

Titre: Moulage par injection comme méthode de production de puces
Title: microfluidiques en PDMS

Auteur: Raphaël Fillion
Author:

Date: 2024

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Fillion, R. (2024). Moulage par injection comme méthode de production de puces
Citation: microfluidiques en PDMS [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal].
PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/61882/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/61882/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Thomas Gervais
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Moulage par injection comme méthode de production de puces
microfluidiques en PDMS**

RAPHAËL FILION

Institut de génie biomédical

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

Génie biomédical

Décembre 2024

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Moulage par injection comme méthode de production de puces microfluidiques en PDMS

présenté par **Raphaël FILION**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

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

Jason Robert TAVARES, président

Thomas GERVAIS, membre et directeur de recherche

Sophie LEROUGE, membre externe

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, Pr. Thomas Gervais, pour m'avoir accepté dans son équipe et pour le soutien constant qu'il m'a offert tout au long de ma maîtrise. Son expertise et sa bienveillance font de lui un mentor exceptionnel et je suis sincèrement reconnaissant de tout ce qu'il m'a apporté. Je tiens également à remercier Amélie St-Georges-Robillard pour mon intégration dans le laboratoire, ses conseils et son aide précieuse dans la conduite de ma recherche, mais également pour sa facilité d'approche faisant d'elle une collègue extrêmement agréable à côtoyer. Je veux également remercier tous les membres du laboratoire de Microfluidique pour l'oncologie (μ FO) qui aident à créer un environnement de collaboration et d'entre-aide. En particulier Tommy, avec qui j'ai apprécié partager mes expériences, Elena, Rodin, Maryam et Gabriel, qui ont toujours été présents pour m'offrir leur aide et répondre à mes questions, et Maude, avec qui j'ai apprécié partager mon expérience en tant que nouveau membre du laboratoire. Merci également à Henri, qui a contribué à l'avancement de mon projet par l'entremise de son stage dont j'ai eu la chance de superviser.

Je remercie aussi Yann Trovalet, David Reyter et Xue Ying Chua du Groupe DBM qui ont offert une collaboration primordiale dans la réalisation de mon projet et m'ont apporté tout l'appui dont j'avais besoin. Merci également à Etienne Laurent de MISO Chip, avec qui il a été très agréable de collaborer.

L'équipe du CRCHUM a également été d'une importance capitale. Je remercie particulièrement Jennifer Kandall-Dupont et Benjamin Péant de la plateforme de microfluidique, Liliane Meunier et Véronique Barrès de la plateforme de pathologie moléculaire, ainsi que Kim Leclerc-Desaulniers de la plateforme animale, sans qui je n'aurais pu réaliser mes travaux.

Finalement, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à ma famille pour tout leur soutien, non seulement durant ma maîtrise mais également tout au long du parcours qui m'a mené à sa réalisation. Je me considère extrêmement chanceux et privilégié d'avoir eu l'encadrement qu'elle m'a offert.

RÉSUMÉ

La microfluidique est un domaine en plein essor depuis la fin des années 1990. Cette discipline, qui repose sur l'utilisation de dispositifs miniaturisés appelés puces microfluidiques pour manipuler des fluides à l'échelle microscopique, est entre autres appliquée au domaine biomédical et offre plusieurs avantages par rapport aux approches conventionnelles. Par exemple, la miniaturisation favorise la transportabilité et la parallélisation d'expériences biologiques, et permet de sauver des coûts liés à la quantité de réactifs utilisés. De plus, le développement de nouveaux modèles microfluidiques est facilité par leur compatibilité avec des méthodes de prototypage rapide. Les puces microfluidiques sont souvent composées de polydiméthylsiloxane (PDMS), un polymère de type silicone se distinguant par son élasticité et sa perméabilité à l'oxygène. Le PDMS a l'avantage de pouvoir être moulé en laboratoire à l'aide de la lithographie molle, une méthode de production rapide et à faible coût permettant le développement itératif de dispositifs microfluidiques. Ainsi, grâce à cette méthode, de nombreuses puces sont développées dans l'optique de répondre à différents besoins du monde médical.

Un exemple d'innovation technologique ayant tiré profit de la microfluidique et du PDMS est le modèle de tumeurs microdisséquées (MDT), qui repose sur la modélisation du cancer par la culture d'explants tumoraux. La culture d'explants, bien qu'elle offre une haute représentativité des tumeurs natives, est typiquement entravée par la faible viabilité des échantillons dans un environnement *ex vivo*. Le modèle MDT répond à cette difficulté en utilisant une puce microfluidique composée de PDMS, nommée puce à MDT, comme plateforme de culture des explants. Cette approche profite entre autres de la perméabilité à l'oxygène du PDMS pour assurer un apport en oxygène suffisant aux explants, expliquant en partie leur viabilité améliorée.

Malgré ses avantages, l'adoption généralisée des technologies microfluidiques se heurte à un obstacle majeur. La production de puces en PDMS par lithographie molle, bien qu'idéale pour le prototypage, n'est pas adaptée à la commercialisation, étape incontournable dans la dissémination d'une technologie. Cette méthode manuelle, étant coûteuse en termes de temps et de main-d'œuvre, ne permet pas la production de masse. De plus, l'opération étant dépendante de l'utilisateur, la production est non standardisée et ainsi, les propriétés physicochimiques du PDMS produit sont hautement variables d'une production à l'autre.

La production de puces microfluidiques en PDMS à l'aide de méthodes industrielles standardisées demeure actuellement inexplorée dans la communauté microfluidique. Par conséquent, la commercialisation d'un dispositif implique généralement un changement de matériau à l'étape de mise à l'échelle de la production, créant un fossé entre le prototype initial et le produit final.

En contrepartie, dans d'autres industries, le moulage par injection est couramment utilisé pour la production de masse de pièces en PDMS. Par exemple, cette méthode industrielle est utilisée pour produire des guides optiques intégrés dans les phares automobiles. Cela suggère que l'adaptation des méthodes de l'industrie automobile pourrait potentiellement permettre la production de masse standardisée de puces microfluidiques en PDMS, permettant une transition d'un prototype vers un produit commercial sans changements de matériaux.

Dans ce contexte, l'objectif principal de mon projet consiste à investiguer le moulage par injection comme méthode de production de masse pour les puces microfluidiques en PDMS. Plus précisément, mes sous-objectifs sont, d'une part, de produire des puces à MDT fonctionnelles par moulage par injection, et d'autre part, de mesurer l'impact de cette méthode de production sur les propriétés physicochimiques du PDMS.

Pour ce faire, en collaboration avec le Groupe DBM, une compagnie spécialisée en moulage par injection, nous avons mis en place une opération de production de la puce à MDT dans leurs installations. Deux grades de PDMS couramment utilisés dans l'industrie automobile ont été caractérisés afin d'évaluer leur pertinence pour des applications biomicrofluidiques. Les propriétés clés du PDMS dans ce contexte – le module d'élasticité, l'hydrophobicité, l'absorption de molécules et la perméabilité à l'oxygène – ont été mesurés sur des échantillons moulés par injection composés de ces deux grades, ainsi que sur des échantillons produits en lithographie molle à partir du grade de PDMS conventionnellement utilisé en microfluidique. Ces mesures ont également été utilisées pour évaluer l'impact de la méthode de production sur leur variabilité. Enfin, la biocompatibilité des puces à MDT produites par les deux méthodes a également été comparée.

L'opération de production des puces à MDT par moulage par injection a été établie avec succès dans les installations du Groupe DBM, où des puces fonctionnelles y sont désormais produites. De plus, les résultats de caractérisation démontrent que les deux grades de PDMS moulés par injection à l'étude présentent des propriétés pertinentes pour la microfluidique, avec des facteurs de réduction entre 2 et 35 au niveau de leur variance. La biocompatibilité des puces à MDT s'est

quant-à-elle avérée indépendante à la méthode de production, alors qu'aucune différence significative n'a été détectée entre les puces moulées par injection et celles produites par lithographie molle, suggérant que le modèle demeure viable en moulage par injection.

Ces résultats mettent en lumière la possibilité de produire des puces microfluidiques en PDMS à l'aide de méthodes industrielles, permettant la production de masse standardisée. Cela remet en question la croyance généralisée dans la communauté microfluidique selon laquelle la commercialisation d'un dispositif développé en PDMS nécessite une transition vers un matériau alternatif. Cette nouvelle perspective peut ainsi contribuer à une adoption plus large des technologies microfluidiques dans le domaine médical.

ABSTRACT

Microfluidics has been a rapidly growing field since the late 1990s. This discipline, which relies on the use of miniaturized devices called microfluidic chips to control fluids at the microscopic scale, is applied, among others, to the biomedical field and offers several advantages over conventional approaches. For instance, miniaturization promotes portability and the parallelization of biological experiments and can also allow cost savings associated with the reduced use of reagents. Furthermore, the development of new microfluidic models is facilitated by their compatibility with rapid prototyping methods. Microfluidic chips are often composed of polydimethylsiloxane (PDMS), a silicone-based polymer appreciated for its elasticity and oxygen permeability. PDMS can be molded in the laboratory using soft lithography, a fast and low-cost production method enabling the iterative development of microfluidic devices. Thus, thanks to this method, numerous chips are developed to meet various needs in the medical field.

One example of technological innovation that has benefited from microfluidics and PDMS is the microdissected tumor model (MDT), which is based on cancer modeling through the culture of tumor explants. Although explant culture offers high representativeness of native tumors, it is typically hindered by the low viability of samples in an *ex vivo* environment. The MDT model addresses this challenge by using a PDMS-based microfluidic chip, called the MDT chip, as a platform for explant culture. This approach benefits, among other things, from the oxygen permeability of PDMS to ensure sufficient oxygen supply to the explants, partially explaining their improved viability.

Despite their advantages, the widespread adoption of microfluidic technologies faces a major bottleneck. The production of PDMS chips by soft lithography, while ideal for prototyping, is not suited for commercialization, an essential step in the dissemination of a technology. This manual method, being time- and labor-intensive, does not allow for mass production. Furthermore, since the operation is user-dependent, the production is non-standardized, and thus the physicochemical properties of the produced PDMS are highly variable from one production to another.

The production of microfluidic PDMS chips using standardized industrial methods remains currently unexplored in the microfluidic community. Consequently, the commercialization of a device generally involves a material change at the production scaling stage, creating a gap between the initial prototype and the final product.

Conversely, in other industries, injection molding is commonly used for the mass production of PDMS parts. For example, this industrial method is used to produce optical guides integrated into automotive headlights. This suggests that adapting automotive industry methods could potentially allow for the standardized mass production of microfluidic PDMS chips, enabling a transition from a prototype to a commercial product without material changes.

In this context, the main objective of my project is to investigate injection molding as a mass production method for microfluidic PDMS chips. Specifically, the sub-objectives are, on the one hand, to produce functional MDT chips through injection molding, and on the other hand, to measure the impact of this production method on the physicochemical properties of PDMS.

To this end, in collaboration with the DBM Group, an injection molding company, we have established an MDT chip production operation within their facilities. Two grades of PDMS commonly used in the automotive industry were characterized to evaluate their relevance for biomicrofluidic applications. The key properties of PDMS for such applications – modulus of elasticity, hydrophobicity, molecule absorption, and oxygen permeability – were measured on injection-molded samples composed of these two grades, as well as on samples produced by soft lithography from the PDMS grade conventionally used in microfluidics. These measurements were also used to assess the impact of the production method on their variability. Finally, the biocompatibility of MDT chips produced by both methods was also compared.

The MDT chip production operation by injection molding was successfully established within the DBM Group's facilities, where functional chips are now produced. Moreover, the characterization results showed that the two injection-molded PDMS grades under study exhibit relevant properties for microfluidics, with reduction factors ranging between 2 and 35 in the variance of the different properties. The biocompatibility of MDT chips was found to be independent of the production method, as no significant difference was detected between injection-molded chips and those produced by soft lithography, suggesting that the model remains viable with injection molding.

These results highlight the possibility of producing microfluidic PDMS chips using industrial methods, enabling standardized mass production. This challenges the widespread belief in the microfluidic community that the commercialization of a device developed in PDMS requires a transition to an alternative material. This new perspective may thus contribute to broader adoption of microfluidic technologies notably in the medical field.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT	VII
LISTE DES TABLEAUX.....	XI
LISTE DES FIGURES.....	XII
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XV
LISTE DES ANNEXES.....	XVII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Contexte du projet	1
1.2 Contribution des participants	5
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	6
2.1 Lithographie molle : avantages et limites	6
2.2 PDMS en microfluidique	8
2.2.1 Perméabilité et absorption.....	8
2.2.2 Autres propriétés clés	12
2.2.3 Dépendance des propriétés au protocole de fabrication.....	13
2.3 Vers une production industrielle des puces microfluidiques	15
2.3.1 Transition de la lithographie molle vers des méthodes industrielles	16
2.3.2 Moulage par injection du PDMS dans d'autres industries.....	17
2.4 Potentiel du moulage par injection de PDMS pour la microfluidique	19
2.4.1 Contrôle de l'environnement de production.....	19
2.4.2 Capacités de production	21
2.5 Choix du modèle pour valider le moulage par injection en microfluidique.....	23

2.5.1	Biologie 3D	24
2.5.2	Modèle MDT	25
CHAPITRE 3 OBJECTIFS DE LA RECHERCHE		30
CHAPITRE 4 MOULAGE PAR INJECTION DES PUCES À MDT		31
4.1	Validations initiales	31
4.1.1	Spectroscopie infrarouge	31
4.1.2	Perméabilité à l'oxygène	34
4.2	Modifications apportées au modèle et production	36
CHAPITRE 5 ARTICLE 1: MASS FABRICATION OF PDMS DEVICES BY INJECTION MOLDING		40
5.1	Présentation de l'article	40
5.2	Abstract	41
5.3	Introduction	42
5.4	Methods	44
5.5	Results	50
5.6	Discussion	54
5.7	Conclusion	57
5.8	Author contributions	57
5.9	Conflicts of interest	57
5.10	Data availability	58
5.11	Acknowledgements	58
5.12	Supplementary information	59
CHAPITRE 6 CONCLUSION		61
RÉFÉRENCES		65

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Probabilité de succès de drogues sous étude clinique pour différents groupes thérapeutiques et phases d'étude, illustrant le faible taux de succès en oncologie par rapport aux autres groupes.	2
Tableau 2 Coefficient de diffusion de l'oxygène (D) dans différent matériaux, illustrant la supériorité du PDMS par rapport au matériau de culture cellulaire standard (PS) et aux autres matériaux utilisés en microfluidique (verre, PC, PMMA, PE).	9
Tableau 3 Temps et coût pour différents volumes de productions de pièce de PDMS de 10 grammes pour une production en lithographie molle (LM) et en moulage par injection (MPI).	22
Table 4 Ratio of physicochemical properties variance of PDMS produced by soft lithography vs. injection molding. (ns stands for non-significant, *p<0.10, **p<0.05, ***p<0.01, ****p<0.001)	53

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Pourcentage d'écart entre la probabilité de succès de drogues oncologiques et non-oncologiques aux différentes phases d'essais clinique, illustrant la croissance de l'écart d'une phase à l'autre.....	3
Figure 2.1 Illustration schématique du processus de fabrication de PDMS par lithographie molle7	
Figure 2.2 Illustration schématique des phénomènes d'absorption et d'évaporation, entraînant une baisse et une hausse de concentration respectivement.	10
Figure 2.3 Réaction de polymérisation du PDMS.....	13
Figure 2.4 Illustration du procédé de moulage par injection de (A) thermoplastiques et (B) de caoutchouc de silicone liquide.	18
Figure 2.5 Illustration schématique des contraintes de production en lithographie molle et en moulage par injection.	23
Figure 2.6 Illustration de la puce à MDT. (A) Schéma du dispositif comprenant une vue isométrique des deux couches séparées, une vue du dessus et de côté ainsi qu'un gros plan illustrant les canaux et les puits. (B) Illustration schématique du mécanisme de piégeage des MDTs. (C) Vue isométrique d'un dispositif réel.	27
Figure 2.7 Procédé de mise en paraffine des MDTs. Illustration schématique des étapes de (A) coloration des tissus, (B) d'ouverture de la puce, et (C-G) de transfert des tissus à la surface d'un bloc de paraffine conventionnel. (H) Image d'un bloc de paraffine réel contenant des MDTs.	28
Figure 2.8 Pourcentage de cellules prolifératives (Ki67 ⁺) des MDTs et de tranches d'explants cultivés sur puce et sur plaque à puit, montrant la supériorité du modèle MDT dans cet aspect.	28
Figure 4.1 Spectres infrarouges de la <i>Moldable Resin A</i> (MR-A), de la <i>Moldable Resin B</i> (MR-B) et du Sylgard 184. Superposition du spectre (A) des trois monomères et (B) des trois agents durcissant dans l'intervalle de 3000 à 600 cm ⁻¹ . Gros plan sur les spectres des agents durcissant dans les intervalles de (C) 2250 à 2050 cm ⁻¹ et de (D) 1300 à 600 cm ⁻¹ , illustrant de plus près les différences.....	33

Figure 4.2 Validation initiale de la perméabilité à l'oxygène des résines d'injection. Moyenne \pm écart-type des mesures sur les <i>Moldable Resins A</i> et <i>B</i> (MR-A et MR-B) et sur le Sylgard 184, et valeur calculée pour l'eau.....	35
Figure 4.3 Illustration schématique des modifications apportées à la puce à MDT dans le cadre de la transition de sa production vers le moulage par injection.	37
Figure 4.4 Photo des installations pour la production de puces à MDT dans l'usine de fabrication du Groupe DBM.....	38
Figure 4.5 Comparaison visuelle de la puce à MDT moulée par injection à la version initiale. (A) Photo du dispositif moulé par injection et (B) du dispositif original produit par lithographie molle.....	38
Figure 5.1 Graphical workflow of the study highlighting the materials associated with each production method and the sample types associated to each characterized property.	45
Figure 5.2 Microfluidic device used for the experiments (MDT chip). (A) Side view schematic of the device showing two assembled PDMS layers. The bottom layer contains channels with 8 cubic wells. (B) Injection-molded MDT chip with the same design except for the pockets at the outlets, highlighting the possibility of including features on all surfaces. (C) Conventional soft-lithography-produced MDT chip.	45
Figure 5.3 Biocompatibility assessment methodology. Tumor spheroids and microdissected mouse xenograft explants (MDTs) were cultured in microfluidic chips produced by soft lithography (SL) and injection molding (IM). After formalin fixation and paraffin embedding, the proliferation and apoptosis of both 3D models were assessed using immunohistochemistry (IHC) with Ki67 and CC3 antibody staining.	48
Figure 5.4 Characterization of injection-molded PDMS (MR-A and MR-B) and of Sylgard 184. (A) Young's modulus (N=4, n=5), (B) contact angle (N=4, n=5), (C) MFI and CLP of absorbed Nile Red (N=4, n=8) in the selected region of interest (ROI), and (D) oxygen permeation (N=4, n=3) across all measurements for MR-A, MR-B and Sylgard 184, and individual batch data for MR-A and Sylgard 184 alongside experimental setup images. Error bars represent the mean \pm s.d, *p<0.10, ** p<0.05, ***p<0.01, ****p<0.001.	51

- Figure 5.5 Normalized variance within and between production batches and of overall measurements of (A) Young's modulus, (B) contact angle, (C) mean fluorescence intensity (MFI) and (D) characteristic length of penetration (CLP) of absorbed Nile Red, and (E) oxygen permeation. Statistical significance obtained from F-test (ns stands for non-significant, * $p < 0.10$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$)..... 52
- Figure 5.6 Quantification of proliferation and apoptosis of spheroids and microdissected tumor explants (MDTs). Fraction area (mean \pm S.E.M) of Ki67 and CC3 positive cells for (A) prostate cancer (DU145) spheroids (N=3), (B) colon cancer (HCT116) (N=4) and (C) ovarian cancer (TOV112D) (N=3) MDTs. Representative image of an MDT stained for (D) Ki67 and (E) CC3 (scale bars = 250 μ m). ns stands for non-significant, * $p < 0.05$ 54
- Figure 5.7 Microfluidic device used for spheroid formation. (A) Isometric view of the device with plastic inlets added for device usage. (B) Top and side views with dimensions. The device contains 168 cubic wells with a side length of 0.7 mm, arranged in four channels. Each channel has two arrays of 3 by 7 wells, enabling the formation of 42 spheroids under a unique condition per channel. 59
- Figure 5.8 FTIR spectra of MR-A, MR-B and Sylgard 184. Overlap of all three (A) monomer and (B) curing agent spectra in the interval from 3000 to 600 cm^{-1} . Focus on (C) 2250 to 2050 cm^{-1} and (D) 1300 to 600 cm^{-1} intervals of the curing agent spectra to highlight the key differences. 60

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

PDMS polydiméthylsiloxane

μ FO *microfluidics for oncology*

MDT *microdissected tissue*

PS polystyrène

PC polycarbonate

PMMA poly méthacrylate de méthyle

PE polyéthylène

CSL caoutchouc de silicone liquide

LSR-IM *liquid silicone rubber injection molding*

LM lithographie molle

MPI moulage par injection

MET microenvironnement tumoral

CRCHUM Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal

MR-A *Moldable Resin A*

MR-B *Moldable Resin B*

FTIR infrarouge à transformée de Fourier (*Fourier transform infrared*)

ATR réflexion totale atténuée (*attenuated total réflexion*)

OTR taux de transmission d'oxygène (*oxygen transmission rate*)

CAO conception assistée par ordinateur

SDBS *Spectral Database for Organic Compounds*

ROI *region of interest*

MFI *mean fluorescence intensity*

CLP *characteristic length of penetration*

CIPA Comité institutionnel de protection des animaux

FFPE *Formaline-Fixed Paraffin-Embedded*

COP *Cyclo Olefin Polymer*

COC *Cyclo Olefin Copolymer*

CRAFT *Center for Research and Applications in Fluidic Technologies*

ICM Institut du cancer de Montréal

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A	Calcul de la perméabilité à l'oxygène de l'eau	74
----------	--	----

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Contexte du projet

Avec les avancées technologiques des dernières années en micro-fabrication, l'utilisation de la microfluidique a émergé comme approche prometteuse dans le développement de technologies biomédicales. Cette discipline repose sur l'exploitation des lois de la physique des fluides à l'échelle microscopique pour développer des dispositifs appelés puces microfluidiques. Ces puces contiennent des micro-canaux permettant de contrôler le transport de fluides, et peuvent être mises à profit pour diverses applications, comme le diagnostic ou la modélisation de mécanismes biologiques, incarnant ainsi le concept de laboratoire sur puce (*lab-on-a-chip*). Le développement de tels outils microfluidiques visant ultimement l'amélioration des soins de santé consiste donc une branche de l'ingénierie biomédicale.

Bien que le développement d'outils permettant l'étude, la prévention, le diagnostic ou le développement de traitements soit bénéfique pour toutes maladies, l'oncologie est un domaine qui pourrait particulièrement tirer profit de telles avancées technologiques. En effet, le cancer demeure la cause principale de mortalité au Canada et est responsable de près de 10 millions de décès par an au niveau mondial [1], [2]. De plus, le développement de traitements contre le cancer se heurte à des difficultés majeures, alors que le pourcentage de succès d'une nouvelle drogue sous étude clinique est d'environ 3,4%, ce qui est largement inférieur aux autres groupes thérapeutiques comme le démontrent les données tirées de Wong et al. présentées au Tableau 1[3]. En étudiant ces données de plus près, on constate que cet écart croît au fur et à mesure que l'on avance dans les phases d'essais cliniques (Figure 1.1). L'échec tardif d'une drogue à l'étude entraîne non seulement d'importantes pertes économiques, mais il retarde également l'accès à des traitements efficaces. Ces difficultés mettent en évidence la faible représentativité des modèles oncologiques précliniques actuels, qui ont entre autres pour but de prédire l'issue clinique de traitements en développement. Ce constat souligne l'urgence d'améliorer les outils précliniques, spécifiquement en oncologie, mais aussi dans tous les secteurs de la santé, afin de mieux anticiper les résultats cliniques et d'optimiser le développement thérapeutique.

Dans cette quête d'innovation, la microfluidique se démarque par plusieurs avantages en comparaison avec d'autres approches [4], [5], [6]. Elle permet de réduire la quantité de réactifs nécessaires pour conduire une expérience, diminuant ainsi les coûts associés aux tests ; en

permettant la miniaturisation des systèmes, elle facilite leur transportabilité, permettant ainsi le développement de technologies au point de service (*point-of-care*) ; et elle favorise la parallélisation des expériences, c'est-à-dire l'analyse simultanée de différents analytes, ce qui peut aider à réduire le temps d'exécution et à augmenter le débit expérimental. De plus, les lois de la physique à l'échelle microscopique permettent la prédiction des flux et des transports chimiques, ce qui constitue un atout considérable dans la conception de protocoles expérimentaux précis.

Tableau 1 Probabilité de succès de drogues sous étude clinique pour différents groupes thérapeutiques et phases d'étude, illustrant le faible taux de succès en oncologie par rapport aux autres groupes.

Groupe thérapeutique	Pourcentage de succès (%)			
	Phase I à II	Phase II à III	Phase III à approbation	Global
Oncologie	57,6	32,7	35,5	3,4
Métabolisme, endocrinologie	76,2	59,7	51,6	19,6
Cardiovasculaire	73,3	65,7	62,2	25,5
Système nerveux central	73,2	51,9	51,1	15,0
Auto-immune, inflammation	69,8	45,7	63,7	15,1
Génito-urinaire	68,7	57,1	66,5	21,6
Maladies infectieuses	70,1	58,3	75,3	25,2
Ophtalmologie	87,1	60,7	74,9	32,6

Cependant, malgré les avantages offerts par les technologies microfluidiques, leur l'adoption à grande échelle reste limitée dans la communauté scientifique, notamment en biologie cellulaire. D'abord, la miniaturisation ne s'applique pas à toute application, notamment lorsque des spécimens

biologiques de grande taille sont nécessaires. De plus, les puces microfluidiques sont souvent incompatibles avec les méthodes de criblage à haut débit utilisées dans les grandes compagnies pharmaceutiques. Enfin, leur opération nécessite également, en général, une expertise spécialisée supplémentaire.

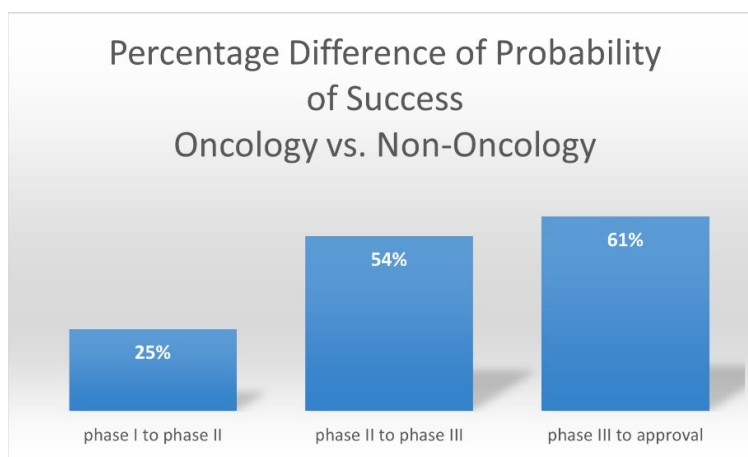


Figure 1.1 Pourcentage d'écart entre la probabilité de succès de drogues oncologiques et non-oncologiques aux différentes phases d'essais clinique, illustrant la croissance de l'écart d'une phase à l'autre.

Néanmoins, même dans les cas où la microfluidique se prête bien à une application et offre des avantages considérables, un autre obstacle notable contribue également à sa sous-utilisation. Celui-ci fait référence au matériau-même qui est traditionnellement utilisé pour fabriquer ces puces : le polydiméthylsiloxane (PDMS). Ce polymère est très apprécié en recherche pour ses propriétés intéressantes, comme sa perméabilité aux gaz, son élasticité et sa biocompatibilité. De plus, il se prête bien aux techniques de fabrication simples comme la lithographie molle (*soft lithography*), qui permet un prototypage facile, rapide et itératif. Toutefois, le PDMS présente plusieurs limites lorsqu'il s'agit de produire des dispositifs commercialisables. Celles-ci font référence en partie à certaines propriétés intrinsèques du matériau lui-même, qui seront revues au chapitre suivant, mais également à son incapacité généralement reportée à être produit à l'aide de méthodes de production de masse standardisées. En l'absence de telles méthodes, la fabrication de puces en PDMS reste à petit volume, coûteuse en termes de temps et de main-d'œuvre, et dépend fortement de l'opérateur, compromettant la reproductibilité des produits. Ces contraintes expliquent pourquoi les puces en PDMS sont souvent considérées comme des outils destinés à la recherche expérimentale et au

prototypage, mais peu adaptées à une exploitation commerciale à grande échelle. Cette divergence entre les méthodes de production expérimentales et les exigences commerciales constitue un frein majeur à la dissémination des technologies microfluidiques en général.

Mon projet de recherche vise à surmonter ces obstacles en établissant un pont entre la production à petite échelle en laboratoire et la production industrielle. Pour cela, le moulage par injection a été exploré comme méthode alternative à la lithographie molle pour la fabrication des puces en PDMS. Le moulage par injection est une technique industrielle automatisée, largement utilisée depuis plusieurs décennies dans des secteurs variés. Bien que cette méthode soit principalement associée à la production de pièces en thermoplastiques, elle permet également la production de PDMS. Cependant, à notre connaissance, elle n'est pas exploitée pour produire des puces microfluidiques en PDMS. En collaboration avec le Groupe DMB, compagnie spécialisée en moulage par injection, nous avons entrepris d'exploiter cette voie afin, d'une part, de démontrer la faisabilité de la transition vers la production de masse de puces microfluidiques en PDMS, et, d'autre part, d'illustrer l'impact de la méthode de production sur le produit.

Notre démarche a été appliquée à un dispositif existant, précédemment développé dans le Laboratoire μ FO (*microfluidics for oncology*) du professeur Thomas Gervais. Cette puce a été conçue pour la culture *ex-vivo* d'explants tumoraux microdisséqués (MDT, de l'anglais *microdissected tissue*) dans le but de modéliser le cancer et d'étudier des traitements. Ce dispositif, nommé « puce à MDT », est actuellement commercialisée par la compagnie MISO Chip, et initialement produit par lithographie molle. Dans le cadre de ce projet, nous avons investigué la transition de cette méthode artisanale vers le moulage par injection pour la production des puces à MDT. Le succès de cette démarche permettrait d'accroître le potentiel commercial de cette technologie, favorisant ainsi la diffusion d'un modèle oncologique préclinique novateur, particulièrement pertinent dans le contexte actuel de l'oncologie. À une échelle plus large, démontrer la faisabilité de la production de masse de puces en PDMS par moulage par injection pourrait contribuer à combler le fossé actuel entre la recherche expérimentale et l'industrie. Une adoption plus généralisée des technologies microfluidiques permettrait d'élargir le développement de nouvelles solutions biomédicales, renforçant ainsi l'arsenal des outils disponibles pour améliorer les soins, non seulement en oncologie, mais dans toutes les sphères de la santé.

Dans les sections à venir, une revue de la littérature détaillera d'abord le contexte de cette recherche et les problématiques auxquelles elle tente de répondre. Ensuite, les objectifs généraux et spécifiques du projet seront introduits, suivi de la présentation des étapes préliminaires à sa conduite. Le cœur du travail sera exposé sous forme d'un article, qui a été soumis pour publication, qui résume la méthodologie et les résultats principaux du projet. Enfin, une conclusion générale viendra clore ce mémoire.

1.2 Contribution des participants

Comme mentionné ci-haut, ce projet a été réalisé en collaboration avec deux entreprises : le Groupe DBM et MISO Chip. La contribution de chaque partie prenante sera détaillée dans les sections appropriées; néanmoins, la section présente vise à clarifier dès le départ les rôles distincts de chacun. MISO Chip, en tant qu'entreprise responsable de la commercialisation de la puce à MDT, m'a transmis ses exigences et suggestions pour le design de la puce à MDT moulée par injection, incluant des ajustements au design original dans le but d'améliorer son utilisabilité. De son côté, le Groupe DBM m'a fourni les contraintes de design à respecter pour une production en moulage par injection. Mon rôle a donc été de faire le lien entre les deux entreprises, en élaborant un design répondant aux exigences des deux parties. J'ai ensuite transmis ce design au Groupe DBM, qui s'est chargé de l'intégrer à leurs installations pour le produire en moulage par injection, et de me fournir les puces résultantes. Les puces originales, utilisées comme comparatif, ont quant à elles été en partie directement achetées chez MISO Chip, en partie produites par moi-même en suivant le même protocole de fabrication. J'ai par la suite été responsable de tester et comparer les puces issues des deux méthodes de production. Enfin, au-delà des puces à MDT, le Groupe DBM m'a également fourni des échantillons de ses matériaux, que j'ai testés et comparés à des échantillons du matériau conventionnel que j'ai moi-même fabriqués par lithographie molle.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Dans l'introduction, il a été établi que la problématique centrale de ce projet réside dans l'adoption limitée des technologies biomicrofluidiques. Il est donc pertinent de commencer cette revue de littérature en examinant plus en profondeur les raisons spécifiques qui freinent cette adoption. Un article majeur dans la communauté, publié en 2012 par Erwin Berthier, Edmond Young et David Beebe et cité près de 900 fois depuis, s'est penché sur la question [7]. Dans cette publication, on souligne que l'aversion au risque, inhérente à la culture de recherche des biologistes, alimente leur préférence pour les méthodes et outils conventionnels, tels que les boîtes de Pétri et les plaques à puits, plutôt que pour les technologies novatrices, même lorsque ces nouvelles approches présentent un potentiel supérieur. Les auteurs établissent entre autres que, pour faire leur place parmi les méthodes conventionnelles et ainsi obtenir l'acceptation généralisée des biologistes, les puces microfluidique doivent atteindre un statut commercial en répondant à deux exigences essentielles, soient la standardisation et la capacité à être produites à grande échelle. L'importance de la standardisation – assurée entre autres par une production hautement répétable – dans le succès commercial des puces microfluidiques est d'ailleurs un thème récurrent dans la littérature [8], [9]. Dans ce contexte où ces requis doivent-être atteint, penchons-nous sur l'état de l'art actuel de la production des puces microfluidique ainsi que les obstacles qui expliquent la difficulté à atteindre ces requis.

2.1 Lithographie molle : avantages et limites

Depuis la fin des années 1990, le nombre de publications décrivant des technologies microfluidiques pour des applications biologiques a augmenté de manière exponentielle [7], [10]. Cette explosion s'est produite à la suite des travaux du groupe de recherche de George M. Whitesides, qui a introduit en 1998 le prototypage rapide à l'aide de la lithographie molle (*soft lithography*) et du polydiméthylsiloxane (PDMS) [11], [12], [13], [14]. Cette méthode s'est vite imposée parmi les ingénieurs, puisqu'elle facilite le prototypage et le développement de nouveaux designs. La lithographie molle, aussi appelée moulage par réplication (*replica molding*), consiste à produire un moule comprenant un masque qui représente le négatif de la géométrie souhaitée. Ces moules peuvent être facilement fabriqués par des techniques d'impression 3D, telle que la stéréolithographie [15], [16], [17], à un coût relativement faible. Le PDMS, quant à lui, est un polymère à base de silicium – contrairement aux polymères thermoplastiques qui sont à base de

carbone – de type silicone. Il est disponible commercialement sous forme liquide, avec ses deux composants séparés : le monomère et l'agent durcissant. L'utilisateur peut alors, en laboratoire, mélanger les deux composants dans un ratio prédéfini, puis verser le mélange liquide dans le moule. La réaction de polymérisation se déclenche alors, transformant le PDMS en une forme solide qui constitue la puce. Pour accélérer cette réaction, on place généralement le mélange au four, puisque la vitesse de polymérisation est proportionnelle à la température. Préalablement, le mélange est généralement placé sous vide dans un dessiccateur afin de retirer les bulles d'air. La Figure 2.1 illustre cette méthodologie.

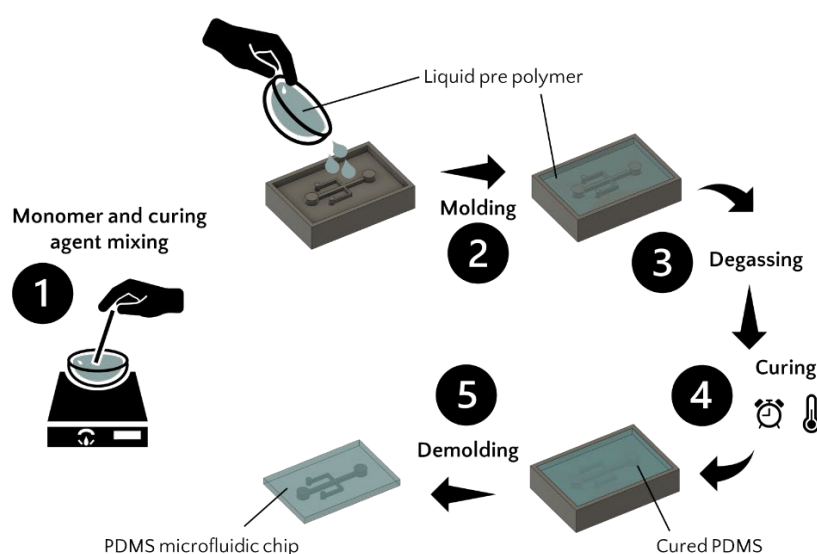


Figure 2.1 Illustration schématique du processus de fabrication de PDMS par lithographie molle. Grâce à ses propriétés intéressantes, qui seront détaillées dans la section 2.2.1, et sa compatibilité avec la lithographie molle, le PDMS est devenu le matériau de choix pour les ingénieurs développant de nouveaux modèles biomicrofluidiques [7], [18], [19], [20], [21].

Cependant, comme on peut le constater, cette méthode de fabrication comporte de nombreuses étapes manuelles : le prélèvement selon le bon ratio et le mélange du monomère avec l'agent durcissant, le dégazage, le moulage et démoulage de la puce ainsi que son assemblage. De plus, le temps de dégazage peut prendre plus de 15 minutes, et la polymérisation au four peut prendre plus d'une heure [22], [23]. La production simultanée étant limitée par le nombre de moules disponibles, les étapes de production doivent être répétées plusieurs fois pour atteindre un volume de production élevé. Donc, bien qu'elle soit idéale pour tester ou développer de nouveaux designs, la lithographie

molle n'est pas adaptée à la production de masse dédiée à la commercialisation. On retrouve d'ailleurs fréquemment cette mention dans la littérature [19], [21], [24]. Cette limitation est particulièrement mise de l'avant dans une publication de 2021, qui décrit le processus comme étant « long, laborieux, et fortement dépendant de l'utilisateur », le rendant inadapté à la production à l'échelle commerciale [25]. Cette dépendance à l'utilisateur est notamment un autre point majeur, car elle compromet la standardisation et la répétabilité du processus, qui sont, on le rappelle, des critères essentiels au succès commercial. Dans un environnement de production manuelle en laboratoire, garantir un processus standardisé et reproductible devient en effet très difficile.

Maintenant que nous avons établi que la lithographie molle, en plus d'être limitée à une production à petit volume, est peu reproductible au niveau des conditions de production, voyons voir de quelle manière ce manque de reproductibilité affecte les propriétés du PDMS ainsi que les implications sur l'usage des puces en PDMS.

2.2 PDMS en microfluidique

Dans cette section, nous identifieront les propriétés clés du PDMS ainsi que leurs implications pour les applications microfluidiques. Nous commencerons par ses propriétés liées à sa porosité, soient sa perméabilité aux gaz et son absorption de molécules hydrophobes, en passant par la théorie permettant l'étude de ces phénomènes. Les autres propriétés importantes seront ensuite énumérées. Finalement, nous examinerons le processus de polymérisation du matériau et comment celui-ci peut varier en fonction du protocole de fabrication, ainsi que comment cette variation peut se transposer sur ces dites propriétés.

2.2.1 Perméabilité et absorption

La perméabilité à un gaz est une propriété des matériaux poreux qui décrit leur capacité à être traversés par ce gaz. Elle dépend de la diffusivité (D), qui décrit la vitesse de déplacement du gaz dans le matériau, et de la solubilité (S), qui décrit la quantité maximale de gaz que le milieu poreux peut contenir par unité de volume [26]. La perméabilité (P) est obtenue à partir du produit de ces deux paramètres (équation 2.1)

$$P = D \times S \quad (2.1)$$

La perméabilité aux gaz du matériau qui compose une puce microfluidique est une variable particulièrement importante dans les applications biologiques. La viabilité des échantillons en

culture sur puce dépend d'un apport suffisant en oxygène et d'une diffusion du dioxyde de carbone. Or, le PDMS ayant une grande porosité, il offre une haute perméabilité à l'oxygène. Cette perméabilité est une caractéristique qu'on ne retrouve pas dans les méthodes de culture cellulaire standards ni dans les autres approches microfluidiques conventionnelles. Le Tableau 2 montre que le coefficient de diffusion de l'oxygène dans le PDMS est jusqu'à 100 fois plus élevé que celui du polystyrène, qui constitue typiquement les boîtes de Petri et les plaques à puits. Il est également de 10 à 100 fois plus élevé que celui d'autres matériaux qui constituent typiquement les puces microfluidique (verre et polymères thermoplastiques). Puisque, comme établi avec l'équation 2.1, le coefficient de diffusion est directement proportionnel à la perméabilité, cela suggère que la perméabilité à l'oxygène du PDMS est inégalée par ces autres matériaux. Pour cette raison, le PDMS est privilégié dans plusieurs applications, entre autres pour les modèles d'organes-sur-puces où les échantillons nécessitent un grand apport en oxygène. On retrouve d'ailleurs dans la littérature plusieurs exemples où la validation d'un modèle passe par la modélisation du transport de l'oxygène, et où l'on conclut que la perméabilité gazeuse du PDMS est déterminante pour la performance du dispositif [27], [28]. Pour d'autres systèmes microfluidiques à base de verre ou de thermoplastiques, une membrane de PDMS est parfois intégrée au design pour assurer la perfusion des échantillons cultivés [29], [30].

Tableau 2 Coefficient de diffusion de l'oxygène (D) dans différent matériaux, illustrant la supériorité du PDMS par rapport au matériau de culture cellulaire standard (PS) et aux autres matériaux utilisés en microfluidique (verre, PC, PMMA, PE).

Matériau	D ($\times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)
PDMS	3250 [31]
Polystyrène (PS)	20 [32]
Verre	1,1 [33]
Polycarbonate (PC)	7 [32]
Poly méthacrylate de méthyle (PMMA)	3,7 [34]
Polyéthylène (PE)	100 [35]

Cependant, la grande porosité du PDMS peut aussi entraîner des inconvénients. Parmi ceux-ci, illustrés à la Figure 2.2, se trouve l'évaporation de fluide sous forme de vapeur d'eau permise par cette haute perméabilité gazeuse. Ce phénomène est devenu une préoccupation grandissante à la suite d'une publication de 2005, où les auteurs ont identifié et quantifié l'impact de l'évaporation [36]. La conséquence biologique principale est qu'une évaporation d'un volume significatif hors des canaux microfluidiques peut altérer la concentration d'un analyte en solution dans ceux-ci. Cela peut être problématique dans les études où la précision de la concentration est cruciale, comme dans un test de dépistage ou bien dans l'évaluation d'une réponse à une molécule en fonction de sa dose. Depuis, les efforts de prédiction et de mitigation de cette évaporation est devenu un thème souvent abordé par les chercheurs [37], [38].

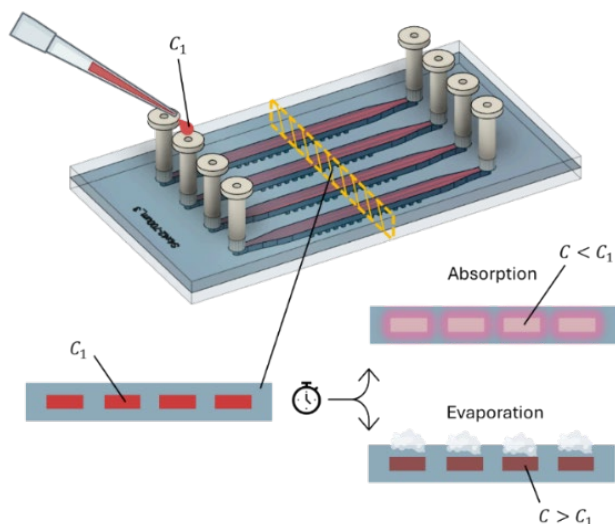


Figure 2.2 Illustration schématique des phénomènes d'absorption et d'évaporation, entraînant une baisse et une hausse de concentration respectivement.

La porosité du PDMS est également liée à son inconvénient le plus souvent mentionné : sa capacité à absorber les petites molécules hydrophobes, également illustré à la Figure 2.2. En 2006, un article majeur dans la communauté microfluidique abordant ce propos a été publié [39]. Dans cet article, les auteurs ont démontré que certaines molécules, dépendamment de leur taille, leur hydrophobicité et le pH de leur milieu, parvenaient à pénétrer les pores du PDMS (adsorption) et diffuser dans le matériau (absorption). Dans les cas où l'adsorption et l'absorption sont importantes, ce phénomène peut entraîner une altération significative de la concentration de la molécule en solution dans les canaux, soulevant les mêmes enjeux mentionnés ci-haut. Depuis la publication de cet article, celui-

ci a été cité plus de 1300 fois et l'absorption du PDMS est devenue une préoccupation majeure et récurrente, devenant l'une des justifications les plus souvent employées pour promouvoir la recherche et l'utilisation de matériaux alternatifs en microfluidique [7], [19], [40]. Les publications étudiant ce phénomène et son impact se sont également multipliées en réponse [41], [42], [43].

Pour quantifier le phénomène d'absorption, une analogie avec l'équation de la perméabilité aux gaz présentée au début de cette section peut être effectuée. Le profil de concentration d'une molécule diffusant à partir d'une source ponctuelle dans une seule dimension, à temps donné, peut être approximé par une équation exponentielle décroissante obtenue par la solution de la loi de Fick. Ainsi, la concentration d'une molécule absorbée par le PDMS le long de l'axe perpendiculaire au mur d'un canal microfluidique peut être approximée par l'équation 2.2.

$$C(x) = Ae^{-\frac{1}{B}x} \quad (2.2)$$

Dans cette équation, le paramètre A représente la concentration à $x = 0$, c'est-à-dire à l'interface entre le liquide et le mur de PDMS du canal. Cette concentration est directement proportionnelle à la quantité de la molécule que les pores du matériau sont capables de contenir, et donc, par analogie avec la perméabilité aux gaz, elle représente la solubilité du gaz. Le paramètre B décrit quant à lui la distance caractéristique de diffusion de la molécule, c'est-à-dire la distance à laquelle sa concentration n'est plus que de 37% de la concentration maximale A , au mur du canal. Selon la théorie de la diffusion, cette longueur caractéristique est proportionnelle à la racine carrée du coefficient de diffusion de la molécule dans le matériau, et donc, pour revenir à l'analogie avec la perméabilité des gaz, elle représente la diffusivité.

En reprenant la première loi de Fick, le flux de la molécule à travers le mur du canal ($J_{x=0}$) dépend du coefficient de diffusion (D) et de la concentration de la molécule, et est donné par l'équation 2.3.

$$J_{x=0} = -D \left. \frac{dC}{dx} \right|_{x=0} \quad (2.3)$$

En combinant les équations 2.2 et 2.3, on obtient :

$$J_{x=0} = \frac{DA}{B} \propto A \times B$$

Cette relation permet de concrétiser le parallèle avec l'équation 2.1 décrivant la perméabilité d'un gaz comme le produit de son coefficient de diffusion et de sa solubilité. Le flux de la molécule absorbée à travers le mur d'un canal de PDMS est proportionnel au produit de la concentration absorbée et de la distance caractéristique de diffusion, tout comme la perméabilité d'une membrane poreuse à un gaz est proportionnelle au produit de sa solubilité et de son coefficient de diffusion. Ainsi, mesurer la concentration et la distance de pénétration d'une molécule absorbée par le PDMS permet de quantifier cette absorption.

En bref, le PDMS est un matériau poreux, ce qui lui confère une perméabilité élevée aux gaz, avantageuse pour l'apport en oxygène aux échantillons en culture mais parfois problématique en raison de l'évaporation, ainsi qu'une capacité à absorber les petites molécules hydrophobes. Ces deux phénomènes peuvent être étudiés à partir de la solubilité et de la diffusivité des pénétrants (gaz ou molécules) dans le PDMS.

2.2.2 Autres propriétés clés

Une autre propriété cruciale du PDMS pour toute application biomédicale est sa biocompatibilité [21], [44], [45]. Cette biocompatibilité n'est pas assurée par le fabricant principal (Dow Corning, Midland, MI, USA), qui n'en fait pas mention dans la fiche technique du grade de PDMS couramment utilisé, le Sylgard 184. Elle a plutôt été démontrée par des milliers de publications concernant le PDMS au fil des deux dernières décennies et n'est plus remise en question. Par ailleurs, le PDMS est parfois utilisé comme revêtement pour des implants, illustrant sa biocompatibilité [46], [47]. Cette caractéristique permet donc d'assurer qu'une toxicité observée sur des spécimens biologiques cultivés sur puce n'est pas attribuable au matériau, facilitant ainsi son interprétation.

Ensuite, le PDMS est un matériau hydrophobe. Bien que l'hydrophobicité soit mise à profit dans certaines applications [48], elle est généralement considérée comme un désavantage, puisqu'elle peut compliquer le transport de liquides aqueux et l'opération du dispositif peut alors être compromise [44]. Cependant, cette propriété n'est pas unique au PDMS : la majorité des thermoplastiques sont également hydrophobes [49]. De plus, le problème est souvent contournable : une panoplie de stratégies de modification de surfaces ont été développées et reportées pour hydrophiliser la surface du PDMS. [50], [51], [52], [53], [54].

Enfin, les propriétés mécaniques des matériaux qui composent une puce microfluidique jouent un rôle déterminant dans plusieurs applications [55], [56]. Parmi d'autres matériaux typiquement utilisés en microfluidique – le verre, le silicium et la plupart des polymères thermoplastiques – le PDMS se démarque par sa flexibilité et son élasticité [57]. Dans plusieurs applications, cette élasticité est indispensable. On peut trouver des exemples où elle est mise à profit pour concevoir, sur puce, des micro pompes [58] et des valves [59] pour le contrôle du transport des fluides, ou encore des mécanismes pour contrôler le piégeage de cellules [60]. Cependant, cette élasticité implique également qu'un flux à haut débit, engendrant une grande pression, est susceptible de déformer les canaux en PDMS. Pour cette raison, l'élasticité est parfois identifiée comme un des inconvénients du matériau [61].

2.2.3 Dépendance des propriétés au protocole de fabrication

Le monomère du PDMS est composé d'une base de siloxane terminée de groupes vinyles. Ce monomère, avant polymérisation, s'organise en courtes chaînes oligomériques qui forment un liquide visqueux. L'agent durcissant, quant à lui, contient des liens Si-H le long d'une chaîne de siloxane [62], [63]. Après le mélange des deux composants, la polymérisation se produit par une réaction de réticulation (*cross-linking*) entre le groupe vinyle du monomère et le lien Si-H de l'agent durcissant [63], formant ainsi un réseau élastomérique qui compose le polymère élastique et poreux. La Figure 2.3, tirée de Tucher [64], illustre cette réaction.

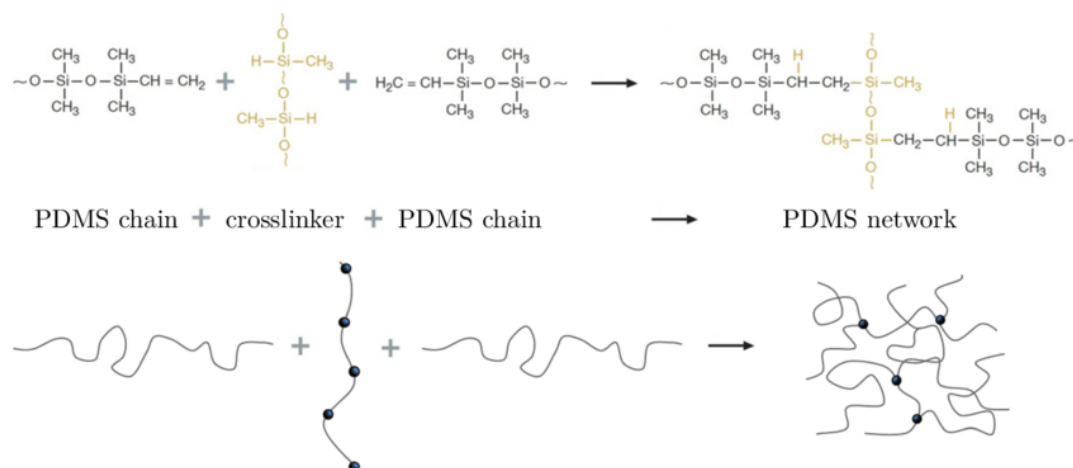


Figure 2.3 Réaction de polymérisation du PDMS

Le degré de réticulation est une variable qui dépend du protocole de fabrication employé : « la polymérisation du PDMS est un processus dépendant du temps et de la température qui n'atteint

pas 100% de réticulation » [42]. Cela signifie qu'une certaine quantité d'oligomères demeure non réticulée et ceux-ci sont alors solubles dans le matériau. De plus, la quantité d'agent durcissant utilisée lors du mélange en proportion au monomère dicte le nombre de liens Si-H disponibles pour la réaction, jouant également sur son degré [65]. Ainsi, la densité de réticulation (*cross-link density*) est une variable dépendante de tous ces facteurs.

Plusieurs études se sont penchées sur la relation entre le protocole de fabrication, la densité de réticulation et les propriétés du PDMS résultantes. Il est alors établi que la densité est proportionnelle à la proportion d'agent durcissant, au temps et à la température de cuisson. La littérature scientifique démontre que la densité de réticulation n'a pas d'effet sur la taille des pores du PDMS, mais pourrait avoir un impact sur leur concentration, bien que cette relation nécessite des validations plus précises [66]. Dans un autre article, on montre qu'une plus grande densité de réticulation résulte en une plus grande résistance élastique des liens formant le réseau poreux, qui réduit la diffusivité des pénétrants au travers des pores [67]. On peut inclure les gaz parmi ces pénétrants, comme le suggèrent d'autres études qui démontrent la relation inversement proportionnelle entre la densité de réticulation et la perméabilité aux gaz [68]. Ainsi, on constate que bien que le protocole de fabrication employé ne change pas la taille des pores du PDMS, il affecte potentiellement leur concentration et la facilité avec laquelle ils s'écartent pour laisser passage aux pénétrants tels que les gaz et les petites molécules. De plus, une résistance élastique plus élevée des liens formant le réseau polymérique signifie également une élasticité moindre du matériau. Plusieurs articles caractérisant les propriétés mécaniques du PDMS expriment la dépendance de celles-ci au protocole de fabrication et, par le fait même, à la densité de réticulation [69], [70], [71], [72].

L'effet de la densité de réticulation sur l'hydrophobicité du matériau ne semble pas être un phénomène largement étudié dans la littérature. Certaines publications établissent une corrélation avec le rétablissement hydrophobique de la surface du PDMS après le traitement de celle-ci pour l'hydrophiliser [73]. Par contre, bien que la source de ce rétablissement hydrophobique soit un sujet débattu dans la littérature, une théorie avance que celle-ci est expliquée par la quantité d'oligomères hydrophobes non réticulés, qui diffusent vers la surface post-traitement pour venir « annuler » celui-ci [74], expliquant la corrélation avec la densité de réticulation. On ne retrouve pas d'études qui traitent directement de l'impact de la densité de réticulation sur l'hydrophobicité native du PDMS. Cependant, la mouillabilité des matériaux poreux a été décrite selon deux

modèles : celui de Wenzel et celui de Cassie-Baxter. Selon le premier, établi en 1936, le liquide épouse la forme des pores du matériau et celui-ci est alors complètement mouillé [75]. À l'inverse, selon les travaux de Cassie et Baxter en 1944, une couche d'air peut s'interposer entre le creux des pores et une gouttelette d'eau déposée sur leur surface [76]. La mouillabilité de la surface, et par conséquent son angle de contact, qui est une mesure d'hydrophobicité, sont alors affectés par ce phénomène. Ainsi, puisque la concentration des pores du PDMS est susceptible de varier en fonction du degré de réticulation, on peut s'attendre à ce que l'importance de cette interface d'air soit également influencée dans un cas où la mouillabilité adopte le comportement décrit par Cassie et Baxter. Il est donc pertinent de se questionner sur l'impact potentiel de la densité de réticulation sur l'angle de contact.

En bref, le message que l'on tente ici d'établir est le suivant : la densité de réticulation dépend du ratio des composants ainsi que des conditions (temps et température) de polymérisation. Plusieurs propriétés importantes du PDMS varient en fonction de cette densité de réticulation. Or, comme celle-ci dépend de paramètres contrôlés manuellement par l'utilisateur en lithographie molle, on déduit que cette méthode de production entraîne une variation importante de ces propriétés, d'une production à l'autre. Cette hypothèse est d'ailleurs renforcée par un article qui affirme que le module d'élasticité reporté dans la littérature du PDMS, pour une même composition, varie de 2 ordres de grandeur [77]. Par conséquent, l'importance des propriétés identifiées dans l'opération et la performance des puces microfluidique nous permet de suggérer que la lithographie molle compromet leur atteinte des critères de répétabilité et de standardisation, essentiels au succès commercial. Cela suggère que, au-delà de son faible volume de production, le manque de répétabilité de la lithographie molle est également un problème réel qui justifie la recherche d'une méthode de production alternative. Celles-ci seront explorées dans la section suivante.

2.3 Vers une production industrielle des puces microfluidiques

Il est désormais clair, à l'instar des thermoplastiques en sciences biologiques, que la dissémination des technologies microfluidiques passe par la production de masse standardisée et reproductible. Cette section se consacre à documenter les possibilités existantes et potentielles pour accomplir cette tâche.

2.3.1 Transition de la lithographie molle vers des méthodes industrielles

La transition de la lithographie molle vers une méthode de production industrielle pour les puces en PDMS est plus complexe qu'elle ne le semble. En effet, elle est souvent accompagnée de modifications au niveau des matériaux utilisés [8]. Puisque le matériau qui compose une puce microfluidique joue un rôle déterminant dans sa performance, ces altérations, dans la plupart des cas, influencent inévitablement leur fonctionnement [40], [78], [79], [80]. Par conséquent, les efforts de pré-validation du modèle sont à recommencer lorsque le matériau est modifié. Une question s'impose alors : pourquoi est-ce que le passage à l'échelle industrielle entraîne-t-il forcément des changements de matériaux? L'examen de la littérature révèle que le PDMS, qui, on le rappelle, est largement privilégié en laboratoire pour son prototypage facile par lithographie molle, est décrit comme étant un matériau qui ne se prête pas aux méthodes de production de masse couramment employés en microfluidique. Ainsi, le PDMS est inévitablement remplacé à l'étape d'industrialisation par ces méthodes, habituellement l'embossage à chaud (*hot embossing*) et le moulage par injection (*injection molding*) pour les polymères et la gravure chimique (*chemical etching*) pour le verre et le silicium [14].

Les articles consacrés aux stratégies d'augmentation des volumes de production des puces via les méthodes énumérées ci-haut mentionnent régulièrement leur incompatibilité avec le PDMS [81], [82]. Des entreprises spécialisées dans la manufacture de puces microfluidiques réitèrent également cette incompatibilité [83]. Ainsi, il est largement admis au sein de la communauté que la production de masse nécessite de recourir à des matériaux comme les thermoplastiques, le verre ou le silicium.

La croyance généralisée est donc que le PDMS est inadapté à la production de masse. Pourquoi, dès lors, ne pas concevoir les puces directement en matériaux compatibles avec cette échelle de production pour éviter des changements au moment de la commercialisation? Outre les raisons directement liées aux propriétés des matériaux, cela tient au fait qu'il n'existe pas de méthode de prototypage rapide équivalente à la lithographie molle pour ces matériaux alternatifs. Les méthodes industrielles, bien qu'elles permettent une production en série une fois établies, ne sont pas adaptées aux premières phases de développement, car leur mise en place demande davantage de temps, d'efforts et d'investissements financiers en comparaison avec la lithographie molle, ce qui rend le développement itératif non viable. On observe donc une dualité : le PDMS se prête bien au prototypage, mais non à la production de masse, tandis que les autres matériaux conviennent à la

production de masse mais pas au prototypage. Cela explique la provenance de l'idée selon laquelle la commercialisation passe nécessairement par un changement de matériau. Cette croyance est également corroborée par des exemples qui reportent une mise à l'échelle dans la production d'un modèle de puce, initialement fabriquée en PDMS, qui implique un changement de matériau [84].

Cependant, le rejet d'emblée de la possibilité de produire du PDMS à grande échelle par la communauté microfluidique mérite un examen plus nuancé. En réalité, d'autres industries parviennent à accomplir cette tâche, ce qui remet en question ce dogme généralisé. Dans la section suivante, nous explorerons comment le moulage par injection du PDMS est, dans les faits, possible et pourrait s'avérer une option viable pour les dispositifs microfluidiques.

2.3.2 Moulage par injection du PDMS dans d'autres industries

Dans les secteurs manufacturiers des industries telles que l'automobile, l'aérospatiale, et l'électronique, le moulage par injection de caoutchoucs de silicone liquide (CSL), ou *liquid silicone rubber injection molding* (LSR-IM), est bien connu. Ce type de production résulte de l'adaptation du moulage par injection, développé en 1872 par John et Isaiah Hyatt [85], qui était initialement conçu pour la production industrielle de pièces en thermoplastiques. Comme l'illustre la Figure 2.4A, cette méthode consistait à l'origine en l'injection à haute pression de granules de plastique fondues dans un moule, typiquement fait d'acier, où la pièce refroidit et durcit pour ensuite être éjectée. Après la découverte des CSL dans les années 1970, plusieurs innovations technologiques ont permis d'adapter les machines d'injection pour les rendre compatibles avec ce nouveau matériau, selon le processus illustré à la Figure 2.4B. De là est né le moulage par injection de CSL, où deux composants liquides sont mélangés et injectés dans le moule chauffé à haute température, où prend place la réaction de durcissement formant la pièce de caoutchouc solide.

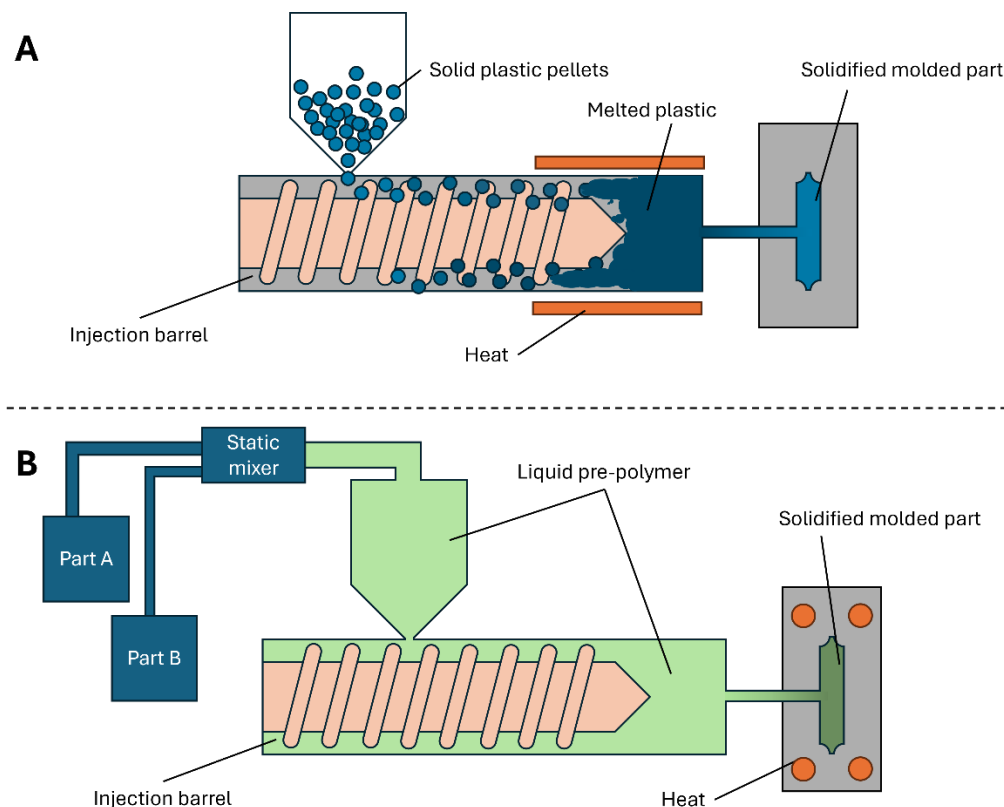


Figure 2.4 Illustration du procédé de moulage par injection de (A) thermoplastiques et (B) de caoutchouc de silicone liquide.

Ainsi, depuis les années 1980, la production de pièces en CSL injectés est en constante progression. Il est projeté que celles-ci représenteront un marché de 3.7 milliards USD d'ici 2026 [86]. Le moulage par injection de CSL est utilisé dans un vaste éventail de domaines. Par exemple, il sert à produire plusieurs pièces se retrouvant dans les automobiles, dont certaines lentilles optiques dans les phares ainsi que plusieurs composants intérieurs tels que les poignées et les accoudoirs [87]. C'est également le cas, pour ne nommer que ceux-ci, des tétines de biberons [88], d'amortisseurs de vibrations pour les composantes électroniques embarquées, ou encore de joints et scellant intégrés dans les actionneurs hydrauliques des aéronefs. L'industrie médicale, dans des champs autres que la microfluidique, est également familière avec ce concept. Celui-ci est exploité, entre autres, pour produire des revêtements utilisés pour assurer la biocompatibilité d'implants et prothèses [89].

En effectuant des recherches sur la composition chimique de ces CSL, on constate que le PDMS fait partie de cette catégorie de matériau [90], [91]. Un article consacré à la revue des procédés

d'injection de CSL affirme que la grande majorité des CSL disponibles commercialement sont composés de différents grades de PDMS, avec des variantes au niveau de la concentration des groupes méthyl, vinyle et hydroxyle de leur agent durcissant ainsi que l'ajout de catalyseurs, d'agents de remplissage (*fillers*) ou de colorants [92]. De plus, les fiches techniques de plusieurs CSL commercialement disponibles indiquent le PDMS comme matériau les composant [93], [94]. Ce constat nous permet de remettre en question la croyance répandue dans la communauté microfluidique selon laquelle le PDMS est incompatible avec les méthodes de production industrielles. Une question centrale se pose alors : pouvons-nous adapter les méthodes manufacturières disponibles pour l'injection de CSL afin de répondre aux besoins de l'industrie de la microfluidique? Pour y répondre, examinons d'abord les détails techniques du moulage par injection du PDMS et comment cette technologie pourrait être mise à profit pour surmonter les difficultés dans l'état de l'art actuel de la production de puces microfluidiques.

2.4 Potentiel du moulage par injection de PDMS pour la microfluidique

2.4.1 Contrôle de l'environnement de production

Le moulage par injection permet un contrôle précis des paramètres exerçant une influence sur la polymérisation du PDMS. Cette section tentera de préciser le fonctionnement technique du processus en illustrant les technologies de contrôle qui assurent cette précision.

Les machines intègrent un système hydraulique, contrôlé par un automate programmable industriel (*programmable logic controller*), qui prélève les deux composants du PDMS [95]. L'automate permet d'assurer un prélèvement précis selon le ratio qui lui est spécifié. Le tout passe ensuite dans un mélangeur statique, qui assure un mélange homogène, avant l'acheminement dans le cylindre d'injection (*injection barrel*). La température à l'intérieur du cylindre est contrôlée et généralement fixée entre 10 et 20°C [92] pour éviter la réticulation prématurée du PDMS. Dans le cylindre, une vis rotative avance à une vitesse déterminée, typiquement entre 50 et 200 tours par minute, pour pousser le PDMS liquide vers les becs d'injections reliés aux cavités du moule par de petites ouvertures. La pression d'injection, qui dépend de la taille de ces ouvertures, peut aller de 0.3 à 100 MPa [92]. Cette haute pression, combinée à des systèmes de vide intégrés aux moules, permet de minimiser la formation de bulles d'air et d'éviter l'étape de dégazage présente en lithographie molle. Lorsque la vis atteint la « position de transfert » (*transfer position* ou *switchover position*), elle arrête son mouvement et le flux d'injection, plutôt que d'être régi par la vitesse (*velocity*-

driven), devient régi par la pression (*pressure-driven*) [96]. La vis reste alors immobile, appliquant une pression de maintien pendant la polymérisation de la pièce dans le moule, après quoi elle retourne à sa position initiale pour la prochaine itération. Le temps de polymérisation est également spécifié et précisément contrôlé. Le moule, quant à lui, contient des tiges chauffantes (*heating rod*) et des capteurs de température pour assurer son maintien à une température précise, qui varie généralement entre 140 et 220°C dépendamment du protocole employé. Après polymérisation, le moule s'ouvre et un système robotisé procède généralement à l'éjection de la pièce.

À titre d'exemple pour illustrer la précision des machines de moulage par injection, celles utilisées par le Groupe DBM, notre collaborateur dans ce projet, ont une tolérance de $\pm 0,01$ mm sur la position de transfert, et le temps de réaction du contrôleur lors de l'atteinte de cette position est de 0,5 ms. Leurs transducteurs, qui régulent directement la pression d'injection et de maintien appliquée par la vis, ont une tolérance de ± 1 % sur la force appliquée. Chaque phase de production est synchronisée grâce à des oscillateurs au quartz précis à ± 2 ms. La température dans le moule est contrôlée à $\pm 0,5$ °C.

Ainsi, ces standards de l'industrie assurent une précision et une reproductibilité dans le ratio des composants, dans leur mélange, dans la quantité de PDMS injecté et dans la température et le temps de sa réticulation. Cet environnement de production hautement contrôlé est donc nettement plus apte à produire des pièces présentant une densité de réticulation et des propriétés physicochimiques uniformes, comparativement au PDMS produit par lithographie molle.

En plus du contrôle sur l'environnement de production, il existe également une différence au niveau des grades de PDMS disponibles pour les deux techniques de production. Les fournisseurs de CSL offrent une vaste gamme de formulations de PDMS, chacune avec des propriétés spécifiques. Par exemple, l'élongation à la rupture des grades de PDMS pour moulage par injection disponibles commercialement varie entre 200% et 1200% [92]. En lithographie molle, le Sylgard 184 de Dow Corning (MI, USA) est presque exclusivement utilisé. Aucun exemple utilisant une formulation différente n'a pu être trouvé dans la littérature. Dans certaines publications, on suggère d'ajuster les paramètres de production (ratio, temps, température) pour modifier ses propriétés mécaniques [7], [72], [77]. À l'inverse, en moulage par injection, il est possible de choisir un grade en fonction des exigences de l'application visée tout en gardant les protocoles de fabrication stables, et ainsi d'avoir l'assurance que la propriété mécanique pour laquelle le choix a été fait sera stable.

2.4.2 Capacités de production

La transition vers le moulage par injection promet également d'augmenter largement les volumes de production. Dans un processus standard, la vitesse de rotation de la vis, la taille des ouvertures à l'entrée du moule et la pression d'injection sont ajustés de manière à avoir un temps de remplissage entre 0,5 et 3 secondes [92]. Le temps de polymérisation standard varie quant à lui entre 0,5 et 7 secondes par millimètre d'épaisseur de la pièce [92]. En tenant compte d'un retour à la position initiale de la vis de 25 secondes [92], la limite supérieure du temps de production d'une pièce de 1 cm d'épaisseur est inférieur à 2 minutes. Ce processus étant totalement automatisé, il peut être répété en série sans intervention humaine.

Le Tableau 3 offre une comparaison du temps et du prix pour différents volumes de production entre les deux méthodes. Ces valeurs ont été approximés pour une production de pièces de 10 grammes en considérant un prix de 40 \$/kg pour les matériaux. Pour la lithographie molle (LM), le temps de production d'une pièce a été approximé à 2 heures par moule, en prenant en compte le temps pour prélever les composants, les mélanger, verser le mélange dans le moule, l'envoyer au dessiccateur pour retirer les bulles d'air, polymériser la pièce au four, la démouler et nettoyer le moule pour la prochaine itération. Il a également été considéré qu'un employé est en mesure de paralléliser cette opération avec 5 moules. Il a également été considéré qu'un employé travaille 40 heures par semaines, 48 semaines par année au salaire minimum du Québec de 15.75 \$/h. Pour le moulage par injection (MPI), on considère que l'opération produit 40 pièces par heure et fonctionne 100 heures par semaine à l'année longue. Un coût d'entrée de 63 000\$ (en dollars constants de 2024) pour l'instauration de l'opération a également été considéré, ainsi qu'un amortissement linéaire sur 10 ans (coûts de 303\$, 3 675\$ et 6 300\$ pour 2,5 semaines, 7 mois et 1 an respectivement).

Dans cet exemple, une production par moulage par injection devient rentable à partir de 10 000 pièces produites. À un volume de 100 000, des économies significatives sont réalisées, et à un volume de 1 000 000, la lithographie molle n'est carrément plus envisageable.

Tableau 3 Temps et coût pour différents volumes de productions de pièce de PDMS de 10 grammes pour une production en lithographie molle (LM) et en moulage par injection (MPI).

Quantité de production	Temps		Coût (\$)		
	LM	MPI	LM	MPI	Différence
100	1 semaine	2,5 heures	670	63 040	-62 370
10 000	1 an (1 employé)	2,5 semaines	67 000	67 303	-303
100 000	5 ans (4 employés)	7 mois	670 000	106 675	563 325
1 000 000	20 ans (10 employés)	5 ans	6 700 000	469 300	6 230 700

Outre la répétabilité du processus et le volume de production, le moulage par injection diffère de la lithographie molle en ce qui concerne les possibilités au niveau du design physique des pièces. Ces différences sont exposées à la Figure 2.5. En lithographie molle, les moules ne peuvent pas avoir de « couvercle », c'est-à-dire que la face supérieure au moment du moulage est exposée à l'air. Elle doit donc nécessairement être plane et ne peut pas contenir de motifs. De plus, la surface exposée est également susceptible à l'effet ménisque, et, si le moule n'est pas parfaitement de niveau lors de la cuisson, l'épaisseur de la puce devient inégale. En contrepartie, un moule pour injection enclave la pièce de tous ses côtés, permettant l'intégration de motifs sur toutes les faces et un contrôle précis de toutes les faces externes de la puce.

Cependant, le moulage par injection a également quelques inconvénients au niveau des possibilités offertes. Les moules sont typiquement faits d'acier usiné. Ainsi, les coins des motifs présentent un rayon lié à l'outil d'usinage. De plus, l'usinage ne permet un retrait de matière à angle droit parfait : un angle de dépouille est incontournable. Les angles à 90° présentent donc une dépouille allant généralement de 1 à 3 degrés [97]. Bien qu'il soit possible d'utiliser des outils en diamant permettant des rayons très fins (jusqu'à 100 nm) et des angles de dépouilles minimisés ainsi que des étapes de post-traitement pour annuler les angles de dépouille, les coûts augmentent avec la précision.

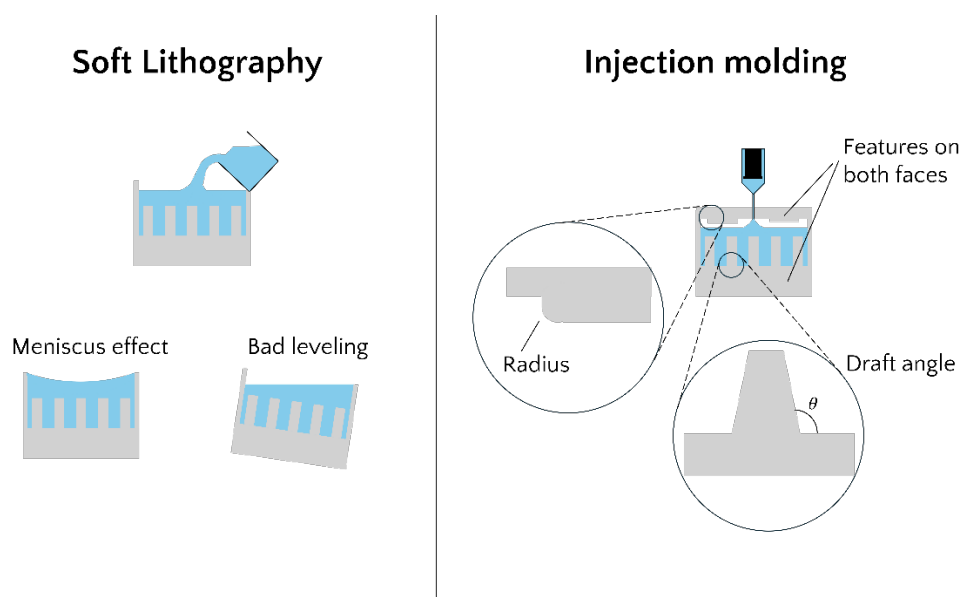


Figure 2.5 Illustration schématique des contraintes de production en lithographie molle et en moulage par injection.

2.5 Choix du modèle pour valider le moulage par injection en microfluidique

Les sections précédentes ont mis en évidence l'intérêt de produire des puces microfluidiques en PDMS par moulage par injection de manière générale. Dans ce projet, nous tentons de valider la faisabilité de cette approche en l'appliquant à un dispositif microfluidique en particulier : la puce à MDT, conçue pour permettre la culture d'échantillons de tissus microdisséqués (MDT, *microdissected tissue*). Dans cette section, il sera expliqué en quoi le choix de ce dispositif est idéal pour vérifier si le moulage par injection de puces en PDMS est une approche envisageable pour l'industrie microfluidique. Comme il le sera illustré plus tard, le modèle MDT s'inscrit parmi les modèles de biologie 3D. La prochaine sous-section a pour but d'illustrer pourquoi cette catégorie de modèle est idéale dans le cadre de ce projet. Dans la sous-section suivante, le modèle MDT sera présenté en détail. L'objectif sera alors, en plus d'expliquer son fonctionnement, de démontrer que ce dispositif répond à un besoin essentiel, justifiant ainsi la tentative de sa dissémination à l'aide du moulage par injection.

2.5.1 Biologie 3D

Il existe plusieurs façons de modéliser la biologie cellulaire de manière *in vitro*. L'approche la plus courante et la plus simple repose sur la culture cellulaire 2D, où des lignées cellulaires sont cultivées sur une surface plane, comme un plat de Pétri. Cependant, les systèmes biologiques *in vivo* évoluent dans un environnement tridimensionnel, où les cellules croissent et interagissent entre elles dans toutes les dimensions spatiales. Cette architecture 3D et les interactions intercellulaires qui en découlent sont déterminantes, puisqu'elles influencent les signaux qu'une cellule reçoit dictant son comportement (différenciation, prolifération, apoptose, etc.) [98] Les modèles 3D, en intégrant la troisième dimension, permettent ainsi d'augmenter considérablement le réalisme d'un modèle, ce qui offre une meilleure compréhension du phénomène étudié favorisant le développement thérapeutique. À titre d'exemples, les modèles 3D sont mis à profit modéliser de manière plus précise le cancer [99], la régénération tissulaire [100] ou encore les maladies neurodégénératives [101].

Plusieurs approches de modélisation biologique *in vitro* intégrant une architecture 3D existent, avec des niveaux de complexité et de réalisme variables. Le sphéroïde représente la plus simple. Un sphéroïde est une agrégation de cellules formant une structure sphérique. Il est généré à partir de cellules cultivées dans un environnement conçu pour favoriser leur agglutination, créant la structure 3D résultante. Cette méthode est largement utilisée en recherche, notamment pour sa simplicité [102]. Comparativement à d'autres modèles biologiques 3D, les sphéroïdes peuvent être produits rapidement sans recours à des animaux, ce qui permet un débit expérimental beaucoup plus élevé [103]. Cependant, leur simplicité constitue également leur principal inconvénient par rapport aux autres approches 3D. Étant générés *in vitro*, les sphéroïdes ne reproduisent pas fidèlement l'arrangement spatial ni l'hétérogénéité cellulaire observés *in vivo* [104]. Pour surmonter ces limites, une autre approche de biologie 3D consiste à utiliser des explants. Cette méthode repose sur l'extraction d'un tissu formé *in vivo*, remis ensuite en culture *ex vivo* permettant ainsi un modèle tridimensionnel plus fidèle et représentatif [105], [106]. Cependant, cette approche est plus complexe et réduit considérablement le débit expérimental par rapport aux sphéroïdes.

La culture d'échantillons biologiques 3D comprend des défis importants. Comparé aux monocouches cellulaires 2D, ces échantillons sont plus sensibles aux variations des conditions de culture [107]. Leur viabilité et croissance nécessitent un apport plus élevé en nutriments et en

oxygène, ainsi qu'une surface de culture passive et biocompatible. L'utilisation des puces microfluidiques en PDMS comme plateformes de culture de ces échantillons constitue une approche couramment adoptée pour répondre à ces défis [108]. Comme mentionné précédemment, la possibilité de prototypage rapide facilite le développement de puces microfluidiques adaptées aux besoins précis d'un modèle 3D spécifique. De plus, la perméabilité à l'oxygène du PDMS représente un avantage majeur, et dans certains cas, elle est même essentielle pour garantir un apport en suffisant en oxygène sans recours à la perfusion. Pour ces raisons, la biologie 3D représente l'une des applications les plus courantes des puces microfluidiques en PDMS [7], [81].

Dans un contexte où l'on vise à démontrer la faisabilité du moulage par injection pour la production de puces microfluidiques en PDMS, utiliser un dispositif destiné à la biologie 3D, une des applications les plus courantes de la microfluidique, renforce donc la portée et la pertinence de cette démonstration. De plus, comme les grades de PDMS employés en moulage par injection diffèrent de ceux généralement utilisés en microfluidique, la validation de leur biocompatibilité est essentielle. Étant particulièrement sensibles aux conditions de culture, les échantillons biologique 3D offrent une sensibilité accrue pour détecter d'éventuelles toxicités induites par le matériau et sont donc idéals pour cette validation. La puce à MDT, conçue spécifiquement pour la culture d'échantillons 3D, constitue donc pour ces raisons un choix optimal pour explorer le moulage par injection en microfluidique. La prochaine section détaillera ce modèle.

2.5.2 Modèle MDT

Le modèle MDT a été développé dans le laboratoire de Microfluidique pour l'oncologie (μ FO) du professeur Thomas Gervais et représente une approche de biologie 3D, plus spécifiquement basée sur les explants de tissus, visant la modélisation du cancer.

Il est bien connu que le cancer est une maladie qui se développe lorsque des cellules, en résultat de mutations génétiques, se divisent et se répandent de manière incontrôlée. Les cellules cancéreuses présentent donc un génome hautement dynamique [109], ce qui font des tumeurs des tissus particulièrement hétérogènes. Cette hétérogénéité se manifeste de deux façons : intra-tumorale, avec des sous-populations cellulaires génétiquement distinctes au sein d'une même tumeur, et inter-patient, où un même sous-type de tumeur possède une signature cellulaire variable d'un patient à l'autre [110], [111]. De plus, le microenvironnement tumoral (MET), qui comprend les cellules non-cancéreuses entourant les cellules cancéreuses, porte une influence cruciale sur la

tumeur, notamment sur sa sensibilité et sa résistance aux traitements [112], [113]. Pour ces raisons, les explants tumoraux sont des modèles particulièrement pertinents en oncologie puisqu'ils représentent le caractère hétérogène des tumeurs et intègrent le MET [105], [106], offrant une modélisation à précision accrue. Cependant, comme mentionné précédemment, le débit expérimental offert par les explants est limité, et leur sensibilité aux conditions de culture complique la tâche de les garder en culture avec une bonne viabilité [114]. Le modèle MDT a été développé pour répondre à ces défis.

Dans le cadre de travaux précédents, il a été déterminé que la dissection des explants tumoraux en échantillons de diamètre inférieur à 450 μm , ainsi que leur culture sur puce en PDMS, permettaient de garantir une oxygénation suffisante de l'ensemble du tissu tout en conservant l'architecture de la tumeur native, son MET, et une taille suffisante pour imiter les gradients de nutriments, de déchets cellulaires et de molécules de signalisation que l'on retrouve *in vivo* [27]. Le modèle MDT repose donc sur la microdissection d'explants tumoraux en sphères d'environ 380 μm de diamètre, nommés MDT (*microdissected tissue*), et sur leur mise en culture sur puce microfluidique. Cette approche permet d'une part d'améliorer la viabilité généralement faible des explants, d'autre part d'augmenter le débit expérimental en subdivisant l'explant, multiplexant les analyses réalisables à partir d'un tissu.

La puce à MDT a ainsi été développée pour agir à titre de plateforme de culture des MDTs. Celle-ci est composée de deux couches de PDMS assemblées par une technique de liaison au plasma. Celle-ci consiste à exposer les surfaces à un plasma d'oxygène pré-assemblage, rendant les surfaces exposées adhésives entre elles et permettant ainsi leur liaison. La couche du dessous contient quatre canaux, chacun doté de huit puits cubiques permettant d'accueillir un MDT. La couche du dessus sert à sceller les canaux et comprend des ouvertures alignées à leurs extrémités pour l'entrée et la sortie des fluides. Pour mettre les MDTs en culture, il suffit de les faire circuler dans les canaux en utilisant une pipette pour générer un flux. Lorsqu'un MDT est aligné avec son puit, le flux est interrompu, et l'échantillon sédimente dans le puit sous l'effet de la gravité. Une fois en place, l'échantillon reste piégé même lorsque la circulation du fluide reprend. Dans une étude précédente au sein du laboratoire μFO , il a été conclu que ce mécanisme de piégeage était idéal grâce à sa simplicité d'opération [115]. Cette même étude a également entrepris de modéliser le transport de nutriments et les forces de cisaillement induites par le flux hydrodynamique afin de déterminer les dimensions idéales des puits de la puce à MDT. Les résultats ont permis de conclure que, pour des

échantillons de diamètre inférieur à 500 μm , la taille idéale des puits est un cube dont le côté mesure le double du diamètre de l'échantillon, avec un volume cent fois supérieur à celui de l'échantillon. Ce design facilite le piégeage, assure un apport nutritif suffisant par l'acheminement de milieu de culture dans les canaux, et évite un stress hydrodynamique excessif pouvant endommager les MDTs ou bien les déloger de leurs puits. La puce à MDT a alors été mise au point selon ces considérations. La Figure 2.6 montre un schéma de cette dernière et de son mécanisme de piégeage, ainsi qu'une photo d'un dispositif réel.

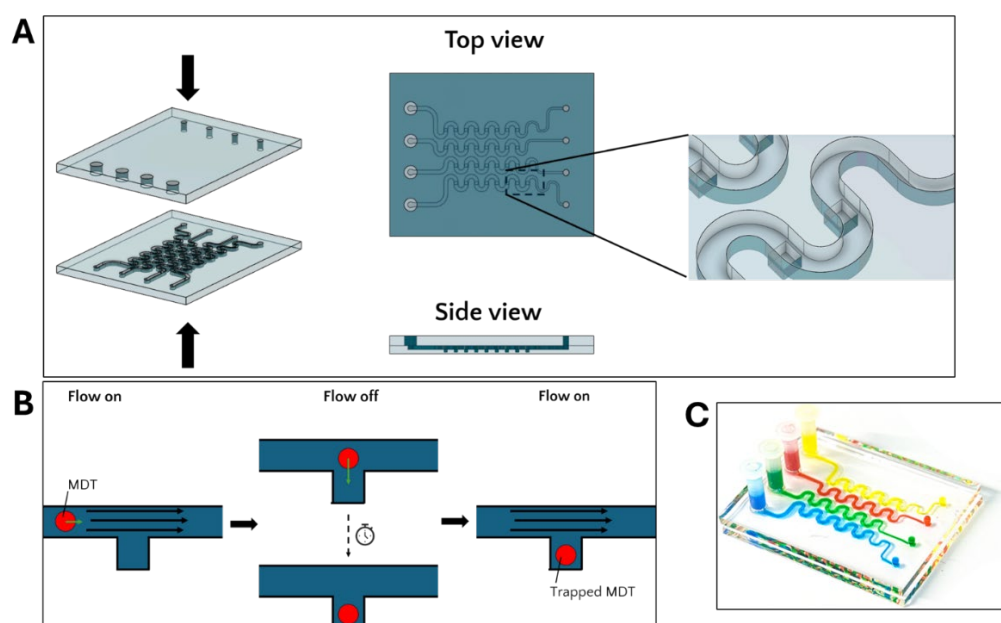


Figure 2.6 Illustration de la puce à MDT. (A) Schéma du dispositif comprenant une vue isométrique des deux couches séparées, une vue du dessus et de côté ainsi qu'un gros plan illustrant les canaux et les puits. (B) Illustration schématique du mécanisme de piégeage des MDTs. (C) Vue isométrique d'un dispositif réel.

Les travaux suivants ont quant à eux permis de développer une méthode d'analyse des explants cultivés sur la puce à MDT [116]. Une fois la culture terminée, cette méthode, illustrée à la Figure 2.7 tirée de cette étude, consiste à séparer les deux couches de PDMS afin de récupérer les échantillons et de les introduire dans un bloc de paraffine conventionnel, compatible avec les méthodes d'analyse d'histopathologie standards. Grâce à cette technique, les MDTs peuvent être marqués pour analyser, par exemple, l'impact d'une exposition à une drogue sur l'expression d'un marqueur spécifique.

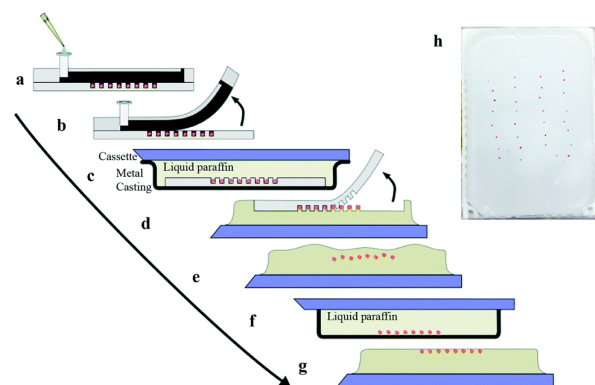


Figure 2.7 Procédé de mise en paraffine des MDTs. Illustration schématique des étapes de (A) coloration des tissus, (B) d'ouverture de la puce, et (C-G) de transfert des tissus à la surface d'un bloc de paraffine conventionnel. (H) Image d'un bloc de paraffine réel contenant des MDTs.

Une fois le modèle et les méthodes d'analyse développées, une étude comparative a été réalisée afin de valider l'amélioration de la viabilité des MDTs par rapport à celle des tranches d'explants conventionnelles. L'expression de marqueurs de viabilité a donc été mesurée lors de la culture des échantillons, et comparée à celle de tranches d'explants cultivées sur puce microfluidique ainsi que sur plaque à puits. Les résultats de cette expérience ont montré une viabilité des MDTs supérieure sur sa durée totale de 15 jours. La Figure 2.8, tirée de cet article, illustre ce constat en montrant l'expression d'un marqueur de prolifération (Ki67) des trois modèles.

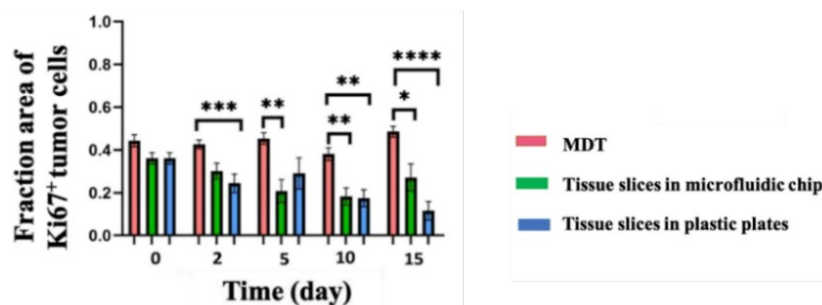


Figure 2.8 Pourcentage de cellules prolifératives (Ki67⁺) des MDTs et de tranches d'explants cultivés sur puce et sur plaque à puit, montrant la supériorité du modèle MDT dans cet aspect.

Ainsi, le modèle MDT, s'inscrivant dans la catégorie de modèles d'explants tumoraux, permet de représenter l'hétérogénéité des tumeurs et de préserver leur architecture native formée à l'intérieur d'un organisme. Il répond également aux désavantages communs de cette catégorie en augmentant le débit expérimental et la viabilité par rapport aux approches conventionnelles. De plus, ce modèle peut participer aux efforts de personnalisation de la médecine, dans un cas où une biopsie d'un

patient est utilisée pour former les MDTs. L'utilisation du dispositif pour cette application est d'ailleurs présentement sous étude. Le modèle MDT répond donc à un besoin spécifique en oncologie, un domaine où les avancées sont particulièrement nécessaires notamment pour les raisons mentionnées dans l'introduction. Ainsi, la production de ce dispositif en moulage par injection permettrait la dissémination d'une technologie novatrice permettant potentiellement un grand impact sociétal.

En résumé, plusieurs critères ont guidé le choix du dispositif utilisé pour valider la transition de la lithographie molle vers le moulage par injection. Afin de maximiser la généralisation des résultats, nous avons pris en compte la prévalence de l'application du dispositif en microfluidique. Nous avons également considéré sa capacité à évaluer précisément la biocompatibilité du matériau le composant. Enfin, pour maximiser l'impact de sa dissémination, nous avons considéré le caractère prometteur de la technologie. La puce à MDT, dédiée à la culture 3D et répondant à un besoin en oncologie – un domaine en quête d'avancées technologiques – s'est donc avéré un choix idéal. De plus, la plateforme microfluidique du Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), fondée pour soutenir les projets de culture 3D sur puce, possède tout l'équipement et l'expertise pour réaliser la culture et l'analyse de la viabilité des échantillons de tumeurs 3D. Ainsi, les ressources pour la validation de puces à MDT produites par moulages par injection sont en place et accessibles.

CHAPITRE 3 OBJECTIFS DE LA RECHERCHE

À la suite de cette revue de littérature, on comprend que les puces microfluidiques sont généralement prototypées en PDMS avec la lithographie molle comme méthode de fabrication. Il est difficile de commercialiser les prototypes en PDMS car la lithographie molle limite le volume de production et introduit une grande variabilité des propriétés physicochimiques du matériaux, ce qui complique la standardisation. La transition vers une production de masse implique typiquement des changements de matériaux qui créent une différence entre le prototype initialement validé et le produit vendu. Idéalement, il serait possible d'effectuer cette transition sans changer de matériau, chose qui est souvent considéré impossible dans la communauté microfluidique. Or, contrairement à cette croyance, le moulage par injection industriel de PDMS est réalisé dans d'autres industries, ce qui permet de croire qu'il est également possible pour les puces microfluidiques. L'application de cette démarche à la puce à MDT, qui est un modèle de biologie 3D prometteur évoluant dans un domaine ayant un besoin critique d'avancées technologiques, serait particulièrement bénéfique.

Dans ce contexte, l'objectif principal de mon projet consiste à investiguer le moulage par injection comme méthode de production de masse des puces microfluidiques en PDMS. Cet objectif principal est divisé en deux sous-objectifs :

1. Produire des puces à MDT fonctionnelles par moulage par injection
2. Mesurer l'impact du moulage par injection sur la variabilité des propriétés physicochimiques clés du PDMS

Dans la poursuite de ces objectifs, nous avons collaboré avec le Groupe DBM (Laval, QC, Canada), une compagnie de moulage par injection établie dans le domaine automobile. Le chapitre 4 illustrera les étapes qui ont menées à la mise en place d'une opération de production des puces à MDT dans leur usine de fabrication, répondant ainsi au premier sous-objectif. Mon rôle dans cette démarche a été l'établissement d'un pont entre les exigences pour la performance du dispositif et les capacités du Groupe DBM, afin de leur fournir un design respectant toutes les contraintes. À partir de ce design, la compagnie a pris en charge la mise en place de la production. Dans le chapitre 5, les résultats relatifs au deuxième sous-objectif seront présentés sous forme d'un article. Celui-ci inclut les données obtenues pour l'étude des propriétés physicochimiques identifiées et de leur variabilité en fonction de la méthode de production.

CHAPITRE 4 MOULAGE PAR INJECTION DES PUCES À MDT

Dans le cadre de la transition de la production des puces à MDT vers le moulage par injection, le Groupe DBM a d'abord identifié deux grades de caoutchoucs de silicone liquide qu'elle utilise couramment, dans la production de pièces optiques pour les phares de voitures, comme candidats potentiels pour composer la puce. Dans le reste du document, ces matériaux seront appelés *Moldable Resin A* et *Moldable Resin B* (MR-A et MR-B). Des tests préliminaires, présentés à la section 4.1, ont ensuite été réalisés sur ces grades pour tenter de repérer d'emblée des éléments critiques qui justifieraient leur exclusion comme matériau potentiel. Suite à ces validations initiales, nous avons enchaîné avec la mise en place de l'opération de production du dispositif. La section 4.2 présentera les étapes de cette démarche.

4.1 Validations initiales

Bien que les grades de silicone fournis par le Groupe DBM soient à base de diméthylsiloxane, leur composition chimique exacte ainsi qu'en quoi ils diffèrent du grade conventionnellement utilisé en microfluidique, le Sylgard 184 de Dow Corning (MI, USA), reste inconnu. Par exemple, on ne sait pas s'il y a des additifs qui pourraient potentiellement être toxiques pour les cellules mises en culture. Ainsi, la première étape de validation consiste à mesurer et comparer la composition chimique des résines de moulage par injection (MR-A et MR-B) et du Sylgard 184. Ensuite, comme détaillé précédemment, le fonctionnement du modèle MDT repose en partie sur la haute perméabilité à l'oxygène du PDMS, qui assure la perfusion des échantillons en culture. Cette caractéristique est donc cruciale et ainsi, la deuxième étape de validation consiste à mesurer et comparer la perméabilité à l'oxygène de la MR-A et de la MR-B à celle du Sylgard 184. Zahra Kanani, membre du laboratoire du professeur Abdellah Ajji, a performé les mesures pour ces deux étapes.

4.1.1 Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une méthode d'analyse de la structure chimique des matériaux. Chaque atome vibre à une fréquence caractéristique dans la plage infrarouge. Lorsqu'un photon de fréquence égale à cette fréquence de vibration interagit avec l'atome, celui-ci absorbe le photon. Ainsi, chaque lien chimique, composé de deux atomes ou plus, possède un profil d'absorption infrarouge unique. Le principe de spectroscopie FTIR consiste donc

à exposer un échantillon à des faisceaux de lumière infrarouge et à mesurer l'absorption correspondante à chaque longueur d'onde. Pour interpréter ce signal d'absorption en fonction de la longueur d'onde, on analyse sa forme et la position de ses pics d'absorption, qu'on associe avec les liens chimiques correspondants. L'intensité de ces pics reflète la concentration de ces liens dans le matériau.

Pour comparer les structures chimiques des trois matériaux à l'étude, leurs spectres infrarouges ont donc été obtenus par FTIR. Afin de raffiner notre analyse, les spectres des monomères et des agents durcissant ont été mesurés séparément. Puisque ces composants sont sous forme liquide, la méthode de réflexion totale atténuée (ATR) a été utilisée. Cette technique est basée sur l'interaction des faisceaux émis à l'interface entre l'échantillon et un cristal optique, et permet l'analyse d'échantillons liquides comparativement à d'autres techniques de FTIR, qui requièrent typiquement un échantillon sous forme de film mince. Le spectromètre Spectrum 65 de Perkin Elmer (Ontario, Canada) a été utilisé pour mesurer l'absorbance dans la plage de 4000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} , avec une résolution de 2 cm^{-1} , et une accumulation de 32 (signifiant le moyennage de 32 scans pour l'obtention des spectres finaux). Les résultats sont présentés à la Figure 4.1.

La Figure 4.1A montre la superposition du spectre des trois monomères. On constate que la forme et la position de leurs pics est identique, suggérant que les trois monomères partagent la même structure chimique. On remarque cependant quelques différences mineures au niveau de l'intensité de certains pics, notamment à 1059 cm^{-1} et à 840 cm^{-1} . Ces longueurs d'ondes font partie des bandes de vibration des liens Si-O-Si et Si-CH₃ respectivement [117], ce qui suggère de légères différences de concentration de ces liaisons dans les trois monomères. On peut tirer une conclusion similaire lorsque l'on compare les agents durcissant de la MR-A et de la MR-B. Comme on peut le voir à la Figure 4.1B-D, leurs spectres présentent une forme identique avec des variations d'intensité à certains pics, indiquant une structure chimique commune mais des différences de concentration de certains liens. En revanche, la composition chimique des agents durcissant des deux résines d'injection diffère de celle du Sylgard 184. Par exemple, on note un décalage du pic de 2165 cm^{-1} vers 2147 cm^{-1} (Figure 4.1C). Les résines d'injection présentent également une faible épaule à 1200 cm^{-1} suivie d'un double pic (1059 et 1013 cm^{-1}), tandis que le Sylgard 184 montre une épaule plus intense autour de 1050 cm^{-1} suivi d'un simple pic à 1032 cm^{-1} (Figure 4.1D). De plus, la zone comprise entre 950 et 600 cm^{-1} révèle des spectres de formes différentes avec des pics distincts.

Cela suggère, au-delà de différences dans la concentration de liens identiques, la présence de liaisons chimiques distinctes dans l'agent durcissant des résines d'injection et celui du Sylgard 184.

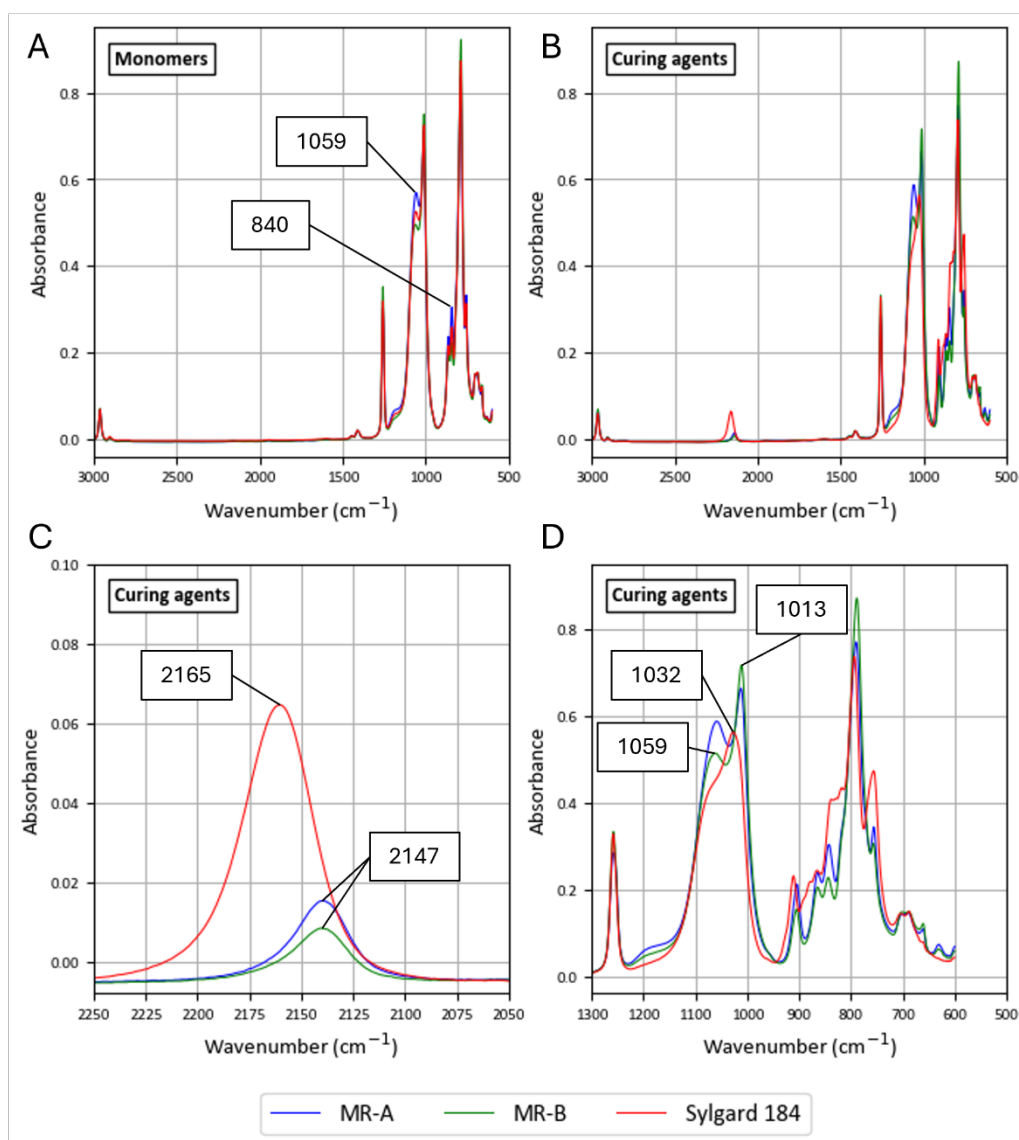


Figure 4.1 Spectres infrarouges de la *Moldable Resin A* (MR-A), de la *Moldable Resin B* (MR-B) et du Sylgard 184. Superposition du spectre (A) des trois monomères et (B) des trois agents durcissant dans l'intervalle de 3000 à 600 cm^{-1} . Gros plan sur les spectres des agents durcissant dans les intervalles de (C) 2250 à 2050 cm^{-1} et de (D) 1300 à 600 cm^{-1} , illustrant de plus près les différences.

Ces spectres ont donc permis d'établir que les résines d'injection étudiées se distinguent par la structure chimique de leur agent durcissant par rapport au Sylgard 184, ce qui pourrait potentiellement influencer leur biocompatibilité. Cependant, leur analyse n'a pas permis d'identifier précisément les liaisons associées aux différences observées, mais seulement de

confirmer l'existence de différences. Ainsi, étant incapable d'avoir une identification précise des liaisons chimiques divergentes, il est impossible d'affirmer que les différences observées suggèrent la présence d'éléments chimiques compromettant la biocompatibilité des matériaux. Nous avons donc conclu que ces différences ne justifient pas l'exclusion de la MR-A et de la MR-B en tant que candidates pour la puce MDT, en faisant l'hypothèse que leur biocompatibilité est similaire à celle du Sylgard 184. Cette hypothèse nécessite néanmoins d'être validée dans la suite du projet.

4.1.2 Perméabilité à l'oxygène

Dans les travaux de validation initiaux qui ont mené à la conception du modèle MDT, une modélisation numérique de la consommation d'oxygène des tissus a été réalisée [115]. Dans ce modèle, il a été approximé que les MDTs baignent dans un milieu aqueux infini. Cette simplification permet une analyse de type « pire cas possible », et découle de la prémisse selon laquelle l'oxygène diffuse dans le PDMS plus rapidement que dans l'eau. Cela signifie qu'en régime permanent, l'apport en oxygène est limité par son transport dans le milieu aqueux dans lequel repose les MDTs plutôt que par son transport au travers du PDMS. Ainsi, pour que le modèle reste valide, il est primordial de vérifier que les *Moldable Resins* A et B ont une perméabilité à l'oxygène similaire à celle du Sylgard 184, c'est-à-dire supérieure à celle de l'eau, sans quoi elles doivent être exclues d'emblée.

Afin de mesurer la perméabilité à l'oxygène de la MR-A et de la MR-B et, pour comparaison, du Sylgard 184, une machine d'analyse du taux de transmission d'oxygène (OX-TRAN 2/21, Mocon Inc., Brooklyn Park, USA) a été utilisée. Cette machine fonctionne selon le principe suivant : une couche mince du matériau à l'étude est scellée entre deux chambres, jouant le rôle de barrière entre celles-ci. La première chambre est remplie d'oxygène, tandis que la seconde, initialement vide d'oxygène, contient un gaz porteur. Selon la perméabilité à l'oxygène du matériau à l'interface des deux chambres, des molécules d'oxygène pénètrent la deuxième chambre à un certain taux. La concentration en oxygène dans la deuxième chambre est alors mesurée en continu, permettant de déterminer ce taux de transmission (OTR), qui décrit la quantité d'oxygène par unité de surface qui traverse une interface d'épaisseur donnée. Pour obtenir la perméabilité à l'oxygène (P), propriété intrinsèque indépendante de l'épaisseur (t), l'OTR est multiplié par l'épaisseur de l'échantillon utilisé (équation 4.1).

$$P = OTR \times t \quad (4.1)$$

Ainsi, des échantillons carrés de 5x5 cm et 0.8 mm d'épaisseur composés des résines A et B moulées par injection ont été fournis par le Groupe DBM, et des échantillons de mêmes dimensions ont été produits par lithographie molle avec le Sylgard 184. Les mesures ont ensuite été réalisées en triplicata pour obtenir les valeurs présentées à la Figure 4.2, variant autour de $4.75 \times 10^7 \frac{cc.\mu m}{m^2.day.atm}$. L'analyse statistique des mesures par le test d'indépendance de Student montre que les différences observées entre les résines d'injection et le Sylgard 184 ne sont pas significatives, avec des valeurs p de 0.942 et 0.087 respectivement. Cela suggère que la MR-A et la MR-B ont toutes deux une perméabilité à l'oxygène comparable à celle du Sylgard 184.

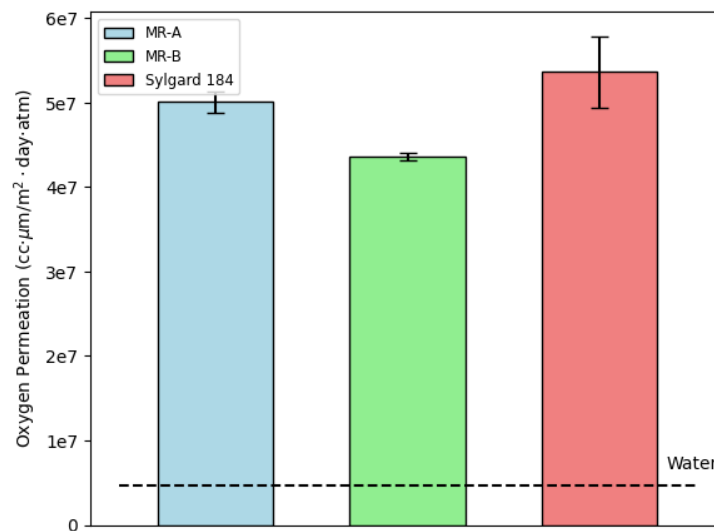


Figure 4.2 Validation initiale de la perméabilité à l'oxygène des résines d'injection. Moyenne \pm écart-type des mesures sur les *Moldable Resins A* et *B* (MR-A et MR-B) et sur le Sylgard 184, et valeur calculée pour l'eau.

Bien que la perméabilité à l'oxygène soit typiquement une propriété des solides, celle-ci est définie par le produit entre le coefficient de diffusion et la solubilité de l'oxygène dans le milieu (équation 2.1). En utilisant le coefficient de diffusion de $2 \times 10^{-5} \frac{cm^2}{s}$ et la solubilité de $1.22 \times 10^{-3} \frac{mol}{dm^3}$ de l'oxygène dans l'eau [118], nous avons obtenu la valeur théorique de $4.72 \times 10^6 \frac{cc.\mu m}{m^2.day.atm}$, soit un ordre de grandeur inférieur à celle des trois résines de PDMS (le détail de ce calcul se trouve à l'Annexe A). Ainsi, la puce à MDT peut être composée de la MR-A ou de la MR-B sans invalider la simplification utilisée dans la modélisation numérique du transport d'oxygène.

4.2 Modifications apportées au modèle et production

Suite aux validations initiales, nous sommes allés de l'avant dans l'établissement d'une production de la puce à MDT par moulage par injection avec l'hypothèse selon laquelle la MR-A et la MR-B sont toutes deux des candidates potentielles. MISO Chip a profité de cette opportunité d'itération du design pour y proposer certaines modifications dans le but d'améliorer l'utilisabilité du dispositif, pourvu que celles-ci ne comportent aucun risque d'affecter son fonctionnement. Le Groupe DBM a de son côté établi les contraintes pour permettre l'usinage du moule et la production des puces. Je me suis ensuite chargé d'adapter la conception assistée par ordinateur (CAO) selon les exigences. Ces modifications par rapport au design original sont illustrées à la Figure 4.3. Lors de l'utilisation du design original, les liquides s'accumulent en petites flaques de quelques dizaines de microlitres à leur sortie des canaux. Dans les cas où les volumes introduits aux entrées sont importants, les flaques des canaux adjacents ont tendance à se répandre sur le dessus du dispositif et à s'agglutiner. Dans l'optique où chaque canal possède une solution unique, ce mélange aux sorties introduit un risque de contamination croisée. De plus, la présence de cette flaque peut rendre l'opération du dispositif plus encombrante et salissante que si elle n'existait pas. Pour pallier ce problème, une poche permettant le confinement des liquides sortants a donc été ajoutée à la sortie des canaux. Ensuite, une fois leur culture terminée, les MDTs sont généralement retirées de la puce pour être transférés dans des blocs de paraffine (Figure 2.7). Lors de cette étape, l'utilisateur doit couper, au ciseau, le dispositif précisément le long des canaux. Afin de faciliter la réalisation de cette étape, des guides ont été ajoutés pour diriger l'alignement de la coupe. De plus, afin de rendre possible le pipetage simultané dans les quatre canaux, l'espacement entre ceux-ci a été ajusté pour correspondre à celui des multi-pipettes conventionnelles. Cet ajustement offre donc la possibilité d'accélérer certaines étapes d'utilisation. Enfin, dans une optique de commercialisation, le logo de la compagnie MISO Chip ainsi que le numéro d'identification du produit ont été ajoutés sur le dessus du dispositif. Cela permet de lui conférer une apparence de produit commercial plutôt que celle d'un prototype.

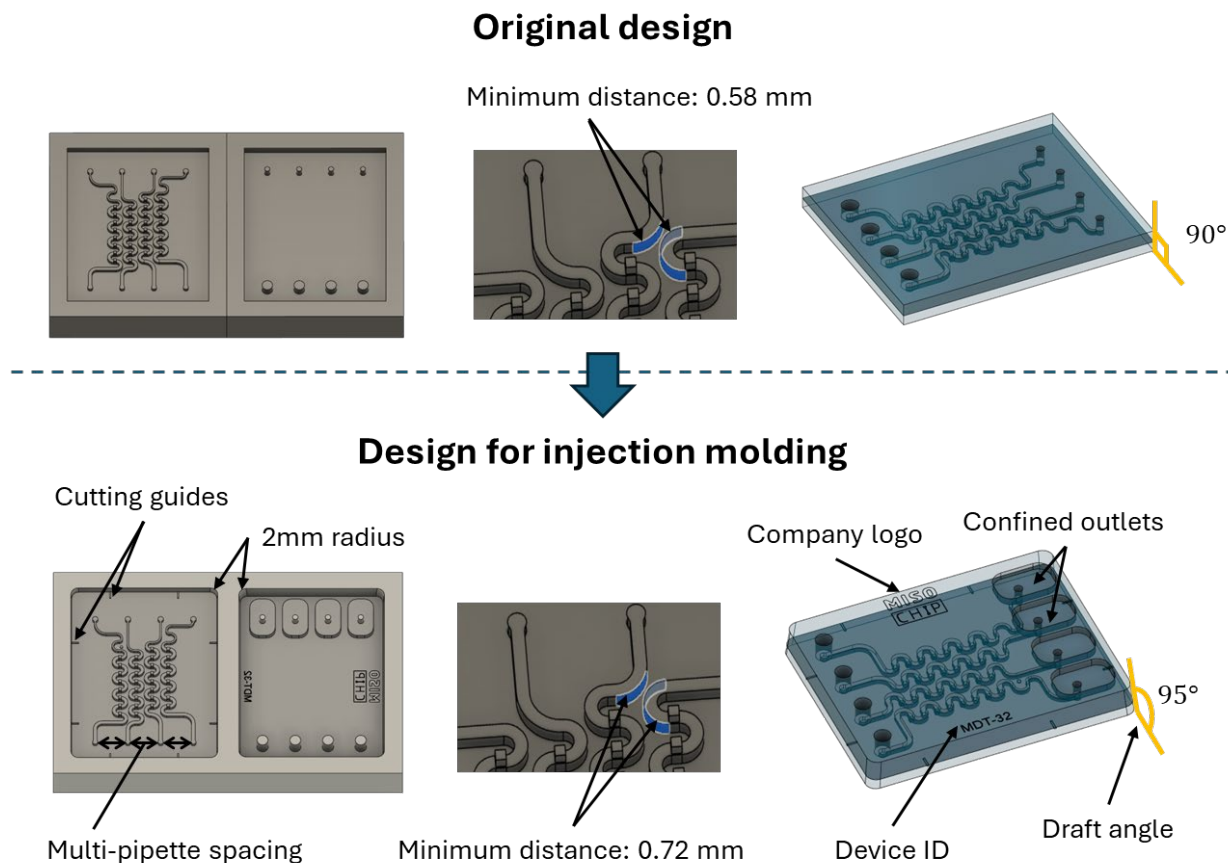


Figure 4.3 Illustration schématique des modifications apportées à la puce à MDT dans le cadre de la transition de sa production vers le moulage par injection.

Concernant les modifications liées à l'usinage, celle-ci se rapportent aux contraintes illustrées dans la section 2.4.2 et à la Figure 2.5. Pour les zones dont la géométrie est non-critique au fonctionnement du dispositif, l'augmentation du rayon de courbure et l'ajout d'angles de dépouille facilitent l'usinage du moule et permet de sauver des coûts. Ainsi, les coins ont été arrondis avec un rayon de 2 mm et un angle de dépouille de 5° a été ajouté aux bordures extérieures. De plus, selon les simulations d'injection réalisée par le Groupe DBM, un espacement minimal de 0.7 mm entre les canaux permet d'optimiser le processus d'injection tout en évitant le piégeage de bulles d'air. Ainsi, l'espacement des canaux a été ajustée en conséquent.

Suite aux modifications, la CAO a été envoyée à l'équipe du Groupe DBM. Celle-ci s'est ensuite chargée de l'usinage d'un moule d'acier compatible avec leurs installations, et de l'intégration d'une opération de production de puces à MDT dans leur usine de fabrication, illustrée à la Figure 4.4.

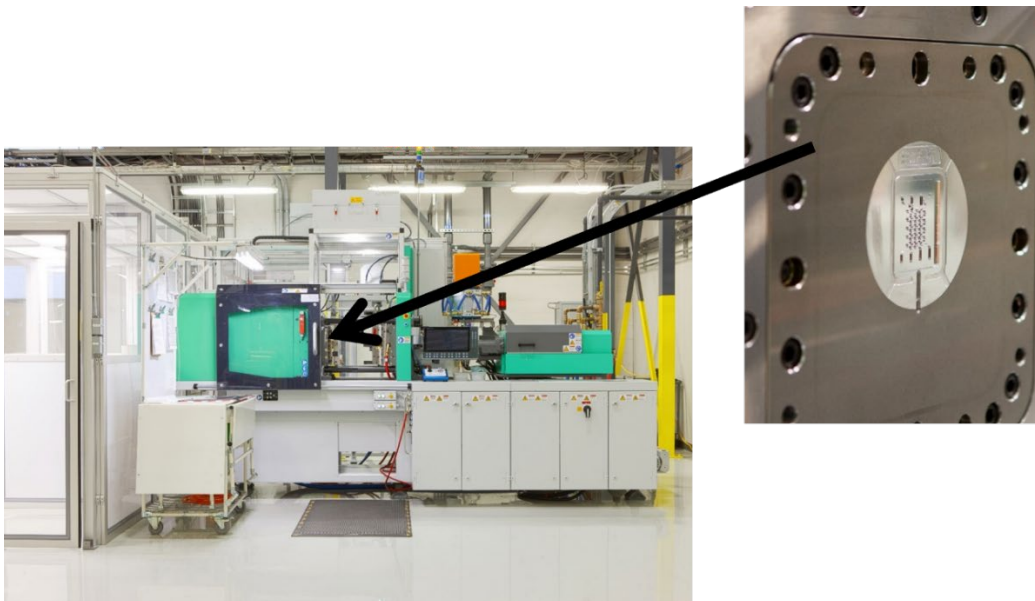


Figure 4.4 Photo des installations pour la production de puces à MDT dans l'usine de fabrication du Groupe DBM

Cette opération permet actuellement la production de puces à MDT composées des deux *Moldable Resins* pré-validées (A et B) à un volume de 10 000 dispositifs par semaine. La Figure 4.5 montre un exemple de puce produite par le Groupe DBM, à côté d'une puce à MDT originale produite par lithographie molle et composée de Sylgard 184.

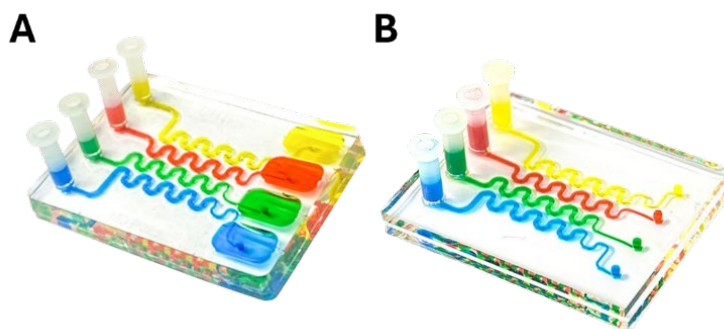


Figure 4.5 Comparaison visuelle de la puce à MDT moulée par injection à la version initiale. (A) Photo du dispositif moulé par injection et (B) du dispositif original produit par lithographie molle

Ainsi, la faisabilité technique de la production de masse de puces microfluidiques en PDMS par moulage par injection a été démontrée avec la puce à MDT. Le prochain chapitre s'attardera quant

à lui à l'impact d'une telle production sur le produit en ce qui concerne la variabilité des propriétés physicochimiques du PDMS.

CHAPITRE 5 ARTICLE 1: MASS FABRICATION OF PDMS DEVICES BY INJECTION MOLDING

5.1 Présentation de l'article

Le second sous-objectif de mon projet de maîtrise consiste à mesurer l'impact de la production par moulage par injection de puces microfluidiques en PDMS, notamment en ce qui concerne leurs propriétés physicochimiques. L'analyse de la littérature présentée au chapitre 2 a permis de formuler l'hypothèse selon laquelle cette méthode de production entraîne une réduction de la variabilité de ces propriétés, par rapport à une production par lithographie molle. De plus, l'analyse des spectres infrarouges à la section 4.1.1 nous a permis de supposer que la biocompatibilité de la MR-A et de la MR-B est maintenue par rapport à celle du Sylgard 184. Pour tester ces hypothèses, nous avons mesuré et comparé la variabilité de propriétés clés du PDMS (module d'Young, perméabilité à l'oxygène, absorption de molécules et hydrophobicité) et évalué la viabilité d'échantillons biologiques 3D cultivés sur la puce à MDT moulée par injection. L'article faisant l'objet de ce chapitre présente ces résultats ainsi que leur interprétation.

Cet article, intitulé *Mass fabrication of PDMS devices by injection molding*, a été soumis le 21 novembre 2024 (numéro de référence : LC-ART-11-2024-000989) à la revue *Lab on a Chip*. Cette revue est publiée par le *Royal Society of Chemistry*.

En plus de moi-même, les coauteurs de cet article sont Amélie St-Georges-Robillard^{a,b} (A.S-R.), Henri Chaudoir^a (H.C.), Sabrina Ritch^b (S.R.), Etienne Laurent^c (E.L.), Anne-Marie Mes-Masson^{b,d} (A-M.M-M.), Abdellah Ajji^a (A.A.) ainsi que Thomas Gervais^{a,b} (T.G.). Je suis toutefois l'auteur principal et cet article représente principalement le fruit de mon travail. La conceptualisation du travail a été réalisée conjointement par A.S-R., T.G., E.L. et moi-même. En ce qui concerne l'investigation, qui correspond à la conduite des expériences ayant permis d'obtenir les données, j'en ai été principalement responsable : j'ai mesuré le module d'Young, l'angle de contact, l'absorption et la perméabilité à l'oxygène des échantillons de PDMS, et j'ai conduit les expériences de biologie 3D, incluant la culture cellulaire, la génération des échantillons 3D, la culture sur puce et la préparation des tissus et leur analyse. Pour certaines des expériences biologiques, A.S-R. et S.R. m'ont aidé à générer et mettre les échantillons 3D en culture, tandis que H.C. m'a quant à lui aidé à mesurer l'angle de contact et la perméabilité à l'oxygène de certains échantillons. J'ai assuré seul le regroupement, le traitement et de la visualisation des données. À

l'exception des données de spectroscopie infrarouge, analysée et interprétées par A.A., j'ai été responsable de l'analyse et de l'interprétation de tous les résultats, avec validation par T.G. Enfin, je me suis chargé de la rédaction du manuscrit original, auquel T.G. a apporté des ajouts. Ce manuscrit a ensuite été passé en revue et édité par A.S-R., E.L., A.A., A-M.M-M. et T.G. La supervision du projet a été assurée par A.S-R. et T.G., tandis que des ressources ont été fournies par E.L. (puces microfluidiques utilisées pour les expériences biologiques), par A.A. (équipements pour les mesures de perméabilité à l'oxygène et de spectroscopie infrarouge), par A-M.M-M. (matériel biologique utilisé pour une des expériences) et par T.G. (matériel et équipements pour toutes les expériences).

^a Polytechnique Montréal, Montréal, Canada

^b Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM)/Institut du Cancer de Montréal (ICM), Montréal, Canada

^c MISO Chip, Montréal, Canada

^d Département de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada

5.2 Abstract

This study investigates the use of industrial-grade polydimethylsiloxane (PDMS) for the mass production of microfluidic chips through Liquid Silicone Rubber Injection Molding (LSR-IM) technologies. Injection molding of silicone rubber is surprisingly absent in microfluidics. Nevertheless, it has long been used for mass manufacturing in the automotive and aerospace industries. By showing that injection-molded PDMS resins have relevant properties for microfluidic applications, we aim to challenge the common belief that PDMS-based microfluidic devices are only producible at small-scale. To our knowledge, this is the first report of industrial injection molding of PDMS in the field of microfluidics. Here, we manufactured PDMS microfluidic devices using industrial injection molding systems and measured the values of several physicochemical properties of PDMS important in microfluidics. For the two grades of injection-moldable PDMS studied, all properties were found close to those of Sylgard 184 PDMS, commonly used in microfluidics. However, the main gain of the standardized LSR-IM production lies in an increase in reproducibility of PDMS surface and bulk properties within and between production batches. Thus, the measured variance was significantly reduced for Young's modulus (~30-fold), oxygen permeation (~10-fold) and mean fluorescence intensity (MFI) of absorbed Nile Red, a small hydrophobic fluorophore (~5-fold), when compared to user-dependent soft lithography

processes. Finally, we also validated the biocompatibility of injection-grade PDMS resins by culturing complex and sensitive 3D biology models (tumor spheroids and explants) in LSR-IM chips, observing no significant differences in cell proliferation or apoptosis relative to samples cultured on conventional Sylgard 184 devices. These findings suggest that the LSR-IM production of functional PDMS microfluidic devices clears a direct path forward for the translation of PDMS prototypes at the industrial scale.

5.3 Introduction

The use of microfluidic devices in cell biology research offers several advantages, including limited reagent consumption, portability, parallelization, high throughput, and predictable flow and chemical transport [5]. Polydimethylsiloxane (PDMS) is often the material of choice for microfluidic applications due to its biocompatibility, transparency, and oxygen permeability. The latter far exceeds that of any thermoplastic polymers and enables perfusion-free cell culture [21], [44], [81]. PDMS-based microfluidic devices can be rapidly and easily prototyped through standard soft lithography methods, making them ideal for proof-of-concept chip development [16], [17], [18]. However, despite these benefits, PDMS-based microfluidic tools have not yet achieved widespread adoption within the cell biology research community or the medical world at large [38]. Successful commercialization of a device requires a highly repeatable operation and consistent performance [8], [9], which are challenging to achieve using soft lithography because the process is labor-intensive, time-consuming, and user-dependent [25]. It is well known that PDMS cross-linking depends on several user-controlled factors, including the monomer-to-curing-agent ratio, the homogeneity of their mixing, as well as the temperature and duration of the curing [42]. Since polymer cross-linking is also crucially linked to its physicochemical properties [44], [71], [72], [77], variability in production conditions inevitably translates into variability in the properties of the manufactured devices.

Another significant obstacle to the widespread adoption of PDMS microfluidic devices lies in some of the inherent properties of the material. PDMS has been criticized for absorbing small molecules and allowing water evaporation through its pores, both of which can alter analyte concentrations and compromise the validity of the results [7], [39].

Facing these challenges, once functional device prototypes have been developed and tested using PDMS and soft lithography, they are typically transferred to thermoplastic materials for mass-

production using hot embossing or injection molding, or to silicon or glass using other microfabrication techniques. This shift in materials is thought to be inevitable because these mass-production techniques are often deemed incompatible with PDMS [7], [19], [38], [82]. Yet, some material properties of PDMS, such as its elasticity and oxygen permeability, cannot be easily reproduced using thermoplastics. Since the material composition of a device is determinant of its performance, the necessity of this transition often creates a “technological chasm” in the scale-up process between the initial PDMS prototypes and their future commercial thermoplastic equivalent – a long-recognized shortcoming of the soft lithography methodology at the device development stage [8].

One way to cast a bridge above this chasm would be to mass manufacture devices directly in PDMS, thus minimizing any material alterations to the working prototypes. Currently, PDMS mass production in an industrial manner by injection molding is still unheard of in the microfluidics community, and it is broadly assumed in this field that for devices to be suitable for commercialization, they must be made of thermoplastics, silicon or glass. This paper seeks to challenge this belief. PDMS can be injection-molded. In fact, the automotive, food, electronics and aerospace industries have long used liquid silicone rubber injection molding (LSR-IM) technology to produce PDMS parts [92], [119]. For example, PDMS lenses are a regular feature of headlights in common car brands as the material has superior thermal resistance, longevity and optical properties than most thermoplastics [92], [120]. Its non-toxic and hypoallergenic behavior is also leveraged for many products in the food industry, such as food molds and baby bottle nipples [92], [121]. Silicone parts can be injected, cured, and ejected from a high-pressure automated molding machinery as fast as one part per minute thus allowing mass-production [92].

However, to our knowledge, this method has not been explored for microfluidic chip production. Investigating this approach could bridge the gap between lab-scale and industrial production, provided we demonstrate that injection-molded PDMS have similar properties to the common Sylgard 184 PDMS used for microfluidic chip prototyping via soft lithography.

In this work, we investigate the feasibility of upscaling PDMS microfluidic chip production by transitioning from soft lithography to large-scale LSR-IM. We first study the general material properties relevant to microfluidics such as Young’s modulus (for elasticity) and native contact angle (for capillary action). A special focus is then placed on measuring the impact of the injection

process on oxygen permeability, small molecule absorption, and biocompatibility as they have a critical impact on many microfluidic applications and are known to depend on the level of monomer cross-linking. Finally, we assess how automated production of PDMS through injection molding impacts the stability and reproducibility of these PDMS properties, compared to conventional Sylgard 184 PDMS and soft lithography methods of producing PDMS.

5.4 Methods

Sample fabrication

PDMS samples were fabricated using injection molding and soft lithography and were then used to measure key mechanical and material PDMS properties, as summarized in Figure 5.1. The samples were fabricated employing molds representing the negatives of the desired shapes. For Young's modulus, contact angle and oxygen permeation measurements, the samples produced were 5 x 5 cm² squares with a thickness of 0.8 mm. For biocompatibility tests, we used the MDT (microdissected tissue) chip (MDT-32, MISO Chip, Montreal, QC, Canada), a standard, commercially available, two-layer PDMS device developed for the culture of 3D tumor samples [27], [114], [116]. As seen on Figure 5.2B, the chip design was slightly modified for injection molding production, where pockets were added on the channels outlets. These simple new features were made to highlight the possibility of patterning all surfaces via LSR-IM, while soft lithography patterns only one side. MDT chips made using both fabrication methods were also used for small molecule absorption measurements as their geometry is ideally suited for it. In the injection molding production, the PDMS monomer and curing agent are automatically combined using an integrated static mixer, after which the mixture is injected at pressures ranging from 10 to 1000 bars. This high pressure, coupled with a vacuum system integrated in the mold, ensures minimal air bubble formation. The mold is locally heated at temperatures between 150 and 200 °C, ensuring fast curing. The cycle time is within the minute range.

Soft lithography samples were produced manually using the well-established standard procedure [12] from the conventional grade of PDMS (Sylgard 184, Dow Corning, Midland, MI, USA) with a monomer to curing agent ratio of 10:1 and a curing time of 60 minutes at 80°C. Injection-molded samples made of two different moldable resins (DBM MR-01 and DBM MR-02, further referred to as MR-A and MR-B) that were provided by the DBM Group (Laval, QC, Canada), a company

routinely performing LSR-IM of plastic parts. For the variability analysis, Sylgard 184 and MR-A samples from multiple batches were produced. The characterization of MR-B was performed on samples from a single batch. For injection molding, starting a new batch requires restarting the machine and production line, typically on a different day. In soft lithography, a new batch is made by curing a freshly prepared mix of monomer and curing agent, non-simultaneously with other batches.

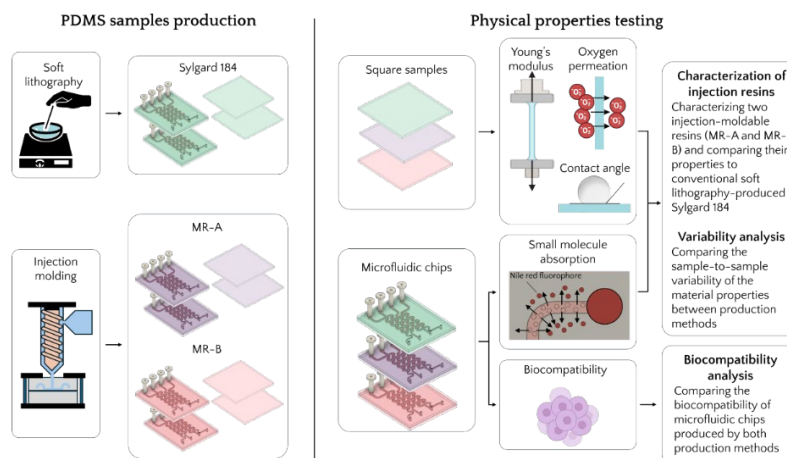


Figure 5.1 Graphical workflow of the study highlighting the materials associated with each production method and the sample types associated to each characterized property.

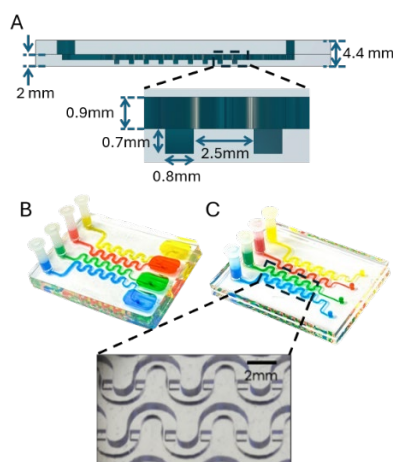


Figure 5.2 Microfluidic device used for the experiments (MDT chip). (A) Side view schematic of the device showing two assembled PDMS layers. The bottom layer contains channels with 8 cubic wells. (B) Injection-molded MDT chip with the same design except for the pockets at the outlets, highlighting the possibility of including features on all surfaces. (C) Conventional soft-lithography-produced MDT chip.

Physicochemical property measurements

Infrared spectroscopy

To characterize their chemical properties, we performed Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy on the monomer and curing agents of all three materials using a Spectrum 65 spectrometer (Perkin Elmer, ON, Canada). Absorption peaks were compared between all samples in a combinatorial fashion. Key discrepancies were identified and associated with their respective chemical structure using the Spectral Database for Organic Compounds (SDBS) [117].

Young's modulus, contact angle and oxygen permeation

Young's modulus was measured by analyzing the stress-strain curves obtained through a 100 N tensile load cell (Insight, MTS Systems, Eden Prairie, USA) paired with analyzing software (TW-Elite, MTS Systems, Eden Prairie, USA). The slope of the linear phase was approximated by linear regression of the interval between 0 and 0.4 strain, in line with the theoretical linear phase of PDMS [122]. The contact angle was measured using an optical contact angle measuring system (OCA25, Data Physics, Riverside, USA). The oxygen permeation was measured with an oxygen transmission rate analyzer (OX-TRAN 2/21, Mocon Inc., Brooklyn Park, USA). A 2-hour conditioning period followed by 10 1-hour cycles was sufficient to reach a steady permeation value. While oxygen permeation (P) is typically a property of solids, it was approximated for water to obtain a comparative baseline of our measurements. We used a coefficient of diffusion (D) of $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ and a solubility (S) of $1.22 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ for oxygen in water at 25°C [118], combined with equation 5.1 to obtain the final value.

$$P = D \times S \quad 5.1$$

Small molecule absorption

We measured the penetration length and fluorescence intensity of the fluorophore Nile Red (72485, Sigma-Aldrich) inside the walls of the microfluidic channels. Nile Red was diluted in methanol at a 1 mg mL^{-1} concentration. 5 cycles of 1 minute of Nile Red incubation followed by 1 minute of ddH₂O rinsing were injected in the channels, based on the seminal work by Toepke and Beebe [39]. 1 hour after the last rinsing and emptying of the channels, the chips were imaged using a fluorescent microscope (Eclipse TE300 Inverted Fluorescent Microscope, Nikon, Japan). A background image of a Nile Red-filled channel was also taken and used for normalization. To

quantify the absorption, a region of interest (ROI) of fixed dimensions (0.55 x 1.22 mm²) and distance to the channel inlet (1.1 mm) was selected on the outside channel edges. The mean fluorescence intensity (MFI) in the ROI was measured. The fluorescent signal was then averaged along the axis perpendicular to the channels, and the resulting 1D signal was fit to an exponential curve. The characteristic length of penetration (CLP) of the Nile Red molecule is linked to its diffusion coefficient through the wall ($CLP \sim \sqrt{2Dt}$) and was measured using an exponential fit (equation 5.2).

$$I = I_0 e^{-\frac{1}{CLP}x} + I_{background} \quad 5.2$$

In equation 5.2, coefficient I_0 is linked to the intensity of the signal measured which is indirectly linked to the concentration of Nile Red and thus to the partition coefficient (and thus the solubility) of the molecule while the CLP value is an indirect measurement of the diffusion coefficient of the molecule in the material. The permeability is linked to the ratio of the flux J_0 across the channel wall per unit concentration, which is proportional to the spatial derivative of the intensity.

$$J_0 \propto -D \left. \frac{\partial I}{\partial x} \right|_{x=0} = \frac{DI_0}{CLP} \propto CLP \cdot I_0 \quad 5.3$$

Thus, the flux of Nile red is proportional to the product of the penetration length and fluorescence intensity.

Biocompatibility & 3D biology

To assess biocompatibility, we measured cell proliferation and apoptosis of 3D cancer samples cultured on the MDT chip (Figure 5.3). We selected two 3D biological models (spheroids and explants) because their heightened complexity and sensitivity to culture conditions increase their susceptibility to material-induced toxicity, making them good models for biocompatibility validation. We initially used spheroids, as they are the gold standard and most widely used 3D model. For a more refined analysis, we subsequently used microdissected tumor explants (MDTs), given that explants exhibit even greater sensitivity to culture conditions [107].

Spheroid generation

Spheroids were formed from DU145 cells (human prostate cancer, HTB-81, American Type Culture Collection) cultured in RPMI 1640 medium (350-000-CL, Wisent) supplemented with 0.6 mg L⁻¹ amphotericin B (450-105-QL, Wisent) and 55 mg L⁻¹ gentamycin (450-135-XL, Wisent),

and incubated at 37°C with 5% CO₂. The cells were used to form spheroids directly in PDMS microfluidic chips designed for spheroid formation (see chip design in Figure 5.7), following a previously published method [22]. Briefly, microfluidic channels and wells were first passivated with a tri block copolymer (Pluronic F-108, 542342, Millipore-Sigma) and then sterilized using 70% ethanol (P016EAAN, Commercial Alcohols). Cells were seeded in the channels at a concentration of 3×10^6 cell mL⁻¹, and channels were rinsed with medium after 60 min to remove unwanted cells. Culture medium was renewed every 24 h. Spheroids formed in 3 days and were then harvested and transferred into MDT chips for the biocompatibility assessment.

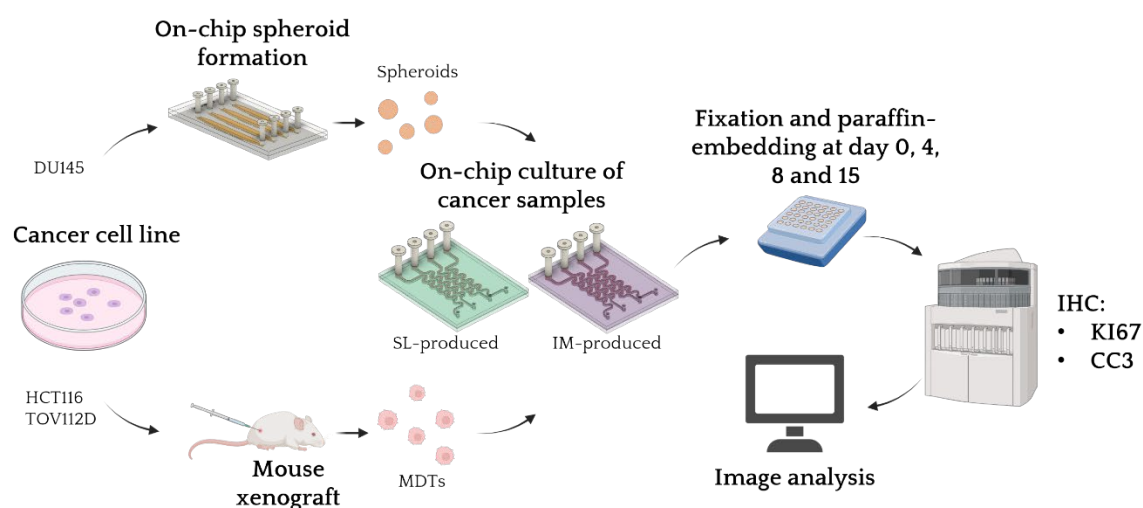


Figure 5.3 Biocompatibility assessment methodology. Tumor spheroids and microdissected mouse xenograft explants (MDTs) were cultured in microfluidic chips produced by soft lithography (SL) and injection molding (IM). After formalin fixation and paraffin embedding, the proliferation and apoptosis of both 3D models were assessed using immunohistochemistry (IHC) with Ki67 and CC3 antibody staining.

Microdissected tissue explant generation

HCT116 cells (human colon cancer, CCL-247, Cedarlane) were cultured in DMEM F-12 medium (319-075-CL, Wisent) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS, 098-150, Wisent), 0.6 mg L⁻¹ amphotericin B (450-105-QL, Wisent), and 1% of a penicillin-streptomycin solution (450-201-EL, Wisent) containing 10 000 IU mL⁻¹ penicillin and 10 000 µg mL⁻¹ streptomycin. TOV112D cells (human ovarian cancer, previously derived from a patient tumor [123]) were cultured in OSE medium (316-030-CL, Wisent) with 10% FBS, 0.6 mg L⁻¹ amphotericin B and 55 mg L⁻¹ gentamycin. Both cultures were incubated at 37°C with 5% CO₂. For mice xenograft production,

cell suspensions were mixed on ice with Matrigel (356237, Corning) at a 1:1 ratio with phosphate buffered saline (PBS, 311-425-CL, Wisent). 200 μ L of this cell solution were subcutaneously injected into the mice flank. Tumors were allowed to grow to a volume ranging between 500 and 1000 mm³ after which they were harvested and microdissected into MDTs following a previously published methodology [27], [116]. All procedures involving mice were performed according to the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals of the CRCHUM and approved by the Animal Ethics Committee (CIPA).

Cancer sample culture

Once the spheroids and MDTs were produced and harvested, they were loaded in MDT chips produced by both injection molding and soft lithography. The spheroid experiment included both MR-A and MR-B, while the MDT experiment only included MR-A. The sample loading on chip was performed according to our standardized methodology [27]. Samples were then kept in culture for 15 days, with day 0 corresponding to the day of loading on MDT chip. Culture medium was changed every 48 h within the chip. At days 0, 4, 8 and 15, the cancer samples were fixed and transferred to paraffin blocks using a previously published paraffin-embedding lithography method [116], resulting in standard Formaline-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) tissue blocks.

Immunohistochemistry

Following standard deparaffinization, 4 μ m-thick FFPE tissue blocks were stained using the Discovery Ultra Ventana automated stainer (Ventana Medical Systems, Roche, Rotkreuz, Switzerland) and placed on microscope slides (TOM-1190, Matsunami). Antigen retrieval was conducted with Cell Conditioning #1 solution (Ventana Medical System Inc., Tris-EDTA buffer, pH 7.8) for 60 min at 95°C. Solutions with a 1:600 concentration of rabbit anti-Ki67 (MA5-14520, ThermoFisher Scientific) and rabbit anti-cleaved caspase-3 (CC3, 9661S, New England Biolabs) antibodies were added to the slides and incubated for 60 min at 37°C. Visualization was achieved using the Discovery Omni Map HRP (Ventana Medical System Inc., Oro Valley, AZ, USA) with an anti-Rb HRP secondary antibody. Slides were then counterstained with hematoxylin and bluing reagent (Ventana Medical System Inc., Oro Valley, AZ, USA). Subsequently, all slides were scanned using an Aperio Verso 200 slide scanner microscope equipped with a 20x0.8 NA objective with a resolution of 0.275 MPP (Leica Biosystems, Buffalo Grove, IL, USA). Image visualization was performed using the Aperio Image Scope software (Leica Biosystems, Buffalo Grove, IL,

USA). Finally, the images were processed using VisiomorphDP software (VisioPharm, Denmark) to measure the fraction area of Ki67 and CC3 positive cells, representing proliferative and apoptotic cells respectively.

Statistical analysis

To analyze and compare the variability of Young's modulus, contact angle, oxygen permeation and Nile Red absorption between MR-A and Sylgard 184 samples, we differentiated among intra-batch, inter-batch, and total variability of combined data from all batches. The variance within a batch was measured and averaged across the 4 batches of the same material to describe intra-batch variability. The normalized variance of the average value of all 4 same-material-batches was used to describe inter-batch variability. To compare variability between materials, F-tests were conducted to obtain variance ratios and assess their statistical significance. For biocompatibility assessment, we compared the levels of proliferative and apoptotic expression of the cancer samples cultured in chips produced by both methods. At each studied time-point, T-tests were performed using GraphPad Prism software (GraphPad Software, USA) to detect differences between materials.

5.5 Results

Injection-molded PDMS characterization

Infrared spectroscopy

Infrared spectra revealed highly similar chemical compositions between MR-A, MR-B, and Sylgard 184 (Figure 5.8). The spectra for all three monomers (Figure 5.8A) were nearly identical, with peaks at the same locations. Although some peaks varied slightly in intensity, these variations suggest differences in concentration of specific chemical bonds potentially linked to polymer cross-linking. However, the absence of peak shifts indicates that all three monomers share the same dimethylsiloxane backbone. For the curing agents, a similar conclusion applies to MR-A and MR-B, which share the same chemical structure with some bond concentration differences. However, these curing agents differ from the Sylgard 184 curing agent, as shifts in peak locations were observed in the Si-CH₃ and Si-H vibration ranges. The difference in chemical content of the injection-molded PDMS and Sylgard 184 curing agents highlights the need to assess the cured

polymers' biocompatibility, as variations in chemical reagents could potentially induce cell toxicity.

Physicochemical properties

Figure 5.4 shows the average values for the Young's modulus, contact angle, Nile Red absorption (measured by MFI and CLP) and oxygen permeation across all materials, along with batch-to-batch measurements for MR- A and Sylgard 184. The materials exhibited distinct elasticities, with average Young's moduli of 2.3 MPa for MR-A, 0.6 MPa for MR-B and 0.9 MPa for Sylgard 184 (Figure 5.4A). Contact angles were similar among materials, at 111°, 118°, and 115°, respectively, with no statistically significant difference between MR-B and Sylgard 184 (Figure 5.4B). MR-A showed lower Nile Red absorption than MR-B and Sylgard 184, which had similar absorption levels. MR-A showed lower Nile Red absorption than MR-B and Sylgard 184, which had similar absorption levels.

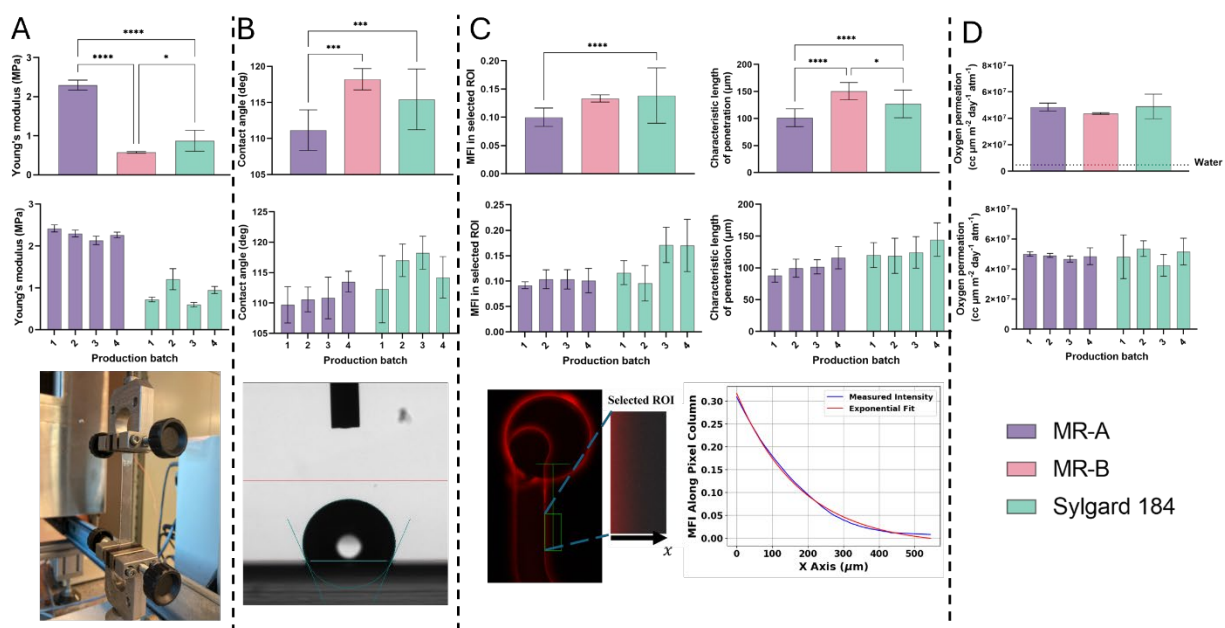


Figure 5.4 Characterization of injection-molded PDMS (MR-A and MR-B) and of Sylgard 184. (A) Young's modulus (N=4, n=5), (B) contact angle (N=4, n=5), (C) MFI and CLP of absorbed Nile Red (N=4, n=8) in the selected region of interest (ROI), and (D) oxygen permeation (N=4, n=3) across all measurements for MR-A, MR-B and Sylgard 184, and individual batch data for MR-A and Sylgard 184 alongside experimental setup images. Error bars represent the mean \pm s.d, * $p < 0.10$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$.

Specifically, MR-A had an MFI of 0.10 and a CLP of 101 μm , while MR-B and Sylgard 184 had MFIs of 0.13 and 0.14, and CLPs of 151 μm and 127 μm , respectively (Figure 5.4C). Oxygen

permeation values did not differ significantly among the three materials, with average values of 4.90×10^7 , 4.36×10^7 and 4.86×10^7 cc $\mu\text{m m}^{-1} \text{day}^{-1} \text{atm}^{-1}$ respectively (Figure 5.4D). The oxygen permeation of water was calculated at 4.72×10^6 cc $\mu\text{m m}^{-1} \text{day}^{-1} \text{atm}^{-1}$, approximately one order of magnitude lower than the three tested PDMS resins. For 3D culture applications, this implies that with these three materials, the rate of O_2 transport in water – not through PDMS – is the limiting factor in O_2 availability for the biological samples [115].

Variability analysis

Figure 5.5 illustrates the inter-batch, intra-batch and total variability of the properties for soft-lithography produced Sylgard 184 and injection-molded MR-A. Significant differences in the normalized variances were observed for Young's modulus (Figure 5.5A), oxygen permeation (Figure 5.5E) and MFI of absorbed Nile Red (Figure 5.5C), indicating improvement in the manufacturing reproducibility of these properties for injection-molded samples. No significant variance differences were found for the contact angle (Figure 5.5B) and the CLP of absorbed Nile Red (Figure 5.5D).

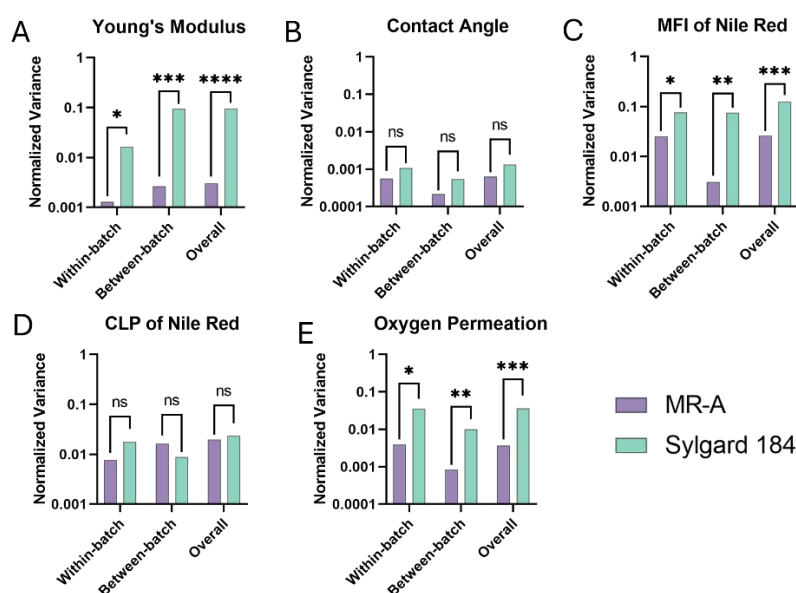


Figure 5.5 Normalized variance within and between production batches and of overall measurements of (A) Young's modulus, (B) contact angle, (C) mean fluorescence intensity (MFI) and (D) characteristic length of penetration (CLP) of absorbed Nile Red, and (E) oxygen permeation. Statistical significance obtained from F-test (ns stands for non-significant, *p<0.10, **p<0.05, ***p<0.01, ****p<0.001)

Table 4 summarizes the improvement factors – calculated as the fold change in normalized variance – enabled by injection molding across all three types of variability (within-batch, between-batch and overall). Improvement factors ranging from 3 to 35 can be observed across the metrics that showed significant variance reductions in Figure 5.5.

Table 4 Ratio of physicochemical properties variance of PDMS produced by soft lithography vs. injection molding. (ns stands for non-significant, * $p < 0.10$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$)

		Average variance within production batches	Variance within production batches	Variance of all measurements
Physicochemical properties		Improvement factor		
Young's modulus		12.74 (*)	35.16 (***)	31.32 (****)
Contact angle		1.93 (ns)	2.51 (ns)	2.06 (ns)
Oxygen permeation		9.06 (*)	11.78 (**)	9.77 (***)
Nile Red absorption	Mean fluorescence intensity (MFI) in ROI	3.03 (*)	25.58 (**)	4.77 (***)
	Characteristic length of penetration (CLP)	2.22 (ns)	0.67 (ns)	1.56 (ns)

Biocompatibility analysis

Figure 5.6 presents the fraction of proliferation (Ki67) and apoptotic (CC3) cells in DU145 spheroids (Figure 5.6A) and HCT116 and TOV112D MDTs (Figure 5.6B-C) cultured on MDT chips produced by both soft lithography and injection molding. Proliferation and apoptosis levels were calculated using the fraction area of Ki67-positive and CC3-positive cells, respectively. At each of the studied time-points, no significant difference was observed in marker levels between samples cultured on chips produced from either method/material, except for day 8 of DU145

spheroid culture, where the spheroids cultured on MR-B chips showed higher proliferation. All 3D cultures showed extremely low apoptosis across the whole experiment.

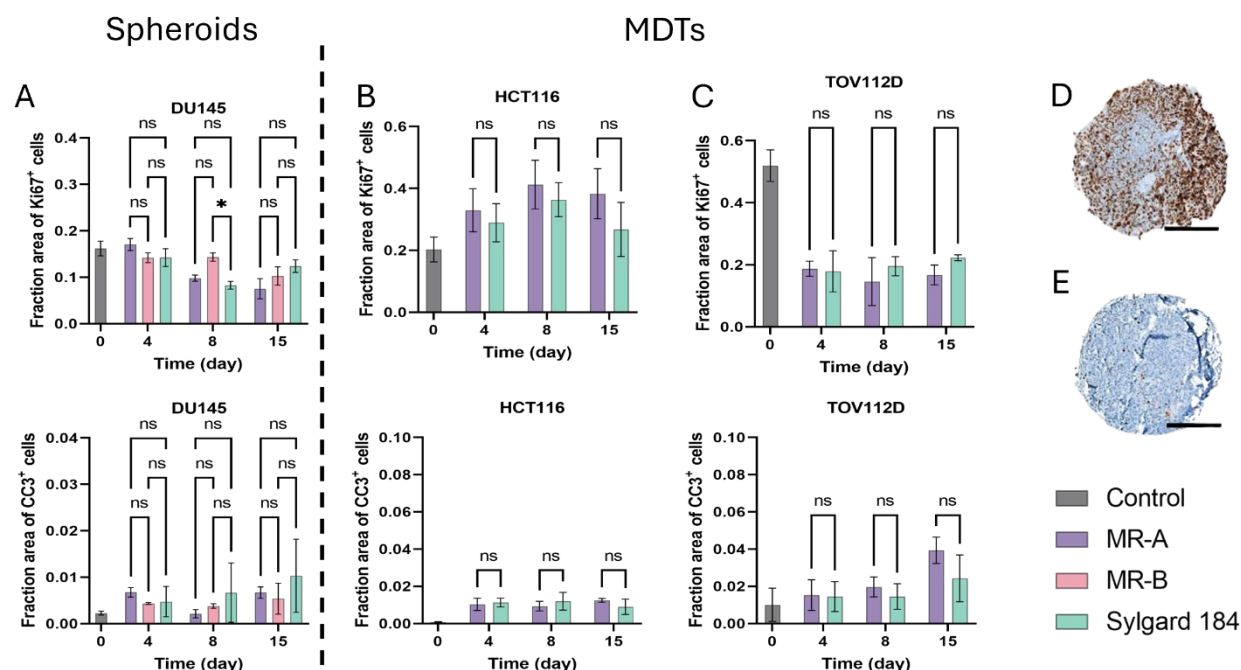


Figure 5.6 Quantification of proliferation and apoptosis of spheroids and microdissected tumor explants (MDTs). Fraction area (mean \pm S.E.M) of Ki67 and CC3 positive cells for (A) prostate cancer (DU145) spheroids (N=3), (B) colon cancer (HCT116) (N=4) and (C) ovarian cancer (TOV112D) (N=3) MDTs. Representative image of an MDT stained for (D) Ki67 and (E) CC3 (scale bars = 250 μ m). ns stands for non-significant, * $p < 0.05$.

5.6 Discussion

Material properties play a crucial role in the performance of microfluidic devices. The variability of various properties relevant to microfluidics was analyzed on PDMS prepared using different production methods. Results show that the standardized, highly controlled process of injection molding decreases the variance in 3 of the 5 measured metrics: by a factor >30 for Young's modulus, ~ 10 for oxygen permeation, and of ~ 5 for fluorescence intensity of absorbed Nile Red. For instance, based on our data, a Young's modulus discrepancy of over 10% would appear within a production batch once every 180 pieces approximately when using injection molding, compared to once every 3 pieces using soft lithography. Similarly, one in 19 injection-molded batches may show an average Young's modulus 10% off from other batches, with a maximum overall

discrepancy of 12% of the mean. In contrast, every soft lithography batch average is expected to vary by 10% or more, with maximal total variability reaching 50% of the mean.

While LSR-IM protocols offer little flexibility to adjust cross-link density and PDMS properties by altering production parameters, there is nonetheless an extremely wide range of PDMS grades with varying properties that are commercially available from LSR providers. For example, tensile elongation and operating temperature of commercially available LSR grades range from 200% to 1200% and -40°C to 200°C respectively [92]. This enables a grade selection tailored to the desired microfluidic application. The two grades characterized in this study (MR-A and MR-B) are examples that exhibit similar properties to conventional Sylgard 184, making them good candidates for microfluidic mass-manufacturing.

Though injection-molded PDMS still absorbs small molecules, it is also important to highlight that the strong Nile Red absorption observed in this study can be attributed to the high log P value of the molecule. The log P of a compound indicates its propensity to dissolve into organic solvents over aqueous solvents, thus reflecting its hydrophobicity. The absorption phenomena of PDMS is known to be strongly dependent on the hydrophobicity of the absorbed molecule, and previous studies have established that compounds with log P values below 2.47 are minimally absorbed [41]. With a log P of 5.0 [124], Nile Red exceeds that threshold and is therefore absorbed at a significant rate. Furthermore, and more importantly, reproducibility can help factor out the absorption effect altogether. Indeed, if these concentration biases are also more repeatable from one device to another, it becomes easier to correct and account for them by adjusting the initial analyte dosage according to a control experiment. This control experiment cannot be made as reliably while using soft-lithography-produced chips since the absorption phenomena is more variable intrinsically. The observed reductions in variance for injection molding could thus help mitigate these common criticisms of PDMS. Finally, water permeation through PDMS was not measured in this study. However, Randall & Doyle report that permeation is most significant for micron-sized channels [36]. For large PDMS devices such as 3D culture chips, which are moreover incubated in moisturized air, this effect becomes insignificant.

Another important consideration in cell biology applications is ensuring that the combination of monomer and curing agent is non-toxic for cells. While our infrared spectra analysis indicates that the monomer of all three polymers tested is dimethylsiloxane, the curing agents used for injection-

molded PDMS are significantly different from the one used for Sylgard 184 PDMS. It was therefore of critical importance to test the biocompatibility of the new materials in conventional microfluidics applications, such as on chip cell culture. Tissue explants, which are particularly fragile and challenging to grow on chip [107], are an ideal model to test the effect of a material change on tissue properties. Our results showed that both MR-A and MR-B are as good as conventional Sylgard 184 in this area, as Fig. 6 showed no significant difference in the proliferation and apoptosis of sensitive cell cultures such as 3D explants and spheroids, except for one instance where MR-B yielded more proliferative cells.

Overall, we have demonstrated that producing PDMS through injection molding yields consistent and reproducible parts in high volume and enables the mass-manufacture of biomedical microfluidic PDMS devices. As a rule of thumb, injection-molding processes reduce variance by an order of magnitude compared to soft lithography while maintaining all key properties in an acceptable range. The method can therefore unlock a throughput of $> 10\,000$ PDMS parts per week per injection molding machine used. Considering it would take at least a year for a single employee to produce the same volume through soft lithography, investing the equivalent of one year's salary in establishing an injection-molding operation becomes economically viable once 10 000 parts or more are produced. One bottleneck remains: assembly and bonding of the various PDMS layers in a high throughput manner after they are produced. This step is still performed manually by our team using plasma bonding. The challenge of automation and alignment of microfluidic devices is not inherent to PDMS, however, and applies to all materials including thermoplastics [125]. Automated assembly lines for plasma treatment already exist and can be leveraged for microfluidics high throughput alignment and bonding.

Cost-wise, the price of PDMS used for injection molding and for soft lithography is comparable at approximately 40 \$ per kg. This price being higher than that of most thermoplastics, it is not envisioned that PDMS would ever replace the latter in standard cell culture. However, its unique oxygen permeability combined with excellent optical properties and elastic behavior is currently irreplaceable in specialized applications like organ-on-chip and 3D biology in general. Moreover, while thermoplastics such as PMMA or PC, commonly used in standard medical devices, are significantly cheaper (5 \$ per kg), it is important to point out that the use-case and capabilities of such thermoplastics are limited. For example, they are suitable for part pieces with large and uncomplicated design features and are often unable to replicate high-aspect micro-features required

by microfluidic devices [126]. To our knowledge, there exists two types of thermoplastics, notably Cyclo Olefin Polymer (COP) and Cyclo Olefin Copolymer (COC), that have high precision molding abilities, but their cost is on the same order as the one of PDMS. Therefore, PDMS retains unmatched advantages, and the potential for industrial production enabled by injection molding may encourage its sustained use through the commercialization of microfluidic devices.

5.7 Conclusion

The reluctance in the commercial use of PDMS microfluidic devices is currently driven by the lack of standardization and low throughput of conventional production methods, combined with the established belief in the microfluidics community that upscaling efforts inevitably require material changes. This paper contradicts this common belief by showing that PDMS chips can be mass-produced using liquid silicone rubber injection molding techniques, thus providing a direct, well-proven path forward for the mass production of PDMS devices. In addition to the volume capacities enabled by this approach, we showed that such a transition allows to significantly reduce variability in material properties without impacting device biocompatibility. These improvements might help reignite interest in PDMS-based microfluidic devices for industrial applications where they are presently disregarded.

5.8 Author contributions

Conceptualization, R.F., A.S-R., E.L., T.G.; data curation, software and visualization, R.F.; formal analysis, R.F., A.A., T.G.; investigation, R.F., H.C., S.R., A.S-R.; resources, E.L., A.A., A-M.M-M., T.G., supervision, A.S-R., T.G.; writing – original draft, R.F., T.G.; writing – review & edition, A.S-R., E.L., A.A., A-M.M-M., T.G.

5.9 Conflicts of interest

E.L. is CEO of, member of the board for and has financial interest in 9397-2677 Québec Inc. (MISO Chip), a company focused on using 3D human tumor explant models to deliver functional, precision oncology solutions for drug development companies and patients. T.G. is member of the board for and has financial interest in the same company. The team has no financial interest in the DBM Group.

5.10 Data availability

The experimental data used to generate Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6 and Fig. S2 are available in the Borealis Dataverse: Mass Fabrication of PDMS Devices by Injection Molding (<https://doi.org/10.5683/SP3/RF2CWZ>, uploaded on 21 November 2024).

5.11 Acknowledgements

Kim Leclerc-Desaulniers and the CRCHUM Animal Facility are acknowledged for their handling of animal procedures. We thank Liliane Meunier and Véronique Barrès of the CRCHUM Molecular Pathology Core Facility for performing IHC staining and slide scanning. We thank Fred Saad, director of prostate cancer research at the CRCHUM, for providing DU145 cells for spheroid formation. We also thank Jennifer Kendall-Dupont and Benjamin Péant from the CRCHUM Microfluidics Core Facility for their help with 3D biology experiments, Christian-Charles Martel from the Laboratoire de Mécanique Multi-échelles (LM2) of Polytechnique Montréal, Matthieu Gauthier of the Centre de recherche sur les systèmes polymères et composites à haute performance (CREPEC), and Claire Cerclé of the Permeability lab of Polytechnique Montréal for valuable technical support. We thank Yann Trovalet, David Reyter, Xue Ying Chua and the DBM Group for their collaboration in the project and in-kind support through the establishment of a production facility to injection-mold PDMS microfluidic chips and samples. We also thank MISO Chip for their collaboration, in-kind support and for financially supporting the project via match funding through a Canada First Research Excellence Fund (TransMedTech Institute) research grant. This research was also funded by Mitacs through the Mitacs Accelerate program and was carried out in part using the CRCHUM Microfluidics Core Facility supported by the TransMedTech Institute and its main financial partner, the Canadian First Research Excellence Fund. We also acknowledge funding from Bourses Canderel in the form of a scholarship granted to R.F. Two figures were created with the help of BioRender: Fig. 1 (BioRender figure ID: l20p241) and Fig. 3 (BioRender figure ID: i05b476).

5.12 Supplementary information

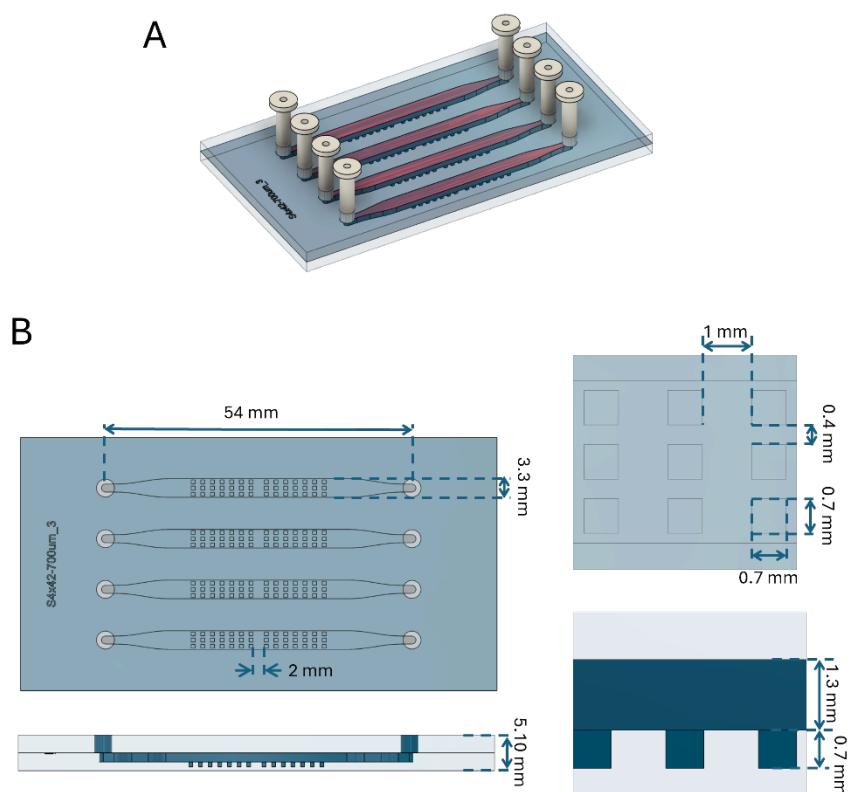


Figure 5.7 Microfluidic device used for spheroid formation. (A) Isometric view of the device with plastic inlets added for device usage. (B) Top and side views with dimensions. The device contains 168 cubic wells with a side length of 0.7 mm, arranged in four channels. Each channel has two arrays of 3 by 7 wells, enabling the formation of 42 spheroids under a unique condition per channel.

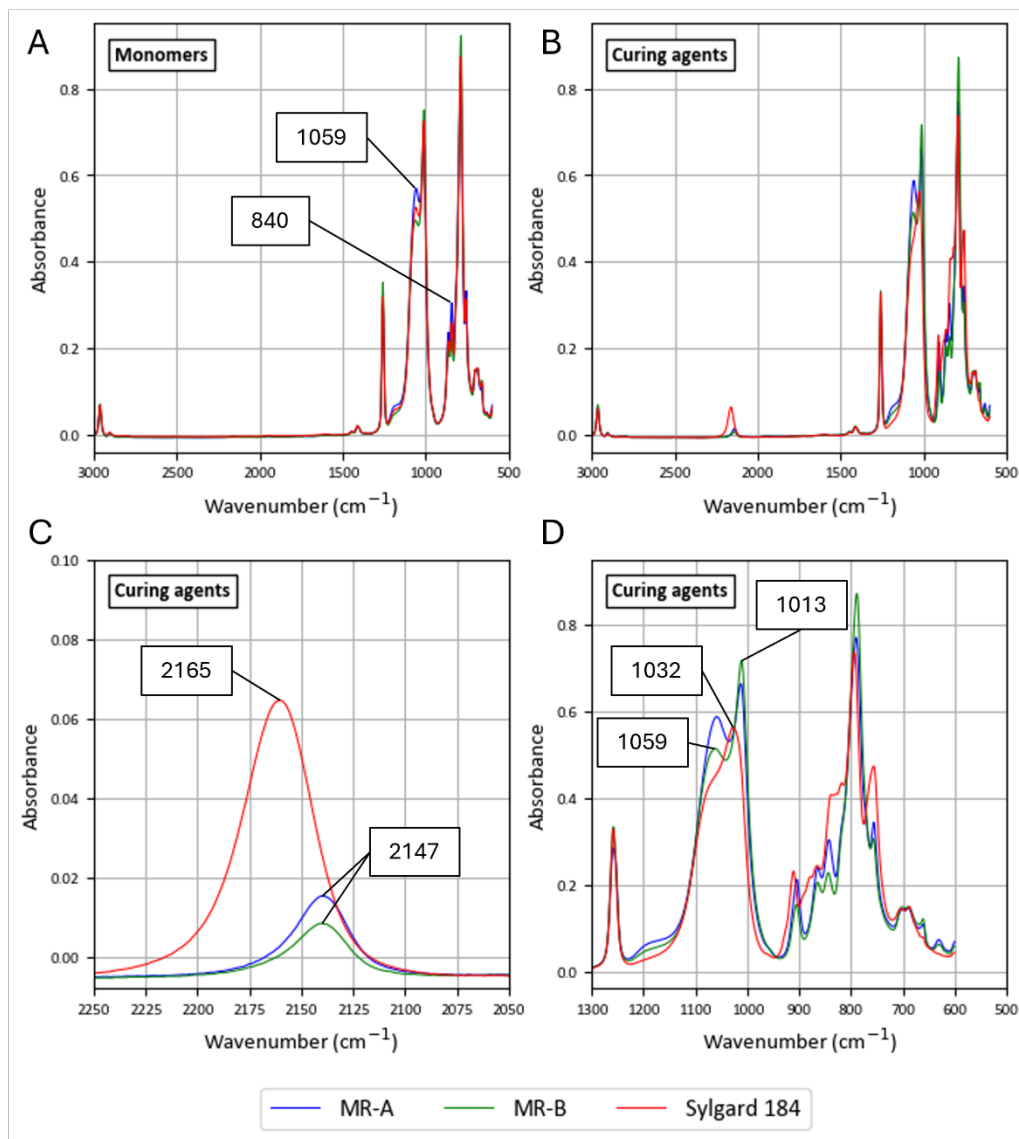


Figure 5.8 FTIR spectra of MR-A, MR-B and Sylgard 184. Overlap of all three (A) monomer and (B) curing agent spectra in the interval from 3000 to 600 cm^{-1} . Focus on (C) 2250 to 2050 cm^{-1} and (D) 1300 to 600 cm^{-1} intervals of the curing agent spectra to highlight the key differences.

CHAPITRE 6 CONCLUSION

Le travail présenté dans ce mémoire est d'un grand intérêt pour la communauté microfluidique. En octobre dernier, j'ai eu l'occasion de le faire connaître dans le cadre de deux congrès portant sur la microfluidique : d'abord avec une présentation orale au symposium CRAFT (Center for Research and Applications in Fluidic Technologies) au Conseil national de recherches du Canada (CNRC) à Boucherville, puis avec une présentation par affiche à la *28th international conference on miniaturization in chemistry and the life sciences* (microTAS 2024, Montréal, Canada), consacrée aux systèmes miniaturisés pour la chimie et les sciences de la vie et tenue au Canada pour la 2^e fois en 28 éditions. Ces événements m'ont particulièrement éclairé quant à l'impact de mon travail. En effet, au cours de nombreuses présentations académiques et industrielles auxquelles j'ai assisté, le message selon lequel travailler avec le PDMS est une avenue à éviter en raison de la nécessité de changer de matériaux lors d'une mise à l'échelle a été répété à maintes reprises. À la suite de mes présentations, plusieurs participants m'ont exprimé leur surprise d'apprendre qu'il est possible de produire des puces en PDMS à l'aide du moulage par injection, approche dont ils n'avaient jamais entendu parler. Cette expérience souligne le caractère novateur de mes travaux et confirme qu'ils répondent à un besoin pour lequel aucune solution n'est encore adoptée dans la communauté microfluidique. La diffusion de mes résultats, par le biais de ces conférences ainsi que par la soumission d'un article à une revue de grand impact, permet ainsi de sensibiliser la communauté au potentiel du PDMS pour la production à grande échelle de dispositifs de qualité commerciale. De plus, fort des résultats concluants sur les propriétés des résines utilisées dans l'industrie automobile caractérisées dans mon projet, et voyant une opportunité d'affaires intéressantes pour combler les besoins importants en moulage par injection dans l'industrie microfluidique, le Groupe DBM a ouvert une nouvelle division, DBM Medix. Cette dernière se dédie spécifiquement au moulage par injection de puces microfluidiques et constitue un impact important du travail présenté dans ce mémoire sur l'industrie québécoise. L'existence d'une entreprise spécialisée dans ce domaine facilitera ainsi les démarches de ceux qui souhaitent explorer cette voie, rendant cette dernière plus accessible. Ainsi, ce projet contribue à faire de la commercialisation de puces en PDMS une option envisageable. Ce changement de perspective pourrait ouvrir de nouvelles avenues dans le développement des technologies microfluidiques, et participer à leur adoption plus généralisée, notamment dans le monde médical.

Mon travail présente également un grand intérêt pour le domaine de l'oncologie. En mai 2024, j'ai pu présenter ma recherche sous forme de présentation orale à la Journée scientifique de l'Institut du cancer de Montréal (ICM), événement visant à mettre en lumière les travaux de recherche en oncologie des membres de l'ICM. Lors de cet événement, j'ai remporté le prix de la meilleure présentation parmi les étudiants à la maîtrise, illustrant l'intérêt portée par cette communauté. Tel que mentionné dans ce mémoire, le cancer implique des enjeux sociétaux majeurs, et le développement thérapeutique est actuellement en grand besoin de percées technologiques qui amélioreront la qualité des soins et la personnalisation des traitements. Le modèle MDT, au cœur de mon projet, est une approche novatrice qui contribue aux efforts pour répondre à ces besoins. La diffusion de mes résultats au sein de la communauté scientifique en oncologie encourage l'utilisation de ce modèle, permettant de profiter de ses avantages, soient la culture d'explants tumoraux 3D avec une meilleure viabilité et à plus haut débit comparativement aux approches conventionnelles. Mon travail a permis de démontrer que cette culture peut désormais se faire sur un dispositif de qualité commerciale, offrant une meilleure stabilité au niveau de ses propriétés physicochimiques. Par ailleurs, grâce à ce projet, la compagnie MISO Chip est à présent capable de produire des puces à MDT à grand volume de manière rentable, augmentant ainsi leur capacité de distribution. Cette avancée favorise la dissémination de cette technologie et son adoption plus large dans la recherche en oncologie.

Concernant les limites de mon projet, la première fait référence au fait que le moulage par injection du PDMS ne résout pas tous les problèmes associés à ce matériau. Le PDMS injecté reste un matériau poreux, et donc sujet à des altérations de concentration due à l'évaporation et à l'absorption. Dans la discussion de l'article (section 5.6), il est mentionné que la répétabilité de la production offerte par le moulage par injection réduit la variabilité de la perméabilité aux gaz et de la solubilité des petites molécules du PDMS, et que ces résultats impliquent une précision accrue dans une expérience de contrôle visant à prédire les altérations de concentration causées par l'évaporation et l'absorption. Cependant, une telle expérience n'a pas été réalisée. Une voie de recherche intéressante consisterait donc à mesurer l'évolution de la concentration de différentes molécules en solution dans des canaux microfluidiques composés de PDMS injecté et de Sylgard 184, et de comparer la répétabilité des résultats. Cette expérience permettrait d'offrir une justification quantitative à l'argument avancé dans l'article.

Ensuite, tel que mentionné au chapitre 2, la polymérisation du PDMS est un processus qui n'atteint pas 100% de réticulation, laissant des oligomères non-réticulés solubles dans la masse du matériau. Cette caractéristique est une source de préoccupation pour certains, en raison d'une interaction potentielle entre ces oligomères non-réticulés et les analytes présents dans les canaux, advenant leur diffusion dans ceux-ci. Ce phénomène n'a pas été étudié dans mon projet. Il serait donc également pertinent de mesurer quantitativement les oligomères non-réticulés ainsi que leur diffusion, et de comparer la variabilité des résultats pour le PDMS moulé par injection à ceux pour le Sylgard 184 produit par lithographie molle.

Une autre limite importante de mon projet fait référence au fait que le moulage par injection de PDMS ne s'applique pas à tous les dispositifs. Bien que mon projet tente de promouvoir l'utilisation soutenue du PDMS à l'étape de commercialisation d'un dispositif microfluidique en recourant au moulage par injection, cette approche n'est pas la meilleure dans tous les cas. Par exemple, lorsqu'un changement de matériau implique de très faibles risques pour la fonctionnalité d'un dispositif, il peut s'avérer plus avantageux de transférer vers un matériau moins dispendieux, comme les thermoplastiques, variants autour de 2,5 \$/kg versus 40 \$/kg pour le PDMS. De plus, le moulage par injection nécessite un investissement initial important pour mettre en place l'opération. Ainsi, cette approche est viable uniquement lorsque les volumes de ventes projetées justifient cet investissement. Enfin, le moulage par injection contient des contraintes de conception. En plus de celles liées à l'usinage, présentées à la section 2.4.2, cette méthode ne permet pas d'intégrer des structures enfouies, contrairement aux approches par impression 3D. Ainsi, pour un design ne respectant pas ces contraintes, le moulage par injection n'est pas une option envisageable.

Pour terminer, une dernière limite concerne la méthodologie employée pour valider la biocompatibilité des matériaux. Dans ce projet, cette validation a été effectuée par la mesure de marqueurs de prolifération et d'apoptose de tissus cultivés sur la surface des matériaux. Bien que cette méthodologie soit pertinente puisqu'elle permet du même coup de valider la fonctionnalité des puces à MDTs produites par la nouvelle méthode, elle ne représente pas un test de biocompatibilité complet et standard. Il existe en effet plusieurs autres tests plus rigoureux, et des standards de biocompatibilité tels que la norme ISO 10993. Par exemple, des tests de libération des monomères non-réticulés et d'autres petites molécules par lixiviation auraient pu être effectués. Les extraits auraient ensuite pu être séparés et isolés, par exemple par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), et l'effet individuel de ceux-ci sur la survie de cellules aurait

pu être évalué grâce à des tests conformes à la norme ISO 10993. L'ajout de cette expérience aurait permis une validation plus complète, précise et rigoureuse de la biocompatibilité des matériaux, en plus d'offrir un point de comparaison supplémentaire entre les matériaux et méthodes de production à l'étude.

En conclusion, l'objectif principal de mon projet d'investiguer le moulage par injection comme méthode de production de puces microfluidiques en PDMS a été atteint. La poursuite de cet objectif a permis de démontrer que cette approche, en plus d'être réalisable, a le potentiel de répondre à plusieurs des défis expliquant l'adoption limitée des technologies microfluidiques dans le monde médical.

RÉFÉRENCES

- [1] « Cancer », World Health Organization. Consulté le: 22 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- [2] « Avis de publication - Statistiques canadiennes sur le cancer 2021 », *Promot. Santé Prév. Mal. Chron. Au Can.*, vol. 41, n° 11, p. 438-438, nov. 2021, doi: 10.24095/hpcdp.41.11.09f.
- [3] C. H. Wong, K. W. Siah, et A. W. Lo, « Estimation of clinical trial success rates and related parameters », *Biostatistics*, vol. 20, n° 2, p. 273-286, avr. 2019, doi: 10.1093/biostatistics/kxx069.
- [4] D. J. Beebe, G. A. Mensing, et G. M. Walker, « Physics and Applications of Microfluidics in Biology », *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 4, n° 1, p. 261-286, août 2002, doi: 10.1146/annurev.bioeng.4.112601.125916.
- [5] S. Regmi, C. Poudel, R. Adhikari, et K. Q. Luo, « Applications of Microfluidics and Organ-on-a-Chip in Cancer Research », *Biosensors*, vol. 12, n° 7, Art. n° 7, juill. 2022, doi: 10.3390/bios12070459.
- [6] X. Mu, W. Zheng, J. Sun, W. Zhang, et X. Jiang, « Microfluidics for Manipulating Cells », *Small*, vol. 9, n° 1, p. 9-21, janv. 2013, doi: 10.1002/smll.201200996.
- [7] E. Berthier, E. W. K. Young, et D. Beebe, « Engineers are from PDMS-land, Biologists are from Polystyrenia », *Lab. Chip*, vol. 12, n° 7, p. 1224, 2012, doi: 10.1039/c2lc20982a.
- [8] D. R. Reyes *et al.*, « Accelerating innovation and commercialization through standardization of microfluidic-based medical devices », *Lab. Chip*, vol. 21, n° 1, p. 9-21, 2021, doi: 10.1039/D0LC00963F.
- [9] J. Ducreé, « Efficient Development of Integrated Lab-On-A-Chip Systems Featuring Operational Robustness and Manufacturability », *Micromachines*, vol. 10, n° 12, p. 886, déc. 2019, doi: 10.3390/mi10120886.
- [10] M. I. Hajam et M. M. Khan, « Microfluidics: a concise review of the history, principles, design, applications, and future outlook », *Biomater. Sci.*, vol. 12, n° 2, p. 218-251, 2024, doi: 10.1039/D3BM01463K.
- [11] G. M. Whitesides, « The origins and the future of microfluidics », *Nature*, vol. 442, n° 7101, p. 368-373, juill. 2006, doi: 10.1038/nature05058.
- [12] D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. A. Schueller, et G. M. Whitesides, « Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane) », *Anal. Chem.*, vol. 70, n° 23, p. 4974-4984, déc. 1998, doi: 10.1021/ac980656z.
- [13] J. C. McDonald *et al.*, « Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane) », *Electrophoresis*, vol. 21, n° 1, p. 27-40, janv. 2000, doi: 10.1002/(SICI)1522-2683(20000101)21:1<27::AID-ELPS27>3.0.CO;2-C.
- [14] B. K. Gale *et al.*, « A Review of Current Methods in Microfluidic Device Fabrication and Future Commercialization Prospects », *Inventions*, vol. 3, n° 3, p. 60, août 2018, doi: 10.3390/inventions3030060.

- [15] N. Mohd Fuad, M. Carve, J. Kaslin, et D. Wlodkowic, « Characterization of 3D-Printed Moulds for Soft Lithography of Millifluidic Devices », *Micromachines*, vol. 9, n° 3, p. 116, mars 2018, doi: 10.3390/mi9030116.
- [16] S. Razavi Bazaz *et al.*, « Rapid Softlithography Using 3D-Printed Molds », *Adv. Mater. Technol.*, vol. 4, n° 10, p. 1900425, oct. 2019, doi: 10.1002/admt.201900425.
- [17] K. Kamei *et al.*, « 3D printing of soft lithography mold for rapid production of polydimethylsiloxane-based microfluidic devices for cell stimulation with concentration gradients », *Biomed. Microdevices*, vol. 17, n° 2, p. 36, avr. 2015, doi: 10.1007/s10544-015-9928-y.
- [18] R. S. Kane, A. D. Stroock, N. Li Jeon, D. E. Ingber, et G. M. Whitesides, « Soft Lithography and Microfluidics », dans *Optical Biosensors*, Elsevier, 2002, p. 571-595. doi: 10.1016/B978-044450974-1/50018-5.
- [19] E. Roy, J.-C. Galas, et T. Veres, « Thermoplastic elastomers for microfluidics: Towards a high-throughput fabrication method of multilayered microfluidic devices », *Lab. Chip*, vol. 11, n° 18, p. 3193, 2011, doi: 10.1039/c1lc20251k.
- [20] M. A. Unger, H.-P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer, et S. R. Quake, « Monolithic Microfabricated Valves and Pumps by Multilayer Soft Lithography », *Science*, vol. 288, n° 5463, p. 113-116, avr. 2000, doi: 10.1126/science.288.5463.113.
- [21] K. Raj M et S. Chakraborty, « PDMS microfluidics: A mini review », *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 137, n° 27, p. 48958, juill. 2020, doi: 10.1002/app.48958.
- [22] B. Patra *et al.*, « Carboplatin sensitivity in epithelial ovarian cancer cell lines: The impact of model systems », *PLOS ONE*, vol. 15, n° 12, p. e0244549, déc. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0244549.
- [23] N. S. G. K. Devaraju et M. A. Unger, « Pressure driven digital logic in PDMS based microfluidic devices fabricated by multilayer soft lithography », *Lab. Chip*, vol. 12, n° 22, p. 4809, 2012, doi: 10.1039/c2lc21155f.
- [24] E. Roy, M. Geissler, J.-C. Galas, et T. Veres, « Prototyping of microfluidic systems using a commercial thermoplastic elastomer », *Microfluid. Nanofluidics*, vol. 11, n° 3, p. 235-244, sept. 2011, doi: 10.1007/s10404-011-0789-2.
- [25] R. Paoli, D. Di Giuseppe, M. Badiola-Mateos, E. Martinelli, M. J. Lopez-Martinez, et J. Samitier, « Rapid Manufacturing of Multilayered Microfluidic Devices for Organ on a Chip Applications », *Sensors*, vol. 21, n° 4, p. 1382, févr. 2021, doi: 10.3390/s21041382.
- [26] C. Maldonado-Codina, « Soft Lens Materials », dans *Contact Lens Practice*, Elsevier, 2024, p. 46-62.e2. doi: 10.1016/B978-0-7020-8427-0.00004-0.
- [27] M. Astolfi *et al.*, « Micro-dissected tumor tissues on chip: an ex vivo method for drug testing and personalized therapy », *Lab. Chip*, vol. 16, n° 2, p. 312-325, 2016, doi: 10.1039/C5LC01108F.
- [28] T. Das *et al.*, « Empirical chemosensitivity testing in a spheroid model of ovarian cancer using a microfluidics-based multiplex platform », *Biomicrofluidics*, vol. 7, n° 1, p. 011805, janv. 2013, doi: 10.1063/1.4774309.

- [29] T. C. Chang, A. M. Mikheev, W. Huynh, R. J. Monnat, R. C. Rostomily, et A. Folch, « Parallel microfluidic chemosensitivity testing on individual slice cultures », *Lab Chip*, vol. 14, n° 23, p. 4540-4551, 2014, doi: 10.1039/C4LC00642A.
- [30] P. M. Van Midwoud, G. M. M. Groothuis, M. T. Merema, et E. Verpoorte, « Microfluidic biochip for the perfusion of precision-cut rat liver slices for metabolism and toxicology studies », *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 105, n° 1, p. 184-194, janv. 2010, doi: 10.1002/bit.22516.
- [31] D. A. Markov, E. M. Lillie, S. P. Garbett, et L. J. McCawley, « Variation in diffusion of gases through PDMS due to plasma surface treatment and storage conditions », *Biomed. Microdevices*, vol. 16, n° 1, p. 91-96, févr. 2014, doi: 10.1007/s10544-013-9808-2.
- [32] B. Wang et P. R. Ogilby, « Activation barriers for oxygen diffusion in polystyrene and polycarbonate glasses: effects of codissolved argon, helium, and nitrogen », *Can. J. Chem.*, vol. 73, n° 11, p. 1831-1840, nov. 1995, doi: 10.1139/v95-226.
- [33] V. S. Dheeradhada, D. R. Johnson, et M. A. Dayananda, « Diffusional analysis of a multiphase oxide scale formed on a Mo-Mo₃Si-Mo₅-SiB₂ alloy », *J. Phase Equilibria Diffus.*, vol. 27, n° 6, p. 582-589, déc. 2006, doi: 10.1007/BF02736559.
- [34] Y. Kaptan, Ö. Pekcan, E. Arca, et O. Güven, « Determination of diffusion coefficient of oxygen into polymers by using electron spin resonance spectroscopy. I. Poly(methyl methacrylate) », *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 37, n° 9, p. 2577-2585, mai 1989, doi: 10.1002/app.1989.070370910.
- [35] N. T. S. Evans et T. H. Quinton, « Permeability and diffusion coefficient of oxygen in membranes for oxygen electrodes », *Respir. Physiol.*, vol. 35, n° 1, p. 89-99, oct. 1978, doi: 10.1016/0034-5687(78)90044-0.
- [36] G. C. Randall et P. S. Doyle, « Permeation-driven flow in poly(dimethylsiloxane) microfluidic devices », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 102, n° 31, p. 10813-10818, août 2005, doi: 10.1073/pnas.0503287102.
- [37] N. Scott Lynn, C. S. Henry, et D. S. Dandy, « Evaporation from microreservoirs », *Lab. Chip*, vol. 9, n° 12, p. 1780, 2009, doi: 10.1039/b900556k.
- [38] E. Berthier, J. Warrick, H. Yu, et D. J. Beebe, « Managing evaporation for more robust microscale assays : Part 2. Characterization of convection and diffusion for cell biology », *Lab. Chip*, vol. 8, n° 6, p. 860, 2008, doi: 10.1039/b717423c.
- [39] M. W. Toepke et D. J. Beebe, « PDMS absorption of small molecules and consequences in microfluidic applications », *Lab. Chip*, vol. 6, n° 12, p. 1484, 2006, doi: 10.1039/b612140c.
- [40] H. Becker, « Polymer microfluidic devices », *Talanta*, vol. 56, n° 2, p. 267-287, févr. 2002, doi: 10.1016/S0039-9140(01)00594-X.
- [41] J. D. Wang, N. J. Douville, S. Takayama, et M. ElSayed, « Quantitative Analysis of Molecular Absorption into PDMS Microfluidic Channels », *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 40, n° 9, p. 1862-1873, sept. 2012, doi: 10.1007/s10439-012-0562-z.
- [42] K. J. Regehr *et al.*, « Biological implications of polydimethylsiloxane-based microfluidic cell culture », *Lab. Chip*, vol. 9, n° 15, p. 2132, 2009, doi: 10.1039/b903043c.
- [43] X. Su, E. W. K. Young, H. A. S. Underkofler, T. J. Kamp, C. T. January, et D. J. Beebe, « Microfluidic Cell Culture and Its Application in High-Throughput Drug Screening:

- Cardiotoxicity Assay for hERG Channels », *SLAS Discov.*, vol. 16, n° 1, p. 101-111, janv. 2011, doi: 10.1177/1087057110386218.
- [44] I. Miranda *et al.*, « Properties and Applications of PDMS for Biomedical Engineering: A Review », *J. Funct. Biomater.*, vol. 13, n° 1, p. 2, déc. 2021, doi: 10.3390/jfb13010002.
- [45] S. Kuddannaya, J. Bao, et Y. Zhang, « Enhanced *In Vitro* Biocompatibility of Chemically Modified Poly(dimethylsiloxane) Surfaces for Stable Adhesion and Long-term Investigation of Brain Cerebral Cortex Cells », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, n° 45, p. 25529-25538, nov. 2015, doi: 10.1021/acsami.5b09032.
- [46] S. Kim *et al.*, « Evaluation of the biocompatibility of a coating material for an implantable bladder volume sensor », *Kaohsiung J. Med. Sci.*, vol. 28, n° 3, p. 123-129, mars 2012, doi: 10.1016/j.kjms.2011.10.016.
- [47] R. Carta *et al.*, « Design and implementation of advanced systems in a flexible-stretchable technology for biomedical applications », *Sens. Actuators Phys.*, vol. 156, n° 1, p. 79-87, nov. 2009, doi: 10.1016/j.sna.2009.03.012.
- [48] M. McNeely, « Sample Processing with Hydrophobic Microfluidics », *J. Assoc. Lab. Autom.*, vol. 4, n° 4, p. 30-33, sept. 1999, doi: 10.1016/S1535-5535(04)00016-4.
- [49] B. Dai, Q. Wang, W. Yan, Z. Li, et W. Guo, « Synergistic compatibilization and reinforcement of HDPE/wood flour composites », *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 133, n° 8, p. app.42958, févr. 2016, doi: 10.1002/app.42958.
- [50] F. Akther, S. B. Yakob, N.-T. Nguyen, et H. T. Ta, « Surface Modification Techniques for Endothelial Cell Seeding in PDMS Microfluidic Devices », *Biosensors*, vol. 10, n° 11, p. 182, nov. 2020, doi: 10.3390/bios10110182.
- [51] S. H. Tan, N.-T. Nguyen, Y. C. Chua, et T. G. Kang, « Oxygen plasma treatment for reducing hydrophobicity of a sealed polydimethylsiloxane microchannel », *Biomicrofluidics*, vol. 4, n° 3, p. 032204, sept. 2010, doi: 10.1063/1.3466882.
- [52] J. Zhou, D. A. Khodakov, A. V. Ellis, et N. H. Voelcker, « Surface modification for PDMS-based microfluidic devices », *ELECTROPHORESIS*, vol. 33, n° 1, p. 89-104, janv. 2012, doi: 10.1002/elps.201100482.
- [53] T. Trantidou, Y. Elani, E. Parsons, et O. Ces, « Hydrophilic surface modification of PDMS for droplet microfluidics using a simple, quick, and robust method via PVA deposition », *Microsyst. Nanoeng.*, vol. 3, n° 1, p. 16091, avr. 2017, doi: 10.1038/micronano.2016.91.
- [54] J. Zhou, A. V. Ellis, et N. H. Voelcker, « Recent developments in PDMS surface modification for microfluidic devices », *ELECTROPHORESIS*, vol. 31, n° 1, p. 2-16, janv. 2010, doi: 10.1002/elps.200900475.
- [55] I. D. Johnston, D. K. McCluskey, C. K. L. Tan, et M. C. Tracey, « Mechanical characterization of bulk Sylgard 184 for microfluidics and microengineering », *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 24, n° 3, p. 035017, mars 2014, doi: 10.1088/0960-1317/24/3/035017.
- [56] K. Ren, Y. Chen, et H. Wu, « New materials for microfluidics in biology », *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 25, p. 78-85, févr. 2014, doi: 10.1016/j.copbio.2013.09.004.

- [57] G. M. Whitesides et A. D. Stroock, « Flexible Methods for Microfluidics », *Phys. Today*, vol. 54, n° 6, p. 42-48, juin 2001, doi: 10.1063/1.1387591.
- [58] I. D. Johnston, M. C. Tracey, J. B. Davis, et C. K. L. Tan, « Micro throttle pump employing displacement amplification in an elastomeric substrate », *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 15, n° 10, p. 1831-1839, oct. 2005, doi: 10.1088/0960-1317/15/10/007.
- [59] X. Wu, S.-H. Kim, C.-H. Ji, et M. G. Allen, « A solid hydraulically amplified piezoelectric microvalve », *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 21, n° 9, p. 095003, sept. 2011, doi: 10.1088/0960-1317/21/9/095003.
- [60] J. Zhu, J. Shang, D. Brenner, et Q. Lin, « An elastomeric polymer microchip for mechanically tunable cell trapping », dans *2013 IEEE 26th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)*, Taipei, Taiwan: IEEE, janv. 2013, p. 945-948. doi: 10.1109/MEMSYS.2013.6474401.
- [61] T. Gervais, J. El-Ali, A. Günther, et K. F. Jensen, « Flow-induced deformation of shallow microfluidic channels », *Lab. Chip*, vol. 6, n° 4, p. 500, 2006, doi: 10.1039/b513524a.
- [62] R. Joseph Fortenbaugh et B. J. Lear, « On-demand curing of polydimethylsiloxane (PDMS) using the photothermal effect of gold nanoparticles », *Nanoscale*, vol. 9, n° 25, p. 8555-8559, 2017, doi: 10.1039/C7NR01423F.
- [63] K. Izdihar, H. R. Abdul Razak, N. Supion, M. K. A. Karim, N. H. Osman, et M. Norkhairunnisa, « Structural, Mechanical, and Dielectric Properties of Polydimethylsiloxane and Silicone Elastomer for the Fabrication of Clinical-Grade Kidney Phantom », *Appl. Sci.*, vol. 11, n° 3, p. 1172, janv. 2021, doi: 10.3390/app11031172.
- [64] N. Tucher, « Analysis of photonic structures for silicon solar cells », 2016.
- [65] A. C. C. Esteves *et al.*, « Influence of cross-linker concentration on the cross-linking of PDMS and the network structures formed », *Polymer*, vol. 50, n° 16, p. 3955-3966, juill. 2009, doi: 10.1016/j.polymer.2009.06.022.
- [66] T. Hong *et al.*, « Effect of Cross-Link Density on Carbon Dioxide Separation in Polydimethylsiloxane-Norbornene Membranes », *ChemSusChem*, vol. 8, n° 21, p. 3595-3604, nov. 2015, doi: 10.1002/cssc.201500903.
- [67] N. Stafie, D. F. Stamatialis, et M. Wessling, « Effect of PDMS cross-linking degree on the permeation performance of PAN/PDMS composite nanofiltration membranes », *Sep. Purif. Technol.*, vol. 45, n° 3, p. 220-231, oct. 2005, doi: 10.1016/j.seppur.2005.04.001.
- [68] P. Tin, « Effects of cross-linking modification on gas separation performance of Matrimid membranes », *J. Membr. Sci.*, vol. 225, n° 1-2, p. 77-90, nov. 2003, doi: 10.1016/j.memsci.2003.08.005.
- [69] K. Song, N.-K. Cho, K. Park, et C.-S. Kim, « Investigating Mechanical Behaviours of PDMS Films under Cyclic Loading », *Polymers*, vol. 14, n° 12, p. 2373, juin 2022, doi: 10.3390/polym14122373.
- [70] I. Teixeira *et al.*, « Polydimethylsiloxane mechanical properties: A systematic review », *AIMS Mater. Sci.*, vol. 8, n° 6, p. 952-973, 2021, doi: 10.3934/matersci.2021058.

- [71] R. Ariati, F. Sales, A. Souza, R. A. Lima, et J. Ribeiro, « Polydimethylsiloxane Composites Characterization and Its Applications: A Review », *Polymers*, vol. 13, n° 23, p. 4258, déc. 2021, doi: 10.3390/polym13234258.
- [72] A. S. Cruz-Félix, A. Santiago-Alvarado, J. Márquez-García, et J. González-García, « PDMS samples characterization with variations of synthesis parameters for tunable optics applications », *Heliyon*, vol. 5, n° 12, p. e03064, déc. 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03064.
- [73] H. Hillborg, M. Sandelin, et U. W. Gedde, « Hydrophobic recovery of polydimethylsiloxane after exposure to partial discharges as a function of crosslink density », *Polymer*, vol. 42, n° 17, p. 7349-7362, août 2001, doi: 10.1016/S0032-3861(01)00202-6.
- [74] Y. Akiyama, « Influence of poly(N-isopropylacrylamide) (PIPAAm) graft density on properties of PIPAAm grafted poly(dimethylsiloxane) surfaces and their stability », *Heliyon*, vol. 7, n° 3, p. e06520, mars 2021, doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06520.
- [75] R. N. Wenzel, « RESISTANCE OF SOLID SURFACES TO WETTING BY WATER », *Ind. Eng. Chem.*, vol. 28, n° 8, p. 988-994, août 1936, doi: 10.1021/ie50320a024.
- [76] A. B. D. Cassie et S. Baxter, « Wettability of porous surfaces », *Trans. Faraday Soc.*, vol. 40, p. 546, 1944, doi: 10.1039/tf9444000546.
- [77] H. Varner et T. Cohen, « Explaining the spread in measurement of PDMS elastic properties: influence of test method and curing protocol », *Soft Matter*, p. 10.1039.D4SM00573B, 2024, doi: 10.1039/D4SM00573B.
- [78] K. Ren, J. Zhou, et H. Wu, « Materials for Microfluidic Chip Fabrication », *Acc. Chem. Res.*, vol. 46, n° 11, p. 2396-2406, nov. 2013, doi: 10.1021/ar300314s.
- [79] P. N. Nge, C. I. Rogers, et A. T. Woolley, « Advances in Microfluidic Materials, Functions, Integration, and Applications », *Chem. Rev.*, vol. 113, n° 4, p. 2550-2583, avr. 2013, doi: 10.1021/cr300337x.
- [80] X. Zhang et S. J. Haswell, « Materials Matter in Microfluidic Devices », *MRS Bull.*, vol. 31, n° 2, p. 95-99, févr. 2006, doi: 10.1557/mrs2006.22.
- [81] S. Banik *et al.*, « The revolution of PDMS microfluidics in cellular biology », *Crit. Rev. Biotechnol.*, vol. 43, n° 3, p. 465-483, avr. 2023, doi: 10.1080/07388551.2022.2034733.
- [82] A. Shakeri, S. Khan, et T. F. Didar, « Conventional and emerging strategies for the fabrication and functionalization of PDMS-based microfluidic devices », *Lab. Chip*, vol. 21, n° 16, p. 3053-3075, 2021, doi: 10.1039/D1LC00288K.
- [83] « PDMS for Microfluidics: Limitations and Alternatives ». Consulté le: 21 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://micronit.com/expertise/manufacturing-expertise/pdms-for-microfluidics>
- [84] J. M. Rossi et S. L. Diamond, « Scalable manufacture of a disposable, storage-stable eight-channel microfluidic device for rapid testing of platelet, coagulation, and drug function under whole blood flow », *Biomicrofluidics*, vol. 14, n° 5, p. 054103, sept. 2020, doi: 10.1063/5.0023312.

- [85] SyBridge Technologies, « A Brief History of Plastic Injection Molding ». Consulté le: 27 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://sybridge.com/a-brief-history-of-plastic-injection-molding/>
- [86] « Liquid Silicone Rubber Market Size Report, 2021-2026 ». Consulté le: 27 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.industryarc.com/Report/18567/liquid-silicone-rubber-market.html>
- [87] « Which Automotive Parts Are Made Using Liquid Silicone Rubber Molding? » Consulté le: 27 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.nicerapid.com/blog/which-automotive-parts-are-made-using-liquid-silicone-rubber-molding/>
- [88] « Bottle Nipples - LSR Silicone Nipples and Baby Bottles Nipple ». Consulté le: 27 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.feedingbottles.com/feeding-bottle-nipples.html>
- [89] F. Woitschach *et al.*, « In Vitro Study of the Interaction of Innate Immune Cells with Liquid Silicone Rubber Coated with Zwitterionic Methyl Methacrylate and Thermoplastic Polyurethanes », *Materials*, vol. 14, n° 20, p. 5972, oct. 2021, doi: 10.3390/ma14205972.
- [90] G. Rajesh *et al.*, « Liquid Silicone Rubber Vulcanizates: Network Structure - Property Relationship and Cure Kinetics », *Polym. Polym. Compos.*, vol. 18, n° 9, p. 477-488, nov. 2010, doi: 10.1177/096739111001800902.
- [91] E. Delebecq et F. Ganachaud, « Looking over Liquid Silicone Rubbers: (1) Network Topology vs Chemical Formulations », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 4, n° 7, p. 3340-3352, juill. 2012, doi: 10.1021/am300502r.
- [92] M. Bont, C. Barry, et S. Johnston, « A review of liquid silicone rubber injection molding: Process variables and process modeling », *Polym. Eng. Sci.*, vol. 61, n° 2, p. 331-347, févr. 2021, doi: 10.1002/pen.25618.
- [93] « SILASTIC™ MS-1002 Moldable Silicone A&B Kit | Dow Inc. » Consulté le: 27 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.dow.com/en-us/pdp.silastic-ms-1002-moldable-silicone-ab-kit.04093229z.html#tech-content>
- [94] « Liquid Silicone Rubber (LSR) - Wacker Chemie AG ». Consulté le: 27 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.wacker.com/cms/en-us/products/product-groups/silicone-rubber/liquid-silicone-rubber.html>
- [95] « Liquid Silicone Rubber (LSR) Molding Machines | Negri Bossi ». Consulté le: 28 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.negribossi.com/en-us/technologies/lsr/>
- [96] « What Is Switchover Position in Injection Molding? - Baiwe Molding ». Consulté le: 28 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://baiwemolding.com/switchover-position-in-injection-molding/>
- [97] « Draft Angle Guidelines for Injection Molding ». Consulté le: 28 octobre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://www.protolabs.com/resources/design-tips/improving-part-moldability-with-draft/>
- [98] O. Urzì *et al.*, « Three-Dimensional Cell Cultures: The Bridge between In Vitro and In Vivo Models », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, n° 15, p. 12046, juill. 2023, doi: 10.3390/ijms241512046.
- [99] K. M. Yamada et E. Cukierman, « Modeling Tissue Morphogenesis and Cancer in 3D », *Cell*, vol. 130, n° 4, p. 601-610, août 2007, doi: 10.1016/j.cell.2007.08.006.

- [100] M. R. Ebrahimkhani, C. L. Young, D. A. Lauffenburger, L. G. Griffith, et J. T. Borenstein, « Approaches to in vitro tissue regeneration with application for human disease modeling and drug development », *Drug Discov. Today*, vol. 19, n° 6, p. 754-762, juin 2014, doi: 10.1016/j.drudis.2014.04.017.
- [101] A. Slanzi, G. Iannoto, B. Rossi, E. Zenaro, et G. Constantin, « In vitro Models of Neurodegenerative Diseases », *Front. Cell Dev. Biol.*, vol. 8, p. 328, mai 2020, doi: 10.3389/fcell.2020.00328.
- [102] A. Nyga, U. Cheema, et M. Loizidou, « 3D tumour models: novel in vitro approaches to cancer studies », *J. Cell Commun. Signal.*, vol. 5, n° 3, p. 239-248, août 2011, doi: 10.1007/s12079-011-0132-4.
- [103] L. AlHasan *et al.*, « Surface acoustic streaming in microfluidic system for rapid multicellular tumor spheroids generation », présenté à SPIE Micro+Nano Materials, Devices, and Applications, J. Friend et H. H. Tan, Éd., Melbourne, Victoria, Australia, déc. 2013, p. 89235C. doi: 10.1117/12.2034050.
- [104] M. Zanoni *et al.*, « 3D tumor spheroid models for in vitro therapeutic screening: a systematic approach to enhance the biological relevance of data obtained », *Sci. Rep.*, vol. 6, n° 1, p. 19103, janv. 2016, doi: 10.1038/srep19103.
- [105] B. Majumder *et al.*, « Predicting clinical response to anticancer drugs using an ex vivo platform that captures tumour heterogeneity », *Nat. Commun.*, vol. 6, n° 1, p. 6169, févr. 2015, doi: 10.1038/ncomms7169.
- [106] V. Vaira *et al.*, « Preclinical model of organotypic culture for pharmacodynamic profiling of human tumors », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 107, n° 18, p. 8352-8356, mai 2010, doi: 10.1073/pnas.0907676107.
- [107] I. C. McLean, L. A. Schwerdtfeger, S. A. Tobet, et C. S. Henry, « Powering *ex vivo* tissue models in microfluidic systems », *Lab. Chip*, vol. 18, n° 10, p. 1399-1410, 2018, doi: 10.1039/C8LC00241J.
- [108] A. Sontheimer-Phelps, B. A. Hassell, et D. E. Ingber, « Modelling cancer in microfluidic human organs-on-chips », *Nat. Rev. Cancer*, vol. 19, n° 2, p. 65-81, févr. 2019, doi: 10.1038/s41568-018-0104-6.
- [109] L. A. Loeb, K. R. Loeb, et J. P. Anderson, « Multiple mutations and cancer », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 100, n° 3, p. 776-781, févr. 2003, doi: 10.1073/pnas.0334858100.
- [110] N. C. Turner et J. S. Reis-Filho, « Genetic heterogeneity and cancer drug resistance », *Lancet Oncol.*, vol. 13, n° 4, p. e178-e185, avr. 2012, doi: 10.1016/S1470-2045(11)70335-7.
- [111] D. Wu *et al.*, « Roles of tumor heterogeneity in the development of drug resistance: A call for precision therapy », *Semin. Cancer Biol.*, vol. 42, p. 13-19, févr. 2017, doi: 10.1016/j.semcancer.2016.11.006.
- [112] K. Khalaf, D. Hana, J. T.-T. Chou, C. Singh, A. Mackiewicz, et M. Kaczmarek, « Aspects of the Tumor Microenvironment Involved in Immune Resistance and Drug Resistance », *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 656364, mai 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.656364.

- [113] Y. Ni *et al.*, « The Role of Tumor-Stroma Interactions in Drug Resistance Within Tumor Microenvironment », *Front. Cell Dev. Biol.*, vol. 9, p. 637675, mai 2021, doi: 10.3389/fcell.2021.637675.
- [114] D. Dorrigiv *et al.*, « Microdissected Tissue vs Tissue Slices—A Comparative Study of Tumor Explant Models Cultured On-Chip and Off-Chip », *Cancers*, vol. 13, n° 16, p. 4208, août 2021, doi: 10.3390/cancers13164208.
- [115] N. Rousset, F. Monet, et T. Gervais, « Simulation-assisted design of microfluidic sample traps for optimal trapping and culture of non-adherent single cells, tissues, and spheroids », *Sci. Rep.*, vol. 7, n° 1, p. 245, mars 2017, doi: 10.1038/s41598-017-00229-1.
- [116] K. Simeone *et al.*, « Paraffin-embedding lithography and micro-dissected tissue micro-arrays: tools for biological and pharmacological analysis of *ex vivo* solid tumors », *Lab. Chip*, vol. 19, n° 4, p. 693-705, 2019, doi: 10.1039/C8LC00982A.
- [117] « Spectral Database for Organic Compounds ». Consulté le: 6 novembre 2024. [En ligne]. Disponible à: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/>
- [118] W. Xing, M. Yin, Q. Lv, Y. Hu, C. Liu, et J. Zhang, « Oxygen Solubility, Diffusion Coefficient, and Solution Viscosity », dans *Rotating Electrode Methods and Oxygen Reduction Electrocatalysts*, Elsevier, 2014, p. 1-31. doi: 10.1016/B978-0-444-63278-4.00001-X.
- [119] C.-C. Kuo, Q.-Z. Tasi, et S.-H. Hunag, « Development of an Epoxy-Based Rapid Tool with Low Vulcanization Energy Consumption Channels for Liquid Silicone Rubber Injection Molding », *Polymers*, vol. 14, n° 21, p. 4534, oct. 2022, doi: 10.3390/polym14214534.
- [120] H. Chang, S. Lu, Y. Sun, et R. Wang, « Liquid Silicone Rubber Headlamp Lens Injection Molding Process Optimization Based on Tie Bar Elongation and NSGA III », *Polymers*, vol. 15, n° 21, p. 4278, oct. 2023, doi: 10.3390/polym15214278.
- [121] R. Helling, P. Seifried, D. Fritzsche, et T. J. Simat, « Characterisation and migration properties of silicone materials during typical long-term commercial and household use applications: a combined case study », *Food Addit. Contam. Part A*, vol. 29, n° 9, p. 1489-1500, sept. 2012, doi: 10.1080/19440049.2012.694374.
- [122] F. Schneider, T. Fellner, J. Wilde, et U. Wallrabe, « Mechanical properties of silicones for MEMS », *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 18, n° 6, p. 065008, juin 2008, doi: 10.1088/0960-1317/18/6/065008.
- [123] D. M. Provencher *et al.*, « CHARACTERIZATION OF FOUR NOVEL EPITHELIAL OVARIAN CANCER CELL LINES », *Vitro Cell. Dev. Biol. - Anim.*, vol. 36, n° 6, p. 357, 2000, doi: 10.1290/1071-2690(2000)036<0357:COFNEO>2.0.CO;2.
- [124] S. Kuchler, M. Abdel-Mottaleb, A. Lamprecht, M. R. Radowski, R. Haag, et M. Schäfer-Korting, « Influence of nanocarrier type and size on skin delivery of hydrophilic agents », *Int. J. Pharm.*, vol. 377, n° 1-2, p. 169-172, juill. 2009, doi: 10.1016/j.ijpharm.2009.04.046.
- [125] C.-W. Tsao et D. L. DeVoe, « Bonding of thermoplastic polymer microfluidics », *Microfluid. Nanofluidics*, vol. 6, n° 1, p. 1-16, janv. 2009, doi: 10.1007/s10404-008-0361-x.
- [126] A.-C. Liou et R.-H. Chen, « Injection molding of polymer micro- and sub-micron structures with high-aspect ratios », *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, vol. 28, n° 11-12, p. 1097-1103, mai 2006, doi: 10.1007/s00170-004-2455-2.

ANNEXE A CALCUL DE LA PERMÉABILITÉ À L'OXYGÈNE DE L'EAU

Pour calculer la perméabilité à l'oxygène de l'eau (P_{eau}), on utilise le coefficient de diffusion (D_{eau}) et la solubilité (S_{eau}) de l'oxygène dans l'eau :

- $D_{eau} = 2 \times 10^{-5} \frac{cm^2}{s}$ [118]
- $S_{eau} = 1.22 \times 10^{-3} \frac{mol}{dm^3}$ à *CNTP* [118]

On peut maintenant utiliser l'équation 2.1 :

$$P_{eau} = D_{eau} \times S_{eau}$$

$$P_{eau} = (2 \times 10^{-5}) \times (1.22 \times 10^{-3}) \frac{cm^2 \cdot mol}{dm^3 \cdot s}$$

Pour convertir en $\frac{cc \cdot \mu m}{m^2 \cdot day \cdot atm}$, on utilise les conversions suivantes :

- $1 cm^2 = 1 \times 10^{-4} m^2$
- $1 dm^3 = 1 \times 10^{-3} m^3$
- $1 mol_{O_2} = 2.24 \times 10^4 cc$ à *CNTP* (1 atm)
- $1 s = 1.157 \times 10^{-5} day$

On obtient donc :

$$P_{eau} = \frac{(2 \times 10^{-5}) \times (1.22 \times 10^{-3}) \times (1 \times 10^{-4}) \times (2.24 \times 10^4)}{(1 \times 10^{-3}) \times (1.157 \times 10^{-5})} \frac{cc \cdot m}{m^2 \cdot day \cdot atm}$$

En multipliant par 10^6 pour convertir les m en μm , on obtient :

$$P_{eau} = 4.72 \times 10^6 \frac{cc \cdot \mu m}{m^2 \cdot day \cdot atm}$$