

AMBASSADE DE FRANCE AUX ETATS-UNIS

MISSION POUR LA SCIENCE ET LA TECHNOLOGIE

CONSULAT GENERAL DE SAN-FRANCISCO

LA MICROFLUIDIQUE EN CALIFORNIE

Un Aperçu des Recherches et Applications en Biosciences

Janvier 2004

Christophe LEROUGE

Attaché pour la Science et la Technologie

Armand RENUCCI

Attaché pour la Science et la Technologie

Armand AJDARI. Directeur de Recherche, CNRS-ESPCI

Patrick TABELING. Directeur de Recherche, CNRS-ESPCI

François CHATELAIN. Responsable du laboratoire Biopuces/DRDC, CEA-Grenoble

RESUME

En novembre 2003, un groupe d'experts français s'est rendu en Californie pour évaluer le développement des recherches dans le domaine de la microfluidique et de ses applications aux microsystèmes utilisés en biologie. Des centres de recherches universitaires et fédéraux ainsi que des entreprises ont été visités.

La mission a pu constater la vitalité des recherches menées aux Etats-Unis dans ce domaine. La microfluidique bénéficie, en effet, des fonds considérables attribués par les agences de recherche fédérales en faveur des nouvelles technologies. Ces recherches initialement menées dans un cadre académique ont commencé, désormais, à trouver des applications dans le secteur privé avec des entreprises qui commercialisent des microsystèmes incluant une composante microfluidique.

LA MICROFLUIDIQUE EN CALIFORNIE

Un Aperçu des Recherches et Applications en Biosciences

A l'initiative du service pour la science et la technologie du Consulat Général de France à San Francisco, un groupe d'experts français du CNRS et du CEA s'est rendu en Californie en novembre 2003. La mission avait pour objectif l'analyse de l'effort de recherche en microfluidique, développé actuellement dans les centres d'excellence universitaires et fédéraux ainsi que dans les entreprises de cet état qui concentre 40% de l'activité liée aux microsystèmes et aux biotechnologies aux USA.

La mission s'est déroulée sur une période de temps réduite focalisée sur la Californie. L'évaluation qui en découle n'est donc que partielle. Elle permet néanmoins d'illustrer de manière significative les efforts très importants consacrés à ce domaine sur l'ensemble des Etats-Unis.

I - Présentation :

Au sens strict, la microfluidique est un champ disciplinaire qui étudie les écoulements de liquides ou gaz dans des canaux de dimension sub-millimétrique, dont l'épaisseur peut en conséquence être dans certains cas de taille comparable aux objets qui y circulent (bulles, cellules, gouttes, polymères). Au sens large, il s'agit d'un domaine technologique transdisciplinaire qui intègre la mécanique des fluides, la chimie analytique, la chimie de surface, l'ingénierie moléculaire... De manière pratique, le terme "microfluidique" caractérise des outils technologiques utilisés dans les systèmes miniaturisés (MEMS, MicroElectroMechanical Systems) pour la maîtrise des écoulements et le contrôle des quantités transportées par les fluides.

A cette échelle, le très bon contrôle des volumes, de l'ordre du nanolitre, permet de traiter et d'analyser des quantités très limitées de produits, en parallèle et à grande vitesse (haut débit). La microfluidique contribue ainsi à améliorer la spécificité des processus physico-chimiques mis en jeu, voire d'explorer des phénomènes originaux.

Les recherches dans le domaine de la microfluidique sont en plein développement aux Etats-Unis avec de nombreuses applications notamment dans les microsystèmes utilisés en biologie. L'accès exhaustif aux génomes de multiples organismes, dont l'homme, a récemment induit de nouveaux besoins et de nouvelles perspectives dans le secteur biomédical, en particulier en recherche pharmaceutique et en diagnostic moléculaire. Ces attentes apportent un moteur supplémentaire à ce domaine de recherche. En effet, la composante microfluidique intervient dans la plupart des applications envisagées, depuis le simple capteur jusqu'aux systèmes les plus complexes intégrant de multiples fonctionnalités. De nombreux problèmes technologiques restent à résoudre pour effectuer, dans des microsystèmes, de multiples

opérations : réactions chimiques, synthèses, analyses de molécules qui doivent intervenir successivement dans de différents compartiments. L'objectif, à terme, est de pouvoir réaliser des 'lab-on-chip' (laboratoires-sur-puce).

Les travaux de recherche portent en particulier sur la compréhension théorique et la mise au point des dispositifs de microplomberie développés de façon modulaire : pompes, canaux, valves, mélangeurs, réacteurs... pouvant être intégrés dans des dispositifs complexes. Elles portent aussi sur la maîtrise des aspects physico-chimiques intervenant dans ces systèmes (interaction polymère-substrat, fonctionnalisation des surfaces). La recherche de nouveaux matériaux biocompatibles et le développement de méthodes de fabrication innovantes drainent également une partie de l'effort de recherche et constituent souvent la spécificité des laboratoires.

II - Etat des lieux :

1 - La situation en Californie/USA :

Une stratégie clairement affichée

Les avantages potentiels des microsystèmes, vitesse, parallélisme, économie de matériel, haute sensibilité, sont perçus aux USA comme un enjeu économique très important avec des applications notamment dans les domaines de la chimie, des biotechnologies (incluant le biomédical et la recherche pharmaceutique) où ils sont appelés à proliférer dans les prochaines années. La microfluidique appliquée à ces systèmes miniaturisés est reconnue comme un domaine stratégique nécessaire à leur développement.

En outre, la politique sécuritaire américaine, post-11 septembre, génère une demande accrue pour des systèmes permettant de détecter très rapidement la présence de composants biologiques ou chimiques dans une attaque de type terroriste. Dans le cadre des décisions sur la 'homeland security' (sécurité intérieure), des projets ont été initiés pour mettre au point des laboratoires miniatures portables ou de réseaux de capteurs communicants permettant une détection rapide et sensible d'agents nocifs, rapide et avec une haute sensibilité.

Objectifs technologiques

Les enjeux concernent, bien sûr, les problèmes d'écoulement des fluides à cette échelle avec la mise au point des constituants de base des microsystèmes : pompes et valves efficaces essentielles pour élaborer des laboratoires sur puces avec de multiples fonctionnalités. Les groupes de recherche californiens visités cherchent, ainsi, à faire progresser le domaine, soit pour lever un "verrou" technologique se présentant dans une application particulière, soit, de manière plus académique, pour faire progresser les connaissances théoriques. De ce point de vue, les laboratoires les plus impressionnants ont réussi à développer une compétence propre précise pour l'appliquer ensuite à des formats microfluidiques. Par exemple dans les équipes du Pr. Fréchet : chimie de surface et synthèse de structures poreuses (monolithes) assistée par laser – du Pr. Santiago : phénomènes electrocinétiques (maîtrise expérimentale et théorique) – du Pr. Quake : technologie PDMS (Polydiméthylsioxane) à deux niveaux (liquide et gaz sous

pression contrôlée) très versatile avec de nombreux modules associables (pompe, mélangeur, doseurs, etc..).

Par ailleurs, l'utilisation des microsystèmes est abordée par certains laboratoires qui développent une ingénierie adaptée aux problèmes posés :

- Réalisation d'une interface efficace entre le monde réel et le microsysteme ;
- Reproductibilité des résultats et donc des processus ;
- Connectiques, fuites, alimentation ou encore contrôle de traitement des surfaces grâce à des matériaux adaptés.

Les problèmes non résolus restent encore majeurs et les progrès passent par le développement d'approches interdisciplinaires. De ce point de vue, la souplesse des universités et des agences de recherche américaines permet la constitution rapide d'équipes avec un spectre de compétence très large : physiciens, chimistes, biologistes...

Néanmoins quelques solutions technologiques, en petit nombre, commencent désormais à apparaître sur le marché, commercialisées par des entreprises comme Fluidigm, Agilent, Nanostream ou Caliper (qui commercialise directement ses systèmes HTS – High Throughput Screening). Elles restent limitées à des systèmes relativement simples (microréacteurs, micronébulisateurs, micro électrophorèse capillaire) pour les équipements scientifiques. Cette première réponse industrielle où un petit nombre de créneaux commencent à être occupés par des sociétés très spécialisées, est certainement appelée à un fort développement en considérant le spectre très large des besoins à satisfaire, la dynamique de recherche amont engagée et le rythme soutenu de dépôt de brevets dans le domaine. Sur le marché très particulier de l'équipement scientifique, les premières sociétés qui présenteront des solutions technologiques disposeront d'un avantage concurrentiel qu'il sera difficile de remettre en cause. Les laboratoires ne changeront pas de fournisseurs, pour des raisons de compatibilité ou de continuité des protocoles expérimentaux.

Des moyens considérables

Les moyens humains et matériels aux USA, mis en œuvre pour développer le domaine de la microfluidique, apparaissent considérables et des programmes très variés, avec une forte dynamique à l'interface des biosciences, sont en cours. Tous les échelons de la recherche fondamentale, des laboratoires gouvernementaux et académiques aux acteurs industriels allant de start-up aux grandes entreprises (HP, Honda, entreprises pharmaceutiques...) sont concernés. De fortes interactions entre ces différents acteurs se traduisent par des flux de personnes possédant des compétences complémentaires.

Les moyens financiers apportés par les Universités (incluant des donations considérables de particuliers ou d'entreprises), par les agences gouvernementales (DARPA, NIH, NSF, DOE, NASA) complétés par des Consortia d'industriels et mis en œuvre sur des périodes de temps suffisamment longues sont à la hauteur des besoins et des enjeux du domaine. A titre d'exemple, le BSAC¹ qui regroupe à Berkeley les activités en microsystèmes dispose d'un budget annuel de 10 millions de dollars.

¹ Berkeley Sensor and Actuator Center. Cf. annexes.

L'état d'esprit visionnaire et conquérant des agences permet de soutenir l'effort de recherche et constitue un fort stimulus pour tous les laboratoires. Les grandes initiatives lancées par ces agences et soutenues au plus niveau politique, en particulier dans les sciences du vivant (doublement des budgets des NIH en 5 ans) et pour les nanotechnologies (Nanotech Initiative) ont drainé une masse financière considérable qui a su être exploitée au mieux par les chercheurs. Ainsi les NIH disposent d'un budget annuel de 27,1 milliards de dollars et la « nanotechnology bill » adoptée récemment par le Congrès américain accorde 3,7 milliards de dollars sur 4 ans (2005-2008) pour les recherches en nanotechnologie. Les laboratoires de microfluidique en bénéficieront directement.

Des premiers résultats positifs

Ces différents aspects contribuent à l'établissement de bons groupes de recherche capables d'attirer massivement les meilleurs étudiants et postdocs dont beaucoup viennent d'Europe. Le système de recherche américain permet une très grande réactivité des équipes face aux enjeux des nouvelles thématiques. C'est un point crucial dans les domaines se situant à l'interface des disciplines plus traditionnelles. Des groupes récemment créés sur des thèmes originaux peuvent, en quelques années, atteindre une taille de plusieurs dizaines de chercheurs avec une montée en puissance rapide pour les très bons (Cf. les laboratoires des Pr. Quake et Santiago). Ainsi, les nouveaux domaines, comme la microfluidique, née en Europe il y a une dizaine d'années, peuvent être facilement développés dans les universités capables de monter des laboratoires très rapidement compétitifs.

Les liens étroits, aux Etats-Unis, entre l'industrie et le monde académique permettent ensuite de diffuser rapidement les innovations vers le marché. C'est ainsi qu'une activité économique est un train de se développer en Californie. Les premières applications de la microfluidique, issues directement des travaux universitaires, sont désormais commercialisées par des entreprises américaines.

Ces moyens, associés à la qualité des équipes impliquées, laissent penser que les Etats-Unis garderont une position de leader dans le domaine dans les prochaines années.

2 - Comparaison avec la France

Les experts ont pu constater qu'il n'y a pas de décalage de connaissances entre les laboratoires français et californiens. Par exemple, des travaux de qualité intrinsèquement comparable à ceux du Pr. Santiago sont réalisés en France dans le domaine de la microfluidique fondamentale.

Les contributions françaises dans certains domaines clés, comme les polymères, la microfabrication ou les phénomènes électrocinétiques sont reconnues par les chercheurs américains. Sur la base de ce savoir-faire existant, les laboratoires français ont la capacité de saisir des opportunités dans le domaine.

Il est intéressant de noter les similarités importantes entre le CEA-Leti et Sandia National Labs, tant en ce qui concerne la proportion d'ingénieurs, l'approche projet, la structure et la

taille des équipes que les missions et les modes de valorisation. Il apparaît néanmoins que les équipes de Sandia ont quelques longueurs d'avance pour la réalisation de systèmes complets.

En revanche, cette mission a permis de préciser une situation de décalage croissant, pour la microfluidique, entre les USA et la France. Cela est illustré quantitativement par la comparaison du nombre de réalisations, brevets, et publications dans le domaine. Par exemple, au congrès microTAS qui s'est tenu en Californie en octobre 2003, les chercheurs français comptaient seulement 4 contributions sur un total de 700. D'une manière générale la présence française dans les conférences internationales reste très minime. Ce retard se retrouve également par rapport à d'autres pays européens : Suisse, Hollande, Suède et Royaume-Uni.

Plusieurs éléments peuvent expliquer ce retard. La recherche en microfluidique en France a démarré tardivement et ne couvre encore qu'une petite partie du domaine. Le nombre de projets reste beaucoup plus modeste, et il n'est pas sûr qu'ils portent, à l'heure actuelle, une ambition à la hauteur des enjeux. On pourra évoquer sans grand risque la faiblesse des moyens attribués aux équipes concernées : l'effort académique français (hors CEA) consacré à ce domaine, se chiffre, grossièrement, à 4 millions d'euros par an (salaires compris)² : cela représente le budget de 2 équipes américaines. Cette faiblesse reflète une difficulté, dans le contexte français, de mobiliser des ressources importantes sur des sujets nouveaux. De façon générale, très peu de chercheurs français pourraient en 4 ans obtenir les conditions dont bénéficie par exemple le Pr. Santiago à Stanford : budget, 300 m² de laboratoire, une douzaine d'étudiants avec chacun un poste de manipulation équipé en microscope et caméra.

Dans ce contexte, si un changement n'intervient pas, il semble inéluctable que le retard, actuellement important, s'accroîtra entre les USA et la France dans le domaine de la microfluidique. Cette situation est préoccupante dans la mesure où la microfluidique est une composante essentielle dans un grand nombre de microsystèmes.

III - Propositions d'actions :

1 - Interactions académie/industrie

- De manière classique continuer à favoriser le transfert technologique vers l'industrie par la mise en place de rencontres et de partenariats. Susciter la création d'entreprises avec un encouragement réel pour le personnel académique, à la manière de ce qui s'est passé aux Etats-Unis avec les Pr. Quake et Santiago à l'origine de la création de 'start-up'.

- Impliquer les entreprises dans la recherche académique sur le modèle du centre de microfabrication de Berkeley, qui fonctionne en partie grâce à la participation d'industriels aux frais de fonctionnement de la plateforme. Les entreprises qui versent une cotisation, obtiennent en échange un droit de regard sur les recherches en cours. Un tel système pourrait sans doute servir de modèle aux plateformes de microfabrication françaises. Il existe déjà au sein du CEA-Leti et pourrait utilement être appliqué dans d'autres laboratoires.

² Ce chiffre a été suggéré, pour fixer les idées, lors d'une table ronde de la journée du programme Microfluidique, organisée, au CNRS, le 1^{er} décembre 2003.

2 - Moyens humains et matériels

- Accroître les moyens financiers. Les financements institutionnels tels que les ACI (Actions Concertées Incitatives) pourraient être concentrés et donc réalloués sur un petit nombre de projets bien ciblés, permettant à des laboratoires d'accéder en propre à des moyens importants. L'objectif est de favoriser l'émergence de quelques groupes (même peu nombreux) avec une masse critique leur assurant une réelle compétitivité internationale.
- En parallèle, favoriser l'éducation aux interfaces (techno-bio) dans les cursus universitaires pour former des ingénieurs et des scientifiques avec des compétences larges. Divulguer, auprès d'étudiants des disciplines concernées (biologie, chimie, mécanique des fluides, physique) les développements technologiques récents, et leur impact dans leur propre discipline.
- Inciter les chercheurs à protéger leurs travaux et leurs applications industrielles en déposant des brevets avant de procéder aux publications.
- Améliorer l'accès aux salles blanches des personnels et étudiants à la manière de ce qui est pratiqué dans les installations américaines.

3 - Au niveau stratégique : une meilleure définition des objectifs.

- Réduire les cloisonnements disciplinaires afin de favoriser le transfert et l'association des compétences complémentaires essentiels dans ce champ interdisciplinaire en développement rapide et particulièrement réactif aux innovations. L'organisation encore trop verticale du CNRS, ainsi que dans d'autres établissements d'éducation et de recherche (Ecole Polytechnique, ENS), est certainement un frein à cet objectif.
 - Inviter quelques scientifiques américains afin d'expertiser les efforts récemment mis en œuvre en France dans le domaine. Cela permettrait de réorienter par la suite les financements sur les projets les plus stratégiques et les groupes les plus performants.
-

ANNEXES

Centres de recherche et laboratoires académiques visités

1 - UC Berkeley – Laboratoire du Professeur Dorian LEIPMANN.³

Le groupe du Pr. Leipmann est de taille relativement modeste (quelques étudiants, et postdocs), comparée à celle des autres équipes impliquées dans le domaine de la microfluidique dans les universités américaines. Il s'appuie en particulier sur le centre de microfabrication de l'université. Le Pr. Leipmann a été un des pionniers de la microfluidique ; il a notamment proposé le dessin du premier micromélangeur chaotique. Bien que ce projet n'ait pas donné lieu à une réalisation concrète, il est considéré comme un point de départ d'une activité foisonnante dans le domaine du micromélange.

- Technologie : Silicium.

- Réalisations majeures : micromélangeur, vanne en Silicium qui constitue une référence dans le domaine, même si les applications pratiques sont encore à démontrer.

- Multiple projets incluant une composante microfluidique :

- Application au diabète : développement de systèmes de contrôle continu et multiparamétrique du taux de glucose sanguin par des réseaux de capteurs, mise au point de bioMEMS, (projet soutenu par DARPA et Alza Corporation).
- Matrices de micro-aiguilles pour les prélèvements de fluides sous-cutanés et l'administration de médicaments (tests sur patients en cours à UCSF).
- Microfiltres pour dialyse et dosage du glucose, un des enjeux est la mesure en continu du taux de glucose sanguin du sujet afin de mieux dépister un diabète précoce et une meilleure gestion de l'administration d'hormones.
- Microvannes actives.
- Tri cellulaire appliqué au plasma sanguin afin d'enrichissement. Manipulation d'une cellule unique.
- Etudes des propriétés mécaniques de l'ADN (stretching) dans des microcanaux avec comme application la séparation et le tri de molécules de ce type.
- Microlentilles actives pour la microscopie confocale
- Nanogaps : création de gaps de 50-100 nm entre deux surfaces conductrices planes permettant potentiellement de détecter des modifications chimiques ou structurales intervenant sur ces surfaces : e.g. Hybridation d'un ADN simple brin à une molécule préalablement greffée sur cette surface.

³Laboratoire intégré dans le Bioengineering Department :
6117 Etcheverry Hall, Berkeley, CA 94720
<http://www.me.berkeley.edu/faculty/Leipmannn.html>

A côté de son laboratoire le Pr. Leipmann est un des directeurs du BSAC (Berkeley Sensor and Actuator Center), un centre de la US National Science Foundation (NSF). Il fonctionne sous la forme d'un consortium associant les universités de Berkeley et Davis à un pool d'industriels (30 actuellement). Ces derniers payent une cotisation annuelle de 50.000\$ pour bénéficier des recherches conduites dans le laboratoire (information sur les projets, avantage sur les conditions de transfert de technologies, contrat d'exclusivité). Le BSAC emploie 117 chercheurs répartis dans 10 équipes avec un budget annuel de 10 millions de \$ financé à 80% par les agences fédérales en particulier la DARPA. Plus de 100 projets sont développés : MEMS, capteurs, microfluidique...

2 - UC Berkeley – Laboratoire du Professeur Jean FRÉCHET.⁴

Le professeur Fréchet est un spécialiste (français) de la chimie des macromolécules. Il dirige un groupe d'une cinquantaine de chercheurs (25 étudiants et 25 postdocs dont 5 personnes en microfluidique) répartis sur 2 bâtiments. Il dispose de moyens impressionnants avec un budget de 5,5 millions de \$/an uniquement sous forme de grants (NSF, NIH et autres) et de redevances de l'université pour les licences industrielles. A titre personnel, J. Fréchet est membre fondateur de la société Affymetrix (puces à ADN).

- Domaine d'activité : polymères monolithes (produits dans le centre de microfabrication de l'université). Expertise appliquée au domaine de la microfluidique avec des idées originales et intéressantes en utilisant la photolithographie pour fonctionnaliser les microsystèmes. Par photopolymérisation, il fait (i) du traitement de la surface des microcanaux permettant d'y greffer spécifiquement certaines molécules, (ii) de la fabrication de structure poreuses (monolithes) dans le volume du microcanal, structure poreuse qu'il peut ensuite fonctionnaliser à différentes fins (concentration, chromatographie, génération de flux electro-osmotique), et qui doit pour la plupart des fonctions être physiquement liée aux surfaces du canal.

- Matériau utilisé : verre et plastique (cycloooléfines) sur lequel il est capable de greffer des molécules très variées adaptées aux spécificités recherchées. Polymérisation par lithographie permettant le contrôle de la taille des pores.

- Projets microfluidiques :

- Miniaturisation de procédés de séparation de macromolécules complexes (eg protéines du plasma sanguin) appliquée à des aiguilles d'injection pour spectromètre de masse. Les fonctions développées sont la concentration des protéines, la digestion trypsique et la séparation en ligne avant la nébulisation.

Ce travail fait l'objet d'une ou de plusieurs licences accordées à Agilent. Cet exemple illustre une synergie entre un laboratoire académique de haute qualité scientifique et le secteur industriel permettant à ce groupe d'occuper une place de leader dans son domaine.

- J. Fréchet collabore activement avec Rich Mathies, Professeur à Berkeley, qui développe aussi différentes applications en microfluidique.

⁴ Department of Chemistry,
718 Latimer Hall, Berkeley, CA 94720-1460
<http://www.Fréchet.com>

- Collaboration : Le Pr Fréchet a insisté sur son désir d'accueillir des étudiants ou scientifiques français dans son laboratoire afin de réaliser des transferts techniques.

3 - Université de Stanford – Laboratoire du Professeur Juan SANTIAGO⁵

Le professeur Santiago est un jeune professeur. En l'espace de 4 ans, il a réussi à obtenir des moyens considérables pour monter un groupe de 12 personnes. Il a pu contribuer, ces dernières années, à la naissance d'une petite entreprise spécialisée dans les échanges de chaleurs miniaturisés, Cooligy Inc.

- Domaine d'activité : Etude fondamentale de déplacement de fluides par électrocinétique, et des étapes de mise en oeuvre de séparation électrophorétiques (préconcentration, électrophorèse, détection) dans des solvants divers. Le Pr. Santiago est en passe d'établir des bases solides dans la modélisation et la compréhension de ces processus encore mal compris.

4 - Laboratoire National de SANDIA (Livermore). Art PONTAU⁶

Laboratoire national du DOE (Department of Energy) financé également par le DOD (Department of Defense). Sandia National Lab emploie 8000 personnes sur deux sites (Californie, Nouveau Mexique) et dispose d'un budget annuel total de 1.787 millions de \$.

Art Pontau est responsable d'un groupe de 60-70 personnes liées directement ou indirectement au thème de la microfluidique réparties dans 3 équipes : 'Microfluidics Department', 'Advanced Microsystems' et 'Biosystems Research'. Il dispose d'un budget de 18 millions de \$/an. Les réalisations sont de grande qualité, plaçant ce centre à un excellent niveau académique.

- Missions : Développer des dispositifs portables de détection et d'identification rapides d'agents biologiques ou chimiques (utilisables en cas d'agression). Liée au besoin de miniaturisation la microfluidique est essentielle pour réaliser un tel dispositif, ce qui a amené ce laboratoire national à s'impliquer dans le domaine de la recherche de base au prototype fonctionnel.

- Projet MicroChemlab : Réalisation d'un analyseur d'agents biochimiques en phase gazeuse (développé au Nouveau Mexique) et en phase liquide (développé en Californie). A terme, l'objectif est de détecter non seulement des toxines et des virus mais également des spores et des bactéries. Le prototype est autonome, transportable et facilement manipulable. Il intègre un concentrateur, un double système de séparation sur puce, un détecteur de fluorescence, des batteries, un écran à cristaux liquides avec l'électronique nécessaire. Sandia s'apprête à lancer

⁵ Laboratoire intégré dans le Department of Mechanical Engineering.
Stanford Microfluidics Laboratory, Building 530, Room 101, Stanford, CA 94305
<http://me.stanford.edu/faculty/facultydir/santiago.html>

⁶ Sandia National Laboratories, P.O. Box 969, MS 9054, Livermore, CA 94550
<http://www.ca.sandia.gov/chembio/microfluidics/>

un appel d'offre pour la fabrication et la commercialisation du système : 36 sociétés seraient intéressées.

- Autres projets :

- Bruce Mosier a mis au point une micropompe électro-osmotique capable de générer de hautes pressions de l'ordre de 1500 PSI (utilisable en particulier pour des colonnes de séparation à l'échelle de la microHPLC). Il se consacre maintenant au démarrage du projet Biobriefcase qui rassemble 10-15 personnes sur une durée de 2 à 3 ans. L'objectif est de mettre au point un analyseur miniaturisé pour ADN et protéines.
- Eric Cummings travaille sur la modélisation théorique et la réalisation pratique d'un préconcentrateur et un capteur pour la détection de pathogènes. En particulier, il met au point un trieur de particules basé sur la diélectrophorèse, le dispositif expérimental présenté permet la capture spécifique des bactéries E.Coli.
- Dans une optique plus amont Brian Kirby met au point des composants microfluidiques (filtres, valves, clapets,..) par fabrication in situ à l'aide de lasers de structures poreuses (membranes et monolithes mobiles). Ses vannes haute pression sont utilisées dans un dispositif micro-HPLC. Il utilise la technologie laser pour fabriquer des membranes et créer des motifs de polymères sur la paroi des microsystèmes.

5 - UCLA – CMISE : Institute for Cell Mimetic Space Exploration. Alice MUNTZ⁷

Le CMISE est un institut pluridisciplinaire fondé par la NASA et hébergé par l'Université de Californie à Los Angeles. Il regroupe sous forme de consortium 17 professeurs avec environ 25 étudiants. Le budget est de 25 millions de \$/an (dont 3 de la NASA et 3 de UCLA). Alice Muntz coordonne le CMISE et assure la recherche de fonds.

- Missions :

- Répondre aux besoins spécifiques à la NASA : recherche de la vie dans l'univers, santé des astronautes, réduction du poids des appareils envoyés dans l'espace.
- Formation : le consortium veut promouvoir l'éducation à l'interface de la chimie, de la physique, de la biologie et des technologies de l'information.
- Transfert de technologies : mise en place de 5 partenariats industriels et démarrage de 'spins-offs.'

- Projets :

Regroupés suivant 3 thématiques : l'énergie, le métabolisme, les systèmes. Les objectifs liés à ces thématiques apparaissent extrêmement vastes et ambitieux tout en restant assez flous avec une intrication de multiples outils issus des biotechnologies, des nanotechnologies et des technologies de l'information. Néanmoins la qualité des quelques exemples de projets développés, qui débordent des applications strictement spatiales, montre que cette présentation correspond vraisemblablement à une stratégie destinée à optimiser les levées de fonds.

Quelques exemples :

⁷ CMISE Institute, 38-137G, Engineering IV, UCLA, 420 Westwood Plaza, Los Angeles, CA 90095
<http://www.cmise.org>

- Des projets transverses sont mis en place en conception assistée par ordinateur (CAD) pour une approche bottom-up dans les domaines de la nano-informatique ou de la microfluidique digitale.
 - Thomas Cubaud, (postdoc français) se consacre à l'étude des écoulements de bulles de gaz en milieu liquide dans des capillaires à section carrée, pour une application dans les piles à combustible.
 - Aaron Wheeler travaille sur le développement de la technologie EWOD-MALDI-TOF (Electro-Wetting-On-Dielectric) initialement développée par C.J. Kim. Des applications dans le domaine de l'analyse d'échantillons biologiques (eg plasma sanguin) avec séparation de protéines à haut débit pour cristallisation ou caractérisation en spectrométrie de masse sont envisagées.
 - Laurent Pilon (Pr. français à UCLA) s'intéresse aux mécanismes de formation des mousses, leur dynamique et leurs applications.
- Collaboration : CMISE souhaite diversifier ses sources de financements et établir de nouveaux partenariats, il serait très intéressé en particulier par des échanges avec le CEA.

6 - Caltech – Laboratoire du Professeur Stephen QUAKE⁸

Laboratoire intégré dans le département de biophysique de Caltech.

Le Pr. Quake dirige un groupe d'environ 25 personnes. La technologie développée lui a permis de créer l'entreprise FLUIDIGM (Cf. Infra.). La qualité de ses recherches et la dynamique créée lui permet désormais d'attirer les jeunes chercheurs les plus brillants dans le domaine.

- Technologie : PDMS pour la mise au point de lab-on-chips incluant pompes, valves, mélangeurs, doseurs, etc... avec des applications sophistiquées. (Cf. Fluidigm pour description)
- Principaux thèmes de recherche :
 - Cristallisation des protéines, à cette échelle la qualité du cristal obtenue est optimale, avec la possibilité de tester en parallèle un grand nombre de conditions et un couplage potentiel à l'analyse structurale.
 - Analyse de l'ADN : séparation, séquençage en canal unique avec un seul fluorophore, construction en parallèle de bibliothèques d'ADNc à partir de cellules uniques.
 - Réalisation de microsystèmes pour le tri de cellules.

⁸ 154 Watson, MC 128-95, Caltech, Pasadena, CA 91125
http://www.aph.caltech.edu/people/quake_s.html

Entreprises visitées.

1 - Nanostream (Pasadena) ⁹

Gene Dantsker, responsable de la recherche et du développement, a présenté l'entreprise fondée en 1998, d'environ 60 employés. Trois levées de fonds ont eu lieu pour un total de 36 millions de \$ (dernier tour de table de 24 millions de \$). Ne bénéficie pas de fonds académiques ou gouvernementaux.

- Technologie : La société développe une boîte à outils microfluidiques modulaires qui sont assemblés en fonction du cahier des charges de l'application. Les fonctions incluent des filtres, diviseurs, vannes et autres réalisables dans plus de 400 matériaux. Les systèmes assemblés peuvent être multicouche ou 3D.

- Marché :

- Instrumentation de criblage à haut-débit pour le développement de médicaments.
- Le premier système intégré en cours de commercialisation est un instrument HPLC permettant de faire 24 analyses simultanément. L'appareil coûte 250.000 \$ et le coût par analyse est similaire aux autres fournisseurs d'HPLC (400-500 \$ par cartouche). Le marché est celui de la chromatographie à haut débit (chimie combinatoire et pharmacologie).
- Nanostream co-développe d'autres systèmes plus orientés vers l'automatisation et la miniaturisation des protocoles d'analyse de routine en laboratoire tels que pour la dilution en série, la culture cellulaire ou la synthèse chimique combinatoire.

2 - Agilent (Région de San Francisco) ¹⁰

Agilent Labs est une spin-off des laboratoires HP, créé en 1999. L'entreprise possède également des laboratoires en Asie (Chine, Japon) et en Europe (Ecosse). Agilent emploie 48.000 personnes pour un chiffre d'affaire de 10 milliards de \$ dans les domaines de haute technologie : télécommunications, électronique, sciences de la vie, instrumentation, équipements de laboratoires.

- Activités en microfluidique : Les recherches portent sur deux domaines. La mise au point de lab-on-chip, de puces ADN et de puces à protéines utilisant des composants de microfluidique. La réalisation de micronébulisateurs pour injecter les liquides dans les appareils de spectrométrie (eux-mêmes commercialisés par Agilent). Dans ce cas, la technologie développée permet le contrôle des volumes pour réussir à injecter seulement 170 fmoles de liquide.

- Marchés : Les micronébulisateurs sont commercialisés avec les spectromètres de masse pour l'équipement des laboratoires de chimie et de biologie. Le secteur des puces est encore dans

⁹ 580 Sierra Madre Villa, Pasadena, CA 91107

<http://www.nanostream.com>

¹⁰ 395 Page Mill Road, P.O. Box 10395, Palo Alto, CA 94303

<http://www.agilent.com>

une phase de test et de développement, avec à terme, les marchés du diagnostic et de la recherche pharmacologique comme objectifs.

3 - Fluidigm (Région de San Francisco)¹¹

Entreprise fondée en 2000.
Environ 70 personnes

Antoine Daridon (chercheur français) est responsable du secteur développement, recherche.

- Technologie :

Fluidigm dispose d'une licence d'exploitation exclusive de la technologie développée à Caltech par le Pr. Quake. Les dispositifs sont composés de deux systèmes matriciels de canaux moulés dans du PDMS. Dans la couche supérieure, les canaux contiennent de l'air dont la pression est variable. Les augmentations de pressions permettent de comprimer la couche inférieure dans laquelle se situent les microcanaux contenant le liquide. On a ainsi un dispositif de valves disposées successivement qui permettent de contrôler très précisément les mouvements du fluide. Les puces sont fabriquées par lithographie d'un 'master' en résine. Une huile silicone est coulée sur la surface pour être ensuite polymérisée et réticulée de façon à constituer une empreinte en négatif du master. Densité : 10.000 microvalves par cm².

- Marchés :

- Fluidigm commercialise son premier lab-on-chip depuis le printemps 2003 pour la cristallisation des protéines, à haut débit permettant en particulier de tester un grand nombre de conditions expérimentales. Les clients attendus sont les laboratoires académiques et de recherche pharmaceutique.
- D'autres applications pour l'observation des cellules sont en développement : tri sur des critères de taille, micro cultures avec un flux du milieu de croissance (permettant une meilleure qualité et une meilleure homogénéité des conditions de culture pour le test de composants pharmacologiques).

4 - Caliper (Région de San Francisco)¹²

Cette société qui est l'une des plus anciennes dans le champ a résisté à la crise boursière qui a frappé les sociétés biotech innovantes. Cette société a récemment commercialisé un lab-on chip dédié à l'analyse d'ADN qui permet de réaliser 8 réactions de PCR ('Polymerase Chain Reaction') en parallèle avec une très haute reproductibilité

¹¹ 7100 Shoreline Court, South San Francisco, CA 94080
<http://www.fluidigm.com>

¹² Caliper, Siège social à : 68 Elm Street, Hopkinton, MA 01748 avec laboratoire pour la manufacture des LabChips à Mountain View, près de San Francisco.
<http://www.calipertech.com>