisation

Les dispositifs médicaux implantables nécessitent une attention particulière vu l’impact majeur qu’ils peuvent avoir sur la santé des patients, particulièrement les dispositifs qui sont placés au niveau du cortex cérébral. Dans la majorité des cas, ces derniers sont composés d’électrodes de stimulation et de mesure de l’activité électrique, tel que montré à la figure 2.1. Dans le cas de la stimulation, les électrodes nous permettent d’avoir des résultats de plus en plus fiables tel que mentionné dans (Coffey, 2009). Par contre dans le cas de la mesure de l’activité électrique, les résultats obtenus par les électrodes restent tout de même au niveau de la recherche et ne peuvent pas être généralisés.

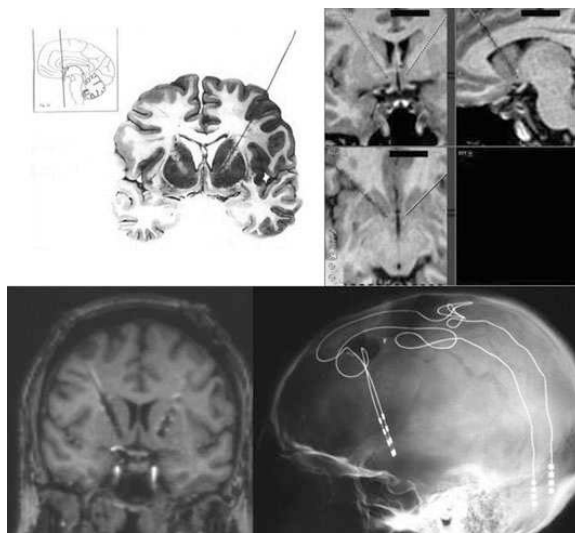


Figure 2.1 Exemple d’implantation d’électrodes de stimulation dans le cerveau (Coffey, 2009), reproduction autorisée

Ceci dit, les dispositifs implantables à base d’électrodes présentent plusieurs limites. Dans (Farris *et al.*, 2008), les auteurs rapportent que des électrodes implantées chez 922 patients ont en moyenne 5% de défaillances dues à un bris dans l’assemblage de l’implant. De plus,

15% des 800 dispositifs implantés dans le cerveau se sont déplacés de leur zone d'implantation et 4.8% montrent une défaillance matérielle à plusieurs niveaux.

Par ailleurs, l'objectif de tout le dispositif médical implanté est soit de détecter un dysfonctionnement ou de surveiller l'activité biologique. Or, les mesures obtenues avec des électrodes implantées dans le tissu sont assujetties à plusieurs critiques, notamment la fiabilité de l'information obtenue par rapport au phénomène biologique observé. En effet, les données enregistrées au niveau du cortex dépendent de ces électrodes. Ainsi, les mesures obtenues peuvent contenir deux informations : celles liées aux signaux électriques qui se propagent dans le cerveau et celles dues au développement des tissus périphériques à l'implant. À titre d'exemple, dans le cas d'un dysfonctionnement du à un déséquilibre de la concentration moléculaire (neurotransmetteurs) dans la zone de l'implant, les signaux détectés par les électrodes résultent de deux phénomènes : L'un est lié à un déséquilibre moléculaire due à une maladie ou à un dysfonctionnement biologique et un autre lié à la perturbation engendrée par l'implantation des électrodes, ce qui ne permet pas de faire un lien directe entre la perturbation de la concentration des neurotransmetteurs et des signaux détectés.

Dans la littérature, plusieurs travaux de recherche axés sur l'interface cerveau-machine ont été entrepris pour la stimulation électrique ou l'enregistrement de l'activité neuronale. La plupart des dispositifs développés utilisent comme interface des électrodes pour récupérer des signaux électriques dans les tissus biologiques, mais aucune information liée à l'activité chimique ou moléculaire n'est détectée directement. Bien que les signaux électriques se propageant dans le cerveau sont étroitement liés à la propagation des neurotransmetteurs, les données recueillies ne permettent en aucun cas de confirmer cette corrélation. Ceci est du au manque de connaissances concernant la variation de la concentration des neurotransmetteurs dans le cerveau. En effet, le fait d'insérer des électrodes dans le cerveau déclenche des mécanismes de protection qui provoquent une microinfection localisée chez plusieurs patients (Yousif *et al.*, 2008; Nelson et Pouget, 2010) qui engendre à son tour une perturbation de la propagation des neurotransmetteurs.

Les LsP constituent ainsi une nouvelle voie à explorer pour remédier aux limites des dispositifs actuels. En effet, le LsP est une voie de recherche très active. Des fonctions particulières ont déjà été réalisées avec succès. Cependant, l'intégration complète d'un dispositif de micro analyse demeure encore dans sa phase de prototypage, car les défis de la miniaturisation sont nombreux.

Plusieurs travaux de recherche ont proposé différentes architectures compactes d'un LsP. Cependant, vue la diversité des composants du LsP, chaque élément (microfluidique, micro-électronique ou biologique) peut avoir un impact sur le comportement global du LsP. À titre d'exemple, (Xie *et al.*, 2009) propose un LsP qui permet de mesurer l'impédance des bulles

d'air, ce qui nécessite une architecture et une encapsulation particulière pour éviter toute interférence mécanique ou électrique (Xie *et al.*, 2009). Un des problèmes qui peut surgir dans une telle configuration est l'apparition des bulles d'air indésirables lorsqu'on fait des mesures capacitives sachant que la distance entre les électrodes est très petite et qu'elles sont en contact directe avec le liquide. Dans ce cas particulier, les électrodes injectent un courant qui provoque l'hydrolyse de l'eau et génère des bulles d'air secondaires.

D'un autre côté, l'encapsulation des différents composants d'un LsP représente un défi majeur. (Lee *et al.*, 2006) introduit une nouvelle technique d'encapsulation, connue sous le nom "Biolab sur circuit intégré" pour des applications utilisant le champ magnétique pour la manipulation des particules magnétisées. L'architecture microfluidique est fabriquée avec du PDMS et placée directement sur le circuit intégré (Lee *et al.*, 2006; Howlader *et al.*, 2006). Cependant, cette approche suscite encore beaucoup de questionnements d'un point de vue biologique. La principale question réside dans l'utilité d'intégrer la partie microfluidique directement sur la puce microélectronique. Le fait est que d'un point de vue biologique, l'emphasis est plutôt mise sur le côté application et donc la manipulation biologique et non sur l'intégration de tout le système en une seule pièce. L'inconvénient majeur de cette technique est la nécessité de post-traitement sur la puce microélectronique pour pouvoir déposer l'architecture microfluidique et faire les manipulations biologiques. D'un autre côté, les auteurs dans (Han et Frazier, 2005), ont soulevé les aspects de fiabilité de l'assemblage et l'intégration de systèmes microfluidiques, en tenant compte de la taille du système, la transparence et la connectivité des microcanaux aux dispositifs de tests externes.

De plus, la miniaturisation des dispositifs et la diminution de la consommation d'énergie qui en découle nécessite plusieurs nouvelles considérations dépendamment de l'application. Par exemple, dans le cas des LsP utilisant la diélectrophorèse, diminuer la consommation d'énergie revient à diminuer la tension appliquée pour générer les forces diélectrophorétiques, ce qui a engendré plusieurs travaux de recherche dans cette direction (Wake et Brooke, 2007; Miled *et al.*, 2010; Roh *et al.*, 2010; Hu et Sawan, 2002; Tsang *et al.*, 2007). Aussi, l'utilisation des basses tensions dans le cas de la diélectrophorèse a abouti à l'intégration de la circuiterie électronique sur des puces microélectroniques. C'est ainsi que des auteurs (Wake et Brooke, 2007) ont proposé une manipulation électrophorétique avec une tension de 5 V basée sur une puce CMOS en utilisant 100 électrodes où chaque électrode peut être utilisée à la fois pour la manipulation et la détection. D'un autre côté, Modéro et al. ont présenté une manipulation diélectrophorétique avec une tension de 6.6 V en utilisant une puce CMOS (Medoro *et al.*, 2007). Ces deux derniers travaux de recherche se concentrent sur l'intégration de tout le concept LsP sur une même puce microélectronique. Les deux systèmes sont basés sur des architectures reconfigurables pour traiter individuellement chaque électrode. Bien que ces

techniques présentent plusieurs avantages, il est important de mentionner que la technologie CMOS n'a pas été initialement développée pour les manipulations biologiques, ce qui implique un processus post-fabrication pour l'encapsulation.

La fabrication des LsP a aussi amené des défis pour réduire la dimension des électrodes. En effet, plusieurs nouvelles techniques de microfabrication ont vu le jour. Par exemple, en utilisant la photolithographie, la gravure à sec ou la nano-impression, la fabrication des structures microfluidiques complexes et des électrodes est devenue plus abordable pour atteindre des électrodes de dimensions micro ou nanométriques. En fait, la diminution des dimensions des électrodes nous permet d'appliquer des tensions de faibles amplitudes pour générer un champ électrique élevé et par conséquent, des forces électrophorétiques et diélectrophorétiques importantes pour la séparation et la manipulation des particules tel que mentionné dans (Masuda *et al.*, 1987; et al., 1998).

Tableau 2.1 Comparaison entre différentes techniques de manipulation cellulaire

Ref	SsP ou SNI	Dimensions de la particule	Technique	Limitations
(Talary et Pethig, 1994)	SNI	cellules de levure	Technique optique par spectrométrie à double faisceaux	Beaucoup d'espace, coûteuse, complexe, non intégrable directement
(Eyal et Quake, 2002)	SsP et SNI	$2.5\mu m$	Marquage fluorescent	Modification des cellules par le marquage, coûteuse, nécessite beaucoup d'espace et complexe à manipuler
(Fuller <i>et al.</i> , 2000)	SNI	$8.2\mu m$	Mesures d'impédance	Non intégrable sur une architecture microfluidique
(Medoro <i>et al.</i> , 2003)	SsP avec PCB	$3.4\mu m$	LsP à base de CMOS et PCB	LsP basé sur des PCB
(Ahmadi et Jullien, 2009)	SsP ou SNI	Glucose	Biocapteur du glucose	Dédié à la détection du glucose
(Pamme et Wilhelm, 2006)	SsP ou SNI	Cellules de tumeurs	Magnetophorèse	Nécessite beaucoup d'espace et du marquage

2.2 Principaux travaux de recherche pour l'intégration des LsP

Vu la grande diversité des architectures de LsP, nous décrivons dans cette section les principaux travaux de recherche des LsP ainsi que les différents modules constituant un LsP et utilisés dans le cadre des travaux de cette thèse.

2.2.1 Méthodes de manipulation des particules dans des LsP

Dans la littérature, plusieurs travaux (Heer *et al.*, 15 Sept. 2004; Wake et Brooke, 2007, 2008; Ghafar-Zadeh *et al.*, 2010; Ahmadi et Jullien, 2009) ont abordé la conception d'un système hybride pour la manipulation des cellules et la détection capacitive à travers des LsP. Ces derniers contiennent des électrodes dans des microcanaux dans un système microfluidique commandé par un circuit microélectronique. L'objectif principal de ces travaux est de manipuler des cellules en utilisant la diélectrophorèse, par le biais d'une puce CMOS qui génère un champ électrique avec des tensions de faibles amplitudes. En effet, en utilisant la diélectrophorèse, il est plus facile d'intégrer tout le système sur puce. La partie contrôle et commande d'un tel système peut être réalisée dans un circuit intégré dédié, ce qui implique une intégration plus facile pour le LsP contrairement à d'autres techniques telles que la manipulation magnétophorétique (Pamme et Wilhelm, 2006; Tanase *et al.*, 2005) ou d'autres manipulations optique (Blanco *et al.*, 2006). le Tableau 2.1 présente une comparaison entre les principales techniques de manipulation des cellules. Les manipulations par magnétophorèse ou optiques intégrées sur une puce CMOS, nécessitent un système de conversion des signaux électriques en un champ magnétique ou la conversion d'un effet optique en un signal électrique. Ces conversions, bien que réalisables, nécessitent une étude approfondie pour un bon rendement.

De plus, la diélectrophorèse est basée sur des signaux électriques qui sont appliqués directement sur les électrodes, ce qui réduit la complexité du LsP (Wang *et al.*, 1996) tout en ayant une manipulation cellulaire efficace tel que présenté par (Manaresi *et al.*, 2003; Medoro *et al.*, 2007). En effet, ces auteurs ont proposé une technique de capture de particules par diélectrophorèse en créant une cage diélectrophorétique (Manaresi *et al.*, 2003). Cette technique implique la génération d'un champ électrique en appliquant deux signaux déphasés de 180° avec une amplitude de 3.3 V et le tout distribué à travers un réseau d'électrodes carrées sur une puce CMOS.

Une autre technique consiste à appliquer trois signaux déphasés de 90° sur des électrodes planaires pour déplacer des cellules dans une direction donnée (Li et Kaler, 2002; Kua *et al.*, 2008). En outre, la DEP peut être appliquée à la séparation d'ADN (Mayer *et al.*, 1994), ce qui rend cette technique très polyvalente. Les tableaux 2.2 et 2.3 mettent en évidence l'utilisation

de la diélectrophorèse dans différentes applications dépendamment des substances étudiées.

2.2.2 Architecture des LsP

Un LsP contient principalement deux éléments importants qui sont la manipulation et la détection. Bien que des recherches intensives sont entreprises pour développer des biocapteurs très élaborés avec une sensibilité élevée, la partie manipulation n'a pas été traitée avec autant d'intérêt. Cela est dû au fait qu'il est plus facile d'intégrer un circuit de détection sur une puce microélectronique sans la nécessité de faire un traitement post-fabrication.

D'autre part, l'inconvénient des biocapteurs est qu'ils dépendent du système de manipulation, des caractéristiques des cellules et de la solution injectée. Par exemple, dans le cas de capteurs capacitifs, une solution ayant une conductivité élevée peut fausser la mesure de l'électrode capacitive. En plus, l'utilisation de PDMS peut affecter les mesures à base de fluorescence. En outre, la concentration de cellules à étudier influe sur la performance de détection. Dans ce sens, beaucoup de travaux ont été faits pour améliorer la sensibilité du circuit microélectronique pour détecter quelque femtofarads de variation (Prakash et Abshire, 2008). Par conséquent, la détection capacitive reste l'une des meilleures méthodes de détection à condition que la solution injectée ne soit pas hautement conductrice ou bien que les électrodes ne soient pas en contact direct avec la solution. Un exemple de capteur capacitif est celui qui se base sur la charge et décharge de capacité communément connu sous le nom "charge based capacitive measurement" (CBCM) (Sylvester *et al.*, 1997) qui a une sensibilité et une précision élevées. Cette technique a été étudiée par plusieurs chercheurs (Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008b; Ghafar-Zadeh et Sawan, 2007) qui ont conçu un circuit CBCM avec une sensibilité de 1 mV/fF sur une puce CMOS. En outre, étant donné le potentiel d'intégration élevé de la CBCM, une autre étude que nous avons réalisé a démontré que l'utilisation de la CBCM avec des transistors fonctionnant sous la tension de seuil (subthreshold) permet d'améliorer à la fois la consommation d'énergie et la sensibilité (Miled et Sawan, 2008).

Dans le cas de la manipulation des particules par diélectrophorèse, la solution que nous utilisons est l'ACSF. La conductivité de cette dernière est élevée ($\sigma = 1.65 \text{ S/m}$, $\rho = 0.60 \text{ } \Omega.m$) ce qui nécessite un étage de sortie qui joue le rôle d'un tampon pour pouvoir délivrer assez de courant pour une faible charge résistive (?). Ceci est l'unique méthode permettant de garder l'amplitude des signaux de manipulation diélectrophorétique à un niveau acceptable. Comme nous utilisons la technologie CMOS $0.18 \text{ } \mu\text{m}$ pour la fabrication de nos puces microélectroniques qui sont alimentées avec des tensions de 3.3V , il est important que l'étage de sortie puisse avoir une plage d'entrée la plus grande possible de 0 à 3.3 V pour avoir des signaux de manipulation avec une amplitude maximale crête à crête de 3.3 V . C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés au circuit tampon "Rail to Rail". Ces circuits

Tableau 2.2 Spécifications techniques des différentes architectures utilisant le principe de la diélectrophorèse

Réf	Substrat	Dimensions de la particule	Matériel de l'électrode	Distance entre les électrodes	Type de manipulation
(Suehiro <i>et al.</i> , 2003)	Verre	$5\mu m$	Cr	$5\mu m$	DEP
(Lu <i>et al.</i> , 2005)	Pyrex, glass, SU-8	$130\mu m$	Au	$30\mu m$	PDF
(Lin <i>et al.</i> , 2001)	PMMA	$200\mu m$	Au	$200\mu m$	PDF
(Lau <i>et al.</i> , 2005)	PDMS	$4 \times 3.1\mu m$	Ag/AgCl	très large	PDF
(Lin <i>et al.</i> , 2001)	Verre, PDMS	$100\mu m$	Au	$100\mu m$	-
(Huang et Rubinsky, 2003)	Silicium	$6\mu m$	Pt	N.D	PDF
(Fox <i>et al.</i> , 2005)	Verre	$30\mu m$	Pt	$70\mu m$	PDF

Tableau 2.3 Spécification des différentes techniques de diélectrophorèse dépendamment de la cellule étudiée

Réf	Application	Tension appliquée	Dimensions de la cellule	Méthode de mesure
(Huang et Rubinsky, 1999)	Analyse	0-60V	$20\mu m$	YOYO-1
(Valero <i>et al.</i> , 2004)	Analyse	100V	$10\mu m$	PI/FLICA
(Gao <i>et al.</i> , 2003)	Analyse	1400V	$10\mu m$	CE
(McClain <i>et al.</i> , 2003)	Analyse	1125V	N.D	OG, CF
(Lee et Tai, 1999)	Analyse	20V	$5\mu m$	Impédance
(Lu <i>et al.</i> , 2005)	Analyse	6-8.5V	$10\mu m$	AO/PI
(Lin <i>et al.</i> , 2001)	Transfection	1V	$10\mu m$	Calcein AM Trypan Blue

tampers permettent d’avoir des tensions d’entrée couvrant toute la plage dynamique et ils sont de plus en plus utilisés dans la nouvelle génération des circuits intégrés analogiques (Nosratinia *et al.*, 1995; Ferri et Sansen, 1997; Carrillo *et al.*, 2003; Khare *et al.*, 2008; AbdelMoneim et Mahmoud, 2007). En fait, Carrillo et al, ont proposé un circuit tampon pour des applications avec des tensions à faibles amplitudes (Carrillo *et al.*, 2003). Le circuit proposé fonctionne avec une tension de 3 V et il est fabriqué avec la technologie 0.8 μm . Ce circuit peut fonctionner avec des charges résistives et capacitives respectives de 560 Ω et 33 pF. Dans un autre travail de recherche entrepris par Khare et al., un circuit tampon a été proposé pour les applications fonctionnant avec des tension de l’ordre de 1 V. Cependant, les circuits décrits ne peuvent pas supporter des charges résistives aussi basses que 160 Ω . Ainsi, un circuit se basant sur l’architecture proposée par Nosratinia et al. a été réalisé pour pouvoir produire des signaux de manipulation diélectrophorétique pour le LsP proposé (Nosratinia *et al.*, 1995).

2.3 Plateforme de prototypage pour les dispositifs microfluidiques

Étant donné que notre principale application dans le système que nous proposons est la manipulation diélectrophorétique, l’avantage le plus important de cette technique est sa théorie bien connue basée sur la propagation du champ électrique, ce qui peut aboutir à une architecture complexe de plus de 1000 électrodes (Wang *et al.*, 1996; Jones, 1995; Huang *et al.*, 2005). Des nouvelles techniques de microfabrication ont inspiré de nombreux chercheurs pour concevoir des systèmes reconfigurables afin de couvrir diverses applications au lieu d’avoir un système dédié (Miled et Sawan, 2009; Keilman *et al.*, 2004). En outre, avec des dimensions réduites des électrodes, de nouvelles techniques de manipulation cellulaire pour les LsP ont récemment vu le jour comme le mélange, la séparation et le déplacement des particules à l’échelle micrométrique, voire nanométrique (Gielen *et al.*, 2009; Markarian *et al.*, 2003; Li et Kaler, 2002; Wang *et al.*, 2007). Ces nouvelles avancées technologiques ont abouti à la conception de nouvelles plateformes de prototypage pour analyser et valider les différentes technologies de LsP.

En plus, malgré les récents progrès technologiques pour concevoir des dispositifs miniaturisés de l’ordre de quelques millimètres, la phase de prototypage d’un LsP nécessite des installations de tests plus élaborées et complexes que d’autres types de systèmes électroniques hétérogènes (Lee *et al.*, 2007a; Tanase *et al.*, 2005). En effet, un microsystème pour la manipulation et la détection de particules inclut différents types de composants tels que des architectures microfluidiques, des puces microélectroniques, des composants discrets, des tubes, des interconnexions, des interfaces et des circuits de communication, en plus des ar-

chitectures de tests qui diffèrent en fonction de l'application (Lee *et al.*, 2007b; Ghallab et Badawy, 2004; Lee *et al.*, 2006; Ghafar-Zadeh et Sawan, Dec. 2007; Medoro *et al.*, 2007).

Ainsi, une plateforme de prototypage versatile est nécessaire, d'une part, pour observer et comprendre les différents comportements des LsP en vue d'intégrer le tout dans un système miniaturisé diélectrophorétique et, d'autre part, pour concevoir un modèle le plus fidèle possible au LsP (Ghallab et Badawy, 2006; Harrison *et al.*, 2002; Ghallab et Badawy, 2005; Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008a; Linder *et al.*, 2006). Par contre, une plateforme de prototypage nécessite une connaissance approfondie des différents paramètres qui ont un impact sur la manipulation diélectrophorétique telles que la phase, la fréquence et l'amplitude (Gascoyne et Vykoukal, 2004; Park *et al.*, 2009). Il est aussi important d'être en mesure de reconfigurer le système en fonction de l'application et l'environnement (Kaler et Dalton, 2007; Sawan *et al.*, 2010). Toutefois, dans une plateforme de prototypage, les dimensions du système ne constituent pas une contrainte contrairement à la connectivité. Enfin, il est important de noter que plusieurs travaux ont fourni des solutions de prototypage rapide en se concentrant sur l'aspect microfluidique tout en négligeant la connexion des tubes, du système de contrôle et la connectivité (Steigert *et al.*, 2007; Bhagat *et al.*, 2007; Cygan *et al.*, 2005).

Kaler et al, ont proposé une plateforme de prototypage qui présente une configuration intéressante permettant de placer des architectures microfluidiques réutilisables à l'aide de connecteurs ZIF. La plateforme est aussi reconfigurable de sorte que chaque électrode peut avoir son propre signal parmi 4 (Kaler et Dalton, 2007). Ces travaux constituent les quelques rares références dans le domaine de prototypage pour la microfluidique. La principale raison est due au fait que le développement de telles interfaces nécessitent des connaissances multidisciplinaires qui couvrent la microfabrication, la conception électronique, l'assemblage ainsi que le développement d'interfaces.

2.4 Modélisation des LsP

Dans la présente thèse, nous nous intéressons, particulièrement aux BioMEMS pour la manipulation des particules et l'analyse en temps réel. Par exemple, la surveillance en temps réel des neurotransmetteurs est d'une grande importance pour comprendre le comportement chimique du cerveau.

En effet, le comportement des neurotransmetteurs dans le cerveau n'est pas encore clair et la recherche dans ce domaine met en évidence d'autres molécules, qui peuvent être considérés comme des neurotransmetteurs (Reis et Regunathan, 2000). Jusqu'à présent, il n'existe pas de technique polyvalente qui peut être utilisée pour détecter tous les types des neurotransmetteurs. Cependant, il existe de nombreuses méthodes dédiées à détecter spécifiquement les

neurotransmetteurs suivants : glutamate, GABA et la dopamine. Les auteurs dans (Perry *et al.*, 2009) ont décrit plusieurs méthodes pour la manipulation et la détection des neurotransmetteurs, notamment l'électrophorèse capillaire avec détection par fluorescence induite par laser, l'électrophorèse capillaire conjuguée à des mesures électrochimiques, l'électrophorèse capillaire conjuguée à la spectrométrie de masse et l'électrophorèse capillaire avec une détection par ultraviolet.

En outre, les architectures LsP varient en fonction de l'application. Par exemple, certains LsP utilisent un champ électrique, communément appelée électrophorèse ou diélectrophorèse (DEP), d'autres sont basées sur le champ magnétique connu sous le nom magnétophorèse parmi d'autres techniques (Lee *et al.*, 2006; Medoro *et al.*, 2007; Ghafar-Zadeh et Sawan, Dec. 2007; Miled et Sawan, 2010). Cependant, il est plus difficile de modéliser un LsP à base de DEP à cause de la complexité de la théorie de diélectrophorèse et la diversité de l'application.

Ainsi, notre objectif est d'élaborer une nouvelle approche de modélisation pour étudier le mouvement des cellules biologiques lorsqu'elles sont exposées à un champ électrique externe par le biais d'électrodes dans des microcanaux. Jusqu'à présent, il n'est pas possible de modéliser ou de simuler un tel comportement avec un logiciel commercial et ce à cause des propriétés des particules qui évoluent au fil du temps. Par exemple, lorsqu'un champ électrique est appliqué, les cellules biologiques échangent les ions (Na^+ , Cl^{2-} , K^+) avec le milieu. Cet échange d'ions a pour effet de changer la conductivité du milieu et les forces DEP dans le voisinage de la cellule. Aussi, lorsqu'un substrat est lié à la surface de l'enzyme, la distribution des électrons dans celui-ci change et affecte les forces DEP. Toutefois, la répartition des charges n'affecte pas les propriétés du milieu. Cependant, les enzymes contiennent plusieurs acides aminés avec des chaînes latérales acide ou basiques qui affectent considérablement les propriétés électrostatiques des particules lorsqu'elles sont libérées dans le milieu liquide.

De plus, notre objectif est de mettre en œuvre une méthode de séparation basée sur l'identification fréquentielle des neurotransmetteurs. La méthode de séparation que nous proposons ne cible pas les neurotransmetteurs mais plutôt les particules injectées dans le liquide cérébro-spinal ou liquide céphalo-rachidien (ACSF) qui contient des neurotransmetteurs qui changent les propriétés électriques du ACSF, et par conséquent la fréquence de séparation des particules injectées selon la théorie de diélectrophorèse. Par ailleurs, les logiciels COMSOL et ANSYS ne sont pas conçus pour étudier le comportement biologique.

L'élaboration d'une approche et d'un outil de modélisation efficace pour les BioMEMS est essentielle car cela permet de réduire les délais de commercialisation en catalysant les activités de recherche. En effet, la modélisation d'un BioMEMS permet de simuler son comportement dans certaines conditions. Par exemple, la présence d'électrodes dans un microcanal microfluidique génère une propagation de potentiel qui induit un déplacement des particules en

plus des forces générées par le déplacement des fluides. L'objectif de la simulation est de comprendre l'effet de la propagation de ce potentiel sur les particules sans avoir à fabriquer les dispositifs.

Pour modéliser un BioMEMS, de nombreuses approches ont été abordées (Crary et Zhang, 1990; Aluru et White, 1998; Gagne *et al.*, 2011; Baronas *et al.*, 2007, 2006, 2012). Tout d'abord, il serait possible d'utiliser simplement la modélisation par éléments finis (FEM) pour créer l'architecture du BioMEMS, puis d'utiliser les équations différentielles non linéaires de manière itérative pour caractériser le comportement en fonction du temps. Cette méthode nécessite beaucoup de calculs et aboutit éventuellement à des résultats instables et erronés. Pour résoudre ce problème, plusieurs simplifications peuvent être faites afin de simplifier le problème et d'obtenir des résultats plus stables.

Une première simplification dans la modélisation des BioMEMS consiste à considérer l'architecture sans particules en mouvement et en considérant une simulation indépendante du temps. Cette approche a été utilisée par (Voldman, 2001) pour étudier la capture des particules dans un BioMEMS, le calcul des forces diélectrophorétiques, gravitationnelles et hydrodynamiques. Les résultats obtenus permettent de trouver la position de la particule qui correspond aux points où la force résultante est nulle. Une autre méthode proposée par (Phillips et White, 1997) consiste à supprimer l'utilisation de la discrétisation volumétrique en proposant de discrétiser uniquement les frontières des différents éléments. Normalement, lorsque les particules sont en mouvement, le maillage doit être refait à chaque déplacement. Dans le cas de la méthode de (Phillips et White, 1997), seul le maillage des frontières est refait, ce qui permet de réduire considérablement les calculs (Coelho *et al.*, 2004). D'autres méthodes de modélisation existent et offrent aussi bien des avantages que des inconvénients pour les simulations multiphysiques des BioMEMS. Il est possible d'utiliser des modèles à éléments finis pour caractériser le problème d'ordre réduit (Hung *et al.*, 1997). Une autre option est d'utiliser une méthode Precorrigée-FFT (Precorrected-FFT) pour analyser la distribution électrostatique (Phillips et White, 1997). Aussi, une méthode multi-niveaux de Newton (Aluru et White, 1999) et une méthode lagrangienne (De et Aluru, 2004) ont été proposées. En outre, plusieurs travaux présentent des simulations de la diélectrophorèse (Hsiung *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 1996) dans les BioMEMS.

Cependant, les approches proposées se limitent à des architectures d'électrodes spécifiques ou à des configurations bien particulières pour la propagation du champ électrique et/ou l'écoulement fluide, ce qui est la méthode standard pour étudier le comportement des particules avec la DEP. Malheureusement, ces techniques supposent que la conductivité du milieu et celle des particules sont homogènes et que la propagation du champ électrique n'est pas affectée par la charge ou la forme des particules. Cela est vrai lorsque le champ électrique

est assez fort. Cependant, dans le présent travail, nous considérons un DEP à basse tension, ce qui fait que le champ électrique n'est pas propagé à travers toute la profondeur des micro-canaux. Par conséquent, dans le cas d'une architecture d'électrodes avec DEP à basse tension, la forme et la charge des particules sont des paramètres critiques et il est impossible de simuler le champ électrique avec des outils conventionnels tels que Matlab, ANSYS ou COMSOL car ils ne considèrent pas l'aspect biologique de la modélisation du champ électrique.

D'autre part, il est aussi important de modéliser la diélectrophorèse. Certes, c'est une méthode appropriée pour manipuler des cellules de quelques micromètres. Toutefois, il n'est pas prouvé qu'elle est toujours fonctionnelle pour des molécules et des neurotransmetteurs. La raison principale est que, ces neurotransmetteurs ne sont pas visibles, même avec un microscope de haute résolution. Ainsi, une modélisation avancée de la DEP avec un environnement entièrement configurable s'avère nécessaire pour comprendre le comportement des neurotransmetteurs dans un dispositif implantable.

CHAPITRE 3

Méthodologie de la recherche

Les LsP constituent une nouvelle voie intéressante pour offrir de nouveaux outils de diagnostic et d'analyse biomédicales. Le LsP que nous proposons dans cette thèse est parmi les premiers systèmes entièrement intégrés et modulaires. En effet, nos travaux ne présentent pas uniquement des procédés de fabrication, de manipulations diélectrophorétiques ou des systèmes microélectroniques pour les LsP, mais une nouvelle façon de concevoir un LsP basé sur une approche modulaire. Chaque module de notre système constitue un bloc indépendant qui peut être déconnecté sans aucun impact sur les autres modules. Le système se compose de 4 modules qui sont : le module microfluidique, microélectronique, de communication et d'alimentation. Le choix d'une telle architecture s'avère plus intéressant qu'un système complètement intégré sur une seule puce parce qu'il offre plus de versatilité.

Notre LsP est principalement destiné à des applications biologiques. Le principal contact entre le liquide biologique et le LsP est le module microfluidique. Ce dernier peut varier d'une application à une autre. Par contre, le module microélectronique proposé est principalement destiné à des manipulations diélectrophorétiques indépendamment de l'architecture microfluidique. Les modules de communication et d'alimentation quant à eux, ont été optimisés pour le LsP proposé, mais peuvent être reconfigurés pour d'autres applications. Ainsi, notre architecture ressemble à celle d'un ordinateur que nous pouvons reconfigurer selon notre utilisation. Selon le concept de notre LsP, ces dispositifs ne peuvent être conçus en un seul module intégré, mais plutôt en un système intégré. En effet, se diriger vers un module intégré rend les LsP très spécifiques à une application, ce qui va à l'encontre du principe même de tels systèmes qui doivent être dédiés à des manipulations de tout genre.

Dans le présent chapitre, nous présentons les étapes de réalisation de notre LsP. Nous expliquons également les choix que nous avons faits en matière de technologies et de procédés de fabrication. Pour finir, nous présentons une nouvelle méthode de modélisation permettant de confirmer les résultats expérimentaux et d'avoir une analyse plus détaillée du comportement du LsP.

3.1 Architecture du LsP

Nous avons procédé à la réalisation de notre LsP en 2 phases principales :

1. Conception d'une architecture microfluidique et d'une plateforme de prototypage. Le

but de cette première phase est d'analyser les différents paramètres qui ont un impact sur la précision et la sélectivité du LsP, ainsi que de valider *in vitro* le système proposé.

2. Conception de la version intégrée de la plateforme de prototypage. Le but de la deuxième phase est d'intégrer dans un même système toutes les fonctions préalablement validées par la plateforme de prototypage.

Le système proposé est montré à la Figure 3.1.

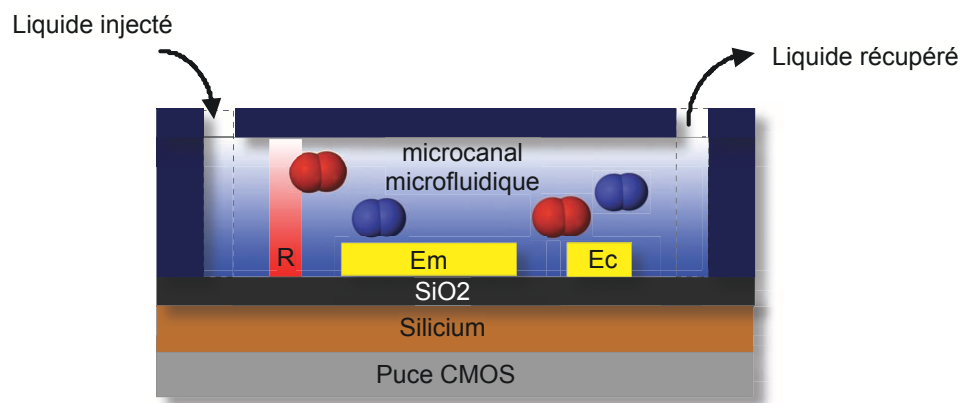


Figure 3.1 Schéma simplifié de notre LsP : La zone rouge correspond à la zone où des réactifs chimiques sont injectés pour augmenter la sensibilité du LsP, Em correspond à la zone des électrodes de manipulation des particules et Ec aux électrodes de détection.

La réalisation de chacune de ces phases a été divisée en trois grandes étapes que nous détaillerons dans les sections qui suivent :

- Conception de l'architecture microfluidique.
- Conception du système électronique pour la manipulation et la détection des particules.
- Assemblage des différents modules de notre système.

De plus, afin de valider chacune des phases, nous avons proposé une nouvelle approche de modélisation des LsP qui sera présentée ultérieurement.

3.1.1 Architecture microfluidique

Pour réaliser l'architecture microfluidique, nous avons utilisé trois procédés de fabrication : les procédés de fabrication Lionix et Sensonit par l'intermédiaire de la SCME, ainsi qu'un procédé de fabrication que nous avons développé tout au long des travaux de recherche de cette thèse. Le but de ce dernier est de pouvoir fabriquer une matrice d'électrodes carrées pour un assemblage par « Flip-Chip » et pouvant se connecter à un système électronique ou microélectronique sans introduire des interférences. Ce procédé a fait l'objet d'un brevet déposé en 2011 intitulé "Reconfigurable Modular Microfluidic System and Method".

Ainsi, nous avons fabriqué 4 architectures microfluidiques différentes qui sont montrées à la Fig. 3.2 :

- Une première architecture microfluidique fabriquée avec le procédé Lionix et destinée à la plateforme de prototypage. Cette architecture contient 12 configurations d'électrodes différentes. L'objectif est de tester différents paramètres séparément pour connaître leur impact sur la précision du LsP dans le cas des manipulations diélectrophorétiques.
- Une deuxième architecture fabriquée avec le procédé Sensonit pour la plateforme de prototypage. Elle est une synthèse de l'architecture de Lionix où toutes les opérations

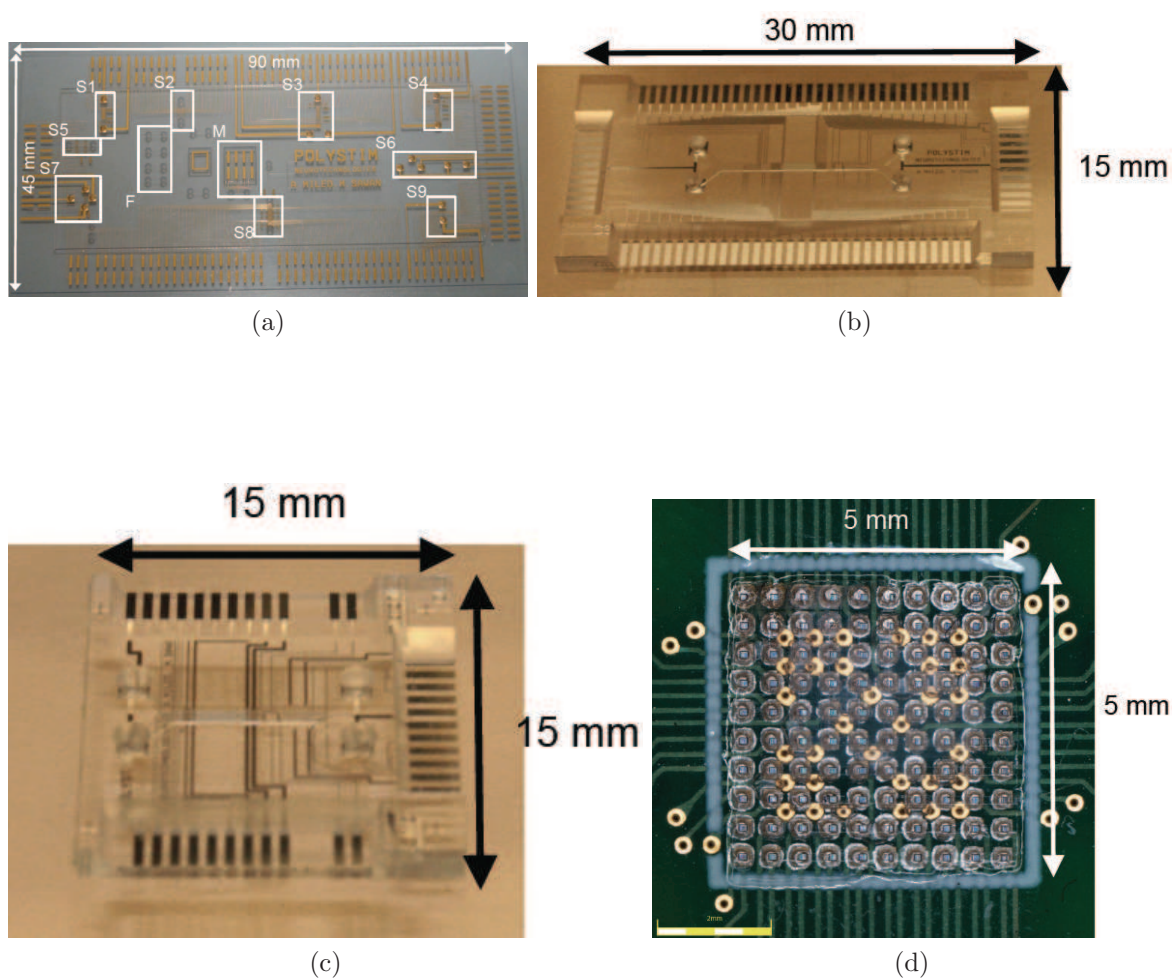


Figure 3.2 Différentes architectures microfluidiques fabriquées en utilisant le procédé (a) Lionix (b) et (c) Sensonit et (d) un nouveau procédé de microfabrication développé dans le cadre de cette thèse et breveté

- de manipulation nécessaires sont intégrées dans une même configuration.
- Une troisième architecture utilisant le procédé Sensonit et destinée à la version intégrée du LsP.
 - Une quatrième architecture fabriquée avec notre procédé de fabrication et destinée à la version intégrée du LsP.

3.1.2 Système électronique pour la manipulation et la détection des particules

Dans cette section, nous présentons la partie microélectronique qui a pour fonction de générer les signaux de commande, de contrôle, de manipulation et de détection, tel que montré à la Figure 3.3.

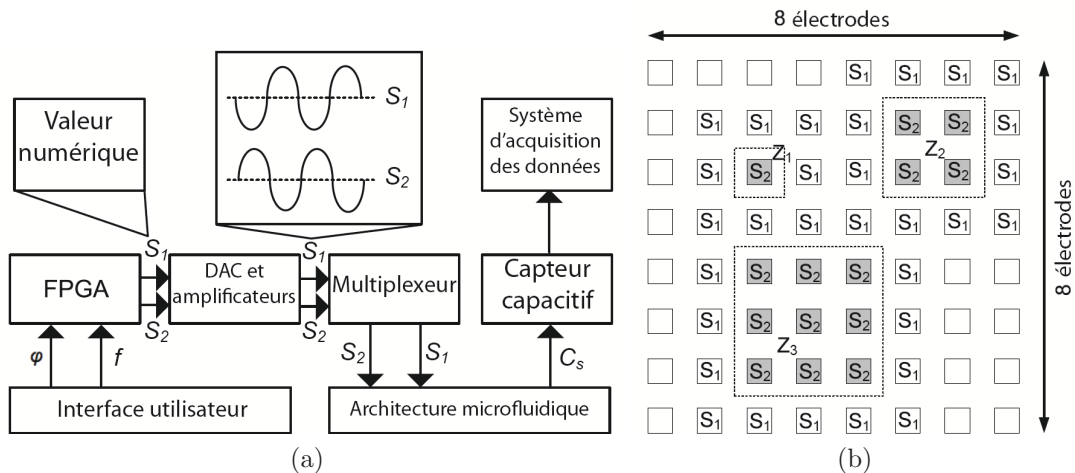


Figure 3.3 (a) Diagramme du circuit de manipulation et détection et (b) matrice de propagation des signaux de contrôle

Pour la fabrication du système électronique, nous avons procédé en deux étapes :

1. Développement d'une plateforme de prototypage sur un PCB.
2. Intégration du système précédemment validé dans un LsP.

3.1.2.1 Plateforme de prototypage

À défaut d'avoir un outil de modélisation permettant de simuler le comportement des particules dans un LsP en tenant compte des architectures d'électrodes, des propriétés du li-

guide et du champ électrique appliqué, nous avons eu recours à une plateforme de prototypage montrée à la Figure 3.4.

Dans un premier temps, nous avons développé cette plateforme sur un PCB afin de pouvoir analyser les différents paramètres qui entrent en jeu dans la manipulation et la détection cellulaire, notamment la phase, la fréquence et l'amplitude des signaux appliqués sur les électrodes.

En ce qui a trait à la manipulation, idéalement, une matrice d'électrodes est divisée en deux sous groupes tels que montrés à la figure 3.3 : un groupe d'électrodes positives (S2) et un autre d'électrodes négatives (S1). Les zones Z1, Z2 et Z3 sont des zones de test pour explorer la sensibilité du système par rapport au nombre d'électrodes positives et négatives activées. Toute manipulation des signaux que ce soit d'un point de vue fréquence, amplitude ou déphasage sera appliquée sur les électrodes négatives. Les autres électrodes seront considérées comme électrodes de référence pour le système. Nous estimons que la variation de la fréquence ne devrait pas dépasser les 1.2 MHz. Au delà de cette fréquence les particules ont le même comportement et ne peuvent plus être différenciées les unes des autres à partir de leur identité fréquentielle. Cependant, une telle matrice n'est pas réalisable avec les procédés de microfabrication standards. Par conséquent, nous avons proposé une architecture d'électrodes en L pour assurer le déplacement vertical et horizontal des particules et avoir une propagation du champ électrique la plus uniforme possible. De plus, nous avons choisi d'inclure un FPGA dans la plateforme de prototypage pour pouvoir contrôler la forme du signal envoyé dans la matrice des électrodes. La forme du signal peut varier dépendamment de la configuration de la matrice, des dimensions des électrodes et de l'espace entre ces dernières. Au final, nous avons besoin de 4 signaux à déphasage différents pour contrôler la majorité des manipulations diélectrophorétiques soient le mélange, le déplacement et la séparation des particules.

Quant à la détection, nous avons utilisé deux techniques différentes : l'une optique et l'autre capacitive. La détection capacitive est nettement plus facile à intégrer que l'optique (Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008b). Toutefois, il est important de tenir compte des interférences surtout lorsqu'il s'agit d'une détection combinée à une manipulation. En effet, l'utilisation de la diélectrophorèse pour manipuler les particules induit une interférence importante au niveau de la capacité de détection des particules en mouvement. Ainsi, pour éliminer ces interférences, nous avons introduit un dispositif d'isolement entre les deux phases (la manipulation et la détection) en désactivant les signaux de manipulation lors de la phase de détection.

L'objectif d'utiliser un PCB au lieu d'une puce microélectronique est, principalement, motivé par la possibilité de tester différents cas de figure.

La plateforme de prototypage réalisée permet ainsi de contrôler 64 électrodes différentes. Elle est reprogrammable et reconfigurable. Chaque électrode peut être configurée soit en mode manipulation, détection ou bien elle est déconnectée. La détection se fait par l'intermédiaire d'une carte de détection à base de capteurs capacitifs. Cette même carte assure également la communication entre l'ordinateur et la plateforme à travers un module Bluetooth.

La configuration de la plateforme se fait à travers le FPGA et des multiplexeurs connectés aux électrodes. Les signaux générés peuvent être unipolaires ou bipolaires selon la configuration des convertisseurs numériques-analogiques dont la sortie est connectée à un amplificateur pour une conversion unipolaire ou à deux amplificateurs en série pour des signaux bipolaires. Pour faciliter le routage du PCB et minimiser le contrôle des électrodes, les 64 sorties ont été divisées en 4 blocs identiques. Chaque bloc reçoit un signal différent parmi les 4 signaux. En outre, chaque électrode peut être déconnectée de la plateforme et branchée à un signal externe individuellement.

Une première version de la plateforme a été faite de sorte que la configuration soit complètement manuelle. Alors que dans la deuxième version, toute la partie de contrôle a été automatisée. Ainsi, la fréquence, l'amplitude, le déphasage, le type de signal à appliquer (DC ou AC) et le mode (manipulation ou détection) se font à travers l'interface LabVIEW.

Les plateformes réalisées sont montrées à la Figure. 3.4. Le tableau 3.1 résume les principales performances de ces plateformes. Ainsi, cette plateforme offre un outil performant pour étudier le comportement des microparticules avec différentes architectures d'électrodes et types de signaux.

Grâce à cette plateforme, nous avons pu identifier les particules qui peuvent être manipulées par un circuit intégré avec la technologie CMOS 0.18 μm .

3.1.3 Conception du LsP

La version intégrée du LsP se compose de 4 groupes de modules :

1. Modules microélectroniques montrés à la Figure 3.5.
2. Module d'alimentation.
3. Module microfluidique.
4. Module de communication.

3.1.4 Modules microélectroniques

Ces modules sont formés de deux puces microélectroniques :

- Puce microélectronique pour le contrôle des 4 signaux diélectrophorétiques.
- Puce microélectronique pour le contrôle des électrodes.

3.1.4.1 Puces microélectroniques

Les puces microélectroniques ont été fabriquées avec la technologie $0.18 \mu m$ de la TSMC et montrées à la Figure. 3.5. Elles permettent de contrôler la fréquence et le déphasage par un module digitale intégré. Le contrôle de la fréquence se fait sur 16 bits, alors que le déphasage est limité à 6 bits. Un module de conversion des signaux du numérique vers l'analogique a été également intégré dans ces puces. Ce module assure les fonctions suivantes :

Tableau 3.1 Principales caractéristiques de la plateforme de prototypage

Paramètre	Caractéristique
Dimensions	12 cm x 12 cm
Nombre d'électrodes	64
Nombre de signaux diélectrophorétiques	4
Plage de sortie de l'amplitude des signaux diélectrophorétiques	+/- 12V
Déphasage maximale	360°
Fréquence maximale	3.3 MHz
Horloge principale	50 MHz
Module programmable	FPGA Xilinx Spartan 3A
Courant maximal par sortie d'électrode	5 mA
Précision du déphasage	3.6°
Précision de l'amplitude	93 mV
Type de détection	Capacitive
Horloge principale	8 MHz
Fréquence de détection	5 MHz
Précision	<10 fF
Nombre de canaux	1
Module programmable	Microcontrôleur ATMEL Atmega 164p
Module de communication	Sans fil (Bluetooth)
Type de contrôle	Direct (Bluetooth) ou par internet
Interface de contrôle	LabVIEW
Type de l'extension de la plateforme	Connecteur FMI 32

- Élimination du décalage entre les 4 signaux générés.
- Conversion des signaux numériques par l’intermédiaire d’un CNA dont la sortie est en mode courant. Cette dernière est envoyée à un miroir de courant simple qui permet de recentrer le courant à 0. Un premier centrage se fait d’abord, par le contrôle des tensions d’alimentation du miroir de courant. Par la suite, le recentrage se fait par l’intermédiaire d’une résistance connectée à la puce et qui permet d’ajuster la chute de tension en conséquence.
- Amplification et adaptation des signaux à de très faibles charges résistives (180Ω). Le rôle de l’amplificateur est de pouvoir générer des tensions d’amplitudes variables dépendamment du profondeur du canal. Cependant, toutes les résistances ont été placées à l’extérieur de la puce pour avoir plus de flexibilité. Ainsi, le réseau d’amplificateurs intégrés dans la puce a permis d’avoir une amplification maximale des signaux pour atteindre $\pm 1.7 \text{ V}$, sachant que l’amplitude du signal d’entrée est de $\pm 20 \text{ mV}$ pour une fréquence maximale de 1.2 MHz . L’étage de sortie se base sur une architecture proposée par (Nosratinia *et al.*, 1995) pour pouvoir être connecté à des charges résistives minimales de 100Ω et des signaux de fréquence de 1.2 MHz . Les résultats expérimentaux montrent que la charge minimale pouvant être connectée est de 500Ω pour fonctionner correctement. Cependant, il nous est possible de compenser la chute de tension en amplifiant encore plus la tension de sorte que la charge minimale pouvant être branchée soit de 160Ω . La capacité n’étant pas un paramètre critique dans la manipulation des particules, ce qui fait que le circuit peut être branché à des capacités de 2 pF .
- Contrôle des électrodes sur puce. Une puce fabriquée avec la technologie $0.18 \mu\text{m}/3.3 \text{ V}$ a été utilisée pour le contrôle des électrodes. Cette puce assure le fonctionnement bidirectionnel des électrodes permettant de les configurer soit en mode manipulation ou en détection. La puce garde en mémoire la configuration des électrodes et peut être reprogrammée à une fréquence de 10 MHz . Chaque électrode est connectée à un registre interne qui permet de garder l’état de l’électrode en mémoire.

Tableau 3.2 Principales caractéristiques de la version intégrée du LsP

Paramètre	Caractéristique
Dimensions	15 mm x 15 mm
Nombre d’électrodes	64
Nombre de signaux diélectrophorétiques	4

Plage de sortie de l'amplitude des signaux diélectrophorétiques	+/- 2.4 V
Déphasage maximale	360°
Fréquence maximale	1.25 MHz
Horloge principale	25 MHz
Module programmable	Contrôle digital intégré
Courant maximal par signal	5 mA
Précision du déphasage	2.81°
Précision de l'amplitude	9.37 mV
Module de contrôle des électrodes	Bidirectionnel (Détection / Manipulation)
Type de détection	Capacitive
Précision	<10 fF
Nombre de canaux	9
Module de communication	Sans fil (Bluetooth)
Type de contrôle	Direct (Bluetooth) ou par internet
Type de l'extension de la plateforme	PCB
Alimentation principale	5 V
Bloc d'alimentation programmable	
Tension maximale/Minimale	+3.3V / -3.3V
Précision	8.3 mV
Mode de programmation	SPI
Nombre de canaux programmables	4
Architecture microfluidique	Sensonit / Polystim
Nombre d'électrodes	64 (Sensonit) / >100 (Polystim)

Type d'électrode	Or (Sensonit) / Silicium (Polystim)
Technologie de fabrication des électrodes	Déposition (Sensonit) / Encapsulation (Polystim)
Type du substrat	Verre, Borofloat
Assemblage	Sensonit / Fusion du verre ou film adhésif (Polystim)
Épaisseur du substrat	1.5 mm (Sensonit), <200 μ m (Polystim)
Connexion Microfluidique/Microélectronique	Wire bonding (sensonit) / Flip-Chip (Polystim)
Connexion aux tubes	PDMS, Epoxy

3.1.4.2 Module d'alimentation

Le module d'alimentation a été conçu pour pouvoir alimenter tout le LsP. Il peut générer 4 sorties programmables et fournir un maximum de 3.3 V et un minimum de -3.3 V. L'objectif de ce module est de pouvoir calibrer tout le LsP en ajoutant un offset dans les alimentations. Le système d'alimentation est contrôlé par une interface LabVIEW.

3.2 Assemblage et vérification

Une fois la puce microélectronique et l'architecture microfluidique finalisées, l'étape suivante consiste à les encapsuler ensemble sur le même substrat, c'est à dire le verre ou le PDMS. Pour cette fin, différentes techniques d'assemblage réalisées dans ce projet sont montrées à la Figure. 3.6 et que nous avons explorées pour trouver la meilleure technique d'encapsulation :

- Le « wire bonding » tel que montré à la Figure 3.7 qui est un schéma simplifié du système assemblé en utilisant cette technique.
- l'époxy pour coller la puce microélectronique sur le verre.
- L'encapsulation en sandwich : une nouvelle technique que nous proposons pour faire la connexion électrique.

La dernière étape du projet consiste à tester le LsP avec des solutions biologiques ou artificielles ayant des propriétés chimiques et biologiques semblables à des solutions réelles. Pour cela, nous avons utilisé la solution cérébrospinale artificielle ACSF dans laquelle nous avons ajouté des microsphères ayant des propriétés électriques proches de celles des neuro-

transmetteurs. Une micro pompe injecte le liquide dans les microcanaux pour des tests in vitro.

À des fins de prototypage, il est important de penser à une technique adéquate pour assurer la connexion des microcanaux à des tubes permettant d'injecter les neurotransmetteurs à l'intérieur du LsP. Pour réaliser cette connexion, nous avons utilisé trois techniques :

- Une technique de collage qui utilise une matière adhérente comme du PDMS pour connecter les tubes aux trous dans le substrat en verre. Un chauffage au four peut s'avérer nécessaire.
- Une autre technique qui utilise les rayons UV conjugués à de l'époxy pour faire la jonction entre les tubes et les trous.
- Une technique qui utilise l'époxy qui cuit à température ambiante.

Enfin, nous présentons notre LsP ainsi qu'une récapitulation de ces principales caractéristiques dans les Figures. 3.8, 3.9 et et le tableau 3.2 respectivement.

3.3 Modélisation du LsP

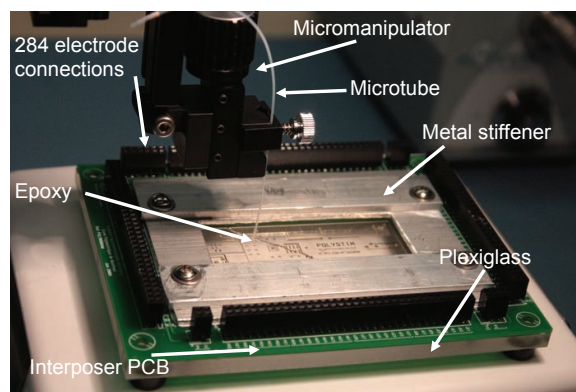
À l'état actuel de la recherche, les logiciels de simulation ne sont pas assez performants pour modéliser un système aussi complexe qu'un LsP. Le problème est que les logiciels doivent tenir compte des propriétés physiques du matériel utilisé comme le verre ou le PDMS, des propriétés chimiques et morphologiques des substances chimiques utilisées, de la conductivité et la propagation du champ électrique, de la dynamique des fluides, de la propagation thermique dans le fluide, ainsi que des matériaux composant les électrodes et les microcanaux. Une telle approche est d'une complexité extrêmement élevée. Il faut ajouter à cela, le fait que nous ne connaissons pas tous les phénomènes entrant en jeu lorsqu'il s'agit de manipuler des particules à l'échelle nanométrique. Des logiciels de simulation à éléments finis offrent une approche multiphysique qui permet de tenir compte des propriétés physiques, thermiques et mécaniques. L'inconvénient d'une telle approche est le fait qu'elle superpose les résultats de simulation et ne permet pas d'établir une relation entre les différents résultats pour étudier le déplacement des particules. En effet, des chercheurs du MIT (Thompson et Thompson, 2004) ont utilisé le logiciel ANSYS pour modéliser le phénomène de la diélectrophorèse. Toutefois, leur approche reste conventionnelle puisque, pour des manipulations diélectrophorétiques, ils modélisent chaque paramètre individuellement.

Dans la modélisation que nous proposons et dont le principe est montré à la Figure 3.10, nous nous concentrons sur les paramètres les plus influents dans la diélectrophorèse, soient la vitesse des fluides, la propagation du champ électrique et les propriétés électriques des particules et du liquide.

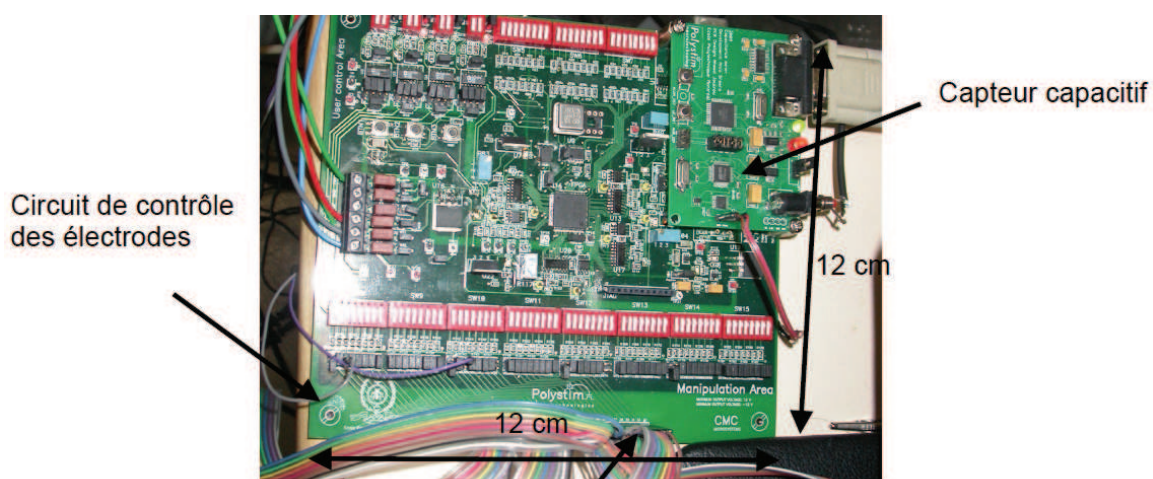
Nous étudions, en premier lieu, deux architectures particulières d'électrodes : des électrodes en L et des électrodes carrées tel que montré à la Figure 3.11. En fait, les électrodes carrées représentent le choix idéal pour un contrôle précis de la propagation du champ électrique. Cependant, la connexion de ces électrodes au circuit de contrôle est une grande problématique à cause du grand nombre d'électrodes. C'est pour cette raison que l'étude a été élargie à d'autres formes d'électrodes.

Les électrodes que nous utilisons sont intégrées dans un microcanal de $25 \mu m$ de profondeur pour pouvoir manipuler des particules de différentes dimensions. La matrice d'électrodes carrées modélisée est formée par 16×16 électrodes planaires de dimensions ($10 \mu m \times 10 \mu m$) et d'une épaisseur de 200 nm. L'utilisation des électrodes planaires au lieu d'une grande électrode a pour objectif de réduire la tension de manipulation diélectrophorétique. À titre d'exemple, au lieu d'appliquer une tension de 100 V sur une électrode de $100 \mu m$ par $100 \mu m$, on peut appliquer 10 V sur 100 électrodes de dimensions ($10 \mu m$ par $10 \mu m$).

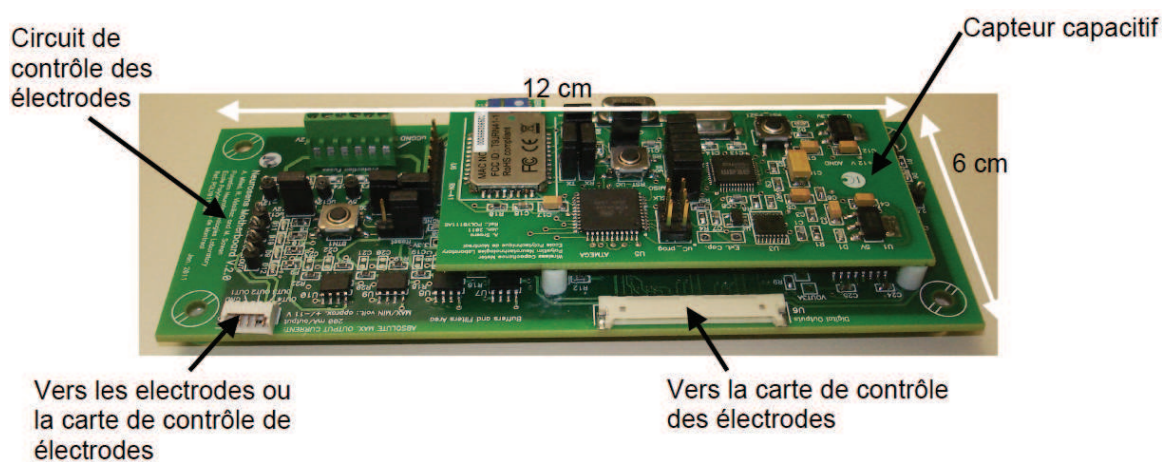
La nouvelle technique de modélisation que nous proposons nous permet de simuler le comportement de la particule dans le microcanal en tenant compte de l'architecture des électrodes, de la mécanique des fluides et des interactions entre les particules. Les résultats expérimentaux obtenus à la fin sont tout à fait cohérents avec les résultats de simulation en utilisant notre modèle.



(a)



(b)



(c)

Figure 3.4 Plateformes de prototypage réalisées incluant (a) la partie microfluidique (b) avec un contrôle manuel et (c) automatique des électrodes et des signaux appliqués

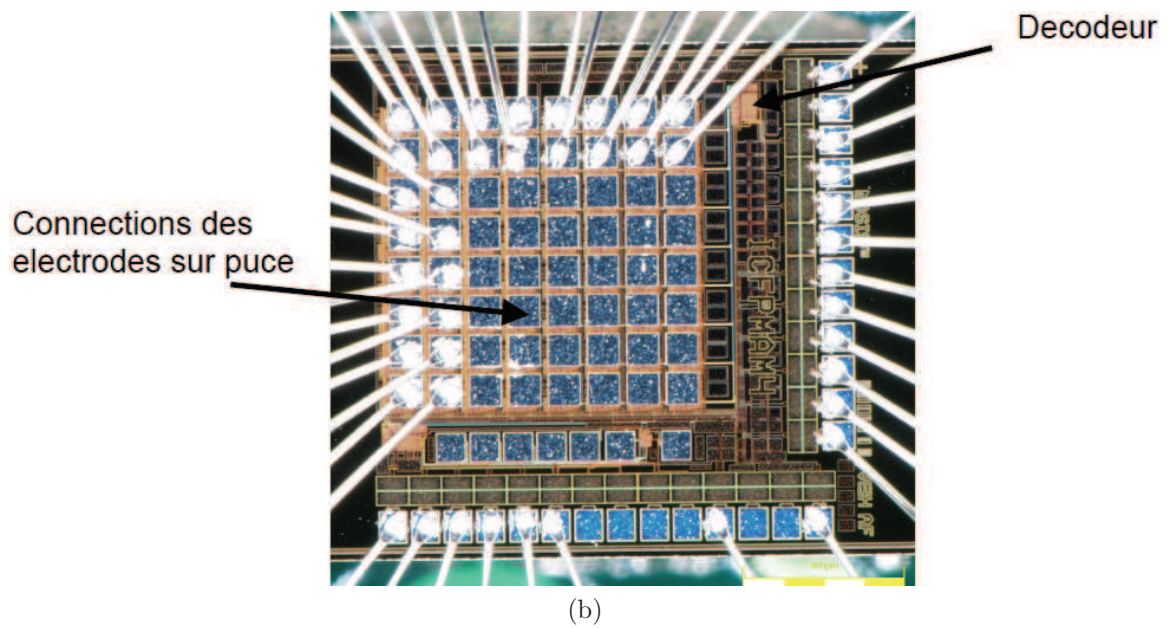
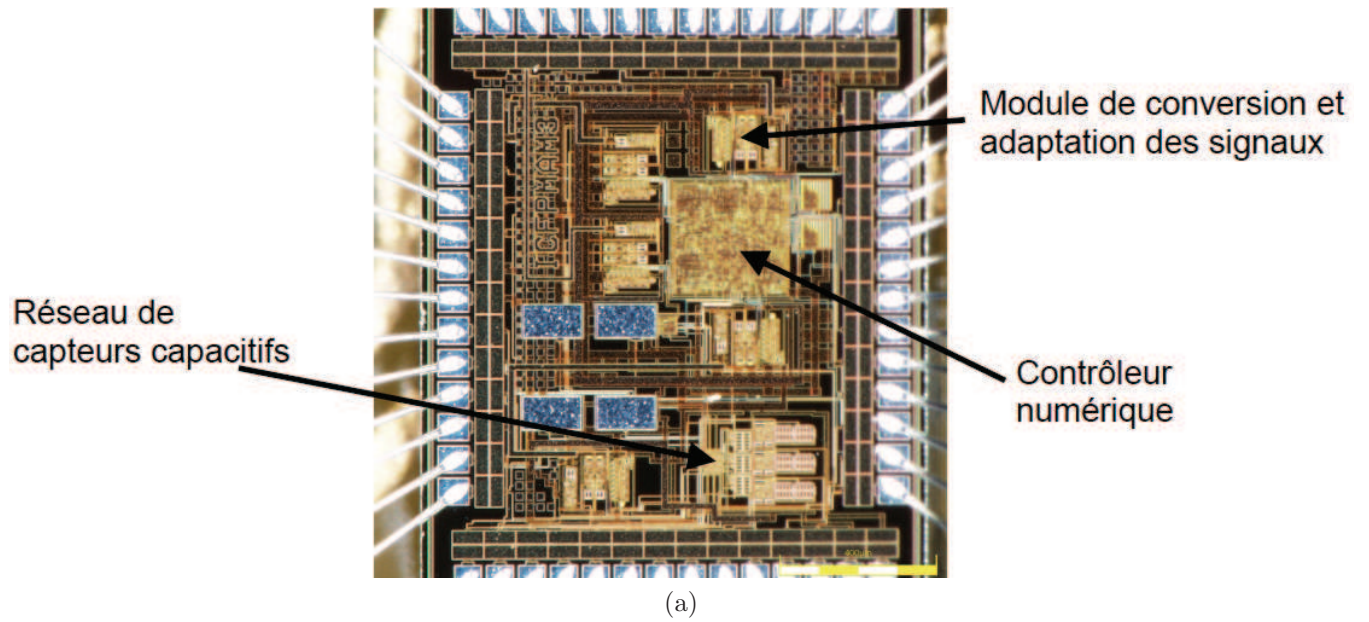
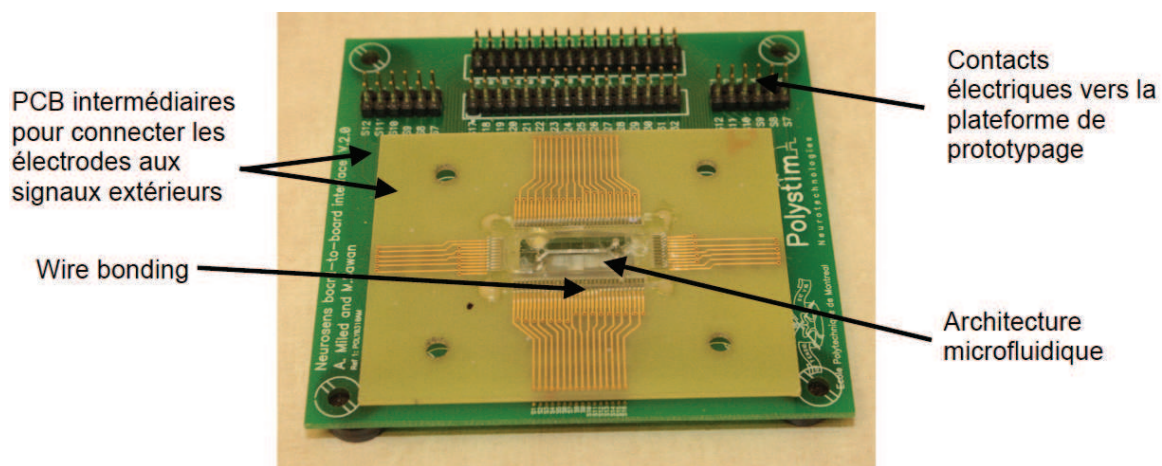
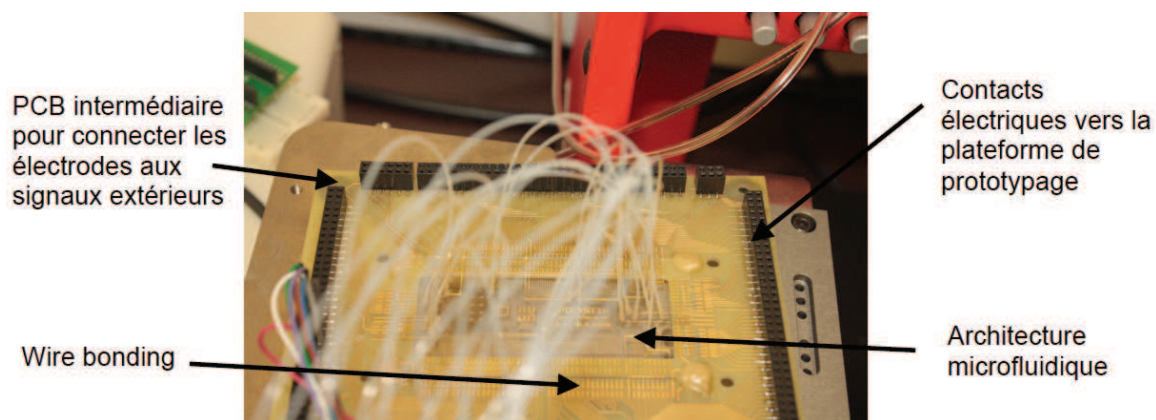


Figure 3.5 Puces microélectroniques fabriquées avec la technologie $0.18 \mu m$ pour (a) le contrôle des forces diélectrophorétiques et (b) la configuration des électrodes



(a)



(b)

Figure 3.6 Assemblage de la partie microfluidique pour la plateforme de prototypage en utilisant (a) le « wire bonding » et (b) l'adhésif conducteur anisotropique

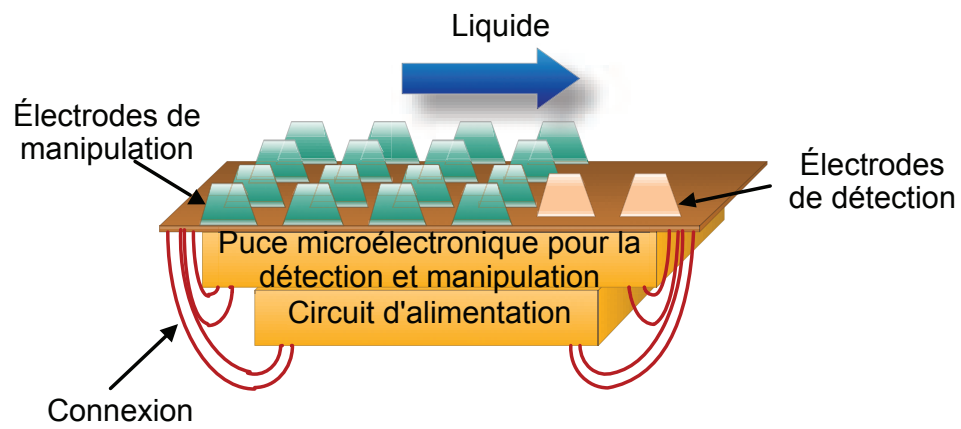


Figure 3.7 Assemblage et encapsulation des électrodes avec les différentes architectures : microfluidique et microélectronique

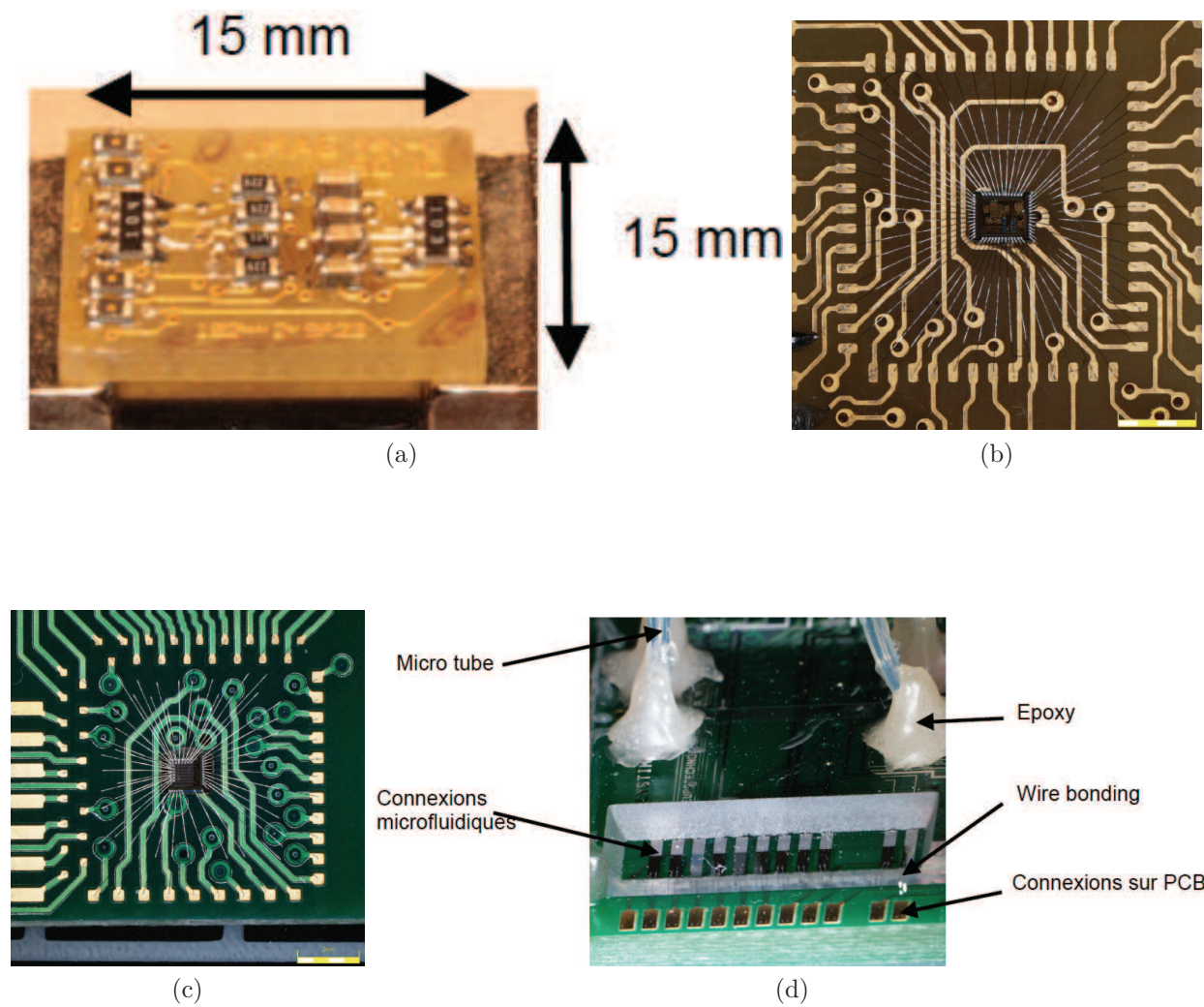


Figure 3.8 Assemblage des différents modules du LsP : (a) assemblage des composants discrets pour le contrôle de la puce de génération des signaux de manipulation diélectrophorétique ; (b) et (c) assemblage des puces microélectroniques sur leur support de PCB par « wire bonding » ; (d) assemblage de l'architecture microfluidique avec son support de PCB

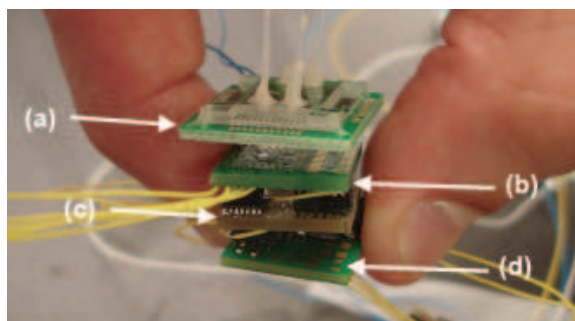


Figure 3.9 Le LsP proposé dans sa configuration finale.

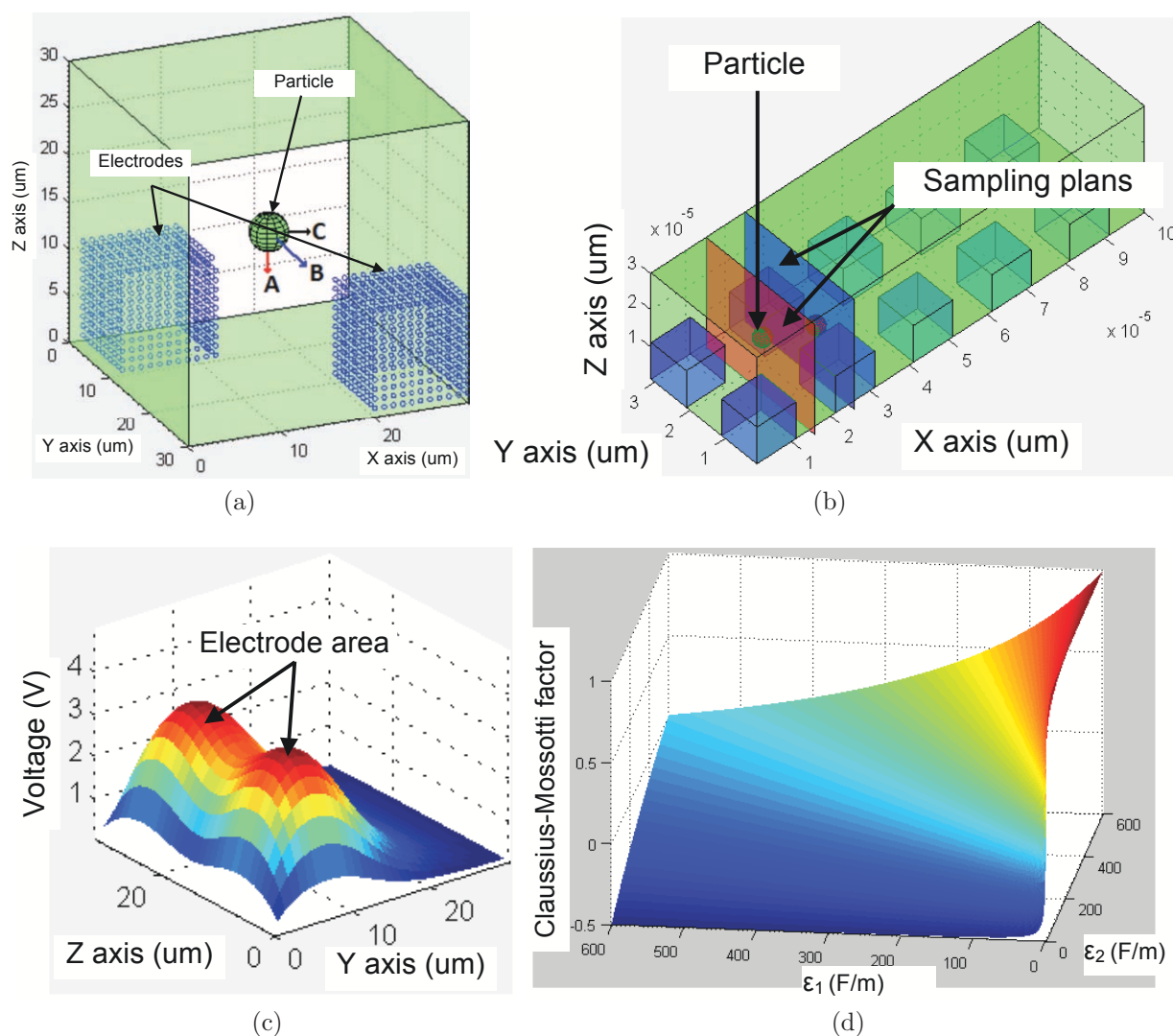


Figure 3.10 Principes de la modélisation proposée : (a) répartition des forces modélisées où la flèche rouge (A), la flèche bleue (B) et la flèche noire (C) représentent respectivement les forces diélectrophorétiques, fluidiques et électrophorétiques ; (b) Principe d'échantillonnage, (c) propagation de la tension et (d) répartition du facteur Clausius-Mossotti

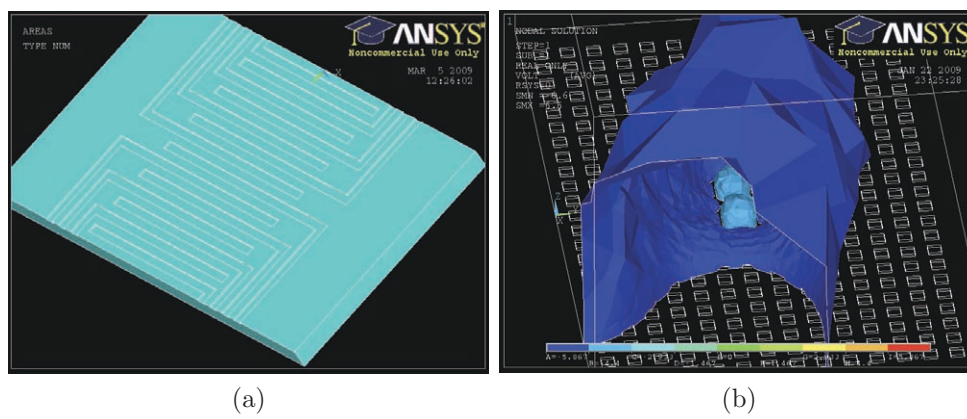


Figure 3.11 Architecture microfluidique proposée :(a) électrodes en L et (b) électrodes carrées

CHAPITRE 4

Plateforme de prototypage microfluidique pour la manipulation des particules et détection capacitive

Dans le présent chapitre, nous présentons une nouvelle plateforme de prototypage permettant de valider les concepts théoriques utilisés pour la manipulation des particules par diélectrophorèse. La plateforme proposée intègre un circuit de détection capacitive, un circuit de contrôle des forces diélectrophorétiques et une interface microfluidique permettant de tester une large gamme de dispositifs microfluidiques dont les dimensions restent inférieures à 90 mm x 45 mm. La plateforme a été conçue pour pouvoir contrôler 64 électrodes et supporter un courant de charge maximum de 5 mA par électrode. La tension maximale qui peut être appliquée varie entre +/-14 V. Un FPGA Xilinx Spartan 3 se charge de la partie de manipulation alors qu'un microcontrôleur Atmega Atmel 164p joue le rôle de l'interface entre l'ordinateur et le système électronique et microfluidique. Ce dernier contrôle aussi le circuit de détection capacitive qui a une sensibilité inférieure à 100 fF. Il s'agit en fait de la première plateforme de prototypage qui présente un système entier, incluant la partie microfluidique, électronique et logicielle qui est dédiée principalement à la recherche et la validation expérimentale pour les manipulations diélectrophorétiques.

4.1 Article 1 - Reconfigurable Rapid Prototyping Microfluidic Platform for Particle Manipulation and Capacitive Detection

A. Miled, A. Srasra, R. Vidailac, M.Sawan,
submitted to Sensors and Actuators B : Chemical, Elsevier, 2012

4.1.1 Abstract

In this paper, we present a new rapid prototyping platform dedicated to dielectrophoretic microfluidic manipulation and capacitive sensing. The proposed platform has a reconfigurable design. It provides a wide range of control signals depending on the type of manipulation as sine, rectangular or square wave, with an extensible range of frequency up to 5 MHz, in

addition to a programmable phase shift circuit with a minimum phase step of 3.6° for each signal. Furthermore, the platform provides up to 4 individually reconfigurable controlled signals. The amplitude of control signals can be adjusted independently, and distributed to 64 electrodes, which are divided into 4 blocks of 16 electrodes each. Each electrode can be enabled or disabled independently. Moreover, the platform has an advanced capacitive sensor to allow the measurement of the capacitance variation between in-channel electrodes. The data acquisition frequency of the proposed sensing system is up to 5 kHz, with a sensitivity of 50 fF. It can be extended to 4 parallel measurements with lower frequency. We also present a new assembly technique for reusable microfluidic design. This assembly technique is versatile and suitable for optical observation using standard or inverted microscopes. This technique is based on anisotropic adhesive conductive film, epoxy and PDMS.

4.1.2 Introduction

Despite recent technological advances (Lee *et al.*, 2007a; Tanase *et al.*, 2005) to design miniaturized devices in the range of few millimeters, the prototyping phase of a Laboratory-on-Chip (LoC) device requires more advanced test benches than typical other heterogeneous electronic systems. Indeed, a heterogeneous microsystem for particle manipulation and detection includes different types of components such as microfluidic, microelectronics, discrete devices, tubing, interconnections, computer interfaces and communication circuits among others, in addition to testing set-up which are different depending on the application (Lee *et al.*, 2007b; Ghallab et Badawy, 2004; Lee *et al.*, 2006; Ghafar-Zadeh et Sawan, Dec. 2007; Medoro *et al.*, 2007). Furthermore, LoC architectures differ depending on the application. For example, some of them are based on electric field, commonly called electrophoresis or dielectrophoresis (DEP), others are based on magnetic field known as magnetophoresis among other techniques (Lee *et al.*, 2006; Medoro *et al.*, 2007; Ghafar-Zadeh et Sawan, Dec. 2007; Miled et Sawan, 2010). Consequently, up to now, there is no software that can simulate LoC behavior for all applications and configurations. However, it is more difficult to model a LoC due to the complexity of dielectrophoresis theory and the application. In addition LoC covers many research areas that are combined together leading to a multidisciplinary approach. Despite the tremendous efforts to design a very accurate multiphysics simulation software such as ANSYS, and Comsol, the latter are still not mature enough to combine biological effects with electrical, fluidic and magnetic ones. In fact, it is not yet possible to include in one software, all possible biological effects due. One reason is because it depends on studied particles, injected liquid characteristics, membrane properties and other parameters.

Regarding the integration level, some LoC are a fully integrated systems with electrodes covered by a membrane inside microfluidic microchannels, while other electrodes are fabri-

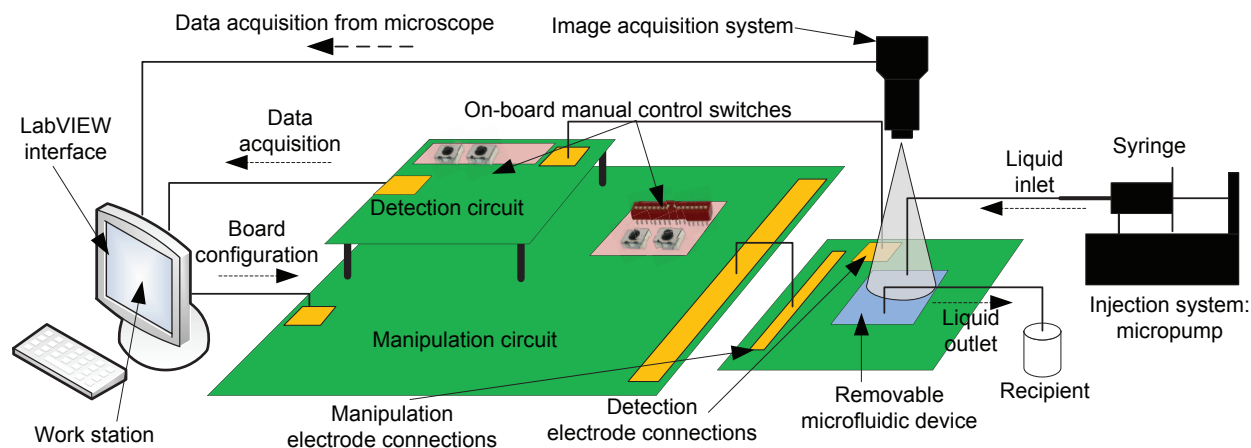


Figure 4.1 Proposed system configuration and diagram

cated on a simple printed circuit board (PCB) (Jang *et al.*, 2009; Manaresi *et al.*, 2003). Obviously, it is practically impossible to have a versatile test-bench set-up that covers all kinds of applications where LoC can be used, that is why a versatile prototyping platform is needed to characterize and test the microfluidic structure of the LoC before going toward miniaturized device.

Moreover, in a prototyping platform, the device area is not more of a constraint than the connectivity (i.e. making the electrical contact). However, it is important to be able to reconfigure the system depending on the application, the environment and the research field (Kaler et Dalton, 2007; Sawan *et al.*, 2010). Thus, having a system that can be extended is mandatory.

Several works provided rapid prototyping solutions focusing on the microfluidic side while neglecting tubing, controlling and connectivity. To bypass this problem, they often use a very complex system (Steigert *et al.*, 2007; Bhagat *et al.*, 2007; Cygan *et al.*, 2005).

Our main application in the presented system is the dielectrophoretic manipulation (A, 1978; Pohl *et al.*, 1978; Kaler et Pohl, 1983; Pohl et Kaler, 1979; Chang et Yang, 2007; Huang *et al.*, 1993). One of the major advantages of this technique is its well known theory based on the propagation of electric fields, which can lead to an advanced architecture of electrodes (et al., 1994; Jones, 1995; Huang et Pethig, 1991; Huang *et al.*, 2005). When combined with recent microfabrication techniques, new advanced architectures include more than 1000 electrodes. These new microfabrication techniques inspired many researchers to design reconfigurable systems in order to cover more applications instead of having a dedicated single design (Miled et Sawan, 2009; Keilman *et al.*, 2004). In addition, with reduced dimensions of electrodes, new cell manipulation techniques embedded on LoCs recently emerged such

as mixing, separation and horizontal or vertical cell motion (Gielen *et al.*, 2009; Markarian *et al.*, 2003; Li et Kaler, 2002; Wang *et al.*, 2007).

To overcome these limitations, an advanced prototyping platform is mandatory to observe different LoC behaviors while going toward an integrated dielectrophoretic system and designing an efficient model of the LoC. (Ghallab et Badawy, 2006; Harrison *et al.*, 2002; Ghallab et Badawy, 2005; Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008a; Linder *et al.*, 2006). By cons, making a prototyping platform requires deep knowledge of different parameters that have an impact on dielectrophoretic manipulation such as phase, frequency and amplitude (Gascoyne et Vykoukal, 2004; Park *et al.*, 2009).

In section 4.1.3, we introduce the LoC environment. Then, section 4.1.4 details the proposed prototyping platform including its microfluidic structure as well as the manipulation, data acquisition and the capacitive sensor. Finally, section 7.1.8 shows the experimental set-up and results.

4.1.3 LoC Prototyping System

The main advantage of the proposed system is its versatility and reconfigurability, including user interface, electrode configuration and particle manipulation. All parameters of the platform can be changed at any stage of the system. Indeed, through a computer-based interface, user can reprogram the FPGA and the microcontroller to configure the manipulation and detection circuits and also to operate in different modes. The manipulation circuit is connected to a PCB interposer to be linked to the microfluidic architecture through 64 pads. The microfluidic architecture is placed on a transparent support to be connected to both inverted and normal optical microscopes, as shown in Fig. 4.1.

There are two data acquisition systems : one of them is through a camera connected to a microscope and the other one is based on the capacitive sensing circuit. The images captured by the microscope are sent to a data processing system on MATLAB to determine the number of particles on the image, while a LabVIEW interface shows and records the change in capacitance at different locations of the microchannel. The injection of liquids into the microchannel is done through a micropump. This rapid prototyping environment can be used for any dielectrophoretic manipulation and capacitive sensing.

4.1.4 Proposed Prototyping Platform

An ideal prototyping platform for a microfluidic architecture should be able to handle particle manipulation and detection in any area of microchannel with a reconfigurable architecture as shown in Fig. 4.2. The proposed platform is dedicated for DEP manipulation ;

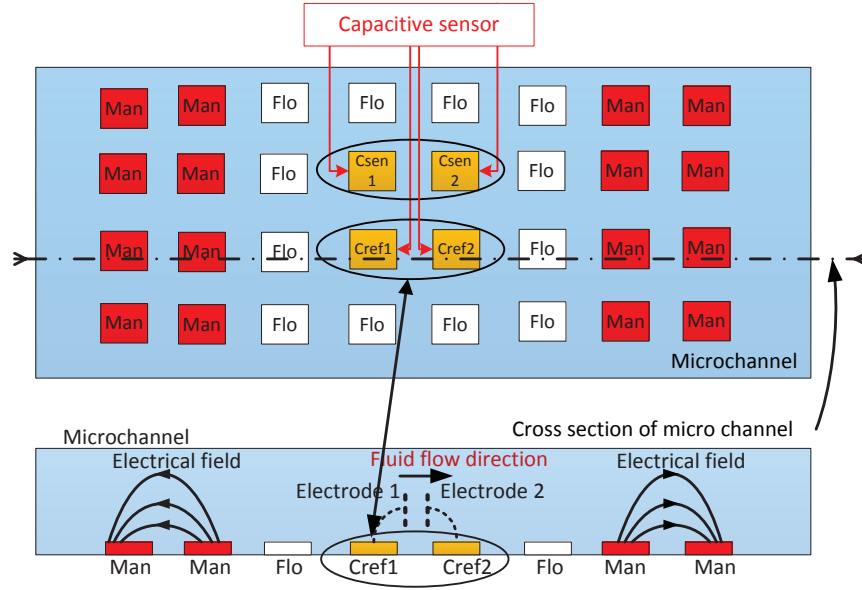


Figure 4.2 Microfluidic architecture for precise particle manipulation

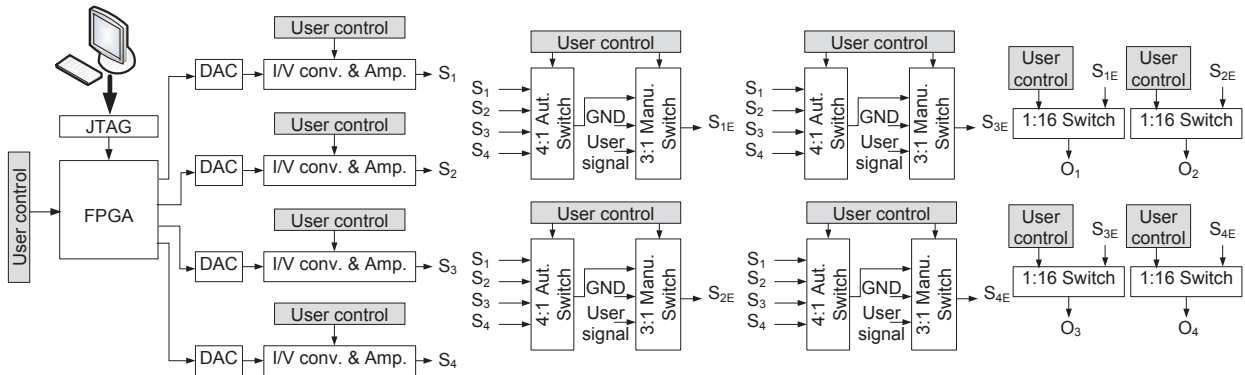


Figure 4.3 System block diagram

consequently, all particle manipulations are DEP based. Thus, architecture detailed in Fig. 4.2 shows an array of square electrode array, where each electrode can be set in three different modes which are floating (Flo), manipulation (Man) and detection. The detection mode is based on a differential capacitive sensing where the capacitance value is obtained based on a comparison between a reference capacitance (Cref) and the measured capacitance (Csen). Cref1 and Csen1 are the active electrodes, which inject current in liquid while Cref2 and Csen2 are connected to ground to collect current. Thus, measured capacitance (Cmes) detected by the sensor is equal to $C_{sen} - C_{ref}$ where C_{sen} and C_{ref} are capacitances measured by electrodes (Csen1, Csen2) and (Cref1, Cref2) respectively. Both manipulation and detection

can be handled in flowing or steady liquid. Manipulation electrodes are designed to generate a controlled electrical field to control DEP forces.

4.1.4.1 Electronics Platform

The electronic circuit is designed to be used in any application for microfluidic manipulations involving the use of an electric field. The prototyping system has two units : a unit for microfluidic manipulation and another for capacitive sensing.

4.1.4.1.1 Manipulation Circuit Design As shown in Fig. 4.3, the block *User control* in gray, is placed at several places in the circuit, which allows the user to control the frequency and phase of all signals generated by the FPGA. The amplitude of each signal is controlled through the amplifying unit by selecting one of four signals S_1 , S_2 , S_3 and S_4 to send to a block of the electrodes. Also, the platform allows the user to add another external signal, which allows a second type of selection. Finally, I/O of the platform are divided into 4 blocks of 16 outputs each. Each output can be connected or isolated from the PCB in addition to be connected to another external signal. The configuration of the Xilinx Spartan 3SE is done with conventional JTAG connector on the PCB, which allows the card to be reconfigured. The configuration of the frequency and phase is done through a 16 and 8 bits bus, respectively. Finite state machines (FSM) controls the reading operations of memory blocks in the FPGA where the 4 manipulation signals are stored.

Fig. 4.4 shows how the FPGA manages each memory block. Indeed, the circuit has a first-level FSM identified by *FSM L1* in Fig. 4.4 that controls the operating frequency of the 2nd level FSM *FSM L2*. The latter manages the frequency of signals generated by the FPGA while also controlling the phase shift by activating a pointer after a period defined by the user. A counter controls this pointer that enables the "memory read operation" from a particular memory cell to generate signals with different phases. Since the FPGA can be reprogrammed on the platform by JTAG, the PCB configuration may be reviewed depending on the needs of the application.

Digital signals generated by the FPGA are encoded on 8 bits each and connected to a DAC with a current output. Control of the amplitude of signals is done through the monitoring of the reference voltage of DACs. By varying the reference voltage of DACs between 0 and 12V, the signal amplitude varies from -12V to +12 V through the first amplifier that converts the DAC current output to positive voltage, and through a second amplifier that generates the negative voltage. The platform provides access to both types of voltages depending on the

desired particle manipulation. Once the 4 signals are generated, they are redistributed to the 64 electrodes through two levels of multiplexers. The *Switch* 4 : 1 allows a selection between 4 signals from the FPGA and the *Switch* 3 : 1 allows a selection between an FPGA signal and an external signal provided by the user. Finally, the platform connects 4 different signals to a block of 64 pins through $4 \times 1 : 16$ *switch* and through jumpers allowing users to isolate each electrode and connect it to another external signal.

4.1.4.1.2 Detection Circuit Design The capacity variation on the microchannel is detected using PS021 sensor. A reference capacitance is connected, together with the capacitive sensor and discharge resistor. Both capacities are assumed to be at the same range to limit the gain drift. The capacitance variation is in the range of few femto-farads to a few dozen nanofarads. The PS021 enables communication with a microcontroller based on an SPI bus. Reference and sensing capacitance are first charged to the power supply voltage and then discharged through a resistor. Then the discharge time is measured up to threshold voltage.

Through the resistance R, the discharge time is set between 2 and 10 microseconds and the resolution of the capacitive sensor is set to femto seconds.

For applications requiring high resolution, a compensated mode of PS021 can be used. This mode achieves extremely small gain drift and offset. For this mode, the capacity must be connected between the ground and an analog switch to reduce the parasitic interferences from components and wiring. Consequently, the gain drift is in the range of 10 ppm.

The use of microcontroller Atmega16 not only allows controlling the capacitive sensor through the SPI bus, but also provides other features in the circuit such as the serial communication RS232 and an LCD screen to show the capacitance variation in addition to transfer data from computer to FPGA.

The control of the whole system is achieved through a LabVIEW interface. This interface uses the USART RS232 communication protocol and processes data transmitted by the microcontroller with a frequency greater than 100 kHz.

4.1.4.2 Prototyping Microfluidic Platform

The microfluidic prototyping architecture includes several designs to perform various tests. To make contact between the PCB and the microfluidic electrodes, pads are added around the glass substrate, as shown in Fig. 4.6. The whole substrate contains 247 pads to apply and/or acquire signals from electrodes. The thickness of two glass plates assembled together is 1mm. The fabrication process was made by Lionex, inc.

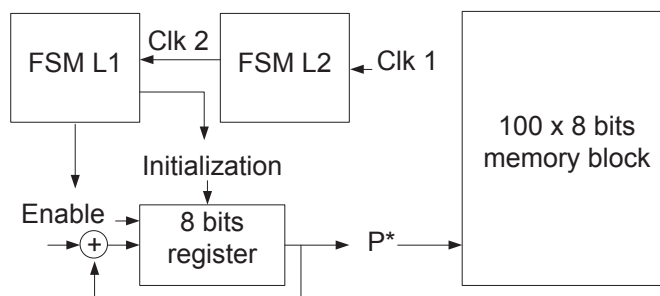


Figure 4.4 FPGA memory management module diagram

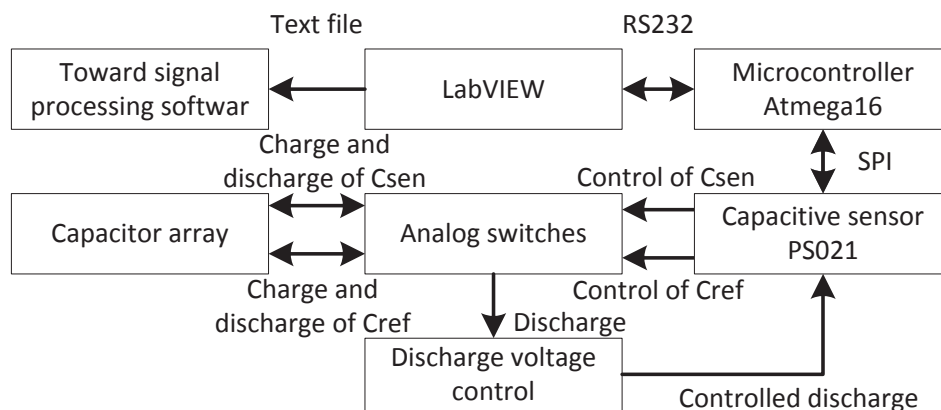


Figure 4.5 Proposed sensing system diagram

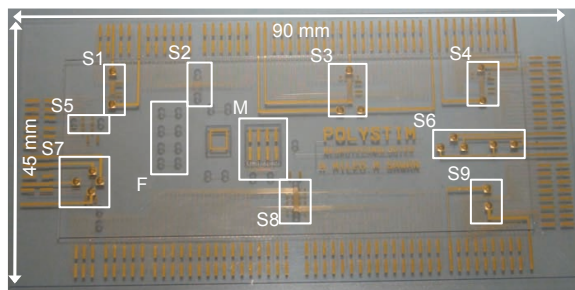


Figure 4.6 Fabricated microfluidic substrate including 9 microfluidic architectures with in-channel electrodes (S1 to S9), one microfluidic architecture for CMOS chip integration (M) and 4 microfluidic channels for packaging tests (F)

Thus, the microfluidic prototyping platform allows testing particle separation and manipulation by planar electrodes or by the newly introduced L-shaped electrodes. The latter provide horizontal and vertical manipulations as shown in Fig. 4.7b. Other configurations of electrodes are placed at 90° for particle mixing and other interdigitated electrodes are also implemented to test various detection techniques and particularly capacitive sensing.

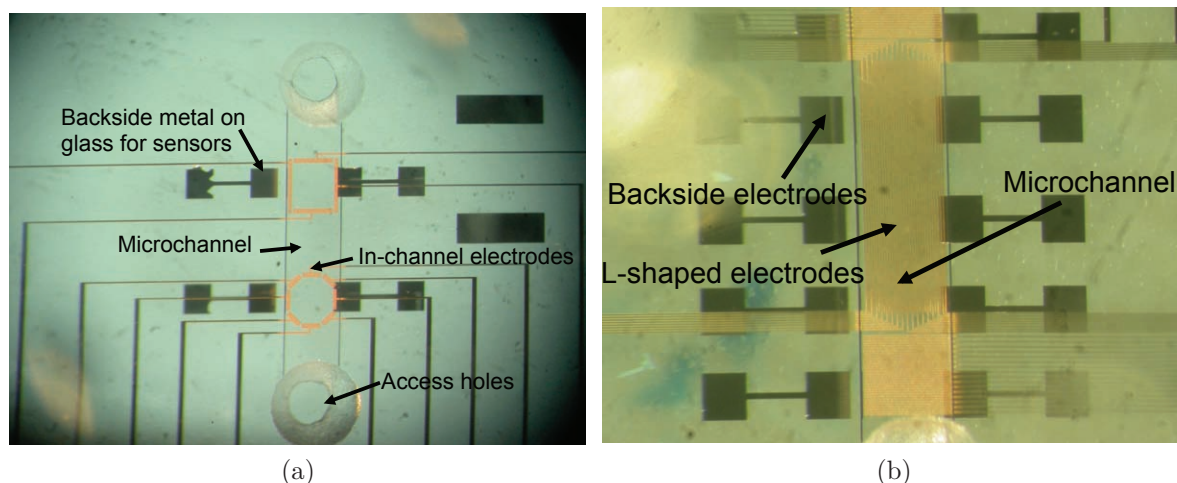


Figure 4.7 Examples of designed architectures included in the microfluidic substrate of (a) S9 and (b) S8

Furthermore, other electrodes are fabricated on the bottom side of the bottom glass to test other configurations as shown in Fig. 4.7b. Indeed, it is often necessary to add an insulation layer on the top of the electrodes that are used for capacitive sensing to avoid creating short circuit and generating osmosis if a large current is injected. Indeed, if the distance between the electrodes is very short, the flowing current generates a chemical reaction in water involving bubbling. Thus, other electrodes are placed in the bottom of the microfluidic architecture so that they are separated from the liquid by the glass plate whose thickness is 500 μm .

4.1.4.3 Prototyping Packaging Solution

The packaging is made so that the microfluidic architecture can be manipulated or observed on a standard, inverted or fluorescence microscope. For this reason, a cut-off area in the center of PCB is needed. The microfluidic substrate is placed on the latter for optical observations. To strengthen the structure, a plexyglass support was made on which the microfluidic structure and the PCB are put. To ensure electrical contact between the PCB and microfluidics PADS, a conductive tape is placed on the electrode surface. We tested two types of tapes : Adhesive Conductive Film (ACF) 9703 from 3M and adhesive copper tape. The advantage of the ACF consists of placing one layer through all the PCB, and by pressure, an electric contact is established between top and bottom pads. The drawback of the copper tape is that it must be cut in small pieces and placed on the electrodes and by pressure, contact is established. Though, removing the copper tape to place the structure remains easy. Obviously, there are other solutions to such assemblies such as depositing bumps

on the PCB; however, this solution can be expensive and requires more processing steps. The detailed packaging process is presented in Fig. 4.8.

To connect tubes to microchannels, we propose two different techniques. The first one consists of the use of 741 epoxy from Epotek, which is a good solution if the microfluidic architecture is not reusable, if not, a second technique based on a polydimethylsiloxane (PDMS) is used by adding a thin layer of PDMS (Sylgard 184 (10 :1)) containing the same access hole as ones on the glass, but with a diameter slightly smaller than the micro tubes to avoid liquid leakages. First, the glass is cleaned using ethanol. Subsequently, the glass plate is heated to 80°C , while the PDMS is polymerized and heated to 80°C . Then, the access holes are designed on the PDMS using biopsy punch and immediately stuck to the top glass. The PDMS access holes are smaller than the micro-tubes to ensure good sealing by pressure as shown in Fig. 4.9.

4.1.4.4 Proposed Communication Protocol

A first protocol manages communication between LabVIEW and detection circuit, a second is processing images acquired by the microscope, and the third one, set the configuration of particle manipulation module as shown in the diagram of Fig.4.10.

4.1.5 Results

4.1.5.1 Experimental set-up

The experimental Set-up is composed of all parts shown in Fig. 4.11. The used microscope PM5 is from Karl Suss with "infusion-only" micropump from Cole-Parmer. The used tubes to connect 10 ml syringe to micropump are from Cole-Parmer as well. Their inside and outside diameter are $100\ \mu\text{m}$ and $1\ \text{mm}$ respectively. Consequently, they can be inserted into the glass access holes whose diameter is $1.5\ \text{mm}$. Then 741 epoxy from Epotek can be deposited around tubes for permanent sealing since the microfluidic structure is used in this system for testing purpose only and not in a real application. The design of the proposed electronic platform is shown in Fig. 4.12. The microfluidic prototyping platform is shown in Fig. 4.13.

4.1.5.2 Experimental Results

The system was tested using carboxyl-modified polystyrene beads (Bangs Laboratories Inc.) of $500\ \text{nm}$ and $2\ \mu\text{m}$ diameter after an application of phase shift of 180° . Depending on the direction of the liquid flow in the microchannel, the cycle of manipulation of microspheres may vary. In this presented work, microspheres first go through vertical and horizontal manipulation, and then are mixed to be finally placed in the detection area of the microchannel.

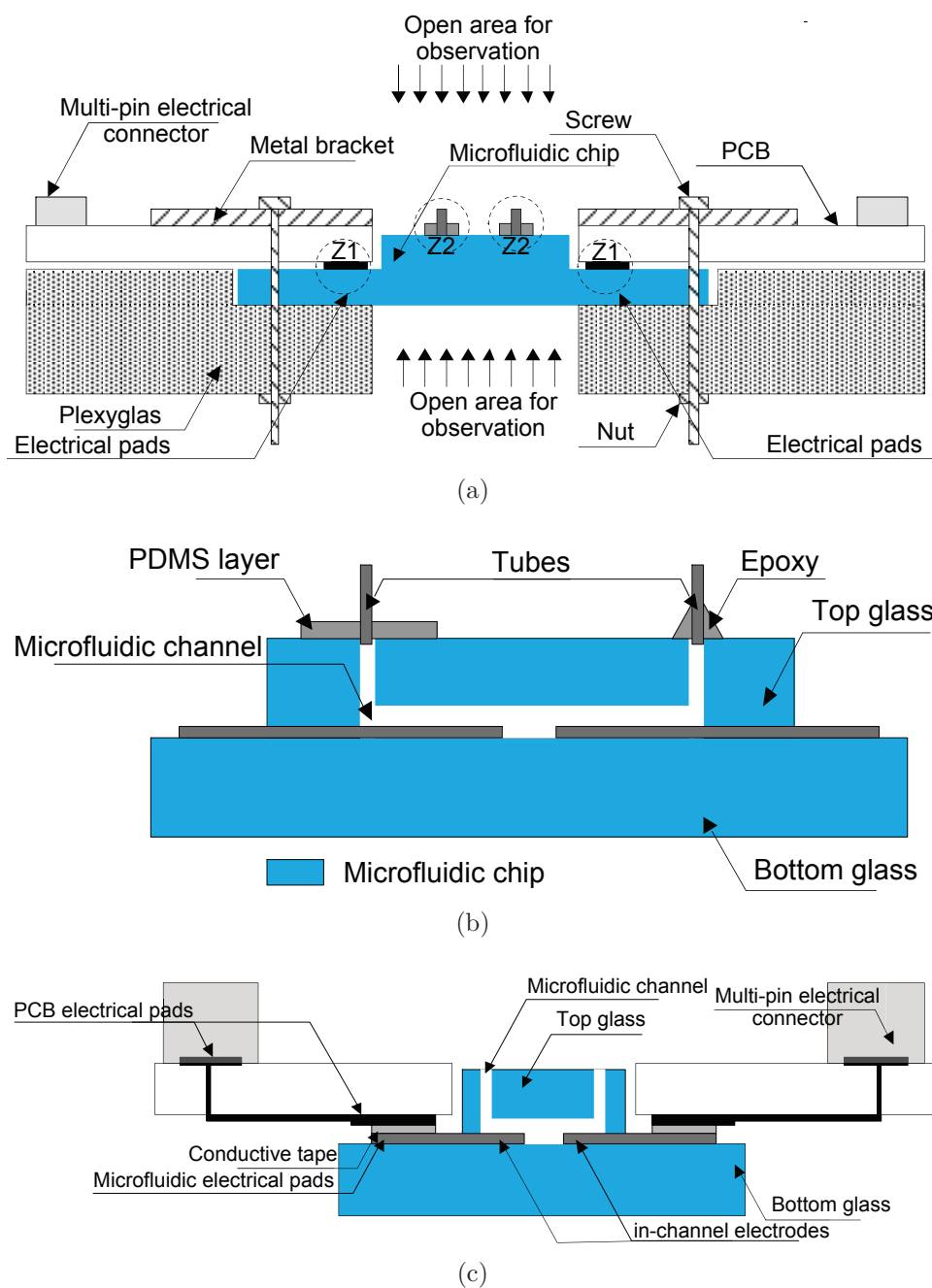


Figure 4.8 New proposed packaging technique

This cycle aims to verify the operation of each electrode. Fig. 4.2 shows the movement of particles in the case of manipulation with the horizontal L-shaped electrodes. The rotational particle motion is due to the type of signals applied to the electrodes and which are shown in Fig. 4.15. By applying an electric field generated by 180° phase shift signals on polynomial electrodes shown in Fig. 4.15a, particles are pushed toward a rotary motion. Since the ma-

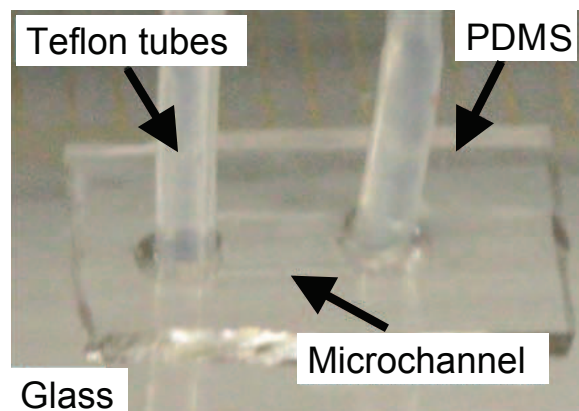


Figure 4.9 Proposed tubing technique using PDMS-based process

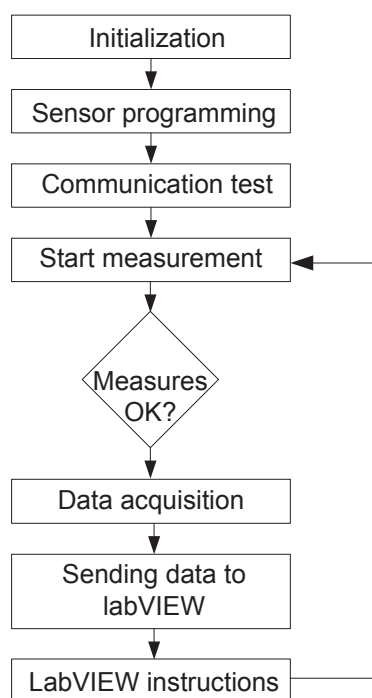


Figure 4.10 Communication protocol

manufacturing process of the electrodes in the microchannel is based on a single layer of metal, it is impossible to connect each electrode independently. Consequently, every two adjacent electrodes are connected together to the same signal as shown in Fig. 4.15. We have designed different mixing processes starting with large electrode $100\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$, then $50\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ and finally $30\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$.

When a ACF is used as shown in Fig. 4.16, the resistance between the PCB interposer pads and the microfluidic pads is $50\ \Omega$. By cons, in the case of wire bonding it is $5\ \Omega$. As the flowing

current between the in-channel electrodes is in the range of mA, the voltage attenuation is varying between 5 mV and 500 mV. The proposed prototyping system has an output voltage range between $\pm 1.8 V_{pp}$ and $\pm 12 V_{pp}$, the output voltage range in the worst case will be between $\pm 1.3 V$ and $\pm 11.5 V$ which is acceptable and does not affect the dielectrophoretic manipulation considerably. The performance of the prototyping platform is summarized in table 6.1. It includes a Xilinx Spartan 3SE and a capacitive sensor PS021, which are major components of the PCB. The PCBs are fabricated by Advanced Circuits (Aurora, CO, USA). In addition, a high voltage analog switch ADG1209 from Analog Devices has been added to allow selection of one signal among 4 signals provided by DACs and FPGA. The base clock of the FPGA is 50 MHz, which generates sinusoidal signals with a maximum frequency of 3.4 MHz. The platform is designed to allow the user to modify each part of the circuit manually via jumpers, the PCB dimensions are (12 cm \times 12 cm). The microfluidic platform has 247 input and output pins to dispatch electrical signals across the microfluidic channels. This flexibility allows mounting approximately any microfluidic architecture. Different thicknesses of the PDMS were tested such as 0.45 mm, 1 mm and 1.75 mm. The best adherence was achieved, with PDMS thickness 0.45 mm. The liquid flow speed is monitored through a Cole-Parmer micropump. Both the 0.45 mm and 1 mm PDMS layers were tested with 50 μ m channel depth. The PDMS is removed from the glass at 0.5 μ l/min and 2.5 μ l/min injection flow rate for the 0.45 mm and 1 mm PDMS thickness, respectively. Finally capacitance variation was observed between different electrodes in microchannel using the prototyping platform. It can be seen that the highest capacitance is obtained when electrode are close to each others (E1-E2) and (E2-E3) as shown in Fig. 4.14 and Fig. 4.17. We notice also a sudden change of capacitance when selecting different electrodes. This variation happens when selecting another position of the manual switch in the platform.

4.1.6 Discussion

Our work can mainly be compared to the prototyping platform designed by Dalton and Kaler (Kaler et Dalton, 2007). Both platforms are designed for particle manipulation in order to have a prototyping and reusable system for microfluidic DEP manipulation. In both cases, we used PDMS as efficient tubing technique for low pressure application. However, the PDMS layer we used is thinner (0.45mm) and can support a sufficient liquid injection rate (3.33 μ l/min). Our platform uses low coast ACF while Dalton's and Kaler's used ZIF connection. Our choice of ACF is mainly motivated by the large number of I/O of the microfluidic structure, irregular pad shape and misalignment problem as shown in Fig. 4.18. In fact, ACF is a thin film which covers all connection area and where electrical connections are established through the vertical direction only. In addition ACF can fit any shape of pads,

Tableau 4.1 Prototyping platform comparison, improved or different characteristics are highlighted in bold font where TWD and ROT refers to travelling wave dielectrophoresis and electrorotation respectively

Parameter	(Kaler et Dalton, 2007)	This work
Number of electrode inputs in the microfluidic chip	120	247
Microfluidic-microelectronic connection type	ZIF	ACF
Microfluidic viewing area (thickness x width x length)	1 mm x 80 mm x 36 mm	1 mm x 80 mm x 35 mm
Glass type	Borofloat	Borofloat
Electrode architecture included in the platform	TWD, ROT, Interdigitated, castellated	TWD, ROT, Interdigitated, L-shaped
Minimum inter electrode gaps for ROT electrodes	100 μm	40 μm
Minimum electrode width	4 μm	10 μm
Tubing	PDMS	PDMS or Epoxy
PDMS thickness	3 mm or 6 mm	0.45 mm or 3 mm
Maximum flow rate	5 $\mu\text{l}/\text{min}$	3.33 $\mu\text{l}/\text{min}$
Particle manipulation technique	DEP	DEP
Maximum frequency with no degradation of signals	4 MHz	3.4 MHz
Maximum voltage	10 V_{pp}	12 V_{pp}
Number of different input signals	4	64
Signal phase control	External device	Embedded control with a resolution of 3.6°
Sensing circuit	Not Available	Capacitive sensing with a sensitivity of 50 fF

being a simple film that can be deposited anywhere, especially when the number of I/O of the microfluidic structure is high (247 in our case). ACF can be easily removed by acetone. In addition, the assembly technique of microfluidic structure that we proposed is independent from the microscope and can be used in any place. Our proposed platform consists of a fully embedded system where all electronic circuitry is integrated on the same board. Furthermore, our proposed electronic platform offers a wide range of signals, including sine, triangle or square waves for both standard and digital microfluidic applications and a capacitive sensing circuitry.

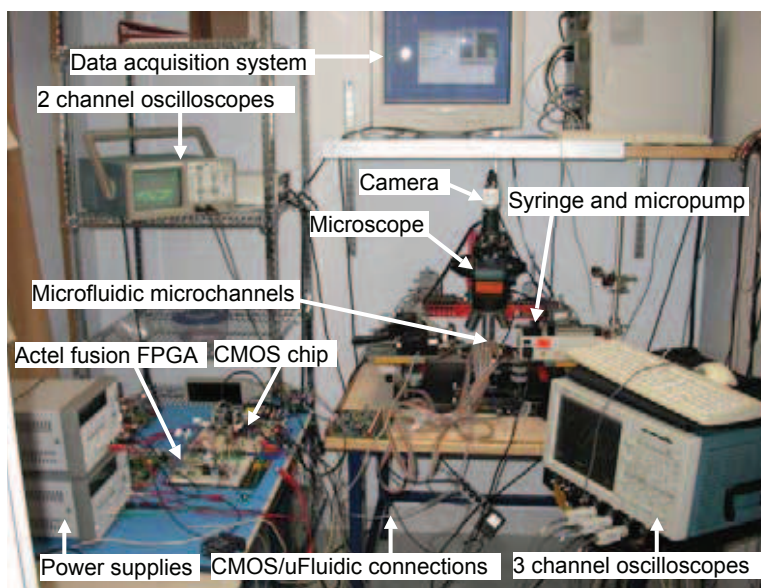
Besides the fact that the designed platform is a complete system and is designed for DEP application, it is also extendable. In fact, a chain-connector is integrated into the main board to connect to another electronic board. The proposed concept is similar to commercial FPGA development kits where users can connect different boards together. In our case, an automated electrode controlling electronic circuit is being developed to connect to this system. This way, we will have the first fully automated microfluidic system. This feature is necessary for a closed loop system controlled by the FPGA and to reduce the interferences in the sensing system. This part will be part of up coming publications.

4.1.7 Conclusion

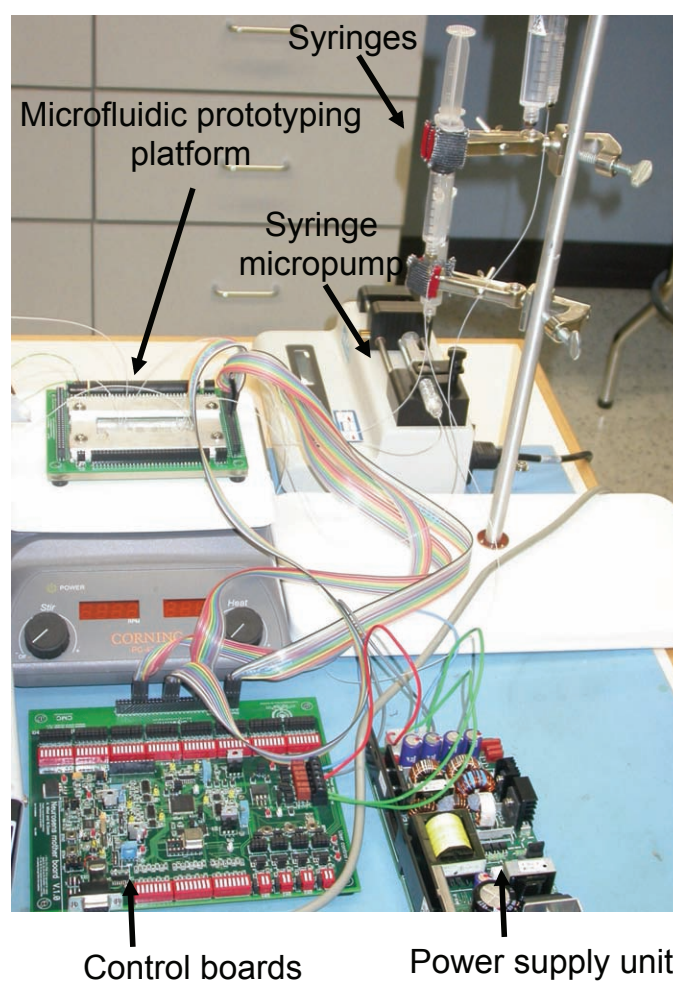
In this paper we presented a microfluidic fast prototyping platform, which offers many advantages. The main advantage of the proposed platform is to provide a versatile tool for research purpose to study and analyze the LoC behavior when simulation using FEM software cannot give convincing results and also to confirm simulation results. Also, the modular aspect of the system keeps it ready for any extension or upgrade for other applications. In addition, the proposed platform provides a powerful tool to analyze a wide range of liquids and particles with a programmable signal amplitude, phase shift and frequency, up to 12 V, 360° and 3.4 MHz. The phase shift sensitivity was 3.6°. The platform is dedicated for rapid prototyping. Thus all parameters have to be reconfigurable to cover wide ranges of application.

Acknowledgment

The authors acknowledge the financial support from NSERC and Canada Research Chair on Smart Medical Devices, and are grateful for the design and simulation tools supplied by CMC Microsystems. Authors, also thanks Laurent Mouden for his help in this project.



(a)



(b)

Figure 4.11 Experimental set-up (a) with all testing equipment and (b) prototyping platform

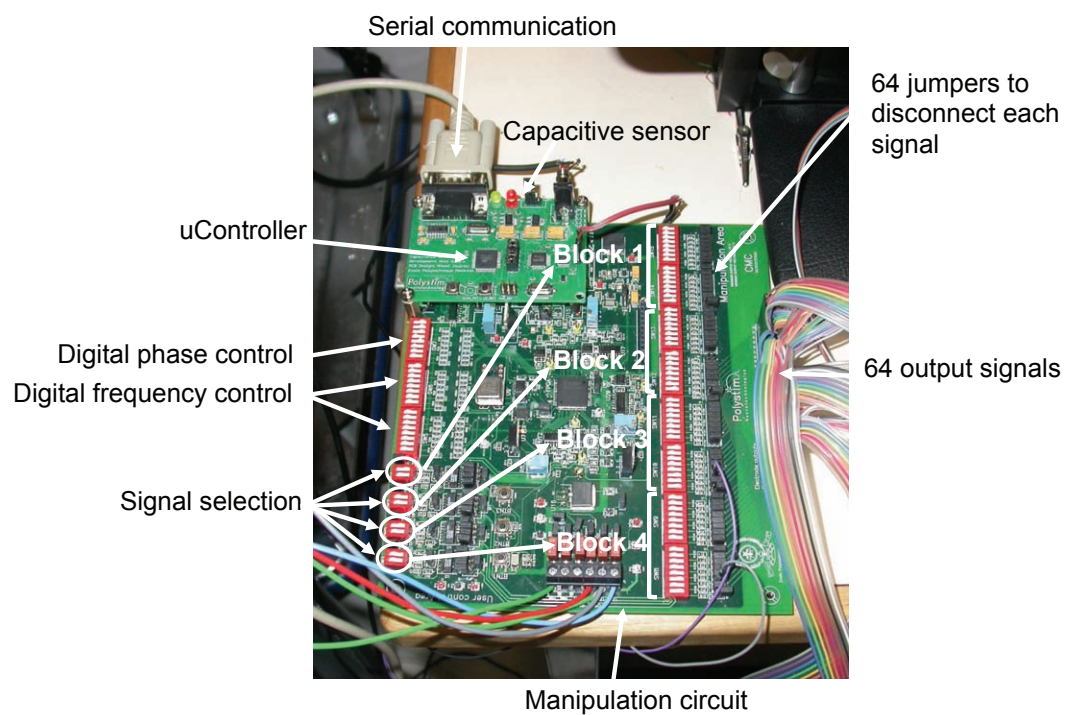


Figure 4.12 Reconfigurable electronic board for the rapid prototyping platform

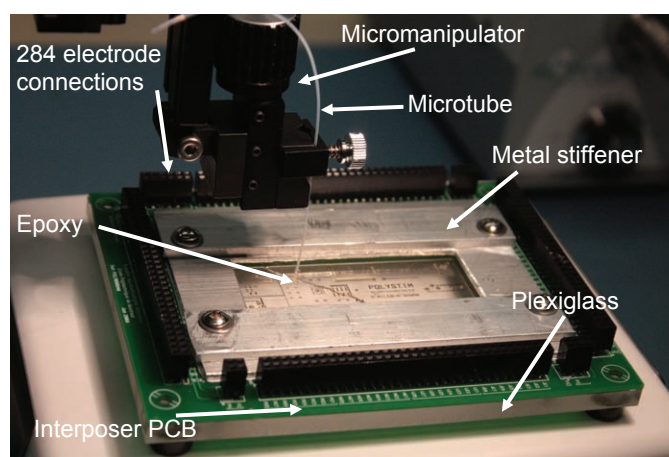


Figure 4.13 Extendible microfluidic packaging for prototyping purpose

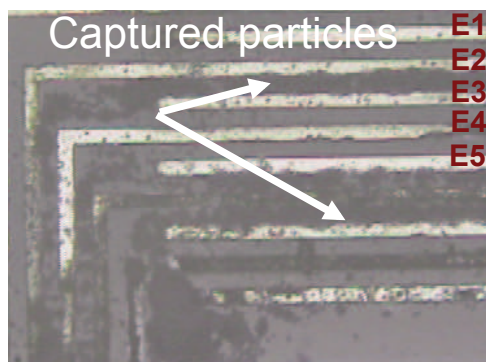


Figure 4.14 Captured particles for horizontal DEP manipulation using L-shaped electrodes

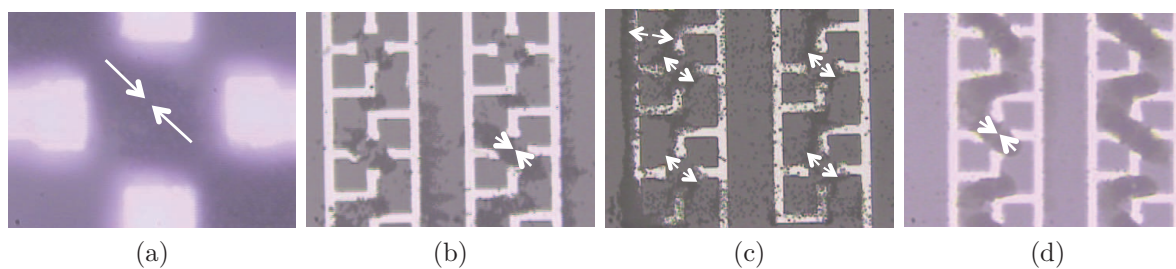


Figure 4.15 Rotational electrodes with 2 μm microsphere in case of (a) and (b) pDEP and (c) and (d) nDEP

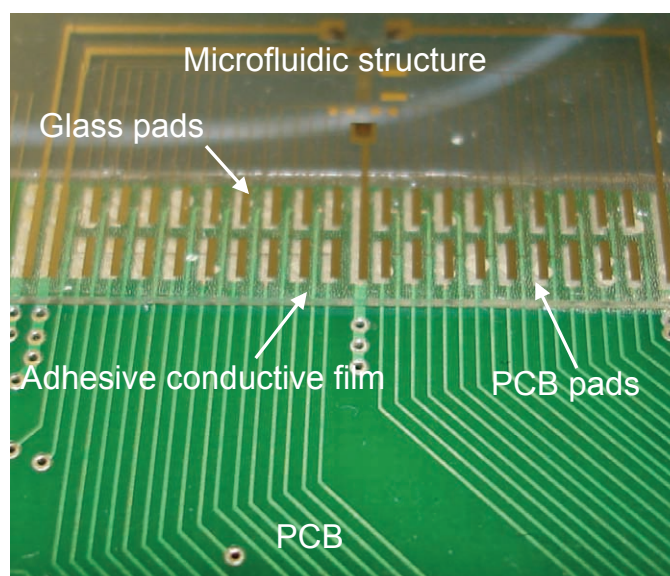


Figure 4.16 Microfluidic-PCB connection using ACF

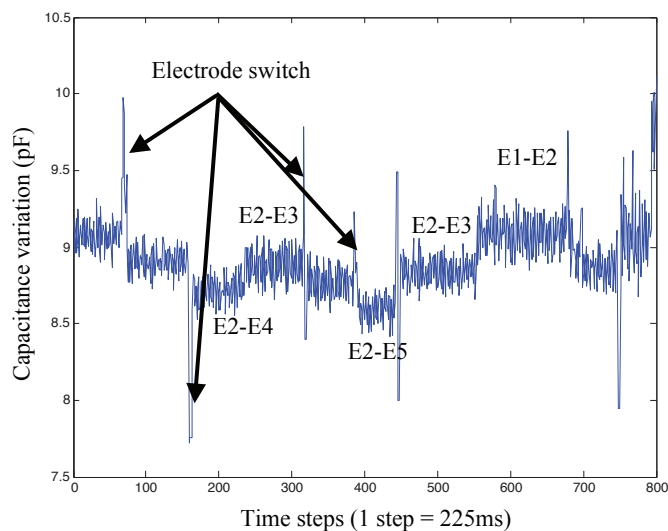


Figure 4.17 Capacitance variation in microchannel acquired by the proposed platform

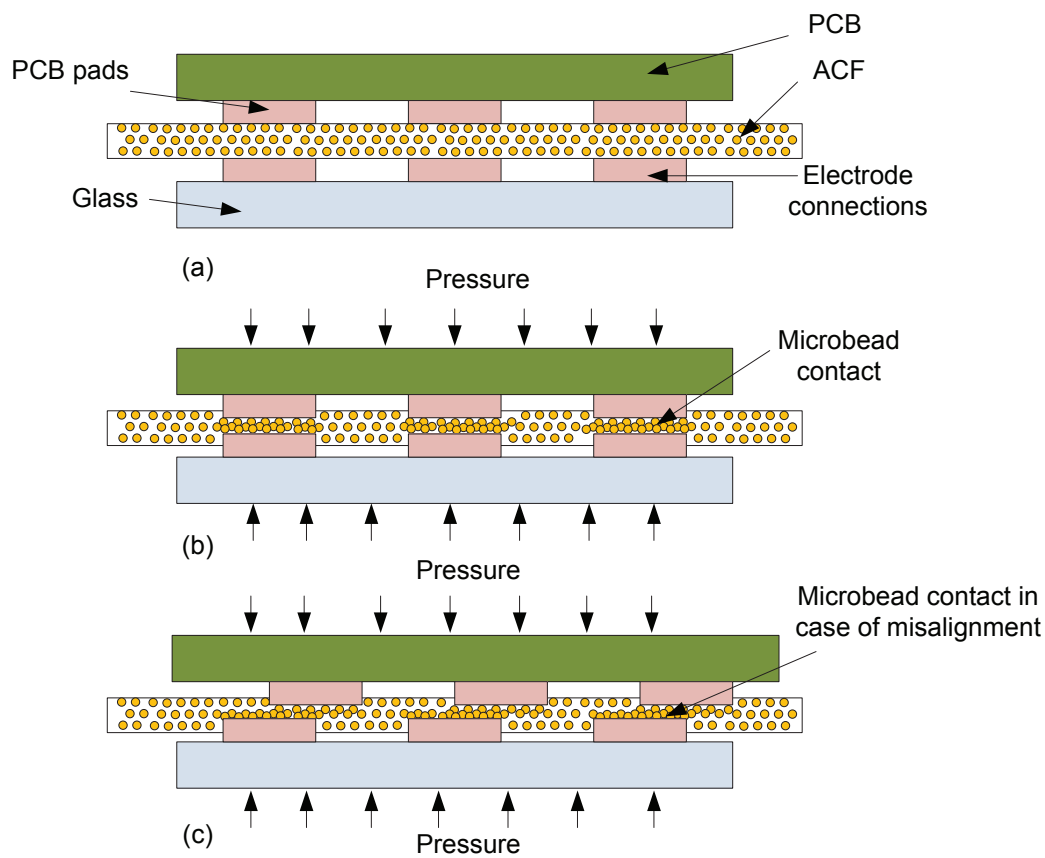


Figure 4.18 Glass-PCB connection using ACF : (a) ACF deposition, (b) ACF contact in case of good alignment and (c) in case of misalignment

CHAPITRE 5

Laboratoire sur puce pour la manipulation des micros et nanoparticules par diélectrophorèse et détection capacitive

Dans ce chapitre, nous introduisons tout d'abord, le concept de laboratoire-sur-puce. Ensuite, nous abordons en détails la partie microélectronique qui consiste en la première puce fabriquée avec la technologie $0.18 \mu m$ et qui est complètement programmable. En effet, cette dernière permet de générer un champ électrique à partir de signaux électriques ayant une fréquence, une phase et une amplitude programmable. La programmation du déphasage ainsi que la fréquence est digitale, alors que celle de l'amplitude est analogique. La plage de variation de la fréquence peut atteindre 1.5 MHz, alors que le déphasage minimal qui peut être configuré est de 3.6° . L'amplitude peut varier de -1.3 V jusqu'à 1.4 V et le tout contrôlé par deux amplificateurs pour un réglage fin et grossier. Les résultats obtenus montrent une séparation diélectrophorétique efficace des micro et nanoparticules (PC05N, PA04N et PS03N) à travers une identification fréquentielle de chaque particule.

5.1 Article 2 - Dielectrophoresis-Based Integrated Lab-on-Chip for Nano and Micro-Particles Manipulation and Capacitive Detection

Mohamed Amine Miled, and Mohamad Sawan
Published in IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems,
Vol. 2, No. 2, pp. 120-132, 2012

5.1.1 Abstract

We present in this paper a new Lab-on-Chip (LoC) architecture for dielectrophoresis-based cell manipulation, detection, and capacitive measurement. The proposed LoC is built around a CMOS full-custom chip and a microfluidic structure. The CMOS chip is used to deliver all parameters required to control the dielectrophoresis (DEP) features such as frequency, phase, and amplitude of signals spread on in-channel electrodes of the LoC. It is integrated to the LoC and experimental results are related to micro and nano particles manipulation and

detection in a microfluidic platform. The proposed microsystem includes an on-chip 27-bit frequency divider, a digital phase controller with a 3.6° phase shift resolution and a 2.5 V dynamic range. The sensing module is composed of a 3×3 capacitive sensor array with 10 fF per mV sensitivity, and a dynamic range of 1.5 V. The obtained results show an efficient nano and micro-particles (PC05N, PA04N and PS03N) separation based on frequency segregation with low voltages less than 1.7 V and a fully integrated and reconfigurable system.

5.1.2 Introduction

Recent research activities focusing on brain-machine interfaces intended for either stimulation or recording have shown promising results. However, most of these devices are using metallic electrode interface to exchange charges resulting on current and voltage information. Thus, no much information is retrieved or exchanged about the brain activity in terms of biological reaction. In fact, electrical signal in the brain are closely related to neurotransmitters activity but it is not possible at the moment to confirm a correlation between the neurotransmitter activity and the recorded electrical signal because of the absence of coherent data regarding their concentration, propagation or dysfunction. Interfacing electrodes with the brain tissues even by using biocompatible material may imply a rejection or may provoke an infection (Yousif *et al.*, 2008; Nelson et Pouget, 2010). The proposed LoC has a different approach, which consists of in situ analyzing the brain liquid composition. The advantage of later method is avoiding direct contact between the brain tissues and metallic electrodes by sampling and injecting the brain liquid through the LoC microchannels. This LoC platform, intended to prove the concept of particle separation based on the medium-particle characteristics, is a part of an on-going project, where we are focusing on the microelectronics part for nano and micro particles manipulation including the required microfluidic structure. Project covering other parts such as the sampling system, and the power supply circuitries are undertaken and will not be covered in this paper.

Indeed, through the new microfabrication techniques using lithography, dry etching, and nanoimprint solutions, manufacturing complex microfluidic structures and electrodes is easier but more challenges still exist in the range of micrometers and nanometers. Consequently, the integration of microelectronics circuit on-chip opened a new era for LoC devices. In fact, reducing the electrode size leads to applying small voltage signals to generate an efficient EF for cell separation and manipulation (Masuda *et al.*, 1987; et al., 1998). Furthermore, the use of miniature architectures involve manipulation of small liquid sample less than 2 picoliters as the intra-neuronal space is less than 5 nm where all neurotransmitters are transmitted. However, the LoC is not intended to analyse the neurotransmitters concentration in spaces separating neurons, but in a larger area defined by the access holes of the LoC which is 1.5

mm with the actual device.

Several research works have dealt with designing a hybrid system for cell manipulation and capacitive detection with embedded electrodes called in-channel electrodes inside a microfluidic system controlled by a microelectronics circuit (Heer *et al.*, 15 Sept. 2004; Wake et Brooke, 2007, 2008; Ghafar-Zadeh *et al.*, 2010; Ahmadi et Jullien, 2009). The main focus of latter works is to manipulate cells using dielectrophoresis through a CMOS chip that generates an electric field (EF) with low voltages. Indeed, using dielectrophoresis leads to an easier system integration as it can be controlled by a dedicated integrated circuit which implies an easier microsystem set-up unlike other techniques such as magnetophoretic manipulation that have more constraints (Pamme et Wilhelm, 2006; Tanase *et al.*, 2005) or other optical manipulations (Blanco *et al.*, 2006). Table 5.1 presents a comparison between the main cell manipulation techniques. In fact, magnetophoresis or optical manipulation, when integrated on a CMOS chip, needs a conversion of electrical signals into a magnetic field or converting an optical effect into an electrical signal. These conversions, however feasible, require an intensive study on their good efficiency.

On the other hand, dielectrophoresis is based on electrical signals that are applied directly on the electrodes, which reduce the complexity of the LoC (et al., 1994; Wang *et al.*, 1996) while having an efficient cell manipulation as explained by Manaresi et al. (Manaresi et al., 2003; Medoro *et al.*, 2007). Furthermore, DEP has a wide range of applications and several cell separation techniques have been proposed. Among these techniques is cell trapping created by a dielectrophoretic cage (Manaresi et al., 2003). This technique involves the generation of an electrical field by applying two 180° phase-shifted signals with an amplitude of 3.3 V and distributed through a square electrodes array on a CMOS chip. Another technique consists of applying three 90° phase-shifted signal voltages on planar electrodes to move cells in a given direction (Hughes *et al.*, 1996; Li et Kaler, 2002; Kua *et al.*, 2008). Furthermore, DEP can be applied in DNA separation (Mayer *et al.*, 1994) for example, which makes this technique very versatile.

Basically, a LoC contains two important components among others, namely, the manipulation and the sensing system. However, there is intensive research on the sensing system instead of the manipulation circuit. This is due to the fact that it is easier to integrate a sensing circuit on-chip without any advanced post processing. On the other hand, the disadvantage of biosensors is that they depend on the manipulation system and the injected cells' characteristics, as well as the solution that contains cells. For example, a solution with a high conductivity may distort the measurement of capacitive sensor, and the use of poly-dimethylsiloxane (PDMS) can affect measurements of fluorescence. Furthermore, the concentration of target cells influences the sensing performance; thus, a lot of work was done

Tableau 5.1 Cells manipulation techniques comparison (Ghallab et Badawy, 2004)

Ref	On-chip or off-chip	Particle size	Technique name	Limitations
(Talary et Pethig, 1994)	Off-chip	Yeast cells	Optical technique based on a dual beam optical spectrometer	Bulky, expensive, complex sampling preparation, not suitable for miniaturization
(Eyal et Quake, 2002)	On-chip and off-chip	$2.5\mu m$	Fluorescent Labeling	Cell modification by markers or antibody, expensive, bulky and complex to operate
(Fuller <i>et al.</i> , 2000)	Off-chip	$8.2\mu m$	Impedance Sensing Technique	Lack of integration capabilities with a separate microfluidic
(Medoro <i>et al.</i> , 2003)	On-chip with a PCB support	$3.4\mu m$	CMOS lab-on-a-chip microsystems	PCB based LoC
(Ahmadi et Jullien, 2009)	On-chip or off-chip	Blood glucose	Glucose biosensor	Dedicated for glucose
(Pamme et Wilhelm, 2006)	On-chip or off-chip	Macrophages Tumor cells	Magnetophoresis	Bulky and requires cell labelling with nanoparticles

to improve the sensitivity of the microelectronics circuit to detect a few femtofarads (Prakash et Abshire, 2008). With the emergence of new microfabrication techniques, complex micro-system designs can be made. Hence, capacitive sensing remains one of the best choices for on-chip integration despite the aforementioned limitations. The reason is that in most cases the solution used to mix cells is not highly conductive. An example of such capacitive sensor is the charge-based capacitive measurement (CBCM) (Sylvester *et al.*, 1997), which has a high sensitivity and accuracy. This technique was covered by several works including those of Ghafar-Zadeh et al. (Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008b; Ghafar-Zadeh et Sawan, 2007) who designed a CBCM circuit with a sensitivity of 1 fF/mV on a CMOS chip. In addition, given the wide integration potential of CBCM, another work demonstrated that using CBCM in the subthreshold region of transistors (Miled et Sawan, 2008) can improve both power consumption and sensitivity. The features of the CMOS chip depend on the application, type of cell, and solution among other parameters. Hence, DEP is an appropriate method controlling the electrical field propagation based on the above stated parameters.

In the present work, a first step consists of designing the suitable electrode architecture for cell manipulation using DEP and one metal layer technology, which is the available commercial micro fabrication process. This steps was achieved and detailed in (Miled *et al.*, 2011b). The choice of electrode depends on the expected DEP effect, thus we designed L-shaped electrode for horizontal manipulation and square and orthogonal electrode configuration for both mixing and separation. These two architectures can be done through the one-metal layer technology without affecting the electrical field propagation in the micro-channel. At the same time, capacitive sensor array architecture is designed to measure the variation of liquid conductivity in different area of the micro-channel which is affected by particle distribution in the micro-channel. However, the project is targeting neurotransmitters, the system is first tested with micro-spheres which have a close surface charge distribution to neurotransmitters with a minimum size available from "bangs laboratory".

We describe in this paper a new architecture of a reconfigurable CMOS chip that is dedicated for low-voltage applications using DEP for nano and micro-particles manipulation and CBCM-based sensing. This device represents a custom CMOS chip dedicated for a dielectrophoresis-based microfluidic LoC planned for in vitro tests as a first step before being packaged for in vivo experiments. The proposed LoC is intended for a self-driven device with different particles DEP manipulation including mixing, separation and trapping depending on the application in addition to an advanced sensing architecture. Thus, a fully automated CMOS chip is designed to be controlled by an FPGA. Based on a variable dynamic range sensing array, this chip integrates also an elaborated processing module enhancing the analysis time. The designed system is intended for neurotransmitters detection and separation

after being validated by nano and micro-particles.

In section 5.1.3, the LoC system is described, which includes the background of cell manipulation and introduces the capacitive sensing method. The proposed fabricated chip is detailed in Section 5.1.4. Section 5.1.5 presents the implemented microfluidic design and packaging of the LoC. Finally, simulation results of voltage and electrical field propagation in the microchannel are presented to investigate how particles will be separated and their displacement. Finally, global system setup and experimental results are the subject of Section 7.1.8.

5.1.3 LoC System and Background Description

A LoC consists of two main components, namely, the microfluidic and the microelectronics parts. Furthermore, the types of signals to be applied depend on the architecture and the configuration of in-channel electrodes shape, size, and distance between them. Thus, the design of a reconfigurable system can go through the previous constraints by using the microelectronics system to generate needed signals to be applied for the target application. However, LoC also has many other peripheral components that are as necessary as microelectronics and microfluidic structure such as packaging, tubing and control. Fig. 5.1 summarizes the different components of the proposed LoC. The discrete components to make the CMOS are placed on the bottom side of the PCB to minimize the implant area. The microfluidic platform is stuck on the top of the PCB and connected by wire-bonding to the latter. Bio-compatible package and liquid sampling are not covered in this paper but are undertaken for further tests. The proposed LoC is dedicated for neurotransmitter manipulation and detection; however, the device can be used for bigger molecules less than $10 \mu m$. In fact, the weight and size of the manipulated cells/particles/molecules is very important as force intensity required for cell motion may vary. The detection system is activated immediately after manipulation. Its main function is to detect the variation of the concentration of particles flowing through the microchannel of the LoC, which may indicate a possible malfunction in the neural connections.

Thus, the mid term objective of the project consists of finding a specific separation frequency that can be associated to each neurotransmitter called the crossover frequency to achieve a DEP separation. It will be considered as a neurotransmitter fingerprint. Based on DEP theory, the cross over-frequency depends on the Clausius-Mossotti factor (f_{CM}). f_{CM} is a relation between particle and medium complex conductivity which is frequency dependent and it varies from -0.5 to 1.5. Depending on value of the f_{CM} versus the frequency, two dielectrophoresis phenomena are observed; i.e. nDEP (particle attraction) or pDEP (particle repulsion). Thus, an investigation on the separation of nanoparticles by using DEP and f_{CM}

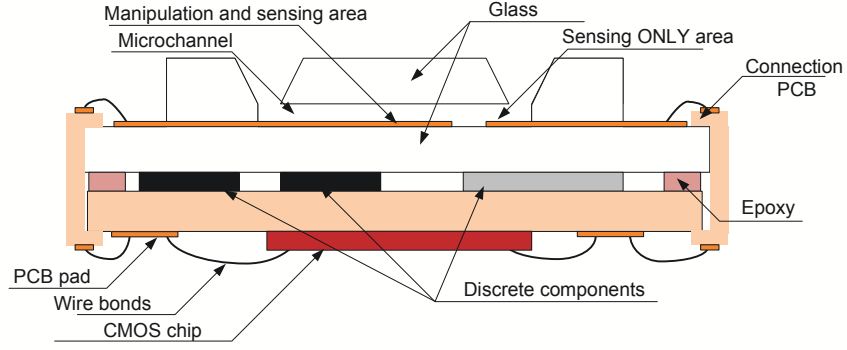


Figure 5.1 DEP-based LoC microsystem architecture using planar electrodes

is presented in this paper based on experimental results. As f_{CM} and DEP forces depend on frequency and electrical field generated by in-channel electrodes, the CMOS chip is monitoring all these parameters to find the exact cross-over frequency which can be associated with each nanoparticles.

The dielectrophoresis theory is based on several assumptions. One of these is that the radius a of the manipulated particle must be negligible compared to the dimensions of the microchannel in which the EF spreads. The microchannel is assumed to have the same height and width l and considering that $a \ll l$, then, the force exerted on an electric dipole can be written using a Taylor expansion as follows (Bruus, 2008) :

The dielectrophoretic force can be expressed in terms of phase as follows, (Wang *et al.*, 1996).

$$\begin{aligned} \langle \overrightarrow{F_{DEP}}(t) \rangle &= 2\pi\epsilon r^3 [Re(f_{CM}) \nabla \overline{E}_{rms}^2 \\ &\quad + Im(f_{CM}) (E_{x_0}^2 \nabla \varphi(x) \\ &\quad + E_{y_0}^2 \nabla \varphi(y) + E_{z_0}^2 \nabla \varphi(z)) \end{aligned} \quad (5.1)$$

where $\mathbf{E}_{rms} = \mathbf{E}/\sqrt{2}$, ϵ_1 and ϵ_2 are the medium and the particle permittivity, respectively. E_{x_0} , E_{y_0} , E_{z_0} are the EF component on the x, y and z axis $\nabla \varphi(\cdot)$ and $\nabla \overline{E}_{rms}^2$ are the phase ($\varphi(\cdot)$) and the EF gradients respectively. $Re(f_{CM})$ and $Im(f_{CM})$ are the real and imaginary part of the complex value of The Clausius Mossotti factor f_{CM} respectively. The f_{CM} is defined as follows.

$$f_{CM}(\epsilon_1(\omega), \epsilon_2(\omega)) = \frac{(\epsilon_2(\omega) - \epsilon_1(\omega))}{2\epsilon_1(\omega) + \epsilon_2(\omega)} \quad (5.2)$$

Considering that the EF depends also on the applied voltage V , the dielectrophoretic force also depends on the amplitude of applied voltages on the electrodes which leads to Eq. (5.3).

$$F_{DEP} = f(f, V, \varphi) \quad (5.3)$$

Capacitive sensing is widely used in the detection of movements, bacteria growth, and variation of concentration. In the latter case, it is mainly based on the variation of the permittivity of the medium. Such variation has a direct impact on capacitance depending on the circuit design.

Because the two metal strips are deposited on a substrate, they are composed of 2 capacitances : one through the substrate and another through the liquid or air. A widely used model of such a system consists of two coplanar plates on 2 substrates (Gevorgian *et al.*, 2003a,b; Vendik *et al.*, 1999). The variation of the capacitance versus electrode shape and space shows that the maximum capacitance is reached with a small electrodes space. However by increasing the electrode shape, it is possible to amplify the detected capacitance value.

5.1.4 Fabricated CMOS Chip Architecture

Based on the theory presented in Section 5.1.3, the microelectronics circuit has a crucial function in controlling the fluidic flow in microchannels using DEP.

The CMOS chip includes digital and analog building blocks (Miled et Sawan, 2011b). The digital module monitors the parameters of generated signals such as frequency and phase. The analog part converts digital data into analog signals, while adapting them to the microfluidic architecture as shown in Fig. 5.2.

5.1.4.1 The Digital Module

The proposed digital module (DM) consists of 4 main units shown in Fig. 5.3a. First the DM processes the input data to convert them into adequate format for the other units (a). By sending a binary code to the frequency divider (a), an internal frequency is generated and is used for all the other units (b). A memory monitoring system controls the memory outputs and inputs (c) to provide 4 digital signals to the output processing unit (OSP) which will be detailed in section 5.1.4.2.

5.1.4.1.1 Digital shift phase control The digital circuit consists mainly of a memory divided into 4 blocks of 100×8 bits. Each block contains a period of each signal with 100 8-bit samples. This memory is managed by a control unit that enables access to each

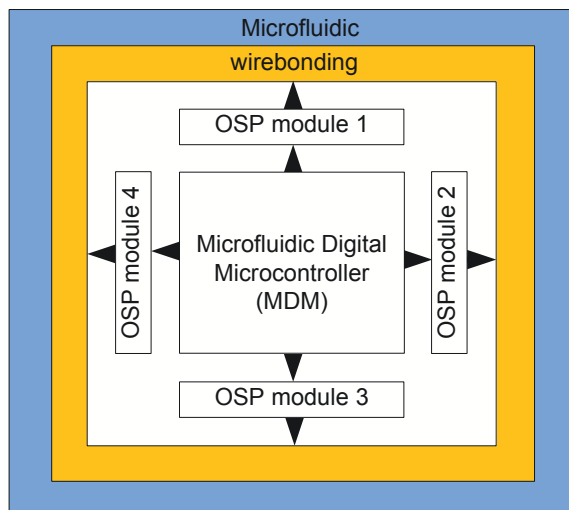


Figure 5.2 Simplified diagram of the LoC system including the output signal processing (OSP) module and the Microfluidic digital microcontroller (MDM) and shows the connection between the microelectronics circuit and the microfluidic structure by wire-bonding

block depending on the selected phase shift as the architecture of electrodes is divided into 4 different blocks. Each block is associated with an independent signal. Block 0, containing the signal 0, is considered as the reference block with no phase shift. On the other hand, a phase shift is applied to other blocks. In fact, the phase shift results in a shift of the signals 1, 2, and 3 regarding signal 0 stored in blocks 1, 2, 3, respectively as shown in Fig. 5.3b.

Ideally the phase difference should be 1° . For a phase shift of 1° , the period of a signal is divided into 360 different values; and consequently, the frequency of the signal will be reduced considerably. Indeed, if the system operates at 10 MHz for example, it would require an operating frequency of 3.6 GHz , which is difficult to achieve with $0.18\ \mu\text{m}$ technology. As a trade-off, we retained only 100 samples of each signal period, which corresponds to the minimum phase $360^\circ/100$. The 3.6 degrees of phase shift is a compromise between precision and frequency of the output signal and is coded on 7 bits.

5.1.4.1.2 Frequency control The frequency is controlled through a 16-bit binary code. The choice of such a large code is due to the characteristics of the LoC. Indeed, the system is dedicated to handle a wide range of particles, molecules or cells, and each one may have different behavior depending on the applied frequency and phase related to the f_{CM} . The signal frequency is generated from a finite-state machine that consists of a frequency divider. The frequency code defines the high and the low levels of the duty cycle of the system clock.

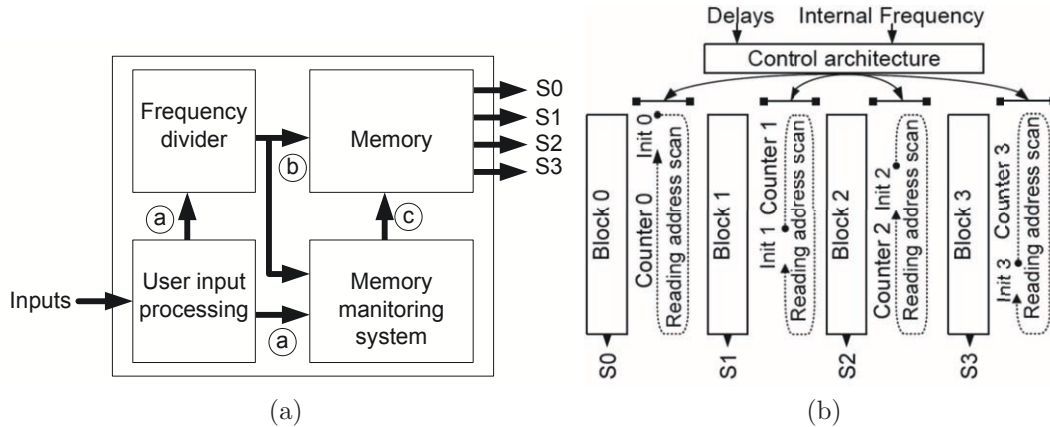


Figure 5.3 Signal generation and processing system design : (a) Digital module (DM) configuration, and (b) Memory configuration

5.1.4.1.3 Data acquisition system Having 16 bits for the clock and 7 bits for the phase shift is not practical for an integrated system. To overcome this problem, the code of the clock and the phase shift are sent on a sequential manner through a one-bit line. Each code is sent serially to a series-to-parallel converter that is connected to the main microcontroller. The microcontroller cannot start generating signals unless the data have been validated to prevent any dysfunction.

5.1.4.2 The Analog Part of the Dedicated Processor

The analog part of the system consists of modules that convert digital signals into analog with an advanced control of the amplitude and a buffer for a large load capacitance and low resistance. Fig. 5.4 shows the architecture of the proposed analog module, which is connected to 4 outputs of digital module (DM) that manages the frequency and the phase signals as shown in Fig. 5.2. The digital module provides 8 bits for each manipulation signal, which are connected to a current output DAC. Each bit passes through an inverter to provide enough current to each DAC input. The current output from each DAC is connected to a current to voltage converter (I/V) based on a simple current mirror with an offset removal resistance in its output branch. However, including a resistance is not the ideal case, it was used as an off-chip component which can be adjusted externally to have a better control. Another design with an on-chip calibration system can be used but it is not practical at this level until, the offset range can be fixed experimentally. Then the I/V output goes through two amplifiers

to have fine and coarse adjustment and then a low resistive load buffer.

5.1.4.2.1 Digital-to-analog Conversion Circuit The designed digital-to-analog converter is a current-mirror-based circuit. The advantage of such a converter is the small space needed for the circuit design because all current mirrors are based on transistors and not capacitances to reduce circuit design area and to reduce the offset error. In fact, all signals must be set to the same offset to have a controllable DEP effect. In case of uncontrolled offset, the propagation of the electrical field will not be homogeneous in the microchannel. In addition, all digital outputs are connected to inverters to avoid current overload on the outputs of the digital module due to current limitation in the digital design. Fig. 5.5a shows the architecture of the designed DAC. As the current of each branch can be given by the square law of a MOS transistor, for an efficient 8-bit DAC, the transistors must be designed such as $W_i = 2.W_{i-1}$, where W_i and W_{i-1} are the width of the transistor i and $i - 1$. i refers to transistor M_i , where i goes from 0 to 7 as shown in Fig. 5.5a. Each branch of the DAC i is connected to the bit D_i of the data bus provided by the digital module as shown in Fig. 5.5b. The DAC branch, containing transistor M_7 , maintains a minimum current in the DAC to avoid a floating circuit. This branch provides the same current as the transistor M_0 .

The designed current-to-voltage converter is a current mirror circuit with active load as shown in Fig. 5.5c. The transistors are sized to minimize the offset of the circuit. The ratio W_{10}/W_{11} of the two transistors must be 1.

Thus, the current in the two branches is equal; i.e., $I_{DAC} = I_{c1} = I_{c2}$, where I_{c1} and I_{c2} are the drain current of transistor M_{c1} and M_{c2} and I_{DAC} the output current of the DAC. As transistor M_{c3} is in a diode configuration, it can be considered as a resistance.

$$R_{c3} = \frac{1}{g_{m3}} // r_{ds3} \quad (5.4)$$

R_{c3} is the resistance of transistor M_{c3} . As M_{c3} is in a diode configuration, its width and length are adjusted to remove the output voltage offset of I/V converter. The connection between I/V converter and embedded amplifiers are done externally, thus R_{c3} can be replaced by off-chip resistors R_{cal} to remove any additional offset instead of transistors M_{c3} for practical reasons. By adjusting R_{cal} and its power supply V_{DD2} , the saturation voltage $V_{D_{sat}}$ of transistor M_{c2} and then the DC output voltage of the I/V converter can be adjusted to remove the offset.

To remove the offset, a high resistance should be added following Eq. (5.5).

$$R_{c3} = \frac{1}{g_{m3}} // r_{ds3} = \frac{V_{DD}}{2I_{DAC}} \quad (5.5)$$

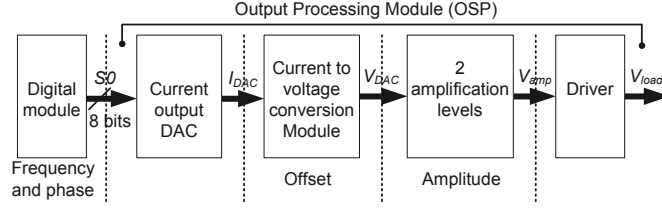


Figure 5.4 OSP module architecture diagram

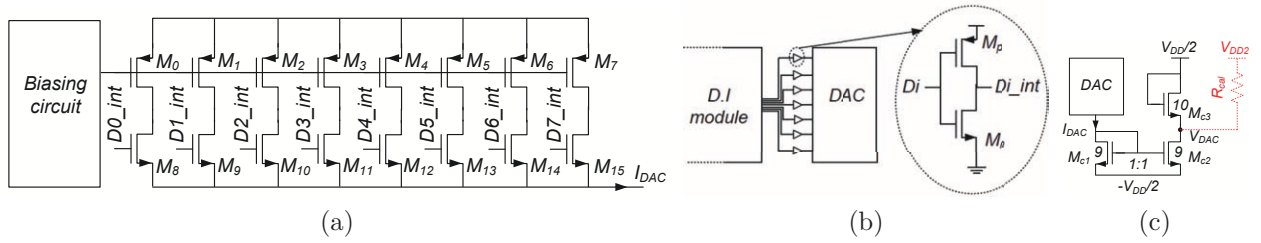


Figure 5.5 Digital-to-analog conversion design : (a) DAC design, (b) DAC connection, and (c) I/V converter where the length of all transistors is $0.18 \mu m$ and their width in μm is shown

In case of using an off-chip resistor, R_{cal} is defined in Eq. (5.6).

$$R_{cal} = \frac{V_{DD2}}{I_{DAC}} \quad (5.6)$$

DEP cell manipulation is not very sensitive to device mismatch, however to reduce it, the four designed DACs have the same layout and are placed symmetrically around the digital module to reduce the mismatch. Furthermore, for practical reasons, two DACs were connected to other circuit for debugging purpose, thus a mismatch cannot be avoided.

5.1.4.2.2 Amplification Circuit The amplification circuit consists of two levels of two-stage amplifiers. In fact, the CMOS chip is configured to monitor two types of amplitude control, which are fine and coarse tuning of the applied signal. Thus, the first amplifier is used for fine amplification of the signal, while the second one for a coarse adjustment of the applied signal and the set-up of both amplifier circuits are shown in Fig. 5.6. R_1 and R_{adj} are external resistors that can be chosen depending on the required amplification. Usually R_{adj} is an adjustable resistor to regulate the amplification : however, when all adjustments are done, it can be replaced by a permanent resistor to reduce silicon space. This is very important for high-accuracy cell manipulation. Also, the amplifier circuit is shown in Fig. 5.6. The positive

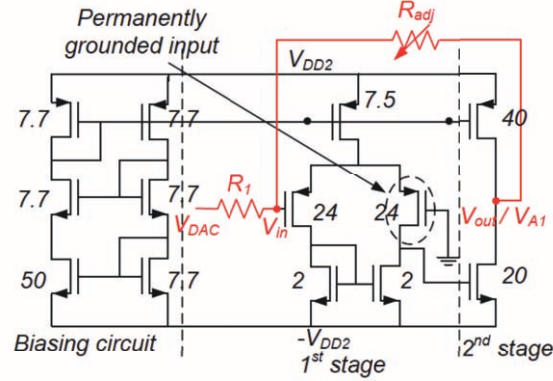


Figure 5.6 Two-stages operational amplifier circuit with off-chip passive components R_{adj} and R_1 , the length of all transistors is $0.5 \mu m$ and their width in μm is shown in the figure

input is permanently grounded as all amplifying circuit is powered by $+V_{DD2}$ and $-V_{DD2}$.

5.1.4.3 Sensing Circuit

The detection circuit uses CBCM technique, which is advantageous for the on-chip integration as each sensing cell requires a very small silicon area. Thus, we propose in this LoC microsystem a 3×3 array architecture based on an SRAM model as shown in Figs. 5.7 and 5.8. Each cell of the capacitive sensor is controlled by a command line EN_0 and EN_1 to enable the sensing process. The 3×3 array is activated line by line and each active line enables 3 cells of capacitive sensors simultaneously and then taking measurement of 3 different capacitances at different microchannel locations at the same time. Each column of the array is connected to a current sensing circuit to detect any variation of the current in the two branches of the sensor cells as shown in Fig. 5.7. The current variation detected is sent to an integration circuit to transform the current into voltage. Finally, a Sigma-Delta converter generates a serial output of 1 bit related to the value of the detected capacitance. The same electrodes are used for both manipulation and detection, however the detection phase is done after disabling all electrical field propagation in all the microchannel due to interferences induced by the later.

The same L-shaped electrodes used for manipulation are also selected for sensing purpose. Sensing and manipulation cannot be done at the same time. Thus, signals for DEP purpose are first disabled and sensors are then activated.

Due to the limitation in the pad number that can be designed on the chip, only one CBCM sensor cell was connected to conventional chip pad. Others sensors will be connected through flip-chip packaging process which is not detailed in this paper.

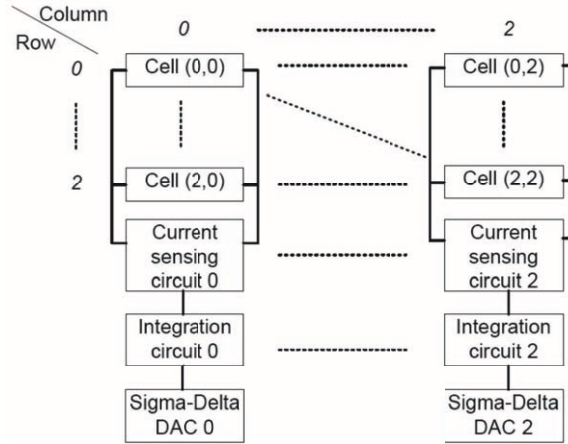
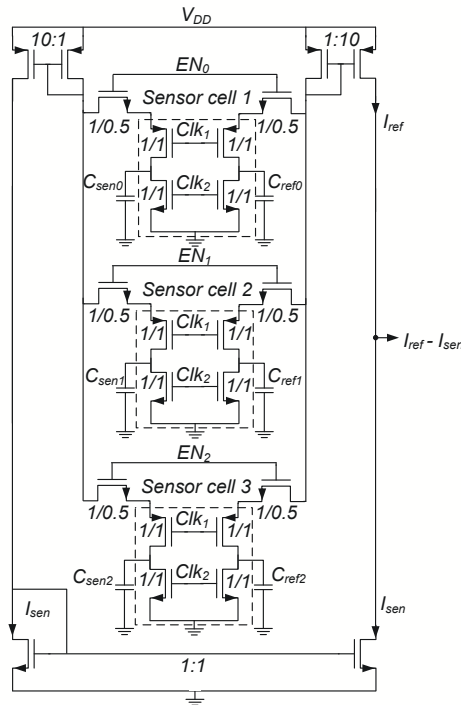
Figure 5.7 3×3 sensor array configuration

Figure 5.8 Capacitive array circuit design

5.1.5 Fabricated Microfluidic Architecture

The proposed microfluidic architecture includes 64 electrodes to perform various manipulation operations such as cell motion, separation, and rotation. Because the manufacturing process used is based on a one-metal layer in-channel electrode, a new architecture of L-shaped electrodes is proposed. The advantage of this architecture consists of the generation

of a controlled and uniform distribution of the EF across the microchannel, which is not the case with square electrode array. In fact, Ideally, to have controllable electrical field propagation through all the microchannel, square electrode array architecture is needed. However, with a single metal layer, it is impossible to have a uniform spread of the EF. In fact, by connecting the square electrodes to external pads, the routing will introduce a lot of interferences. The 64 in-channel electrodes are implemented as follows : 32 L-shaped electrodes to control the spread of the horizontal EF and 32 electrodes to control the vertical one spread for horizontal cell manipulation (HCM) and vertical cell manipulation (VCM) respectively. In addition, a 3-level mixing architecture is proposed for an efficient mixing cell manipulation (MCM). In fact, the microfluidic design includes one large, 6 medium and 16 small mixing area whose sizes are $600 \mu m \times 600 \mu m$, $100 \mu m \times 100 \mu m$, and $50 \mu m \times 50 \mu m$ respectively which represent the 1st, 2nd and 3rd mixing level, respectively. In addition, an interdigitated electrode (Sens) is added to detect the variation of capacitance in the microchannel shown in Fig. 5.9 (Ghafar-Zadeh *et al.*, 2008b). However, in this paper the sensing phase is done through the L-shaped electrode after disabling the manipulation phase to test the sensitivity of the system with the same electrodes used for both manipulation and sensing. Also, Fig. 5.10 presents a simplified diagram of the microfluidic design with different regions, MCM, VCM, HCM and sens, which are described earlier. Although L-shaped electrodes are used for cell manipulation, they are also connected to the detection circuit to sense the capacitance variation.

5.1.6 Simulation and Experimental Results

The presented results are divided into two parts : the first one is simulation using ANSYS, which was used to compare the EF in the proposed and conventional electrode architectures. Then, experimental results obtained with the fabricated chip are reported below.

5.1.6.1 Simulation Results

The simulation results cover the microfluidic structure of the project. Fig. 5.11 shows the EF propagation in the case of L-shaped and square electrodes. This point of the system is the most unpredictable one as both the EF propagation and the potential propagation depend on the liquid permittivity and conductivity, the injected cells, molecules, or particle characteristics. However, in the simulated model, the liquid flowing through the microchannel is supposed to be homogeneous. The volume element of meshing is tetrahedral shaped using SOLID123 element type to have an overview about the EF propagation in the microchannel, as it is the element type specifically programmed by ANSYS for EF analysis. In other works,

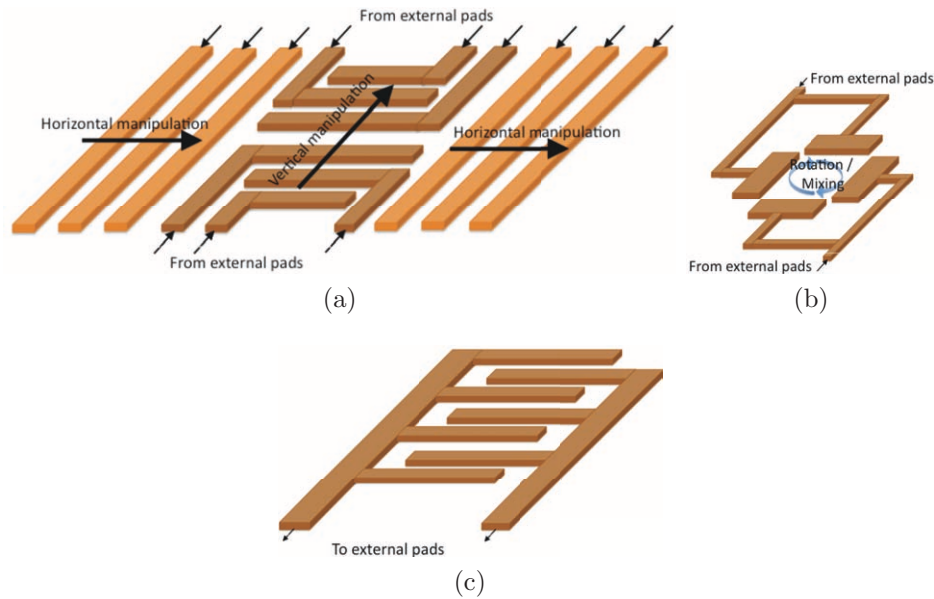


Figure 5.9 Manipulation electrodes : (a) Horizontal and vertical motion and separation electrode and (b) Mixing electrodes ; and (c) sensing interdigitated electrodes

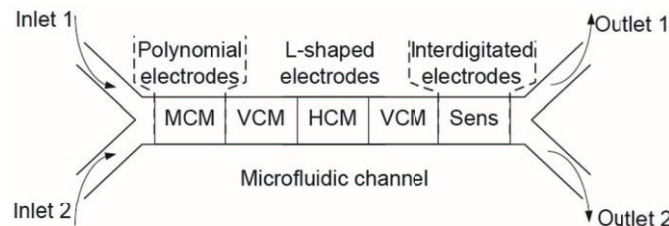


Figure 5.10 Microchannel configuration for a LoC dielectrophoretic manipulations and capacitive sensing

we proposed another approach based on ANSYS to study the dielectrophoretic forces in the microchannel taking into account the flowing liquid in the microchannel (Gangé-Turcotte *et al.*, accepted). The drawback with the square array electrodes using the one-metal layer in-channel fabrication process is the electrode connection, which introduces interferences. In fact, in Fig. 5.11, in the case of square electrodes, it is noticed that the propagation of the EF is not uniform, which is due to the routing path to connect each electrode to external pads. On the other hand, using L-shaped electrodes, the voltage propagation is uniform as expected. To reduce the boundary effect due to the L-shaped format, the main parts of the electrode are designed, longer than the small L segment. Using this technique, the EF is horizontally controlled. Vertical propagation of both EF and voltage is not a concern as the electrodes are designed vertically to the microchannel and then are connected to external

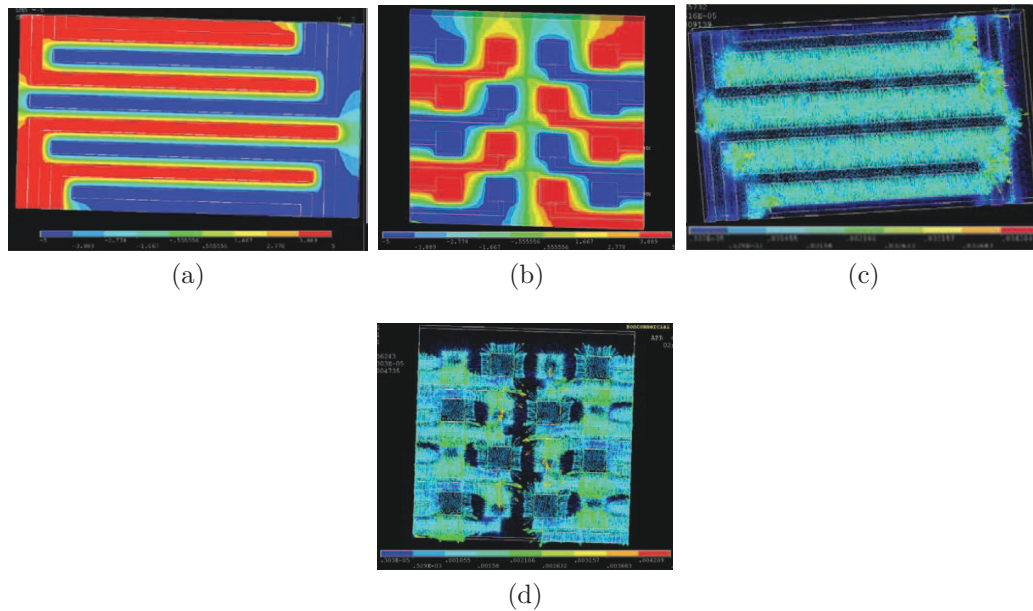


Figure 5.11 Simulation results of potential distribution ((a) and (b)) where blue and red colors show the lowest and the highest voltage respectively and ((c) and (d)) EF propagation using ANSYS where the blue and red colors show the lowest and the highest EF respectively. L-shaped electrodes are used in (a) and (c), and square electrode array are used in (b) and (d) (Miled *et al.*, 2010)

pads as shown in Fig. 5.9.

DEP was considered positive (pDEP) when the particles were attracted at the electrode surface, the maximum EF region, while negative DEP (nDEP) was identified when particles were found at the spacing between electrode pairs, considered the minimum EF region (A, 1978). Thus, in the case of L-shaped electrodes and simulation results, particles are expected to be concentrated on the top of the L-shaped electrodes or in the space intra-electrodes depending on the place of the strongest and the weakest EFs, which are related to the nDEP and the pDEP, respectively. However, in the case of square electrode array it can be noticed that strongest and weakest EFs do not depend on the electrode only but also to the routing path, which affects particles manipulation by inducing interferences.

5.1.6.2 Experimental Set-up

The system set-up requires advanced connections, control and acquisition system for the prototyping version. In order to facilitate the assembly of proposed hybrid LoC, the CMOS chip and the microfluidic structure are packaged on separated boards as shown in Fig. 5.12 where the whole experimental set-up is presented. The proposed CMOS chip for DEP mani-

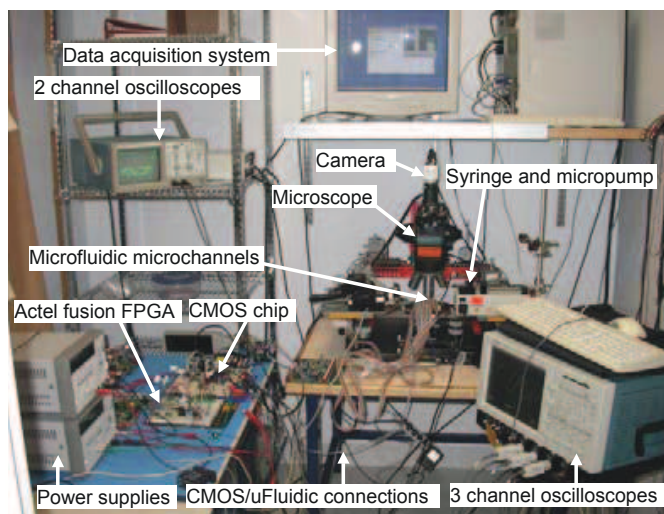


Figure 5.12 Prototyping experimental set-up

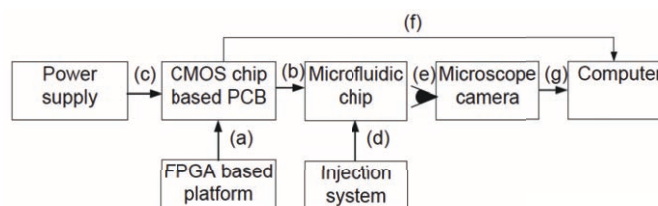


Figure 5.13 Experimental set-up diagram

pulation and capacitive sensing is designed with the Taiwan Semiconductor Manufacturing Company (TSMC) $0.18\text{-}\mu\text{m}$ technology. This technology is the most suitable as it offers wide transistors operating voltage 3.3V with 6 metal layers.

For preliminary tests, the fabricated CMOS chip is placed on a PCB integrating all off-chip components. The PCB is designed for prototyping purpose only; a much compact version will be built and connected to the microfluidic platform. It includes only the off-chip resistors and capacitors that make the chip work. As the dimensions of the microfluidic platform are bigger than those of the CMOS chip, there is no real need to integrate them on chip for the moment as there are already extremely small-sized resistors in the market, e.g., 4-resistor array dimensions can be $0.5\text{mm} \times 1\text{mm}$, which is small enough to be integrated on the backside of the CMOS chip. Eight potentiometers are used to calibrate manipulation signals independently; however, when the chip is calibrated for a specific application, conventional resistors can replace the potentiometers. In fact resistor values are adjusted through LabView interface by using programmable ones to remove the mismatch between signals for a better control of cell manipulation signals and for testing purpose. The proposed chip is used with an

FPGA Igloo from Actel ($3\text{mm} \times 3\text{mm}$) with programmable resistors to control the offset. Fig. 5.13 shows the set-up diagram of the complete prototyping system. The chip is controlled through an Actel Fusion AFS600 FPGA (a) generating the frequency and the phase shift code, while sending the control signals to the DM as explained in Section 5.1.4.1.

The CMOS chip is powered by a multipower supply set-up (c) to provide different voltages such as -1.2V , -0.9V , 0.9V , 1.2V , and 1.8V . It is designed using $0.18\text{-}\mu\text{m}$ technology with 1.8V power-supply transistors for I/V converter and $0.18\text{-}\mu\text{m}$ with 3.3V power-supply transistors for amplifiers and buffers. Thus, the I/V converter is powered by -0.9V and 0.9V , the digital module with 1.8V and amplifiers and buffers with -1.2V and 1.2V . The power supply of amplifiers is limited to -1.2V and 1.2V instead of -1.65V to 1.65V because an efficient particle separation with low voltage (1.7V) was observed, then, there is no real need for such a high voltage. In addition when exceeding -1.2V and 1.2V , the temperature of the chip notably increases and the chip behavior is not constant. This is due to ground substrate isolation between -1.2V , -0.9V and the ground. Island architecture was used to separate each block. However the post-layout simulation results are showing good performances, the resistance between these different grounds are small, which induce a high-current flow and important heating effect affecting the chip behavior. To solve this problem, ideally is better to design each system using different ground in a separate chip. However due to cost constraints, all modules were designed in the same chip.

The microfluidic processor is connected to a microfluidic platform (b) through 64 pads that are connected to 64 in-channel electrodes (Fig. 5.9). The same pads are used for mixing electrodes. However, 4 other pads are connected to two interdigitated-electrode sensors. L-shaped electrodes are used also for sensing purpose.

A micropump is used to inject the liquid inside the microfluidic substrate (d). To connect this micropump to the microchannel, an epoxy, EPO-TEK 731, was used to seal microtubes to the microfluidic glass and the syringe, which is connected to the micropump. A microscope is used for observation (e). Finally a LabVIEW interface is used for data acquisition from both the CMOS chip and the microscope camera (f).

5.1.6.3 Experimental Results

The FPGA provides to the CMOS chip the data acquisition and the DM clocks, load and start control signal and the clock and phase shift binary code. In addition to the frequency divider in the microfluidic processor, the clock frequency provided by the FPGA can be also controlled by the FPGA itself.

Fig. 5.14 is a screen shot of the output signals generated from the OSP module as explained in Section 5.1.4.1. As it can be seen in Fig. 5.15, the lowest phase shift is 3.44° , and it is close

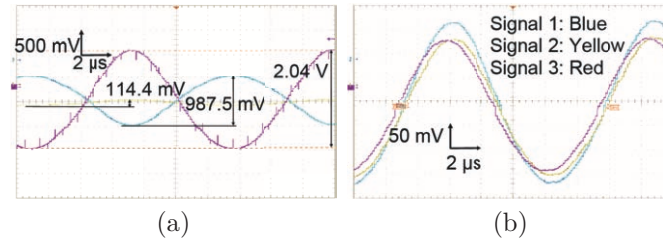


Figure 5.14 Dielectrophoretic manipulation signals generated from the fabricated CMOS chip : (a) OSP signals generation and (b) output phase-shifted signals where blue/yellow signals phase is 3.44° and yellow/red signals phase is -14.24°

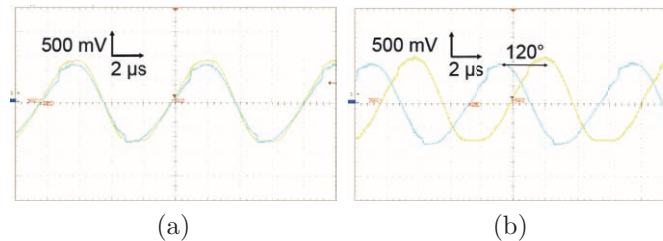


Figure 5.15 DM shifting operations from the fabricated CMOS chip : (a) mixing operation disabled; (b) mixing operation enabled with 120° -phase shift signals

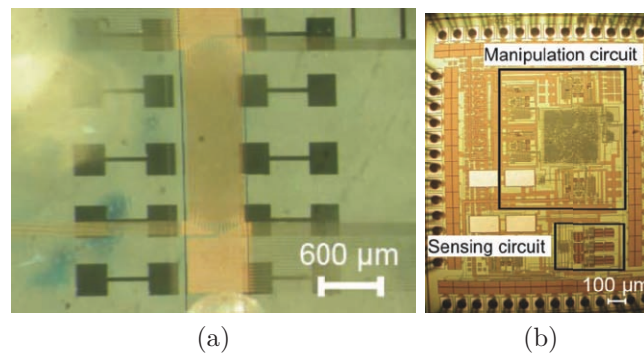


Figure 5.16 LoC main components : (a) Microfluidic architecture and (b) CMOS chip

to the theoretical phase shift at 3.6° . The offset is mainly due to a known measurement tool calibration problem. The circuit is designed to provide sinusoidal signals up to a frequency of 10 MHz . As an example of chip configuration and as the operating frequency of the digital module is 100 kHz , then the sine frequency is 1 kHz as each sine wave is composed of 100 samples that are loaded by the digital module using the 100-kHz clock. As the frequency

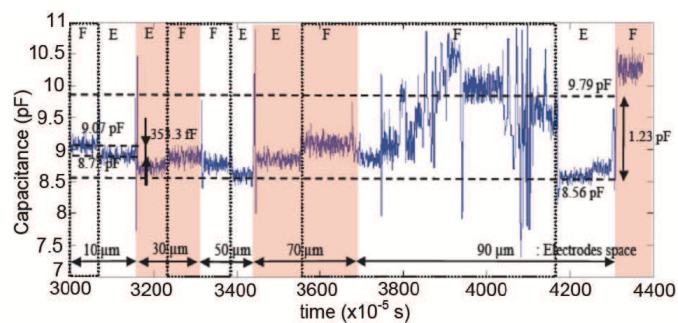
code word is 11111, then the CMOS chip frequency is $100 \text{ kHz} \times 2^5$, which is equal to 3.2 MHz , which is the frequency of the CMOS chip input clock.

Fig. 5.16 presents photomicrograph of both the microfluidic and CMOS chips that are used in the proposed LoC.

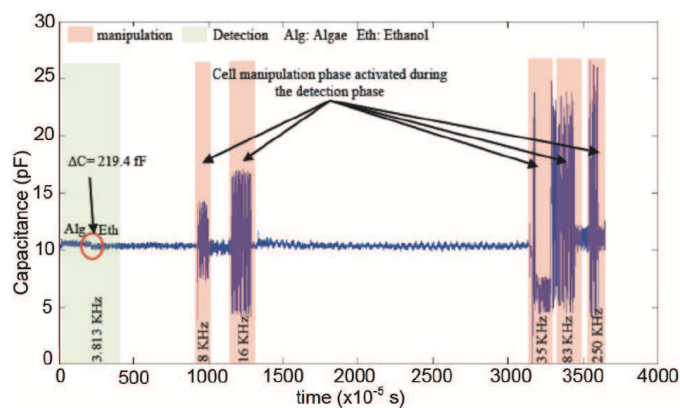
The L-shaped electrode-based sensor is sensitive to the electrode space and medium permittivity change as shown in Fig. 5.17a and Fig. 5.17b respectively. The best accuracy is related to the higher variation between the empty (E) channel and liquid flow (F) phase. Thus, the highest variation which corresponds to $1pF$, was obtained for the $90\text{-}\mu\text{m}$ electrodes space and when only the detection phase is activated. The lowest variation, 100 fF , corresponds however to the $10 \mu\text{m}$ electrodes space. Indeed, when the electrodes are closer, the capacitive sensor becomes less sensitive to the medium change but is more affected by the liquid change between the electrode plates. Thus, in the case of $10\text{-}\mu\text{m}$ cells, it is more suitable to have at least $30\text{-}\mu\text{m}$ electrode space. This is because the electrode shape is of a planar configuration and then the liquid does not pass between the plates but rather on the top of plates. On the other hand, when the studied cells are smaller than $10 \mu\text{m}$ (i.e., 500 nm), a smaller electrode space offers a better accuracy as shown in Fig. 5.20c where $2 \mu\text{m}$ are mixed only in the corner of the 1^{st} mixing stage electrode instead of the central area. Furthermore, the sensing operation is never done at the same time as manipulation to avoid interferences induced by the EF. Thus, it is achieved after manipulation and disabling all applied signals on L-shaped electrodes. The sensor array is designed to fit the application sensitivity, improvements can be achieved to reach higher sensitivity if needed (Prakash et Abshire, 2008).

Furthermore, the LoC is designed to handle mixing operation to attach markers to neurotransmitters. Thus, two 120° phase shift signals are applied to the square configuration architecture, which corresponds to 11111 phase shift code word, i.e., $3.6^\circ \times 2^5$. For the smallest square that corresponds to the 3^{rd} level mixing stage, the mixing operation can be well observed as shown in Fig. 5.18. The later figure is obtained with diluted concentration of PC05N. The same experiment is repeated with highly concentrated solution of PC05N and particles can be seen being mixed between the square electrodes as shown in Fig. 5.19.

The only difference between 1^{st} , 2^{nd} and 3^{rd} mixing level is the mixing area where it is $600 \mu\text{m} \times 600 \mu\text{m}$, $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ and $50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$ respectively. This mixing circuit architecture is used to improve the mixing operation depending on the particles dimensions. However, when the same signals are applied to the 1^{st} and the 2^{nd} mixing levels as shown in Fig. 5.20, particles are mainly concentrated on the boundary of electrodes which is not the case in the 3^{rd} level where the particles are concentrated in the center of the square. Biggest electrode architectures are intended for biggest particles, larger than $4\mu\text{m}$, however smaller



(a)



(b)

Figure 5.17 Experimental results : LoC sensing curve with L-shaped electrodes : (a) electrode space sensitivity and (b) medium sensitivity

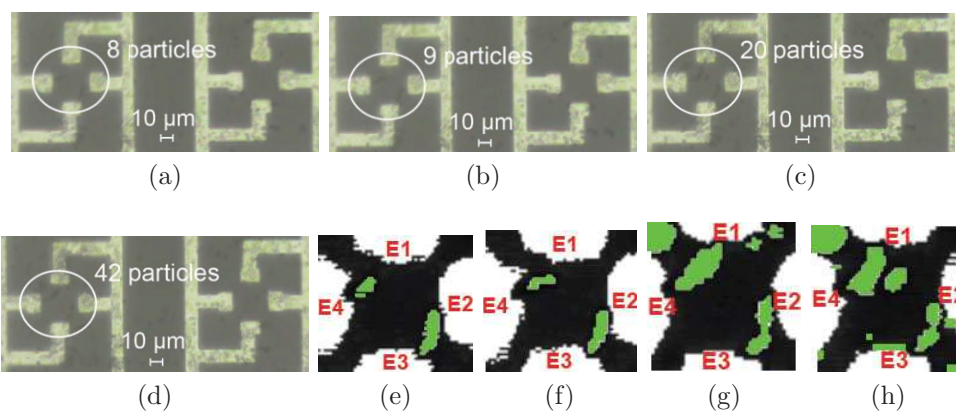


Figure 5.18 LoC 3^{rd} -level mixing operation device where 8, 9, 20, 42 particles are mixed in (a), (b), (c), and (d), respectively. (e), (f), (g), (h) are the post processed images of (a), (b), (c) and (d) respectively.

electrodes which are the second and the third level electrodes are dedicated for particles less than $2 \mu m$. This will be used to add markers and antibodies to mark the neurotransmitters, whose individual size is around $10 \mu m$.

A second design of mixing electrodes was designed and tested at a frequency of $100 kHz$ using PC05N, the results were much better than those obtained by the square electrodes as all particles are concentrated in the central area of the electrodes. As shown in Fig. 5.21 by applying a 90° dephased signal, electrodes push PC05N to the central part of the architecture at $100 kHz$ and keep them attached to the electrodes for frequency higher than $1 MHz$.

A major advantage of DEP is that the frequency-dependent dielectric properties of particles can be used to manipulate one particle among others. In order to confirm the validity of our prototyping device, the DEP behaviour of three types of polymer microspheres all made from polystyrene 10 % water/volume suspension from "Bangs laboratories Inc." were examined and characterized : PS03N, PC05N and PA40N, the latter two microspheres feature a functionalized component. The different properties of these beads, including their diameter, charge and the nature of their surface functionalization are presented in Table 5.4. Microspheres were further diluted in deionized water to a final concentration between $0.8 mg/ml$ and $2 mg/ml$ facilitating their visualisation under the microscope.

All experiments were performed using sinusoidal signal of a frequency ranging from $900 Hz$ to $1.25 MHz$. Signal frequency does not go below $900 Hz$ in order to prevent the formation of chemical reactions leading to unwanted bubbles. A phase shift alternating from 0° to 180° was applied to each pair of electrode. Motion of polymer microspheres was observed using a microscope "Karl Suss" and recorded with a digital camera to video/computer system. Two electrode structures were used to investigate separation of particles : a $10 \mu m$ width 32 L-shaped interdigitated electrodes, with $10 \mu m$ inter-electrode gaps and eight $10 \mu m$ squared electrodes.

As predicted by the DEP theory, a particular crossover-frequency, which describes the transition from positive to negative DEP (or vice versa) was observed for each one. This effect, due to the frequency-dependent dielectric properties of particles, was determined by filling the chip's microchannel with a syringe pump "Harvard apparatus, Phd Ultra". Once the liquid flow stopped, the frequency of the field was varied from $900 Hz$ to $1.25 MHz$ and the range of positive and negative DEP was identified as shown in Fig. 5.22.

The DEP response at different frequency ranges and the crossover frequency were characterized for all three types of particles studied, both summarized in Table 5.5. The crossover frequency refers to the change from nDEP to pDEP. Although the microspheres analyzed were all made primarily of polystyrene, each type was found to possess a different crossover frequency. This can be explained by the fact that DEP behaviour is largely dictated by

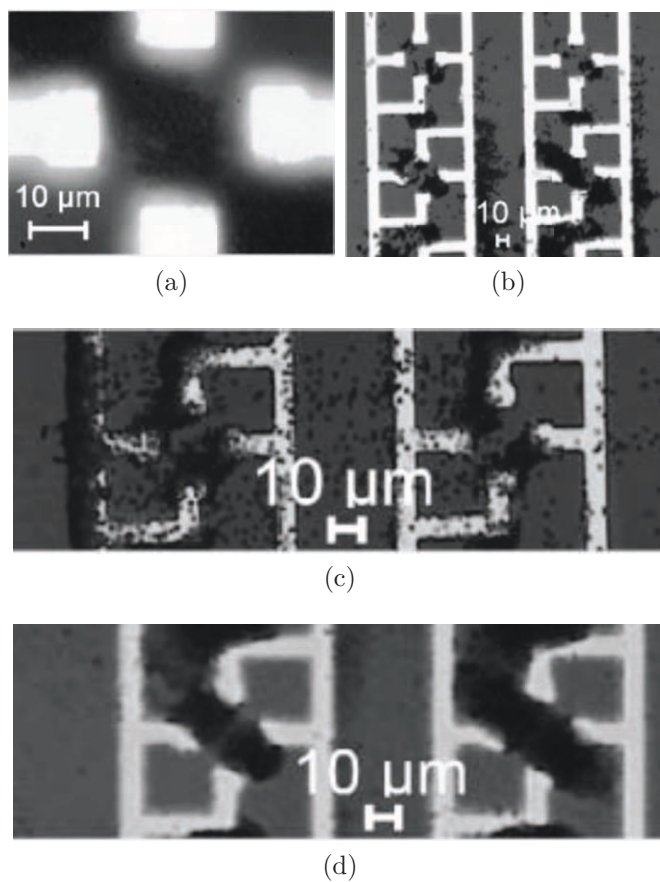


Figure 5.19 Mixing operation of the LoC : (a) Trapped microspheres in the Polynomial electrodes, (b) Mixing starting operation, (c) and (d) Increased microspheres concentration while an EF is applied

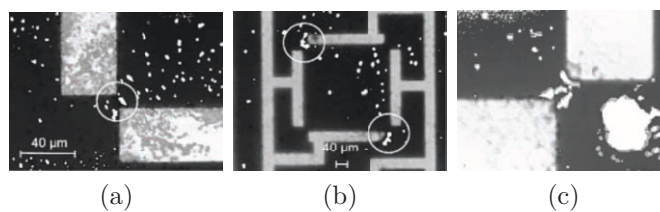


Figure 5.20 Mixing operation with (a) 1st and (b) 2nd level mixing stage using 2 mg/ml PC05N 2 μm at a frequency of 1 MHz; (c) 1st stage with high concentration of PC05N 2 μm

surface properties, as shown by Green and Morgan (Green et Morgan, 1999).

It is also possible to notice from these results that PC05N and P404N spheres showed

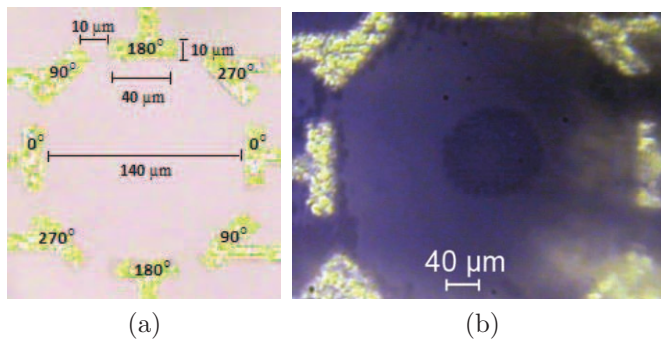


Figure 5.21 Next mixing structure generation based on eight 90° dephased signals : (a) electrode dimensions and (a) particle manipulation

Tableau 5.2 Microfluidic fabricated CMOS chip main characteristics based on experimental results

Parameter	Characteristics
Voltage range	$\geq -1.2V$ and $\leq 1.3V$
Frequency range	0-1MHz
Phase shift range	0° - 360°
Minimum phase shift	3.6°
Capacitive sensor sensitivity	1 fF
Minimum phase shift	3.6°
Area	$1.5mm \times 1.2mm$

the same DEP response but with a different crossover frequency, while PS03N spheres demonstrated an opposite DEP response and a lower crossover frequency. Indeed, at mid-low frequencies from $9 kHz$ to $1 MHz$ PS03N microspheres are attracted to the surface of the electrodes (pDEP response), while PC05N and PA40N spheres are repelled in the electrode inter-space (nDEP response), forming particles aggregations. At high frequencies higher than $1 MHz$, the opposite behavior was observed, while at very low frequencies ($900 Hz$ to $9 kHz$), each type of particles showed a different DEP behavior : PS03N particles adopted a pDEP response, PC05N particles oscillates from the inter-electrode space and the electrode surface, while PA04N particles forms aggregation moving with a certain speed along the electrode plane. Note that the same results were obtained for both type of used electrode configuration.

Tableau 5.3 Microfluidic platform main characteristics

Parameter	Characteristics
L-shaped in-channel electrodes number	64
Interdigitated sensor in-channel electrodes number	5
Mixing in-channel electrodes number	15
Mixing stages number	3
Microfluidic platform size	$15mm \times 30mm$
Minimum phase shift	3.6°
Area	$1.5mm \times 1.2mm$

Tableau 5.4 Properties of the different used polymer microspheres

Polymer type	Diameter (μm)	Charge	Surface functionalization
PS03N	0.5	Negative	-
PC05N	2.04	Negative	COOH (carboxyl)
PA04N	2.19	Mixed	-NH ₂ (amine)

Analysis of the results in Table 5.5 allows us to state that several manipulations could be performed to separate, isolate or trap a certain type of micro-particles from others. In order to assure that our system could do so, an equal mixture of PC05N and PS03N at the same concentration was injected in the microchannel. An AC signal of $5 kHz$ was applied to the electrodes, attracting the PS03N particles at the electrode surface and repelling the PC05N particles in the inter-electrode space, as expected and predicted by the individual behaviour of both types of micro particles.

The main characteristics of the proposed LoC are depicted in Tables 5.2 and 5.3, respectively.

5.1.7 Discussion

Through these experimental results, we showed the proof of different aspects for the integration of a Lab-on-chip for neurotransmitter detection and manipulation as follows :

- Proof of concept of fully integration of different necessary operations for neurotransmitter detection and manipulation on one microsystem
- Validation of LoC operation based on flowing micro and nano particles (PC05N, PA04N)

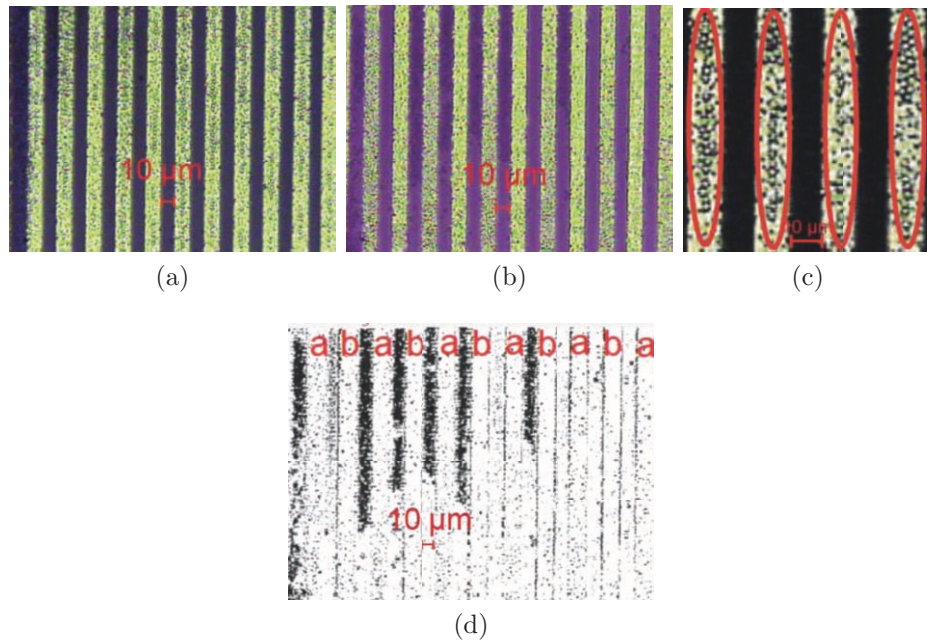


Figure 5.22 Horizontal manipulation in the proposed LoC using L-shaped electrodes : (a), (c) particles are attracted by electrodes; (b), (d) particles are pushed toward the space between electrodes where in a and b electrodes are applied non-dephased signals and 180° -dephased signals respectively

Tableau 5.5 DEP response of polymer microspheres at different frequency range using L-shaped electrodes (E.) and corresponding crossover frequency (Cross. Freq.)

Pol. type	Cross. freq. (μm)	900 Hz -9 kHz	9 kHz - 1 MHz	>1 MHz
PS03N	9 kHz	unstable state	E. spacing	E. spacing
PC05N	627 kHz	E. surface	E. spacing	E. surface
PA04N	859 kHz	Agglomeration	E. spacing	E. surface

and PS03N)

- Validation of micro and nano particles separation based on frequency and Clausius-Mossotti factor
- Integration of capacitive sensor with the manipulation architecture based on time multiplexing of L-shaped electrode
- Design of reprogrammable CMOS chip to achieve particle manipulation such as mixing and separation depending on frequency, phase and voltage

Compared to other works (Manaresi et al., 2003), the proposed microsystem improved several aspects

- Handling particle manipulation with a low voltage of 1.7 V_{pp} amplitude
- Variable phase shift and frequency
- Manipulation of nanoparticles as small as 500 nm
- Integrating a fully reconfigurable manipulation circuit
- The sensing array is based on an SRAM architecture to achieve a sequential detection operation
- The microfluidic architecture is independent from the CMOS chip. This criteria is mainly useful to improve the electrode architecture without altering the CMOS chip and then reducing packaging breaking

As mentioned earlier, this on-going project targets an implantable device for neurotransmitters detection and manipulation at the cortical level. Another more compact version of the microfluidic architecture and corresponding CMOS chip with associated microelectronic components are undertaken. The latter includes an advanced programmable power supply module to improve the performance of the chip and specially to solve the heating issue such as the use of a common ground and adding off-chip resistor to replace some transistors, among different solutions. Also, next tests will be done with artificial cortical liquid from Cedraline to find the suitable chemical protocol to integrate to the LoC in order to test it with neurotransmitters instead of micro and nanoparticles.

5.1.8 Conclusion

We presented in this paper a new fully integrated circuit implemented in a CMOS fabrication technology for dielectrophoretic manipulation and capacitive detection. A new microfluidic design and validation were also described. These two main parts constitute a new LoC environment to replace conventional laboratory analysis tools. Hence, this paper covers only the engineering aspect of the LoC. Biological aspects should be considered for the final LoC device as electrode surface treatment and biocompatibility. At the first step, a complete biological analyzing chain was designed to emulate all medical laboratory basic operations such as liquid separation, mixing, and detection. This proposed CMOS chip that is integrated to the LoC, can offer a highly controllable system to monitor several parameters of DEP such as frequency, phase, and amplitude. At the next step, a new packaging technique is undertaken to assemble all components together. The CMOS chip is assembled on a $12\text{mm} \times 12\text{mm}$ PCB with its off-chip components. Described microfluidic architecture and results are integrated into a $15\text{mm} \times 15\text{mm}$ substrate for a first micro-assembled device version to start real in vitro tests with artificial brain solution first. In fact, the use of DEP to analyse the brain liquid

is relatively new. We are interested to see the behavior of neurotransmitters when a DEP is applied. The first step of our research strategy consists of designing a system using DEP to manipulate nano and microparticles. Right now we are testing the system with artificial brain liquid and nanoparticles. The preliminary results are showing the same behavior as presented in this paper and will be published in another work

Acknowledgment

The authors acknowledge the financial support from NSERC and Canada Research Chair in Smart Medical Devices, and are grateful for the design and simulation tools supplied by CMC Microsystems. The authors also thank Laurent Mouden and Antoine Gagne-Turcotte for their help in this project.

CHAPITRE 6

Manipulation diélectrophorétique à basse tension et détection des micros et nanoparticules : Résultats expérimentaux

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats expérimentaux obtenus suite à la manipulation diélectrophorétique par la puce microélectronique fabriquée et présentée dans le chapitre 5. Ces résultats expérimentaux montrent pour la première fois une séparation réussie des particules micrométriques avec une tension ayant une amplitude crête à crête de 1.7 V. Cette séparation a été validée avec des microsphères artificielles faites avec du polystyrène et du carboxyl-modifié ayant des diamètres de 0.22 μm , 0.97 μm et 2.04 μm . Elles ont été testées avec trois différentes architectures d'électrodes pour le mélange et la séparation des particules. Des électrodes en U et en L ont été utilisées pour la séparation et le mélange. La détection capacitive se fait par l'intermédiaire d'électrodes interdigitées. Ces dernières ont été testées avec de l'éthanol, des solutions salines avec des algues et de l'eau non-ionisée. Les dimensions de la puce permettant ses opérations sont de 1.2 mm x 1.2 mm avec une tension de 1.7 Vpp et un déphase contrôlé des signaux appliqués de 0° et 180°.

6.1 Article 3 - Low-Voltage Lab-on-Chip for Micro and Nanoparticles Manipulation and Detection : Experimental Results

Mohamed Amine Miled, Geneviève Massicotte and Mohamad Sawan
Published in Analog Integrated Circuits and Signal Processing,
Springer, Vol. 73 No. 3, pp. 707-717, 2012

6.1.1 Abstract

In this paper, a low voltage fully integrated Laboratory-on-Chip (LoC) for dielectrophoretic manipulation and capacitive sensing of nano and micro particles is presented. The proposed system is intended to design an implantable LoC. The lowest static power consumption of the implemented Integrated circuit is 650 μA with a voltage supply of -1.10 V and +1.8 V. Three different sizes of carboxyl-modified polystyrene particles (diameters of 0.22 μm ,

0.97 μm and 2.04 μm) where tested experimentally with three different electrode architectures to achieve dielectrophoretic mixing and separation. U-shaped, L-shaped and octagonal electrodes are used to perform the separation and mixing operations. The biosensing part is designed with a charge based capacitive sensor with an integrated sigma-delta modulator at its output stage. It was tested experimentally with algae and ethanol. The chip size is 1.2 mm by 1.2 mm and it is connected to a 15 cm \times 30 cm microfluidic design. An efficient particle manipulation was achieved by applying a voltage of 1.7 V peak to peak in the microchannel with 90° and 180° dephased signals.

6.1.2 Introduction

Placing small medical device in human body requires special care about the used voltage and current to avoid any risk and damage. In the special case where the device is located at the brain level, maximum voltage must be as low as possible (Cong *et al.*, 2008; Rue *et al.*, 2006).

Then, System-on-Chip (SoC) integration is a mandatory approach to build miniaturized implantable devices (Heer *et al.*, 2004). In the case of medical application, where an implantable Lab-on-chip (LoC) represents an SoC intended to reduce the size of implant and its power consumption. Thus, in the case of dielectrophoresis-based LoC, decreasing the power consumption results on low voltage particle manipulations. Several research activities are focusing on such a system. (Wake et Brooke, 2007; Miled *et al.*, 2010; Roh *et al.*, 2010; Hu et Sawan, 2002; Tsang *et al.*, 2007). In fact, to design an implantable LoC, it is mandatory to include the electronic circuit within the device. Consequently, the use of CMOS technology is the best choice, which leads to low-voltage application. Then, Heather and Martin proposed a 5 V electrophoresis manipulation based on a CMOS chip with 100 addressable electrodes where each electrode can be used both for manipulation and sensing (Wake et Brooke, 2007). Modero *et al.*, presented DEP manipulation which was achieved with 6.6V on a CMOS chip (Medoro *et al.*, 2007). These two previously cited works, are focusing on integrating a whole LoC on a one CMOS chip. In addition, these two systems are based on reconfigurable architectures to address individually each electrode. However, these techniques have several advantages, CMOS technology is not initially developed for mentioned applications, because it requires an advanced post-processing for packaging.

Furthermore, implantable devices require reducing the static power consumption of the chip. However the dynamic consumption depends on the manipulation of particles and corresponding resistances. Unfortunately it is not possible to control this resistance as it is related to the injected biological sample and it varies from one sample to another. The static power consumption depends only on the circuits integrated in the SoC.

Recently, rail to rail input and high-swing output buffers are widely used in the new analog integrated circuit design (Nosratina *et al.*, 1995; Ferri et Sansen, 1997; Carrillo *et al.*, 2003; Khare *et al.*, 2008; AbdelMoneim et Mahmoud, 2007). In fact, Carrillo et al, proposed a low-voltage rail-to-rail CMOS Input Stage for general purpose applications (Carrillo *et al.*, 2003). Their proposed design is dedicated for 3V-application with 0.8 μm technology and the presented circuits were validated for 560 Ω and 33 pF. In another work proposed by Khare et al., a rail to rail buffer was proposed for low voltage applications in the range of 1 V. The design was dedicated for battery and mixed analog device application. However, the described circuits can not achieve as low resistive load as 160 Ω . Thus, based on the design of Nosratina et al., a reconfigurable DEP signal generator is designed for the defined load and to drive the generated manipulation signals.

We propose in this paper a low-voltage LoC for low resistive load. In section 6.1.3, dielectrophoresis background was briefly introduced. Then in section 6.1.4, the circuit design was described. Section 6.1.5 presents different used electrode models and finally section 6.1.6 shows simulation and experimental results.

6.1.3 Dielectrophoresis Background

As predicted by dielectrophoresis theory, the relative strength of the time-averaged dielectric force acting upon spherical particles determines whether or not a particle penetrates the dielectrophoretic barrier (A, 1978; Pethig, 1979; Kua *et al.*, 2008). This force is given by the following equation :

$$F_{DEP} = 2\pi r^3 \varepsilon_m \text{Re}[K(w)] |\nabla|E^2| \quad (6.1)$$

where r is the particle radius, ε_m the real part of the medium permittivity, $\text{Re}[K(w)]$ the real part of the Clausius-Mossotti factor, and E the electric field intensity. The factor $|\nabla|E^2|$ depends on the electrode geometry and mainly determines the impact that has the amplitude V of the signal on particle manipulation and the resulting F_{DEP} . Furthermore, the movement of particles towards high electric field region which corresponds to $(\text{Re}[K(w)] > 0)$ is called positive dielectrophoresis (pDEP) and the movement of particles towards low electric field $(\text{Re}[K(w)] < 0)$ is called negative dielectrophoresis (nDEP). The separation between pDEP and nDEP is fixed by the switch frequency f_s , which depends on the permittivity and conductivity properties of the particles and the medium. Also, F_{DEP} acting on particles can be found equal to zero at a frequency where $(\text{Re}[K(w)] = 0)$, known as the crossover frequency.

The proposed SoC for low voltage dielectrophoretic manipulation and capacitive sensing has two main features; the reconfigurability and loading of very low resistance and high

capacitance. In fact, the device is designed to support different types of micro and nano particles. However, the resistivity of particles and cells can drastically vary (Hoffman et Britt, 1979; Jang et Wang, 2007), the device must be able to handle different types of particles, thus, the circuit is reprogrammable. The reconfigurability of the design can be done on signal phases, amplitude and frequency.

6.1.4 Proposed Low Resistive and High Capacitive Load Circuit

To generate low voltage dielectrophoresis with a reprogrammable pattern, a digital module is integrated into the chip. The main task of the digital module is to control the frequency and the phase of the applied signal in the micro-channel. It is composed of a 4 memory blocks of 8x100 bits each, in which the signal pattern is saved. Three memory management module sets the starting reading point in each block depending on the user phase. A clock signal generator is also integrated to set the user frequency. A digital-to-analog converter (DAC) is then designed to convert the 8-bits output signal of the digital module to an analog output. As the output of the DAC is a current, a current mirror was added to convert it to a voltage with a reprogrammable offset by adding a trimming resistor R_{Cal} . Then an amplification stage was integrated with a reprogrammable gain to change the output voltage. At the output stage, a high performance buffer was added and is described in the following section. The general circuit diagram is shown in Fig. 6.1.

In order to maximize the voltage range of the output signal, it is necessary to use a rail to rail architecture for the system buffer. Thus, based on Nosratina et al. (AbdelMoneim et Mahmoud, 2007; Baker, 2008) the topology of implemented high-swing buffer is shown in Fig. 6.2 and the dimensions of used transistors are shown in Table 6.1.

In order to design a high swing output stage, a common source architecture is used. Although the common drain configuration has better frequency response (Nosratina *et al.*, 1995), the output voltage swing is reduced due to the gate-source voltage of such configuration and its gain usually smaller than 1. This limitation is not convenient in our application. As shown in Fig. 6.2, the output stage is composed of two large common source transistors M_{24} and M_{25} forming a push-pull class AB buffer.

In the input stage, two complementary differential pairs were used M_1/M_2 and M_{14}/M_{15} to improve the Common Mode Input Range (CMIR) and can reach the power supply limits but the common mode rejection will be low in the limits. In addition, the value of the input stage transconductance g_m is not constant and varies when the two pairs are off. Specifically, when the input voltage is greater than $(V_{dd} - |V_{tp}|)$, M_1/M_2 are off and this transconductance will be equal to g_{m_n} which is the nMOS differential pair transconductance. For an input value less than $(V_{ss} + |V_{tn}|)$, the two nMOS M_{14}/M_{15} are off and then g_m is equal to g_{m_p} which is

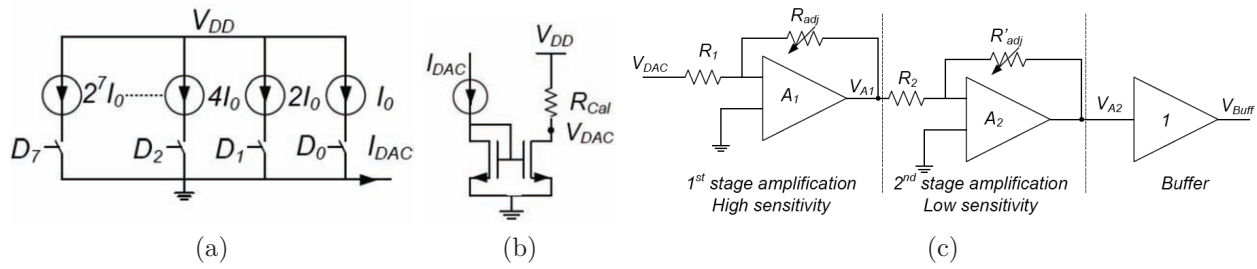


Figure 6.1 Output signal processing module with (a) DAC, (b) current mirror and (c) amplification and buffering stage

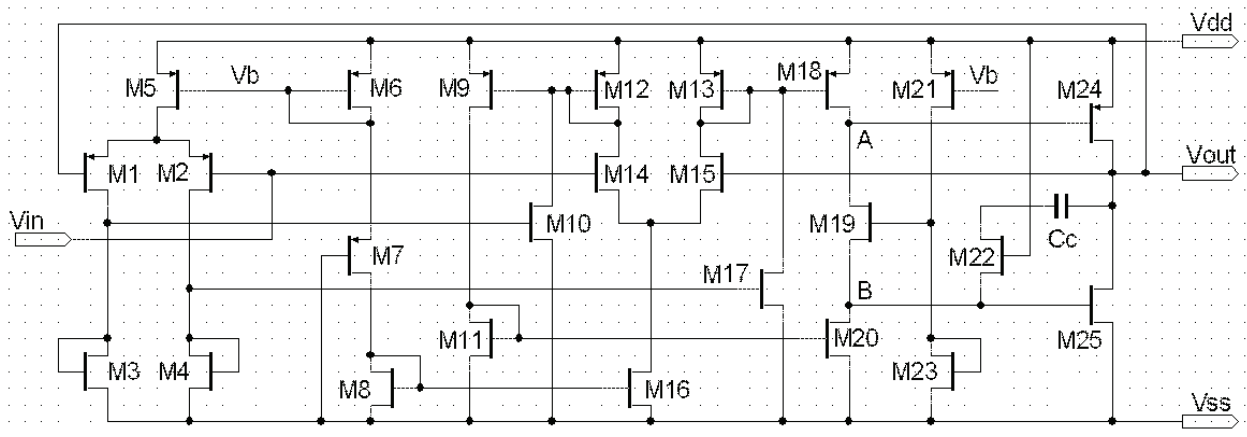


Figure 6.2 Buffer circuit schematic

the pMOS differential pair transconductance. When the input voltage is between $(V_{dd} - |V_{tp}|)$ and $(V_{ss} + |V_{tp}|)$, the two pairs are active and g_m is equal to the sum of g_{m_n} and g_{m_p} .

The nMOS part of the buffer input stage is composed of transistors M_9 , M_{11} , M_{16} , M_{18} and M_{20} forming an operational transconductance amplifier (OTA). The pMOS part is composed of transistors M_1 - M_5 , M_{10} and M_{17} . The sum of the currents of nMOS and pMOS differential pair is done through M_{12} and M_{13} from M_{10} and M_{17} , so that all transistors form an OTA with a rail to rail input swing. The output of the input stage is connected to the "push-pull" output stage at points A and B as shown in Fig. 6.2. The bias circuit of the OTA is formed by M_6 - M_8 . Given that M_{14} and M_{15} have a threshold voltage V_{tn} of 1 V and these two transistors must be biased by a voltage $V_G = V_{dd}/2 = 1.65$ V where $V_{dd} = 3.3$ V, then the biasing circuit is designed in a way that $V_{DS_{16}}$ is smaller than $(1.65-1=0.65$ V). This configuration ensures that M_{14} and M_{15} are still active.

The current source M_{19} is used to improve the stability of the design and reduce the

Tableau 6.1 Transistor dimensions in μm ; $C_c=2$ pF

Transistors	W/L	Transistors	W/L
M_1, M_2, M_{14}, M_{15}	7/0.35	M_{11}	0.8/0.35
M_3, M_4	5/0.35	M_9	2.4/0.35
M_5	6.83/0.35	M_{18}	3.37/0.35
M_6	0.5/0.35	M_{19}, M_{22}	7/0.35
M_7	0.4/7	M_{21}	2.8/0.5
M_8	2/2.5	M_{23}	0.5/10
M_{12}, M_{13}, M_{20}	1.2/0.35	M_{24}	100/0.35
M_{10}, M_{16}, M_{17}	6/0.35	M_{25}	50/0.35

quiescent current I_q (Baker, 2008). Furthermore, M_{19} is used to reduce the output quiescent current I_{qo} flowing in the output stage M_{24} and M_{25} . However, reducing I_{qo} affects the slew rate (SR) of the design and the minimum load resistance that can be connected to the buffer. In fact, considering the case where M_{24} and M_{25} are behaving as an ideal inverter which means ($V_A = V_B$), thus, the DC voltage at the output is $V_{dd}/2 = 1.65$ V if ($V_A = V_B$) = 1.65 V. Simulation results show that for such a configuration, the maximum I_{qo} current is equal to 5.4 mA.

By using M_{19} , V_A tends to $(V_{dd} - |V_{tp24}|)$ and V_B tends to $(V_{ss} - |V_{tn25}|)$. Thus, I_{qo} is reduced while keeping M_{24} and M_{25} in the active region. However, for small resistive loads, the voltage drop at V_B can push M_{25} out of its active region.

In addition, the implemented topology includes an advanced capacitive sensor detailed in (Miled et Sawan, 2011a) and is not covered in this paper.

6.1.5 Electrode Models

Two electrode architectures were modelled in this paper in addition to other architectures previously modelled and described by Miled et al. (Miled *et al.*, 2010, 2011a). Thus, this section focus only on the L-shaped and the octagonal electrode geometries. For each electrode geometry, the variation of the electric field around the electrodes was simulated by ANSYS. In addition, a harmonic analysis was used to apply sinusoidal signals with various phase shifts. 3D elements, PLANE231, were used to simulate the electric field propagation.

Each electrode of the octagonal architecture has an area of $40 \mu m \times 10 \mu m$, separated by a distance of $10 \mu m$. A phase shift of 90° was applied to subsequent four electrodes, creating a phase shift of $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ$ and 270° .

From this analysis and by observing the direction of the electric field at high and low frequencies, without calculating the entire DEP force, the particles tend to move to the electrode surface at low frequencies and toward the center at high frequencies as shown at Fig. 6.3a and Fig. 6.3b, respectively.

Twelve L-shaped electrodes whose dimensions are $200 \mu m \times 10 \mu m$, separated by a distance of $10 \mu m$ were also simulated with a phase shift of $0^\circ/180^\circ/0^\circ/180^\circ$ for four electrodes as shown in Fig. 6.4a. It can be seen that there is an alternation between a high and low electrical potential between each electrode. A difference of phase shift of 90° was also applied to the electrodes of the same dimensions ($200 \mu m \times 10 \mu m$, separated by $10 \mu m$) which leads to a phase shift $0^\circ/90^\circ/180^\circ/270^\circ$ applied on four successive electrodes to move the particles by a translation effect as shown in Fig. 6.4b. Then, L-shaped electrodes whose width ($200 \mu m \times 30 \mu m$) is three times larger than the inter-electrode space $10 \mu m$, with a phase shift of $0^\circ/180^\circ/0^\circ/180^\circ$ applied on four successive electrodes were simulated. The voltage propagation in the inter-electrode space covers a smaller area.

6.1.6 Simulation and Experimental Results

6.1.6.1 Microelectronics Circuit Results

The integrated circuit of the high swing buffer, shown in Fig. 6.5, was fabricated using 3.3V TSMC $0.18 \mu m$ technology. The value of the threshold voltage of these components varies from 733 mV to 1055 mV for nMOS and from 665 to 700 mV for pMOS which affects the circuit performances as explained in section. 6.1.4. Simulation results show that the static current consumption of the circuit is $I_q = 549 \mu A$. In addition, the output voltage offset is 4 mV and the open loop DC gain is 71 dB.

Changes in V_A and V_B as well as I_{qo} versus R_L are shown in Fig. 6.6. Knowing that $V_{tn25} = 791.7$ mV, the proposed design is able to drive small resistive loads such as 145Ω . Fig. 6.7 shows the impact of R_L on the CMIR of the circuit. For each value of R_L , the lower and upper bounds are provided. Rail to rail operation ($V_{dd}-10\%$ and $V_{ss}+10\%$) was obtained when $R_L > 431.3 \Omega$. When R_L is less than 431.3Ω , a voltage drop is observed. This is due to the output resistance of M_{24} that is not be able to drive enough current.

Table 7.1 describes the frequency unity gain (f_{GBW}) and the phase margin (P_M) of the designed buffer for capacitive load values ranging from 1pF to 10nF. In the same table, positive values of SR (SR+) and negative one (SR-) are shown. It can be noted from P_M the difficulty associated to the compensation capacitor C_c , to get a stable design. Indeed, the value of C_c used is 2 pF. However, P_M is low for the average values of C_L . For $C_L = 10$ nF, P_M is in the order of 81.9° . However, the SR is limited to $0.26 V/\mu s$, which limits the

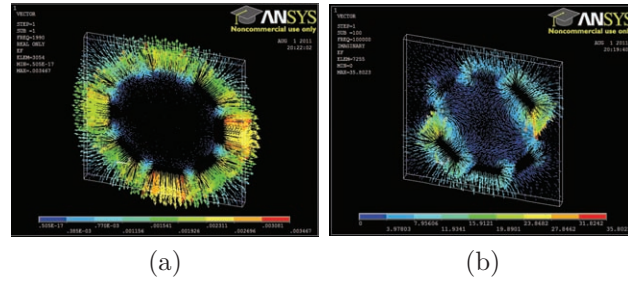


Figure 6.3 Electrical field propagation at (a) 2 kHz, and (b) 1 MHz with octagonal electrode architecture

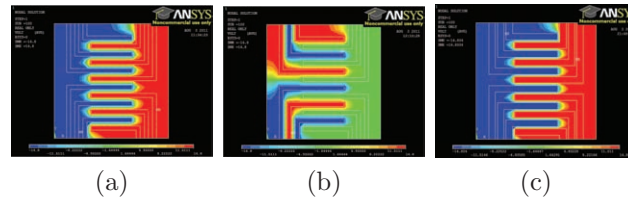


Figure 6.4 Voltage propagation in the case of L-shaped electrodes with (a) $0^\circ/180^\circ$, (b) $0^\circ/90^\circ/180^\circ/270^\circ$ phase shift in the case of $200 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ electrode architecture, and (c) $200 \mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$ L-shaped electrode architecture.

operating frequency of the buffer to less than 25 kHz when C_L is 10 nF.

Fig. 6.8 illustrates the large signal response of the buffer when a 200 pF capacitive load is connected with an input pulse of $3.3 \mu\text{sec}$ and 6 Vpp. We note that the circuit operation is rail to rail. However, the SR- limits significantly the response time which is in the order of $0.72 \mu\text{s}$.

6.1.6.2 Particle Manipulation Results

Dielectrophoresis experiments were made to investigate the capacity of the LoC to allow the manipulation of micro and nanoparticles on top side of electrodes, with sinusoidal signals of a maximum magnitude of 2.5 Vpp are applied. Three different electrode architectures shown in Fig. 6.9, generating three specific DEP manipulations are used to investigate the variation of amplitude on DEP behaviour with the proposed LoC. It includes an array of 32 U-shaped electrodes, an architecture of 8 adjacent electrodes forming an octagonal shape and finally, a square-shaped electrode configuration. These electrodes are introduced in section 6.1.5 in addition to those described in previous papers (Miled *et al.*, 2010, 2011a).

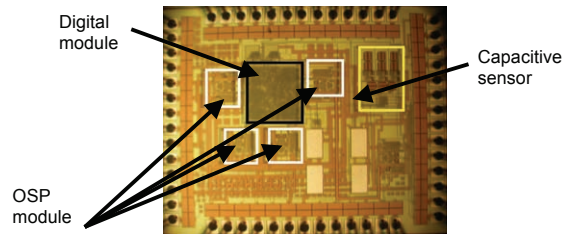


Figure 6.5 Fabricated chip of the proposed circuit using TSMC $0.18 \mu m$ technology

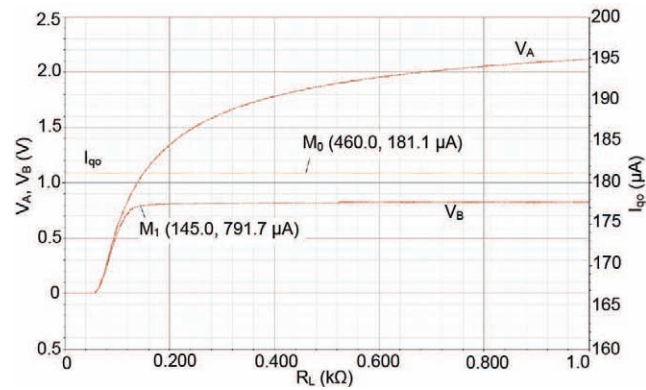


Figure 6.6 changes of V_A , V_B and I_{qo} versus R_L when $W_{19} = 7 \mu m$

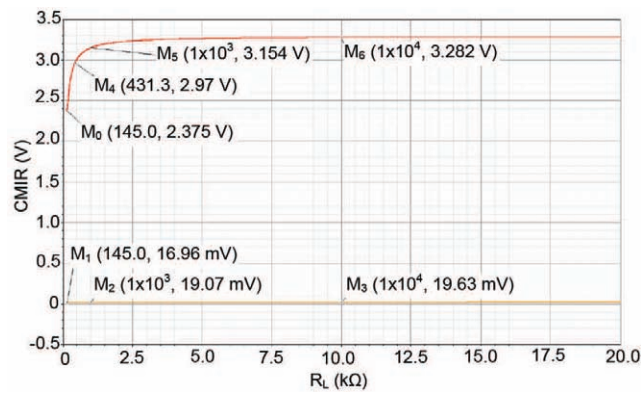


Figure 6.7 Lower and upper CMIR according to a resistive load R_L

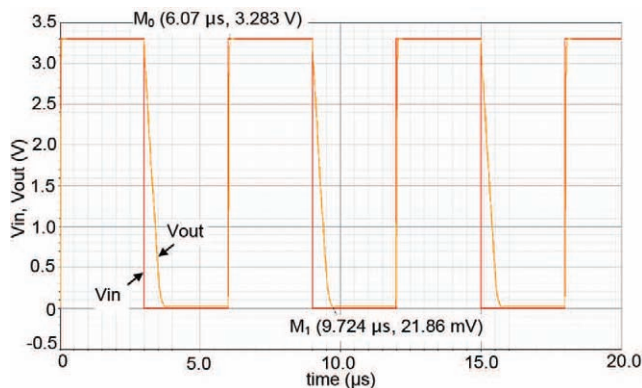


Figure 6.8 Pulse response when C_L is 200 pF

Experiments with three different sizes of polystyrene carboxylate-modified microspheres with a high negative charge at neutral pH were performed. Spherical particles with diameters of $2.04 \mu\text{m}$ (10 w/v suspension), $0.97 \mu\text{m}$ (green dyed, 2.5 w/v suspension) and $0.21 \mu\text{m}$ (red dyed, 4.85 w/v suspension) were obtained from Bangs laboratories Inc. The motion of particles was observed using a microscope (Karl Suss) and recorded with a digital camera to computer system. Manufacturer's solutions of beads were further diluted with deionised water ($5 \times 10^{-4} \text{S/m}$) in order to achieve a final concentration of particles ranging from 0.8 mg/ml to 2 mg/ml, facilitating the observations. The beads solutions were injected at a constant rate of $1 \mu\text{l}/\text{min}$ in the chip's micro-channel using a syringe pump (Harvard apparatus, Phd Ultra). The frequency, phasing and voltage of AC signals supplied to the electrodes were set through a Bluetooth link via a home-made control interface based on Labview (National Instruments). These signals were also monitored with an oscilloscope to assure that the correct values were supplied to the system.

– U-shaped electrode architecture

Each U-shaped electrode of the array (Fig. 6.9a) has a height of $650 \mu\text{m}$, a width of $10 \mu\text{m}$, and electrodes are spaced by $10 \mu\text{m}$. Signals with a phase shift alternating from 0° to 180° were applied to each pairs of “U” electrodes. A trapping effect, similar to well-known *parallel finger paired electrodes* is expected (?).

– Octagonal electrode configuration

This configuration consists of 8 electrodes of $40 \mu\text{m}$ by $10 \mu\text{m}$ placed $10 \mu\text{m}$ apart in a circle, forming an octagonal shape (Fig. 6.9b). Signals with a phase shift difference of 90° were applied to each electrode, creating an electro-rotational effect, suitable for a rotational mixing operation.

– Square-shaped mixing electrodes

Tableau 6.2 Unity gain frequency f , phase margin P_M and the positive and negative slew rate SR variation versus the capacitive load C_L

C_L (pF)	f (MHz)	P_M (°)	SR+(V/ μ s)	SR-(V/ μ s)
1	233.4	93.7	435	160
10	164	38.7	322	103
50	72	26.6	225	37
100	51.7	22.1	149	21
500	23.3	30.2	44.5	4.9
1000	15.6	42.9	23.6	2.5
2500	7.9	62.9	9.3	1
5000	4.3	74.6	1.9	0.3
10000	2.2	81.9	1.3	0.26

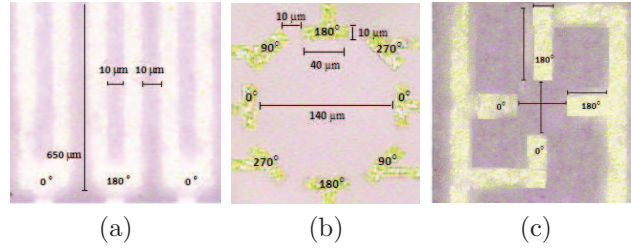


Figure 6.9 Dimensions and specific phase shift applied to each studied electrode architecture : (a) U-shaped electrodes, (b) Octagonal configuration electrodes, (c) Square-shaped mixing electrodes.

A small square-shaped mixed (SSM) electrode configuration (Fig. 6.9c) with a mixing zone of $29 \mu m$ by $29 \mu m$ at the center of the electrodes, intended to create a diagonal direction mixing operation was used. Square electrodes are $15 \mu m \times 10 \mu m$. Signals with a phase shift difference of 180° were applied to each electrode pair.

For each electrode architecture, the DEP behaviour of particles was first characterised experimentally, by generating sinusoidal signals and varying the frequency from 1 kHz to 4 MHz. The frequencies producing obvious positive DEP and negative DEP behaviours were identified and the cross-over frequency (f_c) was found by reducing step by step the frequency gap between them. To determine the effect of amplitude, the electrode stimuli signals were first set at a specific frequency to produce a clear nDEP or PDEP effect for the specific particle studied. The amplitude was then lowered gradually with a 1 V step from the maximal value

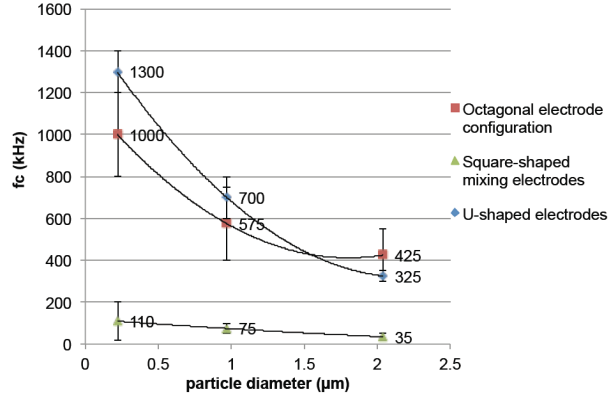


Figure 6.10 f_c range as a function of particle diameter for each implemented electrode architecture.

of 14.8 Vpp to a final value of 1.8 Vpp. For each voltage step, qualitative comparison of the particle's behaviour to its behaviour at maximum amplitude (14.8 Vpp) was made. The minimal threshold voltage needed to maintain an effective and stable manipulation operation, which is dependent of the electrode architecture studied, was quantified for each particle size.

Also, a home-made image processing program produced on Matlab was used to count automatically the number of particles for each voltage step.

The f_c range determined experimentally for polystyrene carboxyl-modified particles is given as a function of the 3 diameter sizes ($0.22 \mu\text{m}$, $0.97 \mu\text{m}$ and $2.04 \mu\text{m}$) used and for each of the 3 electrode architectures in Fig. 6.10. As previously reported by Durr et al. (Durr *et al.*, 2003), we also found that the crossover frequency determined experimentally is higher for a decreasing diameter size of same-nature particles, regardless of the electrode architecture under study. Thus, the results showed that for a specific electrode configuration, frequencies associated with nDEP and pDEP behaviour are simply transposed to higher values with a decreasing size of particles. Only the general DEP behaviour followed by particles according to the electrode tested will be detailed in the following paragraphs.

For each performed experiment, a minimum voltage threshold is needed to maintain an effective manipulation. The latter is dependent of the electrode architecture used as explained in the following section and was determined experimentally. Fig. 6.11 shows an example of the proposed approach to determine this threshold, with captured images of $0.22 \mu\text{m}$ diameter polystyrene spheres for different applied voltage AC signals.

- U-shaped electrodes

At low frequencies ($< f_c$), the particles settle in the inter-space of two U-shaped electrodes, experiencing pDEP. The transition phase consists of particle aggregates that move in the y-

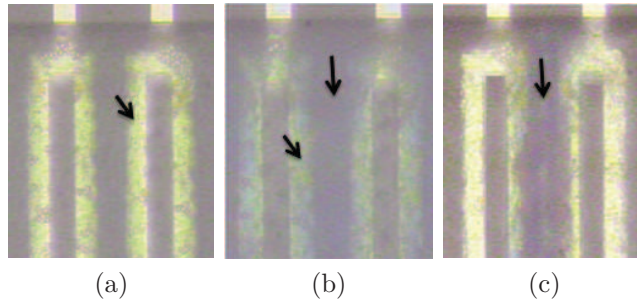


Figure 6.11 Captured images of $0.22 \mu\text{m}$ diameter polystyrene spheres (dyed green) showing their frequency-dependent DEP behaviour under AC signals in the U-shaped electrode configuration. (a) pDEP : particles collect at the electrode surfaces at frequencies higher than 1.4 MHz (b) pDEP-nDEP transition : particles settle at the electrode surfaces and in the inter-electrodes space at frequencies ranging from 1.2 MHz to 1.4 MHz (c) nDEP : particles are trapped in the inter-electrodes space at frequencies lower than 1.2 MHz.

axis direction. At high frequencies ($> f_c$), the particles are attracted to the electrode surface and exposed to a nDEP. Fig. 6.11 shows the general pattern observed under the nDEP, pDEP-nDEP transition and pDEP frequency conditions, for every size of particles used. No particle was ever observed in the empty space of the “U” electrode, due to the application of only one phase shift. This design offers a large trapping area within its inter-electrode space and could be used in the future has a particle trapping component, useful for sensing functions.

The variation of amplitude was studied with an AC signal frequency of 200 kHz, corresponding to an effective trapping of particles in electrodes inter-spaces at high amplitude (14.8 Vpp), for all dimensions of particles studied. For every particles sizes, a valid trapping effect was found until the minimum voltage of 1.7 Vpp. However, a small loss of particles was seen at 4V for $0.97 \mu\text{m}$ particles, and at 6 V for $0.22 \mu\text{m}$ particles.

– Octagonal electrode configuration

At low frequencies ($< f_c$), particles are attracted to the electrode surfaces (nDEP) and starts rotating while still being bounded to the surfaces when the frequency is increased. An instability state where particles are both attracted and repelled from the electrode surfaces is observed for a large range of frequencies, associated to the pDEP-nDEP transition phase. At high frequencies ($> f_c$), the particles are repelled from the electrode surfaces (pDEP) and creates a rotating sphere in the center space of the electrode configuration and the speed of the sphere increases with frequency. Fig. 6.10 shows the general frequency-dependent DEP behaviour pattern adopted by all particles examined.

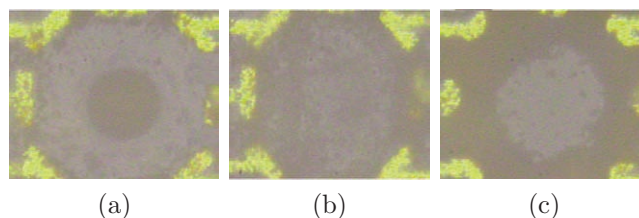


Figure 6.12 Captured images of $0.97 \mu m$ diameter polystyrene spheres (dyed red) showing their frequency-dependent DEP behaviour under AC signals in the octagonal electrode configuration. (a) pDEP : particles are repelled from the electrodes and form a rotating sphere at frequencies higher than 575 kHz, (b) pDEP-nDEP transition : particles settle at the electrode surfaces and in the inter-electrodes space at frequency 575 kHz (c) nDEP : particles collect at the electrode surfaces at frequencies lower than 575 kHz

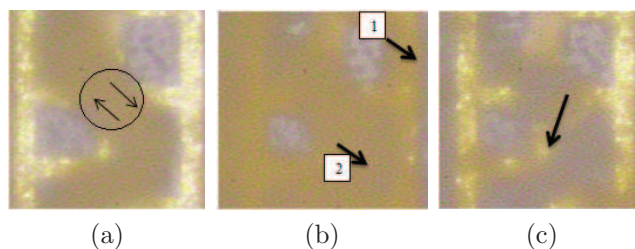


Figure 6.13 Captured images of $0.97 \mu m$ diameter polystyrene spheres (dyed red) showing their frequency-dependent DEP behaviour under AC signals in the square-shaped mixing electrodes (a) pDEP : particles are repelled from the electrodes and collected in the electrode inter-space at frequencies higher than 100 kHz. A diagonal direction mixing operation occurs in the mixing area, represented by the fine line arrows. (b) pDEP-nDEP transition : particles settle at the electrode surface (1) and in the inter-electrodes space (2) at frequencies ranging from 50 kHz to 100 kHz (c) nDEP : particles collect at the electrode surfaces at frequencies lower than 50 kHz.

An AC signal frequency set at 1.3 MHz was used to quantify the voltage under the octagonal electrode configuration. This frequency enables the formation of a rotating sphere made of particles in the center of the electrodes, as described previously, for every size of studied particles. Observations showed that a total loss of the rotational effect was seen at 6 V, 12 V and 13 V, respectively for $2.04 \mu m$, $0.97 \mu m$ and $0.22 \mu m$ diameter beads. In all cases, the decrease in voltage caused a decrease in the rotation speed of the spherical aggregation of particles and in its compactness.

– Square-shaped mixing electrodes

At low frequencies ($< f_c$), particles settle on the electrode surface (nDEP). At high fre-

quencies ($> f_c$), they concentrate in spaces between the electrodes (pDEP), especially in the mixing area, creating a mixing operation heading towards diagonal direction, due to the phase shift difference applied to the opposite set of electrodes. This frequency-dependent behavior can be seen in Fig. 6.13.

The effects of voltage variation were analyzed under an AC signal frequency of 200 kHz, associated with a diagonal direction mixing operation, for every particle size analysed. For 2.04 μm diameter-sized polystyrene beads, the mixing effect is still viable at 1.7 V, although a large number of particles in the mixing region dissipated. Mixing operations of 0.97 μm and 0.22 μm diameter beads have been qualified ineffective at respective voltages of 3 V and 6 V. In both cases, particles attached to the mixing region were still present, although no mixing movement was detected. Fig. 6.10 shows the general frequency-dependent DEP behaviour pattern adopted by all particles examined.

The results, summarized in Table 6.3, show that an effective manipulation effect can be achieved for particles experiencing DEP in a U-shaped electrodes architecture, regardless of the particle size. For the octagonal electrode configuration, the voltage needed to achieve a rotational effect must be at least higher than 6 V for 2.04 μm particles, and increases as a function of a decreasing particle dimension. The square-shaped mixing electrodes enables an effective diagonal mixing operation for which the voltage required also depends on the particle size, with the same relationship as for the octagonal electrode configuration.

The results presented show that it is possible to obtain an effective manipulation with AC signals having minimum amplitudes of 2.5 V, depending on the architecture of electrode and the size of particles used. This is consistent with DEP theory (A, 1978), (Pethig, 1979), as the applied voltage is not directly connected to the F_{DEP} , but is taken into account through the electric field intensity gradient (∇E^2) which depends on the geometry of used electrode architecture. In all cases, we noticed that smaller voltages cause the bead to experience

Tableau 6.3 Minimum effective operation voltage threshold (MEOVT) determined experimentally for carboxyl-modified polystyrene beads (Bangs laboratories Inc.) of three different diameter sizes (2.04 μm , 0.97 μm and 0.22 μm) in function of electrode (E.) architecture (Arch.) and for a specific AC signal frequency (Freq.).

E. Arch.	Freq.	MEOVT		
		2.04 μm	0.97 μm	0.22 μm
U-shaped E.	200 kHz	1.7V	1.7V	1.7V
Octagonal E.	1.3 MHz	6V	12V	13V
SSM E.	200 kHz	1.7V	2.5V	6V

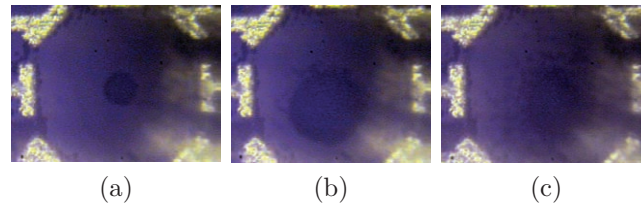


Figure 6.14 Captured video images of $2.04 \mu\text{m}$ diameter polystyrene spheres for different applied voltage AC signals at a frequency of 1 MHz, enabling the formation of a rotating particle sphere at the center of the electrodes. (a) $14.8 \text{ V}_{\text{pp}} / 1 \text{ MHz}$: the sphere formed of particles is rotating at a high speed and the degree of compactness is strong (b) $6 \text{ V}_{\text{pp}} / 1 \text{ MHz}$: the sphere formed of particles is rotating at a low speed and the degree of compactness is weak (c) $5 \text{ V}_{\text{pp}} / 1 \text{ MHz}$: the sphere formed of particles is no more rotating and slowly disintegrates, making the rotational mixing operation ineffective.

smaller DEP. This can be explained by the fact that DEP force also increases in proportion to the cube of the diameter of the particle. As a consequence, the smaller the diameter of the particle, the higher the voltage needed to be in order to provide an adequate desired DEP manipulation.

Finally, L and U-shaped electrodes are used for separation. Octagonal electrodes are used for mixing. This is due to the fact that octagonal electrode force particles to rotate around the electrodes in a way defined by the applied frequency (f_c). However the U-shaped and L-shaped electrodes can be used only for DEP frequency-based separation, as they cannot move particles on a well-defined direction. Square-shaped electrodes are mainly used for separation in our case as defined in Fig. 6.13. They can be used for mixing if they have a larger dimension in a close way to octagonal electrodes.

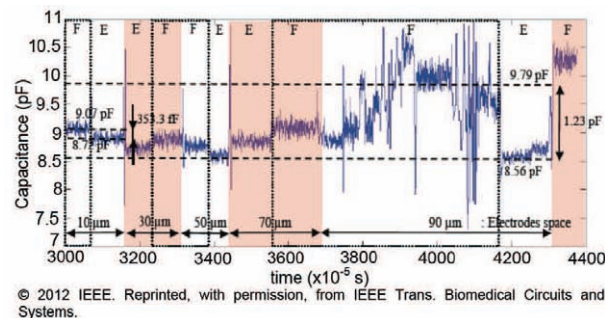


Figure 6.15 LoC sensitivity when a liquid is flowing in the microchannel for different electrode configurations and spaces (E=Empty, F=Full) (Miled et Sawan, 2012b)

6.1.6.3 Capacitive Sensor Experimental Results

The sensor is sensitive to medium permittivity change as shown on Fig. 6.15, where the best accuracy which is 1.23 pF with 90 μm electrodes space, is related to the higher variation between empty (E) channel and liquid flow (F) phase. The lowest sensitivity, 353.3 fF, corresponds to the 10 μm electrode space. Indeed, when the electrodes are closer, the capacitive sensor is more affected by the liquid change between the electrode plates and not by the medium change. This is because the electrode shape is planar and the liquid is passing on the top of plates (Miled et Sawan, 2012b). Thus, when the cells are smaller than 1 μm , a smaller electrode space offers a better accuracy. To test the system, we first injected an ethanol (Eth) and then mixed distilled water with algae's (A) as shown on Fig. 6.16. A variation of 219.4 fF was noticed in the capacitive sensor. Moreover, when the sensing phase is active at the same time as the manipulation phase, interferences are introduced into the system due to the spread of electric field induced by an AC voltage. This disturbance has a significant effect on the capacity, which consequently causes oscillations with variable amplitude depending on the frequency of the applied AC signal. Fig. 6.16 shows the effect of the AC field on the capacitive sensor. As can be observed on this figure, the interference amplitude varies from 1 pF for low frequencies below 8 kHz up to 30 pF for high frequencies in the range of 250 kHz. Consequently the LoC is working only in manipulation or sensing phase to avoid any interference but not both at the same time.

6.1.7 Conclusion

Through this paper, a low voltage LoC is presented to drive micro and nanoparticles with a voltage less than 2.5V. The device was able also to sense a permittivity change in the range of 50 fF. In this paper we focused on the proof of concept of integration of different kind manipulation and detection in the same device in a few millimetres. However other issues must be fixed to achieve a fully functional system such as packaging, control and communication between the device and user. As it is an ongoing project, some of these issues have already been solved while others are still under development.

6.1.8 Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support from NSERC and Canada Research Chair in Smart Medical Devices, and are grateful for the design and simulation tools supplied by CMC Microsystems. The authors also thank Laurent Mouden and Abbas Nemr for their help in this project.

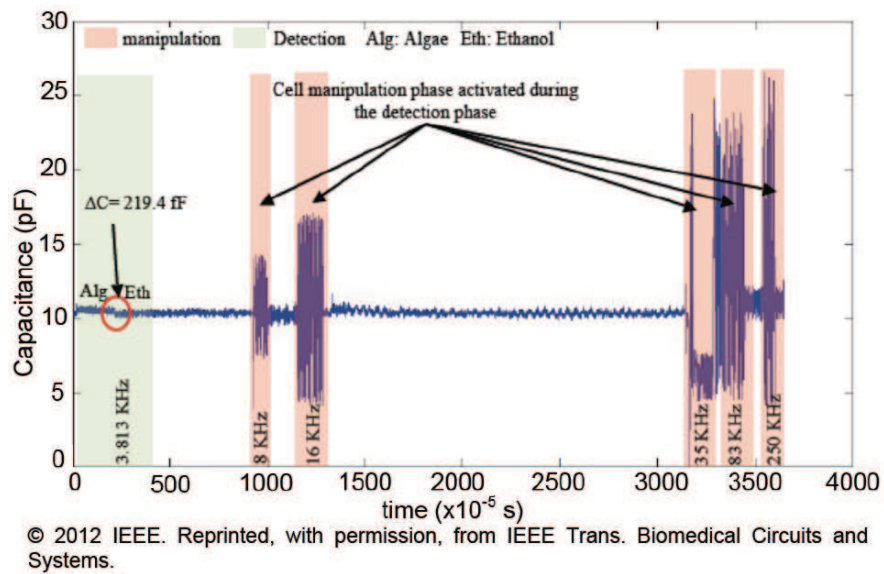


Figure 6.16 Interference effect (*in red*) when both manipulation and detection phases are enabled (Miled et Sawan, 2012b)

CHAPITRE 7

Méthode de modélisation hybride pour les manipulations diélectrophorétiques des particules

La modélisation des LsP est l'un des plus grands défis dans la recherche biomédicale. La principale raison est la grande diversité des manipulations pouvant être faites avec les LsP mais aussi à cause de l'approche multiphysique pour cette modélisation. Ainsi dans ce chapitre nous présentons la première modélisation d'un LsP qui est versatile et dédiée pour les manipulations diélectrophorétiques. Cette première modélisation en son genre se base sur une approche hybride entre une modélisation par élément finie à l'aide d'ANSYS en parallèle avec une implémentation d'un algorithme sur Matlab permettant de calculer la position de la particule dans un microcanal en se basant sur les résultats fournis par ANSYS. Cette première modélisation peut être généralisée à différents types de manipulations de particules comme par champs magnétique ou bien ultrasonique. Son avantage est le fait qu'elle se base les grandes capacités de calcul d'ANSYS pour pouvoir les adapter aux application biologiques à travers Matlab. Les résultats obtenus sont cohérents avec les résultats expérimentaux pour une architecture d'électrodes carrée et octogonale. Grâce à cette modélisation il nous était possible d'identifier l'emplacement des particules avec précision dans le microcanal ce qui n'était pas possible avec les résultats expérimentaux.

7.1 Article 4 - Hybrid Modeling Method for a DEP Based Particle Manipulation

Mohamed Amine Miled, Antoine Gagné-Turcotte, and Mohamad Sawan
Accepted for publication in Sensors, MDPI, 2012

7.1.1 Abstract

In this paper, a new modeling approach for Dielectrophoresis (DEP) based particle manipulation is presented. The proposed method fulfills missing links in finite element modeling between the multiphysic simulation and the biological behavior. This technique is amongst the first steps to develop a more complex platform covering several types of manipulations

such as magnetophoresis and optics. The modeling approach is based on a hybrid interface using both ANSYS and Matlab to link the propagation of the electrical field in the micro channel to the particle motion. ANSYS is used to simulate the electrical propagation while Matlab interprets the results to calculate cell displacement and send the new information to ANSYS for another turn. The beta version of the proposed technique takes into account, particle shape, weight and its electrical properties. First obtained results are coherent with experimental results.

7.1.2 Introduction

Microelectromechanical systems (MEMS) have already certain maturity as a technology. They emerged in the seventies and they are widespread amongst a variety of products and being used in many home and entertainment applications. Current smartphones and video-game controllers are two excellent examples of such products. They are also present in most recent cars and printers. Because of their size, ease to manufacture, low cost and low power consumption ; MEMS revolutionized many aspects of consumer electronics.

More recently, a new branch of MEMS emerged : BioMicroelectromechanical systems (BioMEMS) Ghallab et Badawy (2005); Lee *et al.* (2007b); Becker *et al.* (1995). These devices are more oriented towards medical and biomedical applications, such as disease screening, DNA sequencing and separation and biological sample analysis. Because of their size and low cost, they can be used in patient monitoring for everyday life, such as in glucose-meters for diabetic patients, as they eradicate the necessity of costly and space-consuming medical equipment Ghallab et Badawy (2010); Burleson *et al.* (2012); Strambini *et al.* (2012).

Currently, BioMEMS are not yet as mature as MEMS ; Much development is still undergoing. However, the BioMEMS market is huge and promising such that a lot of effort is done to produce effective and low-cost designs. Based on Yole report, MEMS market forecast and its various applications are expected to increase from 10199M\$ in 2011 to 21148M\$ in 2017 Breussin (2010). In addition, BioMEMS market is expected to grow by 18.6%, 24.6% and 32.5% in pharmaceutical and biological research, in vitro diagnostics and medical devices, respectively. Moreover, important markets are geographically localized in USA and Europe with 40% and 33% of world share respectively. This market is estimated to be 176.33B\$. Consequently, developing an efficient modeling tool and approach for BioMEMS is critical as it reduces time to market and stimulate research activities.

On the other hand, time to market is considered an important constraint for BioMEMS. Manufacturing such devices can take several months. Consequently, it is much more efficient to model the device before starting the manufacturing process in order to reduce the fabrication failure Teymoori et Abbaspour-Sani (2005); Korsmeyer *et al.* (2004); Trebotich *et al.*

(2002); White (2004). Simulating a device prior to manufacture means to design it virtually and to simulate its behavior under certain circumstances. For example, the presence of electrodes in a microfluidic channel will generate a certain potential distribution when a voltage is applied. The simulation goal is to allow the researcher to know this potential distribution without actually manufacturing the device.

To model BioMEMS, many approaches have been explored Crary et Zhang (1990); Aluru et White (1998); Gagne *et al.* (2011); Baronas *et al.* (2007, 2006, 2012). First, it would be possible to simply use finite element modeling (FEM) to completely discretize a given BioMEMS geometry, then use complex non-linear differential equations to iteratively characterize the time-dependent behavior. Unfortunately, this method would require a lot of computations and possibly with unstable results, leading to erroneous data. As such, many simplifications can be made in order to simplify the problem and make it manageable and stable.

A first step to analyze a BioMEMS consists of considering the architecture without moving particles and using a time-independent simulation. A presented method by Voldman is used to determine the particle trapping efficiency of BioMEMS, computes the dielectrophoretic, gravitational and hydrodynamic forces using mostly analytical results and finding the points where the force was zero to locate particles Voldman (2001). Another method proposed by Phillips consists of removing the use of volumetric discretization by using a boundary-element method Phillips et White (1997). Normally, in a moving-particle situation, the fluid volume should be remeshed when particles move, but by using boundary-elements, only the boundaries have to be remeshed, allowing much more computational efficiency Coelho *et al.* (2004). Many other methods present advantages and disadvantages towards simulations of multiphase present in BioMEMS. It is possible to use finite-element models to characterize the reduced-order problem Hung *et al.* (1997). Another option is using a Precorrected-FFT method to analyze the electrostatic distribution Phillips et White (1997). Also a Multilevel Newton Method Aluru et White (1999) or Full Lagrangian Schemes De et Aluru (2004) have been explored.

However, commercial solutions such as ABAQUS, ANSYS and COMSOL provide convenient end-user functionalities to model and simulate virtually any geometry, with one or more physics domain, using finite element modeling. Since finite-element modeling is used, a lot of computations are necessary and the processing time is often larger than in the approaches previously introduced. Still, since it is more convenient, many researchers use this method to predict the behavior of their MEMS/BioMEMS devices.

We describe in this paper a new modeling approach based on FEM technique to model particle motion in a flowing liquid with an applied electrical field for DEP applications. Several published papers present simulation related to DEP effect Hsiung *et al.* (2011); Kang *et al.*

(2006); Chuang *et al.* (2012); Wang *et al.* (1996). However, their proposed approaches are limited to specific electrode architectures or electrical field propagation conditions and/or fluidic conditions, which is the standard approach to study particle behaviors within DEP. Unfortunately, these techniques assume that medium and particle conductivity are homogeneous and the propagation of the electrical field is not affected by particle charge or shape. This is true when the electrical field is strong enough, but in the case of this work, a low-voltage DEP is used and consequently the electrical field is not propagated through all micro channel depth. Consequently, in case of low voltage DEP electrode architecture, particle shape and charge are critical and it is impossible to simulate the electrical field with conventional tools such as Matlab, ANSYS or COMSOL as they do not consider the biological aspect in electrical field modeling.

Consequently in this work, we demonstrate the first complete modeling approach of DEP-based particle motion in a micro channel considering particle size and charge, electrode architecture, medium and particle conductivity and permittivity and liquid flow conditions. The proposed technique is not limited to any electrode architecture, particle size or fluidic conditions. In fact, ANSYS is used to build micro channel and electrode geometry. Matlab is used to insert particle in the ANSYS model and then ANSYS applies electric and fluidic loads. Unlike other techniques which propose a simulation of DEP parameters, such as electrical field or fluidic forces and then DEP forces are deduced, our modeling approach takes into consideration particle properties in the electrical field propagation and liquid flow to calculate DEP forces and apply it to calculate particle motion.

In this paper, a simplified modeling environment in Matlab and linked to ANSYS is presented. All physics domains are considered uncoupled. The calculated force resulting from each iteration for each particle is used to determine its position during the next iteration in order to track particle displacement during simulation.

In the next section, we present relevant background on dielectrophoresis and BioMEMS Modeling. In section 7.1.6, a theoretical description of the proposed model is detailed. Then in section 7.1.7, the implementation procedure is introduced, and section 7.1.8 shows obtained results and presents a comparison with experimental data.

7.1.3 DEP-based BioMEMS Modeling Theory

7.1.4 Dielectrophoresis Background

Dielectrophoresis is an electrical phenomena that controls neutral-charge particle motion in a fluid induced by an inhomogeneous electrical field as shown in Fig. 7.1.

The dielectrophoretic forces \vec{F}_{DEP} governing particle motion are defined by equation

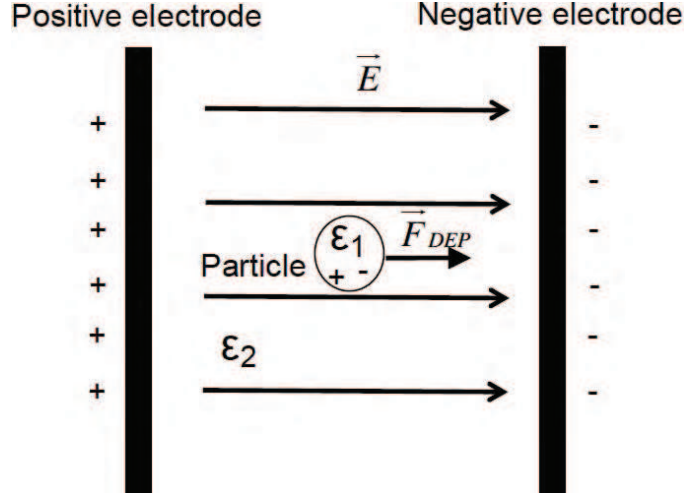


Figure 7.1 Dielectrophoretic effect using a particle with a permittivity of ϵ_1 and medium permittivity ϵ_2

(7.1).

$$\langle \vec{F}_{DEP} \rangle = 2\pi\epsilon_1 a^3 \text{Re}[\underline{K}(\omega)] \nabla |\vec{E}| \quad (7.1)$$

where $\text{Re}[\cdot]$ refers to the real part of the complex number $\underline{K}(\omega)$ and electrical field \vec{E} is defined by

$$\vec{E} = -\nabla \phi_{global} \quad (7.2)$$

where a , ϵ_1 and ϕ_{global} are the radius of the particle, particle permittivity and global potential distribution in the micro channel, respectively. ω is equal to $2\pi f$ where f is the frequency of the electric field.

The Claussius-Mossotti factor $\underline{K}(\omega)$ defines the frequency range of positive DEP and negative DEP which corresponds to attractive or repulsive effect, respectively. The latter frequency range is defined by the crossover frequency as shown in Fig. 7.2. $\underline{K}(\omega)$ is given by equation (7.3).

$$\underline{K}(\omega) = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1 - j(\sigma_2 - \sigma_1)/\omega}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1 - j(\sigma_2 + 2\sigma_1)/\omega} \quad (7.3)$$

where ϵ_2 refers to medium permittivity and σ_1 and σ_2 are particles and medium conductivities, respectively. The Claussius-Mossotti factor refers to the particle polarization. It is related to the phase lag that results from the dipoles formation in dielectric particles in a medium with an electric field.

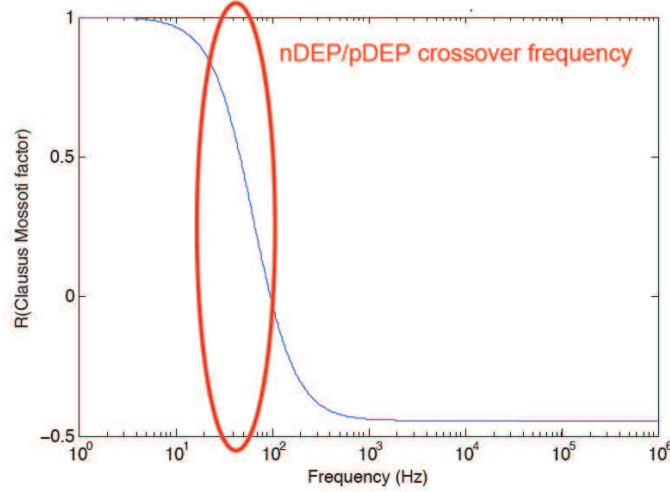


Figure 7.2 Variation of real part of the Claussius-Mossotti factor versus frequency showing the crossover frequency effect

7.1.5 Modeling Background

Modeling BioMEMS requires characterization of the electric, mechanical and hydro dynamical behavior of the analyzed geometry with initial loads. The proposed way to simulate BioMEMS is separated in three different models : the electric model, the fluidic model and particles.

The main goal of this simulation is to track particle displacement based on its charge, weight and applied electrical field. The liquid flow and the electric field propagation monitor particles motion in micro channel. Thus, the fluid and electric field contribution to particle displacement are detailed as follows.

First, the full hydrodynamic model requires solving the Navier-Stokes equation for the fluid that includes an electric field component, as shown in equation (7.4) which is a complex nonlinear equation.

$$\rho \frac{\delta \vec{v}}{\delta t} + \rho(\vec{v} \cdot \vec{\nabla}) = \rho \vec{g} + \rho_e \vec{E} - \vec{\nabla} p + \eta \nabla^2 \vec{v} \quad (7.4)$$

where p , ρ , \vec{v} , \vec{g} , η are pressure distribution in liquid, liquid density, liquid velocity, gravity vector and viscosity, respectively. If particles are presents in micro channel, their displacement must be considered. Consequently no steady state or harmonic behavior is considered to simplify the analysis. The electric model, in addition to contribute to the fluidic solution, is important for its electrophoretic and dielectrophoretic contribution and then on forces applied on particles. The electrophoretic force \vec{F}_{EP} is computed from equation (7.5) A (1978); Kua *et al.* (2008); Masuda et Kamimura (1975).

$$\vec{F}_{EP} = -q_p \vec{E} \quad (7.5)$$

where q_p is the particle electric charge and \vec{E} the electric field.

Particles with their polarization, also contribute to the resulting electric field. The potential induced from the dipoles is given by the approximation of a point-source dipole, as shown in equation (7.6).

$$\phi_{dipole_{s_{x,y,z}}} = \frac{\rho_{eff} \cdot \cos\theta}{4\pi\epsilon_2 a^2} \quad (7.6)$$

where x, y, z refer to particle coordinates, θ the angle between the dipole direction and a point in the micro channel, ϵ_2 the medium permittivity and a the particle radius. ρ_{eff} is the point-dipole and it is given by equation (7.7).

$$\rho_{eff} = 4\pi\epsilon_1 \underline{K} a^3 \vec{E} \quad (7.7)$$

The Claussius-Mossotti factor introduces a phase lag φ in \vec{E} in the point-dipole equation, which is computed from equation (7.8).

$$\varphi = \text{arctg} \left(\frac{\text{Im}(\underline{K}(w))}{\text{Re}(\underline{K}(w))} \right) \quad (7.8)$$

where $\text{Im}(\underline{K}(w))$ and $\text{Re}(\underline{K}(w))$ are the imaginary and real part of the Claussius-Mossotti factor $\underline{K}(w)$.

If a particle has a fixed charge q_p , then the electrical potential $\phi_{part_{x,y,z}}$ at the position (x,y,z) is given by equation (7.9).

$$\phi_{part_{x,y,z}} = \sum \frac{(q_p)_i}{4\pi\epsilon_1 r} \quad (7.9)$$

Computing the electric component of the resulting force on particles, present in the BioMEMS, is straightforward using equation (7.9). But the hydrodynamic force $\vec{F}_{Hydrodynamic}$ requires the computation of the pressure P over the surface S of each particle based on equation (7.10).

$$\vec{F}_{Hydrodynamic} = \oint P dS \quad (7.10)$$

Theoretically, the hydrodynamic, electrophoretic and dielectrophoretic forces previously introduced, make it possible to find the position of the particle after a given time-step since the main goal of the simulation is to predict the position of the particle in a time-dependent simulation.

7.1.6 Proposed Modeling Method

The theory upon which the model is developed, allows finding different parameters affecting particle displacement in a micro channel. It can also be simplified as to quicken computations while giving an accurate prediction. This section presents the different assumptions, simplifications and details related to the implementation method.

The first assumption is that in the fluidic solution, particles can be dissociated from the observed geometry. This means that the computations in the fluidic regimen are done without taking into account particles. The main advantage of this assumption is the fact that solving the Navier-Stokes equations in finite-elements requires a meshing of the geometry, which is a computationally intensive operation.

Another problem associated with the meshing is that it can become unstable because of the stretching of the elements induced by the movement of particles. Since particles are moving in the fluid, the mesh must be recomputed for each iteration. If particles are removed from the simulation and the loads applied on the fluid are the same, the fluidic solution can be considered time-independent. If the electric contribution of the electric field to the fluid movement is considered negligible, the Navier-Stokes equation can then be computed only once. The result is considered steady state, if the flow is in laminar regimen.

Next, the different electric forces can be computed from the potential distribution on the electrodes. Equation (7.11) shows the electric field distribution from the potential distribution.

$$-\nabla \cdot ([\epsilon]\nabla V) + \frac{j}{\omega} \nabla \cdot ([\sigma]\nabla V) = 0 \quad (7.11)$$

where ϵ and σ are the permittivity and conductivity of the environment respectively. V is the applied voltage and ω is equal to $2\pi f$ where f is the frequency of applied voltages.

The dipoles induced from the presence of particles can be computed using equation (7.11). Once the electric field distribution is known, the dielectrophoretic force is calculated using equation (7.1). However, the dielectrophoretic force requires using the gradient of the electric field. Since this value is not needed for anything else, the gradient is simply computed at the current position of each particle. Equation (7.12) is an estimate of the x gradient at position x , y and z .

$$\frac{\delta^2 \phi}{\delta x^2} = \frac{\phi_{x+\Delta x,y,z} - 2\phi_{x,y,z} + \phi_{x-\Delta x,y,z}}{\Delta x^2} \quad (7.12)$$

where Δ refers to the particle radius in the given direction and ϕ is the electrical potential of particle at different positions.

The next parameter needed to compute the dielectrophoretic force is the Claussius-

Mossotti factor based on equation (7.3).

Using these equations, the different forces applied on the particle can be computed using also equations (7.1) and (7.2), though further simplification is possible. By solving the differential equations for the velocity versus the fluid velocity, for a given force value, the final velocity of a particle in a fluid can be calculated based on equation (7.13).

$$v = ae^{-bt} + c \quad (7.13)$$

where $b = -k/m$, k being the drag force and m the mass of particle. Assuming spherical human cell, $m = 1e-12$ kg and $k = 6\pi\mu r$ where r is the particle radius. Considering $\mu = 9e - 4$, the water viscosity at $25^\circ C$, $r = 10e - 6m$ and $k = 1.6965e - 007$. Consequently, b is equal to $1.7e5$. Thus, the exponential term fades rapidly, so that the particle reaches its final velocity c rapidly. c is the ratio of the total exerted force over the drag force. Based on experimental data, it has been shown that the force applied from a moving fluid on a spherical particle is depicted from equation (7.14).

$$\vec{F}_{fluid} = 6\pi\mu a(v - v_0) \quad (7.14)$$

where $6\pi\mu a$ is a constant defined by the fluid viscosity, v is the fluid velocity and v_0 is particle velocity. Because of the fluid velocity component, the other forces do not contribute to an infinite velocity component, as they are linearly opposed to the fluid velocity. The electrophoretic velocity component is then computed based on equation (7.15).

$$v_{electro} = \frac{\vec{F}_{EP}}{6\pi\mu a} \quad (7.15)$$

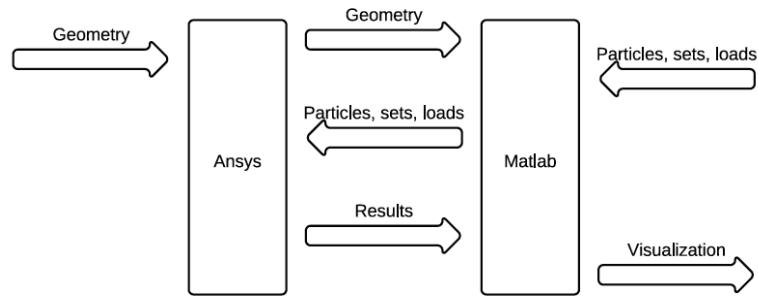
And the dielectrophoretic component using equation (7.16).

$$v_{dielectro} = \frac{\vec{F}_{DEP}}{6\pi\mu a} \quad (7.16)$$

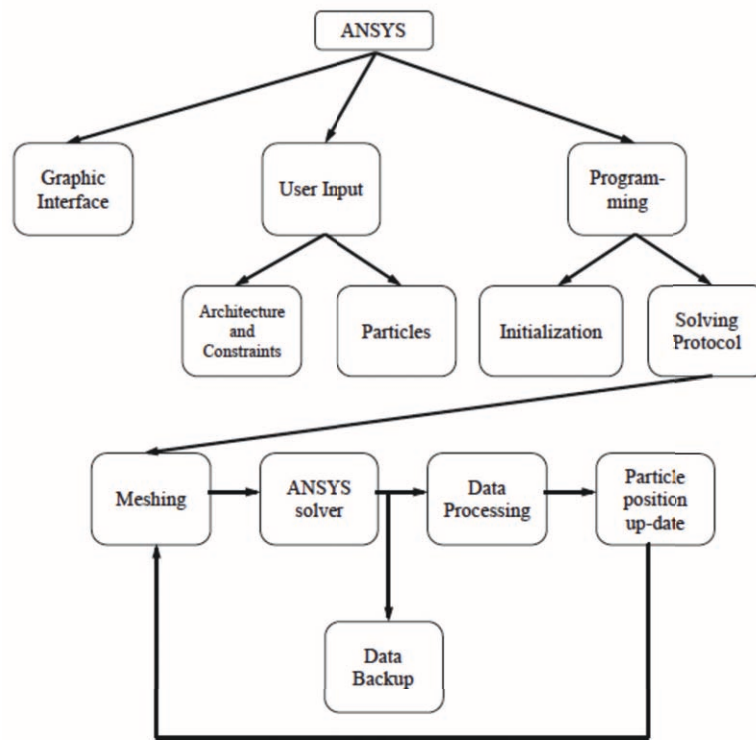
Based on equation (7.14), computing the hydrodynamic component of the particle becomes trivial. Assuming that only forces induced by moving fluid are considered, the particle follows the fluid and falls according to gravity. If electrophoretic and dielectrophoretic forces are present, equation (7.1) prevails.

7.1.7 Implementation of the Proposed Modeling Technique

Through ANSYS, it is possible to model a wide range of mechanical structures such as micro channels and electrodes. It can also model electrical or magnetic field propagation, in



(a)



(b)

Figure 7.3 (a) ANSYS/Matlab global and (b) detailed modeling of a particle motion

addition to liquid flow. But it is not designed to model biological behavior of particles and cells. However COMSOL with particle tracing toolbox and ANSYS with fluent toolbox offer an interesting way to observe particle behavior but it assumes that particle have a steady state and do not consider particle electrical properties variation.

Consequently, the finite-element modeling software ANSYS is used, in conjunction with Matlab as shown in Fig. 7.3. The first step is the geometry production through ANSYS's geometry building functions. Thus, geometries are created in ANSYS and then exported to Matlab. This format contains the list of all points, lines and areas used to produce the

geometry. Using a custom graphical user interface, particle models are defined through Matlab at the desired position with specified parameters such as mass, charge and radius as shown in Fig. 7.4.

Then load sets are created within Matlab interface. Different surfaces on which load will be applied are selected and grouped together. This is used to apply the same load to all surfaces contained in any electrode subset, or to apply a zero-velocity constraint on the micro channel walls, as shown in Fig. 7.4 and Fig. 7.5.

After setting different loads, the latter can be applied to each set of surfaces using Matlab interface as shown in Fig. 7.5. Pressure, velocity and electric loads are applied on each set of the geometry. These loads are saved in separate files and are used by both Matlab and ANSYS. For each file, a list of the areas upon loads are applied is created. Then, the FLOTRAN's analysis properties, along with the simulation parameters are set.

At this stage, global model analysis is started. First, Matlab interface launches a while loop until data are received from ANSYS. The analysis is also started in ANSYS. After each iteration, the results are transferred to Matlab. The simulation steps are as follow. First, the fluidic solution is generated. The fluidic solution is generated only once and it is reused throughout the simulation. To solve this part of the problem, ANSYS fetches the different loads written for pressure and velocity on the areas and applies them to the corresponding areas in the geometry. The solution is then generated using the default ANSYS solver for FLOTRAN elements. A while loop is then triggered, where ANSYS solves the electric simulation. Electrical field propagation results and in-channel pressure distribution are used in equations 7.14-7.16 to compute the different velocity contributions of the hydrodynamic and electric forces. These contributions are sent to Matlab, which computes and stores the incremented particle position. Upon termination, the data is saved and ready for analysis. Example of implementation of these algorithms are presented in Algorithm 1 and 2.

```
*del,VOLT_LOAD
*del,SizeAreas
*DIM,SizeAreas,Array,1,1
*VREAD,SizeAreas(1,1),SizeAreas,txt,,JIK,1,1
(1F14.10)
*DIM,VOLT_LOAD,ARRAY,SizeAreas(1,1),5!!!
*GET,ParX,PARAM,VOLT_LOAD,DIM,X
*GET,ParY,PARAM,VOLT_LOAD,DIM,Y
*VREAD,VOLT_LOAD(1,1),VOLT_LOAD,txt,,JIK,ParY,ParX
(5F41.20)!!!
```

Algorithm 1: Implementation example of particle detection algorithm on ANSYS

Fig. 7.8 and 7.13 show an approximation of particle trajectory based on Fig. 7.7a and

```

if A == 0 then
    for i = 1 :size(LINES1,1) do
        KP1=LINES1(i);
        KP2=LINES2(i);
        if KP1 = 0 then
            POSX = [KPS1(KP1) KPS1(KP2)];
            POSY = [KPS2(KP1) KPS2(KP2)];
            POSZ = [KPS3(KP1) KPS3(KP2)];
            line(POSX,POSY,POSZ);
        else
            line(POSX,POSY,POSZ);
        end
    end
else
    for k = 1 :size(A,1) do
        | h_lines = [AREAS1(A(k)) AREAS2(A(k)) ...;h_lines = h_lines(h_lines =0)];
    end
    for i = 1 :size(LINES1,1) do
        if (find(h_lines==i)) then
            KP1=LINES1(i) ;;
            KP2=LINES2(i) ;;
            if KP1 = 0 then
                POSX = [KPS1(KP1) KPS1(KP2)] ;;
                POSY = [KPS2(KP1) KPS2(KP2)] ;;
                POSZ = [KPS3(KP1) KPS3(KP2)] ;;
                line(POSX,POSY,POSZ,'color','r','linewidth',3);
            else
                line(POSX,POSY,POSZ,'color','r','linewidth',3);
            end
        else
            KP1=LINES1(i) ;;
            KP2=LINES2(i) ;;
            for KP1 = 0 do
                POSX = [KPS1(KP1) KPS1(KP2)] ;;
                POSY = [KPS2(KP1) KPS2(KP2)] ;;
                POSZ = [KPS3(KP1) KPS3(KP2)] ;;
                line(POSX,POSY,POSZ) ;;
            end
        end
    end
    end
    KP1=LINES1(i);
end

```

Algorithm 2: Implementation example of data acquisition algorithm from ANSYS to Matlab

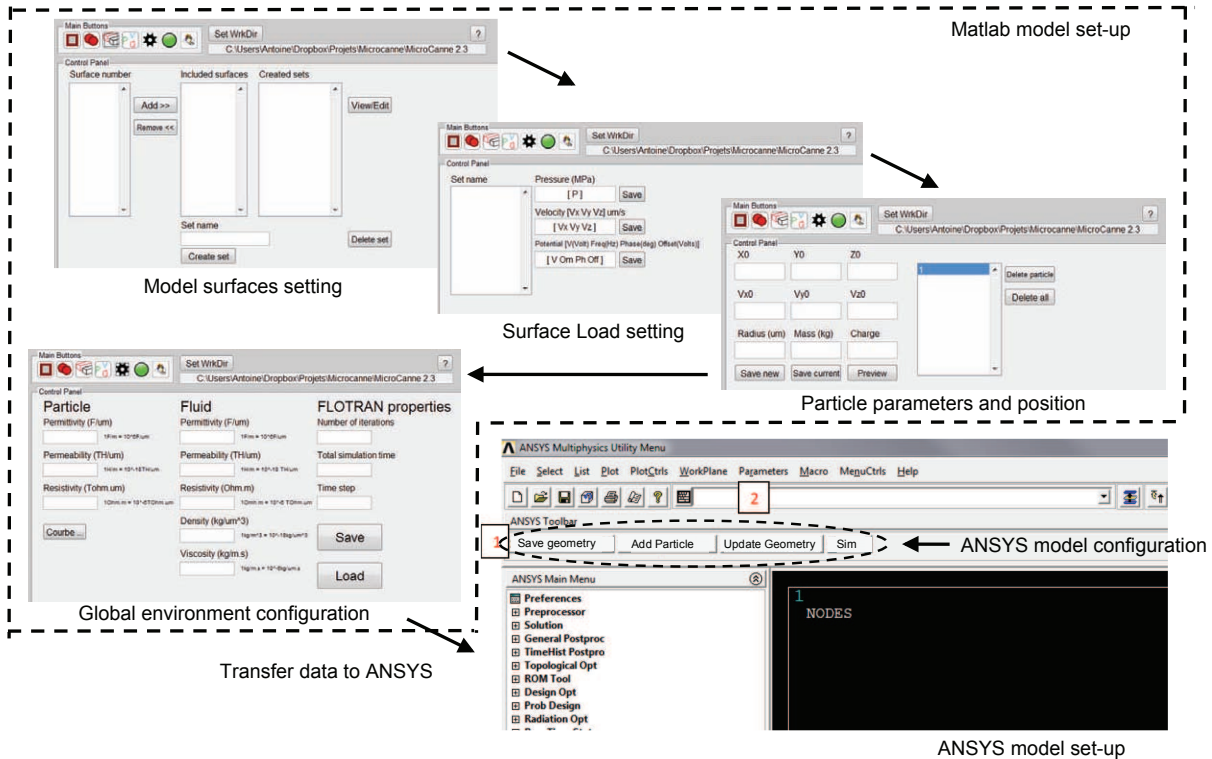


Figure 7.4 Modeling approach set-up steps using implemented Matlab and ANSYS algorithms

7.12a, respectively. It can be seen from these figures that particle has a helical trajectory that can not be observed experimentally, the diameter of the helical trajectory is 150nm and particles are repulsed to the top of the channel. The latter results are critical as it can be used as a method for z -separation of particles. Indeed Fig. 7.12d and 7.7d both show that particle are suspended at $10\ \mu\text{m}$ and $18\ \mu\text{m}$ depth respectively. These data can not be obtained from experimental results based on Fig. 7.17 as they are 2D images. Fig. 7.12d and 7.7d are related to two different electrode architectures. It can be seen that 8-electrode architecture is not optimized for z -separation in this case as particle are pushed until the top of channel, unlike 4-electrode architecture where particles are suspended in the middle of the channel depth ($10\ \mu\text{m}$). The main objective of the following modeling approach is to provide information for a most efficient particle separation technique based not only on electrical field or particle or medium properties, but also on electrode architecture.

7.1.8 Simulation and Experimental Results

7.1.9 Simulation Results

Fig. 7.14 shows the proposed model behavior to achieve the simulations. First the model, sample the channel into different section depending on required steps as shown in Fig. 7.14b. Then, voltage propagation imported from ANSYS and presented in Fig. 7.14c is used to calculate electrical field propagation based on equation 7.2. The latter is used to calculate the electrophoretic forces \vec{F}_{EP} . The model also calculates the Claussius-Mossoti factor to find the dielectrophoretic forces \vec{F}_{DEP} as shown in Fig. 7.14b. All calculated forces, in addition to the fluidic forces \vec{F}_{fluid} , are applied on particle as shown in Fig. 7.14a.

Simulations have been performed to compare two different geometries. A fluid initial velocity was imposed to the microfluidic channels. Sine wave voltage loads are applied on the different electrodes with different phase shift. Tests have been carried out in the same conditions as in a real BioMEMS in order to compare the simulated and experimental results. The first experiment has been carried out in a 4-electrode architecture, where a phase offset of $\pi/2$ was applied for each electrode regarding the previous one as shown in Fig. 7.6.

The proposed modeling method provides accurate information regarding particle displacement in the micro channel, as presented in Fig. 7.7 and 7.12 at a frequency of 1 MHz and applied voltage amplitude of 5 V. These results are obtained based on Voltage and Pressure distribution from ANSYS, as shown in Fig. 7.9. The latter is then transferred to Matlab in order to compile results and update particle position before sending back the new position to ANSYS.

The second experiment has been carried out on an 8-electrode array, within an octagonal pattern. The electrodes are offsetted by $\pi/4$ regarding the previous one. The geometry is shown in Fig. 7.10 and ANSYS results are presented in Fig. 7.11.

Following the presented simulation results, the main advantage of such method consists of giving more accurate results regarding particle displacement in addition to electrical field propagation Miled *et al.* (2010). Fig. 7.15 shows the system set-up to test the BioMEMS.

7.1.10 Experimental Set-up

The fabricated microfluidic substrate is made with two Borofloat glass with a thickness of 500 μm each one. In-channel electrode thickness is 200 nm, access holes diameter is 1.5 mm and micro channel depth is 40 μm . The microfluidic platform contains 9 different architectures, as shown in Fig. 7.16. Only architectures S3 and S9 are used for experimental results. Other architectures are implemented for validation purpose only. Micro-tubes are sealed to access holes with epoxy Epotek-731 and connected to Cole-Parmer micropump.

Injected microspheres are $0.97 \mu\text{m}$ diameter polystyrene microspheres (dyed red) from Bangs Laboratories. $40 \mu\text{l}$ of microsphere solution is mixed with 1.8ml of dionized water to reduce particle concentration. 4 sine wave voltages are applied on electrodes with 0° , 90° , 180° and 270° phase respectively. The speed of flowing liquid is controlled by a micropump and is set to 100nl/min. Sine wave voltages are generated by a FPGA Spartan3A from Xilinx and digital to analog converters.

7.1.11 Experimental Results

Fig. 7.17 highlights main experimental results of the simulated model with the same number of electrodes (E); i.e, 4 and 8 electrodes for the first and second presented architectures respectively Miled et Sawan (2012a); Miled *et al.* (2012). The latter can not provide the exact 3D position of particles in the micro channel. However, Fig. 7.7 and 7.12 show that particle displacement in the z-axis differs depending on the used electrode. In the case of Fig. 7.7, particles are not steady in the z-axis, however in the case of 8-electrode architecture, particles are pushed toward the top side of the micro channel.

Particle observation was made with Olympus BX51 microscope to track particles with QImaging software and shown in Fig. 7.17. Particle tracking can be experimentally achieved if particles can be easily identified and their concentration is low. In the actual experiment, the concentration is very high for observation purpose. Also, all particles are exactly the same, so any software can not track them as they can not be distinguished individually because actual acquisition speed of the camera is 5 frames per second compared to the electrical field frequency which is higher than 10 kHz. Consequently the software can not proceed with particle tracking with reliable results.

The objective of the actual modeling approach is to study the particle motion when an electrical field is applied within flowing liquid. Experimental results cannot provide enough data regarding particle motion except a limited 2D motion when the concentration of particles is low. In fact, when particle concentration is high with a cloudy dispersion, even with an advanced algorithm is not possible to track particles because the software can not identify them. However, we tried to track particles with both QImaging software and an advanced developed algorithm on Matlab. Both approaches failed to track particles as shown in Fig. 7.18. Through Matlab, the only useful information that can be acquired in this case, is the particle number and concentration which is 61 particles with a concentration of 43.95% and 768 particles with a concentration of 63.7% in case of Fig. 7.18a and Fig. 7.18b, respectively in the area of interest.

Indeed, electrical field frequency is varying between 10 kHz and 1 MHz, which keeps particle tracking impossible with QImaging software. Applying lower frequency signal for ob-

servation purpose (under 5 kHz) leads to electro osmosis with air bubble generation, consequently electrode oxidation is observed and DEP forces are stopped.

Consequently, to validate the model results experimentally, we used the recently released ImagePro Premier software from MediaCybernetics. The software can do a 2D tracking of particles by making an average of global motion of a selected area by area centroid tracking as shown in Fig. 7.19. This approach is coherent with this paper's particle motion example in the way that it starts from the center of each electrode architecture and is limited to 2D tracking only. Thus experimental and modeling comparison is limited to X and Y axes only.

Graphs in Fig. 7.20 show the variation of X and Y displacement of particles (in case of 4- and 8-electrode architectures). It can be seen that both modeling and experimental curves are close to each other. In addition, we observe a similar motion pattern for all curves in major cases. However, it is important to note that modeling results are related directly to the particle's motion, while experimental ones are an approximation of the particle's motion based on the motion of area centroid.

In the case of DEP manipulation, based on simulation results provided in Figs. 7.7 and 7.12, particle separation can be processed in z-axis in addition to x and y axes which helps to design 3D electrode structure. By using the proposed modeling method, it is easier to predict particle behavior before BioMEMS fabrication.

7.1.12 Discussion

The main advantage of the proposed model compared to other softwares consists of its high versatility. Indeed, unlike ANSYS and COMSOL, the proposed model takes into consideration not only the architecture of the microfluidic structure, but also applied voltages on electrodes, type of signals (AC or DC), and particle properties, especially the charge of the particles. In the latter case, ANSYS and COMSOL are limited to ions and electrons to consider the charge of particles. This is mainly due to meshing problem in all FEM software as Navier-Stokes equations in finite-elements requires an intensive calculation, which can lead to non-convergence problem. With our proposed method, particles are not moving when the meshing is done. Obtained results from ANSYS are exported to Matlab, then forces are applied on particles based on calculation done by ANSYS to calculate particle motion. Following this step a remeshing is used for another step.

ANSYS was selected due to the high programming flexibility offered by the software; however, we are currently studying another solution to test the model with COMSOL to compare obtained results with ANSYS and to consider wall effects.

Tables 7.1 and 7.2 summarize the features of the proposed model regarding most major FEM softwares such as ANSYS and COMSOL.

Tableau 7.1 Comparison of different modeling techniques

	ANSYS	COMSOL	This work
Multiphysic toolbox	Does not include biological aspect	Does not include biological aspect	Particle shape and charges considered
Simulation technique	Superposition	Simulation results can be linked by equations	Simulation results are dependent to each others
Particle tracking	Computational fluid dynamics (CFD) module	Particle tracing module	Does not need for any additional module
Charged particle simulation	Charged particle limited to ions	Charged particle limited to ions and electrons	No limitation

In the present work, we are particularly interested in BioMEMS for particle manipulation and analysis in real-time. In fact, real-time monitoring of neurotransmitters is of great importance for understanding the chemical behavior of the brain. Neurotransmitters are very small molecules and have different electrical and physical properties. On the other side, DEP is well established for few micrometer particles. However, it is not proven that DEP is still functional with nano particles such as neurotransmitters. Thus, an advanced modeling of DEP with a fully configurable environment is mandatory to understand neurotransmitter's behavior in an implantable device.

More precisely, our purpose is to elaborate a new modeling approach to study biological particle motion when exposed to external electrical field through in-channel electrodes. Up to now, it is not possible with any commercial software to model or simulate such behavior because particle properties are changing over the time. For example, when an electrical field

Tableau 7.2 Main proposed model features

Feature	Used equation	Input parameter
Particle charge	$\vec{F}_{EP} = -q_p \vec{E}$	q_p
Particle shape	$\langle \vec{F}_{DEP} \rangle = 2\pi\epsilon_1 a^3 Re[\underline{K}(\omega)] \nabla \vec{E} $	a
Particle permittivity	$\underline{K}(\omega) = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1 - j(\sigma_2 - \sigma_1)/\omega}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1 - j(\sigma_2 + 2\sigma_1)/\omega}$	ϵ_1, σ_1
Medium permittivity	$\underline{K}(\omega) = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1 - j(\sigma_2 - \sigma_1)/\omega}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1 - j(\sigma_2 + 2\sigma_1)/\omega}$	ϵ_2, σ_2
Fluid velocity	$\vec{F}_{fluid} = 6\pi\mu a(v - v_0)$	v

is applied, biological cells exchange ions (Na^+ , Cl^{2-} , K^+) with medium. This ion exchange changes medium conductivity and affects DEP forces. Furthermore, the objective is to implement a separation method based on frequency identification of neurotransmitters. Also, COMSOL and ANSYS are not initially designed to study the biological behavior.

Finally, results presented in this paper correspond to a steady charge and conductivity of both medium and particles. However, it is easy to add a non-steady state medium and particle as these parameters are set in Matlab and can be redefined for each simulation step. Furthermore, the proposed model is limited to DEP manipulation, though it can be extended to other manipulations if they are implemented on Matlab. The concept of this model consists of using ANSYS as a platform to get results from applied loads for different external fields, such as electrical or magnetic fields. Matlab used these results in combination with particle properties to calculate particle displacement in a loop process (Matlab-ANSYS). Ultimately, this proposed approach can be integrated directly to FEM software.

7.1.13 Conclusion

This work highlights an important issue in the BioMEMS field, which is the Bio-multiphysics simulation. It is not trivial to find a commercial tool that can handle both the engineering and the biological aspects of a device by taking into account the fabrication and electrical features in addition to the biological behavior. The proposed method is based on ANSYS as it offers advanced programming interface. However, the proposed approach requires a lot of CPU resources and is limited to the DEP manipulation. A further work is undertaken to enlarge it to the biological manipulation, as well as to add magnetophoresis method and corresponding sensing operations. As it is the first modeling approach, we are still working on several improvements on biological aspects. The next step, which is undertaken, consists of considering the particle and its close medium as one entity.

Acknowledgment

The authors acknowledge the financial support from NSERC and Canada Research Chair in Smart Medical Devices and are grateful for the design and simulation tools supplied by CMC Microsystems. The authors are particularly thankful to Laurent Mouden, coordinator of the LASEM assembly facilities.

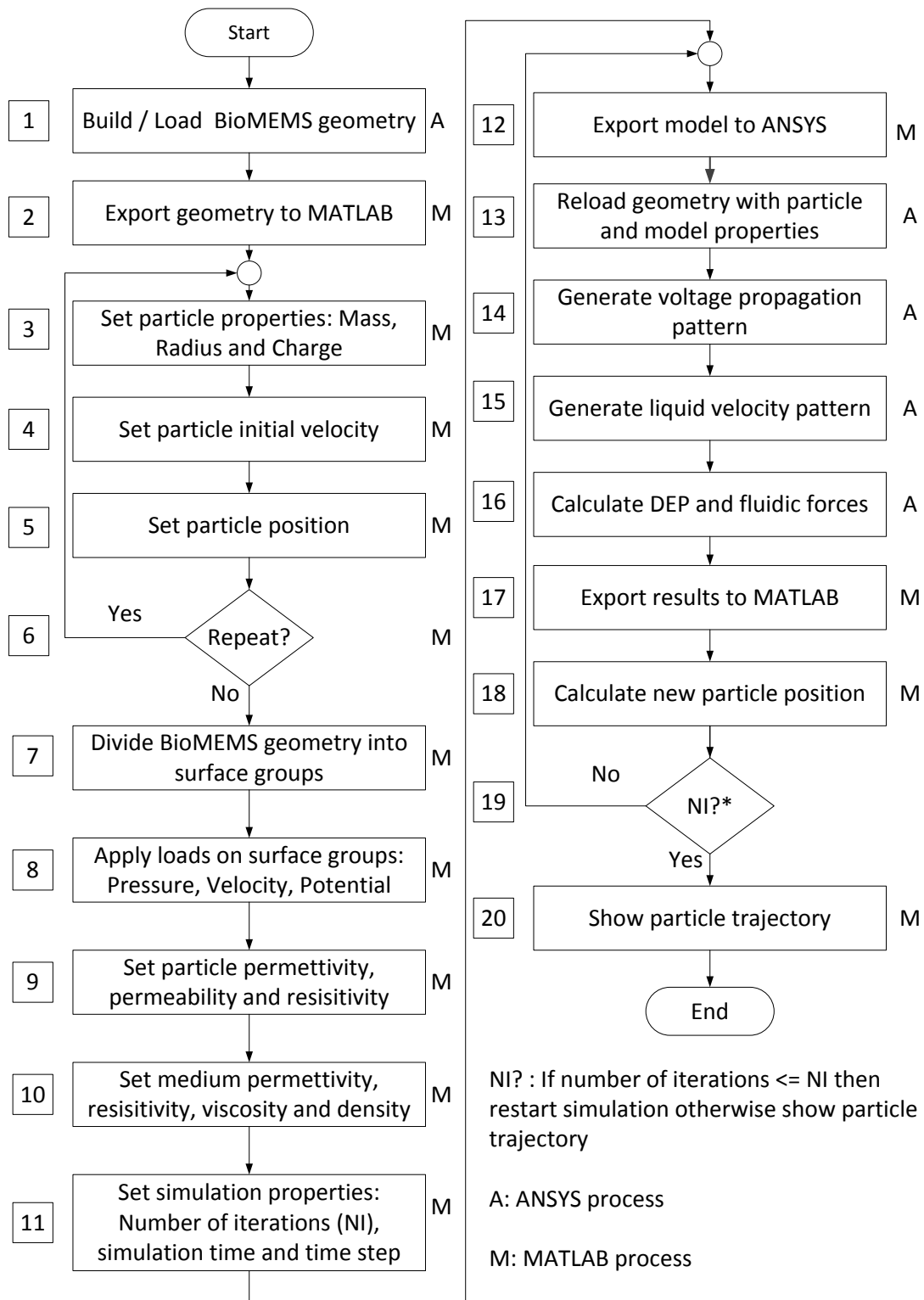


Figure 7.5 Detailed algorithm of proposed modeling approach for DEP based BioMEMS

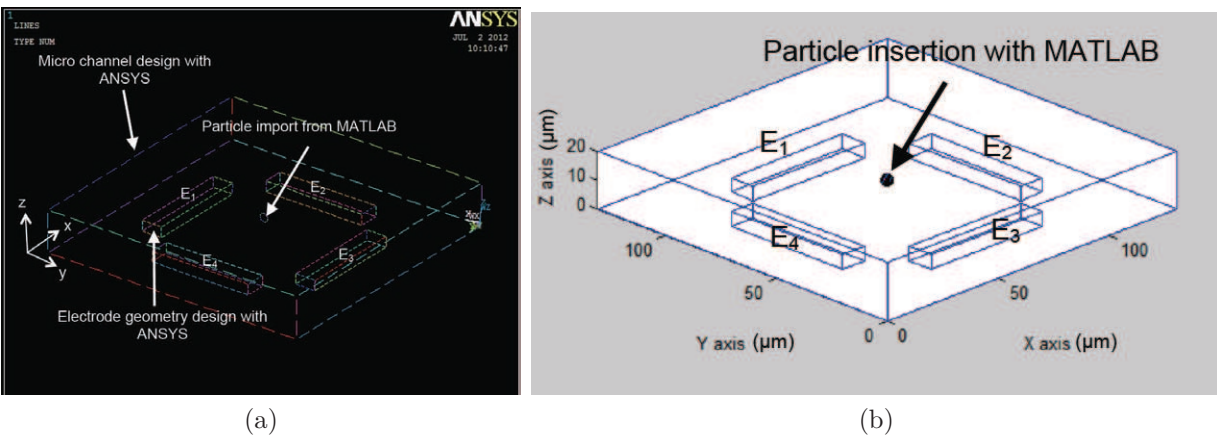


Figure 7.6 (a) Electrode modeling using ANSYS and (b) particle insertion with Matlab in the micro channel within a 4-electrode architecture.

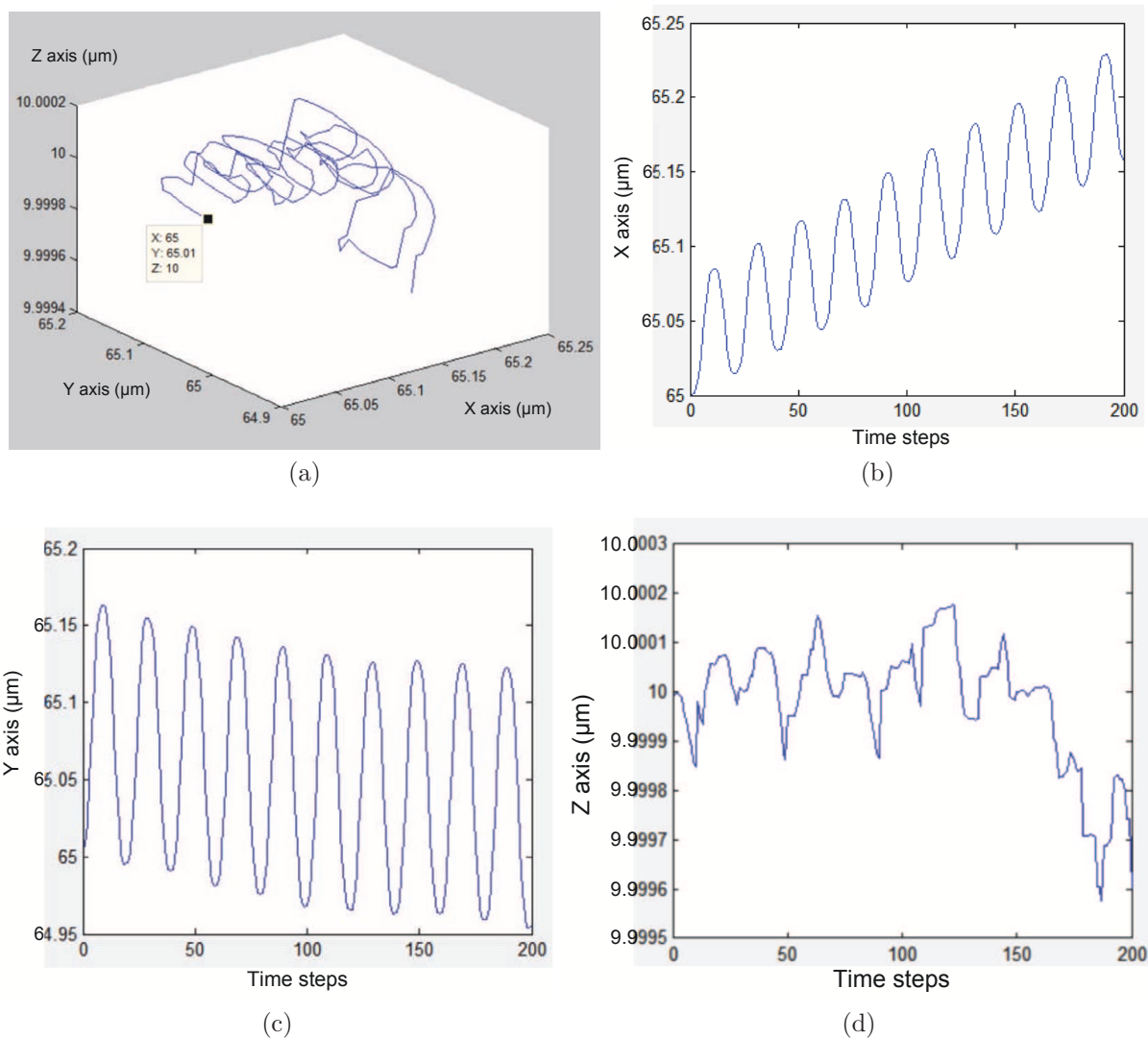


Figure 7.7 (a) Particle 3D-displacement in a 4-electrode architecture, where (b), (c), (d) show X, Y and Z displacement respectively. X, Y and Z axis are defined in Fig.7.6a

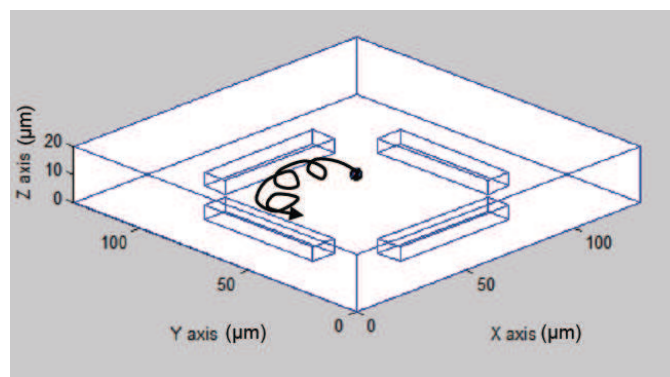


Figure 7.8 Particle motion approximation based on Fig. 7.7a with a 4-electrode architecture

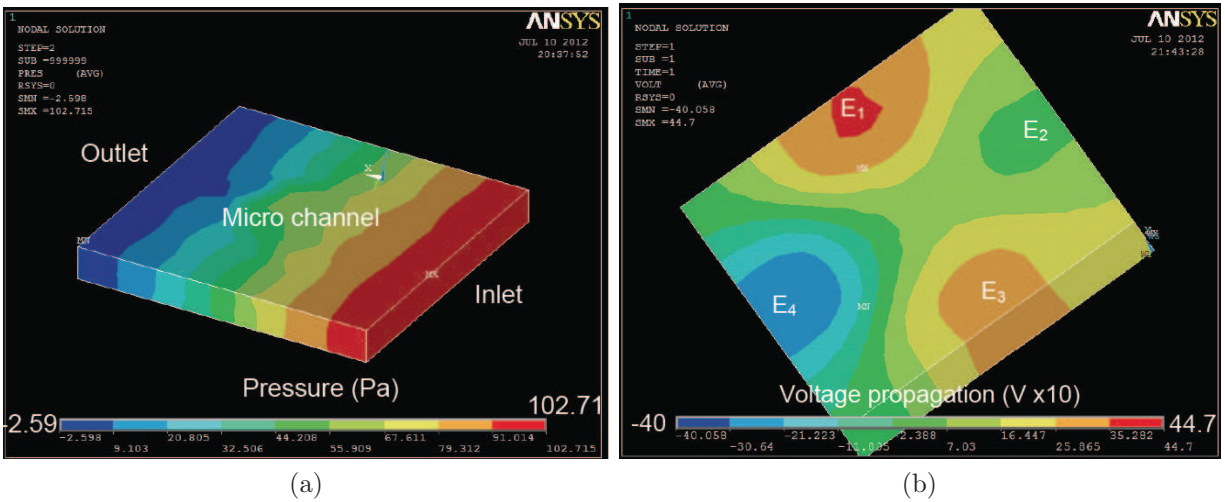


Figure 7.9 ANSYS results in the case a 4-electrode architecture : (a) pressure and (b) voltage distribution in the micro channel. Voltage distribution is multiplied by 10 in ANSYS due to simulation constraints.

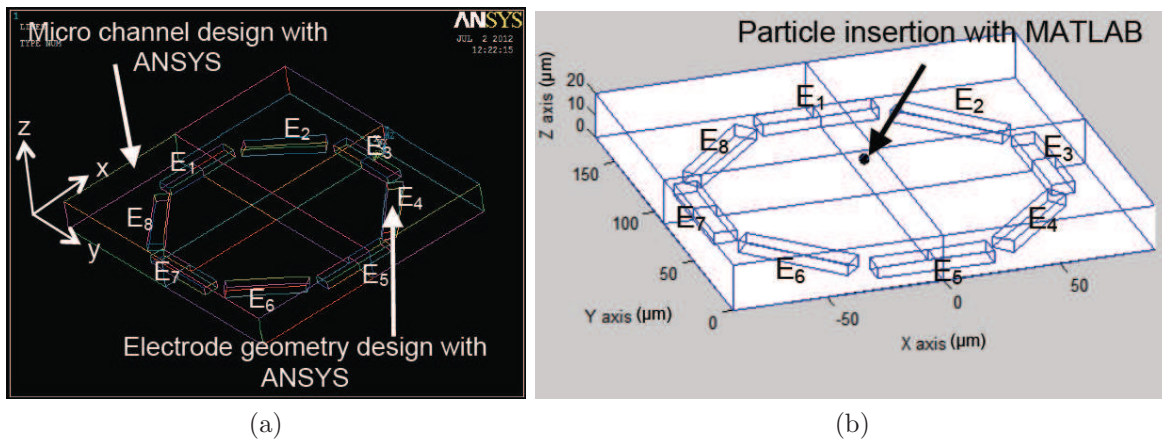


Figure 7.10 (a) ANSYS electrode modeling and (b) Matlab particle insertion in the micro channel within an 8-electrode architecture

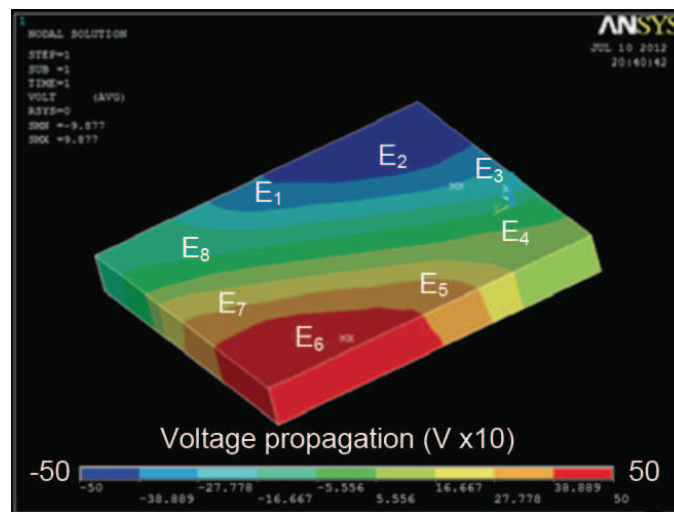


Figure 7.11 Voltage distribution in the case of 8-electrode architecture using ANSYS. Voltage distribution is multiplied by 10 in ANSYS due to simulation constraints.

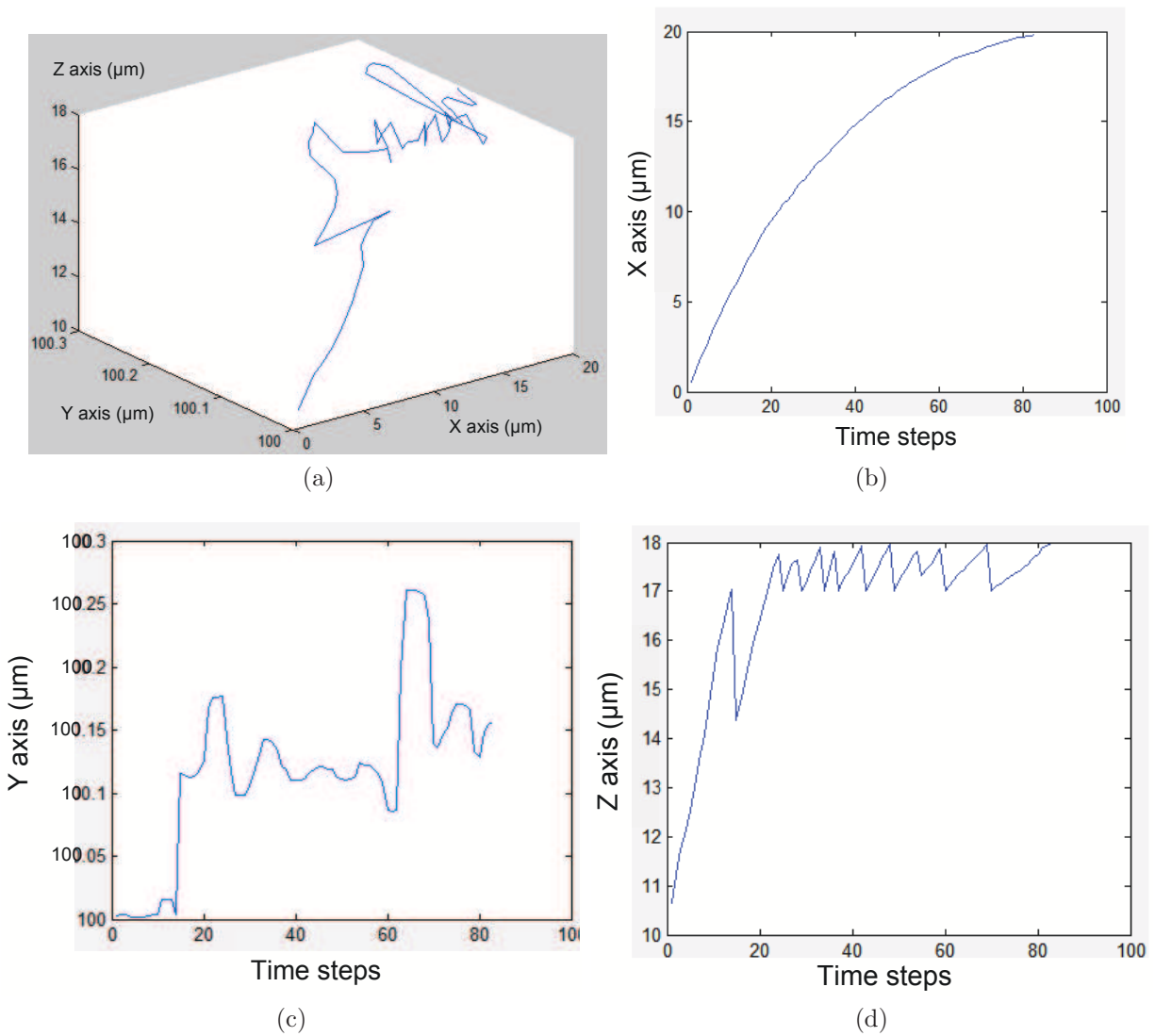


Figure 7.12 (a) Particle 3D-displacement in an 8-electrode architecture, where (b), (c), (d) show X, Y and Z displacements respectively. X, Y and Z axis are defined in Fig.7.10a

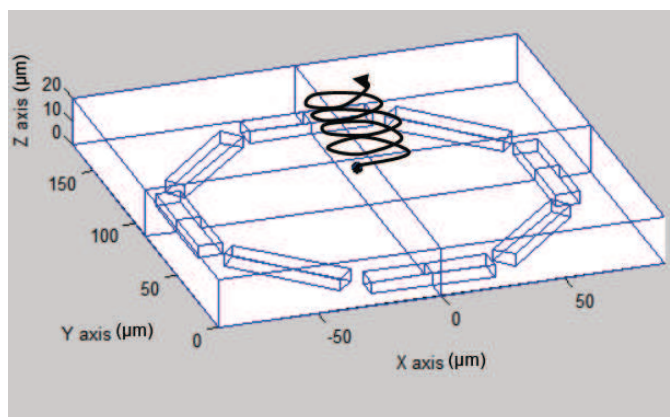


Figure 7.13 Particle motion approximation based on Fig. 7.12a with 8-electrode architecture

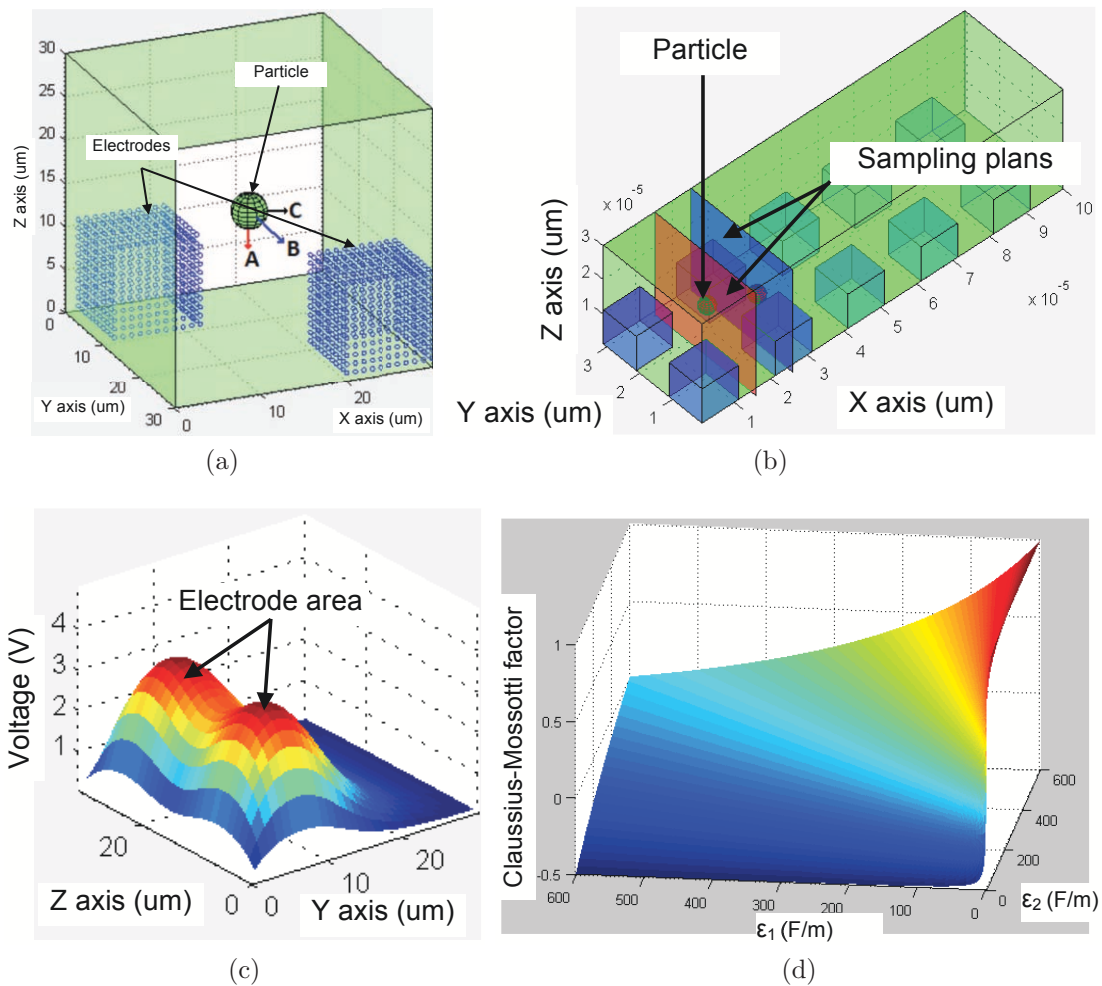


Figure 7.14 (a) The red arrow (A) represents the dielectrophoretic force, the blue arrow (B) represents the fluid force and the black (C) one represents the electrophoretic force, (b) Sampling procedure of the proposed model, (c) Voltage propagation and (d) Clausius-Mossotti factor calculation

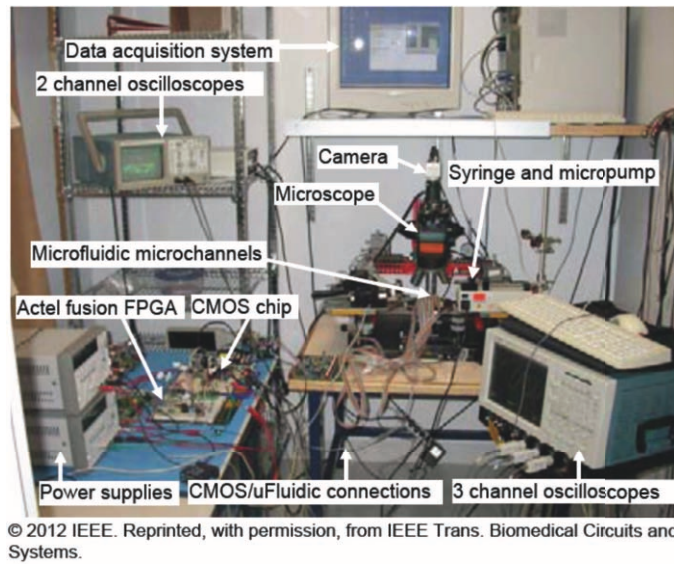


Figure 7.15 System set-up to test DEP effect on microspheres injected in a custom design of electrode architecture Miled et Sawan (2012a)

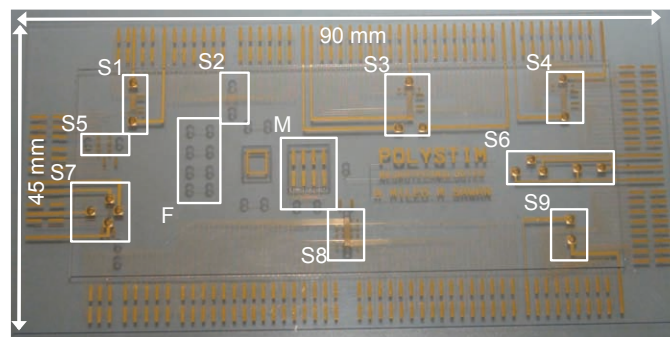


Figure 7.16 Microfluidic fabricated device using LioniX process

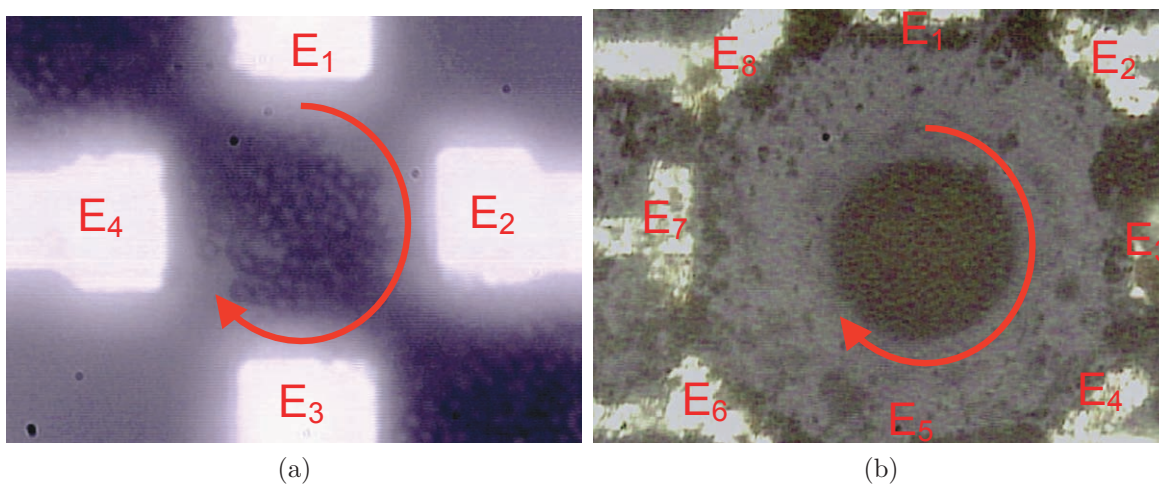


Figure 7.17 Experimental results of $0.97 \mu m$ diameter polystyrene microspheres (dyed red) from Bangs Laboratories exposed to DEP forces within (a) a 4-electrode architecture and (b) an 8-electrode architecture

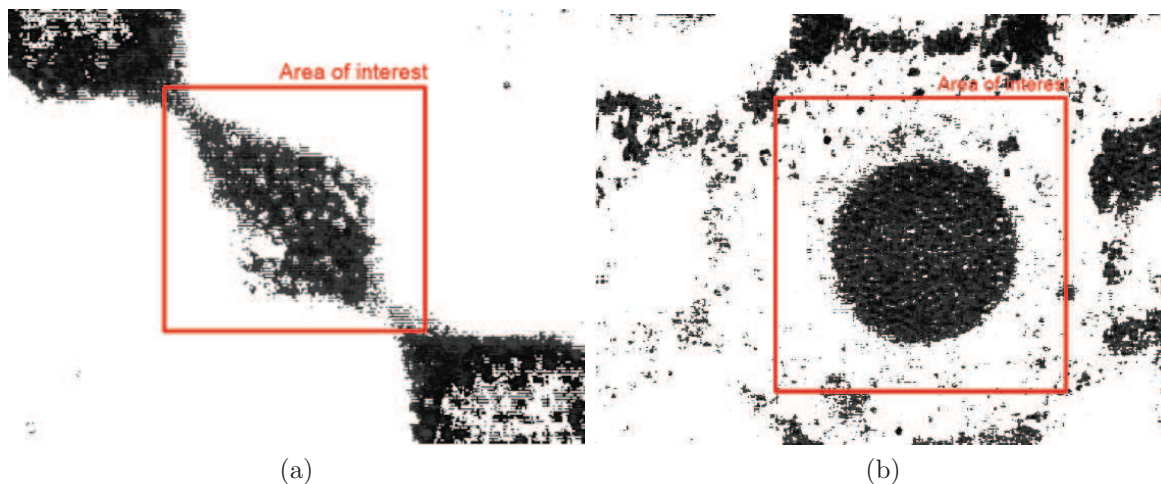


Figure 7.18 Image processing with Matlab of captured image from Suss microscope using $0.97 \mu m$ diameter polystyrene microspheres (dyed red) from Bangs Laboratories exposed to DEP forces within (a) a 4-electrode architecture and (b) an 8-electrode architecture

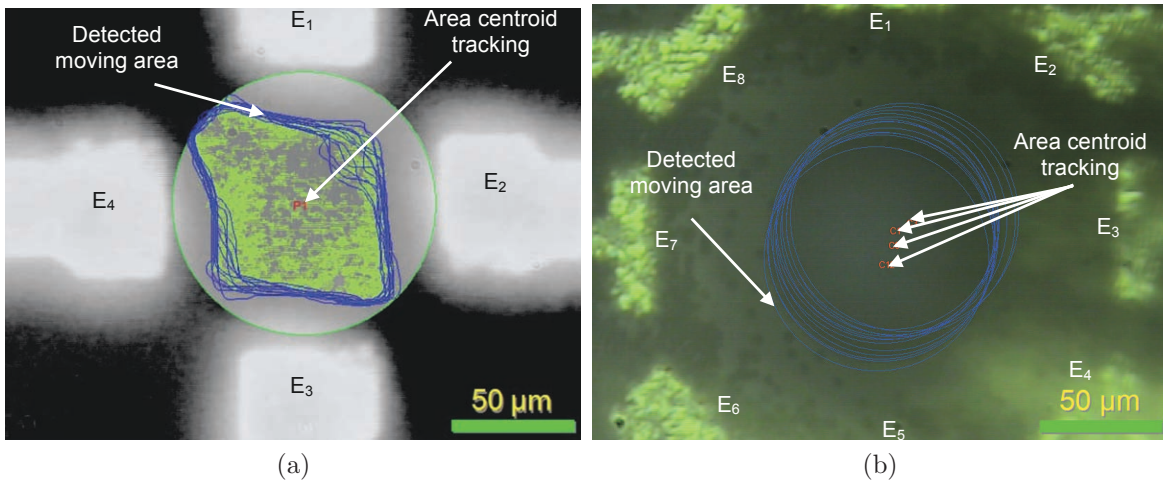


Figure 7.19 2D experimental tracking in the case of (a) 4 and (a) 8 electrode architectures

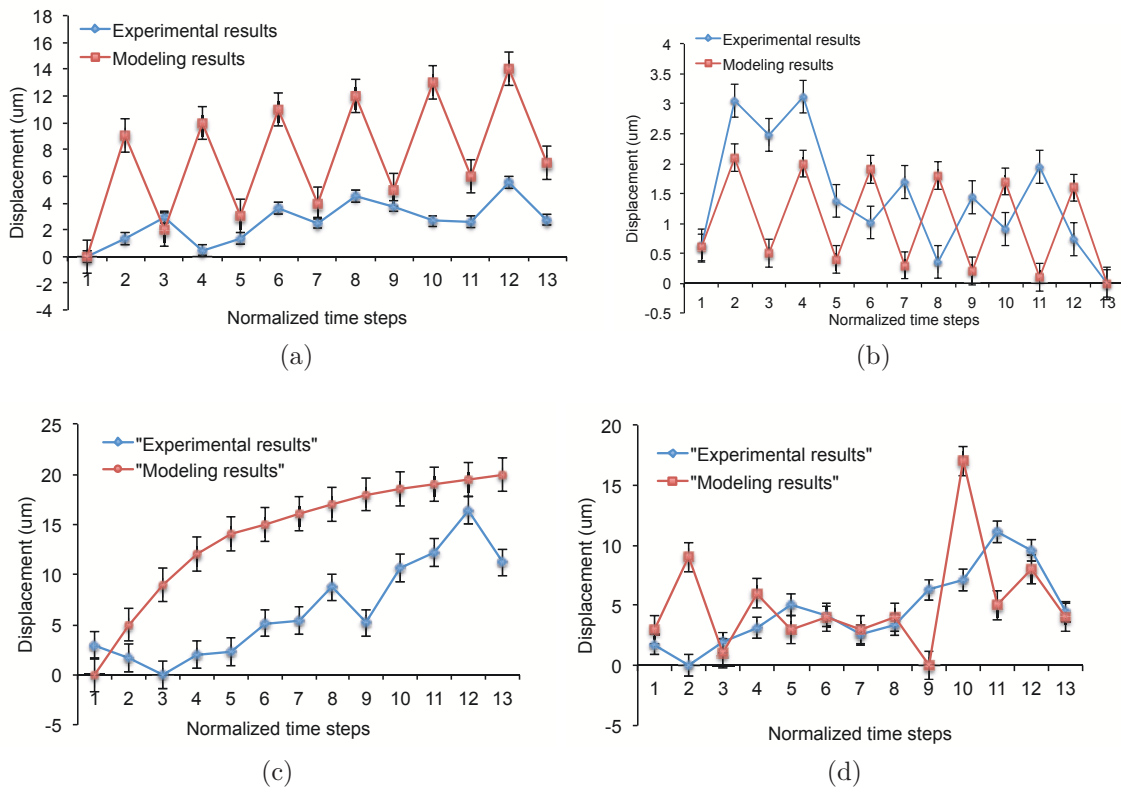


Figure 7.20 2D experimental result comparison for (a) X and (b) Y axes in the case of 4-electrode architecture and (c) X and (d) Y axes in the case of 8-electrode architecture

CHAPITRE 8

Discussion générale

Cette thèse a pour objectif à long terme une meilleure compréhension des échanges chimiques ayant lieu entre les neurones. Pour ce faire, le seul moyen est d'implanter un dispositif en entier dans le cerveau pour échantillonner, manipuler et analyser le liquide cérébral. Cependant, ce type de dispositif n'existe pas encore puisque la technologie actuelle, que ce soit CMOS ou microfluidique, présente plusieurs limitations. Dans le cas de la technologie CMOS, la dissipation de puissance et l'alimentation du système constituent une contrainte majeure pour un dispositif implantable tel que les LsP. Dans le cas des technologies microfluidiques, l'interface microfluidique / microélectronique demeure un point critique qui impose beaucoup de limitations. En outre, aucune modélisation n'existe à date pour pouvoir prédire le comportement d'un LsP. La principale raison est liée à la grande diversité des applications des LsP. Ce qui rend la modélisation tributaire de cette dernière.

L'objectif étant de comprendre le fonctionnement chimique du cerveau, nous avons ainsi proposé, pour la première fois un système complet qui permet d'analyser des micro et nano particules Sawan *et al.* (2010). En effet, plusieurs travaux ont décrit la séparation des particules par des architectures microfluidiques diverses. Cependant, rares sont ceux qui ont proposé un système entier capable de gérer le flux des données, que ce soit pour la manipulation ou la détection. La raison principale est que la conception d'un vrai LsP nécessite une connaissance multidisciplinaire, ce qui n'est pas trivial. C'est ainsi que le système que nous avons proposé, intègre la partie microfluidique, microélectronique, contrôle global par composants discrets, alimentations, protocole de communication sans fil et échantillonnage. La difficulté de la conception d'un tel système réside en plus dans la non connaissance des phénomènes biologiques pouvant se produire une fois le système est mis en contact avec le liquide cébrospinal. D'un autre côté, la théorie de la DEP est valide pour des particules dont les dimensions sont négligeables par rapport à la distance entre les électrodes. Dans le cas de ce projet, on est à la limite de la théorie. En effet, pour pouvoir générer la DEP avec des tensions faibles, il est important de diminuer considérablement l'espace entre les électrodes pour pouvoir générer un champ électrique suffisamment puissant pour manipuler les particules. En contre partie, l'espace entre les électrodes devient très critique puisqu'il s'approche des dimensions des particules étudiées. Cependant, nous avons démontré expérimentalement que la DEP reste tout de même valide pour des particules de 550 nm. En plus, nous avons montré que l'ACSF ne peut être injecté directement dans le LsP si les électrodes

sont fabriquées par déposition sur le verre et sans aucune isolation car cela engendrera leur désintégration.

Par conséquent, notre LsP est capable de :

- (a) Contrôler la propagation du champ électrique dans le microcanal.
- (b) Séparer les particules cibles.
- (c) Détecter la variation de la capacité dans le microcanal.
- (d) Contrôler la vitesse d'échantillonnage de l'ACSF.

La réalisation d'un LsP pour détecter la variation de la concentration des neurotransmetteurs ne peut se faire qu'en plusieurs étapes :

- (a) Conception d'un LsP fonctionnel permettant des contrôles variés par DEP
- (b) Validation de la fonctionnalité du LsP dans une solution d'ACSF étant donné que les neurotransmetteurs se trouvent dans cette solution
- (c) Développement du protocole biologique permettant d'étudier les neurotransmetteurs.

Étant donné que les neurotransmetteurs sont des molécules de dimensions en dessous du nanomètre, le protocole biologique pour les étudier nécessite des travaux de recherche avancés. Par conséquent, il est impossible de pouvoir les voir. C'est la raison pour laquelle la détection des neurotransmetteurs peut se faire de deux façons différentes :

- L'utilisation des passerelles biologiques : autrement dit, la création de cellules artificielles fonctionnalisées pour capturer les neurotransmetteurs.
- La détection de la variation de leur concentration uniquement. En effet, en séparant les neurotransmetteurs, on modifie, en réalité, les propriétés chimiques de la solution. Ainsi, la permittivité de la solution change localement, ce qui induit une variation de la capacité de la solution.

Nous avons pu démontrer expérimentalement que le système réalisé est en mesure de détecter une variation de 100 fF, par contre la détection ne peut se faire en même temps que la manipulation à cause du champ électrique qui génère des interférences très importantes.

Dans ce chapitre, nous allons présenter les points les plus importants abordés dans cette thèse ainsi que quelques améliorations futures pour le système développé.

8.1 Nouvelle technique de prototypage rapide pour les LsP

À défaut d'avoir un outil de modélisation rapide d'un LsP, nous avons développé une plateforme de prototypage rapide pour pouvoir étudier l'effet d'un champ électrique sur des microparticules dans une architecture microfluidique. Nous avons pris soin de proposer une plateforme électronique reconfigurable à plusieurs échelles. En effet, la carte peut contrôler

64 électrodes différentes. Chaque électrode est capable de délivrer un courant et une tension maximum de 5 mA et 14 V respectivement. La fréquence maximale des signaux générés est de 3.2 MHz. Les signaux pouvant être générés sont soit sinusoïdaux, carrés ou triangulaires. La plateforme microfluidique a été fabriquée par un procédé de microfabrication de LioniX. Elle est formée d'électrodes déposées sur une plaque de verre. Les électrodes et la plaque de verre ont une épaisseur de 200 nm et 500 μm respectivement. Le microcanal a été fabriqué sur une autre plaque de verre de 500 μm d'épaisseur aussi. Ensuite, les deux plaques ont été scellées ensemble. Cette structure microfluidique renferme 12 architectures différentes pour tester les manipulations diélectrophorétiques. En ce qui a trait au présent projet, nous avons procédé à deux types de manipulations différentes :

A. La séparation des particules : en se basant sur l'empreinte fréquentielle de la particule, nous avons pu démontrer que dans un mélange composé de particules différentes, il est possible de séparer un type de particules par rapport à d'autres avec une tension de 1.7 Vpp.

B. Le déplacement des particules : en appliquant un champ électrique non uniforme dans un microcanal, nous avons pu provoquer un déplacement contrôlé des particules. Notons que cette deuxième manipulation est déjà connue en utilisant la diélectrophorèse. Ainsi, nous nous sommes concentrés sur la première manipulation. Notre objectif étant de pouvoir trouver une méthode permettant de séparer plusieurs neurotransmetteurs en se basant sur leurs propriétés morphologiques et électriques. L'objectif de la plateforme est aussi d'étudier les phénomènes pouvant affecter les manipulations cellulaires par le champ électrique, plus particulièrement, les effets sur le procédé de fabrication. Nous avons ainsi pu observer qu'en injectant directement une solution cérébro-spinale artificielle (Na 150 mM ; K 3.0 mM ; Ca 1.4 mM ; Mg 0.8 mM ; P 1.0 mM ; Cl 155 mM) de Tocris Bioscience, toutes les électrodes sur lesquelles on applique un champ électrique, se désintègrent presque instantanément. Ainsi, nous avons développé un protocole de manipulation qui nous a permis d'augmenter la durée de vie des électrodes en injectant une solution avec les proportions suivantes : 1.8 ml d'eau dionisée (ED) et 25 μl d'ACSF. Ce qui fait un rapport ED/ACFS=72.

8.2 Interface Microfluidique/Électronique

L'interface microfluidique / microélectronique a été conçue de deux façons différentes :

A Plateforme de prototypage afin de trouver une méthode d'assemblage réutilisable : Les méthodes classiques d'assemblage sont les « wire bonding » et le « Flip-Chip » pour les boules d'or ou d'étains. Or, ces deux techniques sont dédiées à des assemblages permanents, ce qui rend le dispositif à usage unique. Ainsi, nous avons proposé une interface qui se

base sur une couche d'adhésif doublement conducteur de 3M (AJOUTER référence).

B Dispositif implantable basé sur une architecture modulaire : L'architecture microfluidique a été connectée à un PCB qui déborde de 1 mm de chaque côté de l'architecture microfluidique dont les dimensions sont de 15 mm x 15 mm. Par la suite, ce module a été connecté au reste du dispositif par des connecteurs FMP de Samtec (Miled et Sawan, 2011a, 2012a; Miled *et al.*, 2012).

Bien que l'adhésif conducteur demeure une solution pratique pour des assemblages réutilisables, nous avons observé que son utilisation, dans notre cas, impose beaucoup de contraintes :

- L'architecture microfluidique ne doit pas avoir de grandes dimensions comme dans le cas de la plateforme de prototypage introduite dans ce projet (45mm x 90mm). En effet, plus l'architecture est grande, plus il est difficile de décoller l'adhésif, ce qui peut engendrer un bris dans l'architecture.
- Le substrat sur lequel repose l'architecture microfluidique doit être suffisamment épais pour maintenir une pression uniforme sur toutes les connexions microfluidiques / microélectroniques.
- L'ajout d'un support métallique rigide par dessus l'architecture microfluidique permet une meilleure répartition uniforme de la pression. La résistance mesurée d'une interconnexion est de 6 Ω dans le cas d'un conducteur adhésif, alors qu'elle est de 4 Ω pour une connexion par « wirebonding ».

8.3 Identification fréquentielle des particules

En se basant sur la théorie de la diélectrophorèse, il est clair que, théoriquement selon l'équation du facteur de Claussus-Mossoti (fcm), chaque particule dans un environnement donné peut être identifiée par une fréquence propre. Mais, étant donné que l'air est un isolant, avec une permittivité extrêmement faible, ceci fait que le fcm est environ égal à -1/2 pour presque toutes les particules, alors que dans un milieu très conducteur, comme l'ACSF, le fcm est presque égal à 1. Ces deux cas de figures sont en fait, une protection naturelle contre les champs électriques. Cependant, lors d'un déséquilibre chimique dans le cerveau, il est important de pouvoir rompre cette protection pour pouvoir analyser les particules responsables de ce dysfonctionnement, notamment les neurotransmetteurs. On a ainsi montré que même en modifiant la concentration de l'ACSF, l'effet escompté demeure le même et que la séparation cellulaire reste efficace. Ceci a été observé en utilisant des particules de 550 nm de diamètre soumises à un champ électrique généré par des tensions sinusoïdales variant de 1.7 V jusqu'à 12 V (Miled *et al.*, 2010, 2012). Le but de ces expériences est de pouvoir déterminer la fréquence caractéristique de la particule qui permet de passer de la DEP négative vers la

DEP positive. Il est à noter qu'il n'y a pas une fréquence fixe, mais on observe une plage de variation de cette fréquence de 50kHz. Ceci est un résultat très important qui nous permet de nous distinguer par rapport à d'autres travaux dont la plage de variation est de 300 kHz, et seulement pour la détection de la bactérie E-Colis. Le but ultime étant d'atteindre une plage de variation de fréquence la plus petite possible qui permet de distinguer plusieurs particules. Par exemple, lors de l'utilisation des électrodes avec une configuration octogonale, nous avons observé que le passage nDEP à pDEP se faisait à 575 kHz +/- 25 kHz (Miled *et al.*, 2011a, 2012). Cette plage de variation peut s'accroître pour atteindre 100 kHz. Plusieurs facteurs peuvent avoir une influence sur cette fréquence tels que la dégradation des électrodes, la variation de la conductivité du liquide, l'accumulation des particules sur les électrodes ou la concentration des particules dans le milieu liquide.

8.4 Nouvelle technique d'assemblage des LsP

Les techniques conventionnelles de fabrication d'un LsP en utilisant la technologie CMOS consistent à implémenter l'architecture microfluidique directement sur la puce CMOS. Bien que d'un point de vue ingénierie, l'idée est bien intéressante, du côté biologique cela n'attire pas l'attention des chercheurs. La principale raison est le fait qu'en biologie, on essaye de minimiser la complexité du dispositif au maximum pour garder l'environnement biologique le plus naturel et propre possible. C'est ainsi que beaucoup de travaux de recherche ont proposé d'implémenter des électrodes directement sur la puce CMOS ou bien de déposer l'architecture microfluidique directement à la surface des puces CMOS. L'inconvénient d'une telle approche est que tout est tributaire de la puce CMOS et une défaillance microélectronique engendre automatiquement un arrêt de tout le système. L'approche que nous proposons est complètement différente puisqu'elle est modulaire. La partie microfluidique est placée sur un PCB de dimensions 15 mm x 15 mm qui peut se connecter à un système de contrôle microélectronique sur un autre PCB de même dimensions ou bien à la plateforme de prototypage développé. Les puces microélectroniques en soient, se connectent à leur tour à un autre étage d'alimentation et de calibration. Un autre étage est dédié à la communication sans fils par Bluetooth pour le contrôle du LsP. L'avantage d'une telle approche est qu'elle nous permet de contrôler le dispositif à plusieurs échelles, notamment le contrôle des électrodes, la génération des signaux de contrôle et détection, le système de communication et d'échantillonnage microfluidique.

8.5 Modélisation des LsP

Dans ces travaux de recherche, nous proposons aussi une nouvelle méthode de modélisation pour étudier le comportement des particules dans un LsP (Gagne *et al.*, 2011). Cette méthode

se base sur une modélisation hybride utilisant Matlab et ANSYS (logiciel de simulation à éléments finis). Nous avons ainsi proposé la première technique permettant de modéliser un LsP dans le cas particulier de la DEP. Nous avons pu tester cette modélisation dans deux cas différents. Un premier test avec une architecture de 4 électrodes (A1) avec une particule de 1 μm de diamètre qui montre que cette dernière suit une trajectoire hélicoïdale tout en tournant autour des électrodes. Quand à l'architecture octogonale contenant 8 électrodes (A2), on note également que la particule suit un mouvement hélicoïdal à partir du centre du microcanal.

Grâce à cette modélisation, il nous a été possible de positionner la particule exactement dans le microcanal selon la profondeur de ce dernier. Ainsi, on note que dans le cas A1, la particule a été poussée jusqu'à la hauteur maximale du microcanal, soit 18 μm , alors que dans A2, elle s'est retrouvée coincée à une hauteur de 10 μm . Si on se base uniquement sur les résultats expérimentaux, il nous est impossible de pouvoir estimer le positionnement vertical de la particule, ce qui nous limite à une séparation cartésienne des particules, ce qui a été montré dans cette thèse.

8.6 Critiques

Nous avons présenté un système LsP complètement fonctionnel que nous avons testé avec une solution artificielle d'ACSF. Nous l'avons également modélisé et les résultats de simulations concordent avec les résultats expérimentaux. Cependant, la version testée a des dimensions de 15 mm x 15 mm, ce qui fait qu'il est impossible de pouvoir l'implanter dans le cortex. Par contre, il est possible d'insérer les microtubes dans le cortex et échantillonner le liquide cérébral jusqu'à l'extérieur pour l'analyser dans l'architecture microfluidique. Une deuxième approche consiste à implanter tout le LsP dans le cortex dans une version plus compacte. Actuellement, la plus petite puce fabriquée a les dimensions de 1.2 mm x 1.2 mm. Avec les nouvelles techniques de microfabrication que nous avons développées et dont le brevet est soumis aux États-unis, il nous est désormais possible d'implémenter toute l'architecture microfluidique directement sur la puce. Par ailleurs, par « Flip-Chip », il est aussi possible d'assembler toutes les puces ensemble. Par contre, cela nécessite l'élaboration d'une nouvelle technique de calibrage des signaux. Actuellement, le calibrage des signaux de contrôle se fait en utilisant des résistances et capacités externes. Ceci dit, il est possible de les intégrer sur la puce puisqu'on estime que la variation totale de la résistance de calibrage est de $\pm 5 \text{ k}\Omega$.

CONCLUSION

Dans la présente thèse, nous avons proposé une nouvelle approche qui consiste à échantillonner le liquide cérébral et l'injecter dans un LsP pour procéder aux différentes analyses. Dans ce cas, les électrodes sont intégrées dans le LsP et ne sont pas en contact avec le tissu cérébral. De plus, étant donné que le LsP est un dispositif actif, il peut donc libérer des substances pour empêcher les cellules « géantes » de bloquer le bioimplant, et ce, contrairement aux électrodes qui peuvent être considérées comme un dispositif passif par rapport un LsP.

Nos travaux de recherches nous ont permis de proposer une nouvelle architecture de LsP en vue de détecter la variation de la conductivité du LCR sous l'effet des neurotransmetteurs. Cette détection se fait par la détermination de l'identité fréquentielle de particules artificielles dépendamment des propriétés de leur milieu. Cependant, en utilisant les PS03N, l'effet de la variation de la conductivité se limite à la concentration ionique de la LCR sans intervention des neurotransmetteurs.

Ainsi, nos principales contributions dans le cadre de cette thèse de doctorat sont :

1. Une nouvelle architecture microélectronique sur une puce CMOS $0.18 \mu m$ pour contrôler de façon autonome le LsP en utilisant la DEP. Cette contribution a été publiée dans le journal «IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems», 2012. Le système proposé présente une première solution intégrée d'un LsP permettant de contrôler 64 électrodes avec un courant maximal de 9 mA par électrode. Le système proposé est évolutif, ce qui offre une grande flexibilité pour les manipulations biologiques diélectrophorétiques. En effet la puce microélectronique permet de contrôler la fréquence, le déphasage ainsi que l'amplitude des signaux appliqués sur les électrodes. Les travaux publiés démontrent la capacité d'avoir une grande plage de variation des différents paramètres des forces diélectrophorétiques pour une meilleure sélectivité du LsP.
2. Une validation expérimentale de la séparation des particules par DEP dans une solution cérébrale artificielle avec une DEP basse tension ($< 1.7 V$). Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans le journal «Analog Integrated Circuits and Signal Processing », 2012. En effet, ces travaux de recherche ont permis d'identifier fréquemment 3 différentes microsphères artificielles de 500 nm, $1 \mu m$ et $2 \mu m$ de diamètre en suspension dans de l'eau dé-ionisée ainsi que dans des solutions de LCS. Cette contribution a montré qu'il est possible d'attribuer une identité fréquentielle aux particules dans le LCS. Cette contribution a mis en évidence que les électrodes planaires linéaires permettent une meilleure différenciation entre les particules.

3. Une nouvelle modélisation du LsP qui permet d'étudier le comportement des particules dans un LsP. Cette contribution constitue une avancée majeure dans ce domaine puisqu'elle introduit une modélisation versatile d'un LsP. Ces travaux ont été publiés dans le journal *Sensors*, MDPI 2012. Cette nouvelle méthode de modélisation a pour objectif d'offrir un outil performant, versatile et évolutif permettant de modéliser des LsP avec différentes configurations d'électrodes. Cette contribution propose une nouvelle approche de modélisation se basant sur les performances des outils de modélisation à éléments finis. Bien qu'ANSYS a été utilisé dans cette méthode, cela n'empêche pas de procéder avec d'autres logiciels comme COMSOL. Le principal avantage d'ANSYS est l'intégration d'un langage de programmation permettant d'automatiser toute la modélisation.
4. Une nouvelle plateforme de prototypage versatile et évolutive, spécialement dédiée aux architectures microfluidiques. Cette interface est automatisée de sorte qu'elle génère les signaux automatiquement à partir d'une interface faite sur LabVIEW. Elle permet aussi une détection capacitive avec une sensibilité de 100 fF. Cette contribution a été soumise au journal Elsevier, *Sensors and Actuators : Chemical B*. La plateforme a été conçue de sorte qu'elle permette l'intégration d'autres modules pour améliorer les performances de la plateforme. Cette dernière a été conçue pour offrir un outil de validation expérimentale pour les applications microfluidiques utilisant la diélectrophorèse.
5. Un nouvel assemblage complet d'un LsP tenant compte de la partie microélectronique et microfluidique dans un même substrat de verre. Cette contribution constitue une première étape vers le LsP bioimplantable. En effet, nous avons proposé une approche de conception modulaire qui permet de changer n'importe quel module du LsP indépendamment de l'application. Cet avantage offre une grande flexibilité pour améliorer l'interface biologique du LsP. Une conception d'un LsP tout en un bien qu'elle paraît optimisée, elle présente plusieurs inconvénients donc une biocompatibilité et une flexibilité très limitées.

Rappelons que notre motivation était l'étude des neurotransmetteurs. Leur présence dans du LCS en module la conductivité induite par la dopamine entre 10^{-6} et 10^{-5} S/m pour une concentration de dopamine variant entre 0.005 M et 0.1 M. Si on considère le cas des particules PS03N de 500 nm de diamètre, leur réponse fréquentielle varie pour un changement de conductivité du milieu de 1 S/m à 3.10^3 à partir d'une solution contenant 0.15 M de NaCl S/m et de l'eau dé-ionisée respectivement. Sachant que la concentration 0.15 M du NaCl est proche de celle du LCS, une variation de conductivité de 10^{-5} S/m due à la présence de la dopamine aura probablement très peu d'effet sur l'identité fréquentielle des PS03N.

Si on suppose que la variation de la conductivité est linéaire avec la variation de la

concentration de la dopamine, cela implique une concentration de dopamine de 10^4 M pour observer un changement dans la réponse fréquentielle de PS03N or la concentration maximale de la dopamine dans le cerveau est inférieure à 0.1 M!

Pour que les microsphères aient une réponse fréquentielle qui dépend de la concentration des neurotransmetteurs il faut tout d'abord que leur permittivité soit proche de celle des neurotransmetteurs, en plus leurs dimensions doivent être petites (<50 nm) pour pouvoir les manipuler avec la plus basse tension possible.

Ainsi, bien que les PS03N aient une réponse fréquentielle différente dans l'eau dé-ionisée et le LCS, cela demeure insuffisant pour pouvoir observer l'effet de la variation de la concentration des neurotransmetteurs.

En définitif, nous avons présenté une nouvelle architecture d'un LsP qui a été testé avec une solution artificielle de LCS. Nous l'avons également modélisé et les résultats de simulation concordent avec les résultats expérimentaux. Cependant, la version testée a des dimensions de 15 mm x 15 mm, ce qui fait de sorte qu'il est impossible avec les moyens à notre disposition de pouvoir l'implanter dans le cortex. Par contre, il est possible d'insérer des microtubes dans le cortex et d'échantillonner le liquide cérébral jusqu'à l'extérieur pour l'analyser dans l'architecture microfluidique. Une deuxième approche consiste à implémenter tout le LsP dans le cortex dans une version plus compacte. De plus, la manipulation diélectrophorétique directe des neurotransmetteurs s'avère impossible avec les procédés de fabrication des LsP actuel à cause des dimensions extrêmement petites de ces molécules.

Cette recherche nous a permis de mieux comprendre la très grande difficulté de ce qui motivait nos travaux à l'origine, à savoir la détection directe des neurotransmetteurs. Elle n'en diminue pas d'autant l'importance des contributions rapportées dans cette thèse

Travaux futurs

Compte tenu de grands progrès réalisés mais aussi du très grand écart entre ce qui nous motivait à l'origine et l'état d'avancement des travaux réalisés dans le cadre de cette thèse nous proposons quelques travaux futurs

Nous suggérons donc comme pistes de recherches futures :

1. d'adopter une identification fréquentielle indirecte des neurotransmetteurs. En effet, initialement, on considérait les neurotransmetteurs comme les particules cibles alors que le LCS est l'environnement extérieur, cette approche ne pouvait pas amener à des résultats concluants parce qu'il nous était impossible de séparer les neurotransmetteurs du LCS. Pour cette fin, il serait plus judicieux d'utiliser des microsphères artificielles comme étant l'élément constant de la solution et le LCS étant le liquide aux propriétés

variables dépendamment de la concentration des neurotransmetteurs.

2. de concevoir un LsP avec plusieurs types de capteurs serait certainement plus performant vue la faible concentration des neurotransmetteurs dans le LCS, . En effet, la variation de la concentration des neurotransmetteurs dans la solution a pour effet la variation de la conductivité et l'impédance du LCS en fonction de la fréquence. Ainsi, une mesure ampérométrique en plus de la diélectrophorèse pourrait probablement mener à des résultats plus précis.
3. d'associer la DEP avec d'autres méthodes de détection comme les méthodes optiques ou ampérométriques peut améliorer considérablement les performances du LsP. En effet, bien que la DEP est une des méthodes les plus performantes pour une intégration dans un LsP sans altérer les particules manipulées, l'attribution de l'identité fréquentielle des particules demeure imprécise à cause de la différence entre la fréquence de passage de nDEP à pDEP et la fréquence de pDEP à nDEP. Cette limitation introduit une erreur de l'identité fréquentielle pouvant atteindre 50 kHz, ce qui peut être une contrainte si on dispose de plusieurs particules ayant des identités fréquentielles proches.
4. de proposer d'autres procédés de fabrication des électrodes. Les électrodes planaires proposées ont été fabriquées par photolithographie et elles sont en contact direct avec le LCS. Elles sont constituées de 5 nm d'adhésif et 180 nm d'or. Cette méthode de conception est liée au procédé de fabrication commercial utilisé (Sensonit). Cependant, avoir des électrodes en contact direct avec le LCS provoque une réaction d'oxydoréduction intense aussitôt qu'une tension élevée est appliquée. Pour résoudre ce problème trois approches peuvent être envisagées. Une première solution consiste à ajouter une couche mince d'isolant par dessus les électrodes. Une seconde solution serait d'appliquer une tension plus faible en diminuant l'espace entre les électrodes. Enfin utiliser des électrodes de silicium.
5. d'élaborer un protocole expérimental permettant de manipuler les neurotransmetteurs dans un LsP plus efficacement. En effet, la manipulation et la détection des neurotransmetteurs demeure un problème ouvert, notre objectif dans cette recherche était d'offrir un outil permettant de mieux comprendre le fonctionnement des neurotransmetteurs. Cependant, la conception d'un tel outil nécessite plusieurs validation biologiques pas évidentes à réaliser.
6. de réduire les dimensions du LsP à celles de la puce microélectronique c'est à dire 1.2 mm x 1.2 mm.

PUBLICATIONS RELATIVES À CETTE THÈSE

Articles de revues avec comités de lecture

1. Miled, M.A. ; Vidaillac, R. ; Srasra, A. ; Sawan, M. ; "Reconfigurable Rapid Prototyping Microfluidic Platform for Particle Manipulation and Capacitive Detection", Elsevier sensors and Actuators B : Chemical, Soumis
2. Miled, M.A. ; Sawan, M. ; "High Throughput Microfluidic Rapid Prototyping Packaging Methods for DEP manipulations", The Journal of Visualized Experiments, Accepted
3. Miled, M.A. ; Gagné, A ; Sawan, M. ; "Hybrid Modeling Method For a DEP Based Particle Manipulation", MDPI sensors, pages : 1730-1753, Volume 13, Numéro 2, 2013
4. Miled, M.A. ; G. Massicotte ; Sawan, M. ; " Low-Voltage Lab-on-Chip for Micro and Nanoparticles Manipulation and Detection : Experimental Results", Analog Integrated Circuits and Signal Processing, Springer, pages : 707-717, Volume 73, Numéro 3, 2012
5. Miled, M.A. ; Sawan, M. ; " Dielectrophoresis-Based Integrated Lab-on-Chip for Nano and Micro-Particles Manipulation and Capacitive Detection", IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems, Pages : 120-132, Volume 6, Numéro 2, 2012

Articles de conférences avec comités de lecture

1. Miled, M.A ; Sawan, M., "Low-Voltage DEP Microsystem For Submicron Particle Manipulation In Artificial Cerebrospinal Fluid", IEEE Int. Conf. Engineering in Medicine and Biology, Jul. 2013 (invited)
2. Miled, M.A. ; Sawan, M., "A 0.18 um CMOS Multilayer and Low Resistive Load Architecture Dedicated for LoC Applications", IEEE Int. NEWCAS, Accepted.
3. Miled, M.A ; Sawan, M., "Electrode Robustness in Artificial Cerebrospinal Fluid for Dielectrophoresis-Based LoC", IEEE Int. Conf. Engineering in Medicine and Biology, Sep. 2012 (invited)
4. Miled, M.A. ; Gagne, A. ; Sawan, M., "Electrodes Architectures for Dielectrophoretic-Based Cells Manipulation in LoCs : Modeling, Simulation and Experimental Results", Mixed-Signals, Sensors and Systems Test Workshop (IMS3TW), pp. 39 - 42, Jun. 2011
5. Gagne, A. ; Miled, M. A. ; Sawan, M., " An improved multiphysics modelling approach for dielectrophoresis based cell separation ", CCECE, pp. 1387 - 1390, May. 2011.

6. Miled, M.A. ; El-Achkar, C.M. ; Sawan, M., "Low-voltage dielectrophoretic platform for Lab-on-chip biosensing applications", IEEE Int. NEWCAS, pp. 389 -392, May. 2010.
7. Miled, M.A. ; Sawan, M., " CMOS/microfluidic Lab-on-chip for cells-based diagnostic tools ", IEEE Int. Conf. Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), pp. 5334 - 5337, Aug. 2010.
8. Miled, M.A. ; Sawan, M., "A new fully integrated CMOS interface for a dielectrophoretic lab-on-a-chip device", IEEE Int. Symp. Circuits Systems (ISCAS), pp. 2349-2352, May. 2011.
9. Miled, M.A. ; Sawan, M., " A new CMOS/microfluidic interface for cells manipulation and separation in LoC devices ", 2nd Asia Symposium on Quality Electronic Design (ASQED), Pages : 194-197, Aug. 2010. (invited)
10. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Reconfigurable dielectrophoretic device for neurotransmitters sensing and manipulation ", IMS3TW 2009, pp. 1 - 4, Jun. 2009
11. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Subthreshold transistor operation for a high sensitivity capacitive sensor",CCECE.2008, pp. 1671 - 1674,4-7 May. 2008
12. Ghafar-Zadeh, E. ; Sawan, M. ; Hajj-Hassan, M. ; Miled, M.A., "A CMOS based microfluidic detector : Design, calibration and experimental results", MWSCAS.2007, pp.193-196, Aug. 2007

Notes d'application

1. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Interconnecting Microtubes in Microfluidic Applications ", CMC, 2012
2. Miled, M.A. ; Sawan, M., "A Novel Multi-electrical Channel Manipulation and Detection Platform for Microfluidic Applications", CMC, 2012
3. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Removable PDMS-based Interconnector for Low-pressure Microfluidic Applications", CMC, 2012
4. Miled, M.A. ; Sawan, M., "An Assembly Technique for Reusable Microfluidic Chips with Electrical Interface", CMC, 2012

Affiches avec comités de lecture

1. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Étude, modélisation et validation des microélectrodes pour des structures Lab sur puce", ACFAS, 2011.

2. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Capteur implantable basé sur LSP dédié à la détection cellulaire par diélectrophorèse ", Fetch, 2011.
3. Miled, M.A. ; Sawan, M., "LoC Dielectrophoresis - Based Implantable Device Dedicated for Cells Manipulation and Detection", CMC Texpo, 2010.
4. Miled, M.A. ; Sawan, M., "Implantable Microsystems Dedicated for Neural Cells Separation and Detection", NAMIS 2008, Autumn School, Tokyo, Japan Sept-Oct. 2008.

Brevet

1. Miled, M.A. ; Sawan, M ; "Reconfigurable Modular Microfluidic System and Method", Pending

Bibliographie

- A, P. H. (1978). *Dielectrophoresis : the behavior of neutral matter in nonuniform electric fields*. Cambridge.
- ABDELMONEIM, K. et MAHMOUD, S. (2007). 3v cmos rail to rail op-amp. *Microelectronics, 2007. ICM 2007. International Conference on*. 373–376.
- AHMADI, M. et JULLIEN, G. (2009). A wireless-implantable microsystem for continuous blood glucose monitoring. *IEEE Trans. Biomedical Circuits and Systems*, 3, 169–180.
- ALURU, N. et WHITE, J. (1998). A fast integral equation technique for analysis of micro-flow sensors based on drag force calculations. *Int. Conf. Modeling Simulation Microsystems, Semiconductors, Sensors Actuators*, 283– 286.
- ALURU, N. et WHITE, J. (1999). A multilevel newton method for mixed-energy domain simulation of mems. *J. Microelectromechanical Systems*, 8, 299 –308.
- BAKER, R. J. (2008). *CMOS : Circuit Design, Layout, and Simulation*. Wiley-IEEE Press.
- BARONAS, R., GAIDAMAUSKAITE, E. et KULYS, J. (2007). Modelling a peroxidase-based optical biosensor. *Sensors*, 7, 2723 –2740.
- BARONAS, R., IVANAUSKAS, F. et KULYS, J. (2006). Mathematical modeling of biosensors based on an array of enzyme microreactors. *Sensors*, 6, 453 –465.
- BARONAS, R., KULYS, J., PETRAUSKAS, K. et RAZUMIENE, J. (2012). Modelling carbon nanotubes-based mediatorless biosensor. *Sensors*, 12, 9146 –9160.
- BECKER, F. F., WANG, X. B., HUANG, Y., PETHIG, R., VYKOUKAL, J. et GASCOYNE, P. R. (1995). Separation of human breast cancer cells from blood by differential dielectric affinity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 860–864.
- BHAGAT, A., JOTHIMUTHU, P., PAIS, A. et PAPAUTSKY, I. (2007). Re-usable quick-release interconnect for characterization of microfluidic systems. *J. Micromech. Microeng. (UK)*, 17, 42 – 49.
- BLANCO, F., AGIRREGABIRIA, M., BERGANZO, J., MAYORA, K., ELIZALDE, J., CALLE, A., DOMINGUEZ, C. et LECHUGA, L. (2006). Microfluidic-optical integrated cmos compatible devices for label-free biochemical sensing. *J. Micromech. Microeng. (UK)*, 16, 1006 – 16.
- BOSI, S., FABBRO, A., BALLERINI, L. et PRATO, M. (2013). Carbon nanotubes : a promise for nerve tissue engineering? *Nanotechnology Reviews*, 2, 47–57.

- BREUSSIN, F. (2010). Microsystems devices driving healthcare applications. Rapport technique, Yole.
- BROWNSTEIN, M., SAAVEDRA, J., AXELROD, J., ZEMAN, G. et CARPENTER, D. (1974). Coexistence of several putative neurotransmitters in single identified neurons of aplysia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71, 4662–4665.
- BRUUS, H. (2008). *Theoretical Microfluidics*. Oxford University Press.
- BURGARELLA, S., MERLO, S., FIGLIUZZI, M. et REMUZZI, A. (2013). Isolation of langerhans islets by dielectrophoresis. *Electrophoresis*, 34, 1068–1075.
- BURLESON, W., CLARK, S. S., RANSFORD, B. et FU, K. (2012). Design challenges for secure implantable medical devices, 12– 17.
- CARRILLO, J., DUQUE-CARRILLO, J., TORELLI, G. et AUSIN, J. (2003). Constant-gm constant-slew-rate high-bandwidth low-voltage rail-to-rail cmos input stage for vlsi cell libraries. *Solid-State Circuits, IEEE Journal of*, 38, 1364 – 1372.
- CHANG, C.-C. et YANG, R.-J. (2007). Electrokinetic mixing in microfluidic systems. *Microfluidics and Nanofluidics*, 3, 501 – 525.
- CHUANG, C.-H., HUANG, Y.-W. et WU, Y.-T. (2012). Dielectrophoretic chip with multilayer electrodes and micro-cavity array for trapping and programmably releasing single cells. *Biomedical Microdevices*, 14, 271–278.
- COELHO, C. P., WHITE, J. et SILVEIRA, L. M. (2004). Dealing with stiffness in time-domain stokes flow simulation. *Conf. Nanotech*, 2, 387 –390.
- COFFEY, R. J. (2009). Deep brain stimulation devices : A brief technical history and review. *Artificial Organs*, 33, 208–220.
- CONG, P., KO, W. et YOUNG, D. (2008). Low noise uWatt interface circuits for wireless implantable real-time digital blood pressure monitoring. *Custom Integrated Circuits Conference, 2008. CICC 2008. IEEE*. 523–526.
- CRARY, S. et ZHANG, Y. (1990). Caemems : an integrated computer-aided engineering workbench for micro-electro-mechanical systems, 113– 114.
- CYGAN, Z. T., CABRAL, J. T., BEERS, K. L. et AMIS, E. J. (2005). Microfluidic platform for the generation of organic-phase microreactors. *Langmuir*, 21, 3629–3634.
- DE, S. et ALURU, N. (2004). Full-lagrangian schemes for dynamic analysis of electrostatic mems. *J. Microelectromechanical System*, 13, 737 –758.
- DEL CARMEN JARAMILLO, M., MARTÍNEZ-DUARTE, R., HÜTTENER, M., RE-NAUD, P., TORRENTS, E. et JUÁREZ, A. (2013). Increasing pcr sensitivity by removal

of polymerase inhibitors in environmental samples by using dielectrophoresis. *Biosensors and Bioelectronics*, 43, 297 – 303.

DÜRR, M., KENTSCH, J., MÜLLER, T., SCHNELLE, T. et STELZLE, M. (2003). Micro-devices for manipulation and accumulation of micro- and nanoparticles by dielectrophoresis. *ELECTROPHORESIS*, 24, 722–731.

ET AL., A. R. (1998). Ac electrokinetics : a review of forces in microelectrode structures. *J. Phys. D : Appl. Phy.*, 31, 2338–2353.

ET AL., X. B. W. (1994). A unified theory of dielectrophoresis and travelling wave dielectrophoresis. *J. Phys. D : Appl. Phy.*, 27, 1571–1574.

EYAL, S. et QUAKE, S. R. (2002). Velocity-independent microfluidic flow cytometry. *ELECTROPHORESIS*, 23, 2653–2657.

FARRIS, S., VITEK, J. et GIROUX, M. L. (2008). Deep brain stimulation hardware complications : The role of electrode impedance and current measurements. *Movement Disorders*, 23, 755–760.

FERRI, G. et SANSEN, W. (1997). A rail-to-rail constant-gm low-voltage cmos operational transconductance amplifier. *Solid-State Circuits, IEEE Journal of*, 32, 1563 –1567.

FILY, F., HAEGELEN, C., TATTEVIN, P., BUFFET-BATAILLON, S., REVEST, M., CADY, A. et MICHELET, C. (2011). Deep brain stimulation hardware-related infections : A report of 12 cases and review of the literature. *Clinical Infectious Diseases*, 52, 1020–1023.

FOX, M., ESVELD, E., LUTTGE, R. et BOOM, R. (2005). A new pulsed electric field microreactor : comparison between the laboratory and microtechnology scale. *Lab Chip*, 5, 943–948.

FRITZSCH, F. S., ROSENTHAL, K., KAMPERT, A., HOWITZ, S., DUSNY, C., BLANK, L. M. et SCHMID, A. (2013). Picoliter ndep traps enable time-resolved contactless single bacterial cell analysis in controlled microenvironments. *Lab on a Chip*, 13, 397–408.

FULLER, C. K., HAMILTON, J., ACKLER, H., KRULEVITCH, P., ELDREDGE, A., BECKER, F., YANG, J. et GASCOYNE, P. (2000). Microfabricated multi-frequency particle impedance characterization system. Kluwer.

GAGNE, A., MILED, M. A. et SAWAN, M. (2011). An improved multiphysics modelling approach for dielectrophoresis based cell separation, 001387– 001390.

GANGÉ-TURCOTTE, A., MILED, A. et SAWAN, M. (accepted). An improved multiphysics modelling approach for dielectrophoresis-based cell separation. *Proc. IEEE Conf. Elect. Comput. Eng.*

- GAO, J., YIN, X. et FANG, Z. (2003). Integration of single cell injection, cell lysis, separation and detection of intracellular constituents on a microfluidic chip. *Lab Chip*, 4, 47–52.
- GASCOYNE, P. R. C. et VYKOUKAL, J. V. (2004). Dielectrophoresis-based sample handling in general-purpose programmable diagnostic instruments. *Proceedings of the IEEE*, 92, 22 – 42.
- GEVORGIAN, S., BERG, H., JACOBSSON, H. et LEWIN, T. (2003a). Application notes - basic parameters of coplanar-strip waveguides on multilayer dielectric/semiconductor substrates, part 1 : high permittivity superstrates. *IEEE Microw. Mag. (USA)*, 4, 60 – 70.
- GEVORGIAN, S., BERG, H., JACOBSSON, H. et LEWIN, T. (2003b). Basic parameters of coplanar-strip waveguides on multilayer dielectric/semiconductor substrates. part 2 : Low permittivity superstrates. *IEEE Microw. Mag.*, 4, 59 – 78.
- GHAFFAR-ZADEH, E. et SAWAN, M. (2007). A hybrid microfluidic/cmos capacitive sensor dedicated to lab-on-chip applications. *IEEE Trans. Biomed. Circuits. Syst.*, 1, 270–277.
- GHAFFAR-ZADEH, E. et SAWAN, M. (Dec. 2007). A hybrid microfluidic/cmos capacitive sensor dedicated to lab-on-chip applications. *IEEE Trans. Biomedical Circuits and Systems*, 1, 270–277.
- GHAFFAR-ZADEH, E., SAWAN, M., CHODAVARAPU, V. et HOSSEINI-NIA, T. (2010). Bacteria growth monitoring through a differential cmos capacitive sensor. *IEEE Trans. Biomedical Circuits and Systems*, 4, 232 –238.
- GHAFFAR-ZADEH, E., SAWAN, M., HAJJ-HASSAN, M. et MILED, M. (2008a). A cmos based microfluidic detector : design, calibration and experimental results. *2007 50th IEEE International Midwest Symposium on Circuits and Systems (MWSCAS '07)*, 193 –196.
- GHAFFAR-ZADEH, E., SAWAN, M. et THERRIAULT, D. (2008b). A 0.18-um cmos capacitive sensor lab-on-chip. *J. Sensors. Actuators A : Phys.*, 141, 454–462.
- GHALLAB, Y. et BADAWEY, W. (2004). Sensing methods for dielectrophoresis phenomenon : from bulky instruments to lab-on-a-chip. *IEEE Circuits and Systems Magazine*, 4, 5–15.
- GHALLAB, Y. et BADAWEY, W. (2005). A novel cmos lab-on-a-chip for biomedical applications. 2, 1346–1349.
- GHALLAB, Y. et BADAWEY, W. (2006). A single cmos chip for biocell trapping, levitation, detection and characterization. *Circuits and Systems, 2006. ISCAS 2006. Proceedings. 2006 IEEE International Symposium on.* 3349–3352.
- GHALLAB, Y., BADAWEY, W. et KALER, K. (2003). A novel ph sensor using differential isfet current mode read-out circuit. 255–258.

- GHALLAB, Y. H. et BADAWEY, W. (2010). *Lab-On-A-Chip : Techniques, Circuits, and Biomedical Applications*. Artech House.
- GIELEN, F., DEMELLO, A. J., CASS, T. et EDEL, J. B. (2009). Increasing the trapping efficiency of particles in microfluidic planar platforms by means of negative dielectrophoresis. *J. Phys. Chem. B*, 113, 1493–1500.
- GREEN, N. G. et MORGAN, H. (1999). Dielectrophoresis of submicrometer latex spheres. 1. experimental results. *J. Phys. Chem. B*, 103, 41–50.
- HAN, K.-H. et FRAZIER, A. (2005). Reliability aspects of packaging and integration technology for microfluidic systems. *IEEE Trans. Dev. Mat. Rel.*, 5, 452–457.
- HARRISON, D. J., MANZ, A., FAN, Z., LUEDI, H. et WIDMER, H. M. (2002). Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip. *Analytical Chemistry*, 64, 1926–1932.
- HEER, F., FRANKS, W., BLAU, A., TASCHINI, S., ZIEGLER, C., HIERLEMANN, A. et BALTES, H. (15 Sept. 2004). Cmos microelectrode array for the monitoring of electrogenic cells. *J. Biosensors Bioelectron. (UK)*, 20, 358 – 66.
- HEER, F., FRANKS, W., BLAU, A., TASCHINI, S., ZIEGLER, C., HIERLEMANN, A. et BALTES, H. (2004). Cmos microelectrode array for the monitoring of electrogenic cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 358 – 366.
- HOFFMAN, R. A. et BRITT, W. B. (1979). Flow-system measurement of cell impedance properties. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 27, 234–40.
- HOWLADER, M., SUEHARA, S., TAKAGI, H., KIM, T., MAEDA, R. et SUGA, T. (2006). Room-temperature microfluidics packaging using sequential plasma activation process. *IEEE Trans. Adv. Packag.*, 29, 448–456.
- HSIUNG, L.-C., CHIANG, C.-L., WANG, C.-H., HUANG, Y.-H., KUO, C.-T., CHENG, J.-Y., LIN, C.-H., WU, V., CHOU, H.-Y., JONG, D.-S., LEE, H. et WO, A. (2011). Dielectrophoresis-based cellular microarray chip for anticancer drug screening in perfusion microenvironments. *Lab Chip (UK)*, 11, 2333–2342.
- HU, Y. et SAWAN, M. (2002). Cmos front-end amplifier dedicated to monitor very low amplitude signal from implantable sensors. *Analog Integrated Circuits and Signal Processing*, 33, 29–41.
- HUANG, Y. et PETHIG, R. (1991). Electrode design for negative dielectrophoresis. *Measurement Science and Technology*, 2, 1142–1146.
- HUANG, Y. et RUBINSKY, B. (1999). Micro-electroporation : Improving the efficiency and understanding of electrical permeabilization of cells. *Biomedical Microdevices*, 2, 145–150. 10.1023/A :1009901821588.

HUANG, Y. et RUBINSKY, B. (2003). Flow-through micro-electroporation chip for high efficiency single-cell genetic manipulation. *Sensors and Actuators A : Physical*, 104, 205 – 212. <ce :title>Selected papers based on contributions revised from the Technical Digest of the 2002 Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems workshop</ce :title>.

HUANG, Y., WANG, X. B., TAME, J. A. et PETHIG, R. (1993). Electrokinetic behaviour of colloidal particles in travelling electric fields : studies using yeast cells. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 26, 1528–1535.

HUANG, Y.-M., UPPALAPATI, M., HANCOCK, W. et JACKSON, T. (2005). Microfabricated capped channels for biomolecular motor-based transport. *Advanced Packaging, IEEE Transactions on*, 28, 564–570.

HUGHES, M. P., PETHIG, R. et WANG, X.-B. (1996). Dielectrophoretic forces on particles in travelling electric fields. *J. Phys. D : Appl. Phys.*, 29, 474–482.

HUNG, E., YANG, Y.-J. et SENTURIA, S. (1997). Low-order models for fast dynamical simulation of mems microstructures. *Int. Conf. Solid State Sensors Actuator*, 2, 1101– 1104.

INVITROGEN (2013). <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/products-and-services/applications/cell-analysis/qdots-microspheres-nanospheres/idc-surfactant-free-latex-beads/latex-bead-technical-overview.reg.us.html/>.

JANG, L.-S. et WANG, M.-H. (2007). Microfluidic device for cell capture and impedance measurement. *Biomedical Microdevices*, 9, 737–743.

JANG, L.-S., WU, C.-C. et LIU, C.-F. (2009). Fabrication of microfluidic devices for packaging cmos mems impedance sensors. *Microfluidics and Nanofluidics*, 7, 869–875.

JANG, W. W., KWON, O. D., LEE, J. O. et YOON, J.-B. (2007). Microelectromechanical (mem) switch and inverter for digital ic applications. 256–259.

JONES, T. B. (1995). *Electromechanics of particles*. Cambridge.

KAKUSHIMA, K., MITA, M., KOBAYASHI, D., HASHIGUCHI, G., ENDO, J., WADA, Y. et FUJITA, H. (2001). Micromachined tools for nano technology. twin nano-probes and nano-scale gap control by integrated microactuators. 294–297.

KALER, K. et DALTON, C. (2007). A cost effective, re-configurable electrokinetic microfluidic chip platform. vol. 123, 628 – 635.

KALER, K. et POHL, H. A. (1983). Dynamic dielectrophoretic levitation of living individual cells. *Industry Applications, IEEE Transactions on*, IA-19, 1089–1093.

KANG, K. H., KANG, Y., XUAN, X. et LI, D. (2006). Continuous separation of microparticles by size with direct current-dielectrophoresis. *ELECTROPHORESIS*, 27, 694–702.

- KEILMAN, J., JULLIEN, G. et KALER, K. (2004). A programmable ac electrokinetic analysis system. *Biomedical Circuits and Systems, 2004 IEEE International Workshop on*. 9–12.
- KHARE, K., KHARE, N. et SETHIYA, P. (2008). Analysis of low voltage rail-to-rail cmos operational amplifier design. *Electronic Design, 2008. ICED 2008. International Conference on*. 1–4.
- KODAMA, T., OSAKI, T., KAWANO, R., KAMIYA, K., MIKI, N. et TAKEUCHI, S. (2013). Round-tip dielectrophoresis-based tweezers for single micro-object manipulation. *Biosensors and Bioelectronics*, 47, 206–212.
- KORSMEYER, T., ZENG, J. et GREINER, K. (2004). Design tools for biomems, 622–628.
- KUA, C. H., LAM, Y. C., YANG, C., YOUCEF-TOUMI, K. et RODRIGUEZ, I. (2008). Modeling of dielectrophoretic force for moving dielectrophoresis electrodes. *J. Electrostatics*, 66, 514 – 525.
- LAU, A., IONESCU-ZANETTI, C., SEO, J. et LEE, L. (2005). A single cell electroporation chip. *Lab on a Chip*, 5, 38–43.
- LEE, A. P., COLLINS, J. et LEMOFF, A. V. (2007a). A multi-functional micro total analysis system (utas) platform for transport and sensing of biological fluids using microchannel parallel electrodes. *BioMEMS and Biomedical Nanotechnology*, 135–158.
- LEE, H., LIU, Y., HAM, D. et WESTERVELT, R. (2007b). Integrated cell manipulation system - cmos/microfluidic hybrid. *Lab Chip (UK)*, 7, 331 – 7.
- LEE, H., LIU, Y., WESTERVELT, R. et HAM, D. (2006). Ic/microfluidic hybrid system for magnetic manipulation of biological cells. *IEEE J. Solid-State Circuits*, 41, 1471–1480.
- LEE, S.-W. et TAI, Y.-C. (1999). A micro cell lysis device. *Sensors and Actuators A : Physical*, 73, 74 – 79.
- LI, Y. et KALER, K. (2002). Dep based cell separation utilizing planar microelectrode array. *Annual Report Conference Electr. Insul. Dielectr. Phenomena*, 680–684.
- LIN, Y.-C., JEN, C.-M., HUANG, M.-Y., WU, C.-Y. et LIN, X.-Z. (2001). Electroporation microchips for continuous gene transfection. *Sensors and Actuators B : Chemical*, 79, 137 – 143.
- LINDER, V., KOSTER, S., FRANKS, W., KRAUS, T., VERPOORTE, E., HEER, F., HIERLEMANN, A. et DE ROOIJ, N. (2006). Microfluidics/cmos orthogonal capabilities for cell biology. USA, vol. 8, 159 – 66.
- LU, H., SCHMIDT, M. A. et JENSEN, K. F. (2005). A microfluidic electroporation device for cell lysis. *Lab Chip*, 5, 23–29.

- MANARESI, N., ROMANI, A., MEDORO, G., ALTOMARE, L., LEONARDI, A., TARTAGNI, M. et GUERRIERI, R. (2003). A cmos chip for individual cell manipulation and detection. *IEEE J. Solid-State Circuits*, 38, 2297–2305.
- MANARESI ET AL., N. (2003). A cmos chip for individual cell manipulation and detection. *IEEE J. Solid-State Circuits*, 38, 2297–2305.
- MARKARIAN, N., YEKSEL, M., KHUSID, B., FARMER, K. et ACRIVOS, A. (2003). Particle motions and segregation in dielectrophoretic microfluidics. *J. Appl. Phys. (USA)*, 94, 4160 – 4169.
- MASUDA, S. et KAMIMURA, T. (1975). Approximate methods for calculating a non-uniform travelling field. *J. electrostatics*, 1, 351–370.
- MASUDA, S., WASHIZU, M. et IWADARE, M. (1987). Separation of small particles suspended in liquid by nonuniform traveling field. *IEEE Trans. Ind. Appl.*, IA-23, 474–480.
- MAYER, P., SLATER, G. W. et DROUIN, G. (1994). Theory of dna sequencing using free-solution electrophoresis of protein-dna complexes. *J. Anal. Chem.*, 66, 1777–1780.
- MCCLAIN, M., CULBERTSON, C., JACOBSON, S., ALLBRITTON, N., SIMS, C. et RAMSEY, J. (2003). Microfluidic devices for the high-throughput chemical analysis of cells. *Analytical chemistry*, 75, 5646–5655.
- MEDORO, G., MANARESI, N., LEONARDI, A., ALTOMARE, L., TARTAGNI, M. et GUERRIERI, R. (2003). A lab-on-a-chip for cell detection and manipulation. *J. Sensors, IEEE*, 3, 317–325.
- MEDORO, G., NASTRUZZI, C., GUERRIERI, R., GAMBARI, R. et MANARESI, N. (2007). Lab on a chip for live-cell manipulation. *IEEE Des. Test of Comput.*, 24, 26–36.
- MILED, M., EL-ACHKAR, C. et SAWAN, M. (2010). Low-voltage dielectrophoretic platform for lab-on-chip biosensing applications. *IEEE NEWCAS*, 389–392.
- MILED, M., GAGNE, A. et SAWAN, M. (2011a). Electrodes architectures for dielectrophoretic-based cells manipulation in locs : Modeling, simulation and experimental results. *Mixed-Signals, Sensors and Systems Test Workshop (IMS3TW), 2011 IEEE 17th International*. 39–42.
- MILED, M., GAGNE, A. et SAWAN, M. (2011b). Electrodes architectures for dielectrophoretic-based cells manipulation in locs : Modeling, simulation and experimental results. *IEEE 17th International Mixed-Signals, Sensors, and Systems Test Workshop (IMS3TW)*, 1–4.
- MILED, M. et SAWAN, M. (2008). Subthreshold transistor operation for a high sensitivity capacitive sensor. *Proc. IEEE Canadian Conf. Elect. Comput. Eng. (CCECE)*. 1671–1674.

- MILED, M. et SAWAN, M. (2009). Reconfigurable dielectrophoretic device for neurotransmitters sensing and manipulation. *2009 IEEE 15th International Mixed-Signals, Sensors, and Systems Test Workshop (IMS3TW)*, 1–4.
- MILED, M. et SAWAN, M. (2012a). Dielectrophoresis-based integrated lab-on-chip for nano and micro-particles manipulation and capacitive detection. *IEEE Trans. Biomed. Circuits. Syst.*, 6, 120–132.
- MILED, M. A., MASSICOTTE, G. et SAWAN, M. (2012). Low-voltage lab-on-chip for micro and nanoparticles manipulation and detection : experimental results. *Analog Integrated Circuits and Signal Processing*, 73, 1–11.
- MILED, M. A. et SAWAN, M. (2010). A new cmos/microfluidic interface for cells manipulation and separation in loc devices. *2nd Asia Symposium on Quality Electronic Design (ASQED)*, 194–197.
- MILED, M. A. et SAWAN, M. (2011a). A new fully integrated cmos interface for a dielectrophoretic lab-on-a-chip device. *IEEE Int. Symp. Circuits Systems (ISCAS)*, 2349–2352.
- MILED, M. A. et SAWAN, M. (2011b). A new fully integrated dielectrophoretic cmos processing unit for lab-on-chip applications. *Proc. IEEE Int. Symp. Circuits. Syst. ISCAS*. Accepted.
- MILED, M. A. et SAWAN, M. (2012b). Dielectrophoresis-based integrated lab-on-chip for nano and micro-particles manipulation and capacitive detection. *IEEE Trans. Biomed. Circuits. Syst.*
- NAKANO, A. et ROS, A. (2013). Protein dielectrophoresis : Advances, challenges, and applications. *Electrophoresis*, 34, 1085–1096.
- NELSON, M. J. et POUGET, P. (2010). Do electrode properties create a problem in interpreting local field potential recordings? *J. Neurophysiology*, 103, 2315–2317.
- NOSRATINIA, A., AHMADI, M., JULLIEN, G. et SHRIDHAR, M. (1995). High-swing, high-drive cmos buffer. *IEE Proc. Circuits, Devices and Systems*, 142, 109–112.
- PAMME, N. et WILHELM, C. (2006). Continuous sorting of magnetic cells via on-chip free-flow magnetophoresis. *Lab on a Chip (UK)*, 6, 974–80.
- PARK, K., SUK, H.-J., AKIN, D. et BASHIR, R. (2009). Dielectrophoresis-based cell manipulation using electrodes on a reusable printed circuit board. *UK*, vol. 9, 2224–2229.
- PERRY, M., LI, Q. et KENNEDY, R. T. (2009). Review of recent advances in analytical techniques for the determination of neurotransmitters. *Analytica Chimica Acta*, 653, 1–22.
- PETHIG, R. (1979). *Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials*. John Wiley Sons.

- PHILLIPS, J. et WHITE, J. (1997). A precorrected-fft method for electrostatic analysis of complicated 3-d structures. *IEEE Trans. Computer-Aided Design Integrated Circuits Systems*, 16, 1059 –1072.
- POHL, H. A. et KALER, K. (1979). Continuous dielectrophoretic separation of cell mixtures. *J. Cell Biochemistry and Biophysics*, 1, 15–28.
- POHL, H. A., POLLOCK, K. et CRANE, J. S. (1978). Dielectrophoretic force : A comparison of theory and experiment. *Journal of Biological Physics*, 6, 133–160.
- PRAKASH, S. B. et ABSHIRE, P. (2008). Tracking cancer cell proliferation on a cmos capacitance sensor chip. *J. Biosensors Bioelectron.*, 23, 1449 – 1457.
- PURVES, D., AUGUSTINE, G. et FITZPATRICK, D. E. A. (2001). *Release of Transmitters from Synaptic Vesicles*. Sinauer Associates, Inc.
- REIS, D. J. et REGUNATHAN, S. (2000). Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends in pharmacological sciences*, 21, 187–193.
- ROH, H., LEE, H., CHOI, Y. et ROH, J. (2010). A 0.8-v 816-nw delta-sigma modulator for low-power biomedical applications. *Analog Integrated Circuits and Signal Processing*, 63, 101–106.
- ROUSSEL, B. (2013). Biomems biomems microsystem device market for healthcare applications. Rapport technique, Yole.
- RUE, B., LEVACQ, D. et FLANDRE, D. (2006). Low-voltage low-power high-temperature soi cmos rectifiers. *International SOI Conference, 2006 IEEE*. 65–66.
- SAWAN, M., MILED, M. A. et GHAFAR-ZADEH, E. (2010). Cmos/microfluidic lab-on-chip for cells-based diagnostic tools. *Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2010 Annual International Conference of the IEEE*, 5334–5337.
- STEIGERT, J., HAEBERLE, S., BRENNER, T., MULLER, C., STEINERT, C., KOLTAY, P., GOTTSCHLICH, N., REINECKE, H., RUHE, J., ZENGERLE, R. et DUCREE, J. (2007). Rapid prototyping of microfluidic chips in coc. *J. Micromech. Microeng. (UK)*, 17, 333 – 341.
- STRAMBINI, L. M., LONGO, A., DILIGENTI, A. et BARILLARO, G. (2012). A minimally invasive microchip for transdermal injection/sampling applications. *Lab Chip*, 12, 3370–3379.
- SUEHIRO, J., SHUTOU, M., HATANO, T. et HARA, M. (2003). High sensitive detection of biological cells using dielectrophoretic impedance measurement method combined with electroporabilization. *Sensors and Actuators B : Chemical*, 96, 144 – 151.

- SYLVESTER, D., CHEN, J. et HU, C. (1997). Investigation of interconnect capacitance characterization using charge-based capacitance measurement (cbcm) technique and 3-d simulation. *PrProc. IEEE Custom Integr. Circuits*, 491 –494.
- TALARY, M. et PETHIG, R. (1994). Optical technique for measuring the positive and negative dielectrophoretic behaviour of cells and colloidal suspensions. *IEEE Proc. Science, Measurement Technology*, 141, 395–399.
- TANASE, M., FELTON, E., GRAY, D., HULTGREN, A., CHEN, C. et REICH, D. (2005). Assembly of multicellular constructs and microarrays of cells using magnetic nanowires. *Lab on a Chip (UK)*, 5, 598 – 605.
- TEYMOORI, M. M. et ABBASPOUR-SANI, E. (2005). Design and simulation of a novel electrostatic peristaltic micromachined pump for drug delivery applications. *Sensors and Actuators A : Physical*, 117, 222 – 229.
- THOMPSON, M. K. et THOMPSON, J. M. (2004). Multi-physics analysis of microfluidic devices with hydrodynamic focusing and dielectrophoresis. *International ANSYS Users Conference and Exhibition*.
- TIEN, L. W., WU, F., TANG-SCHOMER, M. D., YOON, E., OMENETTO, F. G. et KAPLAN, D. L. (2013). Silk as a multifunctional biomaterial substrate for reduced glial scarring around brain-penetrating electrodes. *Advanced Functional Materials*.
- TREBOTICH, D., ZAHN, J. et LIEPMANN, D. (2002). Complex fluid dynamics in biomems devices : Modeling of microfabricated microneedles. *2002 International Conference Modeling Simulation Microsystems*, 10– 13.
- TSANG, T., EL-GAMAL, M., INIEWSKI, K., TOWNSEND, K., HASLETT, J. et WANG, Y. (2007). Current status of cmos low voltage and low power wireless ic designs. *Analog Integrated Circuits and Signal Processing*, 53, 9–18.
- VALERO, A., MERINO, F., WOLBERS, F., LUTTGE, R., VERMES, I., ANDERSSON, H. et VAN DEN BERG, A. (2004). Apoptotic cell death dynamics of hl60 cells studied using a microfluidic cell trap device. *Lab Chip*, 5, 49–55.
- VENDIK, O., ZUBKO, S. et NIKOL'SKII, M. (1999). Modeling and calculation of the capacitance of a planar capacitor containing a ferroelectric thin film. *Tech. Phys. (USA)*, 44, 349 – 55.
- VOLDMAN, J. (2001). A microfabricated dielectrophoretic trapping array for cell-based biological assays. *Ph.D Thesis*. Massachusetts Institute of Technology.
- WAKE, H. et BROOKE, M. (2007). Low voltage electrophoresis on a cmos chip. *IEEE Midwest Symp. Circuits Syst., MWSCAS*, 1042–1045.

- WAKE, H. et BROOKE, M. (2008). Mixed-domain simulation of electrophoretic dna separation for cmos ic design. *IEEE Midwest Symp. Circuits Syst., MWSCAS*, 670–673.
- WANG, J., SULLIVAN, M. et HUA, S. (2007). Electrolytic-bubble-based flow sensor for microfluidic systems. *J. Microelectromech. Syst.*, 16, 1087–1094.
- WANG, X., WANG, X.-B., BECKER, F. F. et GASCOYNE, P. R. C. (1996). A theoretical method of electrical field analysis for dielectrophoretic electrode arrays using green's theorem. *J. Phys. D : Appl. Phys.*, 29, 1649–1660.
- WHITE, J. (2004). Cad challenges in biomems design. *Proc. IEEE Conf. Design Automation*, 629 –632.
- WONG, H.-S. et WHITE, M. (1989). A cmos-integrated 'isfet-operational amplifier' chemical sensor employing differential sensing. *Electron Devices, IEEE Transactions on*, 36, 479–487.
- XIE, L., PREMACHANDRAN, C., CHEW, M. et CHONG, S. C. (2009). Development of a disposable bio-microfluidic package with reagents self-contained reservoirs and micro-valves for a dna lab-on-a-chip (loc) application. *IEEE Trans. Adv. Packag.*, 32, 528–535.
- YOUSIF, N., BAYFORD, R. et LIU, X. (2008). The influence of reactivity of the electrode-brain interface on the crossing electric current in therapeutic deep brain stimulation. *J. Neuroscience*, 156, 597 – 606.
- ZHANG, C., KHOSHMANESH, K., MITCHELL, A. et KALANTAR-ZADEH, K. (2010). Dielectrophoresis for manipulation of micro/nano particles in microfluidic systems. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 401–420.
- ZHANG, W., CAO, X., XIE, Y., AI, S., JIN, L. et JIN, J. (2003). Simultaneous determination of the monoamine neurotransmitters and glucose in rat brain by microdialysis sampling coupled with liquid chromatography-dual electrochemical detector. *Journal of Chromatography B*, 785, 327–336.
- ZHOU, A. et MUTHUSWAMY, J. (2004). Acoustic biosensor for monitoring antibody immobilization and neurotransmitter gaba in real-time. *Sensors and Actuators B : Chemical*, 101, 8 – 19.

ANNEXE A

Résultats d'implémentation

A.1 Niveau microfluidique

La fabrication de l'architecture microfluidique a été réalisée en utilisant le procédé de fabrication de Lionix avec le support de la CMC (Société Canadienne de Microélectronique). Ci-après à la Figure A.1 le dessin de masque de l'architecture développée. Nous avons implémenté 12 architectures différentes dont le système de manipulation et de détection globale tel que représenté à la figure A.2. 7 autres architectures de tests ont été ajoutées. L'objectif des ces dernières est de :

- Tester les dispositifs de connexion des microcanaux de $25 \mu m$ à des tubes en téflons de 3 mm^2 .
- Tester les différents dispositifs d'assemblage ainsi que l'écoulement microfluidique à travers les microcanaux.

La figure A.3 est une photo des trous d'accès de l'architecture microfluidique précédemment introduite ainsi que des microcanaux. Notre objectif est de faire la jonction entre des tubes qui se connectent aux seringues et les microcanaux pour tester les différentes configurations.

Une inspection au microscope électronique de la surface des traces d'entrées/sorties qui sont les prolongements des électrodes implémentées à l'intérieur des microcanaux et qui sont présentées à la Figure A.4 montre que la surface présente quelques imperfections de l'ordre des nanomètres.

Les résultats des simulations obtenus nous ont montré qu'en utilisant une matrice d'électrodes reconfigurable, il est possible d'augmenter la profondeur du champ électrique dans le micro canal de 3 fois en augmentant le nombre d'électrodes sur lesquelles on applique un sinus déphasé de 180° de 3 fois aussi.

Aussi, les électrodes sur lesquelles on applique un sinus déphasé sont encerclées par d'autres électrodes sur lesquelles on applique un sinus avec une phase nulle. Les résultats des simulations de la figure A.5 montrent que le champ électrique est passé de $22 \mu m$ à $63 \mu m$, en utilisant respectivement une électrode et 4 électrodes (Miled et Sawan, 2009). Cette méthode nous a permis de pouvoir contrôler le flux d'un maximum de molécules en utilisant la diélectrophorèse tel que présenté à la figure A.6 et en utilisant l'architecture des électrodes en L.

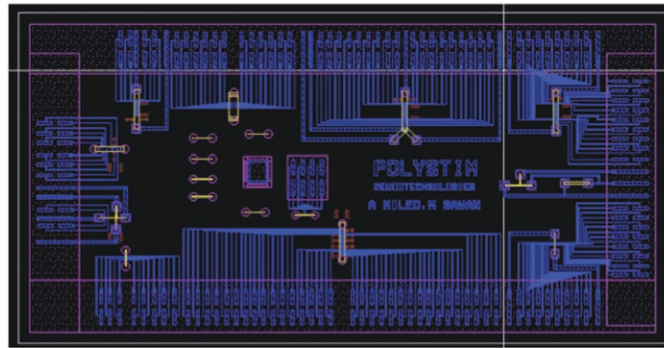


Figure A.1 Dessin de masque de l'architecture microfluidique en utilisant la technologie Sensonit

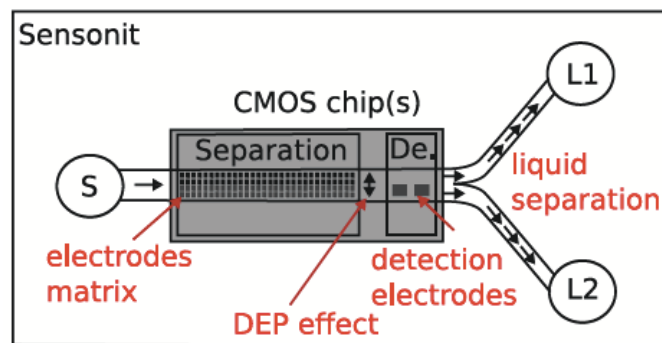


Figure A.2 Microsystème proposé pour son intégration dans un LsP

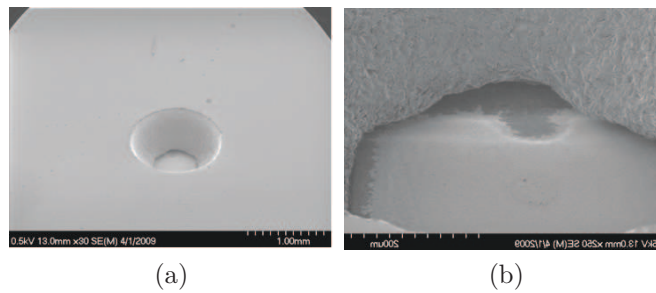


Figure A.3 (a)Trous d'accès microfluidique et (b) microcanaux de $25 \mu m$

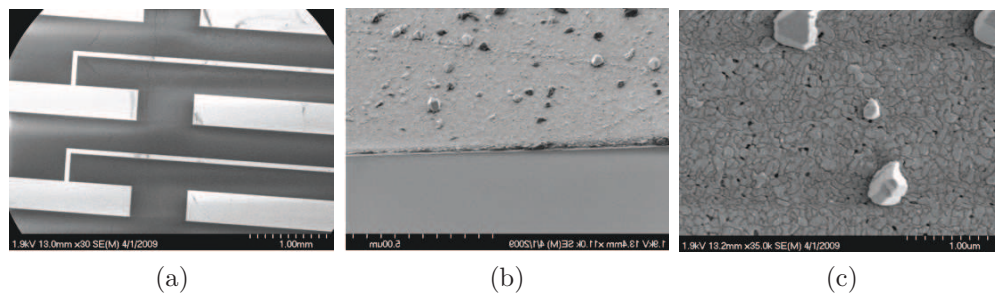


Figure A.4 (a) Traces de connexion de l'architecture microfluidique au circuit électrique, (b) électrodes de manipulation et détection d'épaisseur de 200 nm et (c) surface des électrodes

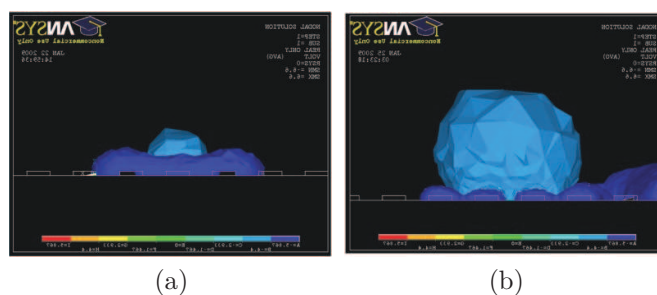


Figure A.5 Contrôle de la propagation du champ électrique dépendamment du nombre d'électrodes : (a) 1 électrode et (b) 4 électrodes utilisées pour propager le champ électrique

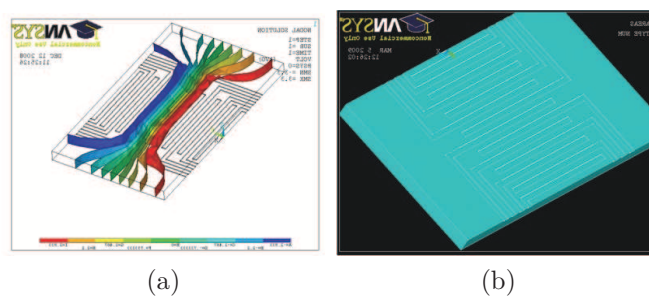


Figure A.6 (a) Propagation du champ électrique en utilisant (b) l'architecture des électrodes en L