

Programme & résumés

Workshop Microfluidique en Aquitaine - 13 mai 2022 - ENSCBP

08h30		Accueil
08h50		Introduction
09h00	Douillet Camille	Etude de la biomécanique de l'auto-organisation de cystes intestinaux avec la Technologie des Capsules Cellulaires
09h15	Dupin Isabelle	Building a 3D "bronchioid" to model Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)
09h30	Martin Anouk	Auto-assemblage de polymersomes de PEG-b-PTMC assisté par microfluidique : paramètres décisifs et contrôle de taille
10h00	Vilquin Alexandre	Taylor dispersion of nanoparticles in near-surface flows
10h15	Drochon Agnes	Cells in confined flows: some biomedical applications
10h30	Zollo Margaux	Switchable Hydrophilicity Solvents (SHSs): applications in microfluidics for chemical engineering
		PAUSE
11h00	Delville Jean-Pierre	Design and modelling of Metal@Titanium Oxide Nano-Heterodimers synthesized by an optofluidic method
11h15	Puginier Emilie	Continuous monitoring in-vivo with an islet-based microfluidic biosensor
11h30	Sandre Olivier	Tuning Size and Morphology of mPEG-b-poly(HPMA-Bz) Copolymer Self-Assemblies Using Microfluidics
11h45	Delabre Ulysse	Déformation optique de vésicules en microfluidique
12h00	Garcia Marine	Imagerie multiphysique de piles à combustible microfluidiques
12h15	Nalatamby Dharshana	In-situ microviscosity measurements in microfluidic chip using fluorescent molecular rotors
		BUFFET
13h30	Fuentes Olga	Micromixers: Applications and Scaling-up using Life Cycle Assessment (LCA)
13h45	Brunet Thomas	Diffusion multiple résonante des ultrasons dans des suspensions calibrées et contrastées
14h00	Erriguible Arnaud	Précipitation en milieu fluide supercritique dans des microréacteurs : expériences in situ et simulations haute performance
14h15	Krause Kevin	Reaction enthalpy measurement in an acid-base microfluidic reactor using infrared thermospectroscopy
14h30	Garcia L Fernanda	Development of an "Intestine-On-chip" to study infections by opportunistic pathogenic yeast Candida
		PAUSE
15h15	Gillard Melanie	Criblage haut-débit de nouveaux peptides ciblant le ribosome bactérien par bio-microfluidique
15h30	Pucheault Mathieu	Synthèse de molécules d'intérêt en système continu - Plateforme de synthèse multiéchelle
15h45	Debreyne Hubert	Sélection par criblage fonctionnel microfluidique d'aptamères ADN
16h00	Peyret Ariane	Emulseo: formulation solutions for microfluidic applications
16h15	Perro Adeline	Utilisation de la microfluidique pour la séparation d'acides aminés chiraux
16h30		Conclusion

Camille Douillet^{*1}, Adeline Boyreau¹, Laetitia Andrique², Pierre Nassoy¹, Gaëlle Recher¹ ¹Biolmaging & Opto-fluidics, LP2N (Institut d'Optique, CNRS, Université de Bordeaux), rue François Mitterrand -33400 Talence, France

²Plateforme VoxCell, UMS Tbm Core 3427 - US005, 146 rue Léo Saignat - 33076 Bordeaux Cedex *Email: <u>camille.douillet@institutoptique.fr</u>

L'organisation de l'épithélium intestinal favorise l'absorption d'eau et de nutriments tout en protégeant des agents pathogènes extérieurs. In vitro, les cellules intestinales peuvent s'auto-organiser et imiter les villosités qui assurent ces fonctions vitales. En particulier, les invaginations formées in vitro reproduisent les niches où prolifèrent les cellules souches de l'intestin, isolées des parties différenciées et fonctionnelles de l'épithélium. Ces cryptes permettent un renouvellement cellulaire continu et un remplacement régulier de l'épithélium intestinal. Récemment, les modèles in vitro ont montré que la répartition des **tensions mécaniques** générées par les épithéliums intestinaux joue un rôle essentiel dans l'organisation des cryptes^{1,2}. En utilisant la Technologie des Capsules Cellulaires (CCT)³, nous proposons un nouveau modèle pour étudier les liens entre la biomécanique de l'auto-organisation de cellules intestinales en cystes et l'émergence de régions épithéliales prolifératives ou différenciées. Brièvement, des solutions d'alginate, de sorbitol et de suspension cellulaire sont coextrudées à travers une puce microfluidique (Fig. A). Un jet de gouttelettes se forme et la couche externe d'alginate gélifie autour de la suspension cellulaire lors de leur chute en bain de calcium. Les capsules creuses sont ensuite cultivées en bioréacteur et les cellules intestinales s'y auto-organisent en cystes au cours du temps (Fig. B). En ajoutant des microbilles fluorescentes à l'alginate, une approche de « Traction Force Microscopy » est utilisée pour quantifier les déformations induites par les cellules sur la capsule en imagerie 3D. Les organisations et différenciations cellulaires sont respectivement caractérisées à l'aide de sondes « live » sur échantillons vivants et par immunofluorescence. En corrélant les phénotypes cellulaires aux déformations induites, nous avons pour objectif de caractériser la biomécanique de l'organisation épithéliale intestinale in vitro (Fig. C).



Figure : Étude de la biomécanique de l'auto-organisations de cystes intestinaux avec la Technologie des Capsules Cellulaires (CCT). A. Schéma de la technologie de biofabrication CCT. **B.** Schéma et images de l'auto-organisation de cellules intestinales (Caco2) en cystes dans des capsules creuses d'alginate après 1(i), 4 (ii) et 15(iii) jours d'encapsulation. Échelle 200µm. **C.** Schéma de l'analyse biomécanique de l'auto-organisation cellulaire envisagée : étude des corrélations entre les déformations de la capsule d'alginate et les phénotypes cellulaires émergents.

Références :

- 1. Pérez-González, C. et al. Nat. Cell Biol. 23 (2021). 3. Alessandri, K. et al. PNAS. 110, (2013).
- 2. Yang, Q. et al. Nat. Cell Biol. 23, (2021).

Collaborations : Audrey Ferrand (IRSD, INSERM U1220, CHU Purpan, Toulouse) et Florian Bugarin (Institut Clément Ader, CNRS UMR 5312, Université Paul Sabatier Toulouse 3).

Building a 3D "bronchioid" to model Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)

Elise Maurat,¹ Laetitia Andrique,² Pierre Nassoy,³ Gaëlle Recher,³ Isabelle Dupin,^{*1}

¹Centre de Recherche Cardio-thoracique de Bordeaux, U1045 INSERM, Univ-Bordeaux, Bordeaux, France

²Plateform VoxCell, CNRS UME 3427, INSERM US005, Univ-Bordeaux, France ³Laboratoire Photonique, Numérique et Nanosciences, UMR 5298 CNRS, Univ-Bordeaux, France

*Email: isabelle.dupin@u-bordeaux.fr

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a major public health disease characterized by chronic inflammation and remodelling. The lack of physiological relevance of traditional 2D cell culture models, as well as the limited predictibility of tests performed in animal models, strongly limit drug discovery. In the present project, we aim to develop a 3D "bronchioid" model recapitulating the morphological and functional characteristics of distal airway, using an innovative tubuloid cell-based assay and bronchial adult stem cell cells derived from clinical samples. Working with the unique Cellular Capsule Technology [1, 2], we can produce a tubular scaffold made of alginate gel, that will drives the spontaneous self-organisation of lung cells. Our results show that fine tuning the balance between adhesion and contraction is required to obtain a model of bronchiole, with physiologically relevant shape and size. 3D imaging of organoids made of primary bronchial epithelial cells demonstrates the tubular organization and the existence of a lumen, as well as proper differentiation into ciliated and mucous cells. The bronchioid is perfusable, with medium or with air. We provide here a proof of concept that we are able to build of a perfusable bronchioid, with proper mucociliary and contractile functions. Key advantages of our approach, such as the air-liquid interface, the lumen accessibility, and possible assessment of clinically pertinent endpoints, will make our pulmonary organoid a powerful tool for pre-clinical studies.





maximal Z projection

3D view

Fig.1: Confocal imaging of primary bronchial epithelial cells -containing tubule at day 5. Nuclei are gray (DAPI), F-actin is cyan (phalloidin) and E-cadherin is magenta.

References

[1] Alessandrini et al., PNAS. 110:14843-48. 2013

[2] Andrique. et al., Sci Advances. 5:eaau6562, 2019.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the ANR (Grant no: ANR-21-CE18-0001-01, PI: I. DUPIN) for providing financial support to this project.

Auto-assemblage de polymersomes de PEG-*b*-PTMC assisté par microfluidique : paramètres décisifs et contrôle de taille.

Anouk Martin,^{*1} Pierre Lalanne,¹ Amelie Wax¹, Angela Mutschler¹, Sebastien Lecommandoux¹

¹ Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques, Université de Bordeaux, Pessac, France

*Email: anouk.martin@enscbp.fr

Au cours des dernières décennies, les polymersomes ont été proposés comme vecteurs de principes actifs polyvalents, présentant des propriétés uniques. Les polymersomes sont issus de l'auto-assemblage de copolymères amphiphiles, formant une cavité aqueuse interne entourée d'une membrane polymérique, offrant la possibilité d'encapsuler à la fois des principes actifs hydrophiles et hydrophobes¹.

La formulation monodisperse et reproductible de ces vésicules représente un défi que les méthodes d'auto-assemblage classiques (hydratation de film, nanoprécipitation, double émulsion) peinent à mettre en œuvre. Les systèmes microfluidiques représentent quant à eux une alternative permettant la monodispersité, la reproductibilité, la production continue, en opposition aux productions « bulk » qu'imposent les méthodes classiques, mais aussi la production « à façon » d'objets dont la taille peut être modulée et contrôlée sans étape supplémentaire.

De par la très grande diversité de morphologies des puces microfluidiques, de leurs mélangeurs, des paramètres de mélange aisément modulables, la formulation microfluidique de nanoparticules est aujourd'hui présentée comme l'outil adaptable par excellence.

Dans notre étude, nous envisageons le système microfluidique telle une plate-forme tout en un, permettant la formulation de vésicules² de 80 nm à 220 nm, l'encapsulation de principes actifs, mais aussi un outil d'étude de la formation de nos nano-objets, nous permettant d'atteindre une compréhension poussée des mécanismes en jeu^{3,4}.



Schéma de l'autoassemblage de PEG-*b*-PTMC en vésicule, assistée par microfluidique, et une image cryo-TEM des objets obtenus.

References

[1] Matoori, S; Leroux, J-C; Materials Horizons, **2020**, issue 5
[2] Lebleu, C.; Rodrigues, L.; Guigner, J-M.; Brûlet, A.; Garanger, E.; Lecommandoux, S.; *Langmuir* **2019**, 35, 41, 13364–13374
[3] Rolley, N.; Bonnin, M.; Lefebvre, G.; Verron, S.; Bargiel, S.; Robert, L.; Riou, J.; Simonsson, C.; Bizien, T.; Gimel, J.-C.; Benoit, J.-P.; Brotons, G.; Calvignac, B.. *Nanoscale* **2021**, *13* (27), 11899–11912.
[4] Expériences de couplage microfluidique et SAXS/WAXS prévues en collaboration avec Leng, J.; Bentaleb, A.; Bonnin, M.; Lefebvre, G.; Gimel, J.-C.; Brotons, G.; Calvignac, B.

Taylor dispersion of nanoparticles in near-surface flows

Alexandre Vilquin,^{1,2} Vincent Bertin,^{1,3,4} Frédéric Restagno, ⁵ Elie Raphaël, ¹ David Dean, ³ Thomas Salez,^{*3} Joshua D. McGraw,^{*1,2}

¹Gulliver CNRS UMR 7083, PSL Research University, ESPCI Paris, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris, France ²IPGG, 6 rue Jean Calvin, 75005 Paris, France

³LOMA CNRS UMR 5798, Université de Bordeaux, 351 Cours de la Libération – 33400 Talence, France ⁴Physics of Fluids Group, Faculty of Sciences and Technology, and Mesa+ Insititute, University of Twente, 7500AE Enschede, The Netherlands

⁵LPS CNRS UMR 8502, Université Paris-Saclay, Orsay, France

*Email: thomas.salez@cnrs.fr, joshua.mcgraw@espci.fr

At nanoscales, entity transport is strongly affected by the coupling between Brownian diffusion and advection due to the surrounding flow. The motion of transported objects along flow gradients indeed leads to an enhanced dispersion as compared to the no-flow case. This so-called Taylor dispersion notably plays a major role in chemical reactions in porous media and engineering of microfluidic devices. Furthermore, the transport is also determined by the confining boundaries. The transported objects can experience electrostatic and hydrodynamic interactions with the boundaries, or even reaction/adsorption at these interfaces. Here by using evanescent wave microscopy, already used to measure the Taylor dispersion full dynamics [1], we study the transport of charged nanoparticles in linear shear flows, near a charged, planar surface on one side, and an open, particle-consuming boundary on the other side. By varying the concentration of electrolytes, we show how the electrostatic repulsion from the surface reduces the dispersion. Besides, the open boundary equivalent to an adsorption-like condition induces an exponential decay of the particle number and a large decrease of the dispersion coefficient. These results may have implications in many contexts, especially for nanoconfined chemical reactions.



Fig.1: (a) Schematic of Taylor dispersion in a linear shear flow at nanoscale for charged particles between a charged surface and an open boundary. (b) Superposition of experimental trajectories (*x*-*y* top view) with lag times 2.5 (top row), 25 (middle row) and 50 (bottom row) ms showing three successive positions of fluorescent nanoparticles in pure water (*i*), 5.4 (*ii*) and 54 (*iii*) mg/L NaCl aqueous solutions.

References

[1] Vilquin, Alexandre, et al. "Time dependence of advection-diffusion coupling for nanoparticle ensembles." *Physical Review Fluids* 6.6 (2021): 064201.

Cells in confined flows : some biomedical applications

Agnès Drochon,*1

¹Institut de Mécanique et d'Ingénierie (I2M-UMR CNRS 5295), Université de Bordeaux 351 Cours de la Libération (Bât. A11) – 33400 Talence, France

*Email: <u>agnes.drochon@u-bordeaux.fr</u>

Two past research works related to the workshop topic can be briefly recalled:

- i) Flow and deformation of red blood cells in narrow channels, analysed by means of the occupied pore change of electrical resistivity. A device named Cell Transit Analyser (CTA) was used. The height and length of electrical pulses were related to the cell deformed shape in the pore and to its velocity. The influence of the flow strength, suspending medium viscosity and cell membrane elasticity was studied. [1]
- ii) The design and experimental characterization of a Hele-Shaw cell with a porous bottom wall in order to study the influence of flow induced forces (shear stress and transmural pressure) on cells adhering on porous biomaterials. Theoretical predictions for the flow in the chamber were provided and allowed to quantify the flow forces. [2]

A short bibliographic overview of more recent studies in the same research area and of their biomedical applications can be also presented:

- i) flow rate or velocity calibrations with microparticles in microchannels, cell mechanics studies (change of mechanical properties of cells, effect of drugs, cell sorting, ...), white blood cells deformation and transport in capillaries, vascularization and microcirculation in reconstructed tissues and organoïds, ...
- ii) improvement of biomaterials for dialysis and blood filtration process, *in vitro* studies of white blood cells and cancer cells diapedesis, mechanotransduction studies with endothelial cells or other cells, test of biomaterials for the functional vascular grafts production, ...

Artificial microfluidic circuits may also be used to improve cell culture, proliferation and attachment (for example, stem cells cultivation and differentiation for artificial tissue production), or, on the contrary, to improve hydrodynamic dissociation of cell aggregates and tissues. Other applications of microfluidic devices are found in the context of space research and astronauts health (study of blood flow under microgravity conditions), ... In any cases, the control of cells' microenvironment and of the applied forces remains a challenge.

References

[1] Drochon, A. (2005) "Use of Cell Transit Analyser pulse height to study the deformation of erythrocytes in microchannels" Medical Engineering and Physics, Vol 27(2), 157-165.

[2] Chotard-Ghodsnia, R., Drochon, A., Grebe, R. (2002) "A new flow chamber for the study of shear stress and transmural pressure upon cells adhering to a porous biomaterial" Journal of Biomechanical Engineering, Vol 124 (2), 258-261.

Switchable Hydrophilicity Solvents (SHSs): applications in microfluidics for chemical engineering.

Margaux Zollo,^{*1} Jean-Baptiste Salmon,¹ Yaocihuatl Medina Gonzalez,¹

¹Laboratoire du Futur (CNRS, Solvay, Université de Bordeaux, UMR 5258), 178 avenue du Dr. Albert Schweitzer- 33600 Pessac, France.

*Email: <u>margaux.zollo-ext@solvay.com</u>

Solvent engineering aims at controlling the solubility and transport properties of a solvent medium, in order to optimize the chemical or physical processes performed. Among the strategies of Solvent Engineering, reversible CO_2 -switchable hydrophilicity solvents (CO_2 -SHS) represent a promising route to reversibly switch the properties of a solvent.

In this thesis work, a CO_2 -SHS, 2, 2-Dibutylaminoethanol (DBAE) was chosen to study the switching phenomenon using microfluidic devices. Such a solvent is a tertiary amine in its hydrophobic form, while in its hydrophilic form, DBAE turns to the corresponding bicarbonate salt [1]:

{Solvent (hydrophobic form) + $H_2O + CO_2 = [Solvent \bullet H^+] [HCO_3^-]$ (hydrophilic form)}

The purpose of this work is to develop a microfluidic device that implements the switching reaction in order to study material transport and determine its main parameters.

We performed preliminary microfluidic experiments with chips made of poly(dimethylsiloxane) (PDMS) with a droplet-producing geometry. In this geometry, we were able to obtain a train of regularly spaced droplets of water in the solvent (Fig. 1).



Fig. 1: (a) Drop-formation geometry for the microchip fabrication: Channel reduction ratio ~1:4, height of the channel 60 μ m. (b) Train of regularly spaced drops obtained with the flow rates: DBAE 200 μ l/h - Water 5 μ l/h.

These experiments revealed possible complex interactions between the DBAE and the PDMS matrix, including possible solvent migration into the matrix. In situ Raman spectroscopy will be performed to investigate these interactions and determine if PDMS is a suitable material.

Références

[1] Jessop, P., Aldrichimica Acta 2015, 48(1), 18-21.

Design and modelling of Metal@Titanium Oxide Nano-Heterodimers synthesized by an optofluidic method

Qingguo Bai,^{1,2} Fenghuan Zhao,^{1,2} Ivan Shupyk,^{1,2} Marie-Hélène Delville,^{1*} and Jean-Pierre Delville^{2*}

¹ CNRS, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, ICMCB, UMR 5026, 87 avenue du Dr. A. Schweitzer, Pessac, F-33608, France.

² Univ. Bordeaux, CNRS, LOMA, UMR 5798, 33405 Talence, France.

*Email: marie-helene.delville@icmcb.cnrs.fr; jean-pierre.delville@u-bordeaux.fr

In order to circumvent the usual random nucleation of tiny metallic dots onto Titanium oxide nanoparticles (NPs) induced by conventional photodeposition methods using UV lamps/LEDs, we propose to synthesize wellcontrolled nanoheterodimers (NHDs) using lasers focused inside microfluidic reactors to photoactivate much strongly redox reactions of active ions flowing along with nanoparticles in water solution (Fig. 1). Since the fluxes of photons issued from a focused laser may be orders of magnitude larger than those obtained with classical lamps, the production of electron-hole pairs is tremendously increased, which ensures a large availability of carriers for the deposition and favors the growth of a single metallic nanodot (ND) as compared to secondary nucleation events (Fig. 1, right inset). We show that the growth of single silver or gold NDs can be controlled by varying the beam intensity, the concentration of the metallic salt, and the flow velocity inside the micro-reactor which sets the exposure time. The confrontation to a build-in model of light-induced nanodot growth onto the surface of TiO₂ NPs shows the emergence of a predictable 'master behavior' on which individual growths obtained from various tested conditions do collapse all together (Fig. 2). Eventually, from the practical point of view, the solution flow inside a microchannel ensures a continuous production of NHDs. This investigation shows that the efficiency of the electron-hole pairs production rate matters much more than the number of pairs produced [1] and that the use of laser light opens such a route for photodeposition-based synthesis at the nanoscale.





Fig. 1: Optofluidic setup and TEM images before Fig. 2: Ag NDs growth versus rescaled and after laser processing (Ag/TiO2 NHDs).

time and agreement with predictions

References

[1] Bai, Q., Shupyk, I., Vauriot, L., Majimel, J., Labrugere, C., Delville, M. H., & Delville, J. P. (2021). Design of metal@ titanium oxide nano-heterodimers by laserdriven photodeposition: growth mechanism and modeling. ACS nano, 15(2), 2947-2961.

Continuous monitoring in-vivo with an islet-based microfluidic biosensor

E. Puginier¹, A. Pirog², F. Poulletier de Gannes², J. Gaitan¹, A. Hurtier², M. Monchablon^{2,1}, M. Raoux¹, S. Renaud², J. Lang¹

¹CNRS UMR 5248, CBMN, Univ. Bordeaux, Pessac, France, ²CNRS UMR 5218, IMS, Bordeaux INP, Univ. Bordeaux, Talence, France.

Abstract:

Background and aims: Continuous monitoring of for glucose levels is currently based on enzymelinked electrochemical probes. In contrast, monitoring of a few electrogenic islets in a biosensor may harness the computational power of the micro-organ made for nutrient detection and provide a more suitable readout. Extracellular islet electrophysiology detects slow potentials (SPs) reflecting insulin secretion of coupled islet β -cells and is a method of choice for nondestructive long-term monitoring of islet activity in vitro. Such an extracorporeal sensor requires an access to interstitial liquid via microdialysis and consequently a microfluidic sensor.

Materials and methods: Male Wistar rats (mean 10.4 weeks) were implanted with a microdialysis catheter (Microdialysis AB) in the right interscapular region under anesthesia. Mouse islets from adult male C57BL/6J mice were seeded on microelectrode arrays (MEAs, MCS, Reutlingen, Germany) coated with 2% v/v Matrigel, and cultured at 37°C for 3 days. Microfluidic chips were made of PDMS (channel Ø 0.8 mm) and aligned on plasma-treated MEAs in a clean room. Fluid shear stress was simulated using COMSOL Multiphysics (Burlington, MA, USA), and devices were calibrated by video-microscopy and phenol red. SP recordings were analyzed using MC_Rack software. Glucose was measured after i.p. administration at the tail vein (Abbott, France) and in the dialysate using glucose oxidase (Biolabo, France). Respiration rate was measured by analysis of video files.

Results: We developed a microfluidic microelectrode chip containing a few islets connected via microdialysis to interstitial fluids in living rats. Blood/dialysate glucose levels and electrical activity of the islets were determined simultaneously. Initial off-line experiments showed an excellent correlation between rat or human serum glucose and the frequency or amplitude of SPs (n=25, R2 > 0.96, p < 0.01). Microdialysis at 1 µl/min resulted in 80% recovery and only minimal shear stress in the device. Intraperitoneal glucose testing (2g /kg; n=4-5 animals), with or without subsequent insulin injection (2.5 U/kg), resulted in an excellent correlation (Spearman) between 2h SP recordings and dialysate glucose (mean+SD R2 of 0.81+0.1, p < 0.001, frequency; 0.82+0.1, p < 0.01, amplitude) or blood glucose (0.91+0.04, frequency; 0.92+0.04). Normalized slopes were fairly comparable between experiments, especially for SP frequency (mean+SD; dialysate glucose vs. frequency 1+0.32, amplitude 1+0.68; blood glucose vs. frequency 1+0.17, amplitude 1+0.44).

Conclusion: Our data demonstrate that islet-based biosensors provide continuous glucose monitoring in rodents in vivo for at least 2 hrs. This extracorporeal CGM might control insulin pumps by calculating in real-time the physiological needs.

Tuning Size and Morphology of mPEG-*b*-poly(HPMA-Bz) Copolymer Self-Assemblies Using Microfluidics

Jaleesa Bresseleers,^{1,2} Mahsa Bagheri,³ Coralie Lebleu,⁴ Imke A. B. Pijpers,¹ Alexander F. Mason,¹ Silvie Meeuwissen,² Cornelus F. van Nostrum,³ Wim E. Hennink, *³ Jan C.M. van Hest,*¹ Sébastien Lecommandoux,*⁴ Olivier Sandre*⁴

¹Depart Bio-Organic Chemistry, Eindhoven Univ of Technology - 5600 MB Eindhoven, The Netherlands ²Ardena Oss - 5349 AB Oss, The Netherlands

³Depart Pharmaceutics, Utrecht Institute for Pharmaceutical Sciences (UIPS), Faculty of Science, Utrecht University - 3508 TB Utrecht, The Netherlands

⁴Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques, Université de Bordeaux, UMR 5629 CNRS, Bordeaux-INP, 16 Avenue Pey Berland - 33600 Pessac, France

*Emails: w.e.hennink@uu.nl, j.c.m.v.hest@tue.nl, lecommandoux@enscbp.fr, osandre@enscbp.fr

Careful design of nanoparticles in terms of size and morphology is of utmost importance to develop efficient drug delivery systems. This work investigating an amphiphilic copolymer self-assembly in a microfluidic chip demonstrates that the structures f<ound can be different from a batch process. Previously [1], four poly(ethylene glycol)-b-poly(N-2-benzoyloxypropyl methacrylamide) block copolymers with fixed hydrophilic block of mPEG 5 kDa and different molecular weights of the hydrophobic p(HPMA-Bz) block (A: 17, B: 10, C: 5 and D: 2.7 kD) were synthesized, and their self-assembly by pouring water into a THF solution (in a beaker) was shown to lead to nanoparticles following the "crew-cut micelle" model [1]. Here selfassembly employed a chaotic laminar flow micromixer instead, under well-defined flow conditions, and at different copolymer concentrations [2]. The nanoparticles formed by copolymer A increased in size from 55 to 90 nm using lower concentrations and slower flow rates, and even polymer vesicles were formed along with micelles. Similarly, nanoparticles made from polymer D increased in size from 35 to 70 nm at slower flow rates and also formed vesicles along with micelles, regardless of the concentration. Differently, copolymers B and C mainly self-assembled into micelles at the different applied flow rates with negligible size difference. In conclusion, this study demonstrates that self-assembly of such block copolymers can be tailored in size and morphology by kinetic control using microfluidic devices, which is an attractive option for further scaled-up production and industrialization.



Fig.1: Sketch of DolomiteTM herringbone-type micromixer used as device for copolymer self-assembly in microfluidics. **Fig. 2**: Cryo-TEM image of sample A at 5 g/L and 100 μ L/min flowrate. Black, blue and purple arrows point out vesicles, big and small micelles, respectively.

Scale bar length is 50 nm.

References

M. Bagheri, J. Bresseleers, A. Varela-Moreira et al, <u>Langmuir 2018, 34, 15495</u>
 J. Bresseleers, M. Bagheri, M., C. Lebleu et al, <u>Polymers 2020, 12(11), 2572</u>

Déformations optiques de vésicules et de cellules en microfluidique

Ulysse Delabre^{*1}, Antoine Girot¹, Jean-Pierre Delville¹ ¹Univ. Bordeaux, CNRS, Laboratoire Ondes et Matière d'Aquitaine, UMR 5798, F 33400 Talence

*Email: <u>ulysse.delabre@u-bordeaux.fr</u>

Les propriétés mécaniques des cellules et des vésicules jouent un rôle essentiel dans plusieurs processus biologiques (division cellulaire, migration, etc.). Nous avons mis en place un double piège optique (Fig 1a-b) capable de déformer sans contact des objets sphériques en dispositif microfluidique (Fig 1c). En effet, la pression de radiation optique permet de piéger sans déformation à faible puissance et de déformer des objets sans contact au niveau des interfaces à forte puissance. Nous montrons qu'il est possible de réaliser des études rhéologiques sur objet unique et d'en déduire les propriétés élastiques (module de courbure) de systèmes biomimétiques simples tels que les vésicules.



Fig.1: a) Schéma du double piège optique. b) Image du dispositif expérimental microfluidique. c) Déformation de vésicules sous irradiation laser.

References

[1] Deformation of phospholipid vesicles in a optical stretcher U. Delabre, K. Feld, E. Crespo, G. Whyte, C. Sykes, U. Seifert & J. Guck **Soft Matter** (2015)

[2] Manipulation and biophysical characterization of GUVs with an optical stretcher, Gheorghe Cojoc, Antoine Girot, Ulysse Delabre, Jochen Guck, **The Giant Vesicle Book** (2019)

Imagerie multiphysique de piles à combustible microfluidiques

M.Garcia,*¹ S.Chevalier,¹ G.Clisson,² D. Michau³, A.Sommier,¹ J-C.Batsale¹

¹Arts et Métiers Institut de technologie, I2M UMR 5295, Université de Bordeaux, CNRS, 33400 Talence, France

² Solvay, LOF, UMR 5258, Université de Bordeaux, CNRS, 33600 Pessac, France

³ ICMCB, UMR-5026, Université de Bordeaux, CNRS, 33600 Talence, France

*Email: marine.garcia@u-bordeaux.fr

Les piles à combustibles microfluidiques (MFC) sont des systèmes qui convertissent l'énergie chimique en énergie électrique à l'échelle microscopique. Les dimensions du canal (1-5 mm de large et 20-100 µm de haut) permettent un écoulement laminaire de deux réactifs. De chaque côté du canal se trouvent deux électrodes métalliques où ont lieu les réactions chimiques. L'amélioration des performances de ces piles repose sur une compréhension des phénomènes in-situ tels que le transfert de charges et de masse^[1]. Dans notre étude, nous avons développé une MFC ainsi qu'un système d'imagerie afin d'étudier ces phénomènes. La MFC est constituée d'un canal en PDMS qui repose sur un substrat en silicium ou en verre sur lequel sont déposées des électrodes en platine (voir Figure 1(a)). L'architecture de la puce permet à la fois de mesurer le courant produit mais aussi d'être intégrée dans un système de spectroscopie allant du visible à l'infrarouge (IR). Le système d'imagerie présenté sur la Figure 1(b) permet d'imager le champ de concentration des réactifs et d'en déduire la distribution de courant avec une résolution allant de 3,5 μ m/pixel (gamme visible) à 10 μ m/pixel ^[2] (gamme IR).



Fig.1: a) Représentation 3D de la puce microfluidique fabriquée au LOF et à l'ICMCB, b) Montage expérimental développé pour imager les champs de concentration en IR et réaliser des mesures électriques simultanément.

References

[1] W. A. Braff, M. Z. Bazant, and C. R. Buie, "Membrane-less hydrogen bromine flow battery," Nat. Commun., vol. 4, pp. 1–6, 2013, doi: 10.1038/ncomms3346.

[2] S. Chevalier, J. N. Tourvieille, A. Sommier, and C. Pradère, "Infrared thermospectroscopic imaging of heat and mass transfers in laminar microfluidic reactive flows," Chem. Eng. J. Adv., vol. 8, 2021, doi: 10.1016/j.ceja.2021.100166.

In-situ microviscosity measurements in microfluidic chip using fluorescent molecular rotors

Dharshana Nalatamby, *¹ Javier ORDONEZ², Norberto FARFAN², Pierre Lidon,¹ Yaocihuatl Medina-Gonzalez,¹

¹Laboratoire du Futur, Solvay, CNRS, UMR 5258, Université de Bordeaux, 178 Avenue du Dr Albert Schweitzer - 33600 Pessac, France ² Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico.

*Email: <u>dharshana.nalatamby@u-bordeaux.fr</u>

Microviscosity is an important parameter for the flow of complex fluids is, however, difficult to measure with traditional rheometers, especially in confined systems. Molecular rotors (MRs) are an emerging tool that can be used to probe viscosity at a microscopic scale. Their simple calibration and fast signal acquisition allow accurate quantitative measurement of microviscosity in confined zones [1]. In this work, fluorescent MRs, were used for in-situ measurement of microviscosity in a microfluidic co-flow. Their sensitivity to viscosity is due to its twisted intramolecular charge transfer state upon photoexcitation at a specific wavelength. Increasing viscosity inhibits their ability to relax via change in conformation, which leads to an increase in fluorescence quantum yield. This property of FMRs combined with a suitable microfluidic device and fluorescence microscope, allows us to conduct real-time measurements of microviscosity in a complex system. During a co-flow of dimethylsulfoxide (DMSO) and glycerol inside a Y-junction microfluidic chip, viscosity mapping was carried out along the mixing channel with a good spatial resolution (Fig.1). A calibration curve based on the Forster-Hoffman equation, established beforehand, allowed us to retrieve the local viscosity from the fluorescence response of FMRs and to perform the microviscosity mapping. These viscosity values were converted to volume fractions of glycerol and the concentration maps along the microchannel were fitted [2]. The parameters of the fitting enabled us to calculate the effective interdiffusion coefficient of glycerol.



Fig.1: (a) Schematic experimental setup to study interdiffusion of miscible liquids using FMRs.(b) Viscosity mapping along the microfluidic channel during a co-flow experiment.

References

- [1] M. K. Kuimova, "Mapping viscosity in cells using molecular rotors," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 14, no. 37, pp. 12671–12686, 2012.
- [2] J. Dambrine, B. Géraud, and J.-B. Salmon, "Interdiffusion of liquids of different viscosities in a microchannel," New J. Phys., vol. 11, no. 075015, pp. 1–22, 2009.

Micromixers: Applications and Scaling-up using Life Cycle Assessment (LCA)

Olga P. Fuentes^{*1}, Juan C. Cruz², Emmanuel Mignard³, Guido Sonnemann³, Johann F. Osma¹

¹ DEEE, Universidad de los Andes, Cra. 1E No. 19a-40, Bogotá D.C., 111711, Colombia.

² DBE, Universidad de Los Andes, Cra. 1E No. 19a-40, Bogotá D.C., 111711, Colombia.

³ ISM UMR5255, Université de Bordeaux, CNRS, 351 Cours de la Libération – 33400 Talence, France.

*Email: olga-patricia.fuentes-daza@u-bordeaux.fr

Magnetite nanoparticles can be produced through different processes based on physical, chemical, and biological methods with changing yields by exploiting various mechanisms, mixing strategies of precursors, and reaction conditions [1]. In this regard, some of the simplest and most common methods to produce magnetite include sol-gel and chemical coprecipitation of iron chlorides [2]. Recently, we have introduced the synthesis of magnetite using microfluidic devices with remarkable results in terms of homogeneity and size distribution [3]. This was attributed to the ability of such devices to provide a better controlled mixing of reagents over short length- and timescales than with conventional batch reactors. Moreover, they allow precise manipulation of the obtained nanomaterials, which is advantageous to functionalize them with relatively high yields [4]. To overcome the major problem of using a cleanroom during the microfabrication step of the device, we have set up a low-cost manufacturing method. It relies on widely available and inexpensive laser cutting techniques, and inexpensive polymethyl methacrylate sheets as supports [5].

To evaluate whether a process induces potential environmental impacts, it is possible to apply a number of methodologies including, Environmental Impact Assessment (EIA) and Strategic Environmental Assessment (SEA). Nowadays however, Life Cycle Assessment (LCA), is the most widely applied and internationally standardized tool to assess different routes for the synthesis of magnetic nanoparticles through conventional methods in order to quantify the involved environmental impacts [6]. We performed the LCA of microfluidic devices that can be used for the magnetite production. This work showed the environmental impacts generated during the manufacture and operation of over 6 different micromixers [3]. Now we investigate the scaling-up of the synthesis of magnetite nanoparticles by numbering-up the best small-scale devices to more than 11 000 identical microfluidic ones working in parallel in order to obtain an industrial production of 100 ton/year (Figure 1). This work includes an LCA of the newly proposed industrial process with currently available data to compare its potential environmental impacts with those of conventional processes.



Figure 1. Synthesis of magnetite nanoparticles by microfluidic devices at industrial scale. Stage 1: chemical solutions; stage 2: continuous synthesis by microfluidic devices operating in parallel; stage 3: magnetic separation; stage 4: washing and wastewater generation; stage 5: packing and storage with TMAH solution to avoid agglomeration.

References

- Niculescu, A.G.; Chircov, C.; Grumezescu, A.M., Methods 2022, 199 (March 2021), 16–27.
- [2] Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Vander Elst, L.; Muller, R.N., Chem. Rev. 2010, 110 (4), 2574.
- [3] Fuentes, O.P.; Noguera, M.J.; Peñaranda, P.A.; Flores, S.L.; Cruz, J.C.; Osma, J.F., in Advances in Microfluidics and Nanofluids. Sohel Murshed, S.M. Ed., IntechOpen 2021.
- [4] Luo, G.; Du, L.; Wang, Y.; Wang, K., Particuology 2019, 45, 1-19.
- [5] Yuen, P.K.; Goral, V.N., Lab Chip 2010, 10 (3), 384–387.
- [6] Feijoo, S.; González-García, S.; Moldes-Diz, Y.; Vazquez-Vazquez, C.; Feijoo, G.; Moreira, M.T., J. Clean. Prod. 2017, 143, 528–538.

Diffusion multiple résonante des ultrasons dans des suspensions calibrées et contrastées

T. Brunet,*¹ J. Leng,² O. Mondain-Monval,³

¹Institut de Mécanique et d'Ingénierie (I2M – UMR 5295), Université de Bordeaux, CNRS, 351 Cours de la Libération – 33400 Talence, France

²Laboratoire du Futur (LOF - UMR 5258), Solvay, CNRS, Université de Bordeaux, 178 Avenue du Dr Albert Schweitzer - 33600 Pessac, France

³Centre de Recherche Paul Pascal (CRPP – UMR 5031), CNRS, Université de Bordeaux, 115 Avenue du Dr Albert Schweitzer - 33600 Pessac, France

*Email: thomas.brunet@u-bordeaux.fr

Depuis les années 2000, le domaine des métamatériaux a suscité un intérêt exponentiel de la part de la communauté scientifique, en optique mais également en acoustique. Ces matériaux composites artificiels ont pour vocation le contrôle des ondes qui se propagent en leur sein de manière non conventionnelle grâce à leurs propriétés hors du commun. Depuis une dizaine d'année, nous explorons des méthodes originales, basées sur des procédés issus du monde de la matière molle [1], pour fabriquer divers métamatériaux acoustiques « localement résonants ». Leurs propriétés exotiques, telles que l'indice négatif [2], proviennent des très fortes résonances acoustiques des particules qui les composent. Pour tirer pleinement profit de ces résonances, il est impératif d'utiliser des objets présentant de forts contrastes acoustiques avec le milieu environnant tout en conservant une très faible dispersion en taille et en forme sur ces objets résonants [3,4]. La microfluidique est probablement le meilleur outil pour fabriquer de grandes quantités de ces particules micrométriques résonant dans la gamme des fréquences ultrasonores.



Fig.1: Quelques exemples de métamatériaux acoustiques dits « localement résonants » composés de diverses particules calibrées, fabriquées par voie microfluidique.

References

[1] Brunet, T.; Leng, J.; Mondain-Monval, O., Science 2013, 342, 323-324.

[2] Brunet, T.; et al., Nature Materials 2015, 14, 384-388.

- [3] Tallon, B.; Brunet, T.; Page, J., Physical Review Letters 2017, 119, 164301.
- [4] Tallon, B.; Brunet, T.; Leng. J. Page, J., Physical Review B 2020, 101, 05402.

Précipitation en milieu fluide supercritique dans des microréacteurs : expériences *in situ* et simulations haute performance

A. Erriguible^{1,2}, F. Zhang^{1,2}, T. Jaouhari¹, S. Glockner¹, C. Aymonier², S. Marre² ¹ CNRS, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, I2M, UMR 5295, F-33600, Pessac Cedex, France ² CNRS, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, ICMCB, UMR 5026, F-33600, Pessac Cedex, France *Email: erriguible@enscbp.fr

Nous proposons de combiner deux techniques d'intensification pour la synthèse des nanoparticules organiques fluorescentes (FONs), les procédés SAS (Supercritical Anti-Solvent) utilisant le dioxyde de carbone supercritique (sc-CO2) et la technologie microfluidique (µF). La microfluidique supercritique, grâce à un mélange très efficace [1] et des conditions opératoires très bien contrôlées, permet de mettre en forme des particules de taille très petite et inférieure à 100 nm [2] là où les approches conventionnelles échouent. Par ailleurs, des FONs dont l'intensité de fluorescence augmente à l'état agrégé (AIE) ont été choisies pour analyser in situ par microscopie confocale les champs de précipitation de particules dans le système µSAS afin de comparer ces résultats à la simulation et avancer significativement dans la compréhension des mécanismes de précipitation. Des simulations numériques directes, ont permis de capter toutes les échelles du mélange, et ont été couplées à la résolution de l'équation de bilan de population afin prédire la formation des nanoparticules. La comparaison de simulation/expérience était très bonne et a permis de confirmer les hypothèses des mécanismes de nucléation et de croissance considérées dans la simulation [3]. Enfin, nous nous sommes intéressés au problème ouvert du changement d'échelle pour les procédés continus de synthèse des matériaux. Ces travaux ont montré que le calcul haute performance est un outil émergent et efficace pour l'analyse de différents scénarios de mise à l'échelle ou de conception de réacteurs dans le domaine du génie chimique [4].



References

F. Zhang, S. Marre, A. Erriguible, Chem. Eng. Journal 2020, 382.
 T. Jaouhari, F. Zhang, T. Tassaing, S. Fery-Forgues, C. Aymonier, S. Marre, A. Erriguible, Chem. Eng. Journal 2020, 397.
 T. Jaouhari, T. Tassaing, S. Fery-Forgues, C. Aymonier, S. Marre, A. Erriguible, Chem. Eng. Science 2022, 248, art. no. 117240.

[4] S. Glockner, A.M.D Jost., A. Erriquible, Chem. Eng. Journal 2022, 431.

Reaction enthalpy measurement in an acid-base microfluidic reactor using infrared thermospectroscopy

Kevin Krause¹, Christophe Pradère¹ and Stéphane Chevalier¹ ¹Arts et Metiers Institute of Technology, I2M UMR CNRS 5295, University of Bordeaux, CNRS, Esplanade des Arts et Métiers, 33405 Talence

*Email: stephane.chevalier@u-bordeaux.fr

The development of laminar microfluidic reactors has enabled the characterization of physical and chemical processes towards a variety of applications.[1] Heat and mass transfer in these devices is of particular interest, where experimental results can be used to validate computational models.[2] Here, a combination of a Fourier transform infrared (FTIR) spectrometer and an infrared (IR) camera are synchronized to perform IR thermospectroscopy. This technique is applied to investigate the multiphysical transport of the exothermic chemical reaction between hydrochloric acid and sodium hydroxide. The microfluidic chip is a sapphirewafer sandwich cell that is transparent in the Mid-IR specturm. The molar concentration fields for each chemical species are measured and the heat field is determined using the measured proper emission. The rate of heat and mass diffusion are determined through the multi-physical fields, and then the results are compared to an advection-diffusion model to validate the experimental results. The experimental results from this study can be used to determine the enthalpy of reaction, paving the way towards contactless calorimetry.



Fig. 2. (a) Concentration fields for each chemical species in the channel and the corresponding (b) thermal field with a channel flow rate of 20 μ L/min.

References

[1] H.A. Stone, A.D. Stroock, A. Ajdari, Engineering flows in small devices: Microfluidics toward a lab-on-a-chip, Annu. Rev. Fluid Mech. 36 (2004) 381–411.
[2] C. Pradere, M. Joanicot, J.C. Batsale, J. Toutain, C. Gourdon, Processing of temperature field in chemical microreactors with infrared thermography, Quant. Infrared Thermogr. J. 3 (2006) 117–135.

Development of an "Intestine-On-chip" to study infections by opportunistic pathogenic yeast Candida with advanced customized optical microscopy.

Fernanda López García^{1,2}, Jacques Leng³, Pierre Nassoy² and Karine Dementhon¹

¹ Laboratoire Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, UMR-CNRS 5234, Université de Bordeaux, 146 Rue Léo Saignat,-33076 Bordeaux Cedex, France

² Laboratoire de Photonique, Numérique et Nanosciences UMR-CNRS 5298, Institut d'Optique d'Aquitaine ,Rue François Mitterrand CS30006- 33400 Talence Cedex,France

³ Laboratoire du Futur, Solvay, CNRS, UMR 5258, Université de Bordeaux, 178 Avenue du Dr Albert Schweitzer -33600 Pessac, France

Conventional in vitro biological models (cells in a Petri dish or Transwell inserts) fail to recapitulate the complex physio-biology of the human body. Alternatively, mouse models are now avoided not only because of ethical issues but also because of a lack of overlap between human and rodents (Cunningham, 2002). Organs-on-chips (OOCs) are an alternative to model organ functionality and recapitulate some of their physiological or pathological features in vitro (Huh et al., 2010). Even though the two-chamber commercial design of OOC is almost ideal to recapitulate the physiological conditions encountered in the intestine, its operational design intrinsically does not allow to observe real-time events under flow in culture compatible conditions. The overall objective of the project is to develop a new generation of OOCs in conditions that closely mimic the in vivo configuration, i.e. allowing the application of external mechanical cues (flow and stretching). The combination of a confocal microscopy module for high-resolution (but slow) fluorescence imaging with an Optical Coherence Tomography (OCT) module for lower (~µm) resolution but fast and label-free acquisition is envisioned. We aim to provide an in-depth investigation of the mechanisms underlying intestinal infection by *Candida* yeast with the perspective of identifying new routes for therapeutic treatments. The Intestine-on-chip consists of a microfluidic chip with 2 micro-channels separated by a central porous membrane, on either side of which epithelial cells and vascular endothelial cells will be adhered, mimicking the interface of a vascularized human organ. Two lateral vacuum channels allowing the generation of mechanical stretching of the membrane will be included to mimic in vivo intestinal cells environment.

References

Cunningham, M.L. (2002). A Mouse Is Not a Rat Is Not a Human: Species Differences Exist. Toxicol. Sci. 70, 157–158.

Huh, D., Matthews, B.D., Mammoto, A., Montoya-Zavala, M., Hsin, H.Y., and Ingber, D.E. (2010). Reconstituting organ-level lung functions on a chip. Science 328, 1662–1668

Criblage haut-débit de nouveaux peptides ciblant le ribosome bactérien par bio-microfluidique

Melanie Gillard^{*1}, Aitor Manteca², Pauline Cossard¹, Deniz Pekin³, Thomas Beneyton⁴, Jean-Christophe Baret⁴, C. Axel Innis^{*1}

¹Université de Bordeaux Bordeaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Centre National de la Recherche Scientifique, ARNA, U1212, UMR 5320, Institut Européen de Chimie et Biologie, 33600 Pessac, France

²Center for Cooperative Research in Biomaterials, Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Saintsébastien, Espagne

³Université de Lille, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Centre National de la Recherche Scientifique, UMR9020-U1277, 59000 Lille, France

⁴ Université de Bordeaux, CNRS, CRPP, UMR 5031, 33600 Pessac, France

*Email: melanie.gillard@u-bordeaux.fr, axel.innis@inserm.fr

La menace des bactéries résistantes à de multiples antibiotiques constitue un problème majeur de santé publique. Alors que les agents pathogènes infectieux deviennent de plus en plus résistants aux médicaments disponibles sur le marché, les programmes de découverte d'antibiotiques dans les grandes entreprises pharmaceutiques n'ont pas produit de nouveaux antibiotiques en 40 ans. Afin de contrer la propagation de la résistance bactérienne, de nouvelles stratégies doivent donc être recherchées pour développer des antibiotiques basés sur de nouvelles structures moléculaires, avec des modes d'action et des mécanismes de résistance différents des médicaments existants.

Le ribosome bactérien constitue une cible validée des antimicrobiens dont la fonction biologique est de traduire en protéine l'information génétique codée dans l'ARN messager. Ce dernier est inhibé par plus de la moitié des antibiotiques utilisés aujourd'hui. Des études indiquent que les peptides synthétiques ciblant le ribosome sont une source prometteuse de nouveaux antibiotiques.

Dans cette perspective, nous proposons que le ribosome bactérien puisse être utilisé à la fois comme cible et comme outil pour le criblage haut-débit de peptides ayant des propriétés antibactériennes. Plus précisément, nous développons actuellement un nouveau criblage basé sur la microfluidique permettant la sélection de peptides inhibiteurs de la synthèse protéique bactérienne à partir de banques codant pour >10⁵ variantes. Couplée à d'autres méthodes de criblage de peptides bioactifs à haut-debit, cette approche pourrait alors avoir le potentiel d'identifier de nouvelles molécules candidates qui pourront être développées en antibiotiques contre les pathogènes multirésistants.

Fig. 1 A. B. Inhibitory peptide of the second secon

Figure 1. A. Les peptides antimicrobiens sont des inhibiteurs de la traduction bactérienne agissant en trans -. Représentation des sousunités ribosomales 50S et 30S Surface montrant les sites d'action de différents peptides antimicrobiens ciblant le ribosome (orange). B. Schéma de sélection possible pour l'identification *in vivo* de peptides trans-inhibiteurs de la traduction par le ribosome et, par conséquent, de la croissance bactérienne. La stratégie microfluidique proposée permet le tri de gouttelettes de l'ordre du picolitre sur la base du niveau d'expression d'une protéine rapportrice telle que l'EGFP. Chaque gouttelette contient de multiples copies d'un variant unique du peptide d'intérêt.

Synthèse de molécules d'intérêt en système continu Plateforme de synthèse multiéchelle.

Mathieu Pucheault*1

¹Institut des Sciences Moléculaires (ISM-UMR5255), Université de Bordeaux, CNRS, 351 Cours de la Libération – 33400 Talence, France

*Email: <u>mathieu.pucheault@u-bordeaux.fr</u>

Quelques exemples de synthèses de molécules et d'applications réalisées dans le cadre de la plateforme Synflup seront présentées ainsi que les capacités techniques disponibles.

References

https://pucheault.wixsite.com/group/synflup

Sélection par criblage fonctionnel microfluidique d'aptamères ADN

Hubert Debreyne^{1*}, Stéphanie Baudrey², Michael Ryckelynck², Jean-Jacques Toulmé^{1,3}
 ¹ Novaptech, Parc Scientifique Unitec 1, 2 Allée du Doyen Georges Brus, 33600 Pessac, France
 ² Unistra, 2 All. Konrad Roentgen, 67000 Strasbourg, France
 ³ ARNA, Université de Bordeaux, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France

*Email : hubert.debreyne@novaptech.com

Les aptamères sont des oligonucléotides synthétiques capables de se lier de manière non covalente avec une affinité et une spécificité élevées à une molécule cible. A ce titre, ils sont employés dans diverses applications impliquant un phénomène de reconnaissance moléculaire, et constituent une alternative innovante aux anticorps. Les aptamères sont historiquement sélectionnés à partir d'une librairie d'oligonucléotides synthétisés de manière aléatoire contenant environ 10¹⁵ séquences différentes par un processus de sélection *in vitro* itératif connu sous le nom de Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX). La méthode SELEX a connu de nombreuses modifications et améliorations, mais demeure laborieuse, les sélections ne sont pas systématiquement concluantes, et ce particulièrement pour les molécules cibles de petites tailles (pesticides, médicaments, ...) qui intéressent Novaptech pour le développement de biocapteurs permettant la détection de ces molécules par des tests simples [1].

Face aux limites de l'approche SELEX nous avons entrepris de cribler directement ces banques oligonucléotidiques par fluorescence via un dispositif microfluidique en gouttelettes en collaboration avec l'équipe « Biologie Digitale de l'ARN » pilotée par le Pr. Michael RYCKELYNCK (Unistra-CNRS, Strasbourg) [2]. En se reposant sur ce socle technologique, une méthodologie de sélection d'aptamères innovante a été conçue (**Figure 1**).



Figure 1 : **A.** La formation d'un duplex entre le candidat-aptamère marqué par un fluorophore et un oligonucléotide complémentaire conjugué à un quencher entraîne une inhibition de la fluorescence. Si l'oligonucléotide présente les propriétés d'aptaswitch recherchées, la présence de la molécule cible induit un changement conformationnel qui conduit une restauration de fluorescence détectable. **B.** (1) Individualisation des séquences oligonucléotidiques au sein de gouttelettes et amplification clonale par PCR digitale (2) Les gouttelettes sont réinjectées et fusionnées à une seconde gouttelette produite *in situ* contenant notamment la molécule cible et l'oligonucléotide quencher (3) La fluorescence des gouttelettes est analysée par excitation-émission laser et celles possédant un signal d'intérêt sont sélectionnées et utilisées dans une nouvelle itération de criblage. Figure adaptée de Bouhedda *et al.* 2017 [3].

Références

[1] Cho N.Y., Forier C., Debreyne H., Toulmé J.J. (2021) 3rd European BioSensor Symposium, poster 11.

- [2] Bouhedda F., Cubi R., Baudrey S., Ryckelynck M. (2021) Methods in Molecular Biology, vol 2300.
- [3] Bouhedda F, Autour A, Ryckelynck M. (2017) Int J Mol Sci. 23;19(1):44.

Emulseo: formulation solutions for microfluidic applications

Ariane Peyret¹

¹Emulseo, Bât Cheminnov, 14 Avenue Pey Berland - 33600 Pessac, France

*Email: peyret@emulseo.com

Water-in-oil emulsion droplets produced with microfluidic devices have become widely used as powerful tools for biological and chemical applications including screening, material synthesis, single-cell analysis, digital polymerase chain reaction assays (dPCR) or in vitro diagnostics. Droplet microfluidics enable chemical and biological experiments to be performed at high-throughput in a confined and controlled environment with enhanced efficiency and using minimal amount of starting material. These applications all require reliable formulation tools that meet essential quality criteria. Especially, surfactants are key to generating stable emulsions.^[1] Being able to fully control their synthesis in a reproducible way and at large scales is crucial. For these reasons, Emulseo has worked on developing custom-made solutions and ready-to-use formulations such as fluorinated surfactants, fluorinated oils, surface treatments and other specialty chemicals.



Fig.1: Microscope picture of water-in-oil FluoSurf[™]-stabilized droplets. Scale bar=300µm

References

[1] Jean-Christophe Baret, Lab on a chip 2012, 12 (3), 422-433

Utilisation de la microfluidique pour la séparation d'acides aminés chiraux

<u>Adeline Perro</u>, Sunpet Assavapanumat, Duangkamon Suttipat, Sopon Butcha, Thana Maihom, Bhavana Gupta, Neso Sojic, Patrick Garrigue, Bertrand Goudeau, Thittaya Yutthalekha, Chularat Wattanakit and Alexander Kuhn

- 1. Univ. de Bordeaux, CNRS, ISM, UMR 5255, Bordeaux INP, Pessac, France.
- 2. Department of Chemical and Biomolecular Engineering, School of Energy Science and Engineering, Vidyasirimedhi Institute of Science and Technology, Rayong, Thailand

*Email: adeline.perro@enscbp.fr

La séparation d'énantiomères représente un intérêt remarquable dans l'industrie pharmaceutique, un composé chiral pouvant présenter une activité biologique différente, inactive ou indésirable dans le corps humain. Pour illustration, le L-tryptophane (L-Trp) est un acide aminé impliqué dans la synthèse de protéines et comme précurseur de la sérotonine, tandis que l'énantiomère miroir, le D-tryptophane (D-Trp), est utilisé dans la synthèse d'antibiotiques.

Une manière prometteuse pour leur purification réside dans l'exploitation de surfaces chirales. Nous avons développé par déposition électrochimique des surfaces chirales (MOF ou métalliques) qui ont été intégrées dans des dispositifs microfluidiques (Fig. 1 A&B). Ces dispositifs, couplés à une caractérisation spectroscopique UV, permet d'analyser in situ l'efficacité de la séparation (Fig.1 C). Ainsi, cette approche originale constitue une stratégie prometteuse pour la séparation de composés chiraux.



Fig.1: A) Image en microscopie électronique à transmission d'un film de platine Chiral. Echelle 50 nm. B) Image en microscopie électronique à balayage d'un MOF chiral. C) Signal de fluorescence d'un mélange racémique de Trp à la sortie du canal microfluidique.

References:

- 1. Wattanakit, C.; Come, Y. B.; Lapeyre, V.; Bopp, P. A.; Heim, M.; Yadnum, S.; Nokbin, S.; Limtrakul, J. and Kuhn A. (2014). *Nat Commun*, 5, 3325.
- 2. Wattanakit, C.; Yutthalekha, T.; Asssavapanumat, S.; Lapeyre V. and Kuhn, A. (2017), *Nat Commun*, 8, 2087.
- 3. Assavapanumat, S.; Yutthalekha, T.; Garrigue, P.; Goudeau, B.; Lapeyre, V.; Perro, A.; Sojic, N.; Wattanakit C. and Kuhn, A. (2019), *Angew Chem Int Ed*, 58 (11), 3471.
- 4. Suttipat, D.; Butcha, Assavapanumat, S.; Maihom, T.; Gupta, B; Perro, A.; Sojic, N.; Kuhn, A. and Wattanakit, C. (2020), ACS Appl. Mater. Interfaces, 12 (32), 36548.