



HAL
open science

Modèles numériques pour l'étude in vitro de la synapse immunologique B : de l'optimisation d'un système de capture microfluidique à l'estimation des forces de contact

Nicolas Ruysen

► To cite this version:

Nicolas Ruysen. Modèles numériques pour l'étude in vitro de la synapse immunologique B : de l'optimisation d'un système de capture microfluidique à l'estimation des forces de contact. Biomécanique [physics.med-ph]. HESAM Université, 2022. Français. ⟨NNT : 2022HESAE074⟩. ⟨tel-04042416⟩

HAL Id: tel-04042416

<https://pastel.hal.science/tel-04042416v1>

Submitted on 23 Mar 2023

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

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



HAL Authorization

ÉCOLE DOCTORALE N° 432 : SCIENCES DES MÉTIERS DE L'INGÉNIEUR
Institut de Biomécanique Humaine Georges Charpak – Campus de Paris

THÈSE

présentée par : **Nicolas RUYSSSEN**

soutenance prévue le : **8 décembre 2022**

pour obtenir le grade de : **Docteur d'HESAM Université**

préparée à : **École Nationale Supérieure d'Arts et Métiers**

Spécialité : **Biomécanique et ingénierie pour la santé**

**Modèles numériques pour l'étude *in vitro* de la
synapse immunologique B : de l'optimisation d'un
système de capture microfluidique à l'estimation des
forces de contact**

THÈSE dirigée par :
Mme Rachele ALLENA

et co-encadrée par :
M. Sébastien LAPORTE

Jury :

M. Charles BAROUD , Professeur des Universités, Laboratoire d'Hydrodynamique de l'X, Ecole Polytechnique	Président
Mme Emmanuèle HELFER , Directrice de Recherche CNRS, Centre Interdisciplinaire de Nanosciences de Marseille, Aix-Marseille Université, Campus de Luminy	Rapportrice
M. Claude VERDIER , Directeur de Recherche CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire de Physique, Université Grenoble Alpes	Rapporteur
Mme Marie-Caroline JULLIEN , Directrice de Recherche CNRS, Institut de Physique de Rennes, Université Rennes 1	Examinatrice
M. Jacques FATTACCIOLI , Maître de Conférences HDR, Institut Pierre-Gilles de Gennes, Ecole Normale Supérieure, Campus de Paris	Examineur
Mme Rachele ALLENA , Maître de Conférences HDR, Laboratoire Jean Alexandre Dieudonné, Université de Nice	Examinatrice
M. Sébastien LAPORTE , Professeur des Universités, Institut de Biomécanique Humaine Georges Charpak, Arts et Métiers, Campus de Paris	Invité

Remerciements

- Je remercie tout d'abord les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail et de se déplacer pour assister à ma soutenance. C'est un privilège d'être évalué par un tel jury. Merci plus particulièrement au rapporteurs M Claude Verdier et Mme Emmanuèle Helfer qui ont pris le temps d'évaluer avec soin ce rapport et de m'avoir laissé une semaine pour le finaliser. Au passage, un merci supplémentaire à M Verdier qui m'a introduit des notions très pertinentes en rapport avec mon sujet de thèse comme la modélisation de l'adhésion ligand-récepteur et la dérivée fractionnaire pour les lois de puissance lors de la F2M et du GDR mécabio.
- Un grand merci à Jacques pour m'avoir montré avec Gabriel comment fabriquer et utiliser les puces microfluidiques ainsi que pour l'accès à tout son matériel et équipement.
- De même pour Marie-Caroline qui m'a partagé de précieux conseils en microfluidique et sur les régimes de dispersions.
- Et plus généralement, je vous remercie fortement (Caroline et Jacques) pour votre bienveillance et vos encouragements.
- Je remercie également Atef et Sophie Asnacios pour les discussions sur les propriétés mécaniques des lymphocytes B et la collaboration sur l'essai de rhéologie à microplaques.
- Merci à Thomas Stanislas et à Katharina Elizabeth-Gabor du ZMBP à Tübingen pour la collaboration sur la capture de cellules végétales.
- Je tiens à remercier Denis Aubry du MSSMat pour avoir accepté que je participe au projet sur la migration 3D et d'avoir partagé ses connaissances.
- Je remercie tous les compagnons doctorants de l'IBHGC, nos échanges ont été à la fois agréables, constructifs et bienveillants...
- Merci beaucoup à Léa pour ses explications claires, précises, concises sur la synapse immunologique et le partage de ses connaissances de la littérature sur le sujet.
- Merci à ma directrice de thèse Rachele pour avoir accepté de m'encadrer et m'accompagner dans cette thèse malgré les difficultés/contraintes supplémentaires occasionnées par son dé-

part à Nice.

- Merci à Sébastien d'avoir bien voulu prendre une part d'encadrement du fait de ce départ, me permettant de finir ma thèse.

- Je tiens à grandement remercier ma famille pour l'accompagnement durant ces dures années, comprenant les rudes conditions sanitaires de la crise du CoViD 19. Plus particulièrement mon père pour sa disponibilité sans faille en cas de problème et ses conseils pour les régler, ma mère pour le calme qu'elle a su m'apporter et bien entendu mon frère et ses avis très pertinents en numérique, mathématiques, sur les bons bouquins et son partage d'expérience de la thèse, ce qui m'a évité bien des problèmes. Il me tarde, un jour, de vous rendre la pareille.

- Je remercie Marina, pour m'avoir supporté pendant ma dernière année de thèse et jusqu'à maintenant. Ta compagnie durant cette période m'a offert une leçon de vie certaine.

- Je remercie les membres du jury d'attribution des bourses de thèses CDSN de l'ENS de Rennes pour leur confiance.

- Enfin, merci au professeur de physique en classe préparatoire Marc Cavelier pour sa pédagogie, sa sympathie, son humour et son mémorable caractère pour le moins... Stimulant ? Qui m'a fait aimer la physique et m'a donné envie de poursuivre les études dans cette voie.

- Merci à tous ceux que j'oublie...

"If you are going through hell, keep going."

Winston Churchill

Table des matières

Table des figures	5
Liste des tableaux	6
1 Introduction générale	7
1.1 La réaction immunitaire	7
1.1.1 La réaction immunitaire innée	7
1.1.2 La réaction immunitaire adaptative	8
1.2 La synapse immunologique B	9
1.3 La microfluidique : un outil pour isoler des cellules	12
1.4 Problématiques	12
2 Amélioration de la capture d'objets micrométriques en réseaux de pièges microfluidiques	15
2.1 Introduction	15
2.1.1 Puces microfluidiques, pièges et réseaux de pièges	15
2.1.2 Réseaux de pièges microfluidiques dans la littérature	17
2.1.3 Problématique du remplissage des réseaux bidimensionnels	21
2.1.4 Position du problème	23
2.2 Simulations de capture dans la littérature	24
2.2.1 Modèles hydrodynamiques	24
2.2.2 Modèles particuliers	26
2.2.3 Modèles d'interaction fluide-structure	28
2.2.4 Bilan et choix de modélisation	31
2.3 Modèle hydrodynamique à particules	32
2.3.1 Géométrie paramétrée	32
2.3.2 Physique du modèle	32
2.3.3 Conditions aux limites et initiales	35
2.3.4 Stratégie de résolution	36
2.4 Résultats sur chambre droite et décalée	39
2.4.1 Une limite d'une approche hydrodynamique pure	39
2.4.2 Étude du remplissage et comparaison avec l'expérience	41
2.4.3 La brisure de symétrie comme mécanisme de capture	41

2.5	Conclusion	44
2.6	Informations supplémentaires	45
2.6.1	Valeurs des paramètres	45
2.6.2	Approximation du canal peu profond pour un écoulement de Poiseuille	45
2.6.3	Application de la méthode des éléments finis	47
3	Optimisation de réseau de pièges microfluidique	51
3.1	Introduction	51
3.2	Compléments brefs de théorie et littérature	52
3.2.1	Méthodes d'optimisation	52
3.2.2	Régimes de dispersion en mécanique des fluides	54
3.2.3	Mélange de fluides en milieu poreux	54
3.3	Méthode d'optimisation du système microfluidique	56
3.3.1	Paramètres adimensionnels de la chambre et efficacité du système	56
3.3.2	Algorithmes d'optimisation	59
3.3.3	Optimisation du réseau de pièges par le désordre	59
3.4	Résultats	62
3.4.1	Analyse paramétrique simple	62
3.4.2	Analyse multiparamétrique	64
3.4.3	Algorithmes d'optimisation	67
3.4.4	Optimisation du réseau de pièges par le désordre	67
3.4.5	Effet de la taille du réseau de pièges	71
3.5	Évaluation expérimentale préliminaire	74
3.5.1	Conception des puces	74
3.5.2	Une brève description du procédé de fabrication	74
3.5.3	Expériences de remplissage	77
3.5.4	Résultats	77
3.6	Conclusion	81
3.7	Informations supplémentaires	82
3.7.1	Photo-masque et wafer de silicium	82
4	Cisaillement subi par les cellules capturées	83
4.1	Introduction	83
4.2	Différence de pression aux bornes d'un piège	85
4.3	Modèle de l'écoulement autour d'une goutte et d'une cellule capturées	86
4.3.1	Géométrie paramétrée	86
4.3.2	Physique et stratégie de résolution	87
4.4	Résultats : cisaillement, force fluide et coefficient de couplage	89
4.5	Conclusion	91
5	Mécanique de formation de la synapse immunologique B	93

5.1	Introduction	93
5.1.1	La synapse immunologique B en laboratoire	93
5.1.2	Position du problème	98
5.2	Modèles numériques pour l'adhésion spécifique et la synapse immunologique	100
5.3	Modèle mécanique de formation de la synapse	104
5.3.1	Géométrie	104
5.3.2	déformations et formules de transport	104
5.3.3	Matériaux et loi de comportement	106
5.3.4	Physique	108
5.3.5	forces volumiques	109
5.3.6	Synthèse des phénomènes modélisés	113
5.3.7	Stratégie de résolution	114
5.4	Résultats	116
5.4.1	Comparaison avec l'expérience	116
5.4.2	Influence des propriétés mécaniques et de la taille du noyau	117
5.4.3	Prise en compte des microvillosités	120
5.5	Conclusion et perspectives	122
5.5.1	Conclusion	122
5.5.2	Perspectives	123
5.6	Études et informations supplémentaires	124
5.6.1	Vers un modèle de phagocytose	124
5.6.2	Valeurs des paramètres	125
5.6.3	Produit croisé de Bonet <i>et al</i>	126
	Conclusion générale	127
	Références	138
	Autres travaux	139
	Valorisations et enseignements	141

Table des figures

1.1	Schéma simplifié de la réaction immunitaire.	9
1.2	Étapes de formation de la synapse immunologique B	10
1.3	Extraction de complexes antigènes-RCB par un lymphocyte B	11
2.1	Éléments principaux constituant une puce microfluidique pour la capture d'objets micrométriques.	16
2.2	Exemples de réseaux de pièges 1D série	19
2.3	Exemples de réseaux de pièges 1D parallèle	20
2.4	Exemples de réseaux de pièges 2D	21
2.5	Réseau de pièges de Skelley <i>et al</i>	22
2.6	Images des moules des chambres fabriquées par Mesdjian <i>et al</i> [72]	22
2.7	Remplissages des chambres droite et décalée en fluorescence par microscopie optique	23
2.8	Modèle hydrodynamique d'optimisation d'un piège de Kobel <i>et al</i>	25
2.9	Modèle hydrodynamique de Deng <i>et al</i>	26
2.10	Modèle particulière de Kim <i>et al</i>	28
2.11	Modèle d'Interaction Fluide-Structure 2D à couplage faible de Xu <i>et al</i>	30
2.12	géométrie 2D paramétrée du modèle d'hydrodynamique à particules	33
2.13	Cartographie du champ de vitesse dans les chambres droite et obliques	39
2.14	Histogramme des rapports de débits	40
2.15	Représentation de 5000 lignes de courants passant par les pièges.	41
2.16	Comparaisons entre les résultats expérimentaux et numériques pour la chambre droite et décalée.	42
2.17	Zoom sur l'écoulement autour d'un piège pour les chambres droite et décalée	43
3.1	Étude du régime de dispersion point de vue eulérien par De Anna <i>et al</i> [52].	55
3.2	Efficacités de capture et de remplissage en fonction des valeurs des paramètres	63
3.3	Efficacité de remplissage E_{rempl} en fonction de l'efficacité de capture	64
3.4	Lignes de courants et positions finales à l'issue de l'étude paramétrique simple.	65
3.5	Résultats de l'étude multiparamétrique.	66
3.6	Lignes de courant et positions finales des particules dans la chambre optimisée par la méthode Nelder Mead.	68
3.7	Efficacités de capture et de remplissage en fonction du facteur d'écart pour des distributions normale et uniforme.	69
3.8	Lignes de courant et positions finales des particules dans la chambre désordonnée.	70

3.9	Distance moyenne entre particules en fonction du temps.	71
3.10	Efficacités de capture et remplissage en fonction du nombre de pièges dans les chambres Nelder-Mead et désordonnée.	72
3.11	Lignes de courants et positions finales des particules dans les chambres Nelder Mead et désordonnée.	72
3.12	Géométries des puces utilisées pour les expériences de remplissage	75
3.13	Principe du procédé de photolithographie.	76
3.14	Chambres optimisée et désordonnée observées à la loupe binoculaire après fabrication.	77
3.15	Dispositif expérimental.	78
3.16	Remplissages expérimentaux des chambres optimisée et désordonnée.	79
3.17	Matrices de remplissage expérimentales	80
3.18	Photo-masque chrome et moule.	82
4.1	Courbes isobares dans les chambres Nelder-Mead et désordonnée.	85
4.2	Géométrie du modèle d'hydrodynamique dans un piège.	86
4.3	Contrainte de cisaillement sur la cellule.	89
4.4	Contrainte de cisaillement maximal en fonction de la différence de pression.	90
4.5	Résultante des forces fluides sur les parois de la cellule en fonction de l'intégrale du champ de vitesse.	90
5.1	Découverte de la synapse immunologique B par Batista <i>et al</i> [15].	94
5.2	Dynamique d'une synapse sur substrat plan observées par Fleire <i>et al</i> [25].	95
5.3	Étude expérimentale pour la détermination de la force de contact dans une synapse immunologique B par Pinon <i>et al</i> [85].	97
5.4	Répartition des filaments d'actine dans un lymphocyte B formant une synapse sur goutte d'émulsion [86].	98
5.5	Deux modèles d'adhésion spécifique.	101
5.6	Géométrie du modèle d'adhésion.	105
5.7	Représentation graphique des différentes rampes.	114
5.8	Profil de déformation du lymphocyte en vue de coupe au cours du temps.	117
5.9	Rayon, surface et force de contact.	118
5.10	Effet de la rigidité du noyau et du cytoplasme sur la surface et la force de contact.	119
5.11	Effet de la taille du noyau sur la force de contact.	120
5.12	Champ de distance représentant les microvillosités.	121
5.13	Profil de déformation type phagocytose.	124
5.14	Autres travaux.	139

Liste des tableaux

2.1	Paramètres du modèle d'hydrodynamique à particules.	45
3.1	Géométries pour les valeurs extrêmes des 5 paramètres adimensionnels définissant la géométrie de la chambre	58
3.2	Exemples de géométries désordonnées	60
3.3	Résultats de l'étude d'optimisation.	67
5.1	Paramètres du modèle d'adhésion	125

Chapitre 1

Introduction générale

Tout organisme vivant observé à l'échelle microscopique se compose d'unité(s) appelée(s) cellule(s). Dans les organismes de plusieurs cellules (*ie* pluricellulaires), les cellules jouent des rôles bien précis dans la survie de l'organisme. En particulier, une famille de cellules appelée leucocytes (ou "globules blancs") est spécialisée dans la défense de l'organisme face à l'invasion par des agents infectieux (bactéries, virus, parasites) ou la prolifération de cellules tumorales. L'invasion de l'organisme par des agents infectieux entraîne une cascade d'évènements appelée réaction immunitaire dont les leucocytes sont les principaux acteurs.

1.1 La réaction immunitaire

La réaction immunitaire peut se décomposer en deux formes : innée et adaptative. On présente brièvement ces deux phénomènes dans cette section. La Figure 1.1 résume les différentes étapes dont on parle dans cette section. Certains éléments de l'immunité sont volontairement omis comme le complément, les lymphocytes NK (Natural Killers) ou les cellules dendritiques folliculaires afin de se concentrer sur l'essentiel.

1.1.1 La réaction immunitaire innée

La réaction immunitaire innée s'enclenche quelques minutes après l'invasion des agents infectieux ayant réussi à passer les barrières physiques de l'organisme (épithélium) et dure plusieurs jours. Elle a principalement trois fonctions :

- la destruction rapide des agents infectieux via des mécanismes ne nécessitant pas de reconnaissance spécifique de l'agent en question comme la phagocytose ;
- l'obtention d'informations sur l'infection et la nature de l'agent infectieux pour enclencher la réaction immunitaire adaptative.
- enclencher la réaction inflammatoire.

Les principaux leucocytes impliqués dans la réaction immunitaire innée sont les macrophages,

les cellules dendritiques et les granulocytes neutrophiles (colonne de gauche Figure 1.1). Ces trois phénotypes cellulaires peuvent effectuer la phagocytose des agents infectieux et présenter à leur surface des molécules signalant la présence d'une infection (cytokines) et d'autres molécules plus spécifiques de la nature de l'agent infectieux appelées antigènes. Ces derniers sont présents à la surface de l'agent infectieux. Les leucocytes capables de présenter les antigènes à leur surface sont principalement les macrophages et les cellules dendritiques. Dans le cas où ces cellules présentent des antigènes sur leur membrane, elles deviennent des Cellules Présentatrices d'Antigènes (CPA). Ces cellules jouent un rôle déterminant pour la réaction immunitaire adaptative.

1.1.2 La réaction immunitaire adaptative

La réaction immunitaire adaptative s'enclenche environ 12 heures après le début de l'infection et dure plusieurs jours. Elle intervient en complément de la réaction immunitaire innée. Durant cette phase, le système immunitaire a recours à des armes plus spécifiques contre l'agent infectieux : (i) les anticorps et (ii) les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques.

Les anticorps sont des molécules spécifiques aux antigènes capables de se fixer sur ceux-ci et inhibent fortement l'activité de l'agent infectieux l'empêchant d'attaquer les cellules de l'organisme. Les agents infectieux inhibés sont ensuite digérés avec les anticorps par les cellules du système immunitaire inné. La production d'anticorps est assurée par l'intervention de leucocytes appelés plasmocytes. Les plasmocytes sont à la base des leucocytes appelés lymphocytes B qui ont été activés par des CPA ou directement par les antigènes libres dans l'organisme. Suite à cette activation, les lymphocytes B se multiplient puis se différencient en plasmocytes (première ligne, colonne immunité adaptative Figure 1.1).

Les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques sont des leucocytes capables de sécréter des molécules appelées "granzymes" et "perforines". Ces molécules peuvent déclencher la mort cellulaire programmée (apoptose) des cellules infectées dans lesquelles prolifèrent les agents infectieux. Les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques sont à la base des leucocytes appelés lymphocytes T qui ont été activés par des CPA (lymphocytes T CD8+). Ils ont ensuite proliféré, puis se sont différenciés en lymphocytes T CD8+ cytotoxiques (deuxième ligne, colonne immunité adaptative Figure 1.1). Enfin, les processus de différenciations des lymphocytes B en plasmocytes et lymphocytes T CD8+ en lymphocytes T CD8+ cytotoxiques sont stimulés par une autre forme de lymphocyte T activé par les CPA : les lymphocytes T CD4+ (non-représentés). La différence dans l'activation des lymphocytes T en lymphocytes T CD4+ et CD8+ est liée à la manière donc sont présentés les antigènes par les CPA (suivant si la présentation fait intervenir les Complexes Majeurs d'Histocompatibilité de classe 1 ou 2).

En définitive, on peut donc dire que l'enclenchement de la réaction immunitaire adaptative passe inévitablement par l'activation de leucocytes appelés lymphocytes B et T par des CPA. Cette communication se produit grâce à la formation d'une interface entre ces deux cellules appelée synapse immunologique. Elle est le siège d'un ensemble de phénomènes à la fois physico-chimiques et mécaniques complexes qui ne sont pas totalement élucidés aujourd'hui. Pourtant, la compréhension

de ce phénomène pourrait hypothétiquement être très utile pour guider les biologistes/chimistes dans la conception de nouveaux traitements contre les maladies infectieuses ou pour les nouveaux traitements contre le cancer basés sur l'immunothérapie.

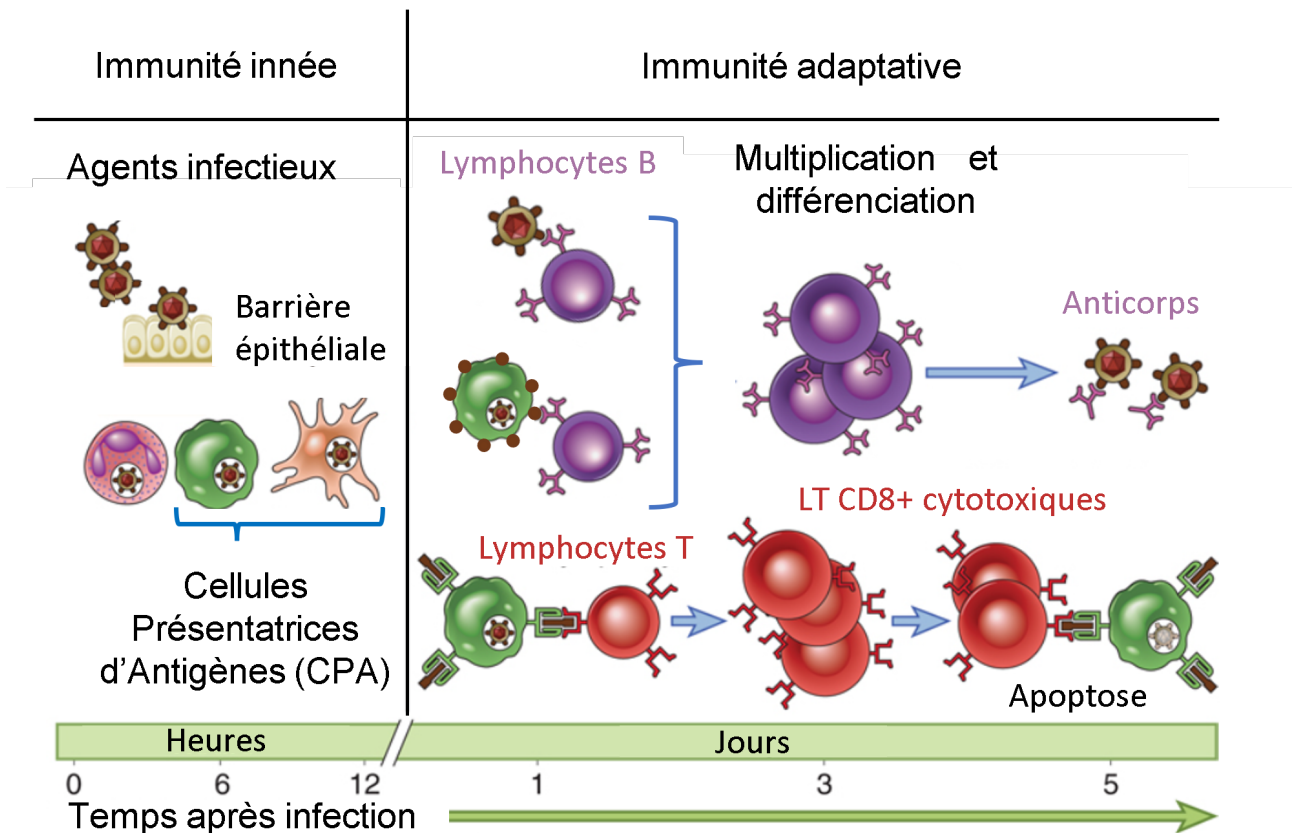


FIGURE 1.1 – Schéma simplifié de la réaction immunitaire. CPA : Cellules Présentatrices d'Antigènes. LT : lymphocyte T. Images adaptées de [50].

1.2 La synapse immunologique B

La synapse immunologique fait intervenir des CPA avec des lymphocytes B ou T. Dans cette thèse, on s'intéresse particulièrement à la synapse immunologique B. Elle se produit dans les ganglions lymphatiques où les lymphocytes B rencontrent les CPA. La formation de la synapse peut se décomposer en trois étapes : reconnaissance, étalement et contraction représentées sur la Figure 1.2.

Pendant l'étape de reconnaissance (Figure 1.2), le rapprochement du lymphocyte et de la CPA permet à certains récepteurs du lymphocyte B appelés récepteurs B (RCB) de se lier aux antigènes présents sur la membrane de la CPA. Ce lien entre antigènes et RCB se forme et se maintient par une force d'attraction de type ligand-récepteur, cette liaison est réversible dans le temps.

L'étape de reconnaissance entraîne une succession de processus chimiques à l'origine de l'étape d'étalement (Figure 1.2). Cette étape débute par une réorganisation du cytosquelette du lympho-

cyte : le centrosome se rapproche de la zone de contact et l'actine polymérise localement en filaments au niveau de la surface de contact [86]. Ce processus, couplé à l'adhésion entre RCB et antigènes permet une forte augmentation de la surface de contact entre les deux cellules. Durant cette étape, d'autres complexes (non-représentés sur la Figure 1.2) dont le rôle est de renforcer l'adhésion se forment (complexes intégrine-ICAM1 et intégrine-VCAM1). Ces complexes d'adhésion diffusent vers les bords de la zone de contact et, par symétrie, forment un anneau d'adhésion (non-représenté sur la Figure 1.2). Le phénomène inverse se produit pour les complexes antigènes-RCB, qui ont tendance à diffuser vers le centre de la surface de contact mais restent distribués d'une manière assez hétérogène en formant des "microclusters".

L'étape de contraction (Figure 1.2) se caractérise par la contraction des filaments d'actine, ce qui diminue la surface de contact et concentre les complexes antigènes récepteurs vers le centre de la synapse pour former un unique "cluster" central de complexes antigènes-RCB.

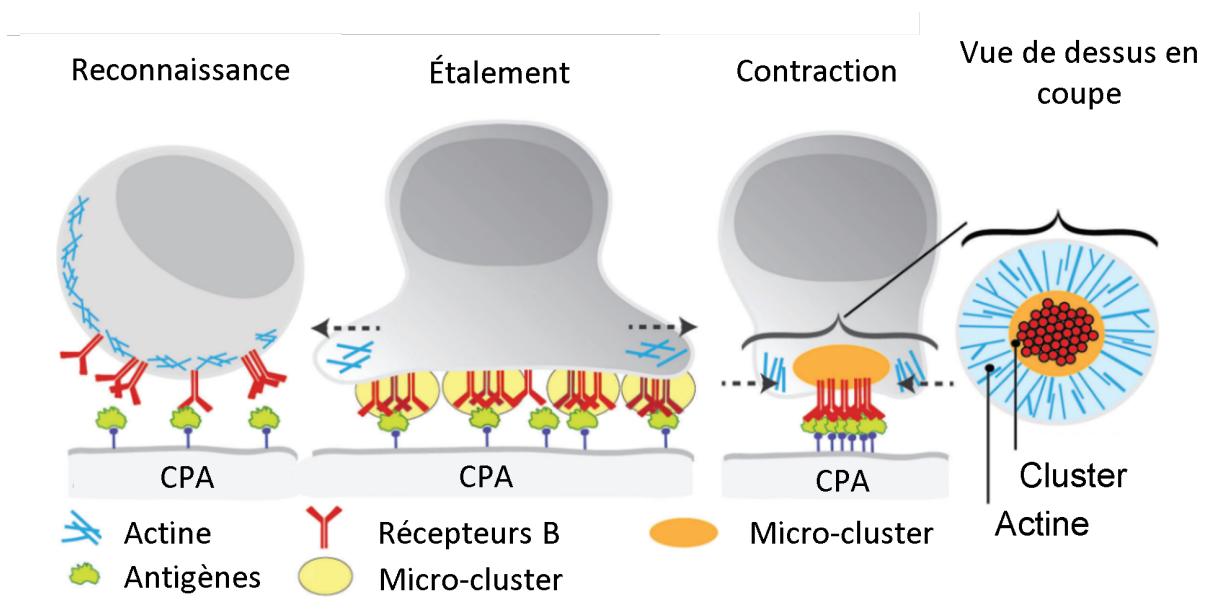


FIGURE 1.2 – Étapes de formation de la synapse immunologique B. CPA : Cellule Présentatrice d'Antigènes. Images adaptées de [64].

Suite à ce processus de rassemblement de complexes antigènes-récepteurs, le transfert de l'information de l'agression de l'organisme peut débuter. Pour ce faire, le lymphocyte doit extraire les complexes antigène-récepteur de la membrane de la CPA. Le mécanisme d'extraction des complexes n'est pas encore totalement compris aujourd'hui. Il consiste en deux étapes : le détachement de l'antigène de la membrane de la CPA et l'internalisation du complexe antigène-RCB dans le cytoplasme du lymphocyte par endocytose. L'endocytose est l'invagination à l'échelle nanoscopique de la membrane d'une cellule pouvant se refermer sur elle-même, ce qui crée des vésicules (endosomes) dans le cytoplasme de la cellule contenant du matériel à l'origine extra-cellulaire. Deux mécanismes ont pu être mis en évidence pour l'étape de détachement des complexes : l'extraction par voie chimique et par forces mécaniques [74].

L'extraction par voie chimique (Figure 1.3A) consiste en : (1) le largage d'enzymes au niveau de la synapse, (2) la rupture de la liaison entre antigènes et la membrane de la CPA par les enzymes et (3) l'internalisation des complexes antigènes-RCB dans le lymphocyte par endocytose.

L'extraction par forces mécaniques (Figure 1.3B) consiste en : (1) des forces dont l'origine n'est pas encore bien déterminée tirent sur les complexes antigène-RCB et (2) et (3) l'endocytose des complexes antigènes-récepteurs.

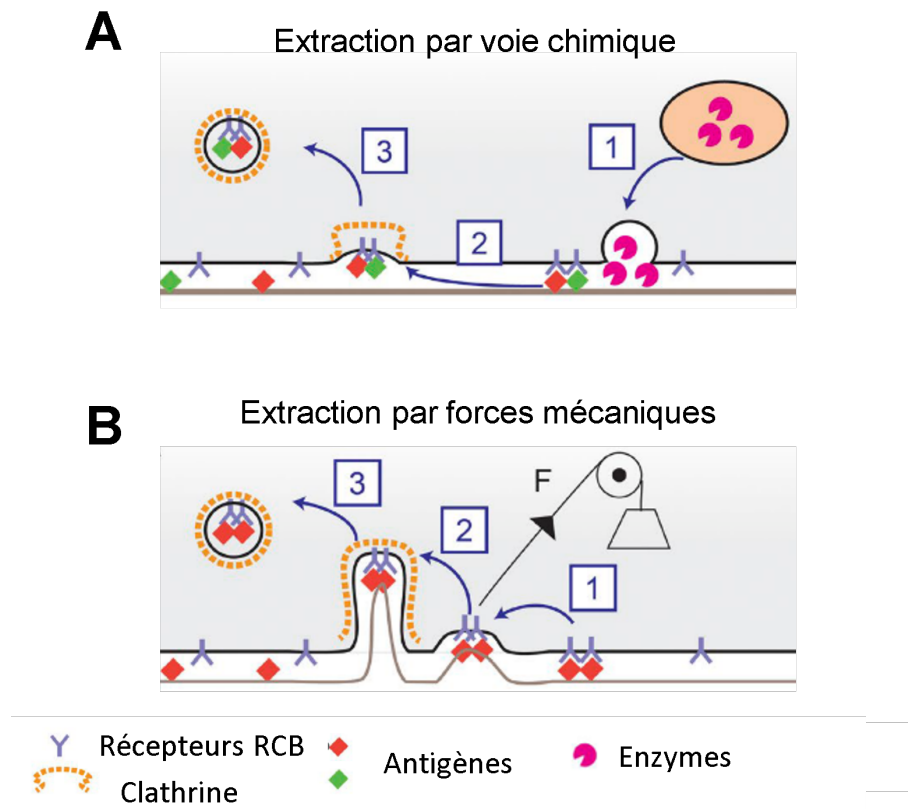


FIGURE 1.3 – Extraction de complexes antigènes-RCB par un lymphocyte B. **A** : extraction par voie chimique, **B** : extraction par forces mécaniques. La clathrine est une molécule impliquée dans le phénomène d'endocytose. Images adaptées de [74].

En définitive, on peut dire que la synapse immunologique B est un mécanisme dont le but final est l'internalisation d'une certaine quantité de complexes antigènes-RCB dans le cytoplasme du lymphocyte. Elle se réalise par : (i) la collecte de complexes antigènes-RCB et d'adhésion, la polymérisation d'actine localisée puis une contraction de l'actine et (ii) l'extraction des complexes antigènes-RCB soit par voie chimique, soit par forces mécaniques. Dans cette thèse on va particulièrement s'intéresser à la phase d'étalement dont le but est la collecte d'antigènes et le lien entre les forces produites par les lymphocytes B pour réaliser cette phase.

1.3 La microfluidique : un outil pour isoler des cellules

La microfluidique est une branche de la mécanique des fluides portant sur la manipulations des très faibles volumes de fluides allant de 10^{-9} à 10^{-18} litres. Elle a joué un rôle déterminant dans les dernières avancées en biologie [82] car elle a permis d'isoler des cellules les unes des autres dans l'espace et sur des durées contrôlées grâce à des petits récipients à cellule appelés "pièges". Ce degré de précision rend possible de tester un très grand nombre de composés simultanément à l'échelle d'une cellule seule sur des centaines voire des milliers d'échantillons. Ceci ouvre un nouveau champ de possibilités dans l'étude des cellules et des traitements médicamenteux. À ce propos, on entend même parler de l'arrivée potentielle d'une révolution informatique transposée à la biologie permettant de générer du "Big Data" biologique [66].

Cependant, la microfluidique n'échappe pas aujourd'hui à de réelles difficultés techniques dans sa pratique et la conception de systèmes microfluidiques dans un but précis reste un véritable challenge [82]. L'approche numérique simulant les écoulements à cette échelle a permis de résoudre nombre de ces problèmes de conception, notamment pour la détermination des conditions de chargement du fluide sur des cellules, l'apport en oxygène et en nutriments, les conditions de température [82] ... En 2017, un système de réseau de pièges microfluidiques pour l'assemblage de cellules par paires est proposé par Skelley *et al* [34]. Il constitue un outil très prometteur pour étudier un très grand nombre de synapses immunologiques. Un tel dispositif a pu être reproduit par l'équipe de Jacques Fattaccioli à l'institut Pierre-Gilles de Gennes (IPGG) mais de grandes difficultés techniques ont été rencontrées sur : le remplissage des pièges microfluidiques [72], la détermination des conditions de chargement fluide [85] des cellules piégées et la détermination des forces générées par les lymphocytes B dans les synapses immunologiques reproduites *in vitro* [85]. L'objectif de cette thèse consiste à trouver des solutions à ces problèmes limitant grandement l'accès à de nouvelles données sur la synapse immunologique.

1.4 Problématiques

Dans cette thèse, nous souhaitons répondre à quatre questions soulevées par les biologistes dans le cadre de l'étude *in vitro* de la synapse immunologique B :

- Comment peut-on favoriser la capture d'objets micrométriques dans les réseaux de pièges microfluidiques ?
- Peut-on aller jusqu'à optimiser un réseau de pièges pour la capture d'objets micrométriques ?
- Quelles conditions d'écoulement appliquer au fluide pour que les lymphocytes soient dans des conditions représentatives de l'*in vivo* ?
- Peut-on estimer les forces de contact transmises dans une synapse immunologique B dans

un réseau de pièges microfluidiques ?

Les chapitres suivants se focalisent spécifiquement sur chacune de ces problématiques prises séparément et dans le même ordre. À chaque chapitre, des éléments de contexte et de littérature seront ajoutés localement afin d'éviter au lecteur de revenir régulièrement sur cette introduction.

Chapitre 2

Amélioration de la capture d'objets micrométriques en réseaux de pièges microfluidiques

Ce travail a été réalisé en collaboration avec Jacques Fattaccioli (IPGG), Marie-Caroline Jullien de l'Institut de Physique de Rennes (IPR) et Olivier Mesdjian (IPGG). Il a pour objectif d'identifier les phénomènes physiques favorables au remplissage de réseaux de pièges microfluidiques. Pour ce faire, on construit un modèle numérique simulant l'écoulement et la capture de particules dans le réseau de pièges développé par Mesdjian *et al* [72] dans l'équipe de Jacques Fattaccioli à l'IPGG.

2.1 Introduction

2.1.1 Puces microfluidiques, pièges et réseaux de pièges

2.1.1.1 Principe de fonctionnement

Les puces microfluidiques destinées à la capture d'objets micrométriques peuvent avoir des formes très différentes mais ont certaines similitudes : elles sont en général obtenues par association en série et/ou parallèle de plusieurs chambres microfluidiques (aussi appelées "cellules") connectées entre-elles par des micro-canaux. On explique ici le principe de fonctionnement de ces puces sur l'exemple du réseau de pièges de Di Carlo *et al* [22] Figure 2.1. Les micro-canaux ont une forme élancée dans la direction de l'écoulement et ont pour fonction le transport rapide de la solution (Figure 2.1A). Les chambres microfluidiques sont des versions élargies des micro-canaux dans une ou deux directions transverses à l'écoulement et, si une seule dimension est élargie, on parle de chambre de Hele-Shaw (Figure 2.1B). Quand la puce microfluidique a pour fonction l'isolement d'objets micrométriques, les chambres contiennent des éléments appelés pièges microfluidiques qui sont disposés de manière stratégique dans l'espace, formant un réseau (Figure 2.1B et C). La fonction d'un piège microfluidique est d'isoler un ou une faible quantité d'objet(s) du reste de la solution. Les pièges peuvent être actifs ou passifs dans le sens où ils nécessitent un apport d'énergie autre que celle de l'écoulement ou non pour fonctionner. Dans le cas de pièges passifs, il s'agit d'un ensemble de parois permettant le passage du solvant à travers une ouverture suffisamment petite pour ne pas autoriser la traversée

des objets (Figure 2.1 D). Ainsi, tant que l'écoulement de la solution est maintenu, les objets restent isolés et comprimés contre les parois des pièges par l'écoulement. Il est par ailleurs simple de retirer les objets des pièges en inversant le flux. Cependant, même après un long temps d'injection, il apparaît qu'un certain nombre de pièges restent inoccupés par les objets [36] [34] [22], ce qui soulève le problème de l'efficacité de remplissage du réseau de pièges.

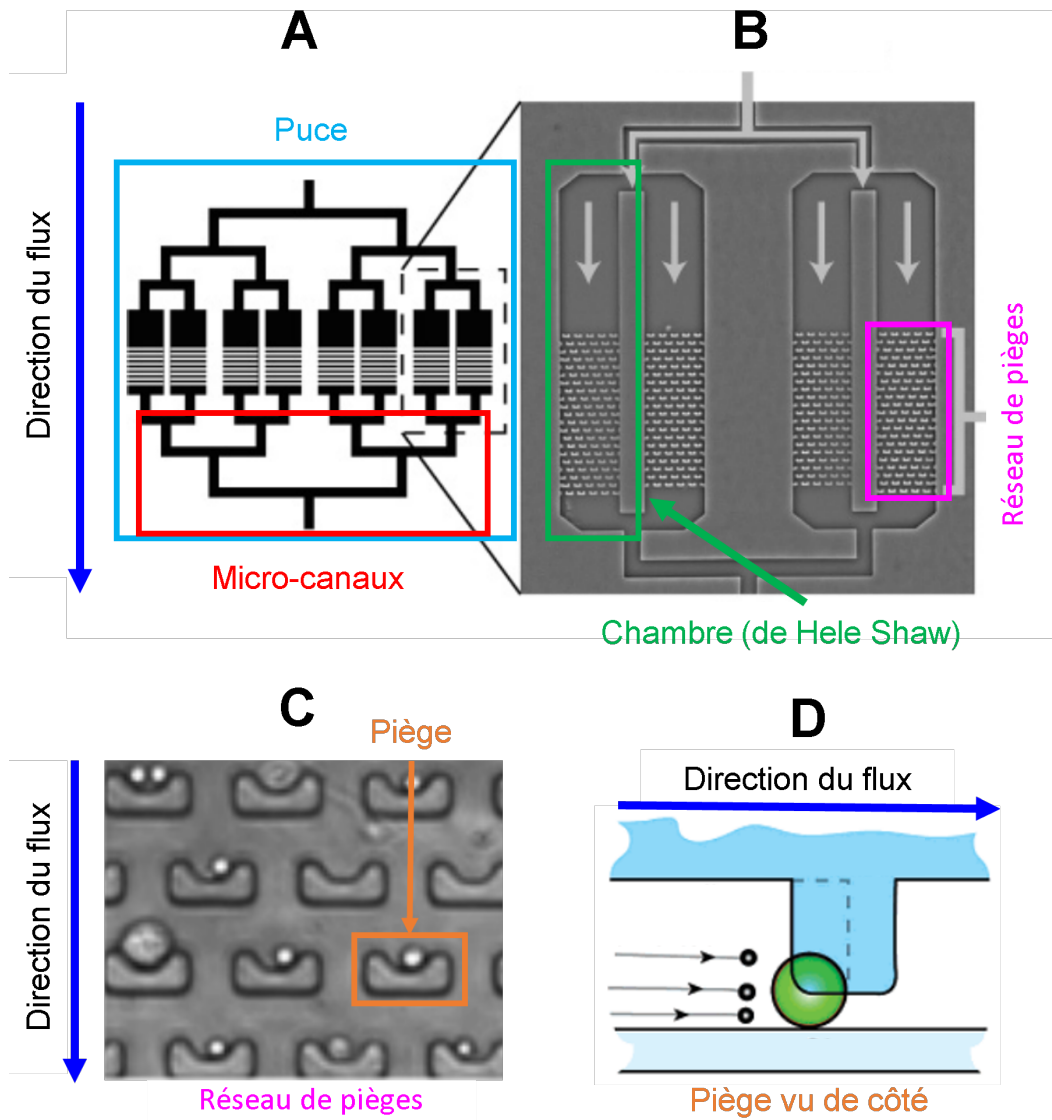


FIGURE 2.1 – Éléments principaux constituant une puce microfluidique pour la capture d'objets micrométriques. **A** : schéma global de la puce. **B** : zoom sur quatre chambres contenant un réseau de piège chacune. **C** : zoom sur quelques pièges en cours de remplissage. **D** : schéma de la vue de côté du piège, un objet (vert) est piégé et le fluide peut le contourner en passant par l'ouverture. Images adaptées de [22].

2.1.1.2 Puces à deux étages

Le procédé de fabrication des puces microfluidiques permet de générer une assez grande variété des formes car il s'apparente au moulage (il sera plus détaillé au chapitre 3). Cependant, il nécessite une symétrie plane des formes à obtenir. Pour contrer ce problème, une astuce consiste à "empiler" deux couches de matière de formes différentes l'une sur l'autre. On parle de puce "à deux étages". La puce de Di Carlo *et al* [22] (Figure 2.1) en est un exemple : on ne voit pas les ouvertures des pièges sur la vue de dessus (Figure 2.1C) alors qu'elles sont visibles en vue de côté (Figure 2.1D). L'intérêt d'avoir deux étages est par exemple d'obtenir des plus grandes ouvertures de pièges. Cette astuce peut améliorer le remplissage du réseau de pièges mais complique beaucoup le procédé de fabrication. Nous verrons dans ce chapitre et le chapitre suivant qu'il existe des solutions plus simples à ce problème.

2.1.2 Réseaux de pièges microfluidiques dans la littérature

Dans cette section, on présente différentes technologies de réseaux de pièges avec leurs applications associées ainsi que leur efficacité, ensuite on se focalise sur le choix du réseau de pièges qui a été mis en place au sein de l'équipe de Jacques Fattaccioli à l'IPGG pour étudier la synapse immunologique *in vitro* avec les expériences de captures associées.

On peut utiliser des réseaux pièges pour isoler des objets de natures différentes, en des nombres différents et de différentes manières. Par conséquent, il est possible de classer les réseaux de pièges de plusieurs façons. Nilsson *et al* [32] publie en 2009 une classification en fonction du phénomène physique provoquant la capture : aspiration par valves, écoulement hydrodynamique, lasers, champs électriques non-uniformes (di-électrophorèse) et par champ magnétique. Une autre classification est suggérée en 2017 par Narayanamurthy *et al* [73] : (i) avec contact des objets sur les parois des pièges et (ii) sans contact avec les parois, chaque catégorie pouvant encore se subdiviser. Le nombre d'articles présentant des réseaux de pièges microfluidiques étant relativement élevé, on se focalise sur les réseaux de pièges passifs. En effet, bien que l'utilisation de pièges actifs peut grandement faciliter la capture, leur fabrication et leur utilisation sont souvent complexes à mettre en œuvre. On propose ici une classification simple et non-exhaustive des réseaux de pièges passifs (utilisant seulement l'écoulement fluide pour capturer) à partir de la façon dont sont positionnés les pièges dans les chambres. On s'intéresse en particulier à l'efficacité de ces différents dispositifs et à la possibilité de capturer des objets de natures différentes par paires. On distingue trois types de réseaux de pièges : des réseaux unidimensionnels (1D) série où plusieurs pièges sont connectés en série via un canal principal transportant la solution, des réseaux 1D parallèle où les pièges sont connectés en parallèle à partir d'un même canal principal et des réseaux bidimensionnels (2D) où les pièges sont distribués en surface dans une chambre.

2.1.2.1 Réseaux unidimensionnels en série

Un premier réseau de pièges 1D série est présenté en 2007 par Tan *et al* dans une chambre dite "en serpent" pour la capture de gouttes [27]. Dans cette chambre, les pièges sont disposés en ligne dont l'entrée et la sortie sont connectées par un canal principal en forme de serpent (Figure 2.2A). Entre chaque coude à 180° du canal principal est placé un piège qui est traversé par une partie du débit injecté. La forme de cette chambre en apparence complexe ne l'est pas au sens du procédé de fabrication car elle n'a qu'un seul étage. Cette disposition de pièges en série permet d'avoir le même débit traversant chaque piège indépendamment du remplissage des autres pièges amont, ce qui simplifie grandement la conception du réseau piège. Des variantes de ce réseau serpent sont ensuite apparues : Iwai *et al* en 2011 ajoutent des piliers à la sortie des pièges facilitant la capture de gouttes [42] et Jin *et al* disposent les pièges de manière alternée au niveau des coudes pour la capture d'une cellule par piège [62]. Enfin, Yesilkoy *et al* proposent en 2016 un réseau 1D série relativement différent pour la capture de cellules seules : en amont de l'entrée de chaque piège est placé un chevron avec une ouverture qui force le passage des cellules dans les pièges [70] (Figure 2.2B). Une fois qu'un piège est occupé, les cellules suivantes sont déviées pour rejoindre les autres pièges vides en aval. En plus de démontrer un remplissage de 90% avec un seul étage, Yesilkoy *et al* soulèvent la question du chargement hydrodynamique reçu par les cellules et montrent que la différence de pression aux bornes de leurs pièges est 10 fois inférieure à celle de la chambre en serpent (pour la même vitesse de remplissage). Ceci peut éviter d'induire des déformations non-voulues aux cellules, et de limiter une éventuelle réponse biologique à la contrainte mécanique appliquée sur les cellules (mécanotransduction). Bien que les réseaux 1D série soient très efficaces pour isoler un objet par piège, l'agencement en série des pièges semble poser problème quand il s'agit de capturer des objets par paires. En effet, si les ouvertures des pièges sont conçues pour recevoir deux objets, il est fort probable que les pièges en amont se remplissent de plusieurs objets (de même nature) avant que des pièges en aval ne soient occupés. D'autre, part, il ne semble qu'aucune étude n'ait à ce jour démontré une efficacité des réseaux 1D série pour la capture d'objets par paires.

2.1.2.2 Réseaux unidimensionnels en parallèle

Les réseaux 1D parallèle sont moins nombreux dans la littérature. Ce type de réseau est d'abord proposé en 2009 par Yamaguchi *et al* avec une seule rangée de pièges connectant deux canaux principaux droits aux entrées et sorties indépendantes (Figure 2.3A) [37]. En 2011, Chung *et al* décident d'ajouter des coudes entre les deux canaux principaux, la chambre ainsi obtenue est connectée en série avec d'autres chambres semblables ce qui recrée une chambre serpent mais avec plusieurs pièges en parallèle entre les coudes. Le réseau de pièges est alors beaucoup plus dense qu'un réseau 1D série et avec 95% des pièges occupés par une seule cellule [40]. Le réseau de Yamaguchi *et al* est enfin réétudié numériquement en 2014 par Deng *et al* pour optimiser sa géométrie [53]. Les réseaux 1D parallèle ont montré qu'il est possible d'avoir un grand nombre de pièges occupés par un seul objet avec une densité de pièges plus élevée que pour les réseaux série. En revanche, les expériences de Chung *et al* [40] soulignent une grande difficulté à contrôler le nombre d'objets par pièges quand

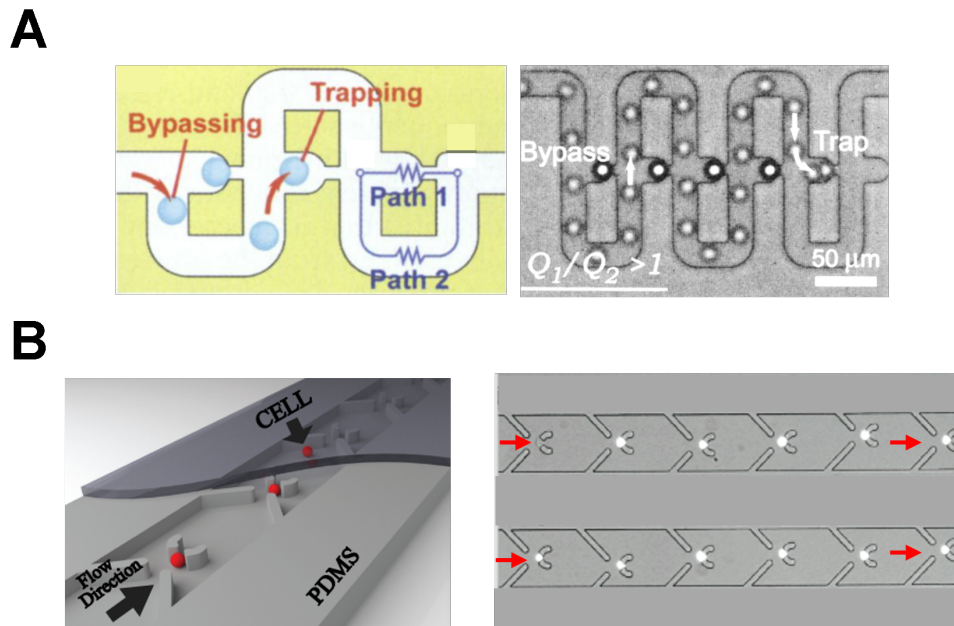


FIGURE 2.2 – Exemples de réseaux de pièges 1D série. **A** : réseau en serpentin de Tan *et al*, les pièges sont connectés entre-eux par un canal principal en serpentin et le remplissage est progressif dans le sens de l'écoulement **B** : réseau 1D série à chevrons de Yesilkoy *et al*. Images adaptées de [27] et [70].

celui-ci dépasse l'unité (Figure 2.3B).

2.1.2.3 Réseaux bidimensionnels

Les réseaux 2D ont pour avantage clair leur densité de pièges potentiellement très élevée qui permet des études sur des nombres d'échantillons tout aussi grands. Di Carlo *et al* proposent en 2006 un réseau 2D rectangulaire organisé en quinconce et à deux étages pour la capture d'une cellule par piège (Figure 2.4A) [22]. La disposition en quinconce a pour but de répartir le plus équitablement possible les débits qui traversent les pièges et le deuxième étage de PDMS augmente la taille de l'ouverture des pièges pour maximiser le débit à travers les pièges. Di Carlo *et al* montrent que les dimensions des pièges déterminantes pour contrôler le nombre d'objets par piège. Le taux de pièges à un seul objet est de 50%, pour un peu moins de 80% de pièges occupés par au moins une cellule. À partir de 2009, le nombre d'articles sur les réseaux 2D a beaucoup augmenté. On retient le travail de Wlodkowic *et al* [36] qui capturent des cellules cancéreuses avec un réseau 2D triangulaire en quinconce de 440 pièges par chambre et à un seul étage (Figure 2.4B). L'efficacité de remplissage est comprise entre 10% et 15% ce qui montre que les réseaux 2D à un seul étage sont encore grandement améliorables même pour la capture d'un seul objet par piège.

Skelley *et al* proposent en 2009 un premier réseau 2D en quinconce pour l'assemblage d'objets par paire (Figure 2.5). Ce réseau a permis d'assembler correctement des paires sur 70% des pièges et de remplir 80% des pièges au total dans le meilleur des cas. Un tel résultat nécessite cependant une

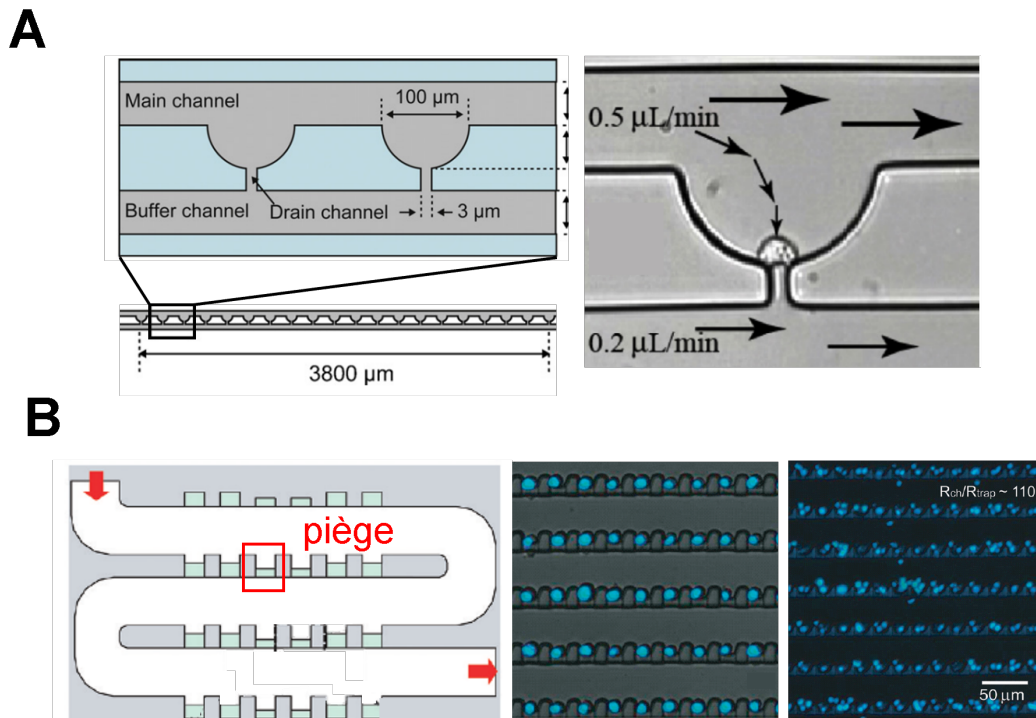


FIGURE 2.3 – Exemples de réseaux de pièges 1D parallèle. **A** : réseau parallèle en une ligne de Yamaguchi *et al.* **B** : réseau parallèle de Chung *et al.*, des coudes à 180 degrés sont ajoutés aux extrêmités ce qui recrée une chambre serpentin avec plusieurs pièges disposés en parallèle. Les images de capture montrent l'effet des modifications des dimensions sur le nombre de cellules par piège. Figures adaptées de [37] et [40].

géométrie à deux étages (Figure 2.5B) et un protocole spécifique de remplissage par "inversion de flux" (Figure 2.5A) qui est compliqué à mettre en oeuvre [72]. En 2011, Bai *et al* [38] utilisent le même protocole d'inversion de flux et arrivent à des résultats très similaires en termes de remplissage.

2.1.2.4 Bilan sur les réseaux de pièges dans littérature

On retient les informations suivantes :

- les réseaux de pièges 1D série et parallèle peuvent-être très efficaces mais ne permettent *a priori* pas une capture d'objets par paires ;
- les réseaux 2D ont montré une certaine efficacité pour la capture d'objets par paires. Cependant leur fabrication et utilisation sont complexes à mettre en oeuvre car elles nécessitent un protocole en inversion de flux et une géométrie à deux étages [34][38] ;
- les réseaux 2D à un seul étage sont très difficiles à remplir comme le montrent Wlodkovic *et al* [36].

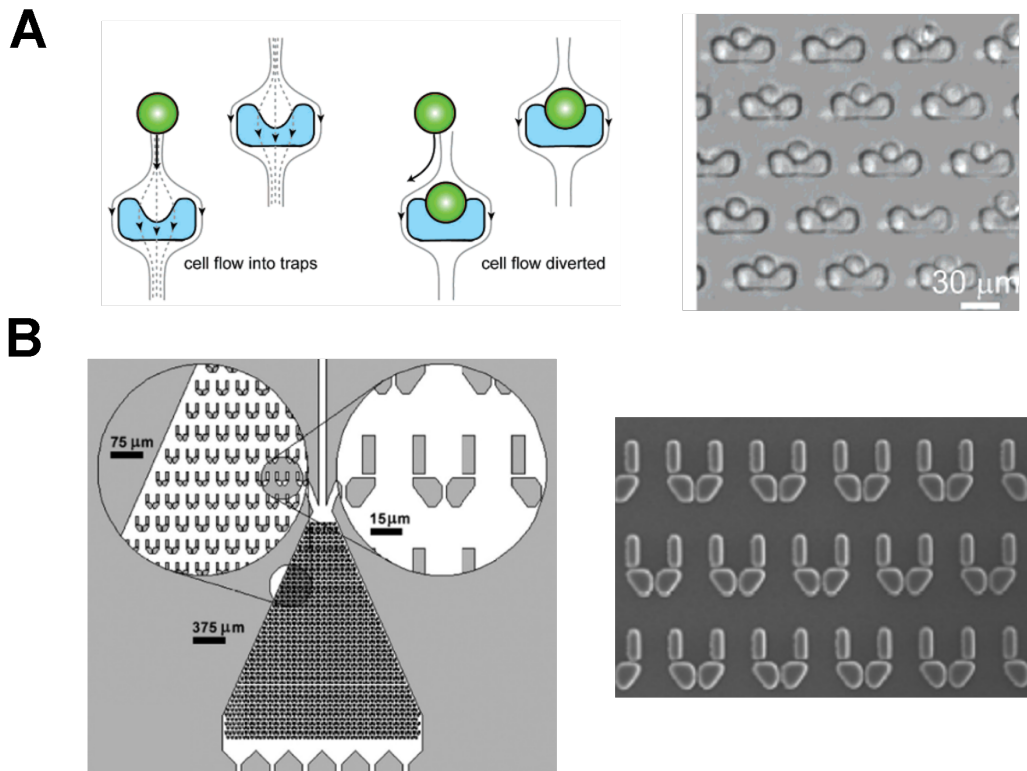


FIGURE 2.4 – Exemples de réseaux de pièges 2D utilisés pour isoler un seul objet par piège. **A** : réseau 2D rectangulaire de Di Carlo *et al* [22]. **B** : réseau 2D triangulaire de Wlodkowic *et al* [36]. Images adaptées de [22] et [36].

Dans ce contexte, l'équipe de Jacques Fattaccioli cherchant à appairer des gouttes avec des cellules pour reproduire des synapses immunologiques, s'est naturellement dirigée vers des réseaux de pièges 2D en partant de la géométrie de Skelley *et al* [72].

2.1.3 Problématique du remplissage des réseaux bidimensionnels

Les premiers réseaux de pièges fabriqués à l'IPGG pour l'étude de la synapse immunologique sont constitués d'une centaine de pièges disposés en quinconce avec un seul étage en respectant au mieux les recommandations de Skelley *et al* [34]. Le protocole de remplissage par inversion de flux ne s'est pas révélé plus efficace qu'un protocole standard en injectant d'abord des gouttes puis des cellules de la même manière [72]. Cependant, l'efficacité de remplissage du réseau de pièges reste faible : une grande partie des pièges restent vides. Ce problème de remplissage semble rejoindre les résultats de Wlodkowic *et al* [36] qui obtiennent 10% à 15% d'efficacité de remplissage sur des réseaux à un seul étage. Par conséquent, des manipulations supplémentaires concentrées sur l'amélioration de l'efficacité de remplissage ont été menées. Dans un premier temps, le réseau de pièges n'a pas été modifié, uniquement la géométrie des canaux d'entrée et de sortie dans la chambre microfluidique a été changée pour deux configurations : (i) une chambre symétrique où l'entrée et la sortie occupent toute la largeur de la chambre via un divergent (chambre droite Figure 2.6A) et (ii) une chambre où les canaux d'entrée et de sortie sont décalés dans la direction transverse de l'écoulement (chambre

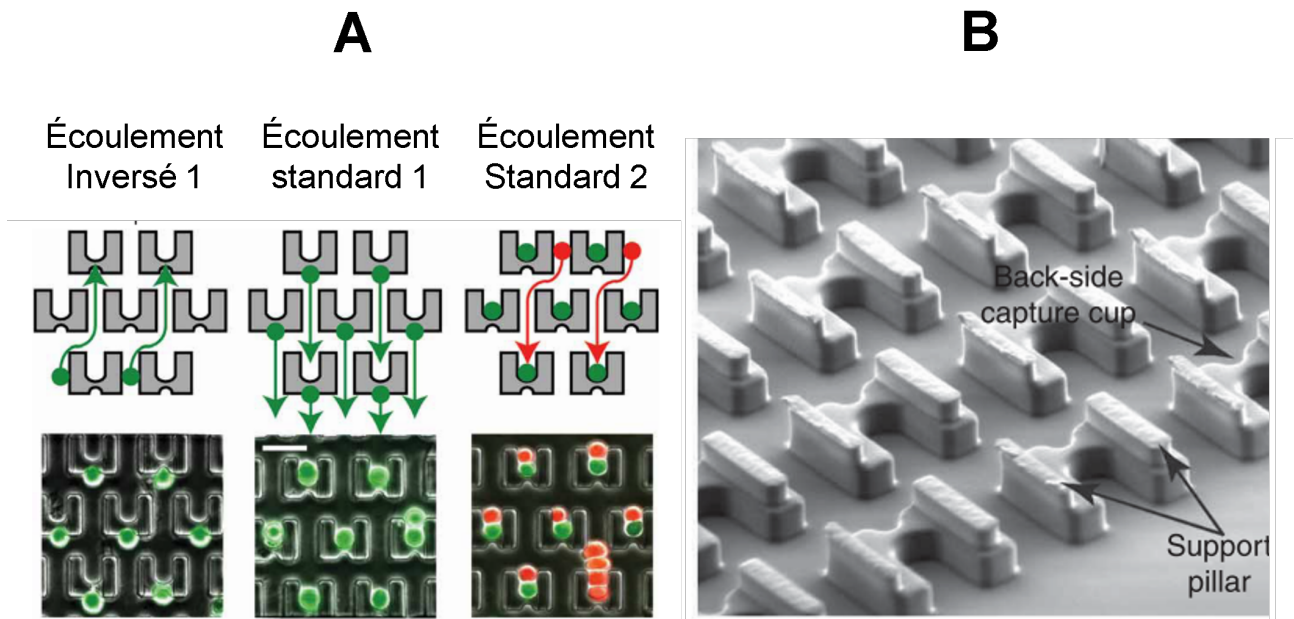


FIGURE 2.5 – Réseau de pièges de Skelley *et al.* **A** : protocole de remplissage par inversion de flux. Un objet 1 (vert) est injecté en flux inversé, ce qui positionne les objets 1 à l'arrière des pièges. Le flux est retourné ce qui piège les objets 1. Enfin, les objets 2 sont injectés dans le sens standard pour créer des paires. Images adaptées de [34].

décalée Figure 2.6B).

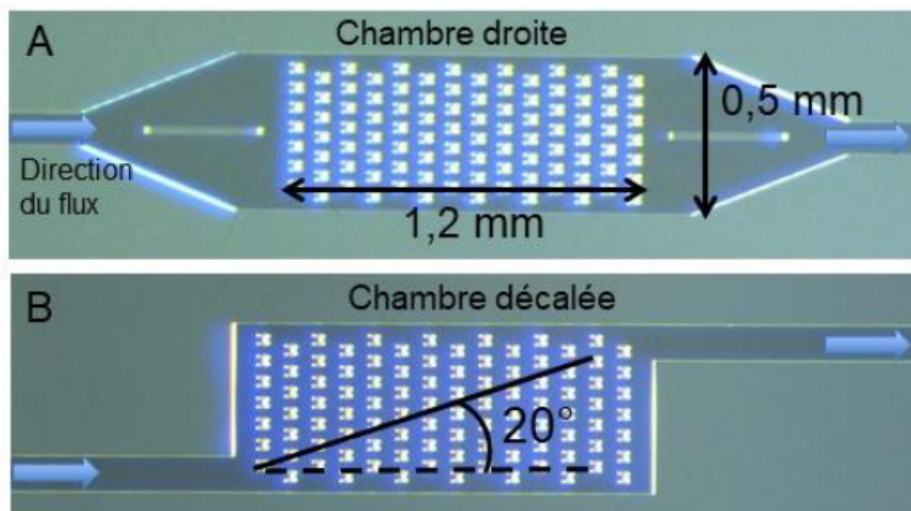


FIGURE 2.6 – Images des moules des chambres fabriquées par Mesdjian *et al* [72]. Les pièges sont disposés en quinconce et les chambres résultantes de ces moules ont un seul étage. **A** : chambre droite, les canaux d'entrées et sorties sont élargis grâce à des divergents. **B** : chambre décalée, un décalage entre le canal d'entrée et de sortie créer un angle d'environ 20 degrés dans l'écoulement ("écoulement oblique"). Images adaptées de [72].

La Figure 2.7 montre les remplissages obtenus par Mesdjian *et al* [72] avec des particules en polysty-

rène. Ces particules sont fluorescentes de sorte à pouvoir visualiser le remplissage plus simplement en laissant une traînée derrière elles. On constate que la chambre droite à divergent permet un fort remplissage des premières rangées de pièges avec une grande partie du réseau vide en aval (phénomène de "boîte vide") tandis que la chambre oblique offre un remplissage beaucoup plus complet mais avec certains pièges vides en des endroits dispersés dans la chambre.

2.1.4 Position du problème

Nous souhaitons comprendre comment peut se produire une telle différence d'efficacité de remplissage entre les chambres droite et décalées de Mesdjian *et al* [72]. Pour ce faire, nous avons décidé de construire un modèle numérique permettant de simuler le remplissage des différentes chambres qui ont été testées. On propose alors le plan d'étude suivant :

- une étude de la littérature concernant les différents modèles de capture afin de choisir une méthode adéquate ;
- une présentation du modèle qui a été retenu avec les résultats qu'il amène en comparaison avec les expériences ;
- une interprétation physique du phénomène observé.

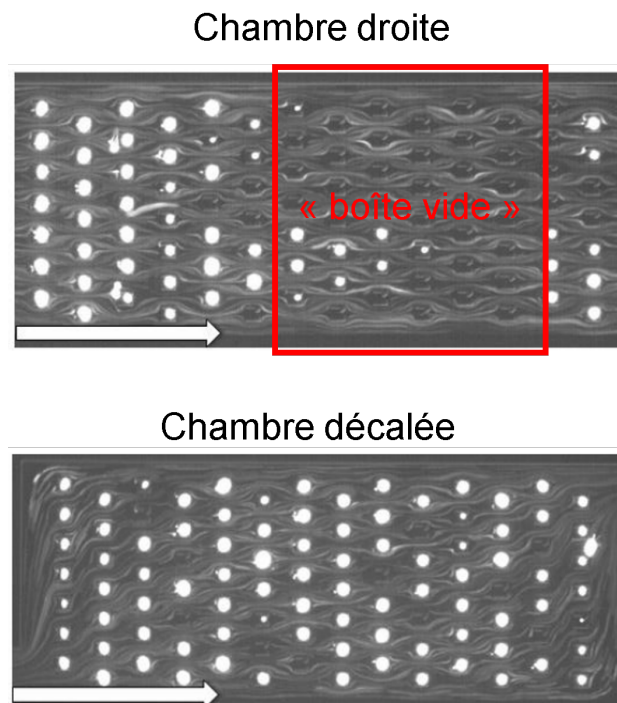


FIGURE 2.7 – Remplissages des chambres droite et décalée en fluorescence par microscopie optique. Une zone de vide ("boîte vide") s'observe dans la chambre droite et non dans la chambre décalée qui comporte des pièges vides de manière plus dispersée. Images adaptées de [72].

2.2 Simulations de capture dans la littérature

Si beaucoup de modèles existent sur l'étude de billes, gouttes, cellules ou sphéroïdes dans des chambres microfluidiques, assez peu s'intéressent aux phénomènes de capture de ces objets [82]. Sheidaei *et al* proposent une revue de littérature d'une centaine d'articles avec modèles numériques simulant la mécanique des cellules dans des systèmes microfluidiques [82]. Cet article met en avant différents objectifs d'études de ces modèles dont la capture des cellules mais cette catégorie ne comporte que huit articles dont deux portent sur des pièges actifs [26] [79]. On étend le champ de recherche au piégeage passif de toute catégorie d'objets micrométriques. On propose ici une revue très simple catégorisant les modèles par niveaux de description des objets à capturer. Il va de soi que plus la description de l'objet à capturer est précise, plus le coût de calcul est élevé.

2.2.1 Modèles hydrodynamiques

Les modèles hydrodynamiques (ou "CFD" pour "Computational Fluid Dynamics") simulent l'écoulement d'un fluide dans un domaine fluide Ω_f . De manière très générale, la simulation se base sur la résolution approchée de l'équation d'équilibre dynamique avec l'équation de conservation de la masse dans le domaine étudié Ω_f . Si Ω_f ne contient ni source, ni puits et si le fluide est newtonien dans des conditions qui rendent sa compressibilité négligeable, l'équilibre dynamique revient à considérer l'équation de Navier-Stokes et la forme incompressible de la conservation de la masse :

$$\begin{cases} -\nabla p + \mu \nabla^2 \underline{v} + \underline{f}_v = \frac{\partial(\rho \underline{v})}{\partial t} + \underline{v} \cdot \nabla(\rho \underline{v}) & \text{dans } \Omega_f \\ \nabla \cdot \underline{v} = 0 & \text{dans } \Omega_f \end{cases} \quad (2.2.1)$$

où p est le champ de pression, μ la viscosité dynamique, \underline{v} le champ de vitesse, \underline{f}_v les forces volumiques et ρ la masse volumique. Les écoulements étudiés sont en général stationnaires et à bas nombre de Reynolds, ce qui amène au jeu d'équations de Stokes incompressible :

$$\begin{cases} -\nabla p + \mu \nabla^2 \underline{v} + \underline{f}_v = \underline{0} & \text{dans } \Omega_f \\ \nabla \cdot \underline{v} = 0 & \text{dans } \Omega_f \end{cases} \quad (2.2.2)$$

La résolution de ce jeu d'équations (avec conditions limites) par une méthode numérique permet le calcul du champ de pression p et du champ de vitesse \underline{v} . Avec le champ de vitesse, les calculs du débit traversant un piège Q_p et du débit injecté en entrée de chambre Q_e sont accessibles par intégration du champ de vitesse sur les frontières d'entrées des pièges. À partir de ces débits, on peut calculer l'efficacité de capture E_i du piège i comme le rapport de débits (aussi appelée " Q_{ratio} " ou "trapping probability") :

$$E_i = \frac{Q_{pi}}{Q_e} \quad (2.2.3)$$

Q_{pi} étant le débit de fluide traversant le piège i . C'est en cherchant à maximiser E_i que sont apparues les premières études d'optimisations de géométries de réseaux de pièges.

De cette manière, Kobel *et al* [39] proposent une étude d'optimisation de la géométrie d'un unique piège placé en parallèle entre deux canaux principaux (piège de type Yamaguchi *et al* [37]). Cette équipe a effectué plusieurs simulations pour différentes longueurs de canaux principaux (Figure 2.8A) et ont identifié la façon dont croît l'efficacité de capture avec ce paramètre sur trois valeurs (Figure 2.8B). Leurs résultats sont en accord avec ceux prédits par Tan *et al* [27].

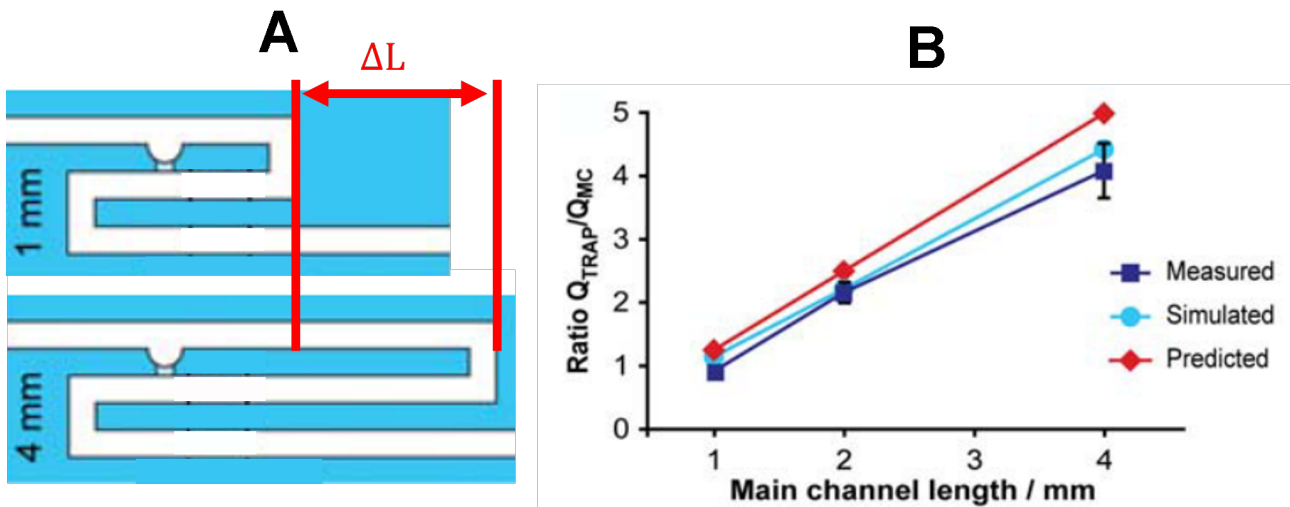


FIGURE 2.8 – Modèle hydrodynamique d'optimisation d'un piège de Kobel *et al* [39]. **A** : géométrie du piège de Deng *et al* [53], l'optimisation est faite sur la longueur du canal principal pouvant varier d'une longueur ΔL . **B** : évolution de l'efficacité de capture dans le piège de Deng *et al* [53] sur trois valeurs de longueur de canal principal. Les résultats des simulations (courbe bleu ciel "Simulated") sont en accord avec les mesures expérimentales (courbe bleu foncé "Measured") et celles de Tan *et al* [27] (courbe rouge "Predicted"). Images adaptées de [39].

Deng *et al* ont étendu l'étude d'optimisation à un réseau de piège $1D$ parallèle entier en 2014 (Figure 2.9A) [53]. L'optimisation est faite sur l'objectif de maximiser l'efficacité de capture du premier piège rencontré par le fluide (E_1). Les différents paramètres testés sont les sens d'écoulements dans les canaux principaux (entrée, sortie ou pas d'écoulement) et les dimensions des ouvertures des pièges. La configuration la plus efficace correspond à une seule entrée et une seule sortie, ce qui force le flux à traverser les pièges et revenir dans le sens contraire (deuxième configuration Figure 2.9A).

Jin *et al* [62] ont ensuite optimisé la géométrie du réseau en serpentin en s'intéressant à l'efficacité de tous les pièges : l'histogramme des E_i a augmenté pour tout piège i du réseau [62]. L'optimisation de réseaux de pièges sur l'objectif du ratio de débits n'a cependant pas été utilisée sur les réseaux de pièges $2D$, on expliquera plus tard en premiers résultats en quoi cela est particulièrement complexe.

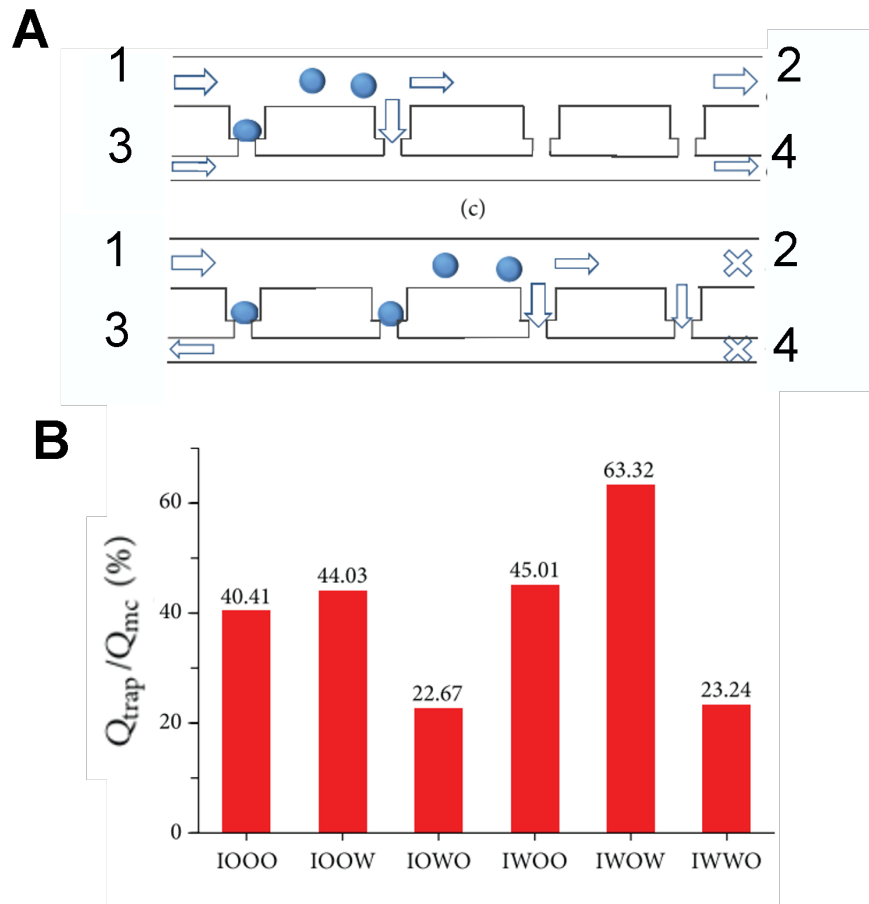


FIGURE 2.9 – Modèle hydrodynamique de Deng *et al* [53]. **A** : géométrie du modèle. À chaque extrémité des canaux principaux (1,2,3 et 4) les conditions limites sont modifiées sur trois possibilités : entrée (inlet "I"), sortie (outlet "O") ou écoulement interrompu (wall "W"). Première configuration : IOIO, deuxième : IWOW. **B** : efficacité de capture du premier piège (le plus proche de l'extrémité 1) en fonction de six configurations possibles pour les extrémités dans l'ordre : 1,2,3,4. La configuration optimale est la deuxième de la figure A : IWOW. Images adaptées de [53].

2.2.2 Modèles particuliers

Les modèles particuliers considèrent la présence de masses ponctuelles dans l'écoulement que l'on appelle "particules". Ces particules peuvent être utilisées comme traceurs pour mieux comprendre l'écoulement du fluide ou pour modéliser les objets à capturer. En général, le mouvement des particules est simulé par l'équilibre dynamique de chaque particule :

$$\frac{d(m_p \underline{v}_p)}{dt} = \underline{F}_e \quad \text{pour toute particule} \quad (2.2.4)$$

où m_p est la masse de la particule, \underline{v}_p la vitesse de la particule (définie du point de vue lagrangien) et \underline{F}_e la résultante des forces extérieures sur la particule. Il existe d'autres méthodes, par exemple énergétiques basées sur les équations de Lagrange ou de Hamilton mais ne semblent pas avoir été appliquées à la capture dans les réseaux pièges. Le couplage de l'écoulement fluide sur le mouvement

des particules est obtenu en considérant une force de frottement fluide sur la particule proportionnelle à la vitesse relative de la particule par rapport au fluide porteur :

$$\underline{F_e} = \lambda_p (\underline{v} - \underline{v}_p) \quad \text{pour toute particule} \quad (2.2.5)$$

où λ_p est une constante caractéristique dépendante de la nature de l'objet dans l'écoulement. Dans le cas de sphères solides rigide, on retrouve la formule bien connue de Stokes avec $\lambda_p = 6 \pi R_p \mu$ où R_p est le rayon de la sphère. Par ailleurs, il est possible de considérer d'autres forces via ce terme : forces de pression, gravité, collisions entre particules... Ce jeu d'équations, avec celui de Stokes incompressible est suffisant (après ajout de conditions limites et initiales) pour poser le problème de couplage unidirectionnel du fluide sur les particules : en première étape, l'écoulement stationnaire sans particule est calculé par les équations de Stokes incompressible, ce qui donne \underline{v} . Ensuite, il est possible de calculer la force de frottement sur les particules et résoudre l'équilibre dynamique des particules à chaque instant. Le problème de couplage bidirectionnel prend en compte la modification de l'écoulement à chaque pas de temps. Ainsi, une force volumique supplémentaire peut être ajoutée dans l'équation de Stokes, dépendante de la position de la particule à chaque instant. Cette force volumique peut par exemple être définie comme l'opposée de la force de frottement divisée par le volume de l'élément discrétisant l'espace qui contient la particule à l'instant t , ce qui respecte le principe des actions réciproques. Le couplage bidirectionnel des modèles particulaires demande cependant de recalculer l'équation de Stokes incompressible à chaque pas de temps, ce qui peut grandement augmenter le temps de calcul.

En suivant la méthode expliquée ci-dessus, un premier modèle particulaire en couplage unidirectionnel est proposé par Kim *et al* en 2008 [28]. Ceux-ci s'intéressent à la distribution de cellules capturées dans un réseau 2D de neuf pièges dans une chambre circulaire (Figure 2.10). Différentes géométries de pièges sont testées (en "U", en ligne, avec une ou deux ouvertures, en modifiant légèrement les positions des pièges...) Le nombre de particules capturées est très variable en fonction des géométries testées autant en simulations qu'en expériences. La forte ressemblance entre les résultats numériques et expérimentaux semblent confirmer une certaine efficacité des modèles particulaires pour comprendre la capture en réseaux de pièges 2D avec un grand nombre d'objets modélisés (une centaine ici). Un résultat intéressant est l'effet de briser la symétrie dans la position d'un piège : sur la configuration représentée Figure 2.10A, le réseau de pièges est symétrique tandis que sur la Figure 2.10B le piège proche de la sortie est légèrement décalé vers la droite. Ceci a un effet notable sur la vitesse de l'écoulement et est drastiquement efficace pour la capture des particules dans le piège inférieur. En 2019, Sohrabi Kashani *et al* [81] utilisent les particules pour calculer l'efficacité de capture de leur réseau 2D de 14 pièges. Ces auteurs rappellent qu'à bas nombre de Reynolds et en régime stationnaire, les trajectoires des particules sont confondues avec les lignes de courants si les collisions entre particules et sur les parois sont négligeables. Quantifier l'efficacité de capture en suivant le critère de débit est par conséquent équivalent à effectuer le rapport entre le nombre de particules qui traversent un piège N_{pi} et le nombre total de particules simulées N_{tot} :

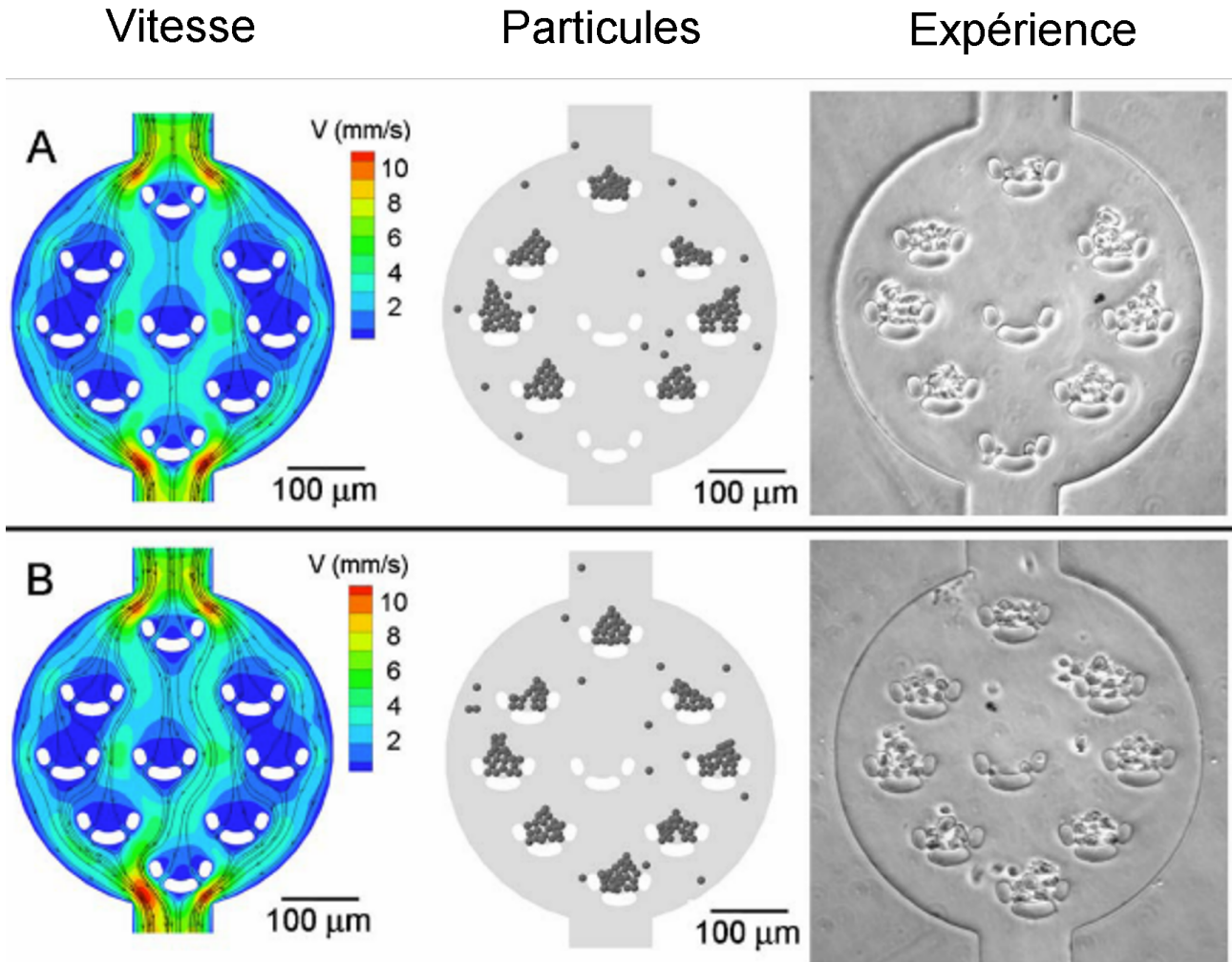


FIGURE 2.10 – Modèle particulaire de Kim *et al* en couplage unidirectionnel sur deux géométries différentes. La géométrie **A** est symétrique et un décalage horizontal de la position du piège inférieur est introduit sur la géométrie **B**. Le champ de vitesse fluide est représenté première colonne "Vitesse", les positions des particules en deuxième colonne "Particules" et les cellules vues en microscopie sont affichées en dernière colonne "expérience". Images adaptées de [28].

$$E_{pi} = \frac{N_{pi}}{N_{ptot}} \quad (2.2.6)$$

où E_{pi} est l'efficacité de capture du piège i . Pour avoir une valeur relativement précise de l'efficacité de capture il faut par conséquent étudier un grand nombre de particules. Comme pour le rapport de débits, on peut construire l'histogramme des efficacités de capture des pièges avec cette définition ce qui a permis d'optimiser la géométrie du réseau de pièges sur trois configurations différentes [81].

2.2.3 Modèles d'interaction fluide-structure

Les modèles d'interaction fluide-structure (IFS) sont les plus précis dans la description des objets car ils prennent en compte le domaine qu'occupent les objets dans l'espace en plus de permettre

le calcul du champ de contrainte et de déformation des solides au cours du temps. Les modèles IFS se basent sur deux domaines distincts : un domaine fluide Ω_f et un domaine solide Ω_s avec une interface Γ_{fs} entre les deux. L'écoulement est modélisé par le jeu d'équations de Navier-Stokes incompressible et celui du solide par son équilibre dynamique :

$$\nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}}_s + \underline{\underline{f}}_{vs} = \rho \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2} \quad \text{dans } \Omega_s \quad (2.2.7)$$

Où $\underline{\underline{\sigma}}_s$ est le tenseur des contraintes du solide, $\underline{\underline{f}}_{vs}$ les forces volumiques du solide, ρ la masse volumique du solide et \underline{u} le champ de déplacement du solide. L'action du fluide sur le solide se détermine par la continuité de la contrainte à la traversée de Γ_{fs} , en cohérence avec le principe des actions réciproques :

$$\underline{\underline{\sigma}}_s \underline{n}_s + \underline{\underline{\sigma}}_f \underline{n}_f = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_{fs} \quad (2.2.8)$$

où \underline{n}_s est la normale sortante à Ω_s , $\underline{\underline{\sigma}}_f$ le tenseur des contraintes du fluide et \underline{n}_f la normale sortante à Ω_f . L'action du solide sur l'écoulement peut se modéliser par la condition limite usuelle de continuité de la vitesse entre fluide visqueux et solide :

$$\underline{v} = \frac{\partial \underline{u}}{\partial t} \quad \text{sur } \Gamma_{fs} \quad (2.2.9)$$

Bien qu'il existe une façon de définir un couplage unidirectionnel en ignorant la modification de l'écoulement via une force volumique dans l'équilibre du solide [71], on parle de modèle IFS quand le couplage est bidirectionnel. Il existe plusieurs façons de réaliser le couplage bidirectionnel : en résolvant séparément le problème fluide du problème solide (couplage faible ou "ségrégré") à chaque instant, ou en considérant un unique système d'équations comprenant celles du problème fluide et solide (couplage "fort") qu'il faut résoudre en une seule étape.

Ainsi, Xu *et al* [49] proposent en 2013 un premier modèle IFS en couplage faible de capture de billes dans un réseau 2D de 18 pièges. Une première bille est placée en amont du réseau de pièges dans la chambre. Elle est emportée dans l'écoulement et entre dans un premier piège ce qui empêche totalement la circulation du fluide à travers le piège (car le modèle est 2D, Figure 2.11). Ainsi quand une deuxième bille est injectée à la même position initiale que la première, sa trajectoire est déviée quand elle s'approche du piège rempli (Figure 2.11C). C'est un couplage bidirectionnel. On note par ailleurs que le champ de vitesse est modifié dans le piège mais très peu autour du piège. De plus, on peut deviner que les trajectoires des centres de masses des billes restent parallèles aux lignes de courants sans que les billes n'entrent en contact. Ceci est une conséquence de la faiblesse des effets d'inertie devant ceux de viscosité (*ie* bas nombre de Reynolds). Cette simulation est en revanche très coûteuse en temps de calculs du fait de la fine discrétisation en espace qu'elle demande par sa géométrie multi-échelle. Par conséquent, elle est limitée à un nombre assez faible de pièges et d'objets.

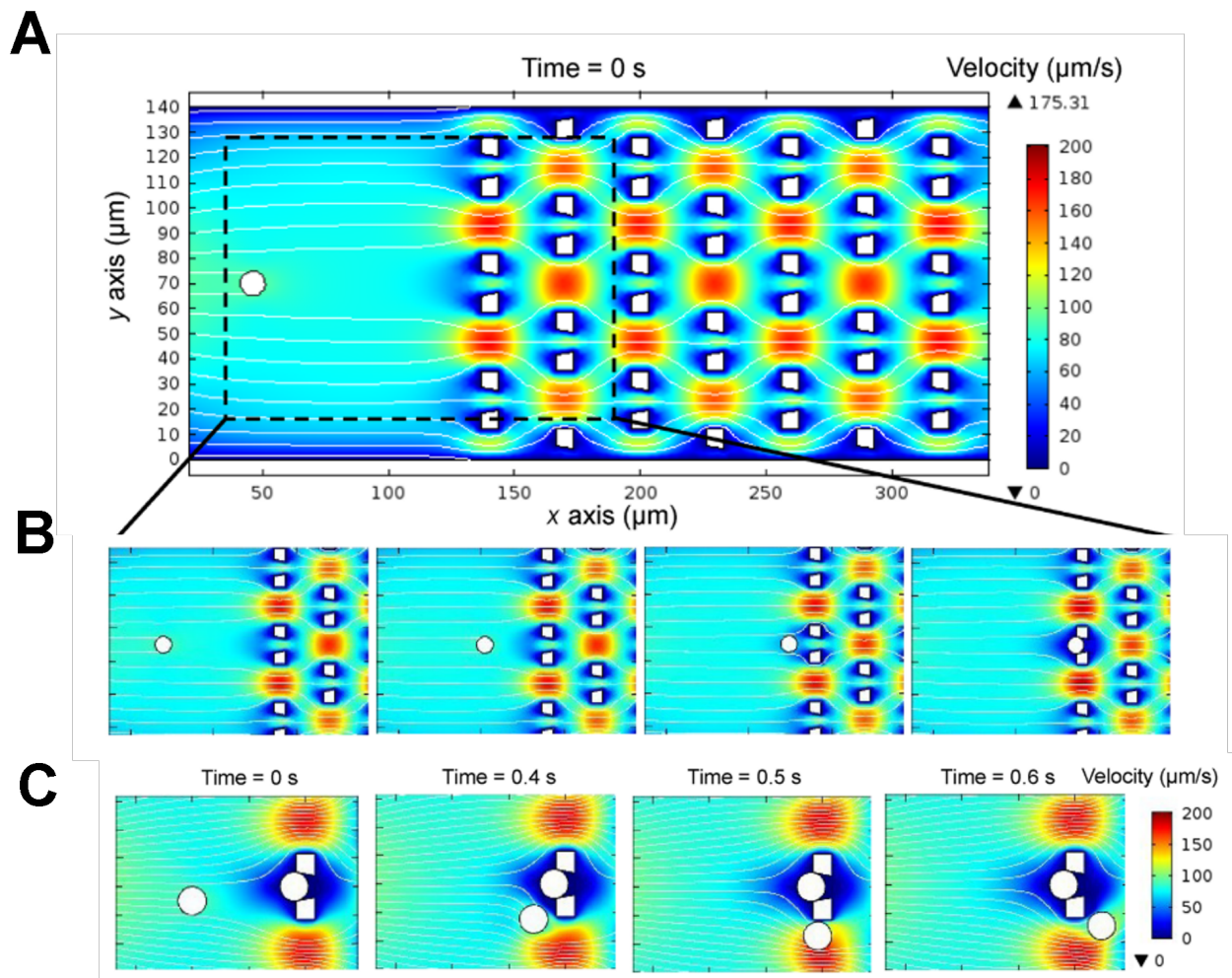


FIGURE 2.11 – Modèle IFS 2D à couplage faible de Xu *et al.* L'échelle des couleurs représente la norme du champ de vitesse. **A** : champ de vitesse en configuration initiale, la bille est initialement à l'arrêt. **B** : positions successives de la première bille qui entre dans un piège à $t = 0,6$ s. **C** : une deuxième bille à la même position initiale est injectée. Elle s'approche du piège puis est déviée sur le côté du piège rempli.

Le même type de modèle IFS est ensuite utilisé en 2016 par Yesilkoy *et al* [70] pour leur réseau de pièges 1D série à chevrons présenté précédemment. Tout comme Xue *et al*, Yesilkoy *et al* étudient la déviation d'une bille à l'approche d'un premier piège déjà rempli. Cette simulation a permis de montrer que le deuxième objet entre bien dans le deuxième piège positionné en série du premier. En 2015, Khalili *et al* [63] s'intéressent à la façon dont évolue la résistance hydraulique d'un piège de type serpentin de Tan *et al* en fonction de son remplissage[63]. Avec un modèle IFS, Khalili *et al* re-démontrent que la longueur du canal principal entre les coudes est un paramètre déterminant pour la capture. En 2017, Rousset *et al* [75] étudient les pièges de type "puits", c'est-à-dire dont le principe de capture repose sur la gravité. Leur modèle IFS a permis de dimensionner la profondeur des puits sur deux critères : empêcher la remontée des objets par les tourbillons générés à l'entrée des pièges et limiter la contrainte de cisaillement s'exerçant sur les objets. En effet, les cellules étant

sensibles au cisaillement, les modèles IFS fournissent un outil très utile pour quantifier la contrainte de cisaillement des cellules. Dans ce même but, Sohrabi-Kashani *et al* [81] utilisent en 2019 un modèle IFS. Bien que plus rares dans le domaine de la capture d'objets, il existe d'autres façons de construire des modèles IFS. On cite par exemple les modèles Lattice-Boltzmann couplés avec la méthode des frontières immergées qui ont démontré permis d'étudier la circulation des globules rouges et blancs dans des canaux très fins [44] [51]. Cette méthode représente la même physique énoncée plus haut mais en utilisant des équations à une échelle plus faible à partir de particules. Enfin, quand l'objet étudié est un fluide (goutte, bulle...), on peut voir le problème comme l'étude d'un seul fluide à plusieurs phases. On cite par exemple les méthodes level-set et phase field qui se basent sur ce principe [30] [20].

2.2.4 Bilan et choix de modélisation

On retient les informations suivantes :

- les modèles hydrodynamiques offrent un calcul rapide de l'efficacité de capture des pièges d'un réseau en se basant sur le rapport de débit ;
- les modèles particulaires en couplage unidirectionnel permettent d'étudier un grand nombre d'objets et calculent l'efficacité de capture des pièges en comptant les particules qui traversent les pièges ;
- les modèles IFS bien que précis sont très difficiles à mettre en oeuvre dans une géométrie multi-échelle avec un grand nombre d'objets à simuler, nous n'avons pas trouvé de calculs d'efficacité de capture avec ces modèles.

Le réseau que l'on étudie est constitué d'une centaine de pièges avec un rapport de 1000 entre la plus petite et la plus grande dimension : c'est une géométrie multi-échelle. De plus, nous avons besoin d'étudier un très grand nombre d'objets (quelques centaines). Ceci exclue d'entrée un modèle IFS. La forte densité de pièges de notre réseau nous amène à penser que les débits traversant les pièges peuvent en traverser d'autres en aval. Ce phénomène de "partage des flux" entre pièges laisse penser que le rapport de débit n'est pas une grandeur fiable pour évaluer l'efficacité de notre réseau 2D. Cette hypothèse reste cependant à vérifier. On s'est donc dirigé vers un modèle hydrodynamique particulaire qui nous permet à la fois de tester cette hypothèse et d'étudier le phénomène voulu.

2.3 Modèle hydrodynamique à particules

On présente ici les différentes caractéristiques du modèle hydrodynamique à particules : sa géométrie, les équations physiques du phénomène considéré avec ses hypothèses et ses conditions limites. Enfin, on explicite la stratégie de résolution employée avec les méthodes numériques choisies.

2.3.1 Géométrie paramétrée

La Figure 2.12A présente la géométrie paramétrée du modèle d'hydrodynamique. La chambre n'a qu'un seul étage (une seule couche de PDMS), sa géométrie nominale est donc symétrique dans la direction de sa profondeur (O, e_z), on décide donc d'utiliser une géométrie 2D. On génère d'abord un rectangle représentant la chambre microfluidique sans ses pièges, puis la géométrie d'un piège par union de plusieurs rectangles et opération de symétrie. Le réseau de piège Ω_r est ensuite obtenu par répétitions de la géométrie du piège. On définit le domaine fluide Ω_f comme étant la différence entre le rectangle de la chambre et Ω_r . La position et la forme de chaque rectangle constituant la géométrie sont paramétrées par les coordonnées d'un point (coin inférieur gauche) et ses dimensions (longueur et largeur). Les canaux d'entrée et de sortie sont représentés par les segments Γ_e et Γ_s respectivement. Les parois de la chambre sont représentées par la frontière Γ_p définie telle que :

$$\partial\Omega_f = \Gamma_e \cup \Gamma_s \cup \Gamma_p \quad (2.3.1)$$

où $\partial\Omega_f$ représente la frontière de Ω_f . On ajoute à cela des frontières fictives Γ_a et Γ_c sur chaque piège dont les rôles sont d'arrêter les particules entrantes dans les pièges et de compter le nombre de particules piégées respectivement. Il est alors très simple d'estimer le volume minimal V_f occupé par le fluide et les particules non-capturées dans Ω_f en supposant tous les pièges parfaitement remplis en volume :

$$V_f = (L_c l_c - N_p L_p l_p) h = 7,3 \cdot 10^6 \mu m^3 \quad (2.3.2)$$

où L_c et l_c sont la longueur et la largeur de la chambre, N_p le nombre de pièges, L_p et l_p la longueur et la largeur des pièges et h la hauteur de la chambre.

2.3.2 Physique du modèle

Le système étudié est une solution avec de l'eau comme solvant et une faible concentration de billes $C_{billes} = 10^6 mL^{-1}$. Dans ces conditions, les billes ont très peu d'influence sur le comportement mécanique de la solution qui reste newtonienne, de viscosité dynamique μ et masse volumique ρ proches de celle de l'eau liquide à température ambiante. Si on suppose une densité uniforme de billes dans la chambre, le nombre de billes non-capturées présentes dans la chambre peut-être estimé par :

$$N_{billes} = C_{billes} V_f \approx 8 \quad (2.3.3)$$

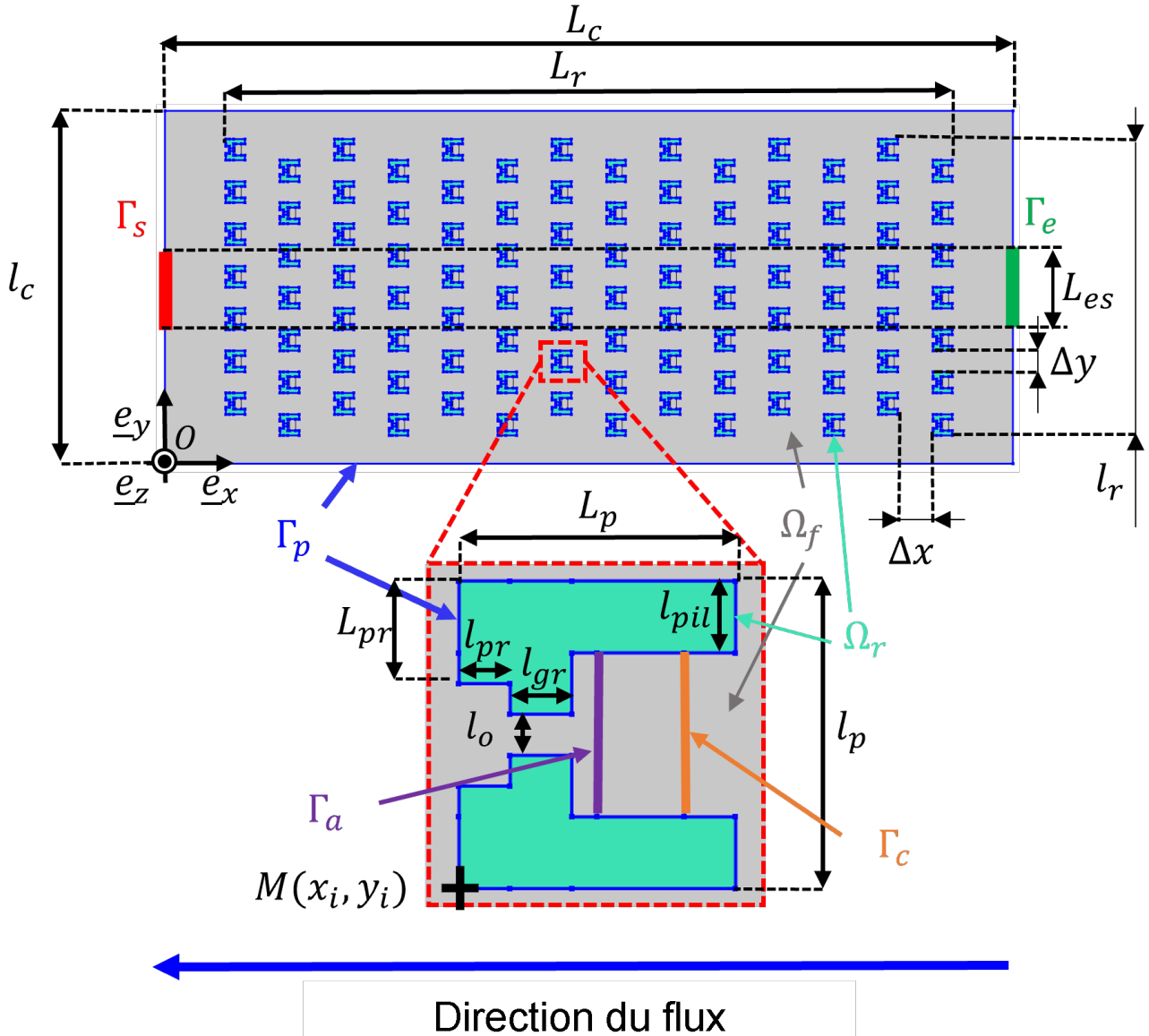


FIGURE 2.12 – géométrie 2D paramétrée du modèle d'hydrodynamique à particules

Les billes ayant un rayon $R_b = 2,5 \mu m$, la probabilité que deux billes entrent en collision semble déjà très faible. Pour s'en convaincre, on peut estimer la distance moyenne d_{billes} entre les centres de deux billes en considérant un volume sphérique de solution centré sur une bille :

$$\frac{1}{C_{billes}} = \frac{4}{3} \pi d_{billes}^3 \quad (2.3.4)$$

d'où :

$$d_{billes} = \left(\frac{3}{4\pi C_{billes}} \right)^{\frac{1}{3}} = 62 \mu m \quad (2.3.5)$$

Ce qui représente plus de 12 fois le diamètre des billes. On décide donc de négliger les interactions entre billes. Le nombre de Reynolds de l'écoulement R_e est défini par :

$$Re = \frac{\rho L V}{\mu} \quad (2.3.6)$$

où L est une dimension caractéristique de l'écoulement et V la vitesse du fluide moyennée sur une section droite de l'écoulement (ie vitesse débitante). Les observations expérimentales offrent un ordre de grandeur de la vitesse maximale des billes lorsqu'elles circulent entre les pièges : $V_{billes} \approx 1 \text{ mm s}^{-1}$, ce qui peut être associé à la vitesse maximale du fluide entre deux pièges. Enfin, la plus grande dimension caractéristique transverse à l'écoulement entre deux pièges étant $\Delta y = 30 \text{ }\mu\text{m}$, on obtient un nombre de Reynolds maximal :

$$(Re)_{max} \approx \frac{\rho \Delta y V_{billes}}{\mu} = 0,03 \ll 1 \quad (2.3.7)$$

Les forces d'inerties sont donc faibles devant celles de viscosité et l'écoulement est laminaire. La condition d'incompressibilité de l'écoulement est :

$$\frac{d\rho}{dt} = 0 \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.3.8)$$

Le domaine fluide Ω_f ne comportant ni source ni puits, l'écoulement dans Ω_f obéit à l'équation de conservation de la masse (ou de continuité), qui, avec la condition d'incompressibilité de l'écoulement se simplifie en :

$$\nabla \cdot \underline{v} = 0 \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.3.9)$$

où \underline{v} est le champ de vitesse du fluide défini dans la description eulérienne du mouvement. On s'intéresse au comportement du fluide en régime stationnaire :

$$\frac{\partial \underline{v}}{\partial t} = \underline{0} \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.3.10)$$

Dans le cadre des hypothèses énoncées sur l'écoulement, l'équilibre local des forces s'appliquant au fluide se traduit par l'équation de Stokes :

$$-\underline{\nabla} p + \mu \nabla^2 \underline{v} + \underline{f}_v = \underline{0} \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.3.11)$$

La chambre étant placée à l'horizontale, la gravité ne perturbe pas l'écoulement dans le plan : elle induit seulement un gradient de pression dans la direction (O, \underline{e}_z) qu'on décide de négliger. Le cisaillement provoqué par l'adhérence du fluide sur les parois hors plan n'étant pas pris en compte dans une géométrie 2D, on utilise une force de friction le représentant [65] ("approximation du canal peu profond" ou "shallow channel approximation" en anglais) :

$$\underline{f}_v = -\frac{12 \mu}{h^2} \underline{v} \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.3.12)$$

Le champ de vitesse \underline{v} en 2D correspond alors au champ de vitesse que l'on aurait obtenu en 3D moyenné dans la direction hors plan (O, \underline{e}_z) . Cette méthode n'étant pas très répandue, on en propose une démonstration sur un exemple simple en informations supplémentaires. Le nombre de Reynolds étant très faible et les particules ayant une masse volumique très voisine de celle du fluide, les chocs des particules contre les parois sont assez rares à part lorsqu'elles entrent dans les pièges. Dans ce cas, les trajectoires des centres de masse de particules sont confondues avec les lignes de courant du fluide porteur en régime stationnaire. Dans ce cadre, on décide de modéliser les billes par des particules de masse nulle dont les trajectoires sont confondues aux lignes de courant. Une description plus réaliste des particules à piéger nécessiterait un modèle de type IFS. L'équation différentielle du mouvement des particules s'écrit donc :

$$\frac{d\underline{q}}{dt} = \underline{v}_p = \underline{v} \quad \text{dans } \Omega_f \setminus \Gamma_a \quad (2.3.13)$$

où \underline{q} est le vecteur position des particules et \underline{v}_p est le vecteur vitesse de la particule fictive défini dans la description lagrangienne du mouvement. Autrement dit, chaque particule est considérée comme instantanément animée par la vitesse du fluide au point où elle se situe, leur comportement est semblable à celui des particules de fluides dans $\Omega_f \setminus \Gamma_a$. Le mouvement des particules est régi par l'écoulement stationnaire, mais le mouvement des particules est supposé ne pas avoir d'influence sur l'écoulement fluide (couplage "unidirectionnel").

2.3.3 Conditions aux limites et initiales

Pour que le problème fluide soit bien posé, il faut qu'une condition soit imposée sur chaque portion de $\partial\Omega_f$. Le système étant expérimentalement contrôlé en pression, on impose la pression sur l'entrée et la sortie de la chambre, de sorte à reproduire la même différence de pression Δp :

$$\begin{cases} p = \Delta p & \text{sur } \Gamma_e \\ p = 0 & \text{sur } \Gamma_s \end{cases} \quad (2.3.14)$$

La condition de continuité de la vitesse à l'interface entre parois solides et fluide visqueux s'écrit :

$$\underline{v} = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_p \quad (2.3.15)$$

Ces conditions aux limites sont suffisantes pour que le problème fluide soit bien posé.

On impose l'arrêt des particules sur Γ_a :

$$\underline{v}_p = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_a \quad (2.3.16)$$

Toute particule de fluide rencontrant une parois s'arrête instantanément, on considère la même condition pour les particules :

$$\underline{v}_p = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_p \quad (2.3.17)$$

La condition d'égalité entre vitesse des particules et du fluide est étendue aux frontières où la pression est imposée :

$$\underline{v}_p = \underline{v} \text{ sur } \Gamma_e \cup \Gamma_s \quad (2.3.18)$$

Enfin, pour balayer le plus possible l'espace occupé par les lignes de courant, on impose comme condition initiale une distribution uniforme de particules sur Γ_e :

$$\underline{q} = \underline{unif}(\Gamma_e, N_{ldc}) \text{ à } t = 0 \text{ s} \quad (2.3.19)$$

où $\underline{unif}(\Gamma_e, N_{ldc})$ représente les vecteurs positions de N_{ldc} particules réparties uniformément sur la frontière Γ_e . La frontière Γ_c n'a pas de rôle physique et permet uniquement l'incrémentement d'une variable N_{capt} à chaque fois qu'une particule traverse Γ_c . Cette variable représente le nombre total de particules capturées. Le problème des particules est donc posé de sorte à ce que : (i) si une particule ne rencontre pas Γ_a , sa trajectoire est semblable à la ligne de courant passant par sa position initiale, (ii) sinon, sa trajectoire est toujours superposée à la ligne de courant passant par sa position initiale mais s'arrête sur Γ_a . Grâce à ce jeu d'équations supplémentaires, on peut facilement effectuer le lien entre position initiale et le piège occupé correspondant et accessoirement estimer les temps de parcours des billes.

2.3.4 Stratégie de résolution

La première étape consiste à résoudre le problème fluide dans le cadre des hypothèses énoncées précédemment. La formulation forte du problème est la suivante :

trouver \underline{v} et p tels que :

$$\left\{ \begin{array}{ll} -\nabla p + \mu \nabla^2 \underline{v} + \underline{f}_v = \underline{0} & \text{dans } \Omega_f \\ \underline{f}_v = -\frac{12 \mu}{h^2} \underline{v} & \text{dans } \Omega_f \\ \nabla \cdot \underline{v} = 0 & \text{dans } \Omega_f \\ p = \Delta p & \text{sur } \Gamma_e \\ \underline{v} = \underline{0} & \text{sur } \Gamma_p \end{array} \right. \quad (2.3.20)$$

On réécrit le problème sous sa formulation faible mixte par produit scalaire avec des fonctions tests \underline{v}^* pour le champ de vitesse et p^* pour le champ de pression puis intégration sur Ω_f :

trouver \underline{v} et p tels que pour tout \underline{v}^* et p^* :

$$\left\{ \begin{array}{l} -\int_{\Omega_f} \underline{\nabla p} \cdot \underline{v}^* d\Omega_f + \int_{\Omega_f} \mu \nabla^2 \underline{v} \cdot \underline{v}^* d\Omega_f + \int_{\Omega_f} \underline{f}_v \cdot \underline{v}^* d\Omega_f = 0 \\ \int_{\Omega_f} p^* \nabla \cdot \underline{v} d\Omega_f = 0 \\ \underline{f}_v = -\frac{12\mu}{h^2} \underline{v} \\ p = \Delta p \\ p = 0 \\ \underline{v} = \underline{0} \end{array} \right. \quad \begin{array}{l} \text{dans } \Omega_f \\ \text{sur } \Gamma_e \\ \text{sur } \Gamma_s \\ \text{sur } \Gamma_p \end{array} \quad (2.3.21)$$

Par intégration par parties, on peut ré-exprimer le terme avec laplacien :

$$\int_{\Omega_f} \nabla^2 \underline{v} \cdot \underline{v}^* d\Omega_f = \int_{\Omega_f} \nabla \cdot (\underline{\nabla v} \underline{v}^*) d\Omega_f - \int_{\Omega_f} \underline{\nabla v} : \underline{\nabla v}^* d\Omega_f \quad (2.3.22)$$

que l'on peut simplifier avec le théorème de Green-Ostrogradski :

$$\int_{\Omega_f} \nabla \cdot (\underline{\nabla v} \underline{v}^*) d\Omega_f = \int_{\partial\Omega_f} \frac{\partial \underline{v}}{\partial n} \cdot \underline{v}^* d\Gamma_f \quad (2.3.23)$$

La fonction test en vitesse \underline{v}^* vérifie les conditions limites de \underline{v} auquel on ajoute une condition de Neumann nulle ("condition naturelle" [88]) sur les bords contrôlés en pression Γ_e et Γ_s :

$$\frac{\partial \underline{v}^*}{\partial n} = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_e \cup \Gamma_s \quad (2.3.24)$$

ce qui annule le terme en dérivée normale sur tout le contour $\partial\Omega_f$. De la même manière, le terme avec gradient de pression peut se décomposer en intégrale sur domaine et sur frontière par intégration par parties et application du théorème de Green-Ostrogradski :

$$\int_{\Omega_f} \underline{\nabla p} \cdot \underline{v}^* d\Omega_f = \int_{\partial\Omega_f} p \underline{v}^* \cdot \underline{n} d\Gamma_f - \int_{\Omega_f} p \nabla \cdot \underline{v} d\Omega_f \quad (2.3.25)$$

Après simplifications, on obtient la formulation faible mixte suivante que l'on implémente dans le logiciel Comsol Multiphysics :

trouver \underline{v} et p tels que pour tout \underline{v}^* et p^* :

$$\left\{ \begin{array}{l} \int_{\Omega_f} \mu (\underline{\nabla v} : \underline{\nabla v}^* + \frac{12}{h^2} \underline{v} \cdot \underline{v}^*) d\Omega_f - \int_{\Omega_f} p \nabla \cdot \underline{v}^* d\Omega_f + \int_{\partial\Omega_f} p \underline{v}^* \cdot \underline{n} d\Gamma_f = 0 \\ \int_{\Omega_f} p^* \nabla \cdot \underline{v} d\Omega_f = 0 \end{array} \right. \quad (2.3.26)$$

avec le détail des conditions limites pour le terme de pression sur la frontière $\partial\Omega_f$:

$$\left\{ \begin{array}{l} p = \Delta p \quad \text{sur } \Gamma_e \\ p = 0 \quad \text{sur } \Gamma_s \\ \underline{v} = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_p \end{array} \right. \quad (2.3.27)$$

Ce jeu d'équations est ensuite discrétisé en espace en utilisant la méthode des éléments finis. Pour éviter des instabilités dans le calcul de la solution, on peut : (i) ajouter un terme de stabilisation dit "le long des lignes de courants" plus connu sous le nom de stabilisation "SUPG" pour "Streamline Upwind Petrov Galerkin" (de Hughes *et al* [6]) ou (ii) travailler avec des éléments stabilisant le calcul comme les éléments de Taylor-Hood, c'est-à-dire des polynômes de Lagrange quadratiques pour le champ de vitesse et linéaires pour le champ de pression ("éléments $P2/P1$ "). Pour une implémentation plus simple du problème et une description plus précise du champ de vitesse on décide d'utiliser les éléments de Taylor-Hood. Sans rentrer dans les détails, il est possible d'identifier des applications linéaires à partir des deux premières équations précédentes vérifiant certaines propriétés [88](bilinéarité, continuité, coercitivité et condition "inf-sup" de Babushka-Brezzi) qui garantissent l'existence, l'unicité et la continuité de la solution du problème. L'application de la méthode des éléments finis à la formulation faible consiste en partie à considérer la solution comme combinaison linéaire de fonctions de formes (méthode de Galerkin) puis de vérifier le problème pour chacune de ces fonctions de forme. Par linéarité, ceci amène à un système matriciel qu'il faut inverser (plus d'explications en informations supplémentaires). Par nature, la méthode des éléments finis est conçue pour rendre ce système matriciel creux (*ie* "sparse") du fait des supports très réduits des fonctions de formes. On utilise alors le solveur direct recommandé par Comsol Multiphysics : Parallel Direct Sparse Solver (ParDiSo) et optimisé pour l'inversion de systèmes linéaires à matrice creuse. La dernière étape est de résoudre le problème de mécanique du point :

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{d\underline{q}}{dt} = \underline{v}_p = \underline{v} & \text{dans } \Omega_f \setminus \Gamma_a \cup \Gamma_e \cup \Gamma_s \\ \underline{v}_p = \underline{0} & \text{sur } \Gamma_p \cup \Gamma_a \\ \underline{q} = \underline{unif}(\Gamma_e, N_{ldc}) & \text{à } t = 0 \text{ s} \end{array} \right. \quad (2.3.28)$$

Pour ce faire, le vecteur position des particules est automatiquement discrétisé en temps par méthode alpha-généralisée (schéma "amélioré" des différences finies implicites) avec ordre de la méthode choisi automatiquement par Comsol Multiphysics (entre 2 et 5). Le système discrétisé est ensuite inversé avec un solveur itératif Global Minimization Residual (GMRes).

2.4 Résultats sur chambre droite et décalée

2.4.1 Une limite d'une approche hydrodynamique pure

La Figure 2.13 montre la solution du problème d'hydrodynamique en champ de vitesse. On constate que la vitesse des particules entre les pièges est dans l'ordre de grandeur attendu des 1 mm s^{-1} en expériences par Mesdjian *et al* [83] pour une variation de pression entre l'entrée et la sortie de la chambre $\Delta p = 100 \text{ Pa}$.

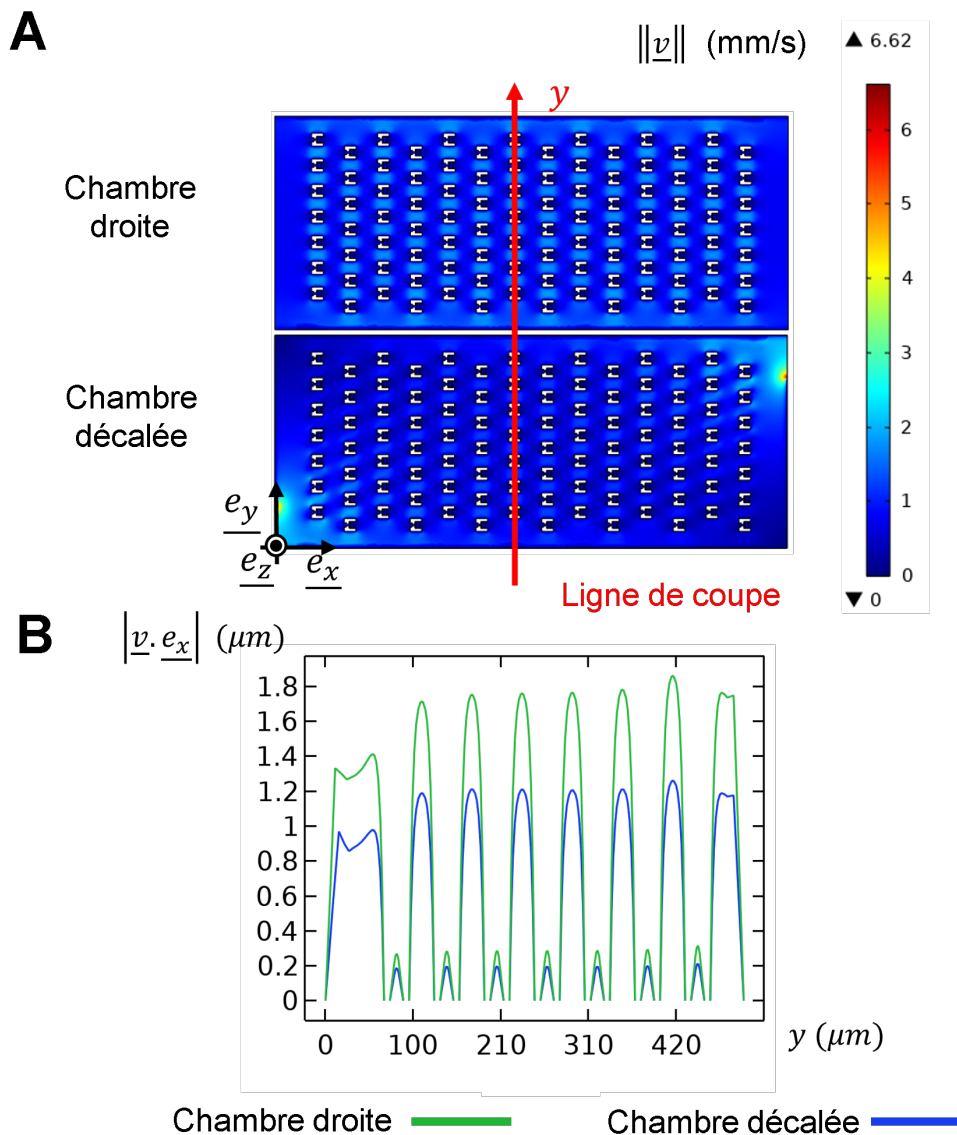


FIGURE 2.13 – Cartographie du champ de vitesse dans les chambres droite et décalée **A** : en norme et **B** : en profils de vitesse dans les pièges sur la ligne de coupe indiquée en **A**.

D'autre part, l'allure des profils de vitesse relativement régulière (Figure 2.13B) nous indique un niveau de discrétisation du champ de vitesse suffisant pour un calcul précis des débits traversant les pièges. Les modèles hydrodynamiques de la littérature utilisent le rapport de débit comme critère

pour optimiser la géométrie des réseaux de pièges. Dans le cas où les pièges sont disposés en parallèle, ce critère semble bien représentatif de l'efficacité de capture. Dans le cas d'un réseau de piège 2D très dense comme celui étudié ici, il y a de fortes chances que les pièges "se partagent" une partie de l'écoulement malgré leur disposition en quinconce. Dans ce contexte, on s'est intéressé à la façon dont varie le rapport de débits dans chaque piège du réseau pour les deux géométries testées expérimentalement sans considérer de particule. Comme le montre l'histogramme du rapport de débit de la Figure 2.14, le rapport de débit est beaucoup plus homogène et globalement plus élevé ou égal (sauf de rares pics) dans la chambre droite que dans la chambre décalée. Donc, selon le critère de rapport de débits, il semblerait que la chambre symétrique soit plus efficace que la chambre décalée. Pourtant, l'expérience montre clairement une grande différence d'efficacité en faveur de la chambre décalée. Ainsi, il semblerait que le rapport de débits ne soit pas une grandeur utilisable pour quantifier l'efficacité de capture d'un réseau de piège 2D dense comme le notre.

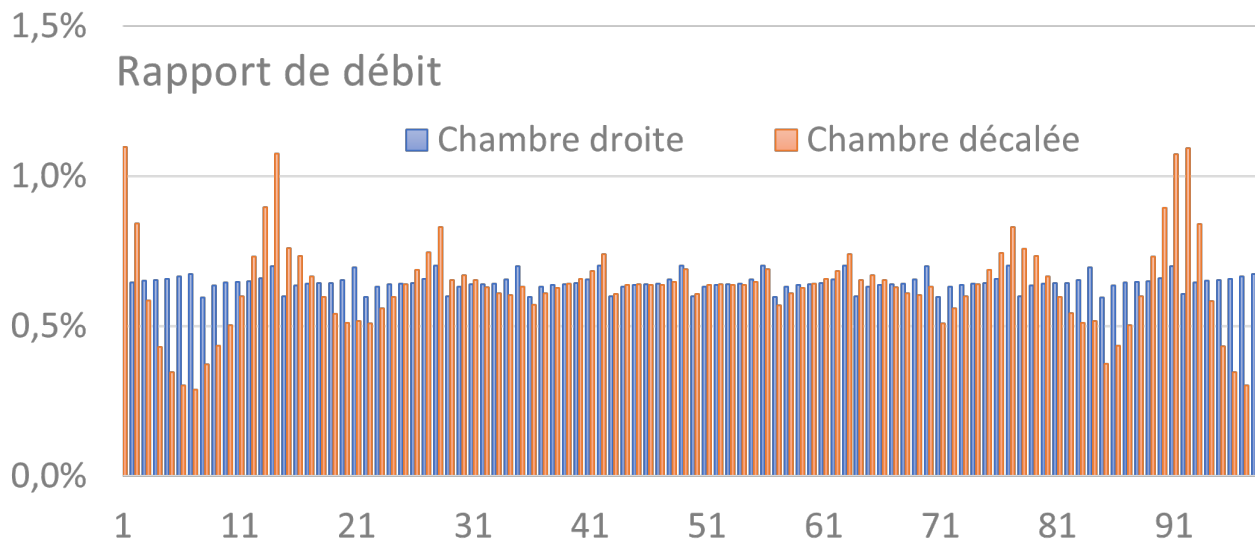


FIGURE 2.14 – Histogramme du rapport $\frac{Q_p}{Q_e}$ entre le débit des pièges Q_p et le débit injecté en entrée de chambre Q_e pour les 98 pièges dans les deux chambres étudiées : droite (bleu) et décalée (orange).

Pour étudier l'hypothèse de départ concernant le partage de flux entre les pièges, on considère les pièges comme libres dans les deux chambres et on isole les lignes de courant (sans particule) passant par les pièges (Figure 2.15). On constate sur la Figure 2.15A que les lignes de courant traversant les premières colonnes de pièges sont approximativement les mêmes qui traversent les colonnes suivantes. Ainsi, si les premières rangées de pièges sont occupées par des particules, l'accès aux pièges en aval est globalement interdit. Inversement, sur la Figure 2.15B, on peut constater que les lignes de courants qui passent par les pièges envahissent la chambre ce qui semble indiquer une meilleure répartition des flux entre les pièges mais qui n'empêche pas un certain partage des flux entre pièges difficile à quantifier à partir du tracé seul des lignes de courants passant par les pièges. L'approche particulière interdisant la traversée des pièges par les particules devrait offrir plus de lisibilité sur le remplissage de cette chambre.

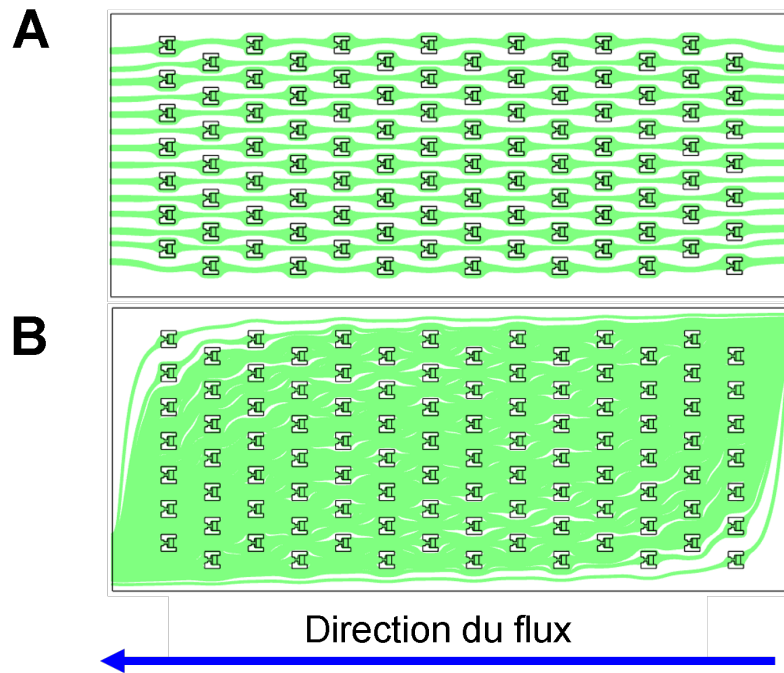


FIGURE 2.15 – Représentation de 5000 lignes de courants passant par les pièges **A** : pour la chambre droite et **B** : pour la chambre décalée.

2.4.2 Étude du remplissage et comparaison avec l'expérience

La Figure 2.16 montre la comparaison entre les remplissages expérimentaux et ceux obtenus numériquement. D'abord, on retrouve un remplissage beaucoup plus efficace pour la chambre oblique : le nombre de pièges remplis par au moins une particule est bien plus élevé pour la chambre décalée que pour la chambre droite (75% contre 32% de pièges traversés pour 200 lignes de courants étudiées). Il n'est cependant pas possible d'effectuer une vraie validation quantitative du modèle sur cette ressemblance car la position initiale des billes dans la chambre n'est pas contrôlable expérimentalement. La distribution du remplissage fait apparaître le phénomène de "boîte vide" au centre de la chambre droite constaté expérimentalement : en aval de la troisième rangée de pièges, les pièges sont globalement vides. On peut voir aussi que l'accumulation des billes dans les deux premières rangées de pièges de la chambre droite se retrouve en simulations. Enfin, les traînées laissées par les billes au cours de l'écoulement sur les images expérimentales sont très similaires aux lignes de courants obtenues par simulation. Ces différents éléments de ressemblance entre les simulations et les expériences semblent confirmer que l'approche numérique par l'étude des particules est suffisamment représentative des trajectoires des billes pour essayer de comprendre quels phénomènes sont favorables ou non à la capture.

2.4.3 La brisure de symétrie comme mécanisme de capture

Les Figures 2.17A et 2.17B montrent un zoom sur un piège dans le cas de la chambre droite et de la chambre décalée. On constate dans les deux cas qu'un faisceau de particules incident est

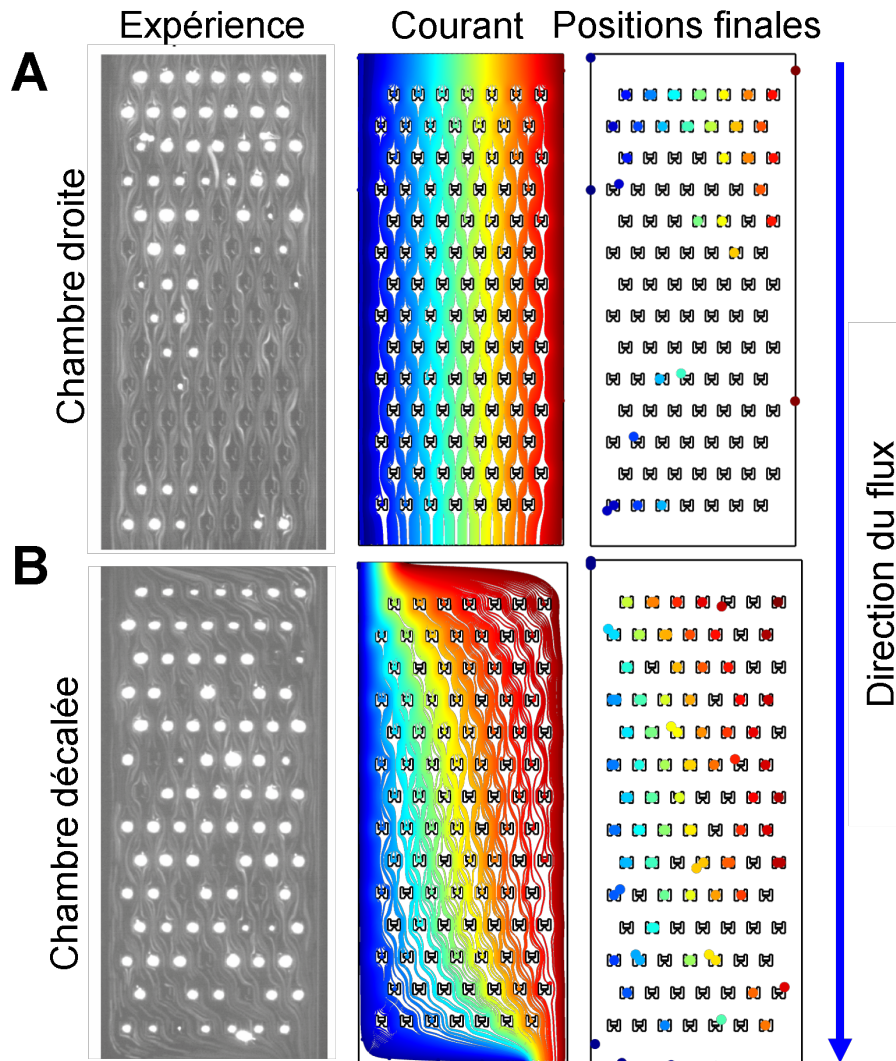


FIGURE 2.16 – Comparaisons entre les résultats expérimentaux et numériques pour la chambre droite **A** et décalée **B**. Les images "Courants" représentent 200 lignes de courants réparties uniformément sur Γ_e (lignes d'émission Γ_e) de. Les images "Positions finales" représentent les positions des particules (à $t = 3 s$). Les diamètres des particules sont augmentés sur les positions finales pour faciliter la visibilité.

divisé en trois parties au niveau des point bleus à droite : une est déviée vers le bas (faisceau vert), une faible partie entre dans le piège (faisceau bleu) et une partie est déviée vers le haut (faisceau rouge). Après le passage du piège, les faisceaux vert et rouge se recombinaient au niveau du deuxième point bleu à gauche. Ces point bleus étant des lieux de séparation (ou recombinaison en fonction du sens du flux) de faisceaux dans la direction transverse au flux, il s'agit de points col (ou points selle). Dans la chambre droite (Figure 2.17A) , on constate que le point col d'entrée est situé sur l'axe de symétrie du piège. Ceci a pour conséquence une séparation symétrique du faisceau incident (faisceaux rouge et vert symétriques). Dans la chambre décalée (Figure 2.17B), on peut voir que les points cols ne sont pas alignés sur l'axe de symétrie du piège. Par conséquent, les faisceaux vert et rouge ne sont pas symétriques. La Figure 2.17C montre l'effet de la symétrie de séparation dans la

chambre droite : on constate que les points cols sont tous alignés sur une même rangée de pièges. Ainsi, la séparation entre les faisceaux se reproduit de manière périodique entre les mêmes couples de particules et les faisceaux semblent enfermés dans un motif en "zig-zag" entre les pièges sans se subdiviser. Par ailleurs, Ces motifs sont visibles sur les images expérimentales (Figure 2.16). Pour la chambre décalée (Figure 2.17D), le motif en "zig-zag" est partiellement brisé du fait de l'asymétrie de la séparation des faisceaux. Ceci permet aux faisceaux de rencontrer d'autres points cols (faisceau vert Figure 2.17D), donc de se diviser plus fréquemment en capturant plus de particules (particules vertes Figure 2.17D). Nous pensons donc que le mécanisme clef expliquant une telle différence de remplissage est la brisure de symétrie de l'écoulement pour défavoriser la séparation périodique de faisceaux de particules.

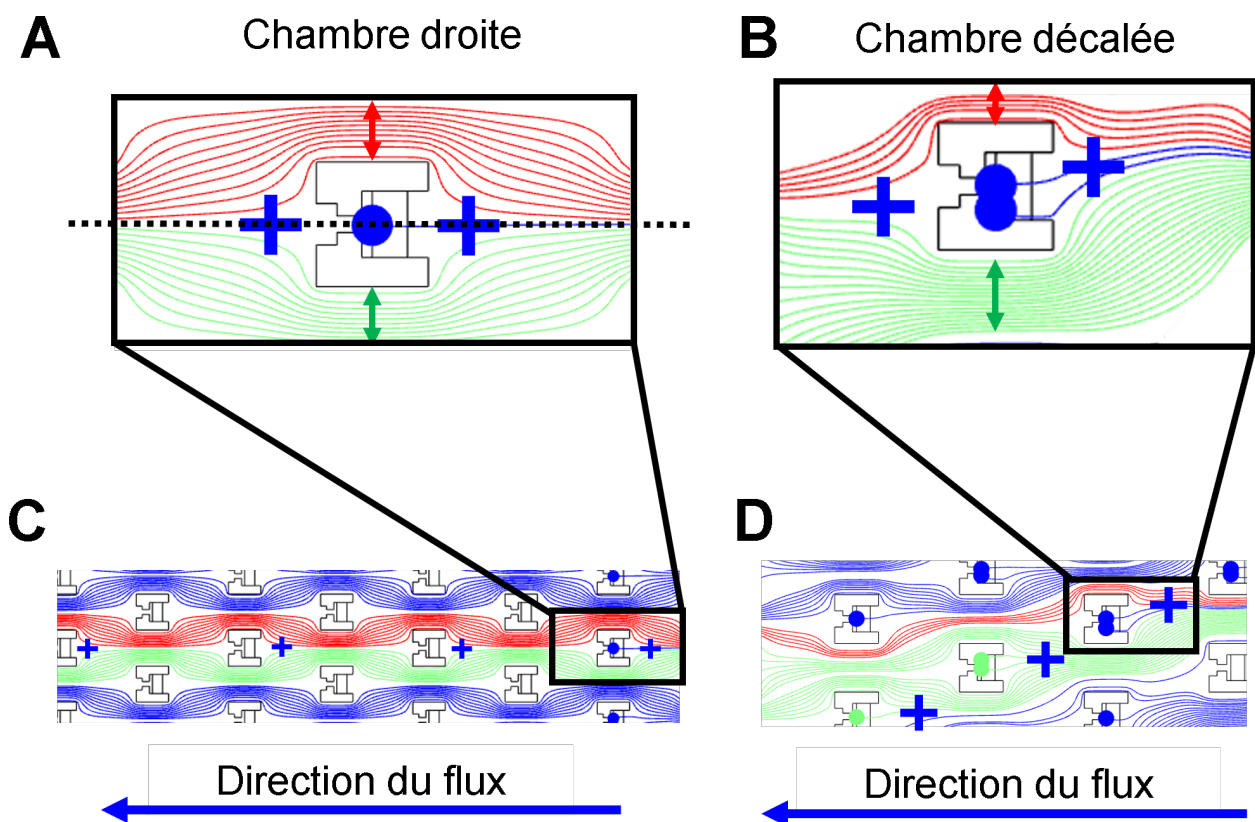


FIGURE 2.17 – Zoom sur l'écoulement autour d'un piège pour la chambre droite **A** et pour la chambre décalée **B**. Dézoom sur les faisceaux incidents des figures **A** et **B** pour la chambre droite **C** et la chambre décalée **D**.

2.5 Conclusion

Dans ce chapitre, on s'intéresse au problème du remplissage de réseau de pièges 2D rectangulaire. Tout d'abord, une analyse de la littérature nous a permis d'identifier différents types de réseaux de pièges et la capacité des réseaux 2D à capturer des objets par paires. Leurs fabrications et utilisations peuvent cependant devenir très complexes pour obtenir des remplissages comparables aux autres types de réseaux. Des expériences de remplissages effectuées par Mesdjian *et al* [72] ont montré qu'il est possible d'améliorer le remplissage d'un réseau 2D à un seul étage en introduisant un décalage entre les canaux d'entrée et de sortie de la chambre. Ce phénomène reste cependant assez mal compris, c'est pourquoi, on construit un modèle numérique permettant de simuler le comportement mécanique des objets à capturer dans le réseau de pièges. Après analyse de la littérature, on a identifié plusieurs familles de modèles utilisables pour la capture d'objet micrométrique : les modèles hydrodynamiques, particuliers et d'interaction fluide-structure (IFS). La géométrie multi-échelle de notre problème et son nombre élevé d'objets à capturer nous amène à exclure les modèles IFS. De plus, l'aspect très compact du réseau de piège nous fait supposer que les modèles hydrodynamiques ne sont pas suffisants pour expliquer les observations expérimentales. Nous avons donc choisi un modèle hydrodynamique à particules nous permettant à la fois de tester cette dernière hypothèse et d'étudier le remplissage du réseau de pièges. L'étude de l'écoulement seul permet l'application du critère de rapport de débit utilisé sur les modèles hydrodynamiques dans la littérature. L'application stricte de ce critère explique que la chambre droite est plus efficace que la chambre décalée, ce qui est en contradiction avec l'expérience. Ceci suggère que ce critère de rapport de débit n'est effectivement pas représentatif de l'efficacité d'un réseau de piège 2D et on pense que cela est dû au partage de flux existant entre les pièges lorsqu'ils ne sont pas occupés par des objets. L'étude du remplissage du réseau de pièges avec des particules a permis de retrouver des lignes de courant et des positions finales très similaires à celles obtenues en expériences. Après observation des lignes de courant au niveau des pièges, on a remarqué que la symétrie de la chambre droite implique une séparation périodique des faisceaux de particules les enfermant dans des motifs en "zig-zag" entre les pièges. La chambre décalée brise la symétrie de l'écoulement en le rendant oblique, ce qui permet de limiter la séparation périodique des faisceaux de particules. Nous pensons donc que le mécanisme clef favorisant la capture d'objets micrométriques dans les réseaux de pièges 2D est la brisure de symétrie de l'écoulement. Le modèle ayant montré une bonne correspondance en remplissage avec l'expérience, on propose de pousser notre étude d'amélioration du système microfluidique avec des méthodes d'optimisation au chapitre suivant.

2.6 Informations supplémentaires

2.6.1 Valeurs des paramètres

Paramètres géométriques	Description	Valeur/expression [72][34]
h	Profondeur de la chambre (hors plan)	$14 \mu m$
Δy	Distance verticale entre pièges	$30 \mu m$
Δx	Distance horizontale entre pièges	$50 \mu m$
L_c	Longueur de la chambre	$1200 \mu m$
L_{es}	Longueur des contours d'entrée et sortie	$104 \mu m$
L_p	Longueur des pièges	$27 \mu m$
L_{pr}	Longueur du petit rectangle des pièges	$10 \mu m$
l_{pr}	largeur du petit rectangle du piège	$5 \mu m$
l_p	Largeur des pièges	$30 \mu m$

Paramètres physiques	Description	Valeur/expression
μ	Viscosité dynamique du fluide porteur	$0,001 Pa s$
N_p	Nombre de particules	200
p_e	Pression d'entrée uniforme	$100 Pa$
p_s	Pression de sortie uniforme	$0 Pa$
ρ	Masse volumique du fluide	$1000 kg m^{-3}$
R_p	Rayon des particules	$2,5 \mu m$
T_e	Durée de l'étude	$3 s$

Paramètres numériques	Description	Valeur
$h_{max-elem}$	taille maximale d'élément autorisée	$8 \mu m$
N_t	Nombre de pas de temps	1000

TABLE 2.1 – Valeurs des paramètres du modèle d'hydrodynamique à particules.

2.6.2 Approximation du canal peu profond pour un écoulement de Poiseuille

On considère un écoulement de Poiseuille entre deux plaques parallèles séparées d'une distance h faible devant les autres dimensions (chambre de Hele shaw) contrôlé par une différence de pression Δp sur une longueur L entre les deux plaques. L'écoulement est considéré stationnaire, laminaire, incompressible sans source ni puits. Il vérifie donc le problème de Stokes dans le domaine fluide Ω_f :

$$\begin{cases} -\nabla p + \mu \nabla^2 \underline{v} + \underline{f}_v = \underline{0} & \text{dans } \Omega_f \\ \nabla \cdot \underline{v} = 0 & \text{dans } \Omega_f \end{cases} \quad (2.6.1)$$

On appelle (O, \underline{e}_z) la direction orthogonale aux plaques (comme dans les chambres étudiées), (O, \underline{e}_y) une direction transverse à l'écoulement supposée infinie et (O, \underline{e}_x) la direction principale de l'écoulement *ie* celle du gradient de pression. On définit le champ de vitesse en $2D$ par :

$$\underline{v} = u(x, z) \underline{e}_x + w(x, z) \underline{e}_z \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.6.2)$$

on néglige la gravité et par symétrie de la géométrie et de ses conditions limites (pressions uniformes en $x = 0$ et $x = L$), l'écoulement est unidirectionnel dans la direction (O, \underline{e}_x) :

$$\underline{v} = u(x, z) \underline{e}_x \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.6.3)$$

la conservation de la masse donne :

$$\frac{\partial u(x, z)}{\partial x} = 0 \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.6.4)$$

La résolution analytique de l'équation de Stokes avec les conditions limites en vitesse et pression donne de manière très classique le profil parabolique de vitesse et le champ de pression linéaire :

$$\begin{cases} p(x) = \Delta p \left(1 - \frac{x}{L}\right) & \text{dans } \Omega_f \\ u(z) = \frac{h^2 \Delta p}{2\mu L} \left(\frac{z}{h} - \left(\frac{z}{h}\right)^2\right) & \text{dans } \Omega_f \end{cases} \quad (2.6.5)$$

La vitesse moyennée dans la direction (O, \underline{e}_z) est :

$$\langle u_{pois} \rangle_z = \frac{1}{h} \int_{z=0}^h u(z) dz = \frac{h^2 \Delta p}{12\mu L} \quad (2.6.6)$$

On considère maintenant la distance entre plaques infinie (et différente de h), le vecteur vitesse ne dépend plus de z et devient uniforme avec la condition de conservation de la masse. L'équation de Stokes en prenant en compte l'approximation du canal peu profond devient :

$$-\underline{\nabla} p - \frac{12\mu}{h^2} \underline{v} = \underline{0} \quad \text{dans } \Omega_f \quad (2.6.7)$$

Ce qui donne le même champ de pression et le champ de vitesse uniforme :

$$u = \frac{h^2 \Delta p}{12\mu L} = \langle u_{pois} \rangle_z \quad (2.6.8)$$

On retrouve bien le champ de vitesse de Poiseuille moyenné dans la direction (O, \underline{e}_z) comme le prévoit l'approximation du canal peu profond.

2.6.3 Application de la méthode des éléments finis

Dans comsol, on écrit la formulation faible mixte suivante :

Trouver \underline{v} et p tels que pour tout \underline{v}^* et p^* :

$$\begin{cases} \int_{\Omega_f} \mu (\underline{\nabla} \underline{v} : \underline{\nabla} \underline{v}^* + \frac{12}{h^2} \underline{v} \cdot \underline{v}^*) d\Omega_f - \int_{\Omega_f} p \nabla \cdot \underline{v}^* d\Omega_f + \int_{\partial\Omega_f} p \underline{v}^* \cdot \underline{n} d\Gamma_f = 0 \\ \int_{\Omega_f} p^* \nabla \cdot \underline{v} d\Omega_f = 0 \end{cases} \quad (2.6.9)$$

avec le détail des expressions :

$$\begin{cases} p = \Delta p & \text{sur } \Gamma_e \\ p = 0 & \text{sur } \Gamma_s \\ \underline{v} = \underline{0} & \text{sur } \Gamma_p \end{cases} \quad (2.6.10)$$

Il faut ensuite décomposer l'intégrale sur frontière $\partial\Omega_f$ sur chaque sous-frontière : Γ_e , Γ_s et Γ_p . Il ne reste que le terme sur Γ_e où la pression et la vitesse ne sont pas nulles :

$$\int_{\partial\Omega_f} p \underline{v}^* \cdot \underline{n} d\Gamma_f = \int_{\Gamma_e} \Delta p \underline{v}^* \cdot \underline{n} d\Gamma_e \quad (2.6.11)$$

Qui ne dépend que de la fonction test en vitesse \underline{v}^* . On peut alors identifier sur la formulation faible mixte les formes bilinéaires a , b et la forme linéaire l telles que :

$$\begin{cases} a(\underline{v}, \underline{v}^*) - b(p, \underline{v}^*) = l(\underline{v}^*) \\ b(p^*, \underline{v}) = 0 \end{cases} \quad (2.6.12)$$

La formulation mixte est discrétisée dans Comsol Multiphysics par la méthode des éléments-finis, c'est-à-dire qu'on cherche \underline{v} et p comme combinaisons linéaires de fonctions polynomiales (fonctions de formes) dont le support est réduit aux éléments connectés au noeud qui les caractérise :

$$\begin{cases} \underline{v} = \sum_{i=1}^N \alpha_i \underline{\phi}_i^v \\ p = \sum_{i=1}^N \beta_i \phi_i^p \end{cases} \quad (2.6.13)$$

où N représente le nombre de noeuds du maillage. Ceci revient à réduire l'espace de recherche des solutions à un espace de dimension finie dont les fonctions de forme décrivent une base et α_i et β_i représentent les coordonnées généralisées de la solution. La bilinéarité de a et b permet :

$$\begin{cases} \sum_{i=1}^N \alpha_i a(\underline{\phi}_i^v, \underline{v}^*) - \sum_{i=1}^N \beta_i b(\underline{\phi}_i^p, \underline{v}^*) = l(\underline{v}^*) \\ \sum_{i=1}^N \alpha_i b(\underline{p}^*, \underline{\phi}_i^v) = 0 \end{cases} \quad (2.6.14)$$

Ce système étant vérifié pour tout champ test \underline{v}^* et \underline{p}^* , il doit l'être pour toutes les fonctions de forme décrivant l'espace de recherche des solutions :

$$\begin{cases} \sum_{i=1}^N \alpha_i a(\underline{\phi}_i^v, \underline{\phi}_j^v) - \sum_{i=1}^N \beta_i b(\underline{\phi}_i^p, \underline{\phi}_j^v) = l(\underline{\phi}_j^v) & j \in \llbracket 1, N \rrbracket \\ \sum_{i=1}^N \alpha_i b(\underline{\phi}_j^p, \underline{\phi}_i^v) = 0 & j \in \llbracket 1, N \rrbracket \end{cases} \quad (2.6.15)$$

Ainsi, on peut identifier le système linéaire suivant :

$$\begin{cases} [A]\{\alpha\} - [B]\{\beta\} = \{l\} \\ [B]\{\alpha\} = \{0\} \end{cases} \quad (2.6.16)$$

avec :

$$\begin{cases} A_{i,j} = a(\underline{\phi}_i^v, \underline{\phi}_j^v) \\ B_{i,j} = b(\underline{\phi}_i^p, \underline{\phi}_j^v) \\ l_j = l(\underline{\phi}_j^v) \end{cases} \quad (2.6.17)$$

Que l'on peut écrire sous la forme d'un seul système linéaire :

$$[M]\{u\} = \{F\} \quad (2.6.18)$$

avec :

$$\begin{cases} [M] = \begin{bmatrix} [A] & -[B] \\ [B] & [0] \end{bmatrix} \\ \{u\} = \begin{Bmatrix} \{\alpha\} \\ \{\beta\} \end{Bmatrix} \\ \{F\} = \begin{Bmatrix} \{l\} \\ \{0\} \end{Bmatrix} \end{cases} \quad (2.6.19)$$

Enfin, on utilise le solveur ParDiSo de Comsol Multiphysics pour déterminer les coordonnées généralisées contenues dans le "vecteur" $\{u\}$. Ce qui permet la détermination du champ de vitesse et de pression.

Chapitre 3

Optimisation de réseau de pièges microfluidique

Ce travail a été réalisé en collaboration avec Jacques Fattaccioli (IPGG), Marie-Caroline Jullien (IPR) et Gabriel Fina (IPGG). Il a pour objectif l'optimisation de la géométrie du système de capture microfluidique. Pour ce faire, nous appliquons des méthodes d'optimisation couplées au modèle numérique précédent.

3.1 Introduction

Le chapitre précédent montre par la simulation et l'expérience que la géométrie de la chambre avec ses canaux d'entrée/sortie peut drastiquement modifier le remplissage du réseau de pièges. On peut donc naturellement se poser les questions : Existe-t-il une géométrie optimale qui maximise l'efficacité de remplissage de la chambre ? Quelle devrait-être la forme de cette chambre si elle existe ? Le procédé de fabrication des chambres ne permet actuellement pas de créer des géométries réglables expérimentalement pour étudier l'influence de la géométrie sur le remplissage des réseaux de pièges. Ainsi, une étude d'optimisation expérimentale nécessiterait de fabriquer autant de chambres que de géométries à tester avec les moules correspondants, une telle démarche n'est aujourd'hui pas techniquement envisageable. La description paramétrée de la géométrie du modèle numérique précédent et sa résolution relativement rapide permettent d'effectuer plusieurs calculs en série avec des modifications de la géométrie à chaque calcul. Ce modèle semble donc très utile pour la conception de chambres microfluidiques avant leur fabrication. Pour faciliter l'observation manuelle des pièges au microscope, il peut être agréable pour le biologiste de conserver une distribution de pièges en quinconce. Ainsi, une première étude d'optimisation est menée en gardant la distribution de pièges en quinconce. Si les moyens matériels permettent la détection automatique des pièges au microscope, alors toute variation de géométrie est permise du moment qu'elle est compatible avec le procédé de fabrication. Dans ce chapitre on propose :

- quelques compléments de théorie sur les méthodes d'optimisation et les régimes de dispersions en mécanique des fluides ;

- une étude d'optimisation de la chambre en gardant un réseau de pièges en quinconce ;
- une étude d'optimisation autorisant une perturbation dans la distribution des pièges en gardant une chambre symétrique ;
- d'évaluer l'évolution des résultats lorsque le nombre de pièges augmente ;
- une étude expérimentale préliminaire pour valider les simulations.

3.2 Compléments brefs de théorie et littérature

On donne ici quelques compléments de théorie et de littérature. Ces éléments sont brièvement exposés afin de mieux comprendre le contexte dans lequel la démarche d'optimisation est menée.

3.2.1 Méthodes d'optimisation

L'optimisation est une branche des mathématiques s'appliquant à des domaines très vastes allant de l'ingénierie à la finance. L'objectif de cette sous-section est uniquement de donner quelques concepts de base de l'optimisation pour comprendre la démarche suivie sans prétendre effectuer une revue des différentes méthodes d'optimisation existantes. Le principe de l'optimisation est de définir une fonctionnelle J_o appelée "fonction objectif" qui représente le critère sur lequel on veut optimiser un système. En fonction de comment on formule le problème d'optimisation, on peut chercher à maximiser ou à minimiser J_o (au signe près). Quand on traite un problème d'optimisation de géométrie paramétrée comme le notre, la fonction objectif est considérée comme une fonction des paramètres géométriques q_i . Cependant, on ne sait pas comment J_o varie en fonction des q_i , on parle d'optimisation de "fonction boîte noire" [69] .

Une manière simple mais coûteuse d'optimiser J_o consiste à effectuer un nombre important de simulations en faisant varier les paramètres afin de construire une représentation discrétisée de J_o en fonction de chacun des paramètres. Si le problème ne comporte qu'un seul paramètre, le nombre de calculs à effectuer est égal au nombre de valeurs du paramètre que l'on veut tester, on parle "d'analyse paramétrique simple". Lorsque le problème a plusieurs paramètres, il faut calculer les valeurs de $J_o(q_i)$ pour des n -uplets (q_1, \dots, q_n) (où n représente le nombre de paramètres), on parle d'"analyse multiparamétrique". Il va de soit que cette approche peut demander un nombre extrêmement élevé de simulations car le nombre de n -uplets (q_1, \dots, q_n) à tester est égal au produit du nombre de valeurs à tester pour chaque paramètre.

Une autre stratégie est d'utiliser des algorithmes d'optimisation. On distingue deux types d'algorithmes : ceux calculant le gradient de la fonctionnelle ∇J_o et ceux qui évitent son calcul [47]. Les algorithmes basés sur le calcul du gradient tirent profit du fait que le gradient d'une fonction scalaire

s'oriente dans la direction croissante de la fonction. Ainsi, en recalculant de manière itérative J_o et ∇J_o on peut arriver à un maximum local de J_o . Le problème de ces méthodes est qu'elles ne sont plus très efficaces lorsque J_o n'est pas dérivable ou que J_o n'est pas une fonction concave des paramètres (convexe si on cherche un minimum). En effet, si J_o n'est pas dérivable, son gradient n'est pas défini et si elle n'est pas concave, elle comporte plusieurs maximum locaux. Dans ce dernier cas, il est très probable que l'algorithme converge vers un maximum local. Une solution à ce problème est de lancer l'algorithme sur plusieurs configurations initiales différentes en espérant converger vers un maximum local satisfaisant pour l'utilisateur si cela suffit. Plus J_o possède de maximums locaux, moins un algorithme à calcul du gradient est efficace. Les méthodes sans calcul du gradient sont très nombreuses et peuvent reposer sur des principes différents [47]. Sur Comsol Multiphysics, cinq algorithmes sans calcul du gradient sont disponibles [60] :

- Recherche de coordonnées ;
- Monte Carlo ;
- Nelder-Mead ;
- BOBYQA ("Bound Optimization by Quadratic Approximation") ;
- COBYLA ("Constrained Optimization by Linear Approximation").

L'algorithme Recherche de coordonnées [21] étudie "séparément" les paramètres : successivement, il fait varier les valeurs des paramètres dans un domaine de recherche de valeurs fixé (dans la direction croissante et décroissante pour chaque paramètre). Le paramètre faisant le plus diminuer J_o dans le domaine de recherche est choisi et le domaine de recherche est recentré autour de la valeur minimale de J_o . Ceci constitue une étape qui est ensuite répétée. L'algorithme Monte Carlo [48] repose sur des valeurs de paramètres prises dans une distribution aléatoire (souvent uniforme) délimitée par l'utilisateur, elle permet une bonne représentation de J_o en fonction des paramètres mais peut devenir très coûteuse pour arriver à un optimal, ce que l'on constate par la suite. La méthode Nelder-Mead [1] définit une forme géométrique appelée "simplex" (généralisation d'un triangle en dimension n) de $n + 1$ sommets (où n est le nombre de paramètres) pouvant se déformer et se déplacer dans l'espace des paramètres. En fonction des valeurs de J_o calculées aux sommets du simplex, les déplacements et déformations du simplex sont effectués jusqu'à ce que celui-ci soit fixe et le plus petit possible. L'algorithme BOBYQA [33] effectue une interpolation quadratique de J_o dans un domaine appelé "région de confiance" autour du point correspondant à l'itération. En fonction des valeurs calculées de J_o dans la région de confiance, ce domaine est déplacé d'un vecteur "step" plus petit en norme que la taille de la région de confiance ce qui constitue une étape à répéter ensuite. Enfin, la méthode COBYLA pour "Constrained Optimization by Linear Approximation" effectue une approximation linéaire de J_o et utilise un simplex comme pour la méthode Nelder-Mead. En revanche, le déplacement et la modification de la taille du simplex sont gérées par la résolution de systèmes linéaires et non d'opérations géométriques [60].

On a pu voir lors de la revue de littérature du chapitre précédent que toutes les études d'optimisation réalisées sur les réseaux de pièges microfluidiques que nous avons trouvées se limitent à des études paramétriques simples. L'utilisation de méthode multiparamétrique ou d'algorithmes

d'optimisation sur un réseau 2D dense représente donc une nouveauté en soi.

3.2.2 Régimes de dispersion en mécanique des fluides

On peut caractériser la façon dont deux fluides se mélangent de deux manières : lagrangienne ou eulérienne. Du point de vue lagrangien, on utilise des particules modélisant la frontière entre les deux fluides. Les particules sont disposées de sorte à ce que la distance initiale d_0 entre deux particules adjacentes soit la même pour chaque couple de particules adjacentes. En étudiant un grand nombre de couples de particules, on peut évaluer la cinétique de la distance moyenne entre deux particules $\langle d_{part} \rangle$. Du point de vue eulérien, on utilise un champ de concentration d'une espèce A à la concentration initiale C_0 injectée dans le milieu contenant une autre espèce B. Lors du mélange, la concentration C_A en A diminue. Le domaine de mélange Ω_m est donc le lieu tel que $0 < C_A < C_0$. La taille (mesure) de Ω_m en 3D s'exprime par le volume de mélange \tilde{V}_m . Étudier la cinétique de $\langle d_{part} \rangle$ ou de \tilde{V}_m revient de manière équivalente, à étudier le régime de dispersion de l'écoulement. Un régime de dispersion souvent rencontré est le régime Fickien pour lequel $\langle d_{part} \rangle \propto \sqrt{t}$ et $\tilde{V}_m \propto \sqrt{t}$. On peut aussi rencontrer des régimes en loi de puissance, ou alors en exponentielle qui sont qualifiés de chaotiques.

3.2.3 Mélange de fluides en milieu poreux

On a vu au chapitre précédent que briser la symétrie de l'écoulement augmente beaucoup l'efficacité du système. D'autre part, la littérature portant sur des écoulements en structures poreuses désordonnées montre un certain potentiel de ces structures pour obtenir des régimes de dispersions plus rapides que le régime Fickien [52]. Dans cette étude, le régime est quantifié de manière expérimentale du point de vue eulérien comme montré sur la Figure 3.1A. De Anna *et al* [52] ont montré que dans une structure poreuse désordonnée, deux régimes sont observés : d'abord un régime rapide non-Fickien qui ensuite tend vers un régime Fickien au cours du temps (Figure 3.1B). L'explication physique de ce phénomène est basée sur le fait que dans une distribution désordonnée, des lamelles de fluide se forment par élongation (Figure 3.1C à t_1 et t_2) puis se recombinent entre-elles (Figure 3.1C à t_4) ce qui ne semble pas être le cas dans un écoulement symétrique comme nous avons pu le voir précédemment quand les faisceaux de particules restent enfermés dans les motifs en "zig-zag" (chambre droite chapitre 2). Bien que le mélange et la capture soient deux domaines distincts en microfluidique, on a constaté que la brisure de symétrie est favorable à la capture d'objet micrométrique. Manifestement, la brisure de symétrie est aussi favorable au mélange de fluides d'après les expériences de De Anna *et al* [52] où du désordre entre les obstacles est introduit. L'introduction de désordre dans le réseau de pièges pourrait donc avoir un intérêt pour la capture d'objets microscopiques. D'autre part, nous n'avons pas trouvé d'articles parlant d'influence du désordre sur le remplissage d'un réseau de pièges : la plupart des réseaux 2D de la littérature ont une distribution de pièges en quinconce qui ne semble pas avoir été remise en question [22][31][36][34]. On décide donc de mener l'étude d'optimisation du réseau de pièges en introduisant du désordre dans la distribution en quinconce à partir de lois de probabilités.

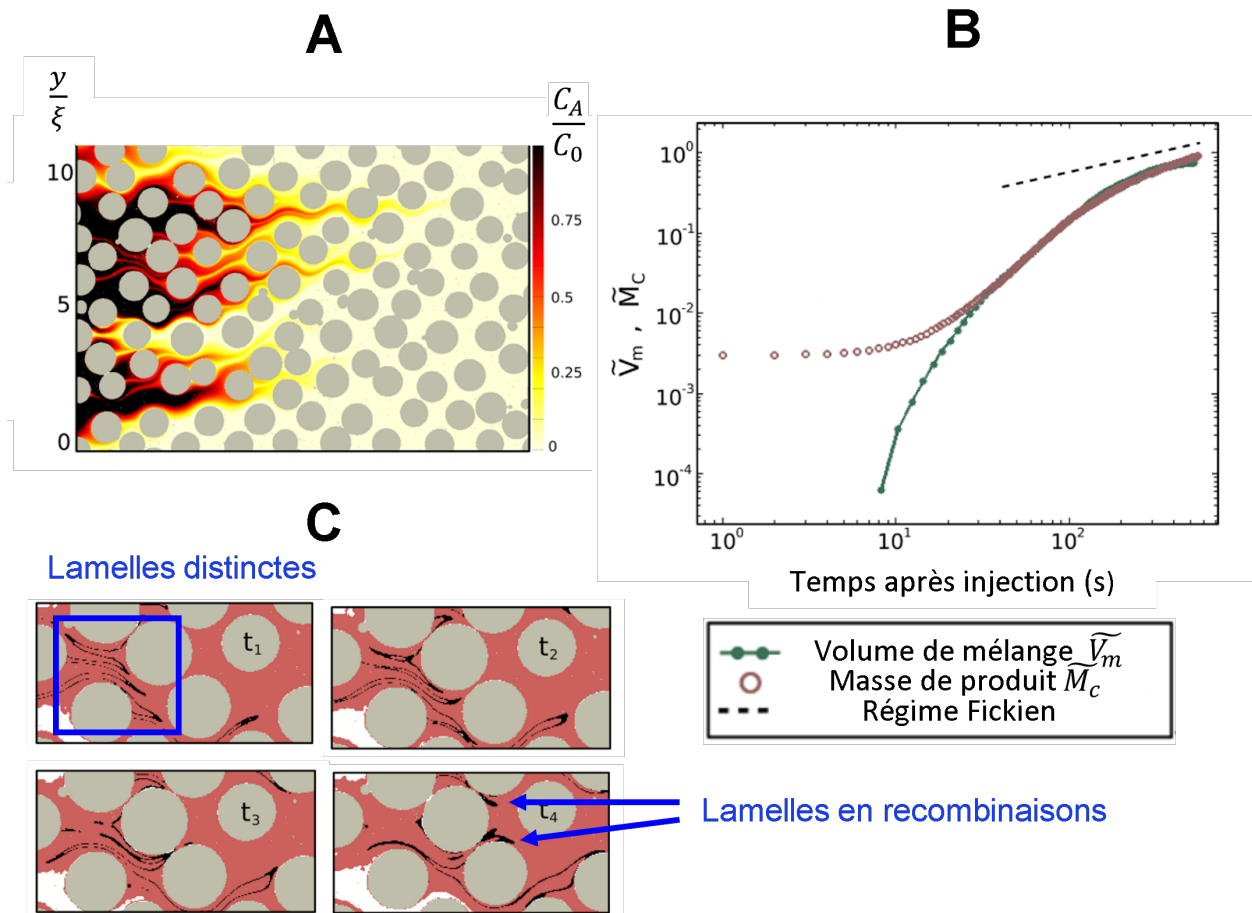


FIGURE 3.1 – Étude du régime de dispersion point de vue eulérien par De ana *et al* [52]. **A** : champ de concentration normalisé en espèce A dans le réseau de pores à un instant choisi, ξ représente une dimension caractéristique. **B** : volume de mélange, masse de produit et comportement Fickien en fonction du temps. La masse de produit est la masse du produit de réaction chimique entre les deux fluides. **C** : mouvement des lamelles de fluide au cours du temps. Images adaptées de [52].

3.3 Méthode d'optimisation du système microfluidique

3.3.1 Paramètres adimensionnels de la chambre et efficacité du système

Pour décrire la géométrie de la chambre microfluidique, on utilise 5 paramètres affichés sur le Tableau 5.1 :

- le centrage C représente le décalage entre les canaux d'entrée et de sortie. Sa valeur est de 1 quand l'entrée et la sortie de la chambre sont alignées (écoulement symétrique) et de 0 quand le décalage est maximal (chambre décalée chapitre 2 précédent). C est normalisé par la relation :

$$C = 1 - \frac{\Delta y_{es}}{\Delta y_{es \max}} \quad (3.3.1)$$

où Δy_{es} est la distance verticale entre l'entrée et la sortie (première ligne Tableau 5.1) et $\Delta y_{es \max}$ sa valeur maximale définie par :

$$\Delta y_{es \max} = \frac{l_c - l_{es}}{2} \quad (3.3.2)$$

où on rappelle que l_c est la largeur de la chambre et l_{es} celle des canaux d'entrée et de sortie (Figure 2.12 chapitre précédent) ;

- le rapport de largeur R_l entre le réseau de pièges et la chambre :

$$R_l = \frac{l_r}{l_c} \quad (3.3.3)$$

où on rappelle que l_r est la largeur du réseau de piège et l_c celle de la chambre (deuxième ligne Tableau 5.1) ;

- le rapport de longueur R_L entre le réseau de pièges et la chambre :

$$R_L = \frac{L_r}{L_c} \quad (3.3.4)$$

où on rappelle que L_r est la longueur du réseau de piège et L_c celle de la chambre (troisième ligne Tableau 5.1) ;

- le rapport d'aspect R_a défini comme le nombre de lignes N_l divisé par le nombre de colonnes N_c du réseau de pièges :

$$R_a = \frac{N_l}{N_c} \quad (3.3.5)$$

où on rappelle que N_l est le nombre de lignes du réseau de pièges et N_c son nombre de colonnes (quatrième ligne Tableau 5.1) ;

- le rapport de largeur entre les canaux d'entrée/sortie et la chambre (dernière ligne Tableau 5.1) :

$$R_{es} = \frac{L_{es}}{l_c} \quad (3.3.6)$$

On définit l'efficacité du système (ie le réseau de pièges et chambre) de deux manières différentes : l'efficacité de remplissage E_{rempl} par le rapport entre le nombre de pièges occupés par au moins une particule N_{occ} et le nombre total de pièges $N_{pièges}$ dans le réseau et l'efficacité de capture E_{capt} par le rapport entre le nombre de particules capturées N_{capt} et le nombre de particules injectées N_{part} (équation 3.3.7). L'efficacité de remplissage représente la capacité du système à occuper le réseau de pièges en ignorant le nombre de particules par pièges tandis que l'efficacité de capture correspond à la proportion de particules capturées. Étant donné la distribution initiale uniforme des particules sur le canal d'entrée dans le modèle, l'efficacité de capture est très proche du rapport de débit " Q_{ratio} " de la littérature mais prend en compte l'arrêt des particules dans les pièges pour éviter le partage des flux entre pièges.

$$\begin{cases} E_{rempl} = \frac{N_{occ}}{N_{pièges}} \\ E_{capt} = \frac{N_{capt}}{N_{part}} \end{cases} \quad (3.3.7)$$

Il semble très compliqué de définir l'efficacité de remplissage directement dans Comsol Multiphysics, on peut uniquement la calculer en post-traitement, ce qu'on décide de faire sur Matlab. Ceci permet tout de même de calculer les deux efficacités sur les analyses paramétriques simple et multiparamétriques mais empêche d'appliquer des algorithmes d'optimisation sur l'efficacité de remplissage comme fonction objectif. À partir du jeu de paramètres (variables de contrôle) et des définitions des efficacités de remplissage et de capture explicites (fonctions objectifs), on dispose de tous les éléments nécessaires pour mener les études d'optimisation. On propose alors plusieurs stratégies d'optimisation :

- analyse paramétrique simple sur les cinq paramètres de la chambre définis plus haut où on optimise E_{capt} et E_{rempl} ;
- analyse multiparamétrique sur laquelle on optimise E_{capt} et E_{rempl} ;
- optimisation par algorithme sur la fonction objectif E_{capt} où plusieurs algorithmes sont testés.

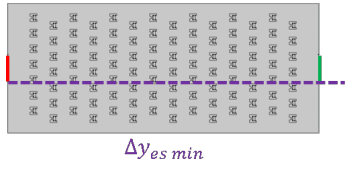
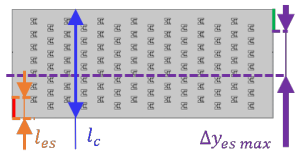
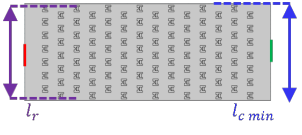
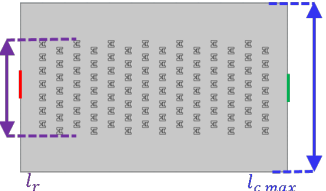
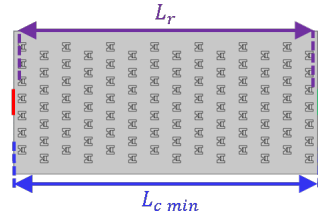
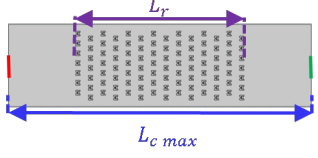
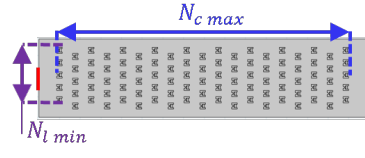
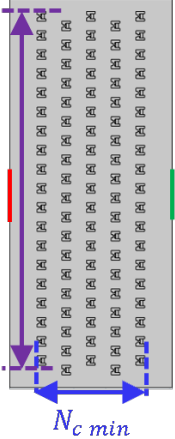
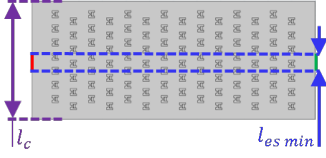
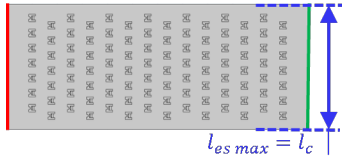
Paramètre	Géométrie pour valeur minimale	Géométrie pour valeur maximale
$C = 1 - \frac{\Delta y_{es}}{\Delta y_{es\ max}}$		
$R_l = \frac{l_r}{l_c}$		
$R_L = \frac{L_r}{L_c}$		
$R_a = \frac{N_l}{N_c}$		
$R_{es} = \frac{l_{es}}{l_c}$		

TABLE 3.1 – Géométries pour les valeurs extrêmes des 5 paramètres adimensionnels définissant la géométrie de la chambre. En vert la frontière d'entrée et en rouge la frontière de sortie. L'échelle est modifiée pour que les images puissent entrer dans le tableau.

3.3.2 Algorithmes d'optimisation

Il n'est pas sûr que l'efficacité de capture du système soit une fonction dérivable ou concave des paramètres géométriques. La convergence vers un maximum global des algorithmes d'optimisation à calcul du gradient n'est donc pas assurée. Ainsi, on se concentre sur les algorithmes d'optimisation sans calcul du gradient de la fonction objectif. On applique les cinq algorithmes sans calcul du gradient disponibles sur Comsol Multiphysics : Recherche de coordonnées, Monte Carlo, Nelder-Mead, BOBYQA et COBYLA. Pour chacun de ces algorithmes, on calcule en plus les efficacités de remplissage correspondantes aux meilleures efficacités de capture, ce qui permet de comparer les différents algorithmes entre-eux pour résoudre le problème. Afin d'éviter les temps de calculs trop longs, on limite le nombre de simulations en série à 1000. En pratique, seul l'algorithme Monte Carlo ira jusqu'à 1000 évaluations du modèle, les autres retourneront une géométrie optimisée avant.

3.3.3 Optimisation du réseau de pièges par le désordre

3.3.3.1 Introduction de désordre dans la géométrie

Pour introduire du désordre dans le réseau de pièges, on effectue une translation des pièges à partir de la distribution en quinconce initiale :

$$\begin{cases} x_i = x_{oi} + \delta x_i & i \in \llbracket 1, N_{pièges} \rrbracket \\ y_i = y_{oi} + \delta y_i & i \in \llbracket 1, N_{pièges} \rrbracket \end{cases} \quad (3.3.8)$$

où $M_i(x_i, y_i)$ est le coin inférieur gauche du piège i , (x_{oi}, y_{oi}) ses coordonnées avant translation et $(\delta x_i, \delta y_i)$ est le vecteur de translation aléatoire, défini comme il suit :

$$\begin{cases} \delta x_i = \Psi_i^x R_\delta \Delta x & i \in \llbracket 1, N_{pièges} \rrbracket \\ \delta y_i = \Psi_i^y R_\delta \Delta y & i \in \llbracket 1, N_{pièges} \rrbracket \end{cases} \quad (3.3.9)$$

où Ψ_i^x et Ψ_i^y représentent deux nombres réels de l'intervalle fermé $[-1, 1]$ sélectionnés dans deux distributions aléatoires centrées en 0 indépendantes respectivement dans les directions (O, e_x) et (O, e_y) , R_δ un paramètre appelé "Rapport d'écart" défini entre 0 et 1 qui représente la fraction de l'écart entre piège que l'on applique en translation. On rappelle que Δx et Δy sont les distances entre pièges dans les directions horizontales et verticales respectivement dans le cas d'une distribution en quinconce (Figure 2.12 chapitre précédent). Le Tableau 3.2 montre deux exemples de géométries obtenues pour différentes valeurs de R_δ avec des distributions uniformes indépendantes pour Ψ_i^x et Ψ_i^y .

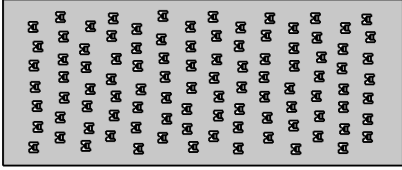
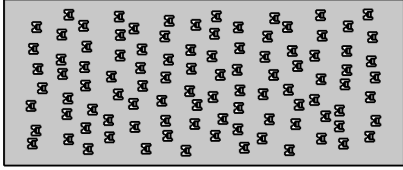
$R_\delta = 20\%$	$R_\delta = 40\%$
	

TABLE 3.2 – Exemples de géométries désordonnées obtenues pour différentes valeurs de R_δ avec une loi de probabilité uniforme.

Deux distributions aléatoires sont testées pour Ψ_i^x et Ψ_i^y : (i) uniforme centrée en 0 que l'on note ${}^u\Psi_i^x$ et ${}^u\Psi_i^y$ et (ii) normale (gaussienne) centrée sur 0 que l'on note ${}^n\Psi_i^x$ et ${}^n\Psi_i^y$. Pour éviter les valeurs très élevées de ${}^n\Psi_i^x$ et ${}^n\Psi_i^y$, on règle l'écart type à 0.3 ce qui rend très rares les valeurs en dehors de $[-1, 1]$ et on sature ces valeurs pour obtenir les distributions ${}^{nsat}\Psi_i^x$ et ${}^{nsat}\Psi_i^y$:

$$\begin{cases} {}^{nsat}\Psi_i^x = \max(\min({}^n\Psi_i^x, 1) - 1) \\ {}^{nsat}\Psi_i^y = \max(\min({}^n\Psi_i^y, 1) - 1) \end{cases} \quad (3.3.10)$$

Cette saturation augmente légèrement la probabilité d'obtenir les valeurs -1 ou 1 , mais en pratique elle reste très faible. D'autre part, les distributions normales saturées ne vérifient pas strictement la définition mathématique d'une loi de probabilité : la somme des probabilités de chaque valeur n'est plus de 1. Mais cela ne pose pas de problème pour implémenter les translations aléatoires des pièges. Pour interdire les chevauchements de pièges, on limite la valeur de R_δ à 0.5 maximum. Pour la distribution normale, on limite la valeur de R_δ à 0.8 ce qui n'interdit pas le chevauchement des pièges mais le rend très peu probable.

La génération aléatoire des pièges pose cependant la question de la répétabilité des résultats : si on détermine une géométrie très efficace, rien n'assure qu'on retrouverait le même résultat en la reconstruisant avec le même rapport d'écart R_δ . On propose donc une étude multiparamétrique basée sur deux paramètres pour chaque loi de probabilité testée : R_δ est testé sur 10 valeurs réparties uniformément sur l'intervalle $[0.05, 0.5]$ pour la distribution uniforme et $[0.1, 0.8]$ pour la distribution normale que l'on répète $N_{rep} = 10$ fois chacune en reconstruisant la géométrie aléatoire. Ceci fait un total de 100 calculs en série pour chaque loi de probabilité. La valeur $R_\delta = 0$ correspond à la distribution en quinconce, donc ne demande pas d'étudier la répétabilité.

Le fait que les géométries soient générées de manière aléatoire ne permet plus d'utiliser le code de post-traitement qui calcule l'efficacité de remplissage. Ainsi, on ne peut pas déterminer l'efficacité de remplissage des 100 géométries mais on peut tout de même le faire de manière non-automatisée sur les géométries les plus efficaces selon le critère d'efficacité de capture.

3.3.3.2 Détermination des régimes de dispersions

On a vu dans la littérature que le désordre peut provoquer une modification du régime de dispersion. On souhaite savoir si un tel changement se produit dans une chambre à réseau désordonné en fonction du facteur d'écart R_δ . Pour ce faire, on étudie la dispersion du point de vue Lagrangien via l'étude de la distance moyenne entre particules $\langle d_{part} \rangle$ que l'on définit par :

$$\langle d_{part} \rangle = \frac{1}{N_{part} - 1} \sum_{i=1}^{N_{part}-1} \|\underline{q}_i - \underline{q}_{i+1}\| \quad i \in \llbracket 1, N_{part} \rrbracket \quad (3.3.11)$$

où \underline{q}_i est la position de la particule i . En simulations, quelques rares particules sont sujettes à rencontrer des parois de la chambre sur lesquelles elles peuvent s'arrêter, ce qui pourrait beaucoup modifier la valeur de $\langle d_{part} \rangle$ pour des raisons non-physiques (elles devraient rebondir). On décide de ne pas prendre en compte ces particules ainsi que les particules piégées dans le calcul de $\langle d_{part} \rangle$. Le calcul de $\langle d_{part} \rangle$ est effectué en post-traitement sur Python (Anaconda).

3.4 Résultats

3.4.1 Analyse paramétrique simple

On calcule les efficacités de capture et remplissage du système en faisant varier les 5 paramètres de la chambre séparément sur 10 valeurs distribuées uniformément entre leurs valeurs minimales et maximales. La Figure 3.2 suivante affiche l'évolution des efficacités en fonction de ces paramètres. La Figure 3.2A représente l'efficacité de capture et la Figure 3.2B l'efficacité de remplissage.

On observe d'abord pour les deux efficacités, un aspect assez irrégulier des courbes avec des variations locales parfois importantes, notamment pour le rapport d'aspect R_a sur les deux efficacités et le rapport de longueur de chambre R_L pour l'efficacité de remplissage. Ces irrégularités font apparaître des extrema locaux qui suggèrent une certaine réserve à avoir quant à l'utilisation d'algorithmes d'optimisations se basant sur le calcul du gradient : la probabilité qu'ils retournent le maximum global d'une efficacité paraît très faible.

Au niveau de l'influence des paramètres, on constate que l'efficacité de capture (Figure 3.2A) peut varier de plus de 20 % à 25 % pour le décalage entre entrée et sortie (via C), la longueur de la chambre (via R_L) et le rapport d'aspect (via R_a). Ces trois paramètres sont donc les plus influents sur la capture des particules. Dans une moindre mesure, la taille des canaux d'entrée et sortie a aussi une influence (via R_{es} sur ± 15 %) et la largeur de la chambre (via R_l) semble avoir une influence faible sur E_{capt} (± 5 %). Pour l'efficacité de remplissage (Figure 3.2B), on constate globalement une influence de tous les paramètres sur ± 30 % de E_{rempl} . Ainsi, l'optimisation de la géométrie du système microfluidique nécessite de prendre en compte tous les paramètres précédemment définis.

L'allure globale des courbes semble très similaire entre les deux efficacités : celles-ci croissent avec la longueur de chambre (via R_L), décroissent avec la taille des canaux d'entrée/sortie (via R_{es}) et croissent puis décroissent avec le centrage entrée/sortie C et le rapport d'aspect R_a . Seul le rapport de largeur R_l n'a pas la même tendance globale : plutôt constante pour E_{capt} et croissante puis décroissante avec E_{rempl} . Cette ressemblance entre les allures globales des courbes pose la question de la corrélation entre les deux efficacités.

La Figure 3.3 montre les variations de E_{rempl} en fonction de E_{capt} pour les 5 paramètres étudiés. On constate une allure en moyenne linéaire entre les deux efficacités et le coefficient de corrélation entre elles est de 80 %. Par conséquent, une géométrie optimale sur l'efficacité de capture a une forte probabilité d'être optimale sur l'efficacité de remplissage. Techniquement, il est plus simple d'étudier l'efficacité de capture que l'efficacité de remplissage en simulations avec le logiciel utilisé. C'est pourquoi, quand l'efficacité de remplissage est trop complexe à évaluer on se contentera uniquement d'optimiser l'efficacité de capture et d'évaluer ensuite l'efficacité de remplissage sans la déterminer pour toutes les géométries, la corrélation entre les deux étant très forte.

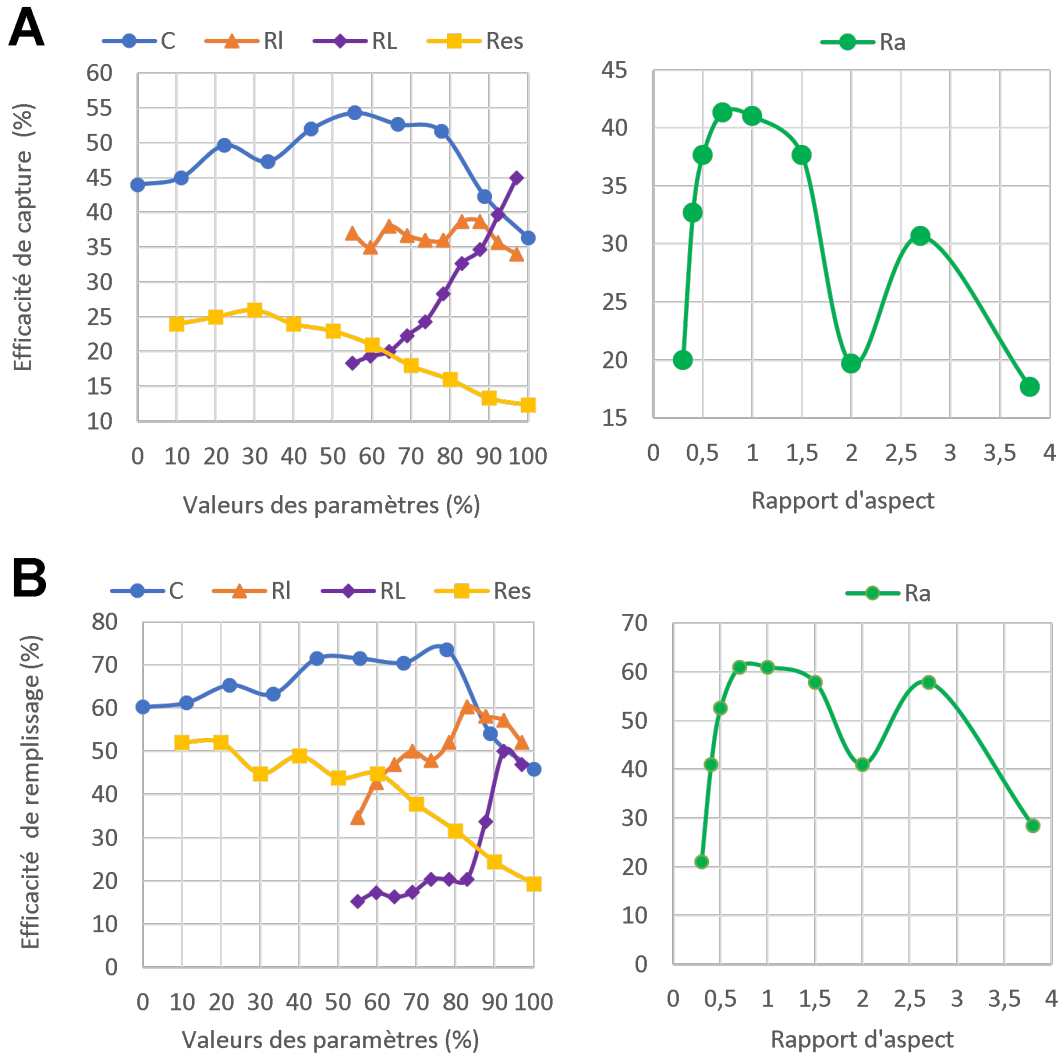


FIGURE 3.2 – **A** : efficacité de capture E_{capt} en fonction des valeurs des paramètres. **B** : efficacité de remplissage E_{remp} pour les mêmes valeurs de paramètres

La meilleure efficacité de capture ($E_{capt} = 54\%$) est obtenue pour un décalage entre l'entrée et la sortie de $C = 55,5\%$ et la meilleure efficacité de remplissage ($E_{remp} = 74\%$) est obtenue pour le même paramètre à la valeur $C = 77,7\%$ pour laquelle l'efficacité de capture n'a diminué que de $2,5\%$. La géométrie la plus efficace à ce niveau de l'étude en prenant en compte les deux critères est donc obtenue pour $C = 77,7\%$. La Figure 3.4A montre les lignes de courants et positions finales des particules pour cette géométrie. On constate que cette chambre reproduit un écoulement oblique à symétrie brisée comme l'a montré l'étude précédente mais avec un écoulement plus concentré sur le réseau de pièges (Figure 3.4A).

On souhaite enfin vérifier si les différents paramètres sont inter-dépendants sur l'efficacité de capture et de remplissage. On simule l'écoulement en prenant les différentes valeurs optimales obtenues pour chaque paramètres. Cette géométrie conduit au remplissage Figure 3.4B. L'efficacité de remplissage

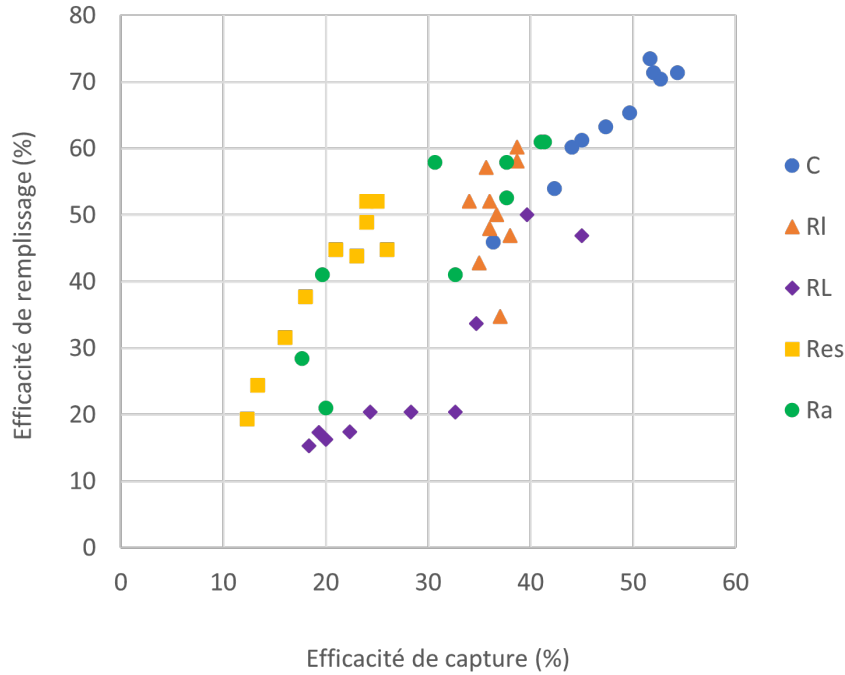


FIGURE 3.3 – Efficacité de remplissage E_{rempl} en fonction de l'efficacité de capture E_{capt} sur les simulations effectuées jusqu'alors.

de cette chambre est très basse (environ 50 %) et fait apparaître des faisceaux de particules très déviés passant en diagonale entre les pièges (faisceaux verts, jaunes et turquoise). Ce dernier résultat semble confirmer qu'optimiser les paramètres géométriques de la chambre séparément n'est pas suffisant pour trouver une géométrie optimale. Ainsi, il est nécessaire de prendre en compte les combinaisons de valeurs de paramètres en vue de trouver un optimal.

3.4.2 Analyse multiparamétrique

L'optimisation multi-paramétrique consiste à effectuer plusieurs simulations en séries par combinaisons de valeurs de paramètres. Les permutations de valeurs sont effectuées en suivant un "codage naturel" (de la même manière que le code binaire naturel mais sur plusieurs valeurs par bit) : on fixe toutes les valeurs des paramètres sauf un paramètre dont on balaye toutes les valeurs possibles. Ensuite, on fait varier d'une seule valeur le second paramètre puis on balaye une nouvelle fois les valeurs du premier, etc... Le nombre d'évaluations du modèle N_{eval} est donc :

$$N_{eval} = \prod_{k=1}^{N_p} v_k \quad (3.4.1)$$

où N_p est le nombre total de paramètres et v_k le nombre de valeurs pour le paramètre k . Afin de limiter N_{eval} on décide de lancer l'optimisation sur $N_p = 4$ paramètres en fixant le paramètre donnant la géométrie la plus efficace des études paramétriques précédentes, c'est-à-dire le centrage C à la valeur $C = 77,8$ %. On choisit 5 valeurs pour les paramètres pouvant varier sauf pour le

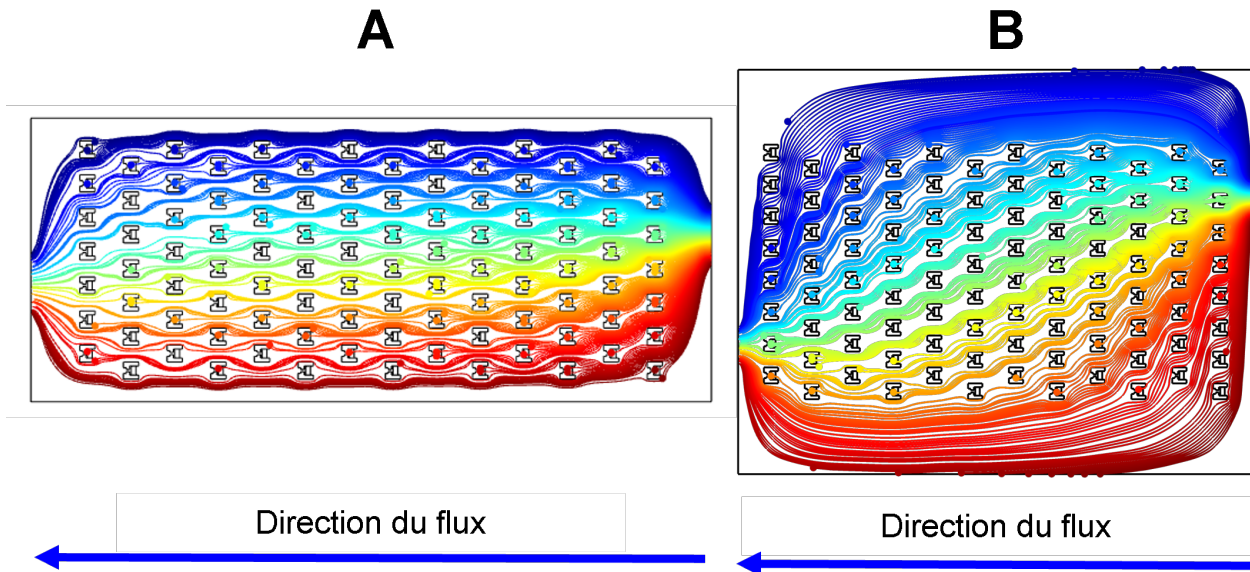


FIGURE 3.4 – Lignes de courant et positions finales des particules **A** : pour la meilleure géométrie obtenue de l'étude à un seul paramètre (pour le centrage $C = 77.8$ % optimal) et **B** : pour la géométrie avec les valeurs optimales des paramètres prises séparément. Les couleurs correspondent aux positions initiales sur la frontière d'entrée.

ratio d'aspect où on en prend 4. Cela fait donc un total de $N_{eval} = 500$ évaluations du modèle qui amène à environ 5 jours de calcul sur l'ordinateur utilisé.

La Figure 3.5A montre les lignes de courants et positions finales des particules dans la chambre avec la meilleure efficacité de remplissage : $E_{rempl} = 90$ % et une efficacité de capture : $E_{capt} = 47$ %. On peut voir qu'elle a un aspect bien plus élancé ($R_a = 0.67$) avec des canaux d'entrée plus larges et une chambre plus large que la géométrie de départ. Certains groupes de particules (orange à cyan) sont quasiment entièrement capturés. On constate sur la Figure 3.5B qu'une partie des particules initialement positionnées sur les extrémités du canal d'entrée ne sont pas piégées et contournent le réseau de pièges (rouge et bleu foncé Figure 3.5A). Il semble assez intuitif de vouloir diminuer légèrement la largeur du canal d'entrée pour concentrer un peu plus le faisceau de particules sur le réseau de piège (augmenter le débit de particules dans le réseau). Pourtant, ceci conduit à une chambre moins efficace en remplissage. De manière plus générale, cette géométrie ne semble pas afficher de caractéristique particulière expliquant intuitivement son efficacité de remplissage. Ce résultat confirme que l'optimisation géométrique de chambre microfluidique n'est pas complètement intuitif et ne peut pas être réalisé par une approche purement expérimentale. La Figure 3.5B montre la chambre avec la meilleure efficacité de capture $E_{capt} = 63$ %, son efficacité de remplissage est $E_{rempl} = 81$ %. La forme de cette chambre est en revanche assez intuitive : elle est le moins large et le moins long possible ce qui a pour effet de minimiser le nombre de particules envoyé en dehors du réseau de piège et de rapprocher le plus possible les entrées et sorties des premières rangées de pièges pour les remplir fortement. Le ratio d'aspect de cette chambre est le même que pour la précédente : $R_a = 0.67$ et le centrage C entre les deux chambres est bien entendu le même car

il s'agit du paramètre que l'on a fixé. Cette dernière chambre s'avère efficace en capture surtout parce qu'elle introduit beaucoup de particules dans les premiers pièges rencontrés. En pratique, on privilégie plutôt un remplissage le plus homogène possible en nombre de particules par pièges. C'est pourquoi, s'il fallait retenir une seule chambre sur les deux, on prendrait celle avec la meilleure efficacité de remplissage Figure 3.5A.

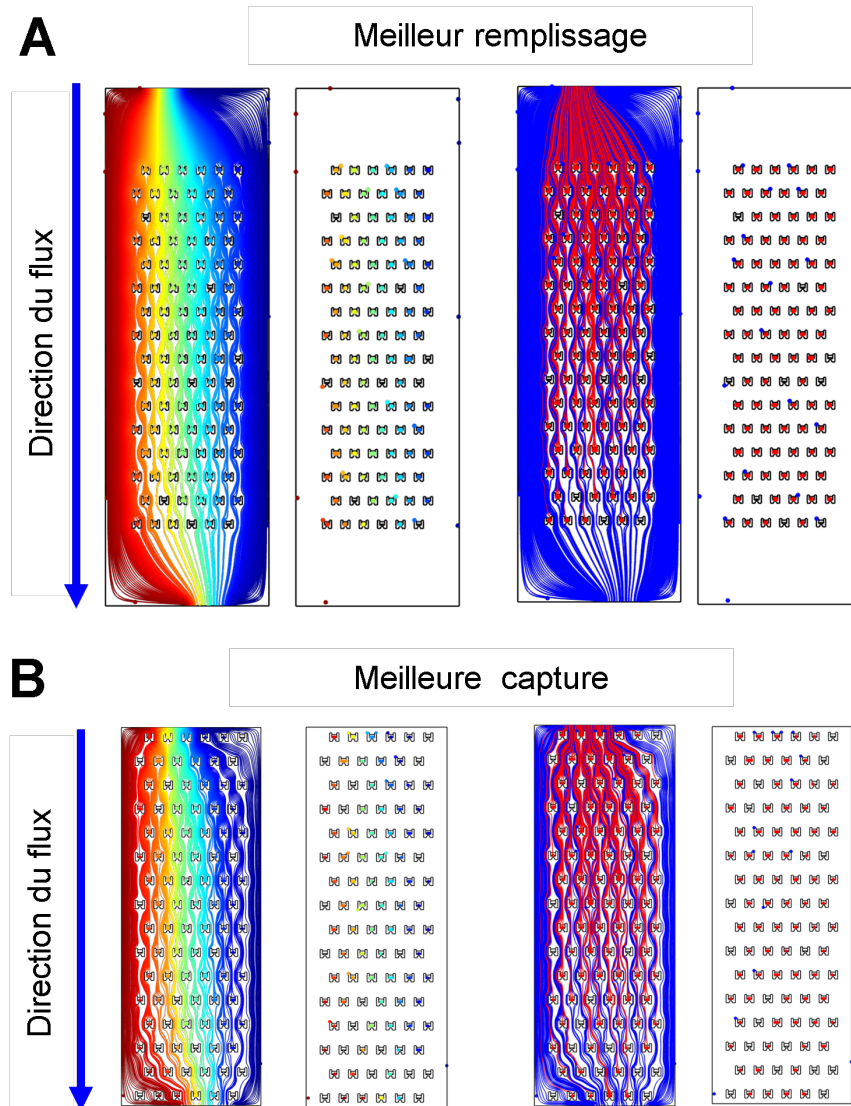


FIGURE 3.5 – Lignes de courant et positions finales des particules issues de l'étude multiparamétrique **A** : pour la chambre au meilleur remplissage **B** : pour la chambre capturant le plus de particules. Sur les images de gauche, les couleurs en arc-en-ciel correspondent aux positions initiales des particules sur la frontière d'entrée. Sur les images de droite, la couleur rouge correspond aux particules capturées et le bleu les autres.

3.4.3 Algorithmes d'optimisation

Les efficacités de capture et de remplissage obtenues avec les cinq algorithmes d'optimisation sans calcul du gradient sont présentées Tableau 3.3. On constate que les efficacités de capture sont toutes en dessous de celle obtenue par analyse multiparamétrique (63 %) de même pour l'efficacité de remplissage, sauf pour la chambre COBYLA. En revanche, la méthode Nelder-Mead offre une efficacité de capture de 61 % avec une efficacité de remplissage de 88 % qui est proche de la meilleure efficacité de remplissage de l'analyse multiparamétrique. La méthode COBYLA donne une efficacité de remplissage plus élevée que la Nelder-Mead (91 %), mais pour une efficacité de capture nettement plus faible (55 %). La chambre Nelder-Mead semble donc présenter le meilleur compromis entre capture et remplissage de l'étude. Les méthodes Nelder-Mead et COBYLA offrant les meilleures efficacités, sont toutes les deux des méthodes d'optimisation par utilisation d'un simplex. Nos résultats suggèrent donc une supériorité de ces méthodes pour l'optimisation de chambre microfluidique.

Méthode	Efficacité de capture E_{capt}	Efficacité de remplissage E_{rempl}
BOBYQA	59 %	76 %
Recherche de coordonnées	57 %	83 %
Monte Carlo	52 %	83 %
Nelder-Mead	61 %	88 %
COBYLA	55 %	91 %

TABLE 3.3 – Efficacités de capture et de remplissage pour les cinq algorithmes d'optimisation sans calcul du gradient.

Les lignes de courants et positions finales des particules pour la chambre Nelder-Mead sont représentées Figure 3.6. Elle affiche une géométrie assez proche de la chambre à meilleure efficacité de capture de l'étude multiparamétrique : une chambre relativement petite par rapport au réseau de pièges et des canaux d'entrée et de sortie relativement larges. Le décalage entre l'entrée et la sortie dans la direction transverse à l'écoulement apparaît automatiquement avec le processus d'optimisation ce qui est en cohérence avec les résultats obtenus sur chambre décalée au chapitre précédent.

3.4.4 Optimisation du réseau de pièges par le désordre

3.4.4.1 Analyse paramétrique avec répétabilité

La Figure 3.7 montre la façon dont évolue l'efficacité de capture dans une chambre à entrées et sorties symétriques (à centrage $C = 100\%$) sur dix valeurs de R_δ réparties uniformément entre 0 % et 50 % pour la chambre désordonnée à distribution uniforme et entre 0 % et 80 % pour celle à distribution normale. Les courbes moyenne, minimum et maximum correspondent à l'efficacité de capture moyenne, minimale et maximale sur les 10 géométries générées pour chaque valeur. On voit

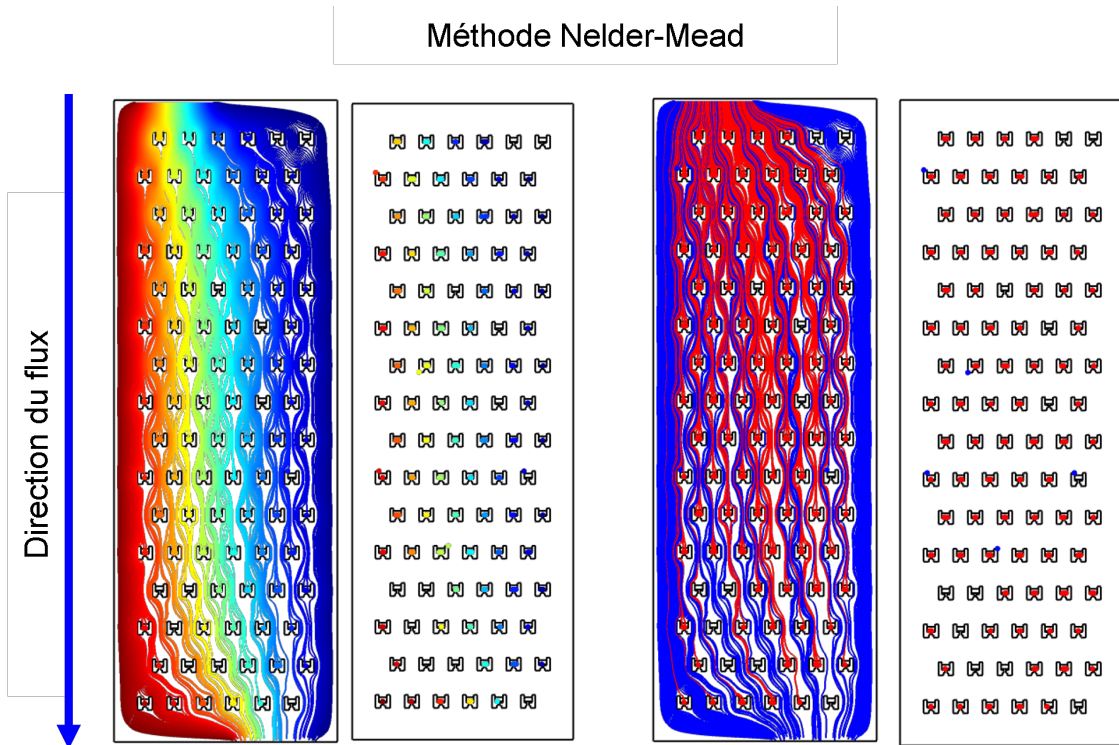


FIGURE 3.6 – lignes de courant et positions finales des particules dans la chambre optimisée par la méthode Nelder-Mead. Sur les images de gauche, les couleurs en arc-en-ciel correspondent aux positions initiales des particules sur la frontière d'entrée. Sur les images de droite, la couleur rouge correspond aux particules capturées et le bleu les autres.

tout d'abord un écart net entre la courbe maximale et minimale d'environ 5 % à 10 %. La répétabilité joue donc un rôle assez important pour l'optimisation de la géométrie à désordre. Ainsi, fabriquer une unique chambre pour un R_δ donné ne garantit pas directement une très bonne efficacité de capture : il vaudrait mieux tester plusieurs géométries reconstruites pour une même valeur de R_δ et fabriquer celle avec la meilleure efficacité de capture ou de remplissage selon l'objectif.

Au regard des courbes moyennes, on constate que l'efficacité de capture croît de manière nette pour les deux distributions puis atteint une saturation vers $R_\delta \approx 0.5$ pour la distribution normale et $R_\delta \approx 0.3$ pour la distribution uniforme. D'après les courbes des maximums de E_{capt} , les meilleures efficacités de capture sur la chambre à distribution normale sont obtenues pour $R_\delta = 0.49$ et $R_\delta = 0.8$. Les efficacités de remplissage correspondantes sont de 82 % et 86 % respectivement. Donc la meilleure chambre à distribution normale est obtenue pour $R_\delta = 0.8$ avec les efficacités $E_{capt} = 53$ % et $E_{rempl} = 86$ %. Pour la chambre à distribution uniforme, la meilleure efficacité de capture est de 55 % avec une efficacité de remplissage correspondante $E_{rempl} = 82$ %.

La Figure 3.8 montre les lignes de courants et positions finales des particules dans les deux meilleures chambres pour les distributions uniforme et normale. On constate que les motifs de remplissages obtenus par les faisceaux de particules capturées présentent des formes et tailles très irrégulières et asymétriques (lignes de courant rouges, partie droite de la Figure 3.8). On constate en particulier

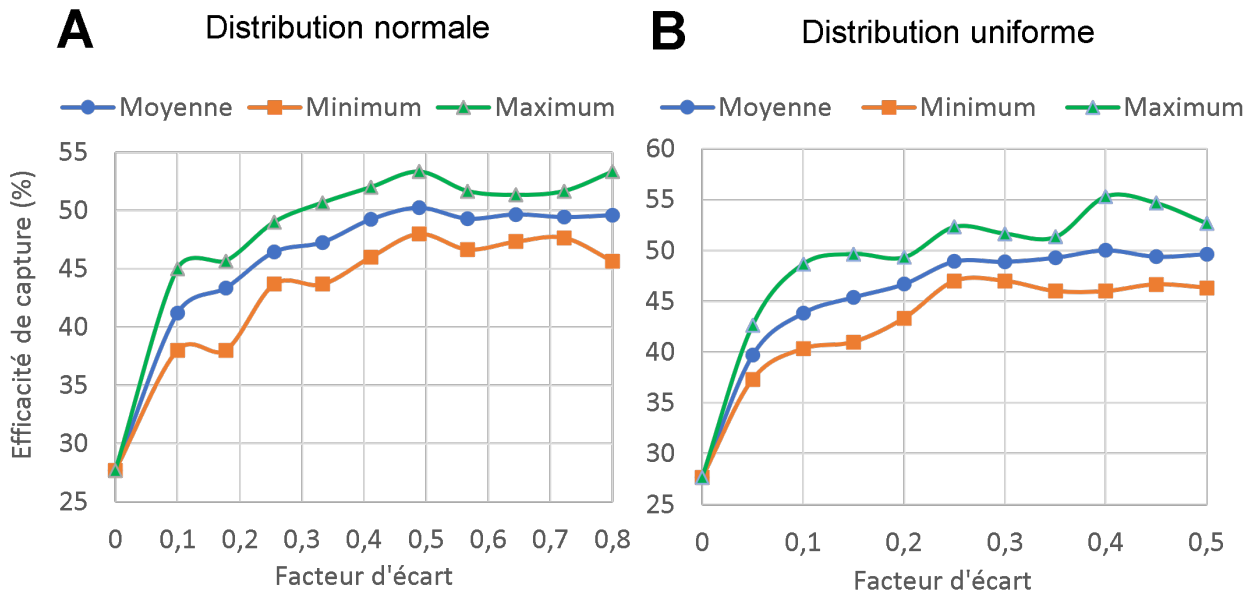


FIGURE 3.7 – Efficacité de capture de la chambre désordonnée pour 11 valeurs du facteur d'écart R_δ . Pour chaque valeur de R_δ , la simulation est répétée 10 fois en recréant la géométrie. **A** : distribution normale, **B** : distribution uniforme.

que les motifs en "zig-zag" des lignes de courants capturées sont très atténués en comparaison avec les distributions en quinconce observées précédemment. De plus, l'épaisseur des faisceaux de capture (faisceaux composés de lignes de courant rouges, partie droite de la Figure 3.8) est très variable : certains ne contiennent qu'une ligne de courant, d'autres 10. Enfin, la distribution de l'épaisseur des faisceaux de capture est aussi asymétrique : sur la Figure 3.8 A, on voit que les faisceaux épais se situent sur la partie droite de la chambre alors que sur la Figure 3.8 B, ils sont sur la partie gauche. Ces éléments semblent montrer une forte brisure de la symétrie de l'écoulement en cohérence avec les observations précédentes. En revanche, il semble très difficile d'identifier sur les motifs de remplissages un mécanisme qui expliquerait précisément pourquoi une géométrie désordonnée est plus efficace qu'une autre pour un même facteur d'écart R_δ .

3.4.4.2 Interprétation physique et régimes de dispersions

La Figure 3.9 montre l'évolution de la distance moyenne entre particules $\langle d_{part} \rangle$ en fonction du temps. Les courbes étant très semblables, il semble que l'introduction de désordre dans la chambre ne modifie que très peu le régime de dispersion. Dans les deux cas, on constate que le logarithme de la distance moyenne entre particules est une fonction affine du logarithme du temps avec une pente supérieure à $\frac{1}{2}$. Le régime de dispersion suit donc une loi de puissance plus rapide que celle du comportement Fickien, mais il ne s'agit pas non plus de régime chaotique (plus lent). L'augmentation de l'efficacité par le désordre ne semble donc pas s'expliquer par une accélération du régime de dispersion. Ce résultat nous suggère que la brisure de symétrie augmentant l'efficacité de capture n'est pas corrélée avec une accélération de la dispersion. Le fait qu'on ne retrouve pas le même

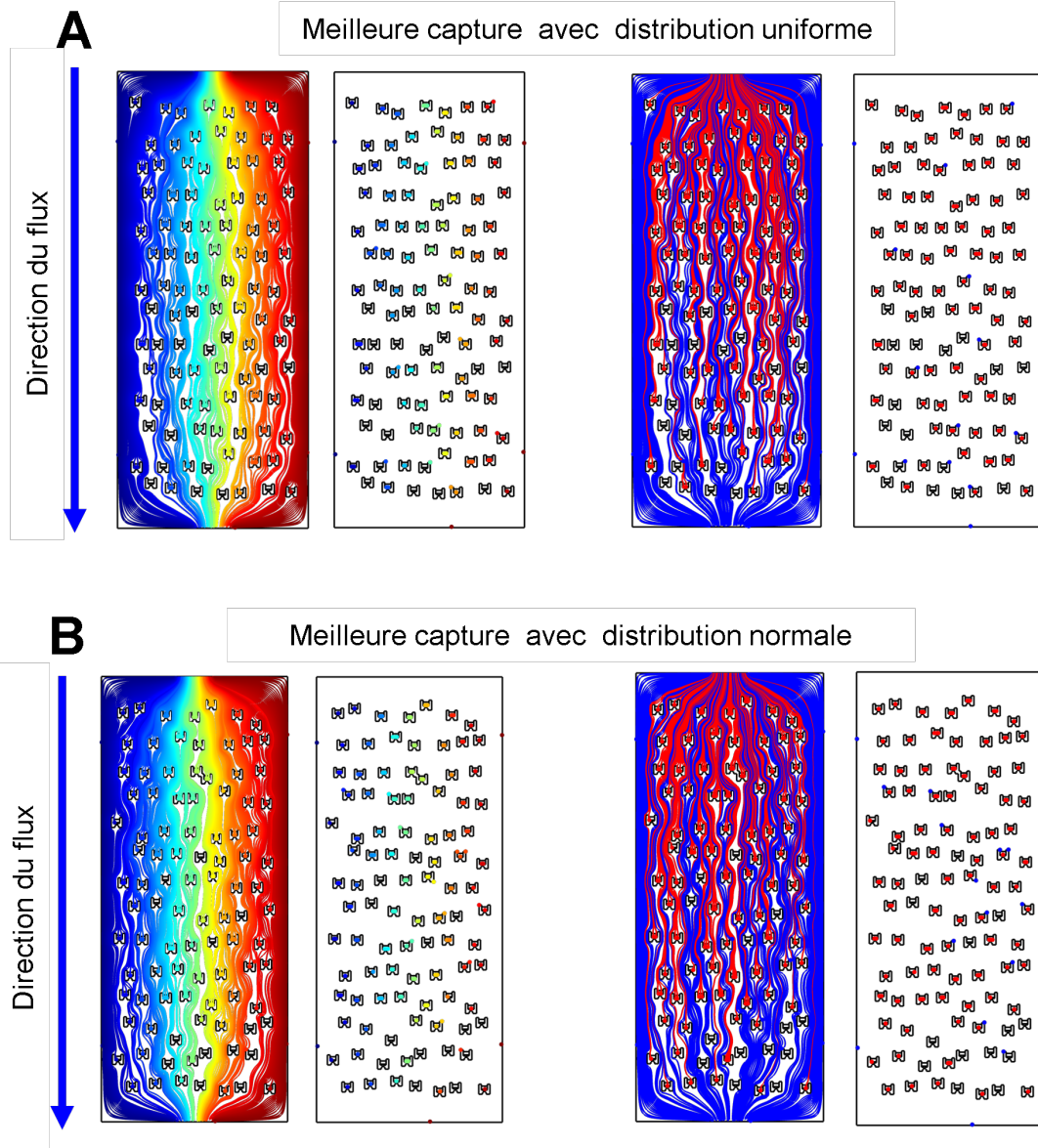


FIGURE 3.8 – Lignes de courant et positions finales des particules dans la chambre désordonnée **A** : pour la meilleure efficacité de capture avec distribution de pièges uniforme et **B** : pour la meilleure efficacité de capture avec distribution de pièges normale. Sur les images de gauche, les couleurs en arc-en-ciel correspondent aux positions initiales des particules sur la frontière d’entrée. Sur les images de droite, la couleur rouge correspond aux particules capturées et le bleu les autres.

comportement que De Anna *et al* vient probablement du fait que la distance entre les pièges (taille des pores Figure 3.1A [52]) est nettement plus faible dans [52] avec un domaine fluide beaucoup plus étroit.

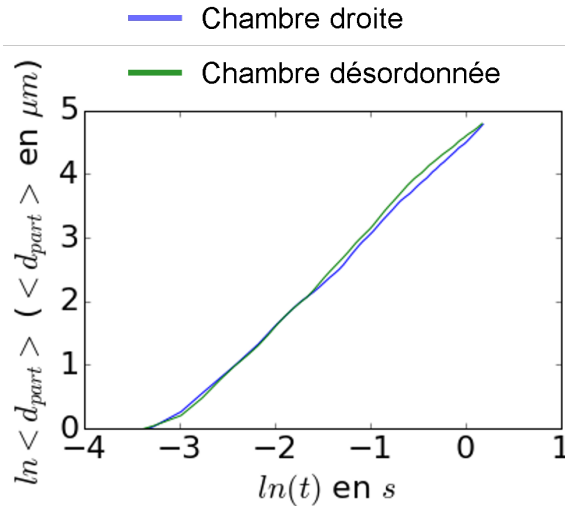


FIGURE 3.9 – Logarithme de la distance moyenne entre particules en fonction du logarithme du temps.

3.4.5 Effet de la taille du réseau de pièges

La Figure 3.10 montre les variations des efficacités de capture et remplissage en fonction du nombre de pièges pour la chambre optimisée Nelder-Mead et pour la meilleure chambre désordonnée ($R_\delta = 0.4$ et distribution uniforme). Pour éviter que le nombre de particules ait une influence sur l'efficacité de remplissage, on garde un nombre de particules égal à trois fois le nombre de pièges. Pour la chambre Nelder-Mead, on constate que E_{capt} augmente avec le nombre de pièges jusqu'à atteindre 79 %, mais E_{rempl} diminue significativement jusqu'à 62 %. Autrement dit, la chambre Nelder-Mead assure la capture de beaucoup de particules mais tend à laisser beaucoup de pièges vides. Pour la chambre désordonnée, on tire profit de la symétrie de la chambre pour agrandir le réseau de pièges dans la direction transverse à l'écoulement ce qui pourrait éviter ce problème rencontré avec la chambre Nelder-Mead. Dans ce cas, les efficacités de capture et remplissage restent assez constantes à environ 50 % et 80 % respectivement. Ainsi, la chambre désordonnée laisse quasi systématiquement passer 50 % des particules mais se remplit toujours à 80%. Elle constitue donc un outil très intéressant pour de la capture à très grand nombre de pièges comme dans [34].

La Figure 3.11 suivante affiche les remplissages des chambres Nelder-Mead et désordonnée pour leur nombre maximal de pièges testé. Dans la chambre Nelder-Mead, on retrouve un phénomène précédemment observé de "boîte vide" proche de la sortie. Cependant, cela ne se produit pas pour la même raison que dans la chambre droite symétrique du chapitre 2 précédent : quasiment toutes les particules traversant le réseau de pièges sont capturées. C'est pourquoi, garder un réseau de pièges en quinconce peut avoir ses limites quand on souhaite travailler avec un grand nombre de pièges par chambre. Dans ce cas, il semble plus intéressant de travailler avec des chambres de 100 pièges toutes connectées en parallèle sur une même puce. Dans la chambre désordonnée, la symétrie de la chambre (mais pas du réseau) provoque un remplissage assez constant dans la direction transverse à l'écoulement (verticale Figure 3.10B). La faible longueur du réseau de pièges permet d'éviter de

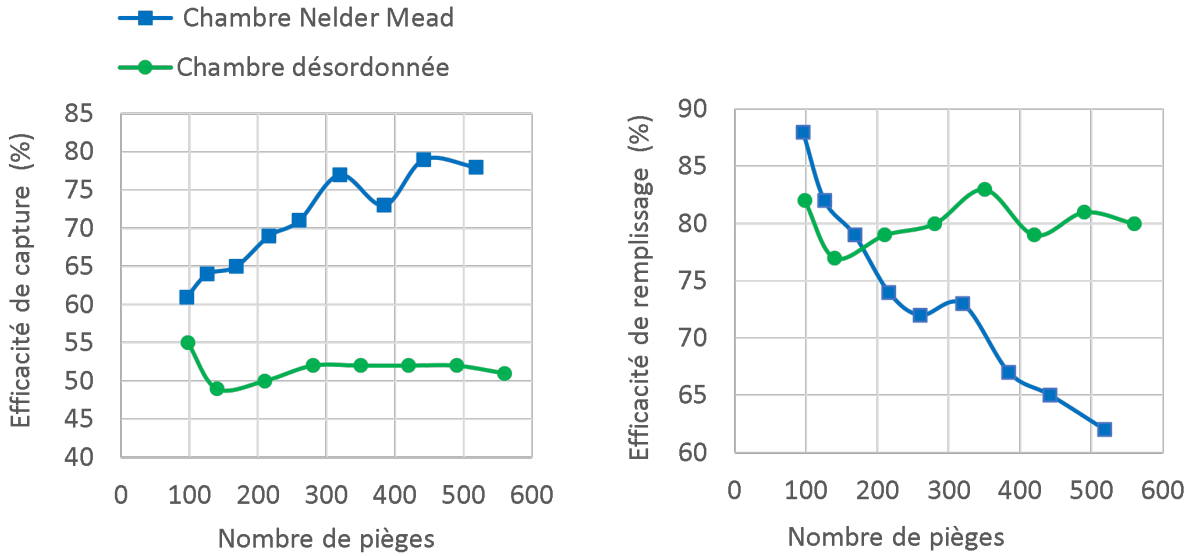


FIGURE 3.10 – Efficacités de capture E_{capt} et de remplissage E_{rempl} en fonction du nombre de pièges dans les chambres Nelder-Mead et désordonnée.

recréer le problème de la chambre Nelder-Mead tout en remplissant un grand nombre de pièges.

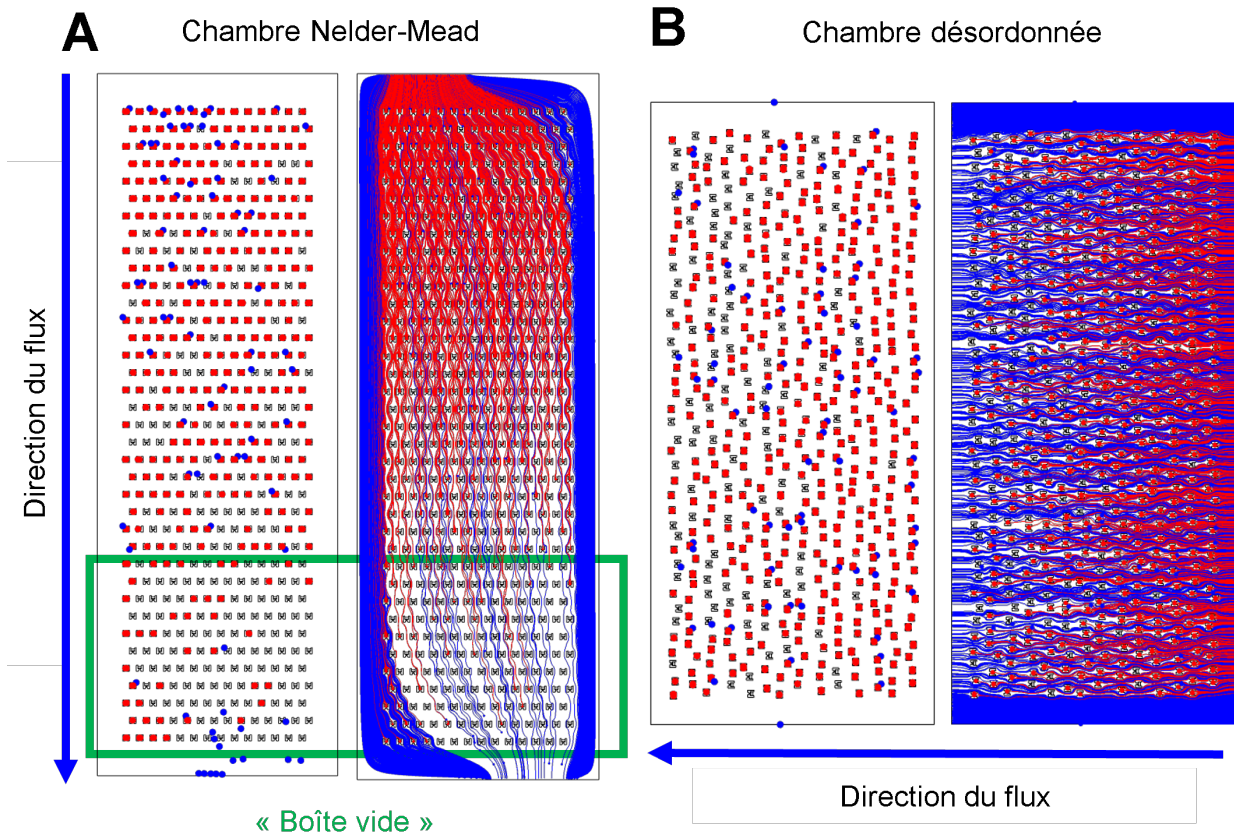


FIGURE 3.11 – Lignes de courants et positions finales des particules dans les chambres **A** : Nelder-Mead et **B** : désordonnée. La couleur rouge correspond au lignes de courant et particules capturées et la couleur bleue les autres. Les diamètres des particules ont été augmentés pour faciliter la lisibilité.

Ce dernier résultat suggère que le fait de garder une chambre symétrique tout en brisant la symétrie de l'écoulement prend un intérêt de plus en plus important avec le nombre de pièges utilisés. Ainsi, lorsqu'il s'agit de travailler sur 500 voire des milliers de pièges on préférera les chambres désordonnées.

3.5 Évaluation expérimentale préliminaire

On propose ici un début d'étude expérimentale visant à mesurer l'efficacité de remplissage de certaines chambres obtenues précédemment. Les résultats sur l'optimisation par la méthode Nelder-Mead et sur la taille des réseaux de pièges ont pu être obtenus après cette étape expérimentale. Les meilleures chambres que l'on avait à ce moment de l'étude sont : la chambre obtenue par analyse multiparamétrique et une chambre désordonnée d'efficacité de remplissage 80 % pour un rapport d'écart $R_\delta = 30\%$ d'où son aspect moins désordonné que sur les figures précédentes.

3.5.1 Conception des puces

Les géométries obtenues numériquement sont exportées en format lisible par un logiciel de CAO sur lequel on peut dessiner la puce entière. Après réflexion, on choisit d'utiliser une puce avec quatre chambres disposées en parallèle comme proposé par Di-Carlo *et al* dans la littérature [22]. Les canaux sont arrangés de manière symétrique dans la puce afin que chaque canal ait la même résistance hydraulique. Pour simplifier l'utilisation de la puce, les canaux sont connectés à une unique entrée et sortie. Les géométries des puces étant différentes, elles n'ont pas la même résistance hydraulique. On dispose uniquement de régulateurs de pression, donc pour avoir le même débit de particules dans chaque puce et des cinétiques de remplissages comparables, il faut imposer des pressions différentes dans les puces. Pour déterminer ces différences de pressions, on importe les géométries des puces (de la CAO) sur Comsol Multiphysics et on impose le débit voulu par une condition limite d'"écoulement entièrement développé" qui signifie qu'on impose un profil de vitesses de Poiseuille correspondant au débit voulu sur la frontière d'entrée de la puce. Enfin, on mesure la différence de pression correspondante : 60 mbar pour la chambre issue de l'optimisation multiparamétrique et 80 mbar pour la chambre désordonnée pour un débit de solution $Q = 0,5 \mu L \text{ min}^{-1}$ dans une chambre (c'est-à-dire $Q_e = 2 \mu L \text{ min}^{-1}$ dans une puce).

3.5.2 Une brève description du procédé de fabrication

Les procédés de mise en forme des produits sont nombreux et peuvent être catégorisés de manières différentes (taille des séries de pièces, nature des matériaux utilisables, dimensions des pièces, état de la matière lors de sa mise en forme...) Dans cette section, on se contente d'expliquer brièvement le procédé de fabrication utilisé : la photolithographie. Tout comme le moulage et l'injection plastique rencontrés dans l'industrie, il s'agit d'un procédé mettant en forme les pièces à l'état liquide à partir d'un polymère thermoplastique sur de petites séries de pièces (une à quelques dizaines par série). L'application finale du système microfluidique étant de capturer des cellules et de les observer, le polymère utilisé doit-être : bio-compatible, transparent et perméable à l'oxygène. Un matériaux faisant relativement consensus aujourd'hui pour ces caractéristiques est le Polydiméthylsiloxane (PDMS) [82] que l'on choisit pour construire les puces. Comme tout procédé de type moulage, la photolithographie nécessite deux opérations majeures : la fabrication du moule et celle des pièces à partir du moule.

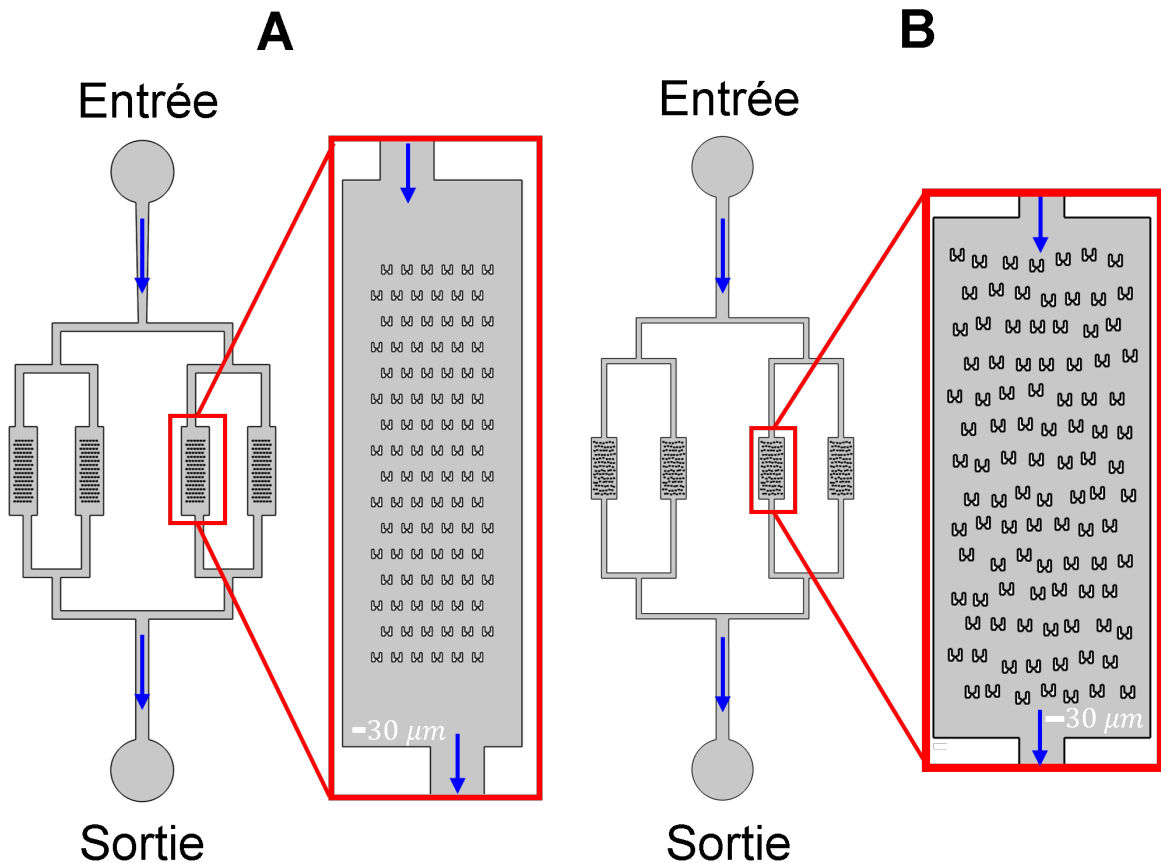


FIGURE 3.12 – Géométries des puces utilisées pour les expériences de remplissage. **A** : chambre optimisée. **B** : chambre désordonnée.

3.5.2.1 Fabrication du moule

À partir du dessin CAO de la chambre, on peut usiner au laser un négatif de la puce sur une plaque en chrome opaque aux rayons ultraviolets (UV) que l'on appelle "photo-masque" (il existe aussi des photo-masques polymères réservés aux pièges de dimensions moins faibles). La seconde étape consiste à obtenir un disque de résine photo-sensible dont la hauteur est celle voulue pour la puce. Pour ce faire, on dépose une certaine quantité de résine liquide sur un disque en silicium appelé "wafer". Pour obtenir la bonne hauteur de résine, le wafer est placé sur une plateforme circulaire tournante. Par force centrifuge, la résine s'étale uniformément sur le wafer à la hauteur voulue en fonction de la vitesse de rotation et de la viscosité de la résine ("spin coating", étape A Figure 3.13). Ensuite, le wafer avec la couche de résine sont positionnés précisément dans une machine en vis-à-vis du photo-masque. Une lumière UV est projetée sur le masque ne laissant passer les UV qu'à travers le motif du masque (étape B Figure 3.13). Ainsi, seule la partie de la couche de résine en vis-à-vis du photo-masque est exposée aux UV. La partie non-exposée de la résine est retirée par ajout de solvants (étape C de développement, Figure 3.13). La partie restante de la résine avec le wafer constitue le moule que l'on utilise par la suite.

3.5.2.2 Fabrication des puces microfluidiques

Une fois le moule fabriqué, le PDMS est coulé sur le moule (étape D Figure 3.13, nous n'utilisons pas de noyau dans notre cas) puis est solidifié. Le PDMS solidifié est ensuite décollé du moule et les puces sont séparées les unes des autres (plusieurs puces par série) par découpe manuelle au scalpel et les entrées et sorties sont percées manuellement sur chaque puce. Enfin, la puce est fermée en collant au plasma une lame de verre sur la face initialement en contact avec le wafer avant démoulage (étape E Figure 3.13).

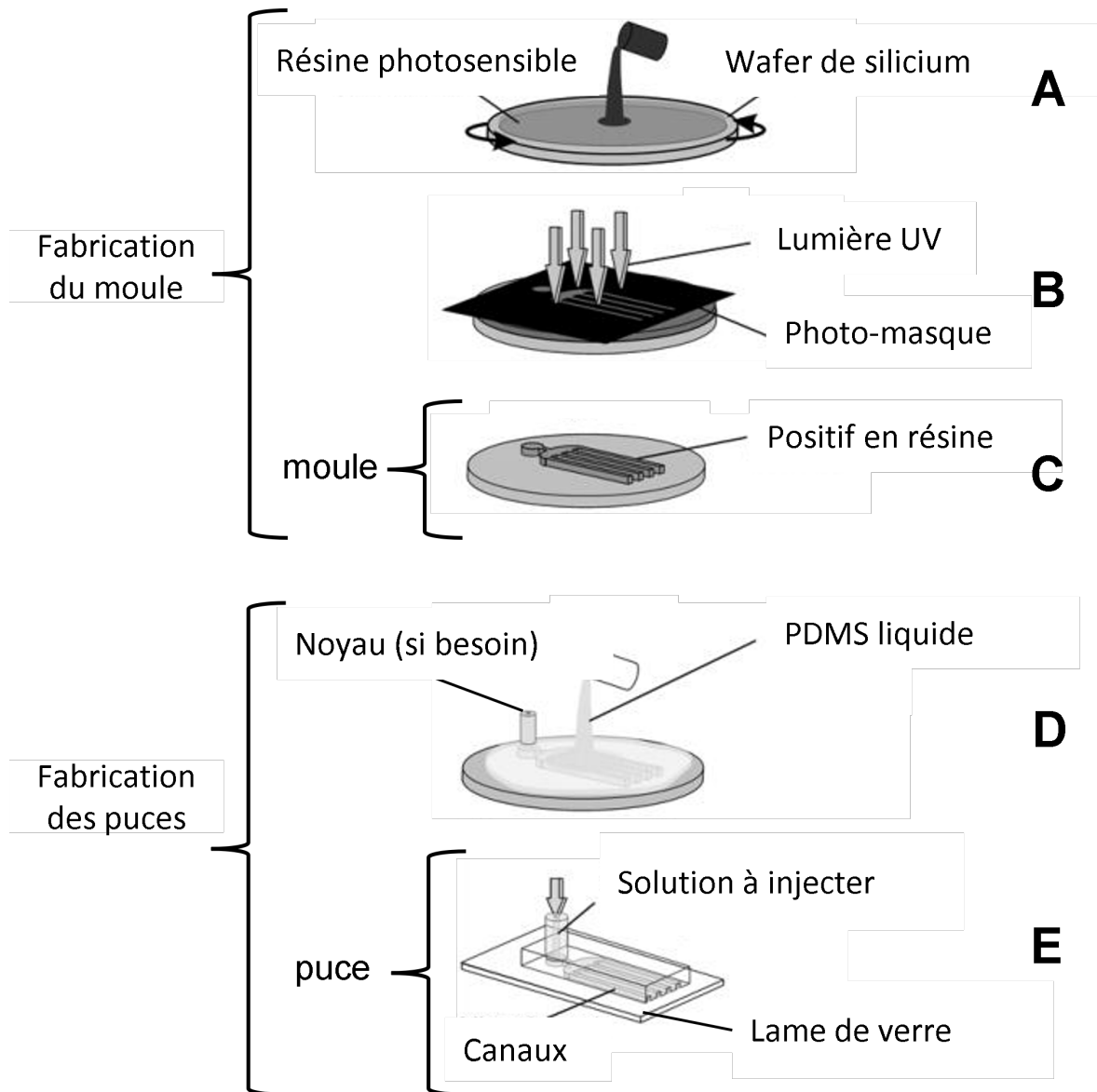


FIGURE 3.13 – Principe du procédé de photolithographie. **A** : spin coating de résine photosensible sur wafer de silicium. **B** : exposition de la résine aux UV sur le motif délimité par le photo-masque. **C** : la résine non-exposée aux UV est retirée par certains solvants. **D** : le PDMS liquide est coulé sur le moule. **E** : le PDMS est démoulé, les puces sont séparées et les circuits de chaque puce sont fermés en collant au plasma une lame de verre sur la partie inférieure de la puce (la partie en contact avec le moule avant démoulage). Image adaptée de [45].

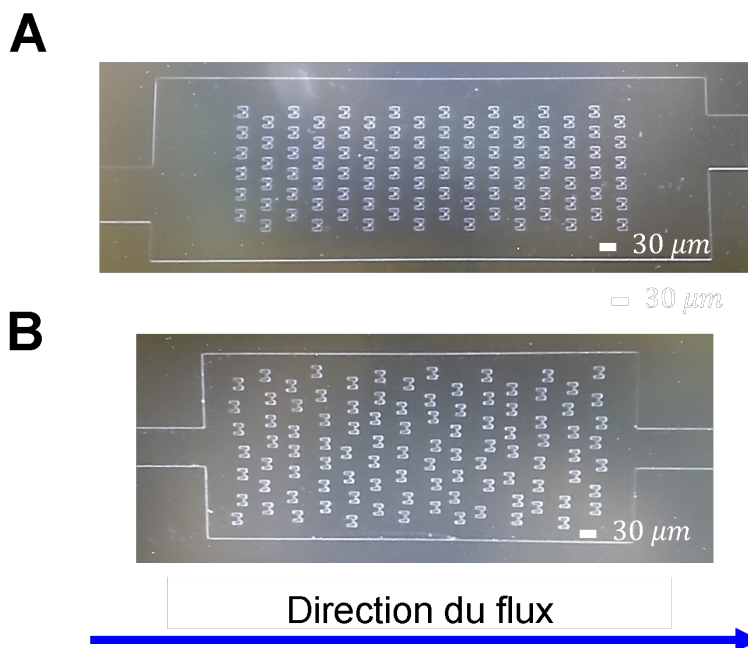


FIGURE 3.14 – Chambres optimisée et désordonnée observées à la loupe binoculaire après fabrication par le procédé de photolithographie. **A** : chambre optimisée. **B** : chambre désordonnée.

3.5.3 Expériences de remplissage

Directement après fabrication, on injecte une solution de tensioactifs (F-68) pour éviter les effets capillaires au moment de l'injection de la solution à particules. À la loupe binoculaire, on vérifie visuellement que la qualité des pièges est suffisante pour mener à bien les manipulations (dimensions, aspect). On prépare une solution de particules de $5 \mu\text{m}$ de diamètre à une concentration de 10^6 mL^{-1} dans un eppendorf que l'on fixe sur une petite étagère mobile (Figure 3.15A). On branche un câble entre la solution à particules et le régulateur de pression (Figure 3.15C) ainsi qu'un autre câble sur la solution à particules avec une aiguille à son extrémité pour l'insérer sur l'entrée de la puce (Figure 3.15B). La sortie est branchée sur un petit réservoir pour récupérer la solution. En positionnant l'étagère à la hauteur de la platine du microscope (Figure 3.15A), on peut facilement jouer sur la pression hydrostatique pour laisser sortir une petite goutte au bout de l'aiguille du câble que l'on branche à ce moment (pour éviter les bulles). On lance ensuite l'acquisition des images avec une image toutes les 5 secondes sur le microscope avec fluorescence et sans fluorescence. Enfin, on impose la pression voulue sur le régulateur de pression.

3.5.4 Résultats

La Figure 3.16 montre l'évolution du remplissage au cours du temps dans les chambres optimisée et à réseau désordonné. On considère que le remplissage commence à la première image où apparaissent des particules dans le réseau de pièges (images à $t = 0 \text{ s}$). On constate qu'un état stationnaire apparaît au bout de 60 s de remplissage. Au-delà, on observe une baisse du débit

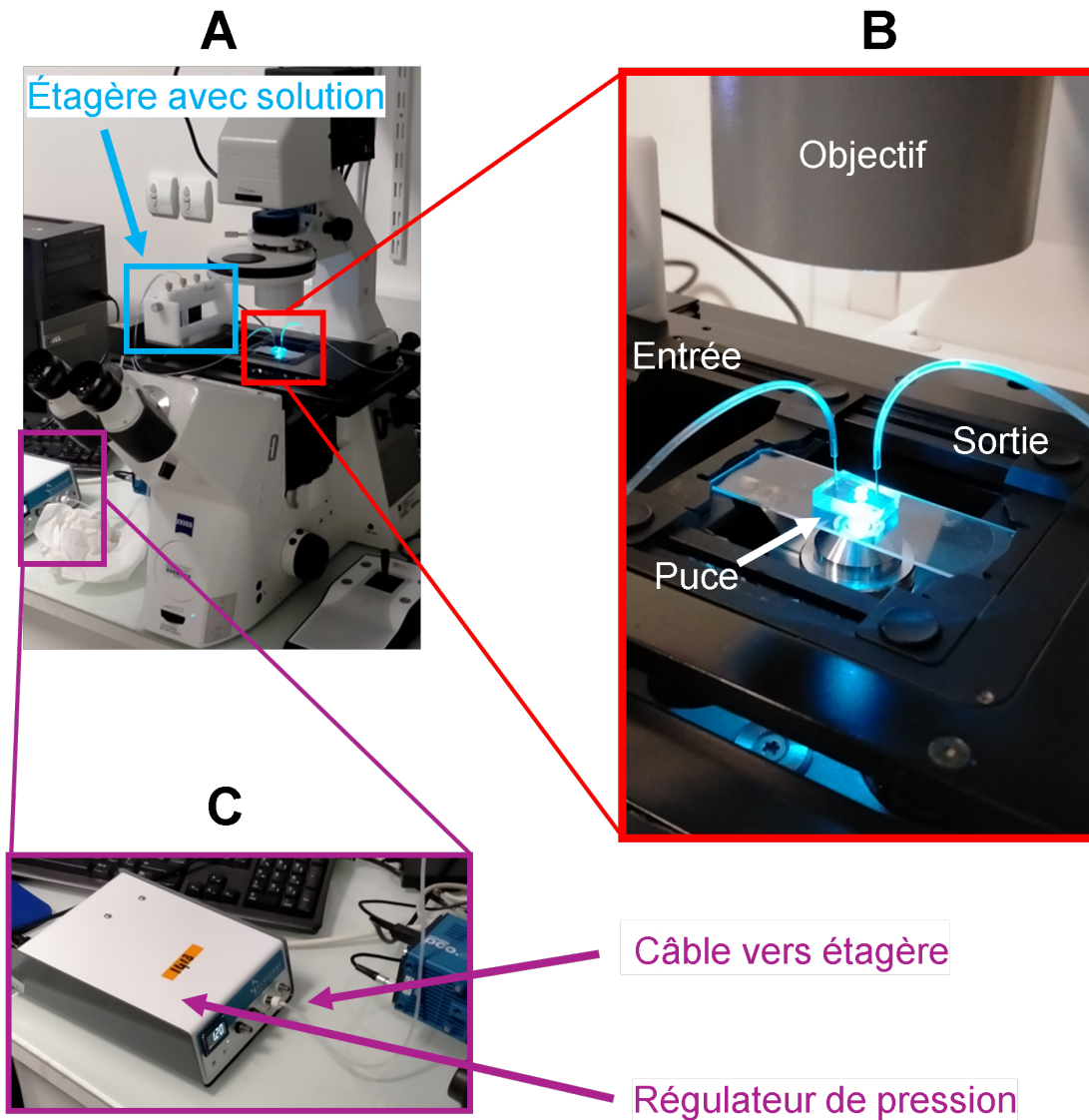


FIGURE 3.15 – Dispositif expérimental. **A** : vue globale de l’installation avec le microscope optique utilisé, on utilise un grossissement X 10. **B** : zoom sur la puce connectée avec l’étagère en entrée et un réservoir en sortie. **C** : zoom sur le régulateur de pression utilisé et la câble mettant sous pression la solution à particules sur l’étagère.

de particules (environ 2 particules circulant en même temps dans les chambres au lieu de 8). Ce phénomène est probablement dû à la sédimentation des particules. On n’observe cependant pas de sédimentation de particules dans les canaux des puces testées, on suppose donc que la sédimentation apparaît au niveau des jonctions entre les câbles et la puce là où on ne peut pas la constater.

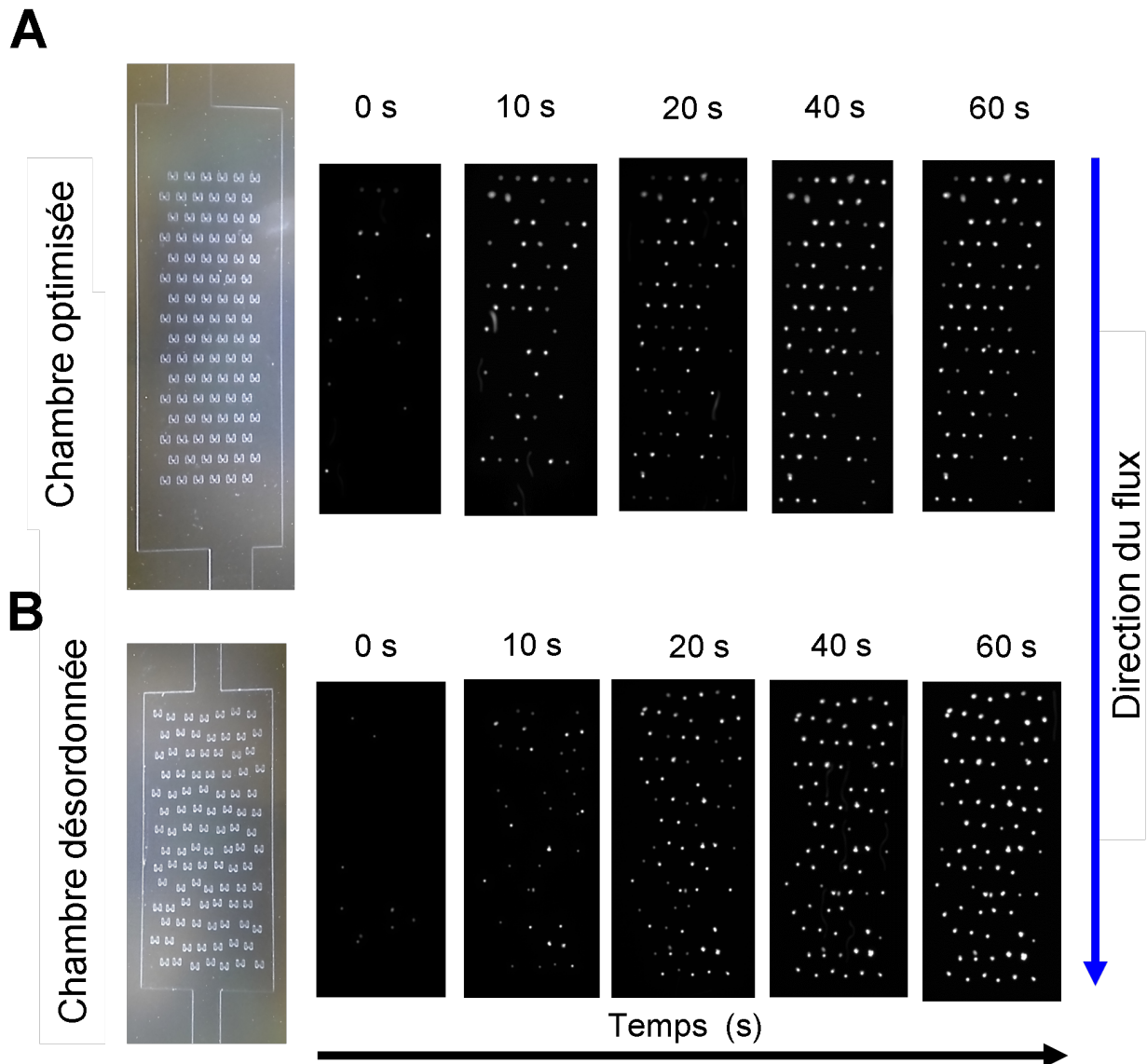


FIGURE 3.16 – **A** : chambre optimisée observée à la loupe binoculaire avec son remplissage au cours du temps. **B** : chambre désordonnée observée à la loupe binoculaire avec son remplissage au cours du temps.

Les images des remplissages stationnaires sont ensuite importées sur le logiciel ImageJ où on définit un carré de taille fixe que l'on duplique et centre sur les pièges. On calcule la moyenne de l'intensité des pixels contenus dans le carré pour chaque piège et cela donne les matrices de remplissage présentées Figure 3.17B et C. Les matrices binaires sont présentées Figure 3.17B elles sont obtenues par seuillage des intensités mesurées sur ImageJ et présentent une valeur 1 si le piège est occupé, 0 sinon. Cette matrice permet la quantification directe de l'efficacité de remplissage. Les efficacités de remplissage expérimentales sont : 77 % pour la chambre optimisée et 80 % pour la chambre désordonnée. Cela fait un écart réel/modèle de 13 % pour la chambre optimisée et de 2 % pour la chambre désordonnée ce qui démontre globalement une bonne correspondance entre le réel et le modèle. Cependant, pour avoir une vraie valeur à comparer avec l'expérience, il serait nécessaire

de reproduire la manipulation un grand nombre de fois et effectuer une moyenne de l'efficacité de remplissage comme Di Carlo *et al* [22]. C'est pourquoi ces résultats expérimentaux font plus état du potentiel intéressant d'un réseau de piège désordonné qu'une réelle validation expérimentale.

Les matrices d'intensités Figure 3.17C montrent les intensités moyennes mesurées par piège sur imageJ. À l'oeil, il semble qu'on puisse distinguer très approximativement des niveaux discrets d'intensités qui pourraient représenter le nombre de particules par piège. Le tracé des histogrammes d'intensités semble montrer nettement des bandes d'intensités représentant ces différents niveaux sur les faibles intensités. En revanche, passé deux particules par piège, les niveaux d'intensités semblent indissociables. Une explication simple de ce problème est le chevauchement des particules dans les pièges dans la direction d'observation au microscope. Ainsi, certaines particules cachent les autres et les intensités lumineuses ne peuvent se sommer. Le calcul des intensités ne permet donc pas directement de déterminer le nombre de particules par piège. Une solution serait d'appliquer la même méthode que Mesdjian *et al* [72] : parcourir toutes les images et détecter les fronts montants de l'intensité mesurée dans les carrés. À chaque saut correspond l'arrivée d'une particule, le nombre de particules par piège correspond donc au nombre de fronts montants détectés par pièges par piège.

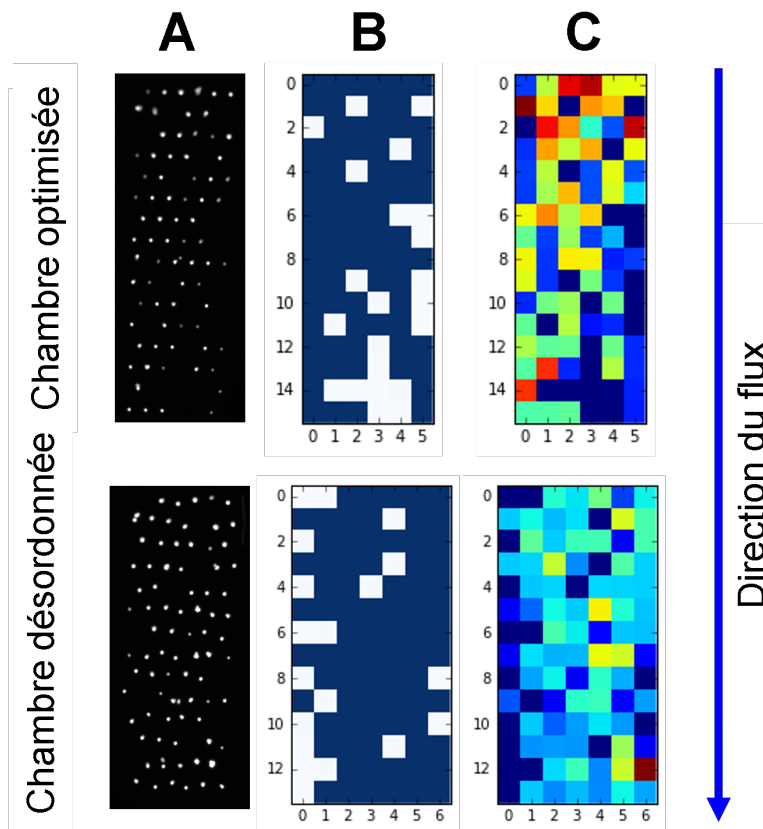


FIGURE 3.17 – remplissage stationnaire. **A** : image en fluorescence à $t = 60 s$ de remplissage. **B** : matrice binaire de remplissage pour les deux chambres. **C** : matrice de remplissage par mesure moyenne de l'intensité lumineuse

3.6 Conclusion

Dans ce deuxième chapitre, on réalise une étude d'optimisation d'une chambre à réseau de pièges 2D rectangulaire. Ce type de réseau de pièges est assez largement utilisé dans la littérature quand il s'agit de travailler avec beaucoup de pièges (au moins 100 par chambre). Dans la littérature, il existe assez peu d'études cherchant à optimiser la géométrie d'une chambre pour son efficacité de capture et ces études se limitent à des analyses paramétriques simples. De plus, nous n'en avons trouvé aucune portant sur des réseaux de pièges 2D avec un grand nombre de pièges. Pourtant, ce type de réseau de pièges peu encore grandement être amélioré [36]. Dans cette étude, on essaie trois façons d'optimiser la géométrie du système : avec des études paramétriques (simple et multiparamétrique), des algorithmes d'optimisation et introduire du désordre dans le réseau de pièges. Les résultats montrent à la fois par l'étude paramétrique et par l'optimisation que la géométrie de la chambre la plus efficace reproduit un écoulement oblique comme découvert en expériences et en simulations au chapitre 2 précédent, mais avec un faisceau de particules plus concentré sur le réseau de pièges et des canaux d'entrée/sortie plus larges. On peut également trouver une chambre très efficace en gardant une chambre symétrique avec un réseau de pièges désordonné. L'avantage qu'offre cette dernière géométrie est que son efficacité de capture de 50 % et de remplissage de 80 % sont conservées en grandissant la taille du réseau de piège dans la direction transverse à l'écoulement ce qui n'est pas le cas pour la chambre obtenue par algorithme d'optimisation où l'efficacité de remplissage décroît fortement avec le nombre de pièges. On propose enfin une étude expérimentale préliminaire pour évaluer l'efficacité de remplissage de nos chambres. L'efficacité de remplissage de la chambre désordonnée a pu être retrouvée, ce qui démontre un très bon potentiel pour le réseau de piège désordonné. Cependant, plus de manipulations sont à réaliser pour envisager une réelle validation de l'étude l'optimisation.

3.7 Informations supplémentaires

3.7.1 Photo-masque et wafer de silicium

La Figure 3.18 montre le photo-masque (A) utilisé pour le procédé de photolithographie et le wafer de silicium (B) utilisé comme moule pour fabriquer les puces.

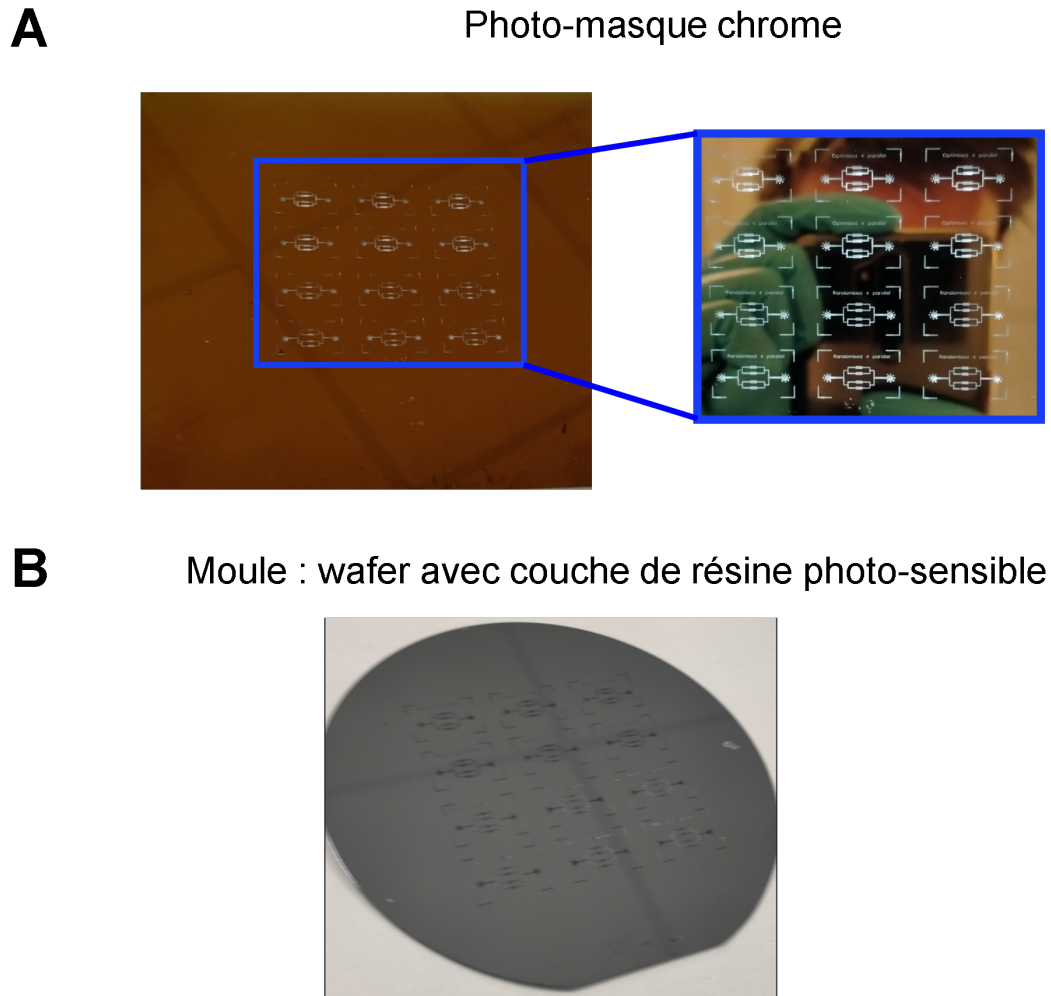


FIGURE 3.18 – **A** : photo-masque chrome. **B** : wafer de silicium avec la fine couche de $14 \mu m$ de résine servant de moule pour le PDMS.

Chapitre 4

Cisaillement subi par les cellules capturées

Ce travail a été réalisé en collaboration avec Jacques Fattaccioli (IPGG) et Léa Pinon (IPGG). Dans cette étude, on s'intéresse plus précisément à l'action mécanique du fluide porteur sur des cellules capturées et mises en contact avec des gouttes préalablement isolées dans le même piège. Pour ce faire, on construit un modèle numérique hydrodynamique 3D d'une goutte et d'une cellule, en contact et capturées dans un piège. Pour définir ce modèle, on utilise les résultats du chapitre précédent.

4.1 Introduction

Dans le corps humain (et animal de manière plus générale), de nombreux tissus sont en contact avec des fluides en écoulement. Lorsqu'un fluide est en contact avec une paroi solide, il exerce une action mécanique sur celui-ci (et réciproquement). Pour un fluide visqueux, cette action mécanique peut se décrire localement par une contrainte de pression (normale) du fluide et une contrainte de cisaillement directement liée à la viscosité dynamique et au taux de déformation du fluide. Il en est de même pour tout tissu ou cellule en contact avec un fluide. Les cellules animales ont particulièrement montré une certaine sensibilité au cisaillement du fait de leur membrane plasmique fine en plus de leur taille relativement grande [11]. L'effet du cisaillement a d'abord été étudié *in vivo* sur les globules rouges [3] dans les vaisseaux sanguins, plus tard sur des cellules endothéliales [13], tumorales (Hela) [2], des voies respiratoires [29], des ostéoblastes [56]... L'étude du cisaillement sur les cellules immunitaires est apparue d'abord sur des lymphocytes T [7], puis des granulocytes neutrophiles [55]... Les résultats de ces études montrent d'une manière assez générale que la contrainte de cisaillement a un effet sur le comportement biologique de la cellule : modification du taux de prolifération, du volume, du métabolisme et de la perméabilité de la membrane plasmique. Ces effets peuvent-être bénéfiques ou délétères à la vie de la cellule [11].

Il apparaît alors nécessaire de pouvoir estimer la contrainte de cisaillement qui s'exerce sur les lymphocytes B capturés dans le système microfluidique afin de reproduire une expérience dans des conditions de cisaillement comparables à celles des ganglions lymphatiques où la synapse immunologique B se produit. Dans la littérature, nous n'avons pas trouvé d'article directement portant sur le cisaillement subi par les lymphocytes B. Cependant, on a pu dégager deux études s'intéressant aux

écoulements dans le système lymphatique : Dixon *et al* [23] ont pu quantifier le cisaillement dans des vaisseaux lymphatiques de rats et Jafarnejad *et al* [61] ont obtenu par simulation numérique une estimation du cisaillement dans les ganglions lymphatiques de souris. Cette dernière étude donne un premier point de comparaison pour le calcul du cisaillement des lymphocytes B dans le système microfluidique. Dans ce chapitre, on propose une adaptation du modèle précédent (chapitre 3) pour accéder au cisaillement fluide subi par les lymphocytes B utilisés expérimentalement. Dans un premier temps on s'intéresse aux courbes isobares issues du modèle hydrodynamique 2D des chambres utilisées pour définir un modèle local 3D de l'écoulement autour d'un lymphocyte en contact avec une goutte dans un piège microfluidique. À partir de ce modèle, on quantifie la contrainte de cisaillement sur le lymphocyte et la résultante des forces fluide sur celui-ci. Cette dernière information sera utile dans le chapitre suivant (chapitre 5).

4.2 Différence de pression aux bornes d'un piège

À partir des résultats des simulations précédentes (chapitre 3), on peut tracer les lignes isobares dans les chambres Nelder-Mead et désordonnée (Figure 4.1). On identifie les positions des pièges recevant la plus grande différence de pression Δp_{max} , ce qui donne un encadrement des différences de pressions aux bornes des pièges dans chaque chambre. Pour la chambre Nelder-Mead, on trouve $\Delta p_{max} = 8 \pm 1 Pa$ et pour la chambre désordonnée $\Delta p_{max} = 9 \pm 1 Pa$ au niveau des mi-distances entre les pièges adjacents (cadres bleus Figure 4.1). À partir de ces différences de pression, on peut définir un modèle local de l'écoulement autour d'une cellule et d'une goutte dans un piège.

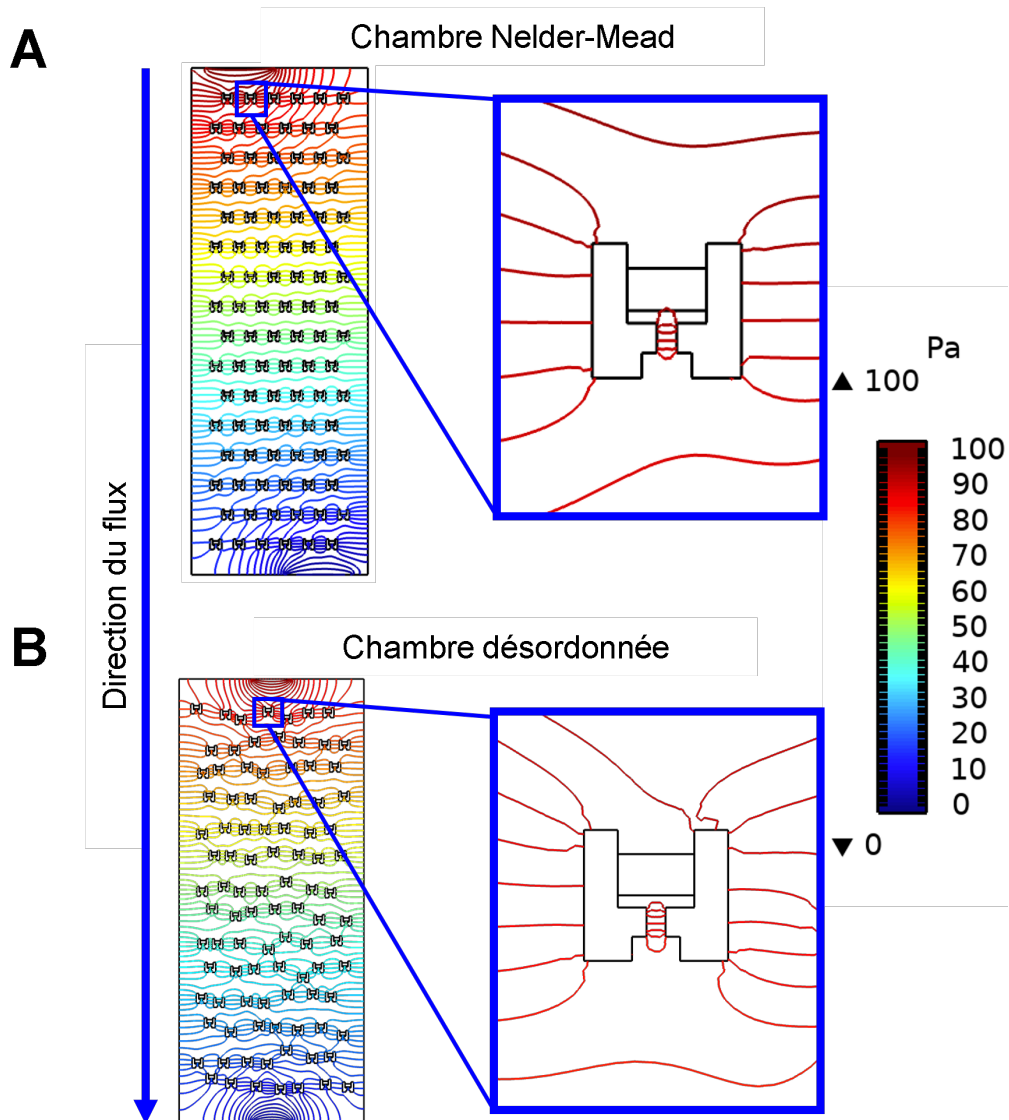


FIGURE 4.1 – Courbes isobares tous les 1 Pa dans les chambres **A** : optimisée par la méthode Nelder-Mead et **B** : optimisée par le désordre (distribution uniforme à $R_\delta = 0.4$).

4.3 Modèle de l'écoulement autour d'une goutte et d'une cellule capturées

4.3.1 Géométrie paramétrée

L'étude de la contrainte de cisaillement exercée par le fluide sur la synapse nécessite de décrire sa géométrie en trois dimensions. L'objectif étant d'estimer la contrainte fluide pariétale sur la cellule, il ne semble pas nécessaire de prendre en compte la déformabilité de la cellule et de la goutte. On modélise alors la synapse par l'union de deux sphères rigides de même diamètre centrées sur l'axe de symétrie du piège (première approximation). Le piège est construit à partir d'opérations de CAO usuelles en respectant ses dimensions nominales (Chapitre 2). Le domaine de la chambre est délimité par un parallélépipède centré sur le piège. Ses dimensions sont réglées pour que ses extrêmités correspondent à la mi-distance entre ce pièges et les pièges adjacents du réseau et sa hauteur est la même que celle de la chambre ($14 \mu m$). Cette définition du domaine de la chambre est une seconde approximation dans le cas de la chambre désordonnée où il est possible que les pièges adjacents soient plus proches. Le domaine Ω_f est défini par la différence entre le domaine de la chambre et celui du piège avec la cellule et la goutte.

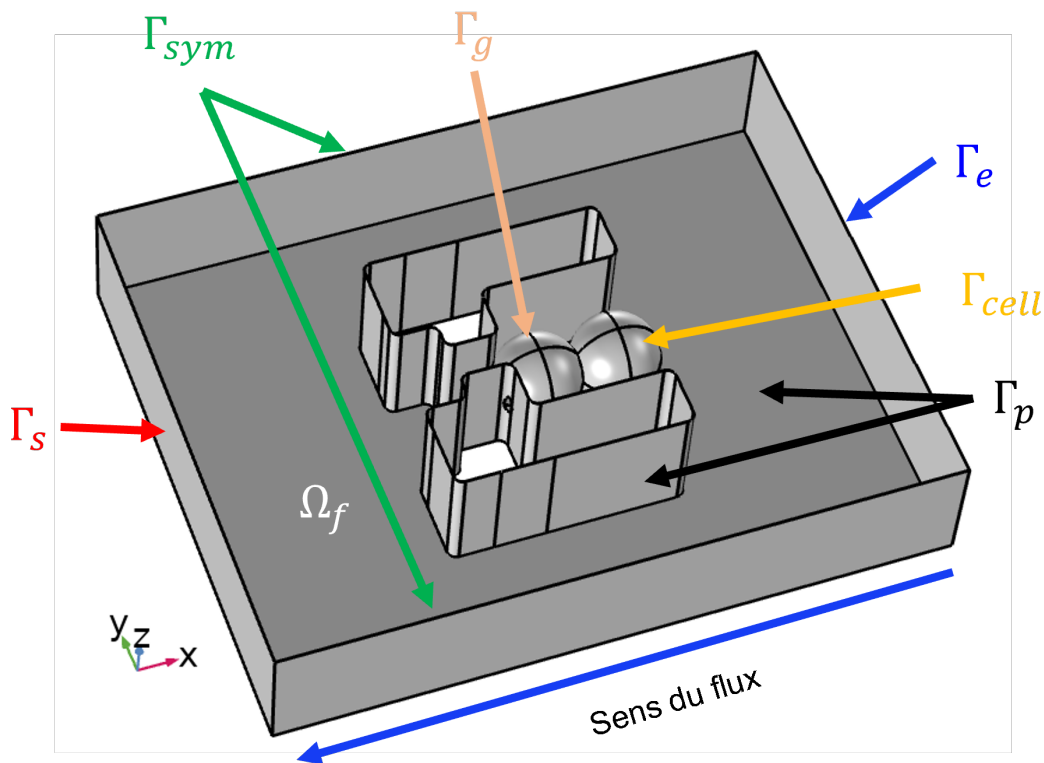


FIGURE 4.2 – Géométrie du modèle d'hydrodynamique de l'écoulement dans un piège autour d'une goutte et une cellule considérées rigides.

4.3.2 Physique et stratégie de résolution

Les conditions d'écoulement sont les mêmes que dans le chapitre 3 précédent : écoulement laminaire, stationnaire, incompressible et à fluide newtonien. Dans le cadre de ces hypothèses, le jeu d'équations du problème reste celui de Stokes incompressible mais sans considérer l'approximation du canal peu profond :

$$\begin{cases} -\nabla p + \mu \nabla^2 \underline{v} = \underline{0} & \text{dans } \Omega_f \\ \nabla \cdot \underline{v} = 0 & \text{dans } \Omega_f \end{cases} \quad (4.3.1)$$

La connaissance du champ de vitesse et de pression permet le calcul du tenseur des contraintes de Cauchy $\underline{\sigma}$ du fluide. Pour un fluide newtonien en écoulement incompressible, $\underline{\sigma}$ s'écrit :

$$\underline{\sigma} = -p \underline{I} + 2\mu \underline{D} \quad \text{dans } \Omega_f \quad (4.3.2)$$

où \underline{I} est le tenseur identité, et \underline{D} le tenseur des taux de déformation eulérien défini par :

$$\underline{D} = \frac{1}{2}(\underline{\nabla v} + \underline{\nabla v}^T) \quad \text{dans } \Omega_f \quad (4.3.3)$$

4.3.2.1 conditions limites

On effectue une troisième approximation sur les conditions limites en considérant un écoulement symétrique correspondant à la différence de pression obtenue section précédente :

$$\begin{cases} p = \Delta p & \text{sur } \Gamma_e \\ p = 0 & \text{sur } \Gamma_s \end{cases} \quad (4.3.4)$$

Sur les frontières Γ_c en contact avec le reste de l'écoulement, on impose une symétrie de la solution qui se traduit par une composante normale nulle en vitesse et une contrainte de cisaillement nulle sur la frontière :

$$\begin{cases} \underline{v} \cdot \underline{n} = 0 & \text{sur } \Gamma_c \\ \underline{\sigma} \underline{n} - ((\underline{\sigma} \underline{n}) \cdot \underline{n}) \underline{n} = \underline{0} & \text{sur } \Gamma_c \end{cases} \quad (4.3.5)$$

où \underline{n} est la normale sortante à Γ_c . Sur les autres frontières correspondant aux parois en contact avec le fluide, on fait l'hypothèse d'une condition de non-glissement du fluide par rapport aux parois :

$$\underline{v} = \underline{0} \quad \text{sur } \Gamma_p \quad (4.3.6)$$

L'ensemble des équations présentées précédemment constitue la formulation forte du problème. On utilise la même procédure que dans le chapitre précédent pour sa résolution avec une discrétisation

en espace via la méthode des éléments finis avec des éléments tétraédriques de Taylor-Hood ($P2 - P1$).

4.3.2.2 Estimation du cisaillement et de la force fluide

On quantifie la contrainte de cisaillement sur les parois de la cellule en soustrayant la composante normale au vecteur contrainte :

$$\underline{\tau} = \underline{\sigma} \underline{n} - ((\underline{\sigma} \underline{n}) \cdot \underline{n}) \underline{n} \quad \text{sur } \Gamma_c \quad (4.3.7)$$

On calcule la résultante des forces fluides (incluant la contrainte de pression) par intégration :

$$\underline{F}_{f \rightarrow c} = \int_{\Gamma_c} \underline{\sigma} \underline{n} \, d\Gamma_c \quad (4.3.8)$$

Enfin, on définit le "coefficient de couplage" K_f comme le rapport entre la résultante des forces fluides sur la cellule et l'intégrale I_v du champ de vitesse de l'écoulement à travers la cellule en ignorant la cellule et la goutte (piège vide) :

$$\begin{cases} K_f = \frac{\|\underline{F}_{f \rightarrow c}\|}{I_v} \\ I_v = \int_{\Omega_c} \|\underline{v}\| \, d\Omega_c \end{cases} \quad (4.3.9)$$

L'intérêt de ce coefficient est de pouvoir modéliser l'action du fluide sur la cellule de manière simplifiée par une force volumique \underline{f}_f générant une force résultante cohérente vis-à-vis du modèle d'écoulement 3D. Ce qui nous sera utile au chapitre suivant.

4.4 Résultats : cisaillement, force fluide et coefficient de couplage

La Figure 4.3 montre les lignes de courant et l'amplitude de la contrainte de cisaillement en norme $||\underline{\tau}||$ sur les parois du domaine de la cellule Γ_c . On constate un écoulement symétrique et plan ce qui est cohérent vis-à-vis de la symétrie de la géométrie et des conditions limites. Le cisaillement est affiché pour une différence de pression de $10 Pa$. La cartographie du cisaillement est également symétrique sur chaque quadrant de la sphère représentant la cellule, ce qui est aussi cohérent vis-à-vis de la symétrie du modèle.

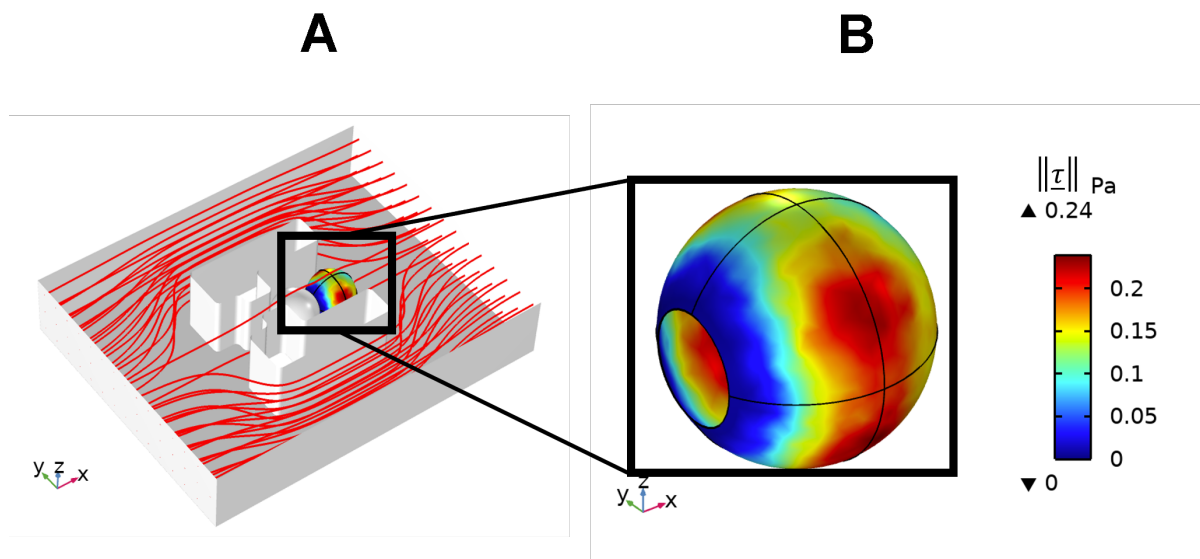


FIGURE 4.3 – **A** : lignes de courant dans le modèle local et norme du cisaillement sur les parois de la cellule pour une différence de pression de $10 Pa$ aux bornes du piège. **B** : norme du cisaillement sur les parois de la cellule en agrandi pour la même différence de pression.

On répète l'opération pour une fourchette de valeurs entre $0 Pa$ et $20 Pa$ et on récupère le cisaillement maximal : $||\underline{\tau}||_{max}$ Figure 4.4. On constate alors que pour des différences de pression entre $0.2 Pa$ et $20 Pa$, le cisaillement maximal sur la cellule reste dans l'intervalle estimé par Jafarnejad *et al* de $[0.05, 0.6] Pa$. Le cisaillement reçu par la cellule est donc tout à fait comparable au cisaillement subi par les lymphocytes B *in vivo* dans les ganglions lymphatiques.

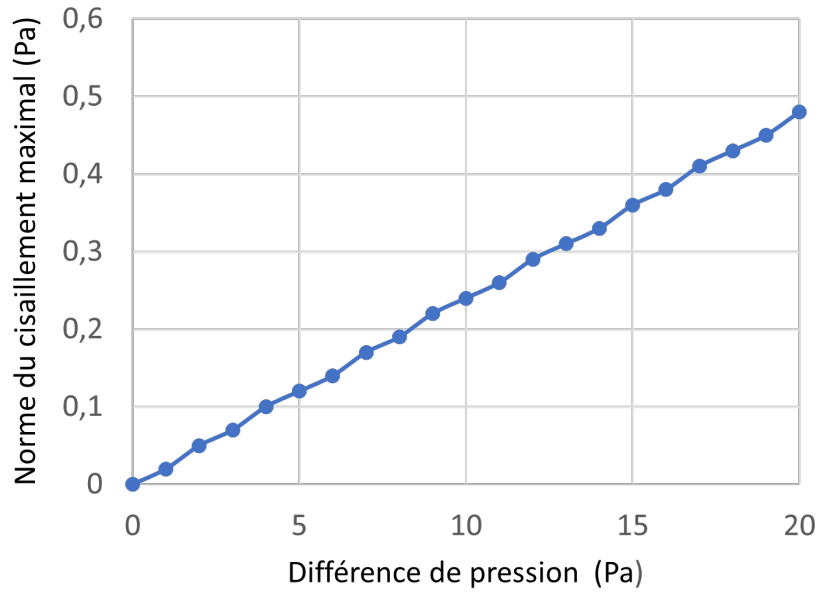


FIGURE 4.4 – Norme du cisaillement maximale sur les parois de la cellule en fonction de la différence de pression appliquée entre Γ_e et Γ_s (bornes du piège).

La Figure 4.5 montre les variations de la norme de la résultante des forces fluides en fonction de l'intégrale de la norme du champ de vitesse à travers la cellule en ignorant les parois de la goutte et la cellule dans la simulation. On constate une évolution très linéaire sur laquelle on peut identifier la pente. Cette pente correspond au coefficient de couplage défini précédemment et vaut $K_f = 1.03 \cdot 10^{10} \text{ Nsm}^{-4}$

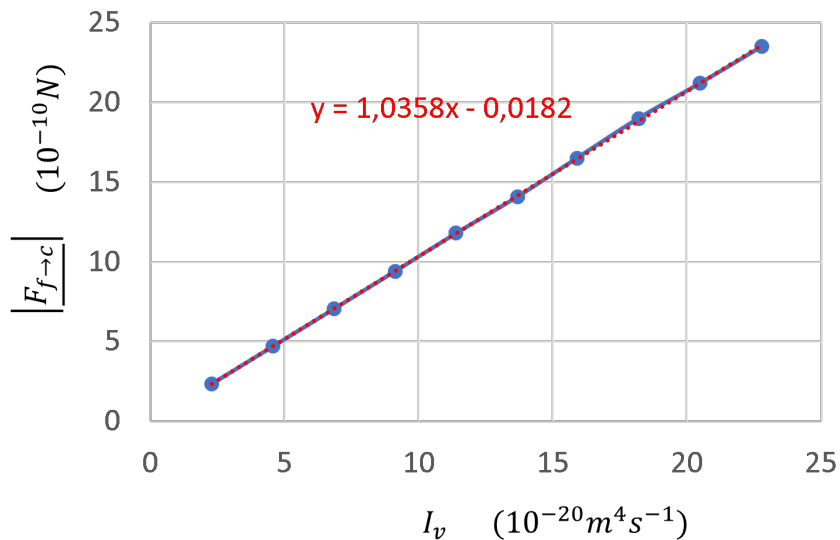


FIGURE 4.5 – Variations de la norme de la résultante des forces fluides sur les parois de la cellule $|F_{f \rightarrow c}|$ en fonction de l'intégrale de la norme du champ de vitesse à travers la cellule en ignorant la goutte et la cellule I_v .

4.5 Conclusion

La contrainte de cisaillement est une grandeur pouvant influencer le comportement biologique des cellules. La synapse immunologique se produit dans les ganglions lymphatiques entre une cellule présentatrice d'antigène et un lymphocyte B où la contrainte de cisaillement se situe entre $0.05 Pa$ et $0.6 Pa$ d'après Jafarnejad *et al* [61]. Dans les réseaux de pièges microfluidiques présenté précédemment, des gouttes d'émulsions sont utilisées comme substitut à la cellule présentatrice d'antigènes. Ainsi seul le lymphocyte B peut être influencé par le cisaillement fluide. Dans ce court chapitre, on construit un modèle 3D de l'écoulement autour de la goutte et de la cellule dans un piège en faisant l'hypothèse d'un écoulement symétrique et de goutte et cellules rigides. Pour déterminer des conditions limites cohérentes, on utilise le modèle des chapitres précédents et la valeur maximale de la différence de pression aux bornes d'un piège qui est de $9 Pa$ pour le point de fonctionnement utilisé. L'analyse du cisaillement maximal sur les parois de la cellule montre que les conditions de cisaillement sont cohérentes vis-à-vis de celles estimées par Jafarnejad *et al* [61] dans la littérature. D'autre part, le calcul de la résultante des forces fluides sur les parois de la cellule et de l'intégrale du champ de vitesse à travers la cellule en ignorant la cellule et la goutte (piège vide) permet d'identifier une constante dit "de couplage" faisant le lien entre force fluide et vitesse. On utilise cette constante pour définir d'une manière simplifiée l'action du fluide sur la cellule au chapitre suivant à l'aide d'une force volumique.

Chapitre 5

Mécanique de formation de la synapse immunologique B

Ce travail a été réalisé en collaboration avec Jacques Fattaccioli (IPGG) et Léa Pinon (IPGG, Institut Pasteur). Il a pour objectif d'estimer la force et la surface de contact transmise dans une synapse immunologique B reproduite sur des gouttes d'émulsions fonctionnalisées par antigènes dans un piège microfluidique et d'évaluer l'influence des paramètres cellulaires sur ces grandeurs. Dans ce chapitre figure un certain nombre d'équations physiques issues de la Mécanique des Milieux Continus et de la théorie de l'élasticité non-linéaire. Toutes les équations considérées comme connues sont extraites du livre "Mécanique du Continu" de Jean Salençon [12] ainsi que des articles de Bonet *et al* [57][67] sur la loi de comportement hyper-élastique polyconvexe. Les notations sont directement inspirées de ces livres.

5.1 Introduction

Dans ce chapitre, on propose une étude mécanique de la synapse immunologique reproduite expérimentalement dans un piège microfluidique à l'aide de gouttes d'émulsion fonctionnalisées par des antigènes. Dans cette section on donne d'abord quelques éléments de contexte autour de l'étude expérimentale de la synapse puis on se focalise sur les travaux mis en œuvre à l'IPGG par Pinon *et al* [85]. On conclut en positionnant le problème de mécanique que soulève ce contexte.

5.1.1 La synapse immunologique B en laboratoire

5.1.1.1 Découverte de la synapse immunologique B

La synapse immunologique B a été découverte en 2001 par Batista *et al* [15]. Ceux-ci ont fixé des antigènes (Ag) sur les récepteurs de cellules myéloïdes (*ie* de la moëlle osseuse), elles deviennent donc des cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Ces CPA sont ensuite mises en contact avec des lymphocytes B présentant des récepteurs B (RCB). Les images présentées par Batista *et al* Figure 5.1 sont claires : on voit apparaître une surface de contact entre les lymphocytes B et les CPA avec une accumulation d'Ag au niveau de la surface de contact.

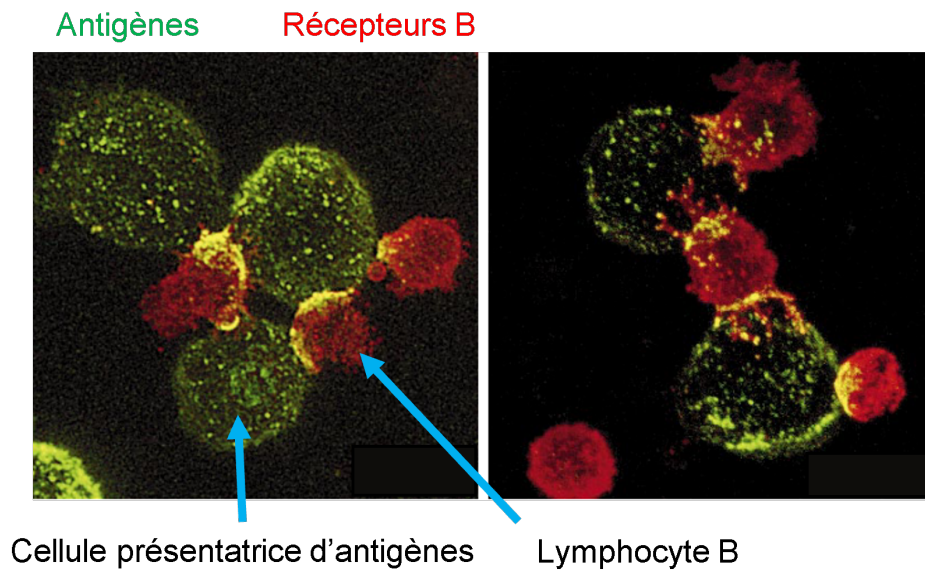


FIGURE 5.1 – découverte de la synapse immunologique B par Batista *et al.* Les récepteurs B (IgM) sont marqués en rouge et les antigènes sont marqués en vert. Image adaptée de [15].

5.1.1.2 Étalement de membrane et collecte d'antigènes

Depuis la mise en évidence de la synapse, certaines équipes ont cherché à la reproduire dans des environnements plus simples à manipuler n'impliquant pas de CPA mais des substrats présentant des Ag. Ces substrats ont des géométries et des propriétés mécaniques différentes plus ou moins proches de celles des CPA. Fleire *et al* [25] ont utilisé des substrats plans portant une bi-couche lipidique comme les membranes plasmiques des cellules. Cette structure ne représente pas réellement la géométrie de la CPA mais a l'avantage de permettre la mobilité des Ag dans le plan du substrat. Cette dernière caractéristique est importante car on sait depuis Batista *et al* [15] qu'une accumulation d'Ag se produit au niveau de la synapse. Ces chercheurs ont étudié la dynamique de la synapse et ont identifié deux phases (Figure 5.2A) : une phase d'étalement durant laquelle la surface de contact augmente (images 0 et 3 *min*) et une phase de contraction où cette surface diminue (images 7 et 10 *min*). À partir de ces expériences, il est possible de suivre l'évolution au cours du temps de la surface de contact et de la quantité d'Ag présente sur cette même surface. Deux facteurs jouant fortement sur la taille de la synapse ont été mis en évidence : la concentration en Ag sur le substrat et l'affinité du couple Ag/RCB. Enfin, Fleire *et al* [25] ont montré que la phase d'étalement de la membrane est cruciale car c'est cette phase qui permet la collecte et l'accumulation des Ag au niveau de la synapse qui enclenche ensuite la réponse immunitaire.

Les substrats à bi-couche lipidique ont par la suite été réutilisés pour étudier l'effet de la mobilité des Ag sur la réponse du lymphocyte B par Ketchum *et al* [54]. La comparaison est faite entre des substrats à bi-couche lipidique et des lames de verre recouvertes d'Ag fixes. Leurs résultats montrent que la mobilité des Ag permet une plus grande accumulation de récepteurs sur la synapse et a un effet sur la réorganisation du cytosquelette dans le lymphocyte. Une conséquence est que la surface de contact peut être augmentée d'environ 30 % avec des Ag fixes. Ce résultat semble assez intuitif :

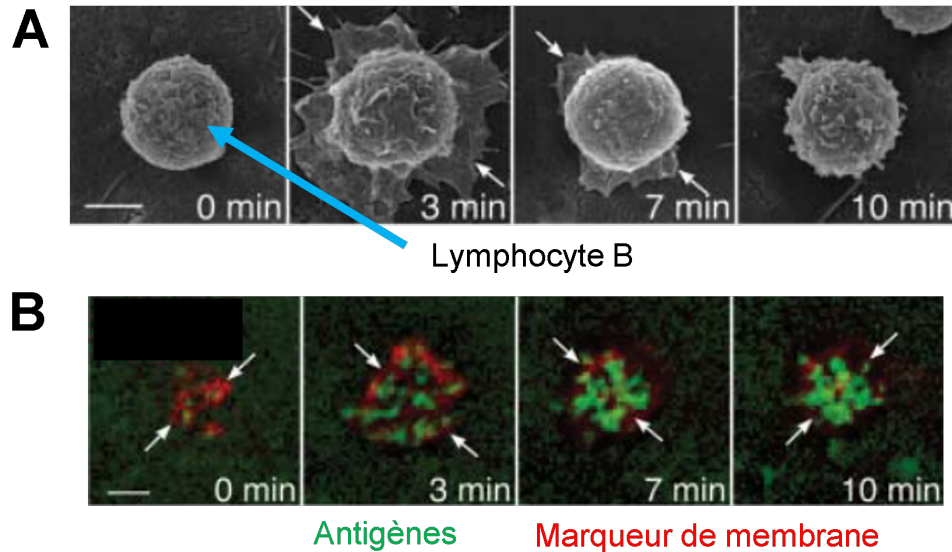


FIGURE 5.2 – Dynamique d'une synapse sur substrat plan observée par Fleire *et al* [25]. Les flèches blanches représentent **A** : comportement global d'un lymphocyte B en vue dessus, on voit sa membrane s'étaler les 3 premières minutes puis se contracter jusqu'à 10 *min*. **B** : marquage des antigènes (vert) et de la membrane (rouge) dans le lymphocyte. On constate l'augmentation du nombre d'Ag au niveau de la surface de contact. Image adaptée de [25].

pour former une quantité équivalente de liens Ag/RCB, il faut une plus grande surface de contact avec des Ag fixes que mobiles. La mobilité des Ag joue donc un rôle important dans la formation de la synapse. Cependant les substrats à bi-couche lipidique n'ont pas permis d'observer l'internalisation des Ag dans le lymphocyte. Nathanski *et al* [46] ont alors proposé en 2013 une alternative plane à partir de feuillettes de membranes plasmiques de cellules permettant également la mobilité des Ag. Il s'agit d'un matériau proche de plusieurs bi-couches lipidiques empilées et encastrées les unes sur les autres. Ceci a pour conséquence de diminuer la raideur du substrat en traction dans la direction normale au plan, comme pour des ressorts disposés en série (la raideur est divisée par le nombre de bi-couches lipidiques). Cette baisse de rigidité a permis d'observer l'internalisation des Ag avec des fragments de membrane plasmique ce qui suggère une capacité du lymphocyte à "tirer" sur les complexes Ag/RCB jusqu'à rupture locale de la membrane plasmique en contact avec le lymphocyte : il s'agit du processus d'extraction par forces mécaniques. Ainsi, la rigidité du substrat peut jouer un rôle important pour l'internalisation des Ag (et donc pour la réaction immunitaire) mais ne semble pas avoir une influence directe sur la formation de la synapse elle-même.

Les substrats sphériques présentent l'avantage d'une géométrie plus proche de celle d'une CPA mais ne permettent, en général, pas la mobilité des Ag à leur surface. Les premiers substrats sphériques présentés pour l'étude de la synapse sont des billes en polystyrène par Yussef *et al* [43] en 2011. La rigidité de ces substrats est très élevée comparativement à celle des lymphocytes, ce qui empêche l'extraction d'Ag par force mécanique. Yussef *et al* [43] ont alors mis en évidence la voie chimique d'extraction des Ag : des enzymes (protéases) issues des lysosomes du lymphocyte peuvent-être relâchées au niveau de la synapse pour rompre chimiquement la liaison entre les Ag et la membrane

extérieure du substrat. Cette voie d'extraction est cependant utilisée en dernier recours quand la voie mécanique n'est pas possible (substrat trop rigide) [76]. En effet, l'extraction par force mécanique est "préférable" car elle est discriminante par l'affinité du couple Ag/RCB : si l'affinité du couple est faible, il est tout à fait possible que la liaison du couple Ag/RCB rompe avant la liaison entre l'Ag et le substrat. Ainsi, seul le récepteur est internalisé et l'Ag reste sur le substrat [74].

5.1.1.3 Des gouttes d'émulsions fonctionnalisées pour étudier la synapse

Les gouttes d'émulsions fonctionnalisées ont été réalisées pour la première fois par Fattaccioli *et al* [24] en 2006, puis ont été utilisées pour étudier la synapse immunologique B entre autre par Mesdjian *et al* [72], Pinon *et al* [85], Pineau *et al* [86]... Ces gouttes cumulent les avantages des substrats précédemment énoncés : elles ont une géométrie sphérique, permettent la mobilité des Ag et peuvent-être rendues souples en contrôlant leur tension de surface [72][85]. Elles sont le résultat de plusieurs étapes de fabrication complexes que l'on donne grossièrement :

- l'émulsification qui consiste à mettre en présence de l'eau liquide contenant des émulsifiants et une huile (de soja, minérale...) puis de les mélanger ce qui forme les gouttes ;
- l'ajout d'un phospholipide biotinilé pouvant se fixer sur la goutte d'une part grâce à son extrémité lipophile et d'autre part sur une molécule pouvant se lier fortement à l'extrémité biotine : la streptavidine ;
- l'ajout d'Ag biotinilé pouvant aussi se fixer sur la streptavidine d'une part et les récepteurs de la cellule B d'autre part.

Ainsi, la goutte est liée à l'Ag par l'intermédiaire du phospholipide, de la biotine (deux fois) et la streptavidine. Par ailleurs, cette technique ne prend pas en compte la totalité des phénomènes d'adhésion possibles sur une CPA car elle n'intègre pas les molécules d'adhésion (VCAM-1 et ICAM-1) pouvant se lier aux intégrines du lymphocyte B et nécessaires à la maturation de la synapse. L'observation de synapses B avec cette méthode montre que les Ag eux-mêmes jouent un rôle mécanique sur l'adhésion de la synapse en plus de leur rôle biologique. Les tensions de surface γ des gouttes dans la phase aqueuse sont de l'ordre de 1 à 10 $mN m^{-1}$ [78]. Pour une goutte de diamètre 7 μm (diamètre moyen d'un lymphocyte B), la pression de Laplace $\Delta p = \frac{2\gamma}{R}$ (où R est le rayon de la goutte supposée sphérique) associée est de l'ordre de 570 Pa à 5,7 kPa . La tranche basse est de l'ordre du module de Young du cytoplasme des cellules rondes endothéliales et la tranche haute de l'ordre du noyau de ces mêmes cellules [18], ces valeurs étant obtenues par essai de compression à microplaques. Ces valeurs de pression de Laplace font des gouttes d'émulsions (fonctionnalisées ou non) de bons candidats pour étudier le comportement des cellules dans des environnements déformables. De cette manière, Molino *et al* [68] ont pu mesurer la pression de contact que peuvent exercer des cellules tumorales (leucémiques *HL-60*) lors de leur migration dans des micro-canaux. Le programme permettant de calculer la pression de contact sur la goutte se

base sur le calcul de la courbure de la goutte en supposant connaître la tension de surface de celle-ci. Ce même code a été utilisé pour la synapse immunologique B par Pinon *et al* (Figure 5.3) [85]. En revanche, les forces impliquées dans la synapse immunologique B n'ont permis d'observer que très rarement des déformations de la goutte même avec des gouttes molles de tension de surface de $1,7 \text{ mN m}^{-1}$ et de pressions de Laplace 680 Pa [85]. Les déformations mesurées par Pinon *et al* [85] conduisent à une force exercée par le lymphocyte B de $40,7 \text{ nN}$ ce qui est très élevé en comparaison avec la force de poussée que peuvent exercer des lymphocytes T sur des billes couvertes d'Ag en moyenne de 25 pN [41]. Cet écart de trois ordres de grandeur n'a pas pu être élucidé expérimentalement. La mesure de la force de contact dans une synapse B semble aussi très compliquée à mettre en œuvre car elle nécessite que la goutte soit déformable et ses déformations n'apparaissent que rarement [78].

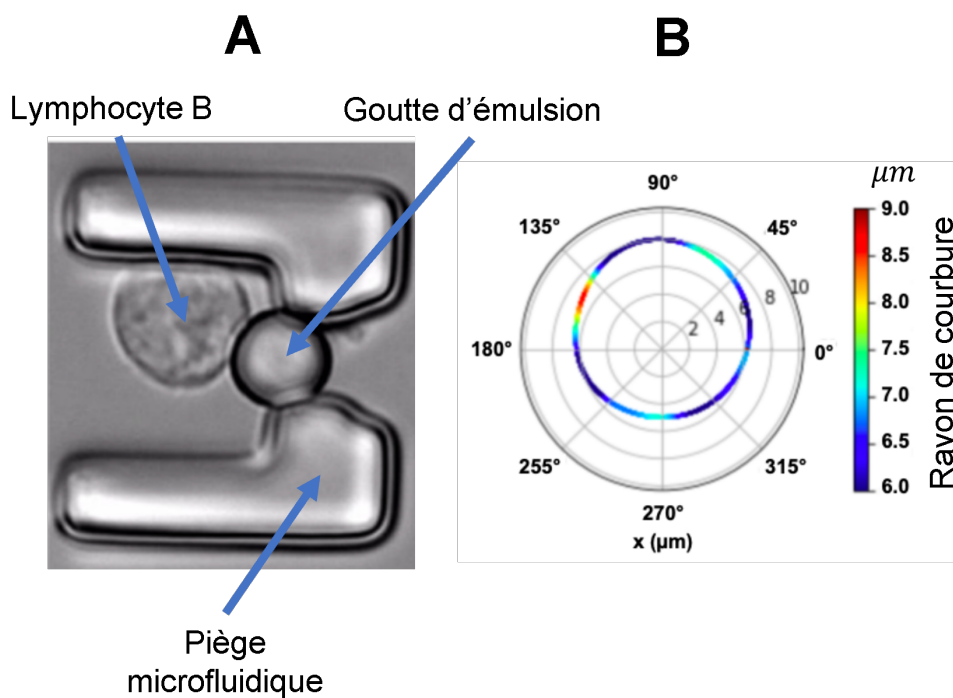


FIGURE 5.3 – Étude expérimentale pour la détermination de la force de contact dans une synapse immunologique B par Pinon *et al* [85]. **A** : image au microscope optique d'une synapse immunologique B sur goutte fonctionnalisée. La goutte se déforme légèrement. **B** : quantification de la variation de rayon de courbure de la goutte. Image adaptée de [85].

Les gouttes d'émulsions ont aussi été utilisées très récemment par Pineau *et al* [86] pour se concentrer sur la dynamique des organites du lymphocyte B. La technique d'isolation et d'appariement des cellules avec les gouttes est très proche que Pinon *et al* [85] à la différence qu'une chambre décalée a été utilisée pour les raisons d'efficacité de remplissage que l'on a étudié Chapitre 2. Dans cette étude, les mouvements de différents organites sont suivis au cours du temps. En particulier, les filaments d'actine polymérisés ont pu être marqués et visualisés au microscope optique. On constate une accumulation de l'actine dans le cytoplasme au niveau de la synapse (Figure 5.4A). Un des résultats majeurs de l'étude est d'avoir montré que cette polymérisation très localisée est gérée par

les microtubules du lymphocyte B. Plus précisément encore, la distribution spatiale de l'actine n'est pas tout à fait uniforme au niveau de la synapse : il y en a plus sur les bords de la synapse qu'au centre, ce qui forme un anneau d'actine autour de la synapse, à ne pas confondre avec l'anneau des molécules d'adhésion dans les synapses réelles (Figure 5.4B vue de face et C).

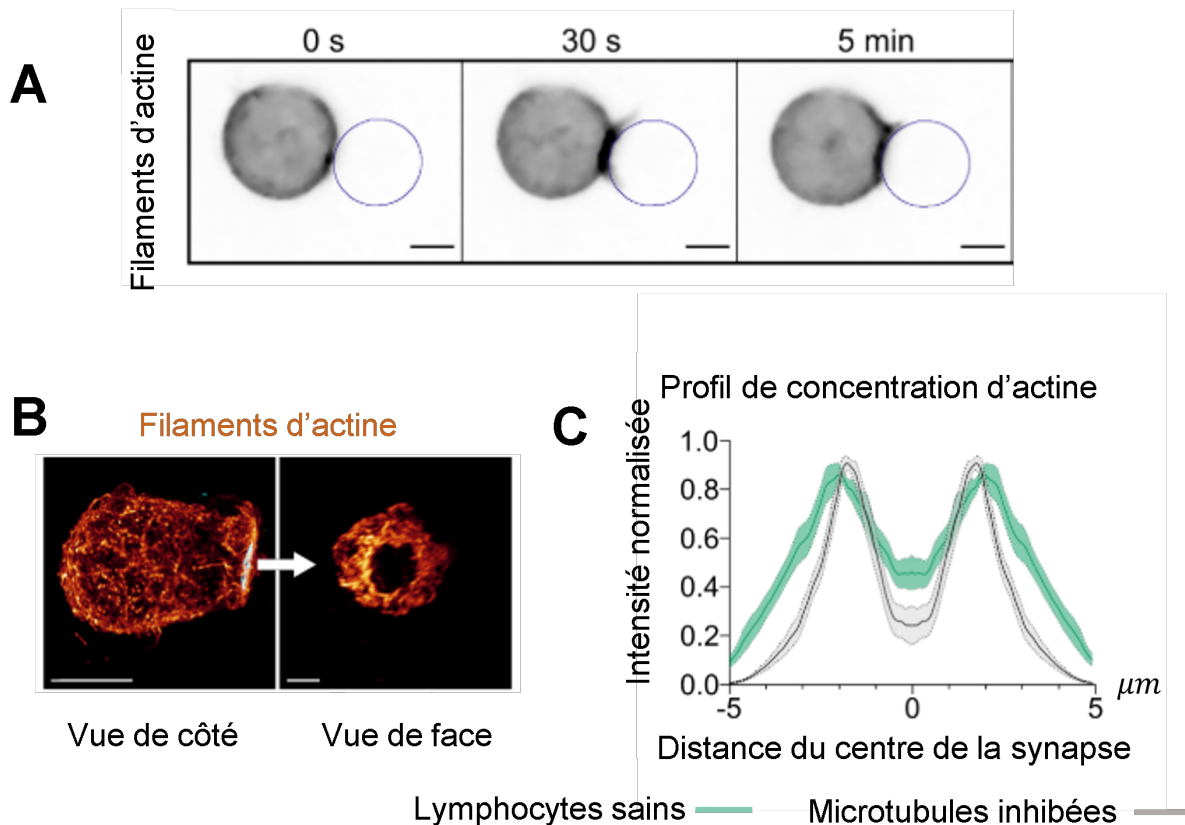


FIGURE 5.4 – Répartition des filaments d'actine dans un lymphocyte B formant une synapse sur goutte d'émulsion par Pineau *et al* [86]. **A** : évolution dans le temps de la concentration en filament d'actine. **B** : image de profil et de face de l'actine en surface du lymphocyte. Sur la vue de face on peut voir l'anneau d'actine. **C** : profil d'intensité lumineuse (normalisée) représentant la concentration moyennée en filaments d'actine en fonction de la distance radiale par rapport au centre de la synapse. Images adaptées de [86].

5.1.2 Position du problème

On retient les informations suivantes :

- la formation de synapse immunologique B sur goutte fonctionnalisée est un phénomène d'adhésion entre Ag et RCB influencé par les concentrations initiales en Ag, l'affinité des complexes Ag/RCB, la mobilité des Ag et la polymérisation d'actine localisée au niveau de la synapse ;
- la rigidité de la CPA joue un rôle sur la manière dont sont extraits les complexes Ag/RCB à l'échelle nanoscopique mais ne semble pas directement avoir d'effet sur la formation de la

synapse elle-même ;

- les gouttes d'émulsions fonctionnalisées ont permis de reproduire la forme sphérique d'une CPA avec mobilité des Ag, mais l'estimation des actions mécaniques participant à la formation de la synapse amène à un réel problème d'ordre de grandeur en comparaison aux forces produites par des lymphocytes T dans d'autres conditions expérimentales.

Concernant ce dernier point, une approche par simulation numérique permettrait de s'affranchir du besoin de mesurer les déformations de la goutte et d'évaluer les rôles respectifs de chaque action mécanique en présence sur la formation de la synapse. De plus, si un tel modèle pouvait être validé expérimentalement, il offrirait un outil pour étudier les conséquences de certaines modifications du comportement mécanique du lymphocyte sur la formation de la synapse. Ces modifications sont par exemple des changements de rigidité du lymphocyte comme c'est le cas pour le diabète [77] ou des variations du rapport de diamètre entre le noyau et la cellule comme cela est provoqué par certains lymphomes [14]. Dans la section suivante, on effectue une analyse non-exhaustive de la littérature de différents modèles numériques d'adhésion spécifique de cellules sur divers substrats et plus précisément sur la synapse immunologique.

5.2 Modèles numériques pour l'adhésion spécifique et la synapse immunologique

Quelques modèles numériques ont pu être développés pour étudier les phénomènes d'adhésions spécifique entre cellules et plus particulièrement ceux impliqués dans la synapse immunologique. Un travail de revue de littérature très documenté (de 105 références) sur la modélisation des interactions des cellules avec les parois endothéliales sous écoulement est proposé par Verdier *et al* en 2009 [35]. Dans cette revue, la modélisation de l'adhésion spécifique de cellules (entre autre) est abordée. On s'appuie en partie sur cette revue pour présenter quelques modèles d'adhésion et développer notre modèle.

En 1980, George Bell [4] pose un cadre théorique reposant sur la cinétique d'équilibre chimique pour l'adhésion spécifique entre des ligands et des récepteurs de manière générale comprenant l'adhésion entre Ag et récepteurs. Ce cadre s'avère très intéressant pour notre étude car il se base sur la connaissance de grandeurs mesurables expérimentalement : affinité des complexes ligands-récepteurs, concentrations en ligands, récepteurs et complexes ligands-récepteurs... Une formulation thermodynamique du problème d'adhésion spécifique entre cellules a permis en 1984 par Bell *et al* [5] de mettre en évidence la compétition entre les forces attractives d'adhésion spécifique et de répulsion électrostatique. Cette répulsion est due au rapprochement de couches chargées négativement et présentes sur les membranes des cellules : le glycocalyx [5][24].

En 1988, Dembo *et al* [8] introduisent la déformabilité de la membrane cellulaire présentant les récepteurs (Figure 5.5A). Dans ce modèle, la membrane est représentée par une poutre en $2D$ et est considérée comme déjà en adhésion sur un substrat plan (des complexes sont déjà formés en configuration initiale). Les récepteurs sont modélisés comme des ressorts pouvant se lier aux ligands dans la direction normale au substrat. Quand un complexe ligand-récepteur est formé, il exerce une force de rappel élastique cherchant à la ramener au repos. Une extrémité de la membrane est encastree et l'autre est étirée par une force de tension faisant un angle avec la direction de la membrane au repos. En fonction de la force extérieure appliquée, les complexes ligand-récepteur peuvent rompre. Cette étude a montré (entre autre) qu'il existe une valeur de force de tension minimale pour mettre en mouvement la membrane.

En 1992, Hammer *et al* [10] proposent un modèle stochastique de l'adhésion spécifique en introduisant la présence de microvillosités sur la membrane de la cellule (Figure 5.5B). Ce modèle se base sur le calcul de probabilité de formation et de dissociation des complexes ligands-récepteurs pendant un pas de temps donné. Ces probabilités dépendent des constantes de vitesse de formation et de dissociation des complexes qui elles-mêmes dépendent de la force exercée sur les complexes ligand-récepteur. La force sur les complexes ligands-récepteurs est également calculée en considérant des ressorts pouvant s'orienter et s'étirer dans la direction normale au substrat (Figure 5.5B). Pour prendre en compte les microvillosités, l'allongement des ressorts est calculé à partir de leur point d'attache sur les microvillosités.

Enfin, un modèle d'adhésion prenant en compte la déformation d'une cellule entière (incluant noyau, cytoplasme et membrane) avec adhésion sur substrat plan a pu être développé en 2009 par Verdier

et al [35] pour étudier le roulement d'une cellule mise en mouvement par un fluide porteur. Les phénomènes d'adhésion ont pu être modélisés par deux méthodes : via un potentiel d'adhésion et via la méthode cinétique de Bell *et al* [4] en incluant les microvillosités à la manière de Hammer *et al* [10]. Les résultats ont montré (entre autre) que le noyau se déforme sans avoir d'effet particulier sur le mouvement de la cellule, que les deux variantes du modèle donnent des déformations de cellule assez proches et que le modèle d'adhésion cinétique obtient des vitesses de roulement voisines de celles obtenues en expériences [35].

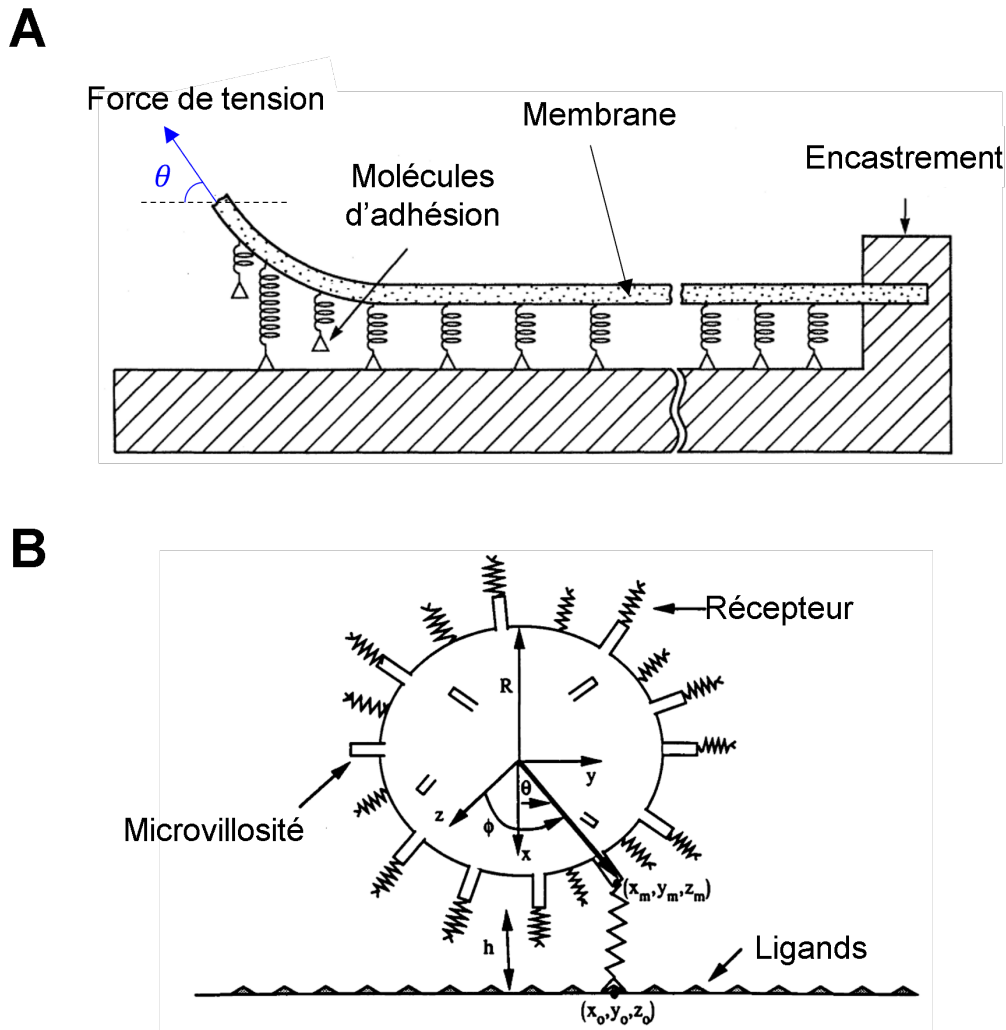


FIGURE 5.5 – Deux modèles d'adhésion spécifique. **A** : détachement de membrane en adhésion sur substrat plan par Dembo *et al*, image adaptée de [8] et [35]. **B** : modèle de Hammer *et al* [10] pour étudier le roulement des leukocytes sur substrat plan ; image adaptée de [10].

D'autres travaux s'intéressant spécifiquement à la synapse immunologique sont présents dans la littérature. Dans une synapse entre deux cellules, plusieurs complexes ligands-récepteurs sont impliqués avec des longueurs, des affinités et des raideurs différentes. Cette multiplicité de complexes n'est pas directement prise en compte dans les théories énoncées précédemment.

En 2001, Qi *et al* [16] ont construit un modèle pour étudier la répartition spatiale des différentes protéines membranaires jouant un rôle dans la synapse immunologique T entre les lymphocytes T et un

substrat plan comportant des Ag et d'autres molécules d'adhésion. Ce modèle considère le substrat rigide et la membrane plasmique du lymphocyte T comme déformable dans la direction normale au substrat. Il représente les récepteurs T (RCT), les Ag, les complexes Ag/RCT et les autres complexes d'adhésions avec des champs scalaires de concentration. Les mouvements de ces protéines sur la membrane du lymphocyte T et le substrat sont déterminés par une équation de réaction-diffusion des concentrations pour chaque protéine. Ces équations prennent aussi en compte l'agitation thermique et l'effet de la distance entre la membrane et le substrat dans l'affinité des différents complexes via les constantes de vitesses des complexes. Elles sont également couplées à l'équation d'équilibre dynamique de la membrane du lymphocyte T qui est représentée par une plaque déformable. Ce modèle a permis de retrouver le phénomène de formation d'anneau des molécules d'adhésions autour des Ag et RCT. Une amélioration de ce modèle, incluant l'action du cytosquelette sur la membrane plasmique a ensuite été formulée [17]. Ce modèle a en partie montré que la différence de longueur entre les complexes d'adhésion joue un rôle important sur la répartition des complexes sur la synapse. Bien que ces modèles de réaction-diffusion ont démontré une grande efficacité pour reproduire les observations expérimentales, ils ne permettent pas d'étudier les déformations du lymphocyte entier et éventuellement des variabilités de forme ou de rigidité de celui-ci sur la force de contact.

Enfin, Fleire *et al* [25] ont développé un modèle stochastique avec une approche très différente des modèles précédents pour simuler la collecte des Ag par un lymphocyte présent sur substrat plan. Ce modèle inclut la capacité du lymphocyte à s'étaler puis se contracter sans considération mécanique. Le lymphocyte est modélisé par un cercle de diamètre initial relativement faible portant des RCB et le substrat par un plan portant des Ag ponctuels pouvant diffuser. La simulation s'effectue par incréments de la taille de la surface de contact. La surface de contact augmente si au moins 75 % des RCB sont occupés par des Ag. Si ce rapport n'est pas atteint au bout de 1 *min*, le lymphocyte se détache et la simulation est arrêtée. Si la surface de contact augmente, de nouveaux RCB entrent en contact avec le plan et le rapport d'occupation des RCB descend en dessous des 75 % etc... Au bout de 2 *min*, la cellule se contracte et la collecte des Ag est terminée. Ce modèle étudie l'importance de l'étalement du lymphocyte et de l'affinité des couples Ag/RCB sur la collecte des Ag. Ces résultats ont pu être validés quantitativement avec les expériences et ont montré que l'étalement du lymphocyte et l'affinité du couple Ag/RCB sont cruciaux pour la collecte des Ag et donc l'enclenchement de la réaction immunitaire adaptative.

On retient les informations suivantes :

- il est possible de modéliser l'adhésion spécifique de cellule sur divers substrats à partir de paramètres accessibles expérimentalement et contrôlables sur les gouttes d'émulsions ;
- certains modèles ont permis d'implémenter l'adhésion spécifique à l'échelle d'une cellule entière pour étudier le roulement des leukocytes sur les parois endothéliales ;
- les modèles numériques s'intéressant à la synapse immunologique se placent à l'échelle de la membrane cellulaire, mais nous n'avons pas trouvé de modèle capable d'estimer la force de

contact entre les deux cellules avec les déformations à l'échelle d'une cellule entière.

La méthode expérimentale utilisant des gouttes d'émulsions fonctionnalisées ne fait intervenir qu'un seul couple de molécules d'adhésion : les Ag et les RCB. Ceci simplifie grandement les phénomènes d'adhésion et ne nécessite pas la précision des modèles membranaires présentés plus haut. Il est donc possible, dans le cadre de synapse sur goutte d'émulsion, de formuler un modèle à l'échelle d'une cellule entière incluant des paramètres d'adhésion contrôlés expérimentalement. Dans la suite, on présente un modèle numérique visant à estimer la force, la surface de contact et plus généralement les déformations à l'échelle d'un lymphocyte entier formant une synapse sur goutte d'émulsion présentant des Ag. Pour construire ce modèle, on s'est inspiré de travaux précédemment réalisés d'adhésion sur micropilliers de Deveraux *et al* [80].

5.3 Modèle mécanique de formation de la synapse

5.3.1 Géométrie

La cellule dans son état initial Ω_0 et la goutte Ω_g sont décrites par des demi-disques paramétrés par leur rayon et les coordonnées de leurs centres. Le piège Ω_p est construit par union de rectangles paramétrés par leurs positions et dimensions aux mêmes valeurs qu'aux chapitres précédents. Enfin, le domaine fluide Ω_f est représenté par un rectangle centré sur le piège dont les dimensions coïncident avec les mi-distances entre pièges comme dans le chapitre 4 précédent. De plus, on définit la fonction "level-set" de la goutte avec un champ de distance signée normale l_g par rapport au cercle qui décrit sa frontière :

$$l_g(\underline{x}) = \|\underline{x} - \underline{x}_{cg}\| - R_g \quad \underline{x} \in \mathbb{R}^2 \quad (5.3.1)$$

on compose cette fonction level-set à une fonction heaviside h (échelon) prenant la valeur 1 si son argument est positif et 0 s'il est négatif avec une transition lissée entre ces deux valeurs :

$$h_g(\underline{x}) = h(-l_g(\underline{x})) \quad \underline{x} \in \mathbb{R}^2 \quad (5.3.2)$$

où h_g est la heaviside de la goutte valant 1 dans le domaine de la goutte, 0 en dehors avec une épaisseur de transition entre ces deux valeurs que l'on contrôle. On définit dans le même esprit des fonctions heavisides pour la cellule entière et son noyau :

$$\begin{cases} l_c(\underline{x}) = \|\underline{x} - \underline{x}_c\| - R_c & \underline{x} \in \mathbb{R}^2 \\ l_n(\underline{x}) = \|\underline{x} - \underline{x}_n\| - R_n \\ h_c(\underline{x}) = h(-l_c(\underline{x})) \\ h_n(\underline{x}) = h(-l_n(\underline{x})) \end{cases} \quad (5.3.3)$$

La fonction heaviside du cytoplasme avec la membrane \bar{h}_n est obtenue par complémentarité du noyau dans la cellule :

$$\bar{h}_n = h_c - h_n \quad (5.3.4)$$

5.3.2 déformations et formules de transport

Le problème de mécanique de la synapse impose de grandes déformations du milieu continu. Cela nécessite de pouvoir exprimer certaines grandeurs comme les actions mécaniques extérieures, le tenseur des contraintes de Cauchy $\underline{\sigma}$ et le champ de masse volumique ρ en fonction de la position initiale \underline{X} et du champ de déplacement \underline{u} . On rappelle brièvement ici les formules de transport que l'on utilise dans cet objectif.

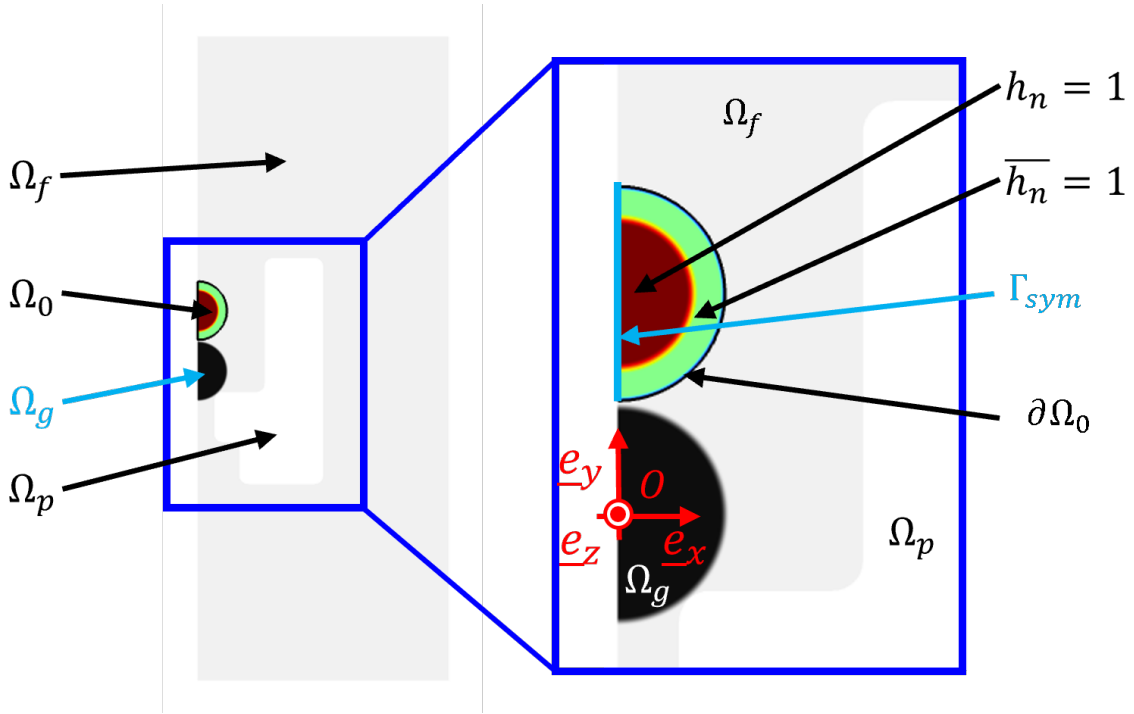


FIGURE 5.6 – Géométrie du modèle d'adhésion avec ses différents domaines et frontières. La zone verte représente le cytoplasme avec la membrane du lymphocyte via \bar{h}_n et la zone rouge le noyau du lymphocyte via h_n .

5.3.2.1 Transport d'éléments géométriques

Pour modéliser les déformations du milieu continu, on utilise une fonction placement ϕ et un champ de déplacement \underline{u} qui relie la position initiale d'une particule solide \underline{X} à sa position courante à l'instant t notée \underline{x} par les relations :

$$\begin{cases} \underline{x} = \phi(\underline{X}, t) \\ \underline{x} = \underline{X} + \underline{u}(\underline{X}, t) \end{cases} \quad (5.3.5)$$

Le gradient de la fonction placement \underline{F} et son déterminant J peuvent aussi se déduire du champ de déplacement :

$$\begin{cases} \underline{F}(\underline{X}, t) = \underline{\nabla} \phi(\underline{X}, t) \\ \underline{F}(\underline{X}, t) = \underline{I} + \underline{\nabla} \underline{u}(\underline{X}, t) \\ J(\underline{X}, t) = \det(\underline{F}(\underline{X}, t)) \end{cases} \quad (5.3.6)$$

où \underline{I} est le tenseur identité. On s'intéresse au transport des éléments suivant : vecteur matériel $d\underline{X}$ joignant des particules solides infiniment proches, élément de surface orienté $dS_0 \underline{n}_0$ et élément de volume $d\Omega_0$. Les éléments correspondants dans la configuration déformée sont respectivement : $d\underline{x}$, $dS \underline{n}$ et $d\Omega$. Ils sont reliés entre-eux par les relations :

$$\begin{cases} dx = \underline{F}(\underline{X}, t) d\underline{X} \\ dS \underline{n} = J(\underline{X}, t) \underline{F}^{-T}(\underline{X}, t) dS_0 \underline{n}_0 = \underline{H}(\underline{X}, t) dS_0 \underline{n}_0 \\ d\Omega = J(\underline{X}, t) d\Omega_0 \end{cases} \quad (5.3.7)$$

où \underline{H} s'identifie au cofacteur de \underline{F} [57][67]. À partir du transport d'élément de surface, on peut isoler la normale \underline{n} et s'affranchir des rapports de surface en la normalisant :

$$\underline{n} = \frac{\underline{F}^{-T}(\underline{X}, t) \underline{n}_0}{\|\underline{F}^{-T}(\underline{X}, t) \underline{n}_0\|} \quad (5.3.8)$$

5.3.2.2 Transport de la masse volumique

La conservation de la masse du volume $d\Omega_0$ transporté en $d\Omega$ donne le transport du champ de masse volumique :

$$\rho(\underline{x}) = \frac{\rho_0(\underline{X})}{J(\underline{X}, t)} \quad (5.3.9)$$

5.3.2.3 Transport du champ de contrainte

On modélise les contraintes internes à la cellule dans la configuration déformée \underline{x} par le tenseur des contraintes de Cauchy $\underline{\sigma}(\underline{x})$. Il fait le lien entre une force élémentaire $d\underline{f}$ de cohésion et l'élément de surface orienté $dS \underline{n}$:

$$d\underline{f}(\underline{x}) = \underline{\sigma}(\underline{x}) dS \underline{n} \quad (5.3.10)$$

On peut exprimer cette même force en fonction de l'élément de surface initial :

$$\begin{cases} d\underline{f} = J(\underline{X}, t) \underline{\sigma} \underline{F}^{-T}(\underline{X}, t) dS_0 \underline{n}_0 = \underline{B}(\underline{X}, t) dS_0 \underline{n}_0 \\ \underline{B}(\underline{X}, t) = J(\underline{X}, t) \underline{\sigma} \underline{F}^{-T}(\underline{X}, t) \end{cases} \quad (5.3.11)$$

où \underline{B} est le tenseur des contraintes de Boussinesq (ou "premier tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff" ou "Piola-Lagrange") [12]. Il fait le lien entre une force élémentaire $d\underline{f}$ de cohésion et l'élément de surface orienté initial $dS_0 \underline{n}_0$. Ce tenseur intervient dans l'équilibre des forces ramené en configuration initiale.

5.3.3 Matériaux et loi de comportement

On utilise une loi de comportement hyperélastique de type Mooney-Rivlin à trois paramètres comme le recommande Müller *et al* [84]. Pour assurer une certaine stabilité de calcul, on utilise une

définition polyconvexe de la loi Mooney-Rivlin [57] (convexe par rapport à chacune de ses variables : \underline{F} , \underline{H} , J) :

$$W(\underline{F}, \underline{H}, J) = \alpha \underline{F} : \underline{F} + \beta \underline{H} : \underline{H} + f_w(J) \quad (5.3.12)$$

où W est l'énergie de déformation non-linéaire du solide, α est un paramètre matériau lié aux élongations du solide via \underline{F} (transport d'un vecteur matériel), β lié aux variations d'aires des éléments de surface via \underline{H} (transport d'un élément de surface) et f_w une fonction convexe de J liée aux variations de volume (transport d'un élément de volume). On utilise la première fonction convexe f_w proposée par Bonet *et al* [57] :

$$f_w(J) = -2\alpha \ln(J) - 4\beta J + \frac{\lambda}{2}(J-1)^2 - 3(\alpha + \beta) \quad (5.3.13)$$

où λ , α et β sont des propriétés matériaux pouvant se déduire des propriétés d'élasticité linéaire en petites déformations :

$$\begin{cases} 2(\alpha + \beta) = \mu_{lin} \\ \lambda + 4\beta = \lambda_{lin} \end{cases} \quad (5.3.14)$$

où λ_{lin} et μ_{lin} sont les paramètres de Lamé associés en élasticité linéaire. Pour rendre le système soluble, il faut fixer un des paramètres. le coefficient β peut-être encadré entre $0.5 \mu_{lin}$ et $0 Pa$ (matériaux Néo-Hookéen) où μ_{lin} est le second paramètre de Lamé en élasticité linéaire [84]. N'ayant pas trouvé de valeur spécifique aux lymphocytes B, on se place à la moyenne : $\beta = 0.25 \mu_{lin}$. Les paramètres de Lamé sont reliés au module de Young E et au coefficient de Poisson ν par :

$$\begin{cases} \lambda_{lin} = \frac{E \nu}{(1-2\nu)(1+\nu)} \\ \mu_{lin} = \frac{E}{2(1+\nu)} \end{cases} \quad (5.3.15)$$

avec E et ν définis à partir des fonctions heaviside du noyau et du cytoplasme :

$$\begin{cases} E = E_n h_n + E_{cp} \bar{h}_n \\ \nu = 0.48 \end{cases} \quad (5.3.16)$$

où E_n est le module de Young du noyau et E_{cp} celui du cytoplasme. Le tenseur des contraintes de Boussinesq (premier tenseur des contraintes de Piola-Kirchhoff) peut se déduire par le second principe de la thermodynamique :

$$\underline{B} = \frac{\partial W}{\partial \underline{F}} \quad (5.3.17)$$

En remplaçant la loi de comportement de Mooney-Rivlin dans cette dernière équation, $\underline{\underline{B}}$ peut se déduire directement de ses variables par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \underline{\underline{B}} = \underline{\underline{B}}_F + \underline{\underline{B}}_H \times \underline{\underline{H}} + B_J \underline{\underline{H}} \\ \underline{\underline{B}}_F = \frac{\partial W}{\partial \underline{\underline{F}}} = 2\alpha \underline{\underline{F}} \\ \underline{\underline{B}}_H = \frac{\partial W}{\partial \underline{\underline{H}}} = 2\beta \underline{\underline{H}} \\ B_J = \frac{\partial W}{\partial J} = f'_w \end{array} \right. \quad (5.3.18)$$

où " \times " représente le produit croisé de Bonnet *et al* [67] (détails en informations supplémentaires), $\underline{\underline{B}}_F$, $\underline{\underline{B}}_H$ et B_J les contributions en contrainte dues aux élongations, changement de surface et de volumes respectivement. On peut ainsi déduire $\underline{\underline{B}}$, que l'on utilise pour implémenter l'équilibre dynamique du lymphocyte.

5.3.4 Physique

5.3.4.1 Équilibre dynamique

On considère l'équilibre dynamique de la cellule dans la configuration déformée où elle occupe un domaine Ω à l'instant t :

$$\nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}}(\underline{x}) + \underline{f}_v(\underline{x}) = \rho(\underline{x}) \underline{\gamma}(\underline{x}) \quad \underline{x} \in \Omega \quad (5.3.19)$$

où $\underline{\gamma}$ est le vecteur accélération. On s'attend à de grandes déformations de la cellule, cette équation est donc vérifiée sur un domaine que l'on ne connaît pas. Pour résoudre cette équation, il faut s'affranchir de toute dépendance en \underline{x} en changeant de variable vers un domaine que l'on connaît, par exemple, le domaine initial Ω_0 . Via les formules de transport des éléments de volume, de surface et de conservation de la masse, on peut effectuer un changement de variable sur le principe des puissances virtuelles [12], qui donne l'équilibre ramené sur le domaine initial Ω_0 :

$$\nabla \cdot \underline{\underline{B}}(\underline{X}, t) + J(\underline{X}, t) \underline{f}_v(\underline{\phi}(\underline{X}, t)) = \rho_0(\underline{X}) \underline{\gamma}(\underline{\phi}(\underline{X}, t)) \quad \underline{X} \in \Omega_0 \quad (5.3.20)$$

On décide de résoudre le problème via le champ de déplacement \underline{u} (défini sur Ω_0) plutôt que par la fonction placement $\underline{\phi}$, ce qui donne cette dernière formulation de l'équilibre :

$$\nabla \cdot \underline{\underline{B}}(\underline{X}, t) + J(\underline{X}, t) \underline{f}_v(\underline{X} + \underline{u}(\underline{X}, t)) = \rho_0(\underline{X}) \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2}(\underline{X}, t) \quad \underline{X} \in \Omega_0 \quad (5.3.21)$$

dans un souci de concision, on ne note plus systématiquement la dépendance en \underline{X} et t pour la suite, sauf quand cela semble important. On remarque que cet équilibre fait intervenir les contraintes et forces volumiques dans la configuration déformée via \underline{B} et $\underline{f}_v(\underline{X} + \underline{u})$. Le terme d'équilibre "ramené en configuration initiale" peut alors être trompeur car il représente bien physiquement l'équilibre des forces en configuration déformée mais que l'on souhaite résoudre sur un domaine connu Ω_0 via les formules de transport.

5.3.4.2 Conditions limites

Sur l'axe de symétrie Γ_{sym} (en $x = 0$), on impose un déplacement horizontal nul :

$$\underline{u} \cdot \underline{n}_0 = 0 \quad \underline{X} \in \Gamma_{sym} \quad (5.3.22)$$

pour faciliter le calcul, on modélise les actions mécaniques extérieures à partir de forces volumiques plutôt que de contraintes transmises sur le bord $\Omega_0 \setminus \Gamma_{sym}$. On considère le reste de la frontière $\Omega_0 \setminus \Gamma_{sym}$ comme libre :

$$\underline{B} \underline{n}_0 = 0 \quad \underline{X} \in \partial\Omega_0 \setminus \Gamma_{sym} \quad (5.3.23)$$

5.3.5 forces volumiques

5.3.5.1 Force fluide

Une description très réaliste de l'action du fluide sur la cellule nécessite de mettre en place un modèle d'interaction fluide-structure. L'écoulement réel autour de la cellule et la goutte est $3D$ donc un tel modèle impliquerait des temps de calculs très élevés pour représenter une force qui est faible comparativement aux autres. On décide de simplifier l'action du fluide sur la cellule en utilisant un couplage uni-directionnel via une force de volume \underline{f}_f calculée à partir de l'écoulement fluide quand le piège est "vide" [71]. Pour ce faire on calcule d'abord le champ de vitesse fluide \underline{v} en régime stationnaire dans le domaine fluide sans la cellule et la goutte, ie dans $\Omega_f \cup \Omega_g \cup \Omega_0$. Ensuite, on définit \underline{f}_f telle que :

$$\underline{f}_f(\underline{X} + \underline{u}) = K_f \underline{v}(\underline{X} + \underline{u}) \quad (5.3.24)$$

où K_f est la constante de couplage calculée au chapitre précédent et \underline{v} le champ de vitesse du fluide calculé sans cellule ni goutte. Le champ de vitesse fluide varie très peu entre la configuration initiale et déformée, on fait l'approximation :

$$\underline{f}_f(\underline{X} + \underline{u}) \approx K_f \underline{v}(\underline{X}) \quad (5.3.25)$$

5.3.5.2 force de réaction de la goutte

Le contact est un phénomène qui est en général complexe à modéliser. Il existe plusieurs façons de le mettre en œuvre avec des algorithmes connus et précis comme l'algorithme de pénalité ou du lagrangien augmenté. En pratique, ces méthodes peuvent poser des problèmes de convergence de solveur non-linéaire que l'on a pu constater. Par conséquent, on s'est tourné vers la méthode de champ de force volumique utilisable dans le cas où un des solides est supposé rigide [80]. La force de réaction de la goutte est liée à sa pression de Laplace considérée comme suffisamment élevée pour supposer la goutte rigide. On néglige les actions de frottement de la membrane plasmique sur la goutte, la force de réaction de la goutte sur la cellule est donc considérée comme normale à la frontière de la goutte.

$$\underline{f}_g(\underline{X} + \underline{u}) = f_g h_g(\underline{X} + \underline{u}) \underline{n}_g \quad (5.3.26)$$

où \underline{n}_g est la normale sortante à la goutte dans la configuration déformée et f_g une constante représentant la norme de la force de contact par unité de volume que l'on règle afin d'empêcher la pénétration de la cellule dans la goutte. On exprime \underline{n}_g en fonction de la normale correspondante dans la configuration initiale \underline{n}_{g0} via la formule de transport de la normale :

$$\underline{f}_g(\underline{X} + \underline{u}) = f_g h_g(\underline{X} + \underline{u}) \frac{\underline{F}^{-T} \underline{n}_{g0}}{\|\underline{F}^{-T} \underline{n}_{g0}\|} \quad (5.3.27)$$

où \underline{n}_{g0} peut être simplement calculée via le gradient de la fonction level set de la goutte :

$$\underline{n}_{g0} = \frac{\nabla l_g(\underline{X} + \underline{u})}{\|\nabla l_g(\underline{X} + \underline{u})\|} \quad (5.3.28)$$

5.3.5.3 force d'adhésion spécifique

On choisit de modéliser l'adhésion par la méthode cinétique de George Bell [4]. On considère un équilibre chimique prenant en compte la réversibilité des couples ligand/récepteur. Les ligands sont les Ag présents sur la goutte et les récepteurs sont les RCB sur le lymphocyte :



À l'équilibre chimique, la vitesse de déplacement de l'équilibre est nulle et de manière équivalente, le quotient de réaction est égal à la constante d'équilibre :

$$K = \frac{k_f}{k_d} = \frac{[LR]_{eq}}{[L]_{eq} [R]_{eq}} \quad (5.3.30)$$

où k_f et k_d sont les constantes de vitesse de la réaction de formation et de dissociation de la liaison respectivement, $[LR]_{eq}$, $[L]_{eq}$ et $[R]_{eq}$ les concentrations sur la surface de contact en

couples ligand/récepteur, ligands et récepteurs respectivement à l'équilibre chimique. Le rapport des constantes de vitesse K représente l'affinité chimique du couple LR. De plus, la conservation de la matière implique :

$$\begin{cases} [L] = [L]_0 - [LR] \\ [R] = [R]_0 - [LR] \end{cases} \quad (5.3.31)$$

où $[L]_0$ et $[R]_0$ sont les concentrations initiales au sens de la réaction chimique en ligands et récepteurs sur la surface de contact. Dans l'hypothèse d'une répartition uniforme en ligands et récepteurs, cette concentration est la même sur la surface de contact que sur la surface totale de la cellule et de la goutte respectivement. Cependant, les récepteurs et les ligands sont mobiles et s'accumulent au niveau de la surface de contact. On prend en compte ce phénomène en augmentant les concentrations initiales au sens chimique présentes sur la surface de contact via des paramètres d'accumulations χ_L et χ_R définis tels que :

$$\begin{cases} [L]_0 = [L]_{0g} (1 + \chi_L r_{acc}(t)) \\ [R]_0 = [R]_{0c} (1 + \chi_R r_{acc}(t)) \end{cases} \quad (5.3.32)$$

où $[L]_{0g}$ et $[R]_{0c}$ sont les concentrations initiales en ligands et récepteurs sur la goutte et la cellule avant contact (au sens mécanique) supposées uniformes et r_{acc} une fonction rampe contrôlant la montée de $[L]_0$ et $[R]_0$ initialement à $[L]_{0g}$ et $[R]_{0c}$ (resp) jusqu'à $(1 + \chi_L) [L]_{0g}$ et $(1 + \chi_R) [R]_{0c}$ (resp). Les concentrations initiales au sens mécanique $[L]_{0g}$ et $[R]_{0c}$ sont contrôlées expérimentalement pour les Ag sur la goutte à environ $50 \mu m^{-2}$ puis on constate une montée à $75 \mu m^{-2}$ au niveau de la synapse, donc une valeur raisonnable pour χ_L est 0.5 [85]. Sur le lymphocyte B, une concentration initiale avant contact représentative est de $95 \mu m^{-2}$ [85]. En revanche, il est très difficile de savoir comment évolue cette concentration au niveau de la synapse. On suppose que $\chi_R = \chi_L = 0.5$. En remplaçant la conservation de la matière (équation (5.3.31)) dans la condition d'équilibre chimique (équation (5.3.30)), on voit apparaître une équation polynomiale de degré 2 en $[LR]_{eq}$. Une de ses racines donne un résultat non-physique [4][35], et l'autre est :

$$[LR]_{eq} = \frac{1}{2} \left([L]_0 + [R]_0 + \frac{1}{K} \right) - \frac{1}{2} \sqrt{\left([L]_0 + [R]_0 + \frac{1}{K} \right)^2 - 4 [L]_0 [R]_0} \quad (5.3.33)$$

On néglige les temps caractéristiques de cette réaction devant le temps d'établissement de la synapse, on considère donc l'atteinte de l'équilibre chimique comme instantanée. L'action attractive à l'échelle d'une liaison LR d'adhésion est représentée par une force \underline{F}_{LR} de rappel élastique dans la direction normale à la goutte \underline{n}_g et de sens opposé [10] :

$$\underline{F}_{LR} = -k_{LR} (d_{LR} - l_0) \underline{n}_g \quad (5.3.34)$$

avec k_{LR} la raideur de la liaison LR , d_{LR} sa longueur (comprenant son allongement) et l_0 sa longueur

à vide. La contrainte mécanique exercée sur la surface d'adhésion \underline{T}_{ad} associée peut donc se déduire par :

$$\underline{T}_{ad} = [LR]_{eq} \underline{F}_{LR} = -[LR]_{eq} k_{LR} (d_{LR} - l_0) \underline{n}_g \quad (5.3.35)$$

Appliquer une contrainte externe précisément sur une frontière qui de plus est variable dans le temps (surface d'adhésion) peut rendre le calcul numérique difficile. Pour contrer ce problème, on définit une force volumique [80] d'adhésion \underline{f}_{ad} non nulle dans une fine zone d'adhésion $\Omega_{ad} \subset \Omega$ qui s'appuie sur la surface d'adhésion Γ_{ad} et telle que son travail virtuel est approximativement égal à celui de \underline{T}_{ad} . En pratique, on représente Ω_{ad} par une fonction heaviside h_{ad} autour de la goutte :

$$\begin{cases} \int_{\Omega} \underline{f}_{ad} \cdot \underline{u}^* d\Omega \approx \int_{\partial\Omega} \underline{T}_{ad} \cdot \underline{u}^* d\Gamma \\ \underline{f}_{ad} = \frac{1}{e_{ad}} \underline{T}_{ad} h_{ad} \end{cases} \quad (5.3.36)$$

où \underline{u}^* est un déplacement virtuel, e_{ad} l'épaisseur de Ω_{ad} . Cela donne une définition de \underline{f}_{ad} dans le domaine entier Ω :

$$\underline{f}_{ad} = -\frac{1}{e_{ad}} [LR]_{eq} k_{LR} (d_{LR} - l_0) h_{ad} \underline{n}_g \quad (5.3.37)$$

Enfin, on exprime le transport dans la configuration initiale de \underline{f}_{ad} :

$$\underline{f}_{ad} = -\frac{1}{e_{ad}} [LR]_{eq} k_{LR} (d_{LR} - l_0) h_{ad} \frac{\underline{F}^{-T} \underline{n}_{g0}}{\|\underline{F}^{-T} \underline{n}_{g0}\|} \quad (5.3.38)$$

5.3.5.4 force des filaments d'actine

On a pu voir sur les images expérimentales que l'actine polymérise très localement dans une couche à proximité de la synapse (par influence des microtubules) [86]. Pour modéliser ce phénomène, on a pu mettre en place deux méthodes : par contrainte active et par une force volumique. Les deux méthodes ont permis un calcul de déformations qui se ressemblent mais qui semblent plus proches des résultats expérimentaux par force volumique. La littérature semble indiquer que les forces exercées par l'actine "poussent" la membrane du lymphocyte dans la direction normale à celle-ci et proche de la zone d'adhésion. On modélise donc la force volumique des filaments d'actine \underline{f}_{act} par :

$$\underline{f}_{act} = f_{act} h_{act} \underline{n}_c \quad (5.3.39)$$

où f_{act} est la norme de la force \underline{f}_{act} , h_{act} la fonction heaviside de la zone de polymérisation d'actine et \underline{n}_c la normale unitaire sortante à la cellule. Enfin, on transporte la normale à la cellule dans la configuration initiale, ce qui donne :

$$\underline{f}_{act} = f_{act} h_{act} \frac{\underline{F}^{-T} \underline{n}_{c0}}{\|\underline{F}^{-T} \underline{n}_{c0}\|} \quad (5.3.40)$$

où \underline{n}_{c0} est la normale à la cellule dans la configuration initiale que l'on calcule par :

$$\underline{n}_{c0} = \frac{\nabla l_c(\underline{X})}{\|\nabla l_c(\underline{X})\|} \quad (5.3.41)$$

5.3.5.5 Force volumique totale et résultante des forces de contact

Pour étudier les différentes phases de formation de la synapse séparément et faciliter la résolution du modèle, on utilise la méthode des forces "rampées" ou "ramping loads" [87] qui consiste à multiplier par une rampe chaque chargement :

$$\underline{f}_v = \underline{f}_g + r_f(t) \underline{f}_f + r_{ad}(t) \underline{f}_{ad} + r_{act}(t) \underline{f}_{act} \quad (5.3.42)$$

où r_f , r_{ad} et r_{act} sont des rampes croissantes valant 1 aux temps T_f , T_{ad} et T_{act} et débutent aux temps 0 s, T_f et T_{ad} (Figure 5.7. Enfin, une étape d'accumulation d'Ag et RCB est modélisée par la rampe r_{acc} définie plus haut débutant à T_{act} et valant 1 à 0.8 T_e , ie à 80 % de la durée totale de l'étude T_e . Enfin, on calcule la résultante des forces de contact $\underline{F}_{g \rightarrow c}$ de la goutte sur la cellule par :

$$\underline{F}_{g \rightarrow c} = \int_{\Omega} \underline{f}_g(\underline{x}) d\Omega = \int_{\Omega_0} J(\underline{X}, t) \underline{f}_g(\underline{X} + \underline{u}) d\Omega_0 \quad (5.3.43)$$

La symétrie du modèle impose directement que la norme de cette force est égale à la valeur absolue de sa composante verticale, ie selon (O, \underline{e}_y) .

5.3.6 Synthèse des phénomènes modélisés

On peut résumer le problème par la formulation forte suivante :

Trouver \underline{u} défini sur Ω_0 tel que :

$$\left\{ \begin{array}{l} \nabla \cdot \underline{B} + J \underline{f}_v = \rho_0 \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2} \quad \underline{X} \in \Omega_0 \\ \underline{f}_v = \underline{f}_g + r_f(t) \underline{f}_f + r_{ad}(t) \underline{f}_{ad} + r_{act}(t) \underline{f}_{act} \\ \underline{B} = 2\alpha \underline{F} + 2\beta \underline{H} \times \underline{H} + f'_w(J) \underline{H} \\ \underline{H} = J \underline{F}^{-T} \\ \underline{F} = \underline{I} + \nabla \underline{u} \\ \underline{u} \cdot \underline{n}_0 = 0 \quad \underline{X} \in \Gamma_{sym} \\ \underline{B} \underline{n}_0 = 0 \quad \underline{X} \in \partial\Omega_0 \setminus \Gamma_{sym} \end{array} \right. \quad (5.3.44)$$

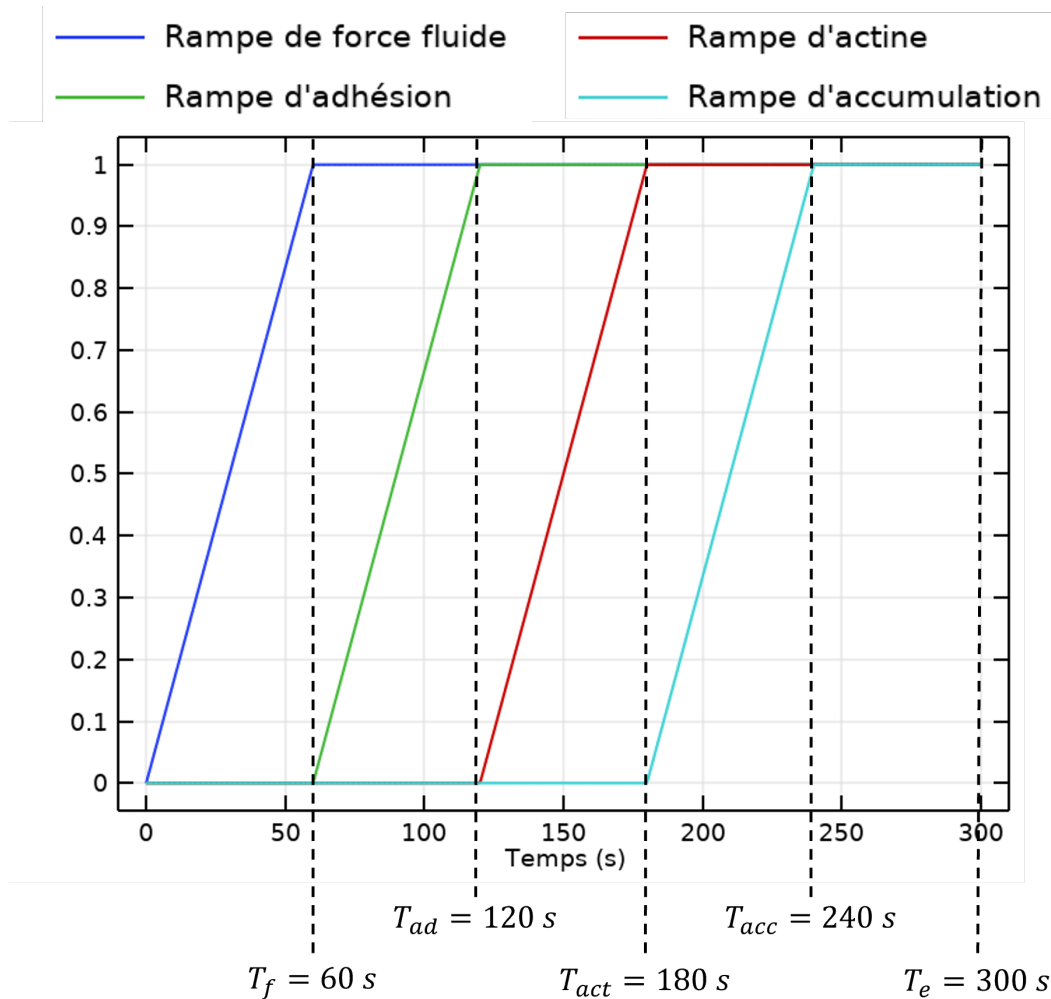


FIGURE 5.7 – Représentation graphique des différentes rampes : r_f , r_{ad} , r_{act} et r_{acc} . Les phénomènes associés sont respectivement : l'action du fluide sur le lymphocyte, l'action d'adhésion du lymphocyte sur la goutte, l'action des filaments d'actine dans le lymphocyte et l'accumulation d'antigènes et récepteurs au niveau de la synapse.

où toutes les variables ne dépendent que de l'inconnue du problème *ie* le champ de déplacement \underline{u} et de la configuration initiale supposée connue via \underline{X} . Ce modèle prend en compte plusieurs caractéristiques de la synapse : (i) la déformabilité du lymphocyte en différenciant son noyau et son cytoplasme, (ii) l'action du fluide porteur sur la cellule, (iii) le contact entre la goutte et le lymphocyte, (iv) l'adhésion entre les ligands présents sur la goutte et les récepteurs de la cellule contrôlable par l'affinité du couple LR, les concentrations initiales et le paramètre d'accumulation en Ligands et récepteurs au niveau de la synapse et (vi) l'action des filaments d'actine dans le cytoplasme du lymphocyte.

5.3.7 Stratégie de résolution

Comme pour le problème de Stokes incompressible aux chapitres précédents, on ré-écrit le problème en formulation faible, *ie* on multiplie l'équilibre par une fonction test \underline{u}^* et on l'intègre sur le

domaine solide initial Ω_0 :

$$\int_{\Omega_0} \nabla \cdot \underline{\underline{B}} \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 + \int_{\Omega_0} J \underline{f}_v \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 = \int_{\Omega_0} \rho_0 \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2} \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 \quad (5.3.45)$$

On effectue une intégration par partie du premier terme :

$$-\int_{\Omega_0} \underline{\underline{B}} : \underline{\nabla} \underline{u}^* d\Omega_0 + \int_{\Omega_0} \nabla \cdot (\underline{\underline{B}} \underline{u}^*) d\Omega_0 + \int_{\Omega_0} J \underline{f}_v \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 = \int_{\Omega_0} \rho_0 \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2} \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 \quad (5.3.46)$$

et le théorème de Green-Ostrogradski simplifie le terme en divergence :

$$-\int_{\Omega_0} \underline{\underline{B}} : \underline{\nabla} \underline{u}^* d\Omega_0 + \int_{\partial\Omega_0} (\underline{\underline{B}} \underline{n}_0) \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 + \int_{\Omega_0} J \underline{f}_v \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 = \int_{\Omega_0} \rho_0 \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2} \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 \quad (5.3.47)$$

on reconnaît ici le principe des travaux virtuels. On considère qu'aucune contrainte extérieure n'est appliquée sur le bord extérieur du lymphocyte $\partial\Omega_0$, ce qui annule le terme intégré sur $\partial\Omega_0$ et donne la formulation faible de l'équilibre que l'on implémente dans Comsol Multiphysics :

Trouver \underline{u} défini sur Ω_0 tel que pour tout \underline{u}^* :

$$-\int_{\Omega_0} \underline{\underline{B}} : \underline{\nabla} \underline{u}^* d\Omega_0 + \int_{\Omega_0} J \underline{f}_v \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 = \int_{\Omega_0} \rho_0 \frac{\partial^2 \underline{u}}{\partial t^2} \cdot \underline{u}^* d\Omega_0 \quad (5.3.48)$$

cette équation est discrétisée en espace par la méthode des éléments finis (explicitée en chapitre 1) en utilisant des éléments $P2$ (triangles quadratiques) pour le champ de déplacement. La discrétisation en temps est réalisée par la méthode des différences finies implicite. Le système résultant de cette équation étant non-linéaire en \underline{u} , un solveur direct n'est plus suffisant. On utilise donc un algorithme itératif de Newton-Raphson amorti pour le résoudre.

5.4 Résultats

5.4.1 Comparaison avec l'expérience

On étudie ici l'évolution des déformations et de la force de contact pour une synapse atteignant un rayon de contact R_c (projeté à l'horizontale sur (O, \underline{e}_x)) de $2.4 \mu\text{m}$, ce qui correspond à la longueur mesurée en expérimentations par Pinon *et al* [85]. La Figure 5.8 montre le profil du lymphocyte à la fin de chaque étape de chargement *ie* force fluide, force d'adhésion sans accumulation d'Ag ou RCB, force des filaments d'actine et accumulation d'Ag et RCB. On peut y voir une déformation faible mais existante due à la force fluide, ce qui est en accord avec les observations expérimentales au moment où le lymphocyte entre en contact avec la goutte. Dès que la force d'adhésion est activée, on constate une augmentation significative de la surface de contact et un fort changement de courbure aux bords de la zone de contact (ligne triple en 3D) ce qui laisse apparaître un angle de contact d'environ 80° comme pour de l'adhésion non-spécifique (type goutte sur substrat) mais variable en fonction du chargement. Cet angle augmente ensuite au fur et à mesure de chaque étape à 100° puis 110° pour les étapes de force d'actine et d'accumulation d'Ag et RCB (resp).

La Figure 5.9 montre l'évolution de R_c , de la surface de contact S_c et la norme de la résultante des forces de contact de la goutte sur la cellule $F_{g \rightarrow c}$. La phase de montée de la force fluide a lieu entre 0 s et 60 s . Elle induit une montée faible quasi-linéaire de la force de contact à 150 pN pour une surface de contact de $7 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}^2$. Ce qui est déjà 6 fois plus élevé que les forces de poussée estimées par Husson *et al* [41] avec les lymphocytes T.

De 60 s à 120 s la force d'adhésion (sans accumulation d'Ag et RCB) est activée, elle augmente la force de contact à 3 nN et la surface de contact à $3.8 \mu\text{m}^2$. La croissance de la force de contact et du rayon de contact est aussi assez linéaire.

De 120 s à 180 s la force des filaments d'actine est activée. Il s'agit de la phase avec la plus grande augmentation autant en force qu'en déformation : la force de contact augmente à 12.7 nN et la surface de contact à $20 \mu\text{m}^2$. l'allure des courbes de S_c et $F_{g \rightarrow c}$ prend un aspect plus courbé. On remarque en particulier une cassure dans la courbure vers environ 150 s . Cette cassure correspond à la mise en déformation du noyau.

Enfin, de 180 s à 240 s l'accumulation des Ag et RCB est activée. La surface de contact augmente à $22 \mu\text{m}^2$ pour le rayon de contact observé expérimentalement de $2.4 \mu\text{m}$ [85]. La force de contact correspondante est de 18 nN ce qui est du même ordre que la force mesurée par Pinon *et al* avec le code de Molino *et al* [68] de 40.7 nN et très proche des 20 nN mesurés expérimentalement sur des macrophages [58]. Ce résultat suggère que la valeur trouvée par Pinon *et al* [85] n'est probablement pas erronée et est effectivement très éloignée de la force de poussée exercée par des lymphocytes T dans des conditions expérimentales différentes [41]. Maintenant que le modèle est réglé pour obtenir des déformations comparables à celles des expérimentations, on s'intéresse à la variabilité des résultats en fonction de différents facteurs.

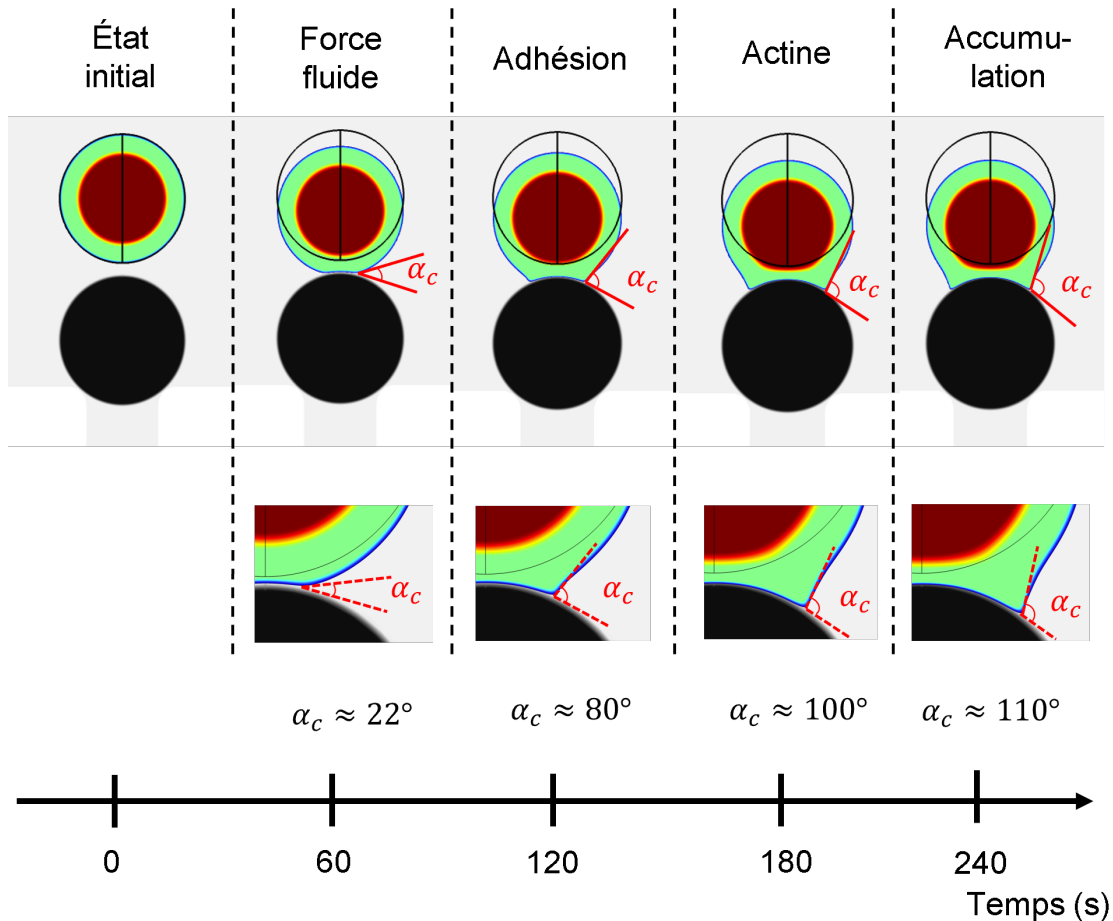


FIGURE 5.8 – Profil de déformation du lymphocyte en vue de coupe au cours du temps. Les différentes étapes représentées correspondent au profil de déformation à la fin de chaque rampe présentée précédemment. L'angle de contact α_c évolue progressivement au cours de l'étude.

5.4.2 Influence des propriétés mécaniques et de la taille du noyau

Dans cette section, on s'intéresse à l'effet de la variabilité des propriétés mécaniques du lymphocyte [77][59] et de la taille du noyau sur la formation de la synapse [14].

5.4.2.1 Rigidités du noyau et du cytoplasme

On fixe les différents paramètres aux valeurs utilisées précédemment et on fait varier la rigidité du noyau de 1 kPa à 10 kPa et du cytoplasme de 0.1 kPa à 1 kPa ce qui correspond à une variation relative de 180 % pour les deux paramètres. La Figure 5.10A montre les variations du rayon, de la surface et de la force de contact en fonction de E_n (gauche) et E_{cp} (droite). En comparant les deux graphiques, on voit que la rigidité du cytoplasme fait varier de 50 % la force de contact de sa valeur maximale contre 30 % pour la rigidité du noyau. La rigidité du cytoplasme a donc une plus grande influence que celle du noyau sur la force de contact. De même pour la surface de contact : la rigidité du noyau la fait varier de 25 % contre 70 % de sa valeur maximale pour la rigidité du cytoplasme. On en déduit que même pour une cellule à gros noyau comme un

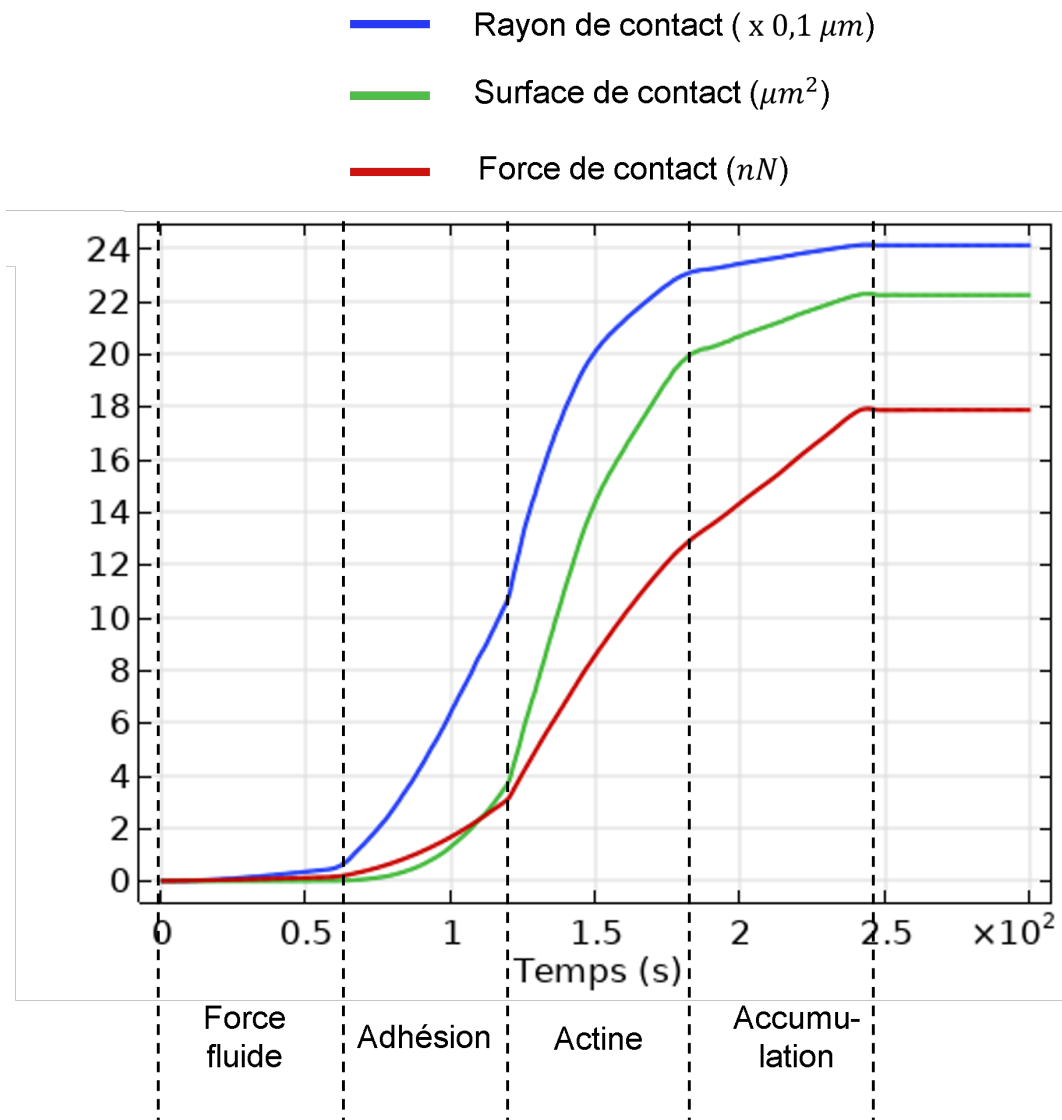


FIGURE 5.9 – Évolution du rayon, de la surface de contact et de la résultante des forces de contact de la goutte sur la cellule. Les segments verticaux pointillés représentent la fin de chaque étape aux temps 60 s, 120 s, 180 s et 240 s représentés sur la Figure 5.8 précédente.

lymphocyte, le cytoplasme reste la partie de la cellule la plus importante pour permettre la formation de la synapse. Ceci est très probablement dû au fait que les forces d'adhésion s'appliquent sur le cytoplasme (membrane y compris) tandis que noyau joue ici seulement un rôle d'obstacle inerte en termes de force. La Figure 5.10B montre les déformations du lymphocyte pour les valeurs extrêmes de E_n et E_{cp} . Pour le noyau le moins rigide ($E_n = 1 \text{ kPa}$) on constate que la cellule reste assez ronde sans réelle inversion de courbure du contour de la cellule, alors que pour le noyau le plus rigide des bords concaves apparaissent. Le phénomène inverse se produit avec le cytoplasme : moins il est rigide, plus la courbure semble s'inverser. L'inversion de courbure du contour de la cellule n'est donc pas uniquement une question de rapport de force entre l'actine et l'adhésion mais aussi de rapport de rigidité entre le noyau et le cytoplasme.

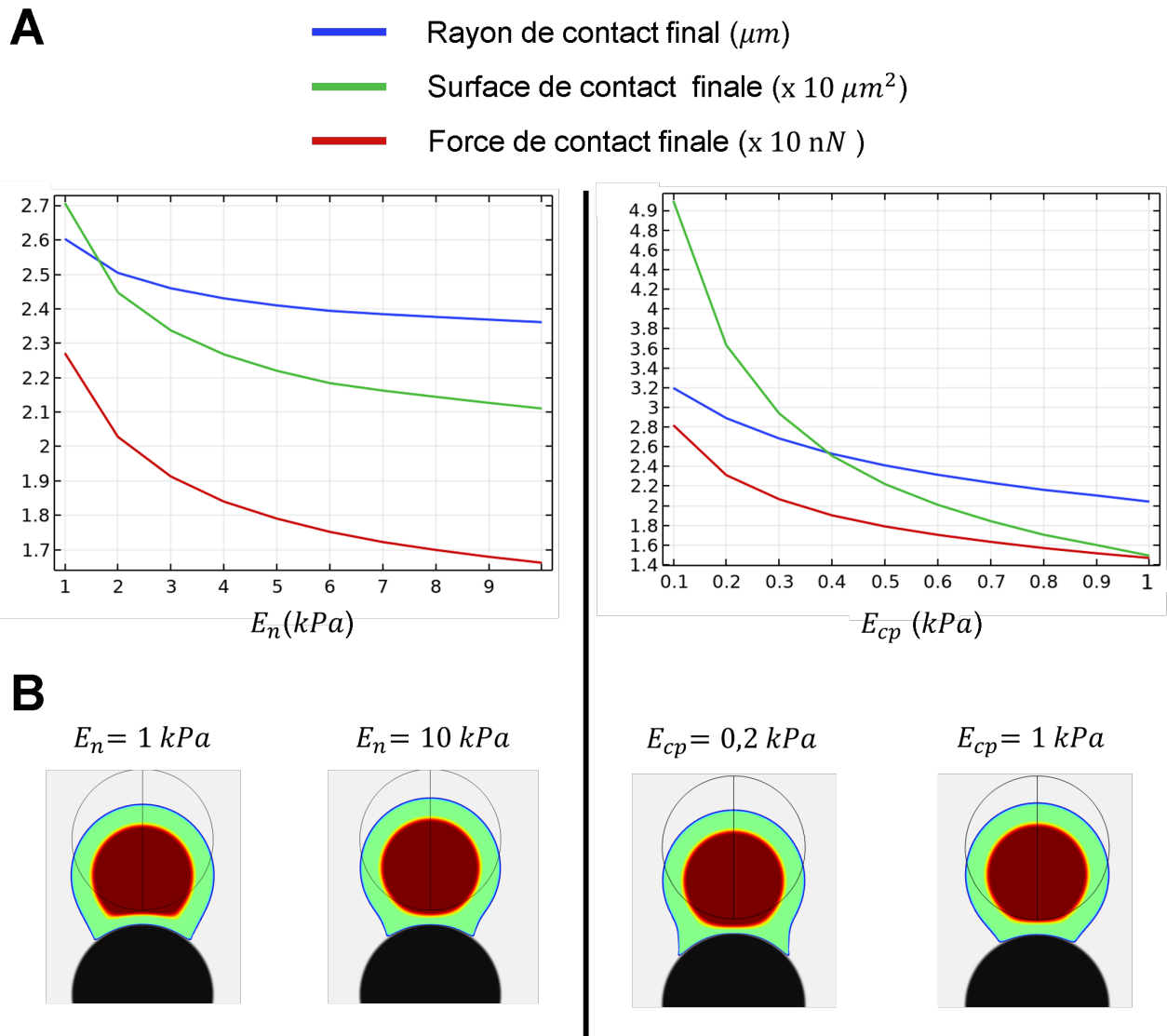


FIGURE 5.10 – **A** : effet de la rigidité du noyau (gauche) et du cytoplasme (droite) sur le rayon, la surface et la force de contact. **B** : profils de déformation du lymphocyte aux valeurs extrêmes.

5.4.2.2 Taille du noyau

On fixe les différents paramètres aux valeurs utilisées précédemment et on fait varier le rapport de diamètres entre le noyau et la cellule ("rapport noyau cellule") R_{NC} entre 10 % et 100 % sur 10 valeurs. La Figure 5.11A montre l'évolution du rayon, de la surface et de la force de contact en fonction de ce rapport R_{NC} . On peut y voir qu'entre 0.1 et 0.5, les variations du rayon de contact (projeté à l'horizontale) et de la force de contact sont faibles avec une très légère diminution pour le rayon de contact. En revanche, la surface de contact diminue plus fortement d'environ $5 \mu m^2$. Au-delà d'un rapport R_{NC} de 0.6, toutes les grandeurs décroissent fortement avec R_{NC} et notamment la surface de contact. Ce qui semble signifier qu'à chargement par unité de volume égal, plus le noyau d'un lymphocyte est gros, moins le lymphocyte peut s'étaler sur la goutte rigide. La Figure 5.11B montre les profils de déformations du lymphocyte correspondantes. On peut voir

cette baisse drastique de surface de contact passé $R_{NC} = 0.7$. D'autre part, on retrouve un phénomène assez semblable à celui observé avec la rigidité du noyau : un petit noyau permet à la cellule de garder un aspect rond, puis plus la taille du noyau augmente, plus le contour de la cellule au niveau du contact devient concave. Cette différence de forme, observable en expérimentations pourrait donc aussi s'expliquer par le rapport R_{NC} .

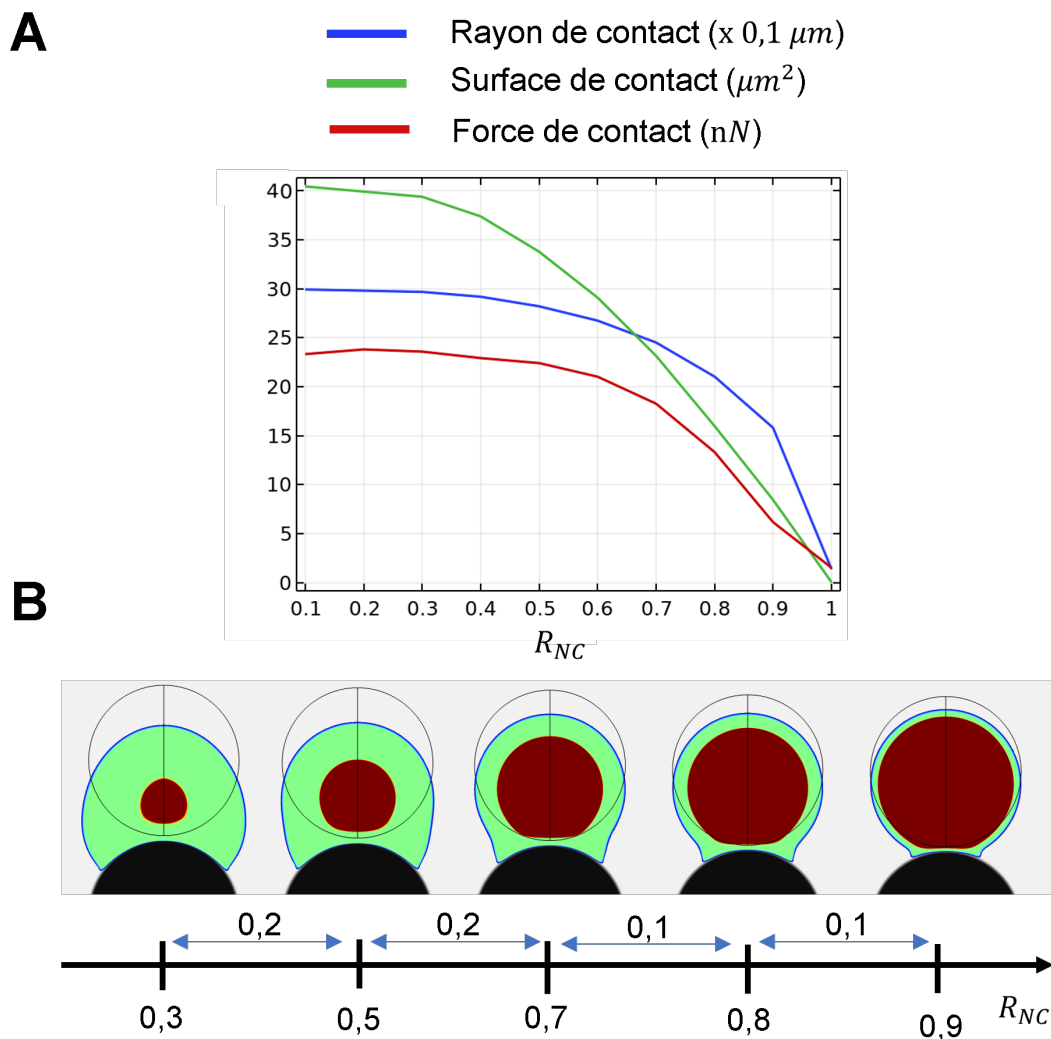


FIGURE 5.11 – **A** : effet de la taille du noyau sur le rayon, la surface et la force de contact. **B** : profils de déformation du lymphocyte pour différentes valeurs du rapport R_{NC} .

5.4.3 Prise en compte des microvillosités

La membrane d'un lymphocyte présente un aspect rugueux par ses microvillosités. Les récepteurs RCB peuvent se positionner sur ces microvillosités, ce qui change la valeur de la distance entre les récepteurs RCB et les Ag sur la goutte et donc l'allongement des liaisons Ag/RCB. Cependant, la largeur de ces microvillosités est très faible comparée à la taille de la cellule ce qui induit une problématique multi-échelle. Prendre en compte ces microvillosités dans un modèle éléments finis

demande une discrétisation très fine dans la zone d'adhésion et peut grandement augmenter les temps de calcul, c'est pourquoi on propose dans cette section un calcul séparé des autres. On modélise les microvillosités par un champ de longueur l_{mi} dans la direction normale au lymphocyte (Figure 5.12). Ce champ varie uniquement en fonction de l'angle par rapport au centre du lymphocyte θ_{mi} en suivant une loi en somme de cosinus à amplitudes et déphasages aléatoires saturée à 0 pour forcer les valeurs positives :

$$l_{mi}(\theta) = l_{moy} \max \left(\sum_{m=-N}^N \left(\frac{1}{|m|} \right)^{\frac{\beta_{mi}}{2}} G(m) \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda_{mi}} m \theta_{mi} + U(m)\right), 0 \right) \quad (5.4.1)$$

où l_{moy} est la longueur moyenne des microvillosités, β_{mi} un paramètre atténuant progressivement l'amplitude des hautes fréquences de l_{mi} , λ_{mi} la longueur d'onde, G et U des distributions aléatoires normale (gaussienne) centrée réduite et uniforme choisissant un nombre au hasard compris entre -1 et 1 . La prise en compte de ces microvillosités provoque une instabilité dans le calcul du rayon de contact sur la période de montée de la force d'adhésion possiblement solvable avec un maillage extrêmement fin au niveau de la synapse. Le calcul se stabilise une fois la rampe d'adhésion terminée et donne la valeur de $12 nN$ au lieu de $18 nN$ pour la force de contact avec un rayon de contact de $2,3 \mu m$ et une surface de contact de $20 \mu m^2$ soit une baisse de 9% de la surface de contact pour une baisse de 33% de la force de contact ce qui fait des microvillosités une ressource très utile au lymphocyte pour obtenir une surface de contact quasi-équivalente à force réduite.

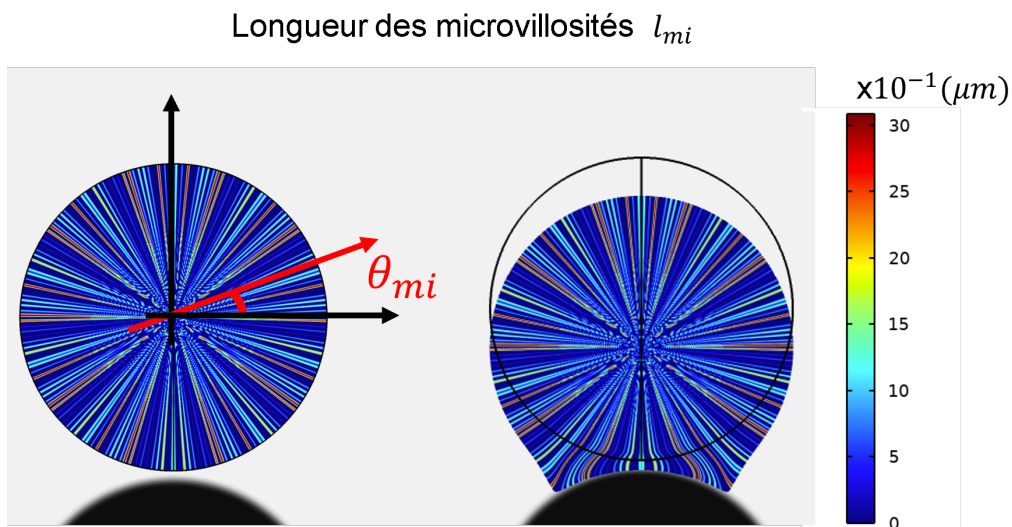


FIGURE 5.12 – Champ de distance l_{mi} représentant les microvillosités du lymphocyte à l'état initial (gauche) et dans l'état déformé (droite).

5.5 Conclusion et perspectives

5.5.1 Conclusion

Dans ce chapitre, on étudie les phénomènes conduisant à la formation de la synapse immunologique B et certains facteurs pouvant la moduler. Une analyse non-exhaustive de la littérature montre que la taille de la synapse et l'affinité des complexes antigènes-récepteurs joue un rôle déterminant sur la collecte des antigènes. Expérimentalement, les gouttes d'émulsions fonctionnalisées par des antigènes se sont révélées très utiles pour étudier la synapse : elles ont une forme ronde, permettent la mobilité des antigènes et ont une rigidité contrôlable. Dans les rares cas où les déformations des gouttes sont mesurables, il est possible d'estimer la force de contact transmise dans la synapse. Des mesures de forces menées par Pinon *et al*, donnent une valeur de force de contact de 40.7 nN . Cette valeur est très élevée comparativement aux mesures faites par Husson *et al* [41] de force de poussée exercées par des lymphocytes T de 25 pN .

Une telle différence de valeur ne semble aujourd'hui pas bien comprise. L'approche par simulation numérique ne nécessite pas la déformabilité de la goutte pour mesurer cette force de contact, elle semble donc très complémentaire à ces expérimentations. D'autre part, la littérature montre qu'il est possible de construire un modèle numérique à l'échelle de la cellule et de la goutte prenant en compte les étapes principales de formation de la synapse. On construit ici un modèle mécanique numérique représentant différents phénomènes impliqués dans la formation de synapse sur des gouttes d'émulsions *in vitro* : action du fluide sur la cellule, d'adhésion du lymphocyte sur la goutte et des filaments d'actine dans la cytoplasme du lymphocyte. Une attention particulière est portée sur les phénomènes d'adhésion afin qu'ils soient contrôlables par les mêmes paramètres qu'en expérimentations : concentrations, affinité, raideur de liaison...

D'abord, les paramètres du modèle sont réglés avec des valeurs présentes dans la littérature en ajustant la force d'actine pour obtenir le même rayon de contact qu'en expériences. La valeur de la force de contact mesurée est de 18 nN , cela est très proche des valeurs de forces obtenues sur des macrophages (environ 20 nN) [58] et relativement proche des $40,7 \text{ nN}$ de Pinon *et al*. Ceci suggère que l'ordre de grandeur de force de contact trouvé expérimentalement est cohérent. D'autre part, des études paramétriques montrent une très forte influence du rapport de taille noyau-cellule sur la taille de la synapse et dans une moindre mesure mais significative, la rigidité du cytoplasme et du noyau. Ces résultats laissent penser que certaines pathologies augmentant le rapport de taille noyau-cellule comme certains lymphomes [14] inhibent la formation de la synapse et potentiellement la réaction immunitaire adaptative, et ce, pour des considérations purement mécaniques. Enfin, la prise en compte des microvillosités sur la membrane du lymphocyte montre une baisse significative de la force de contact pour une diminution assez faible en surface de contact. Ce qui semble faire des microvillosités une ressource très utile au lymphocyte pour augmenter la taille de la synapse.

5.5.2 Perspectives

Bien que ce modèle apporte une quantification de la force et surface de contact, il faut garder en mémoire qu'il se base sur un certain nombre d'hypothèses qu'il faudrait vérifier. En effet, la réorganisation du cytosquelette quantifiée par Pineau *et al* [86] et en particulier du centrosome impliquerait une modification locale des propriétés matériaux qu'il faudrait prendre en compte. Le phénomène d'adhésion spécifique n'est pas non plus totalement représenté : (i) la durée de vie d'une liaison ligand-récepteur est influencée par la force s'exerçant sur la liaison ce qui modifie l'affinité du complexe localement [35][4], (ii) la distribution spatiale des ligands et récepteurs n'est pas nécessairement uniforme sur la zone de contact et (iii) au moment de la mise contact de la cellule sur la goutte, les complexes formés sont dans un état transitoire où leur raideur est plus élevée et donc la force d'attraction aussi ("catch bonds") . À ce sujet, la théorie de Bell *et al* propose une dépendance de l'affinité en fonction de la force d'adhésion, et une constante de raideur de complexes intermédiaire diminuant la valeur du k_d .

Il existe aussi une incertitude sur les paramètres que l'on a utilisé : l'affinité, la raideur et la longueur à vide des couples utilisés et des propriétés matériaux hyperélastiques des lymphocytes B ne sont pas encore bien déterminés, une étude complémentaire visant à déterminer ces grandeurs devrait être menée. Enfin, une autre amélioration possible consiste à appliquer une description plus précise de la force des filaments d'actine en l'atténuant dans la région centrale de la synapse et reproduire l'anneau d'actine observable sur les images de Pineau *et al* [86], ce que l'on souhaite faire très prochainement.

5.6 Études et informations supplémentaires

5.6.1 Vers un modèle de phagocytose

D'autres événements cellulaires comme la phagocytose impliquent des phénomènes assez similaires : adhésion et polymérisation d'actine. Au cours d'études paramétriques effectuées sur les forces des filaments d'actine, autant par contrainte active que par force volumique comme ici, des résultats offrant de grandes surfaces de contact ont été observés. La Figure 5.13 montre un exemple de déformations atteignables avec ce modèle. Il est par ailleurs possible d'aller plus loin en termes de surface de contact. Cela induit des déformations très élevées du noyau qui en pratique devraient provoquer une rupture de l'enveloppe nucléaire. Ce dernier résultat suggère que les cellules à gros noyaux comme les lymphocytes ne pourraient pas effectuer de phagocytose, même si elles en avaient la force. En allant plus loin, on peut supposer que certains phagocytes comme par exemple les granulocytes neutrophiles ("polynucléaires") avec leurs noyaux plus élancés comportant plusieurs lobes ont une forme pouvant supporter les forces impliquées dans la phagocytose sans subir de trop grandes déformations de noyau.

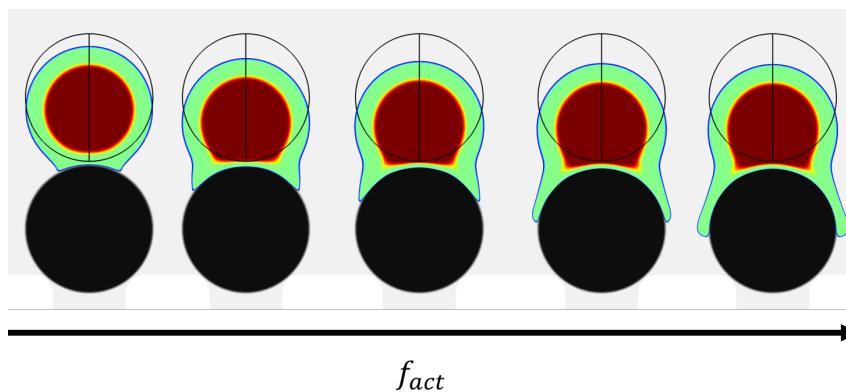


FIGURE 5.13 – Profils de cellule avec une montée progressive de la force des filaments d'actine.

5.6.2 Valeurs des paramètres

Le tableau suivant donne les différentes valeurs de paramètres utilisées. Pour les paramètres modélisant le problème fluides, les valeurs sont les mêmes que dans le chapitre précédent.

Géométrie	Description	Expression/Valeur
R_c	Rayon de la cellule	$3.5 \mu m$
R_n	Rayon du noyau	$0.7 R_c$
R_g	Rayon de la goutte	$3.5 \mu m$
x_{0c}	position x du centre de la cellule	$0 \mu m$
x_{0g}	position x du centre de la goutte	$0 \mu m$
y_{0c}	position y du centre de la cellule	$R_g + 1.06 R_c$
y_{0g}	position y du centre de la goutte	$0 \mu m$
Matériaux	Description	Expression/valeur
E_{cp}	Module de Young du cytoplasme	$500 Pa$ [18]
E_n	Module de Young du noyau	$5 kPa$ [18]
ρ_{cp}	Masse volumique du cytoplasme	$1000 kg m^{-3}$ [9]
ρ_n	Masse volumique du noyau	$1400 kg m^{-3}$ [9]
ν	Coefficient de Poisson supposé uniforme	0.48 [18]
Forces volumiques	Description	Expression/valeur
f_g	Force volumique de répulsion de la goutte (1 m hors plan)	$3 \cdot 10^{10} N m^{-3}$
f_{act}	Force volumique des filaments d'actine (1 m hors plan)	$1.3 \cdot 10^9 N m^{-3}$
K_f	Constante de couplage uni-directionnel fluide-cellule	$1.03 \cdot 10^{10} N s m^{-4}$
e_{ad}	Épaisseur de la zone d'adhésion	$300 nm$
k_{LR}	Constante de raideur des complexes ligands récepteurs	$0.01 dyn cm^{-1}$ [4]
$[L]_{0g}$	Concentration initiale en ligands sur la goutte avant contact	$50 \mu m^{-2}$ [85]
$[R]_{0c}$	Concentration initiale en récepteurs sur la cellule avant contact	$95 \mu m^{-2}$ [85]
χ_L	Facteur d'accumulation de ligands sur la goutte au contact	0.5 [85]
χ_R	Facteur d'accumulation de récepteurs sur la cellule au contact	0.5
K	Constante d'équilibre (affinité) chimique du complexe ligand-récepteur	10^{-8} [4]
l_0	Longueur à vide d'un complexe ligand-récepteur	$50 nm$ [10]
Microvillosités	Description	Expression/valeur
N	Nombre de fréquences	10
l_{moy}	longueur moyenne de microvillosité	$380 nm$ [19]
λ_{mi}	longueur d'onde	$25 nm$ [19]
β_{mi}	facteur d'atténuation des hautes fréquences	0.1
Paramètres numériques	Description	Expression/valeur
T_e	Durée de l'étude	$5 min$ [86]
T_f	date d'activation totale de la force fluide	$0.2 T_e$
T_{ad}	date d'activation totale de la force d'adhésion	$0.4 T_e$
T_{act}	date d'activation totale de la force d'actine	$0.6 T_e$
T_{acc}	date d'activation totale de l'accumulation de ligands et récepteurs	$0.8 T_e$
$h_{max-elem}$	Taille d'élément maximale	$0.2 \mu m$

TABLE 5.1 – Paramètres du modèle d'adhésion. Lorsque les paramètres varient, les variations sont précisées dans la section dédiée.

5.6.3 Produit croisé de Bonnet *et al*

La formulation de la loi de comportement hyperélastique polyconvexe de Bonnet *et al* [57] peut s'écrire :

$$\underline{B} = \underline{B}_F + \underline{B}_H \times \underline{H} + B_J \underline{H} \quad (5.6.1)$$

dans laquelle apparaît le produit croisé de Bonnet *et al* [67]. Il est défini de la manière suivante pour deux tenseurs euclidiens d'ordre 2, \underline{U} et \underline{V} :

$$(\underline{U} \times \underline{V})_{ij} = \epsilon_{ikl} \epsilon_{jmn} U_{km} V_{ln} \quad (5.6.2)$$

où ϵ_{ikl} représente les composantes du tenseur alterné de l'unité défini par :

$$\epsilon_{ikl} = \begin{cases} 1 & \text{si } \{i, k, l\} = \{1,2,3\} \text{ ou } \{2,3,1\} \text{ ou } \{3,1,2\} \\ 0 & \text{si deux indices sont égaux} \\ -1 & \text{si } \{i, k, l\} = \{2,1,3\} \text{ ou } \{1,3,2\} \text{ ou } \{3,2,1\} \end{cases} \quad (5.6.3)$$

c'est-à-dire 1 pour les permutations paires, -1 pour les impaires et 0 sinon.

Conclusion générale

La réaction immunitaire adaptative est un phénomène crucial pour la survie des organismes pluricellulaires en réponse à l'invasion par des agents infectieux ou la prolifération de cellules tumorales. L'enclenchement de ce processus passe par l'intervention de synapse immunologique qui est la jonction pouvant apparaître entre une cellule immunitaire appelée lymphocyte et une cellule présentatrice d'antigènes (CPA). Plus spécifiquement, la synapse immunologique B permet l'activation des lymphocytes B, qui une fois différenciés en plasmocytes produisent des anticorps pouvant fortement inhiber les agents infectieux et participer au processus de destruction des cellules tumorales. La synapse immunologique B reste cependant un mécanisme qui n'est pas totalement élucidé aujourd'hui, notamment parce-qu'il implique une grande quantité de phénomènes physico-chimiques et mécaniques complexes. Pour étudier la synapse immunologique, il est nécessaire de pouvoir isoler un grand nombre de lymphocytes et de CPA dans l'espace et sur des durées contrôlables. La microfluidique peut aujourd'hui répondre à cette demande par l'utilisation de réseaux de pièges microfluidiques, chaque piège permettant d'isoler un lymphocyte et une CPA. Pour mieux comprendre la synapse immunologique, une variété assez large de substituts artificiels aux CPAs ont été développés dans la littérature permettant d'étudier le comportement des lymphocytes en réponse à un environnement sur lequel on a le contrôle expérimentalement. Les substituts aux CPAs les plus prometteurs actuellement sont les gouttes d'émulsions fonctionnalisées par des antigènes car elles cumulent les avantages des substituts présentés dans la littérature : elles ont une forme ronde, permettent la mobilité des antigènes à leur surface et sont potentiellement déformables. Des expériences récemment menées par l'équipe de Jacques Fattaccioli à l'Institut Pierre-Gilles de Gennes (IPGG) ont permis la reproduction de synapses immunologiques B sur des gouttes d'émulsions dans des réseaux de pièges microfluidiques d'une centaine de pièges chacun. Cependant, cette démarche fait face à de grandes difficultés techniques aujourd'hui : il est très rare d'obtenir un bon remplissage des réseaux de pièges, on ne sait pas quelles conditions de pression appliquer sur le fluide pour avoir un chargement représentatif des conditions *in vivo* et un grand doute persiste sur l'ordre de grandeur des forces de contact impliquées dans une synapse entre les lymphocytes B et les gouttes d'émulsions. Aujourd'hui, il est très difficile de répondre à ces questions avec une approche purement expérimentale : (i) optimiser la géométrie du réseau de pièges demanderait la conception et la fabrication du réseau de pièges de manière répétée et un très grand nombre de fois, (ii) il ne semble pas exister de moyen expérimental capable de mesurer simplement le cisaillement fluide que subit une cellule et (iii) les gouttes d'émulsions ne permettent que très rarement d'observer leurs déformations, dans quel cas la valeur des forces mesurées semble *a priori* trop élevée. L'approche numérique permet de contourner ces difficultés expérimentales et pourrait donner accès à ces grandeurs. Dans cette thèse, une série de modèles numériques sont développés afin de répondre à ces questions.

Un premier modèle est développé afin de comprendre quels mécanismes physiques sont favorables à la capture d'objets micrométriques dans les réseaux de pièges bidimensionnels (2D) denses. Des observations expérimentales menées par Mesdjian *et al* [72] ont démontré que l'introduction d'un décalage entre l'entrée et la sortie de la chambre microfluidique dans la direction transverse à l'écoulement permet une forte amélioration du remplissage du réseau de pièges. Nous avons donc commencé par chercher à retrouver ce résultat avec le modèle. Après analyse de la littérature, le type de modèle qui apparaît le plus intéressant pour cette problématique est un modèle hydrodynamique à particules. Nos résultats ont d'abord montré la complexité de notre problème lié à la disposition en 2D des pièges dans l'espace : le fait que les pièges puissent se partager les flux les traversants rend inadéquat le critère d'efficacité de rapport de débit utilisé dans la littérature. Ensuite, l'utilisation des particules a permis de retrouver des remplissages en très bonne concordance avec l'expérience, autant en termes de remplissage qu'en termes de trajectoires des particules. L'analyse de ces trajectoires à l'échelle d'un piège nous a permis de comprendre qu'un mécanisme clef à l'origine de l'amélioration du remplissage par écoulement oblique est la brisure de symétrie de l'écoulement. Ces premiers résultats nous ont amené à deux questions : existe-t-il un écoulement incident sur le réseau de pièges optimal pour la capture des objets ? Et introduire du désordre dans le réseau de pièges pour briser la symétrie de l'écoulement est-il efficace ?

Nous avons donc décidé de mener une étude d'optimisation paramétrique de la chambre microfluidique d'une part, et du réseau de pièges en introduisant du désordre d'autre part. Nous avons testé plusieurs approches d'optimisation de la chambre microfluidique : paramétrique simple, multiparamétrique et par algorithmes d'optimisation. Nos meilleurs remplissages ont été obtenus par deux méthodes d'optimisations basées sur l'utilisation de simplexe : Nelder-Mead et COBYLA. Celle offrant le meilleur compromis entre nombre de particules capturées et nombre de pièges occupés est la méthode Nelder-Mead. Conformément à nos résultats précédents, la chambre Nelder-Mead re-crée un écoulement oblique avec un faisceau de particules plus concentré sur le réseau de pièges que dans les expérimentations de Mesdjian *et al* [72]. L'introduction de désordre dans le réseau de pièges en gardant une chambre symétrique nous a amené à une grande amélioration du remplissage mais un peu plus faible que la chambre Nelder-Mead. Enfin, la généralisation de ces résultats sur des réseaux de pièges jusqu'à 5 fois plus grands montre une forte stabilité des résultats pour les réseaux de pièges désordonnés en termes de remplissage : 80 % des pièges se remplissent indépendamment de la taille du réseau de pièges dans la direction transverse à l'écoulement. Tandis que pour la chambre Nelder-Mead l'efficacité de remplissage finit par décroître assez rapidement avec le nombre de pièges. Ces résultats suggèrent donc que si le biologiste souhaite travailler avec un réseau de pièges en quinconce, il devrait utiliser une chambre optimisée re-créeant un écoulement oblique et rester sur des réseaux de pièges autour des 100 – 200 pièges. Si le biologiste dispose d'un moyen automatique d'observation des pièges, nous recommandons plutôt l'utilisation d'un réseau de pièges désordonné avec le nombre de pièges de son choix dans la direction transverse à l'écoulement.

On s'est ensuite penché plus précisément sur le comportement des cellules et des gouttes capturées et appariées à l'échelle d'un seul piège microfluidique. Notre objectif est d'estimer la contrainte de cisaillement fluide maximale que peut recevoir un lymphocyte B capturé dans un piège en contact avec une goutte. L'écoulement réel autour du lymphocyte étant tri-dimensionnel (3D), il n'est plus possible d'étudier tous les pièges en un seul modèle. On construit donc à partir du modèle précédent, un modèle 3D de l'écoulement du fluide porteur autour du lymphocyte B et de la goutte en simplifiant la forme du lymphocyte formant une synapse avec la goutte par deux sphères rigides se chevauchant légèrement. Nos résultats ont montré que les valeurs de pressions utilisées en expériences sont dans le bon encadrement de contrainte de cisaillement subie par les lymphocytes B dans les ganglions lymphatiques *in vivo*.

Enfin, un dernier modèle sur la question de l'ordre de grandeur de la force de contact transmise dans la synapse a été développé. Les expériences menées par Pinon *et al* [85] basées sur la déformation de la goutte amènent à une force de contact de 40.7 nN tandis que la force de poussée mesurée par Husson *et al* [41] sur des lymphocytes T est de 25 pN en moyenne. Cet écart n'est aujourd'hui pas expliqué. Les déformations de la goutte mesurées par Pinon *et al* étant assez faibles et rares, l'approche numérique ne nécessitant pas la déformabilité des gouttes peut s'avérer très complémentaire à l'approche expérimentale. Pour calculer les forces de contact, on décide donc de construire un modèle de mécanique non-linéaire de formation de la synapse immunologique B sur goutte d'émulsion rigide. Ce modèle prend en compte les phénomènes mécaniques principaux impliqués dans la formation de la synapse : contact, adhésion, protrusion sous effet de l'actine et accumulation de récepteurs B et d'antigènes au niveau de la synapse. Les résultats ont montré que pour obtenir les mêmes surfaces de contacts que celles observées expérimentalement, la force de contact doit être de 18 nN ce qui est proche des 40.7 nN estimés par Pinon *et al*. Cette ressemblance nous suggère que la méthode employée par Pinon *et al* est effectivement valide et qu'il existe bien une grande différence de valeur de force de contact entre une synapse immunologique T sur bille rigide et une synapse immunologique B sur gouttes d'émulsions. Des études paramétriques montrent une très forte influence du rapport de taille noyau-cellule sur la taille de la synapse en particulier entre 0.7 et 0.9 ce qui est une fourchette de valeurs tout à fait observables *in vivo*. Il semble donc que certaines pathologies augmentant la taille du noyau comme certains lymphomes peuvent jouer un rôle mécaniquement néfaste sur la collecte des antigènes et inhiberait la réponse immunitaire adaptative.

En définitive, cette thèse portant sur la contribution numérique à l'étude expérimentale de la synapse immunologique B nous a amené à des questions d'ordre physique et technique auxquelles nous pensons apporter des réponses : la brisure de symétrie des écoulements est très favorable à la capture d'objets micrométriques. Cette brisure de symétrie peut-être obtenue via la génération d'écoulements obliques optimisés sur une distribution de pièges en quinconce ou en introduisant du désordre dans la distribution des pièges. À l'échelle du piège, notre modèle simplifiant les différentes étapes de formation de la synapse immunologique B a montré que le protocole de mesure de la force

de contact réalisé par Pinon *et al* est cohérent en termes d'ordre de grandeur ce qui laisse en suspend la question de la différence d'ordre de grandeur avec les expériences réalisées avec des lymphocytes T par Husson *et al*. De plus, la force pour former des synapses de tailles observables en expériences est très influencée par le rapport de taille noyau-cellule ce qui suggère un effet mécaniquement néfaste de certaines pathologies sur la réaction immunitaire adaptative. L'amélioration des connaissances sur la capture de cellules seules et des phénomènes de formation de la synapse immunologique peuvent s'intégrer dans les voies de recherche actuelles sur l'immunothérapie des cancers, l'individualisation des traitements et des thérapies ciblées.

Bibliographie

- [1] J. A. NELDER et R. MEAD. "A Simplex Method for Function Minimization". In : *Comput. J.* 7.4 (1965), p. 308-313. ISSN : 0010-4620. DOI : 10.1093/comjnl/7.4.308.
- [2] D. C. AUGENSTEIN, A. J. SINSKEY et D. I.C. WANG. "Effect of shear on the death of two strains of mammalian tissue cells". In : *Biotechnol. Bioeng.* 13.3 (1971), p. 409-418. ISSN : 10970290. DOI : 10.1002/bit.260130308.
- [3] E C LYNCH. "Red blood cell damage by shear stress. *Biophys J* 1972." In : 12 (1972), p. 257-273. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1484094/pdf/biophysj00725-0044.pdf>.
- [4] George I. BELL. "Theoretical models for the specific adhesion of cells to cells or to surfaces". In : *Adv. Appl. Probab.* 12.3 (1980), p. 566-567. ISSN : 0001-8678. DOI : 10.1017/s0001867800035254.
- [5] G. I. BELL, M. DEMBO et P. BONGRAND. "Cell adhesion. Competition between nonspecific repulsion and specific bonding". In : *Biophys. J.* 45.6 (1984), p. 1051-1064. ISSN : 00063495. DOI : 10.1016/S0006-3495(84)84252-6. URL : [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(84\)84252-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(84)84252-6).
- [6] THOMAS J.R.HUGHES, MALLET, MICHEL et AKIRA MIZUKAMI. "A new finite element formulation for computational fluid dynamics: II. Beyond SUPG". In : *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* 54.3 (1986), p. 341-355.
- [7] K. K. CHITTUR, L. V. MCINTIRE et R. R. RICH. "Shear Stress Effects on Human T Cell Function". In : *Biotechnol. Prog.* 4.2 (1988), p. 89-96. ISSN : 15206033. DOI : 10.1002/btpr.5420040207.
- [8] M. DEMBO et al. "The reaction-limited kinetics of membrane-to-surface adhesion and detachment". In : *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 234.1274 (1988), p. 55-83. ISSN : 14712970. DOI : 10.1098/rspb.1988.0038.
- [9] Isaac FRIED et Arthur R. JOHNSON. "A note on elastic energy density functions for largely deformed compressible rubber solids". In : *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* 69.1 (1988), p. 53-64. ISSN : 00457825. DOI : 10.1016/0045-7825(88)90166-1.
- [10] D. A. HAMMER et S. M. APTE. "Simulation of cell rolling and adhesion on surfaces in shear flow: general results and analysis of selectin-mediated neutrophil adhesion". In : *Biophys. J.* 63.1 (1992), p. 35-57. ISSN : 00063495. DOI : 10.1016/S0006-3495(92)81577-1. URL : [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(92\)81577-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(92)81577-1).

- [11] Jiaming HUA et al. "A review of the effects of shear and interfacial phenomena on cell viability". In : *Crit. Rev. Biotechnol.* 13.4 (1993), p. 305-328. ISSN : 07388551. DOI : 10.3109/07388559309075700.
- [12] Jean SALENÇON. *Mécanique du continu, Tome 1, Concepts généraux*. June. 1995. ISBN : 0471749842.
- [13] Adel M. MALEK et Seigo IZUMO. "Mechanism of endothelial cell shape change and cytoskeletal remodeling in response to fluid shear stress". In : *J. Cell Sci.* 109.4 (1996), p. 713-726. ISSN : 00219533. DOI : 10.1242/jcs.109.4.713.
- [14] Guy CHOMETTE. *Manuel d'anatomie pathologique générale*. 1997.
- [15] Facundo D. BATISTA et Michael S. NEUBERGER. "B cells extract and present immobilized antigen: Implications for affinity discrimination". In : *EMBO J.* 19.4 (2000), p. 513-520. ISSN : 02614189. DOI : 10.1093/emboj/19.4.513.
- [16] S Y QI, Jay T GROVES et Arup K CHAKRABORTY. "Synaptic pattern formation during immune recognition". In : *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98.12 (2001), p. 6548-6553.
- [17] Nigel John BURROUGHS et Christoph WÜLFING. "Differential segregation in a cell-cell contact interface: The dynamics of the immunological synapse". In : *Biophys. J.* 83.4 (2002), p. 1784-1796. ISSN : 00063495. DOI : 10.1016/S0006-3495(02)73944-1.
- [18] Nathalie CAILLE et al. "Contribution of the nucleus to the mechanical properties of endothelial cells". In : *J. Biomech.* 35.2 (2002), p. 177-187. ISSN : 00219290. DOI : 10.1016/S0021-9290(01)00201-9.
- [19] Sonja MAJSTORAVICH et al. "Lymphocyte microvilli are dynamic, actin-dependent structures that do not require Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASp) for their morphology". In : *Blood* 104.5 (2004), p. 1396-1403. ISSN : 00064971. DOI : 10.1182/blood-2004-02-0437.
- [20] James J FENG et al. "An energetic variational formulation with phase field methods for interfacial dynamics of complex fluids: advantages and challenges". In : *Model. Soft Matter* 141 (2005), p. 1-26. URL : http://link.springer.com/chapter/10.1007/0-387-32153-5%7B%5C_%7D1%7B%5C#%7D.
- [21] Introduction TO. *Introduction To R Equirements*. 2005. ISBN : 9780898716689.
- [22] Dino DI CARLO, Nima AGHDAM et Luke P. LEE. "Single-cell enzyme concentrations, kinetics, and inhibition analysis using high-density hydrodynamic cell isolation arrays". In : *Anal. Chem.* 78.14 (2006), p. 4925-4930. ISSN : 00032700. DOI : 10.1021/ac060541s.
- [23] J. Brandon DIXON et al. "Lymph flow, shear stress, and lymphocyte velocity in rat mesenteric prenodal lymphatics". In : *Microcirculation* 13.7 (2006), p. 597-610. ISSN : 10739688. DOI : 10.1080/10739680600893909.
- [24] Jacques FATTACCIOLI. "Mouillage Spécifique d'émulsions sur Substrats Biomimétiques". In : September 2006 (2006), p. 175.

- [25] S. J. FLEIRE et al. "B cell ligand discrimination through a spreading and contraction response". In : *Science* (80-.). 312.5774 (2006), p. 738-741. ISSN : 00368075. DOI : 10.1126/science.1123940.
- [26] Chunxiong LUO et al. "The combination of optical tweezers and microwell array for cells physical manipulation and localization in microfluidic device". In : *Biomed. Microdevices* 9.4 (2007), p. 573-578. ISSN : 13872176. DOI : 10.1007/s10544-007-9066-2.
- [27] Wei Heong TAN et Shoji TAKEUCHI. "A trap-and-release integrated microfluidic system for dynamic microarray applications". In : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104.4 (2007), p. 1146-1151. ISSN : 00278424. DOI : 10.1073/pnas.0606625104.
- [28] Min Cheol KIM et al. "Building a better cell trap: Applying Lagrangian modeling to the design of microfluidic devices for cell biology". In : *J. Appl. Phys.* 103.4 (2008), p. 1-7. ISSN : 00218979. DOI : 10.1063/1.2840059.
- [29] Venkataramana K. SIDHAYE et al. "Shear stress regulates aquaporin-5 and airway epithelial barrier function". In : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105.9 (2008), p. 3345-3350. ISSN : 00278424. DOI : 10.1073/pnas.0712287105.
- [30] Paul VIGNEAUX et Paul Vigneaux M. "Méthodes Level Set pour des problèmes d'interface en microfluidique". In : (2008).
- [31] Ansgar HUEBNER et al. "Static microdroplet arrays: A microfluidic device for droplet trapping, incubation and release for enzymatic and cell-based assays". In : *Lab Chip* 9.5 (2009), p. 692-698. ISSN : 14730189. DOI : 10.1039/b813709a.
- [32] J. NILSSON et al. "Review of cell and particle trapping in microfluidic systems". In : *Anal. Chim. Acta* 649.2 (2009), p. 141-157. ISSN : 00032670. DOI : 10.1016/j.aca.2009.07.017.
- [33] Mjd POWELL. "The BOBYQA algorithm for bound constrained optimization without derivatives". In : *NA Rep. NA2009/06* (2009), p. 39. URL : <http://www6.cityu.edu.hk/rcms/publications/preprint26.pdf>.
- [34] Alison M. SKELLEY et al. "Microfluidic control of cell pairing and fusion". In : *Nat. Methods* 6.2 (2009), p. 147-152. ISSN : 15487091. DOI : 10.1038/nmeth.1290.
- [35] Claude VERDIER et al. "Modeling cell interactions under flow". In : *J. Math. Biol.* 58.1-2 (2009), p. 235-259. ISSN : 03036812. DOI : 10.1007/s00285-008-0164-4.
- [36] Donald WŁODKOWIC et al. "Microfluidic single-cell array cytometry for the analysis of tumor apoptosis". In : *Anal. Chem.* 81.13 (2009), p. 5517-5523. ISSN : 00032700. DOI : 10.1021/ac9008463.
- [37] Yoshinori YAMAGUCHI et al. "Development of a poly-dimethylsiloxane microfluidic device for single cell isolation and incubation". In : *Sensors Actuators, B Chem.* 136.2 (2009), p. 555-561. ISSN : 09254005. DOI : 10.1016/j.snb.2008.11.052.

- [38] Yunpeng BAI et al. "A double droplet trap system for studying mass transport across a droplet-droplet interface". In : *Lab Chip* 10.10 (2010), p. 1281-1285. ISSN : 14730189. DOI : 10.1039/b925133b.
- [39] Stefan KOBEL et al. "Optimization of microfluidic single cell trapping for long-term on-chip culture". In : *Lab Chip* 10.7 (2010), p. 857-863. ISSN : 14730189. DOI : 10.1039/b918055a.
- [40] Kwanghun CHUNG et al. "Imaging single-cell signaling dynamics with a deterministic high-density single-cell trap array". In : *Anal. Chem.* 83.18 (2011), p. 7044-7052. ISSN : 00032700. DOI : 10.1021/ac2011153.
- [41] Julien HUSSON et al. "Force generation upon T cell receptor engagement". In : *PLoS One* 6.5 (2011). ISSN : 19326203. DOI : 10.1371/journal.pone.0019680.
- [42] Kosuke IWAI et al. "A resettable dynamic microarray device". In : *Biomed. Microdevices* 13.6 (2011), p. 1089-1094. ISSN : 13872176. DOI : 10.1007/s10544-011-9578-7.
- [43] Maria Isabel YUSEFF et al. "Polarized Secretion of Lysosomes at the B Cell Synapse Couples Antigen Extraction to Processing and Presentation". In : *Immunity* 35.3 (2011), p. 361-374. ISSN : 10747613. DOI : 10.1016/j.immuni.2011.07.008.
- [44] I. CIMRÁK, M. GUSENBAUER et T. SCHREFL. "Modelling and simulation of processes in microfluidic devices for biomedical applications". In : *Comput. Math. with Appl.* 64.3 (2012), p. 278-288. ISSN : 08981221. DOI : 10.1016/j.camwa.2012.01.062. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.camwa.2012.01.062>.
- [45] DONAHOE. "NIH Public Access". In : *Mol. Cell. Biochem.* 23.1 (2012), p. 1-7.
- [46] Elizabeth NATKANSKI et al. "B cells use mechanical energy to discriminate antigen affinities". In : *Science (80-.)*. 340.6140 (2013), p. 1587-1590. ISSN : 10959203. DOI : 10.1126/science.1237572.
- [47] Luis Miguel RIOS et Nikolaos V. SAHINIDIS. "Derivative-free optimization: A review of algorithms and comparison of software implementations". In : *J. Glob. Optim.* 56.3 (2013), p. 1247-1293. ISSN : 09255001. DOI : 10.1007/s10898-012-9951-y.
- [48] Neil SALKIND. "Journal of the American Statistical Association". In : *Encycl. Meas. Stat.* 44.247 (2013), p. 335-341. DOI : 10.4135/9781412952644.n234.
- [49] Xiaoxiao XU, Zhenyu LI et Arye NEHORAI. "Finite element simulations of hydrodynamic trapping in microfluidic particle-trap array systems". In : *Biomicrofluidics* 7.5 (2013). ISSN : 19321058. DOI : 10.1063/1.4822030.
- [50] Abbas et AL. *Basic Immunology*. 2014.
- [51] I. CIMRÁK, M. GUSENBAUER et I. JANČIGOVÁ. "An ESPResSo implementation of elastic objects immersed in a fluid". In : *Comput. Phys. Commun.* 185.3 (2014), p. 900-907. ISSN : 00104655. DOI : 10.1016/j.cpc.2013.12.013. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpc.2013.12.013>.

- [52] Pietro DE ANNA et al. "Mixing and reaction kinetics in porous media: An experimental pore scale quantification". In : *Environ. Sci. Technol.* 48.1 (2014), p. 508-516. ISSN : 15205851. DOI : 10.1021/es403105b.
- [53] B. DENG et al. "Parameter screening in microfluidics based hydrodynamic single-cell trapping". In : *Sci. World J.* 2014 (2014). ISSN : 1537744X. DOI : 10.1155/2014/929163.
- [54] Christina KETCHUM et al. "Ligand mobility regulates B cell receptor clustering and signaling activation". In : *Biophys. J.* 106.1 (2014), p. 26-36. ISSN : 00063495. DOI : 10.1016/j.bpj.2013.10.043. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2013.10.043>.
- [55] Michael J. MITCHELL, Kimberly S. LIN et Michael R. KING. "Fluid shear stress increases neutrophil activation via platelet-activating factor". In : *Biophys. J.* 106.10 (2014), p. 2243-2253. ISSN : 15420086. DOI : 10.1016/j.bpj.2014.04.001. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2014.04.001>.
- [56] Weiliang YU et al. "A microfluidic-based multi-shear device for investigating the effects of low fluid-induced stresses on osteoblasts". In : *PLoS One* 9.2 (2014), p. 1-9. ISSN : 19326203. DOI : 10.1371/journal.pone.0089966.
- [57] Javier BONET, Antonio J. GIL et Rogelio ORTIGOSA. "A computational framework for polyconvex large strain elasticity". In : *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* 283 (2015), p. 1061-1094. ISSN : 00457825. DOI : 10.1016/j.cma.2014.10.002. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.cma.2014.10.002>.
- [58] Nathalie BUFI. "Rôle de l'Inflammation sur la Rhéologie des Cellules Présentatrices d' Antigène : Perspectives pour l' Activation du Lymphocyte T". In : (2015).
- [59] Nathalie BUFI et al. "Human primary immune cells exhibit distinct mechanical properties that are modified by inflammation". In : *Biophys. J.* 108.9 (2015), p. 2181-2190. ISSN : 15420086. DOI : 10.1016/j.bpj.2015.03.047.
- [60] COMSOL MULTIPHYSICS. "Optimization Module". In : *User's Guid.* (2015), p. 98. ISSN : 1098-6596. arXiv : arXiv:1011.1669v3.
- [61] Mohammad JAFARNEJAD et al. "Modeling lymph flow and fluid exchange with blood vessels in lymph nodes". In : *Lymphat. Res. Biol.* 13.4 (2015), p. 234-247. ISSN : 15578585. DOI : 10.1089/lrb.2015.0028.
- [62] D. JIN et al. "A microfluidic device enabling high-efficiency single cell trapping". In : *Biomicrofluidics* 9.1 (2015). ISSN : 19321058. DOI : 10.1063/1.4905428.
- [63] Amelia Ahmad KHALILI et Mohd Ridzuan AHMAD. "Numerical analysis of hydrodynamic flow in microfluidic biochip for single-cell trapping application". In : *Int. J. Mol. Sci.* 16.11 (2015), p. 26770-26785. ISSN : 14220067. DOI : 10.3390/ijms161125987.
- [64] Elina KUOKKANEN, Vid ŠUŠTAR et Pieta K. MATTILA. "Molecular control of B cell activation and immunological synapse formation". In : *Traffic* 16.4 (2015), p. 311-326. ISSN : 16000854. DOI : 10.1111/tra.12257.

- [65] Fengpeng BAI et al. "A Depth-averaged Two Dimensional Shallow Water Model to Simulate Flow-rigid Vegetation Interactions". In : *Procedia Eng.* 154 (2016), p. 482-489. ISSN : 18777058. DOI : 10.1016/j.proeng.2016.07.542. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.proeng.2016.07.542>.
- [66] Charles BAROUD. "Les technologies médicales du futur à base de microfluidique". In : *Conférence données à l'école polytechnique, les jeudis de la recherche à l'X, bio-ingénierie, biologie et santé* (2016). URL : <https://www.youtube.com/watch?v=Py41k14QJ3U>.
- [67] Javier BONET, Antonio J. GIL et Rogelio ORTIGOSA. "On a tensor cross product based formulation of large strain solid mechanics". In : *Int. J. Solids Struct.* 84 (2016), p. 49-63. ISSN : 00207683. DOI : 10.1016/j.ijsolstr.2015.12.030. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijsolstr.2015.12.030>.
- [68] D. MOLINO et al. "On-chip quantitative measurement of mechanical stresses during cell migration with emulsion droplets". In : *Sci. Rep.* 6 (2016), p. 1-11. ISSN : 20452322. DOI : 10.1038/srep29113. URL : <http://dx.doi.org/10.1038/srep29113>.
- [69] Mathilde PEYREGA et Charles//Le Digabel AUDET SÉBASTIEN. "Optimisation sans dérivées sous contraintes". In : *Département mathématiques génie Ind.* (2016), p. 100. URL : <https://publications.polymtl.ca/2216/>.
- [70] F. YESILKOY et al. "Highly efficient and gentle trapping of single cells in large microfluidic arrays for time-lapse experiments". In : *Biomicrofluidics* 10.1 (2016). ISSN : 19321058. DOI : 10.1063/1.4942457. URL : <http://dx.doi.org/10.1063/1.4942457>.
- [71] Solenne DEVERAUX, Rachele ALLENA et Denis AUBRY. "A numerical model suggests the interplay between nuclear plasticity and stiffness during a perfusion assay". In : *J. Theor. Biol.* 435 (2017), p. 62-77. ISSN : 10958541. DOI : 10.1016/j.jtbi.2017.09.007. URL : <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.09.007>.
- [72] Olivier MESDJIAN. "Étude des phénomènes d'adhésion entre des cellules B et des gouttes d'huile fonctionnalisées par des anticorps à l'aide de pièges microfluidiques". In : (2017), p. 1-172. URL : <http://www.theses.fr/2017PA066502/document>.
- [73] Vigneswaran NARAYANAMURTHY et al. "Microfluidic hydrodynamic trapping for single cell analysis: Mechanisms, methods and applications". In : *Anal. Methods* 9.25 (2017), p. 3751-3772. ISSN : 17599679. DOI : 10.1039/c7ay00656j.
- [74] Paolo PIEROBON et Ana Maria LENNON-DUMÉNIL. "To use or not to use the force: How B lymphocytes extract surface-tethered antigens". In : *J. Cell Biol.* 216.1 (2017), p. 17-19. ISSN : 15408140. DOI : 10.1083/jcb.201612043.
- [75] Nassim ROUSSET, Frédéric MONET et Thomas GERVAIS. "Simulation-assisted design of microfluidic sample traps for optimal trapping and culture of non-adherent single cells, tissues, and spheroids". In : *Sci. Rep.* 7.1 (2017), p. 1-12. ISSN : 20452322. DOI : 10.1038/s41598-017-00229-1.

- [76] Katelyn M. SPILLANE et Pavel TOLAR. "B cell antigen extraction is regulated by physical properties of antigen-presenting cells". In : *J. Cell Biol.* 216.1 (2017), p. 217-230. ISSN : 15408140. DOI : 10.1083/jcb.201607064.
- [77] N. PARVANEHPOUR et al. "Diabetes can change the viscoelastic properties of lymphocytes". In : *Prog. Biomater.* 7.3 (2018), p. 219-224. ISSN : 2194-0509. DOI : 10.1007/s40204-018-0096-z. URL : <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0096-z>.
- [78] L. PINON et al. "Kinetically Enhanced Fabrication of Homogeneous Biomimetic and Functional Emulsion Droplets". In : *Langmuir* 34.50 (2018), p. 15319-15326. ISSN : 15205827. DOI : 10.1021/acs.langmuir.8b02721.
- [79] S. ARULKUMAR et al. In : *Mater. Today Proc.* 27.xxxx (2019), p. 0-31. ISSN : 22147853. URL : <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.12.188> <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.09.090> <https://doi.org/10.1080/14484846.2018.1432089>.
- [80] Solenne MONDÉSERT-DEVERAUX, Denis AUBRY et Rachele ALLENA. "In silico approach to quantify nucleus self-deformation on micropillared substrates". In : *Biomech. Model. Mechanobiol.* 18.5 (2019), p. 1281-1295. ISSN : 16177940. DOI : 10.1007/s10237-019-01144-2.
- [81] Ahmad SOHRABI KASHANI et Muthukumar PACKIRISAMY. "Efficient Low Shear Flow-based Trapping of Biological Entities". In : *Sci. Rep.* 9.1 (2019), p. 1-15. ISSN : 20452322. DOI : 10.1038/s41598-019-41938-z.
- [82] Zohreh SHEIDAEI, Pooria AKBARZADEH et Navid KASHANINEJAD. "Advances in numerical approaches for microfluidic cell analysis platforms". In : *J. Sci. Adv. Mater. Devices* 5.3 (2020), p. 295-307. ISSN : 24682179. DOI : 10.1016/j.jsamd.2020.07.008. URL : <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.07.008>.
- [83] O. MESDJIAN et al. "Enhancing the capture efficiency and homogeneity of single-layer flow-through trapping microfluidic devices using oblique hydrodynamic streams". In : *Microfluid. Nanofluidics* 25.11 (2021), p. 1-11. ISSN : 16134990. DOI : 10.1007/s10404-021-02492-1. URL : <https://doi.org/10.1007/s10404-021-02492-1>.
- [84] Sebastian J. MÜLLER et al. "A hyperelastic model for simulating cells in flow". In : *Biomech. Model. Mechanobiol.* 20.2 (2021), p. 509-520. ISSN : 16177940. DOI : 10.1007/s10237-020-01397-2. arXiv : 2003.03130. URL : <https://doi.org/10.1007/s10237-020-01397-2>.
- [85] Léa PINON. "Functionalized emulsion droplets and microfluidic traps to study B cell polarization and mechanics". In : *PhD Manuscr.* 388 (2021).
- [86] Judith PINEAU et al. "Microtubules restrict F-actin polymerization to the immune synapse via GEF-H1 to maintain polarity in lymphocytes". In : *bioRxiv* (2022), p. 2022.01.03.473915. DOI : 10.1101/2022.01.03.473915.
- [87] COMSOL INC. *Improving Convergence of Nonlinear Stationary Models*. URL : <https://www.comsol.com/support/knowledgebase/103>.

[88] J K Hale P Holmes J KEENER et al. *Volume 159 Editors*. T. 159. ISBN : 9781441919182.

Autres travaux

Dans le cadre de cette thèse, des collaborations ont été mises en place et représentant un temps de travail assez important (Figure 5.14) :

- collaboration internationale avec Thomas Stanislas du ZMBP à l'université de Tübingen portant sur la dynamique des microtubules en réponse à une contrainte mécanique appliquée par contact sur des pièges microfluidiques, ce qui pouvait s'intégrer dans notre travail mais qui n'a pas pu aboutir du fait de problèmes techniques expérimentaux et du remaniement de l'équipe allemande. Néanmoins notre travail numérique a pu obtenir des résultats : étude de l'écoulement dans un réseau de pièges 1D parallèle par un modèle numérique 3D, étude de l'influence de la capture des différents pièges sur l'écoulement dans les pièges adjacents du réseau, étude du contact en 3D d'une cellule végétale sur les parois des pièges pour en déduire les contraintes principales qui sont identifiées dans la littérature comme le stimulus agissant sur la dynamique des microtubules.
- collaboration avec Atef et Sophie Asnacios du MSC à l'université Paris Diderot sur rhéologie par microplaques de cellules et de gouttes : un modèle numérique de l'essai a été développé dans le but est d'étudier l'influence de l'angle de contact sur la mesure des modules de conservation et de pertes des gouttes.

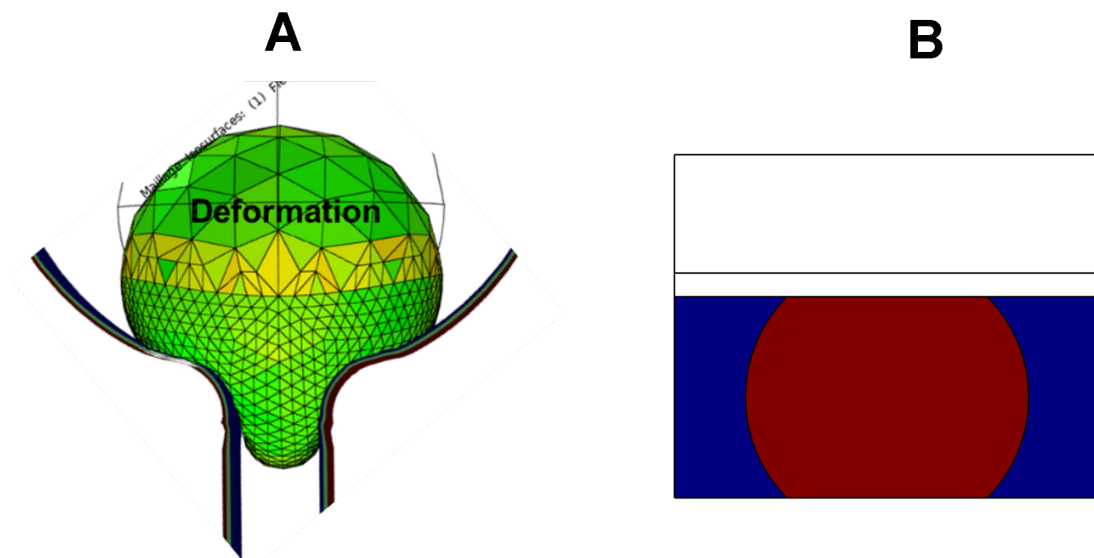


FIGURE 5.14 – Autres travaux. **A** : modèle de contact 3D d'une cellule végétale sur les parois d'un pièges. **B** : modèle de l'essai de rhéométrie à microplaques de goutte ayant un angle de contact choisi entre l'indenteur et la plaque inférieure.

Valorisations et enseignements

Publications

Articles scientifiques

- article accepté et publié en co-premier auteur dans la revue "Microfluidics and Nanofluidics" "Enhancing the capture efficiency and homogeneity of single-layer flow-through trapping microfluidic devices using oblique hydrodynamic streams" [83] ;
- article accepté en cours de publication en second auteur dans la revue "Cell Reports Methods", "Phenotyping Polarization Dynamics Of Immune Cells Using A Lipid Droplet - Cell Pairing Microfluidic Platform" ;
- article en cours de rédaction presque terminée en premier auteur, "Microfluidic trap array optimization leads to oblique and disordered flows" ;
- article en cours de rédaction sur la dynamique des microtubules induite par contrainte mécanique sur des cellules végétales dans un dispositif microfluidique.

Participations à congrès

- présentation à la fédération francilienne de mécanique de 2020
- présentation au congrès international "European Society of Biomechanics" de 2022 à Porto

Enseignement

Un total de 197 heures de cours équivalent TD ont été données dans le cadre de la mission d'enseignement du Contrat Doctoral Spécifique Normalien (CDSN) de l'ENS de Rennes. Les différents enseignements donnés sont :

- 30 heures de travaux dirigés en anglais de mécanique des milieux continus au niveau Master 1 international Biomedical engineering (BME) et Master 1 Factory of the Future (FoF) ;
- 30 heures de travaux dirigés en anglais en Master 2 en mécanique des milieux continus au niveau Master 2 international Biomedical engineering (BME) ;
- 5 heures de travaux dirigés en anglais de mécanique des milieux continus au niveau Master 2 international Biomedical engineering (BME) filière cliniciens ;
- 2 heures de travaux dirigés de mécanique des milieux continus au niveau de deuxième année d'école d'ingénieur aux Arts et Métiers de Paris (FITE) ;
- 70 heures de travaux dirigés en Conception Assistée par Ordinateur en filière Formation

d'Ingénieurs en Partenariat (FIP)

- 40 heures de travaux dirigés en systèmes différentiels dans la Filière FIP comprenant une application pratique sur l'implémentation de la méthode des différences finies sur Matlab.
- 20 heures de travaux dirigés en statique des solides indéformables dans la Filière FIP.

Formations

Un total de 110 heures de formations extérieures ont été réalisées :

- 24 heures d'introduction à l'histologie de l'université de médecine de Liège ;
- 16 heures de participation aux journées des doctorants de première et deuxième année à l'ED SMI ;
- 31 heures de participation à l'école d'hiver à Grenoble : "Physique des fluides et tissus biologiques : concepts et méthodes pour l'étude de leurs interactions multi-échelles".
- 27 heures de participation aux cours de biomécanique cellulaire du master BME spécialité Biomatériaux.
- 12 heures de participation aux séminaires "Open your Mind" du master BME.

Modèles numériques pour l'étude *in vitro* de la synapse immunologique B : de l'optimisation d'un système de capture microfluidique à l'estimation des forces de contact

Résumé

La réaction immunitaire adaptative est un phénomène crucial pour la survie des organismes pluricellulaires en réponse à l'invasion par des agents infectieux ou la prolifération de cellules tumorales. Ceci passe par la formation de synapse immunologique B, jonction entre un lymphocyte B (LB) et une Cellule Présentatrice d'Antigènes (CPA). Cependant, celle-ci n'est pas totalement élucidée car elle implique de nombreux phénomènes physico-chimiques et mécaniques complexes. Pour étudier la synapse en laboratoire, il faut isoler un grand nombre de LB et de CPA dans l'espace sur des durées contrôlables. Ceci peut être résolu par la microfluidique en utilisant des réseaux de pièges, chacun pouvant isoler un LB et des micro-gouttes portant des antigènes comme substitut aux CPA. Mais, certains verrous persistent : peu de pièges sont remplis et important écart sur la mesure de la force de contact dans la synapse en comparaison à la littérature, ce que nous appréhendons par méthode numérique. Un modèle hydrodynamique à particules a d'abord corroboré les résultats expérimentaux, nous conduisant à effectuer une étude d'optimisation du système microfluidique qui recrée une géométrie proche de celle intuitée expérimentalement. L'analyse de l'écoulement simulé nous a permis d'identifier un mécanisme clef favorisant la capture dont nous avons vérifié l'efficacité par simulation et expérience, qui de plus, se conserve indépendamment de la taille du réseau de pièges. Ensuite, nous avons étudié le comportement mécanique de la synapse elle-même avec un modèle prenant en compte le contact, l'adhésion spécifique entre antigènes et récepteurs et la polymérisation d'actine en filaments. Nos résultats ont montré que pour obtenir une surface de contact similaire aux expériences, la force de contact doit être comparable aux expériences ce qui nous a permis d'identifier l'influence de la morphologie des LB sur la formation de synapse.

Mots clés : Synapse immunologique – Immunité – Microfluidique – Modélisation – Éléments finis – Optimisation

Résumé en anglais

The adaptive immune response is a crucial phenomenon for the survival of multicellular organisms in response to invasion by pathogens or proliferation of tumor cells. This is achieved through the formation of a B cell synapse, a junction between a B cell (BC) and an Antigen Presenting Cell (APC). However, this process is not completely elucidated because it involves many complex physicochemical and mechanical phenomena. To study the synapse *in vitro*, it is necessary to isolate a large number of BCs and APCs in space over controllable durations. This can be solved by microfluidics using trap arrays, each of which can isolate one BC and antigen-coated microdroplets as a substitute for APCs. However, some obstacles remain: few traps are filled and important gap on the measurement of contact forces in the synapse compared to the literature, which we apprehend by numerical method. A hydrodynamic particle model first corroborated the experimental results, leading us to perform an optimization study of the microfluidic system. This one validates the first experimental results because it recreates a geometry close to the one experimentally intuited. The analysis of the simulated flow allowed us to identify a key mechanism that favors the capture, whose efficiency was verified by simulation and experiment, and which, moreover, is maintained independently of the size of the trap network. In a second part, we studied the mechanical behavior of the synapse itself. This model accounts the contact, specific adhesion between antigens and receptors and the force of actin filaments. Our results showed that to obtain a contact surface similar to the experiments, the contact force must be similar to the experiments which allowed us to study the influence of the BC morphology on immune synapse formation

Key words: Immune Synapse – Immunity – Microfluidics – Modelling – Finite Elements – Optimization