



Développement d'un microsystème étirable pour l'étude de l'activité électrique de cellules neuronales sous contrainte mécanique

Tiffany Baëtens

► To cite this version:

Tiffany Baëtens. Développement d'un microsystème étirable pour l'étude de l'activité électrique de cellules neuronales sous contrainte mécanique. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université de Lille, 2019. Français. $\langle$ NNT : 2019LILUI100 $\rangle$. $\langle$ tel-03196730 $\rangle$

HAL Id: tel-03196730

<https://hal.science/tel-03196730v1>

Submitted on 17 Mar 2022

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

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



HAL Authorization

**THESE POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
DE LILLE**

Spécialité Micro et Nanotechnologies, Acoustique et Télécommunications

Ecole doctorale Sciences pour l'Ingénieur

Présentée et soutenue par

Tiffany Baëtens

Développement d'un microsystème étirable pour l'étude de
l'activité électrique de cellules neuronales
sous contrainte mécanique

Soutenue publiquement le 06/12/2019

Rapporteurs :	Mme France Le Bihan	Professeure, IETR, Université de Rennes 1
	Mr Benoît Charlot	Chargé de recherche CNRS, IES, Université de Montpellier
Directrice de jury :	Mme Sabine Szunerits	Professeure, IEMN, Université de Lille
Examineurs :	Mr Sylvain Gabriele	Associate Professor, ICF Lab, Université de Mons
	Mr Rian Seghir	Chargé de recherche CNRS, GeM, Université de Nantes
	Mme Virginie Dégardin	Professeure, IEMN, Université de Lille
Invités :	Mme Sophie Halliez	Maître de conférences, JPARC, Université de Lille
Directeurs :	Mr Vincent Thomy	Maître de conférences, IEMN, Université de Lille
	Mr Steve Arscott	Directeur de recherche CNRS, IEMN, Université de Lille
Encadrant :	Mr Emiliano Pallecchi	Maître de conférences, IEMN, Université de Lille

**THESE POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
DE LILLE**

Spécialité Micro et Nanotechnologies, Acoustique et Télécommunications

Ecole doctorale Sciences pour l'Ingénieur

Présentée et soutenue par

Tiffany Baëtens

Développement d'un microsystème étirable pour l'étude de
l'activité électrique de cellules neuronales
sous contrainte mécanique

Soutenue publiquement le 06/12/2019

Rapporteurs :	Mme France Le Bihan	Professeure, IETR, Université de Rennes 1
	Mr Benoît Charlot	Chargé de recherche CNRS, IES, Université de Montpellier
Directrice de jury :	Mme Sabine Szunerits	Professeure, IEMN, Université de Lille
Examineurs :	Mr Sylvain Gabriele	Associate Professor, ICF Lab, Université de Mons
	Mr Rian Seghir	Chargé de recherche CNRS, GeM, Université de Nantes
	Mme Virginie Dégardin	Professeure, IEMN, Université de Lille
Invités :	Mme Sophie Halliez	Maître de conférences, JPARC, Université de Lille
Directeurs :	Mr Vincent Thomy	Maître de conférences, IEMN, Université de Lille
	Mr Steve Arscott	Directeur de recherche CNRS, IEMN, Université de Lille
Encadrant :	Mr Emiliano Pallecchi	Maître de conférences, IEMN, Université de Lille

« A force de croire en ses rêves, l'homme en fait une réalité ! »

Hergé

Résumé

Alors que 50 millions de personnes souffrent de traumatismes crâniens chaque année dans le monde entier, le choc (stress mécanique externe) engendré à cette occasion sur le réseau neuronal peut amener à l'apparition de lésions cérébrales traumatiques. A moyen et long terme, ce processus peut entraîner une neuro-inflammation et la manifestation de pathologies telles que la maladie de Parkinson ou d'Alzheimer. Ce travail de doctorat a pour objectif de développer un microsystème étirable pour l'étude électro-mécanique de réseaux de neurones *in vitro*. Un tel microsystème doit intégrer des électrodes isolantes, mécaniquement robustes sur support étirable.

La première partie de ce travail a consisté en l'étude de la métallisation directe sur PDMS par masquage physique. Ensuite, une couche mince de la résine photosensible 'SU-8' a été intercalée entre le PDMS et les métaux permettant ainsi de rigidifier les lignes métalliques et déplacer la contrainte mécanique vers le support de PDMS. Afin d'éviter toute fissure sous contrainte mécanique, l'architecture et l'orientation des électrodes ont été étudiées et validées par un modèle physique.

Dans un deuxième temps, un microsystème PDMS/SU-8/Cr-Au/Parylène a ensuite été fabriqué par photolithographie via une technologie planaire. Compatible avec le dispositif commercial MultiChannel System©, il permet de visualiser et d'enregistrer les influx nerveux d'un réseau neuronal mature. Pour la fabrication du microsystème étirable, un procédé de microfabrication complet a été développé pour 3 étapes de photolithographie sur PDMS. Les électrodes réalisées présentent un ratio signal/bruit comparable aux MultiElectrode Array (MEA) commerciaux. La fonctionnalité de ce microsystème a été validée par la visualisation de réponses électriques d'un réseau neuronal au bout de 12 jours *in vitro* (DIV).

Mots clés : microtechnologie, microsystème, électrodes étirables, SU-8, PDMS, réseaux de neurones biologiques.

Abstract

50 million people suffer from head trauma each year worldwide. The shock (external mechanical stress) acting on neural networks insided the brain can lead to the appearance of traumatic brain injuries (TBI). In the short term and long term, this process can lead to neuroinflammation and the manifestation of pathologies such as Parkinson's disease or Alzheimer's disease. This thesis aims to develop a stretchable microsystem for the electromechanical study of neural networks *in vitro*. Such a microsystem must integrate insulated electrodes which are mechanically robust on the stretchable support.

The first part of this work consisted in studying the direct metallization on PDMS using physical masking. Next, a patterned photoresist (SU-8) thin film was then used between the PDMS and the metals. The stiff SU-8 shields the metallization from strain—which now occurs in the adjacent PDMS. In order to avoid cracks under mechanical stress, the architecture and orientation of the electrodes has been studied and validated by a physical model.

The second part was the fabrication of a PDMS/SU-8/Cr-Au/Parylene stretchable microsystem by photolithography using a planar process developed during the thesis work. The microsystems is compatible with MultiChannel System© commercial device which allows the visualization and recording the nerve impulses of a mature neural network. A microfabrication process has been developed with 3 photolithography steps on a PDMS substrate. This microsystem demonstrates a comparable signal/noise ratio compared to commercial MultiElectrode Array (MEA). The functionality of the microsystem has been validated by the visualization of electrical responses of neural network at 12 days *in vitro* (DIV).

Keywords : microtechnology, microsystem, stretchable electrodes, SU-8, PDMS, biological neuronal network.

Remerciements

Il y a quelques années je ne pensais pas faire une thèse, l'opportunité s'est présentée et voici où j'en suis après 3 ans. La recherche est un domaine à part entière : les découvertes, les connaissances acquises et apprises, les réussites mais aussi les échecs.

Je considère personnellement que le doctorat n'est pas la fin des études, mais réellement le début d'une longue aventure dans la recherche, avec ses hauts et ses bas. Le questionnement quotidien m'a permis de savoir pourquoi je veux faire ce métier. Ce n'est pas donc pas évident tous les jours et le soutien est une donnée primordiale lors d'une thèse, où l'on se découvre au fur et à mesure des années, où l'on mûrit. Les discussions avec les collègues sont également essentielles et l'ambiance dans l'équipe m'a permis de passer trois années formidables. C'est pourquoi ce labo et cette équipe me manqueront et resteront un très bon souvenir.

Pour démarrer, je remercie l'Université de Lille ainsi que Lionel Buchaillet le directeur de l'IEMN pour m'avoir permis de réaliser ma thèse et de m'avoir accueillie dans le laboratoire.

Je remercie les membres du jury d'avoir accepté d'étudier et de juger mon travail de thèse, ainsi que leurs efforts pour être présents le jour de ma soutenance. Merci à la Professeure Sabine Szunerits pour avoir accepté d'être la directrice de mon jury, à la Professeure France Le Bihan et au Docteur Benoît Charlot pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse, ainsi que le Professeur Sylvain Gabriele, le Docteur Rian Seghir et la Professeure Virginie Dégardin pour avoir accepté d'être les examinateurs de mon jury.

Je remercie également Yannick Coffinier, Anna Susloparova, Sophie Halliez, Thomas Dargent et Fabien Alibart pour les réunions scientifiques qui m'ont permis d'avancer sur ma thèse. Je remercie également Sylvain Gabriele pour les réunions qui ont permis de faire avancer notre réflexion sur mon sujet de thèse.

Merci aux personnes du laboratoire qui m'ont aidée dans mes recherches et dans les démarches administratives, entre autres Guillaume, Annie, Nora, Andy et Valérie.

Merci également à l'équipe BioMEMS de m'avoir accueillie, Anthony, Céline, Jérôme, Aude, Alexis et Thomas. Les petits déjeuners du vendredi matin me manqueront.

Je tiens à remercier très sincèrement mes chefs, Vincent Thomy mon directeur de thèse, Steve Arscott mon co-directeur de thèse et Emiliano Pallecchi mon encadrant. Travailler avec vous durant 3 ans a été un réel plaisir pour moi !

Vincent, je t'ai connu d'abord en tant que prof, et ensuite en tant que chef. Tu m'as permis d'effectuer cette thèse dans ton équipe, tu m'as également fait découvrir le travail d'enseignement, merci pour tout ce que tu m'as appris.

Emiliano, merci pour toutes les discussions scientifiques, les corrections des articles et de ma thèse. Je savais qu'il y aurait toujours des corrections avec toi ! Mais elles ont toujours été utiles et pertinentes, j'ai beaucoup appris grâce à toi.

Steve, je ne compte plus les heures que nous avons passées ensemble ! Ta bonne humeur, ta curiosité scientifique, ta soif de découverte mais également ton accent anglais m'ont ravie durant 3 ans. Le travail en salle blanche avec toi était très agréable. Nos discussions scientifiques mais également de séries TV, de vacances, de, famille, que ce soit dans les couloirs, devant la machine à café, dans ton bureau ou le mien, étaient vraiment sympas ! Même si quand je rentrais dans ton bureau, je ne savais jamais quand je repartirais ! Je garderai en mémoire les quelques anecdotes que nous avons vécues, comme un problème de plaque chauffante, ou une pipette trop puissante ! Tu m'as beaucoup appris scientifiquement mais aussi humainement. Je savais que je pouvais compter sur toi, donc encore merci pour tout cet apprentissage complet que tu m'as donné durant ces 3 belles années à tes côtés !

Venons-en aux collègues à présent !

D'abord, je remercie Martha qui a été ma seule collègue de bureau pendant deux ans, nos discussions étaient toujours apaisantes et rigolotes.

Merci à Marine pour ta bonne humeur et ton humour qui me faisaient du bien tous les midis !

Merci à Flavie pour ton expertise ainsi que pour tes conseils et discussions, scientifiques ou non !

Merci à Antho pour tes conseils et ton aide, tu es toujours très serviable et de bonne humeur, l'équipe a de la chance de t'avoir.

Merci à Aude, toutes les discussions que nous avons eues ensemble étaient toujours très sympas, je savais que je pouvais discuter de tout et de rien avec toi et ça me faisait du bien. Tu m'as également soutenue et aidée quand il le fallait.

Merci à Justine qui m'a aidée les premières années de ma thèse, le soutien mutuel a bien fonctionné.

Merci à Marie, Alex et Clara, les « Madames bio », pour votre bonne humeur et votre joie de vivre qui aident toujours à un moment donné !

Merci également à Hélène pour tes conseils, ton écoute lors de nos pauses clopes ! Tu arrivais également à me remonter le moral « c'est vraiment la dernière ligne droite » même dans les moments difficiles !

Merci à Seb arrivé à la fin, même si on avait entendu parler de toi bien avant ! Le courant est vite passé, je suis très contente de t'avoir connu durant ma thèse. Merci pour le soutien que tu as pu m'apporter avec ton expérience ainsi que tes conseils ! Les fous rires et blagues qui arrivaient n'importe quand dans la journée me manqueront !

Merci à ma p'tite Céline qui a été un soutien indéfectible durant ces 3 ans ! Tu es une grande partie de l'équipe à toi toute seule. Ton caractère franc et direct m'a plu rapidement, mais également ton grand cœur tout en chocolat ! Tu as été très importante pour moi, et tu me manqueras énormément !

Enfin, la seule personne que je voyais quotidiennement et qui a toujours été là, c'est ma Léanna. Nous sommes arrivées ensemble dans le laboratoire, sans savoir que nous étions parties pour une aventure qui durerait 3 ans. Tu es devenue bien plus qu'une collègue, à présent tu es une amie, une confidente et un soutien. Même si ça n'a pas toujours été facile, notre complicité nous a permis de toujours passer une bonne journée ! Tous ces repas passés ensemble, à

discuter, rire, parfois râler (et oui ça arrive) étaient certainement le meilleur moment de la journée. Tu vas me manquer énormément au travail, car de toute façon on continuera à se voir !

Je finirai par remercier les personnes qui ont toujours été présentes pour moi, ce sont mes proches. Tout d'abord une petite pensée pour mes grand-mères, qui, j'en suis certaine, m'ont encouragée de là-haut.

Je remercie mes parents de m'avoir soutenue tout le long de mon parcours. Merci à ma mère de m'avoir écoutée et épaulée quand j'en avais besoin, et mon père qui a essayé de comprendre ma thèse durant mes 3 ans ! Vous m'avez toujours apporté le soutien quand il le fallait, et pour cela merci encore.

Merci à ma sœur Alix et mon frère Corey qui m'ont toujours dit qu'ils étaient fiers de moi, vous avez été d'un grand soutien.

Merci également aux ABCD qui ont toujours porté de l'intérêt à ma thèse et qui m'ont soutenue jusqu'au bout.

Merci également à ma belle-famille, Guilou, Patrick, Ninie, Franck, Benj et Fanny ainsi que leurs loulous, qui m'ont soutenue, épaulée et écoutée quand j'en avais besoin.

Merci aussi à mes amis, mon p'tit Beirns qui est un soutien sans faille, Vincent qui a toujours le mot pour rire, même dans la lune, mais aussi Rémi, BenJ, Popo, Thierry, Amandine et Caro.

Pour finir, et pas des moindres, un grand merci à mon chéri, Sam. C'est grâce à toi que j'ai fait une thèse, c'est toi qui m'as poussée à aller jusqu'au bout malgré certains sacrifices. Tu as toujours été là pour moi, à m'écouter, m'épauler, me soutenir, me rebooster et aussi à m'encourager, surtout après 15 répétitions ! Dans les moments difficiles et de doutes, tu as toujours réussi à me montrer le positif, à relativiser pour aller de l'avant.

J'ai cru en mes rêves, j'en ai fait MA réalité.

Table des matières

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre I. Le traumatisme crânien : enjeux et perspectives d'étude	5
--	----------

1. Contexte global	6
1.1. Définition, causes et facteurs de risque des traumatismes crâniens	6
1.2. Les conséquences à long et court terme	7
2. Méthodes d'étude des traumatismes crâniens	9
2.1. Les approches « <i>in vivo</i> »	9
2.1.1. Macro systèmes provoquant un choc	10
2.1.2. Microsystèmes mesurant l'activité électrique du cerveau	10
2.2. Les systèmes « <i>in vitro</i> »	12
2.2.1. Les différentes approches de lésions	12
2.2.1.1. Les approches quasi-statiques	13
2.2.1.2. Les approches dynamiques.....	14
2.2.2. Le MEA : interface entre neurones et circuits électroniques.....	14
2.2.2.1. Intérêt de l'utilisation du système MEA	15
2.2.2.2. Les caractéristiques du MEA	15
2.2.2.3. Les chambres de culture du MEA 2100©	17
2.2.2.4. Présentation de l'interface du logiciel MEA 2100©	18
2.2.3. Avantages des microsystèmes	19
3. Etat de l'art des microsystèmes déformables.....	19
3.1. Modes de déformation d'un substrat.....	20
3.2. Récapitulatif des électrodes étirables	20

3.3. Microsystèmes étirables avec électrodes conductrices	22
4. Approche choisie : un microsystème étirable pour l'étude des traumatismes crâniens..	27
4.1. Adaptation de la microfabrication pour un système étirable biocompatible.....	27
4.1.1. Propriétés du substrat.....	28
4.1.2. Propriétés des matériaux.....	28
4.2. Description générale du système et spécifications requises.....	29
4.3. Approche pour la microfabrication	29
4.4. Choix des matériaux.....	30
4.4.1. Choix de support : le polydiméthylsiloxane (PDMS)	30
4.4.2. Choix des matériaux conducteurs.....	30
4.4.3. Choix des matériaux isolants	31
4.4.4. Matériaux rigides intermédiaires à disposition.....	31
4.5. Compatibilité avec le MEA 2100©.....	31
4.6. Démarche fondamentale.....	33
4.7. Protocole envisagé	33
Conclusion.....	35
Bibliographie	37

Chapitre II. Fabrication et caractérisation électromécanique d'interconnexions métalliques sur PDMS..... 41

1. Introduction.....	42
2. Etude de la fabrication d'interconnexions conductrices sur PDMS	42
2.1. Mise en œuvre du PDMS	42
2.1.1. Préparation du PDMS	42
2.1.2. Choix de l'épaisseur du PDMS.....	43
2.1.3. Modification de surface du PDMS	44

2.2.	Dépôt d'or directement sur PDMS.....	45
2.2.1.	Choix de métal.....	45
2.2.2.	Structuration des interconnexions par masque physique.....	45
2.2.3.	Méthode de dépôt par évaporation sous vide	46
2.2.4.	Résultat de la métallisation d'or directement sur PDMS.....	48
2.3.	Dépôt d'or sur différentes couches d'accroches	48
2.3.1.	Caractéristiques de différents types de métaux	49
2.3.2.	Etude des conditions d'apparition des fissures de procédé	49
2.4.	Influence de l'épaisseur de la couche d'adhésion de chrome	50
3.	Etude sous contrainte mécanique d'interconnexions métallisées sur PDMS	52
3.1.	Présentation du matériel d'étirement	53
3.2.	Mise en place de l'échantillon sur le dispositif d'étirement	54
3.3.	Distinction entre l'étirement global et local.....	55
3.4.	Etude de lignes métalliques orientées longitudinalement par rapport à l'étirement ..	56
3.4.1.	Evolution des fissures d'étirement	57
3.4.2.	Evolution de la largeur des fissures	58
3.4.3.	Evolution moyenne de longueur de mesas et de densité de fissures	60
3.4.4.	Contournement de l'impasse technologique.....	63
3.5.	Etude et tests électromécaniques de lignes métalliques orientées transversalement par rapport à l'étirement.....	63
3.5.1.	Observation du comportement des lignes métalliques	63
3.5.2.	Matériel pour la caractérisation électrique	65
3.5.3.	Résumé des caractéristiques électromécaniques expérimentales	65
3.5.4.	Modèle de conduction utilisant les sondes de faible rayon de courbure	68
3.5.5.	Modèle de conduction utilisant les sondes à large rayon de courbure	70
3.5.6.	Bénéfices de l'effet Poisson.....	72

Conclusion.....	74
Bibliographie	76

Chapitre III. Technologie SU-8/PDMS métallisée pour des interconnexions sur substrat étirable 79

1. Introduction.....	80
2. Une résine photosensible : la SU-8.....	81
3. Microfabrication pour le renforcement des interconnexions métallisées sur PDMS	82
3.1. Choix du matériel, des matériaux et leurs propriétés.....	82
3.1.1. Matériaux choisis.....	82
3.1.2. Masques mécaniques	83
3.1.3. Matériel électromécanique utilisé.....	84
3.2. Procédé de microfabrication par masque physique.....	84
3.3. Procédé technique d'une membrane de SU-8	86
3.4. Métallisation de la membrane de SU-8.....	87
4. Résultats expérimentaux	88
4.1. Motifs topographiques résultant des procédés avant étirement	88
4.1.1. Structure en ponts : délamination de la SU-8 du PDMS	89
4.1.2. Structure en plissement ou vagues.....	90
4.1.2.1. Observation sur des lignes.....	90
4.1.2.2. Observation sur de grandes surfaces	90
4.2. Etirement mécanique des échantillons	91
4.2.1. Lignes métallisées orientées transversalement par rapport à l'étirement	91
4.2.2. Plots de contact.....	94
4.2.3. Lignes métallisées orientées sous différents angles par rapport à l'étirement..	96
4.2.3.1. Observations optiques	96

4.2.3.2.	Cartographie de l'étirement appliqué.....	98
4.2.3.3.	Caractéristiques électriques.....	99
4.2.4.	Modèle sur le comportement des lignes métallisées de différentes orientations	103
Conclusion.....		109
Bibliographie.....		111

Chapitre IV. Procédé de microfabrication par photolithographie pour des interconnexions encapsulées et des électrodes sur substrat étirable..... 115

1.	Introduction.....	116
2.	Procédé de microfabrication complet	117
3.	Techniques de libération du système final d'une plaquette de silicium	119
3.1.	Préparation de la surface de silicium pour faciliter la libération de la membrane de PDMS	119
3.1.1.	Traitement de surface à l'aide d'un plasma CHF ₃	119
3.1.2.	Résine photosensible comme couche sacrificielle : l'AZ 1518.....	120
4.	Etude d'un dépôt de PDMS sur plaquette de silicium	121
4.1.	Dépôt de PDMS par enduction centrifuge	121
4.2.	Profils de PDMS pour une même vitesse mais avec un temps de planarisation différent	125
4.3.	Paramètres choisis pour la membrane de PDMS	126
5.	Réalisation de motifs de SU-8 2002 par photolithographie.....	126
6.	Métallisation localisée de la SU-8	129
6.1.	Réalisation d'un profil casquette.....	129
6.2.	Métallisation de la bicouche Cr/Au.....	130
6.3.	Lift-off de Cr/Au	130
7.	Dépôt de parylène	132

8.	Masquage et gravure du parylène à l'aide d'une résine photosensible.....	134
9.	Libération de la membrane de PDMS de la plaquette de silicium.....	139
9.1.	Utilisation du CHF ₃	139
9.2.	Utilisation d'une résine photosensible sacrificielle.....	140
10.	Design de l'anneau de PDMS étirable contenant le matériel biologique	140
	Conclusion.....	142
	Bibliographie	143

Chapitre V. Réalisation d'un microsysteme étirable pour l'étude des traumatismes crâniens 145

1.	Introduction.....	146
2.	Etude de la biocompatibilité des matériaux utilisés.....	146
2.1.	Etat de l'art de la biocompatibilité des matériaux utilisés	146
2.2.	Description de la préparation des substrats.....	148
2.2.1.	Préparation des substrats avec la résine SU-8 2002	148
2.2.2.	Culture cellulaire	149
2.2.3.	Tests d'activité métabolique et de mort cellulaire.....	150
2.2.4.	Imagerie de la culture cellulaire	150
2.2.5.	Résultats expérimentaux.....	151
3.	Microsysteme étirable pour la problématique des traumatismes crâniens	153
3.1.	Design du microsysteme complet.....	153
3.2.	Réalisation du microsysteme complet par la technologie planaire	156
3.2.1.	Les plots de contact.....	156
3.2.2.	Agencement des interconnexions	157
3.2.3.	Electrodes.....	157

3.2.4. Electrode de référence	158
3.3. Finalisation du microsystème.....	159
3.3.1. Découpe du microsystème	159
3.3.2. Collage du puits de PDMS et décollement du microsystème de la plaquette de silicium	160
4. Protocole biologique	160
4.1. « Coating » : traitement de surface.....	161
4.2. Culture cellulaire.....	161
4.3. Ensemencement des microsystèmes	161
4.4. Préservation des cultures cellulaires sur les microsystèmes	162
5. Résultats expérimentaux	162
5.1. Compatibilité de notre microsystème avec le MEA 2100©	162
5.2. Visualisation et enregistrement de signaux électriques de réseaux neuronaux sur le microsystème.....	164
5.2.1. Mise en place des dispositifs dans le MEA 2100©	164
5.2.2. Mesures des signaux électriques du réseau neuronal dans le MEA 2100© ...	165
5.2.3. Hypothèse et interprétation.....	168
5.2.4. Réutilisation des microsystèmes.....	168
5.3. Problèmes rencontrés	169
Conclusion.....	170
Bibliographie	171
Conclusion générale & perspectives	173

Annexes	179
Annexe A	Vérification des épaisseurs de métaux par Microscopie à Force Atomique (AFM) 179
Annexe B	Etude comparative sous contrainte mécanique des différentes couches d'accroche (Ni, Ti, Cr) 180
Annexe C	Courbes de probabilité normale des données expérimentales 182
Annexe D	Courbes de densité des fissures en fonction de l'épaisseur de chrome et de l'étirement appliqué 184
Annexe E	Valeurs tabulaires des Figure II-13 et Figure II-14..... 185
Annexe F	Courbes de coefficient de variation 187
Annexe G	Courbes courant-tension typiques de lignes métalliques orientées transversalement par rapport à l'étirement sur PDMS..... 189
Annexe H	Influence d'un bourrelet sur une surface de PDMS pour des étapes de photolithographie 190
Annexe I	Valeurs tabulaires de la Figure V-3 193

Introduction générale

L'électronique étirable est aujourd'hui un domaine de recherche émergent, qui suscite un vif intérêt pour la fabrication de dispositifs électroniques déformables. Une partie de l'électronique du futur sera probablement pliable et étirable pour répondre à des applications qu'il sera impossible d'atteindre par l'électronique rigide actuelle basée sur la filière silicium et la filière III-V. En utilisant l'élasticité des polymères, des circuits électroniques souples sont déjà en train d'émerger. Que ce soit pour la recherche applicative ou fondamentale, à la fois dans le monde académique et dans le monde industriel, des efforts sont déployés pour obtenir des matériaux fonctionnels extrêmement déformables et en particulier pour réaliser des électrodes extensibles. En travaillant à l'interface de plusieurs disciplines, les possibilités sont infinies avec par exemple des batteries flexibles, des tissus intelligents, la robotique molle ou encore des implants biomédicaux souples.

L'alliance entre la biologie et l'électronique étirable pourrait jouer un rôle dans la médecine des prochaines années. Afin d'être au plus proche de l'humain et dans la capacité de le mimer au mieux, les dispositifs doivent être déformables, tout comme la peau, les organes ou encore les cellules. Ainsi le cerveau est un organe particulièrement intéressant à étudier mais difficile d'accès. Au travers des multiples signaux électriques qui le parcourent, il est source de nos émotions, nos mouvements, nos réflexions, de notre identité mais il est également de nature très fragile du fait de sa substance molle. En étant protégé par la boîte crânienne, il reste difficile d'y accéder sans causer de lésions telles que la craniectomie ou la trépanation. Le développement de systèmes *in vitro* comprenant des électrodes étirables pourrait être une solution pour la recherche et l'analyse du cerveau ainsi que de maladies neurodégénératives qui s'y développent. Les causes de ces maladies sont multiples, elles peuvent être, entre autres, d'origine génétique, environnementale ou dues à un traumatisme crânien.

Le traumatisme crânien est d'ailleurs un important problème de santé publique et un problème social dans le monde entier. La première cause est représentée par les accidents de la voie publique. Ils touchent toutes les générations, c'est une des causes majeures de mortalité et de morbidité chez les jeunes enfants, première cause de mortalité chez les 15-25 ans, première cause de handicap sévère chez les moins de 45 ans. Les dommages engendrés peuvent avoir des implications sur les fonctions biologiques à court et à moyen ou long terme, amener à l'apparition de lésions cérébrales traumatiques. Les principales lésions sont provoquées par

l'accélération et la décélération du cerveau dans la boîte crânienne, ce qui provoque un étirement et des lésions au niveau des neurones.

Une compréhension plus fine des mécanismes biologiques impliqués dans les traumatismes crâniens est importante pour le développement de traitements potentiels ainsi que pour la prévention afin d'assurer un avenir plus sain pour les personnes atteintes de cette pathologie. Cela permettrait à court et/ou long terme :

- la détection précoce d'une potentielle maladie neurodégénérative suite à un traumatisme crânien,
- le criblage pour de nouveaux médicaments, ou encore
- le lien entre l'évolution d'une maladie neurodégénérative et la prise de médicament.

Le but de cette thèse est le développement d'un microsystème étirable pour l'étude électromécanique de réseaux de neurones *in vitro*. Ce microsystème comprend des électrodes extensibles afin de visualiser et d'enregistrer les influx nerveux d'un réseau neuronal.

Il faut noter qu'il s'agit de la première thèse sur ce sujet à l'IEMN. En effet la genèse de ce travail est issue d'échanges avec Sylvain Gabriele (Ass. Prof., Interface and Complex Fluids Laboratory, Université de Mons-Belgique) qui avait déjà étudié, au moyen de pinces magnétiques, la réponse mécanique et les propriétés rhéologiques de neurones [1]. D'autre part, les expérimentations biologiques effectuées dans cette thèse ont été menées dans le cadre d'un partenariat avec le Centre de Recherche Jean-Pierre Aubert (JParc, UMR-S 1172 Inserm Lille) par le biais de Sophie Halliez. Ce laboratoire s'intéresse, entre autres, aux mécanismes cellulaires physiopathologiques impliqués dans les tauopathies. Les cultures cellulaires présentées dans cette thèse ont été faites dans le laboratoire JParc ainsi que les enregistrements de la réponse électrique des réseaux neuronaux (appareil commercial MultiElectrode Array - MEA 2100© de la société MultiChannel System©).

Dans ce contexte, ce travail de thèse a demandé dans un premier temps le développement d'interconnexions électromécaniquement robustes sur un support souple et étirable, ainsi que leurs caractérisations électrique et mécanique. Ensuite, le travail a été centré sur le développement d'un prototype de microsystème complet, étirable, compatible avec une culture de neurones et l'enregistrement de signaux électriques.

Le manuscrit est organisé en 5 chapitres. Dans le Chapitre I nous aborderons les enjeux, les perspectives sur l'étude des traumatismes crâniens ainsi que notre approche concernant cette

problématique. Nous présenterons quelques systèmes *in vivo* ou *in vitro* qui se trouvent dans la littérature — ainsi que leurs limites afin de comprendre la nécessité d'utiliser les micro et nanotechnologies et l'électronique étirable pour respecter le cahier des charges.

Dans le Chapitre II nous étudierons le comportement d'électrodes obtenues à l'aide de différents métaux déposés sur substrat étirable par masquage physique. Cette étude permettra de choisir les métaux les mieux adaptés pour notre microsystème. En positionnant les électrodes longitudinalement par rapport à la contrainte mécanique, des fissures d'étirement seront observées sur les échantillons. Nous verrons le rôle important des fissures dans les microsystèmes étirables en analysant la densité et la largeur des fissures en fonction de la contrainte mécanique appliquée. Les électrodes seront par la suite orientées transversalement par rapport à l'étirement afin de les caractériser optiquement et électriquement. Nous montrerons le bénéfice de l'effet Poisson qui induira un phénomène d'auto-réparation.

Dans le Chapitre III nous présenterons une solution permettant de pallier aux fissures dans les électrodes. Pour cela nous ajoutons une couche mince robuste de résine photosensible (la SU-8) intercalée entre le PDMS et les métaux permettant de rigidifier les électrodes. L'absence de macro et microfissures nous permet d'obtenir une résistivité des électrodes proche de l'or évaporé et stable au cours de l'étirement appliqué. L'orientation des lignes par rapport à la contrainte appliquée a également été modélisée afin de connaître le degré de liberté quant au design et à l'organisation des électrodes métalliques.

Le Chapitre IV exposera le procédé complet de microfabrication pour nos microsystèmes étirables. Ce procédé a été développé pour trois étapes successives de photolithographie sur substrat étirable, une technique encore peu étudiée dans la littérature. La technique de photolithographie a été choisie afin de bénéficier de tous les avantages de l'approche photolithographique — notamment une meilleure résolution et une plus grande versatilité pour la microfabrication.

Enfin dans le Chapitre V nous présenterons la conception et le design des microsystèmes étirables pour l'étude de réseaux neuronaux. La biocompatibilité des matières utilisées sera étudiée et exposée ainsi que la compatibilité des microsystèmes avec l'appareil MEA 2100©. Pour finir, les résultats expérimentaux seront présentés en validant notre microsystème par la visualisation de réponses électriques du réseau de neurones sur le microsystème au bout de 12 jours *in vitro*.

Chapitre I.

Le traumatisme crânien : enjeux et perspectives d'étude

1. *Contexte global*

1.1. *Définition, causes et facteurs de risque des traumatismes crâniens*

Un traumatisme crânien (Traumatic Brain Injury ou TBI en anglais) est un choc au crâne plus ou moins violent pouvant conduire à des lésions cérébrales traumatiques. La gravité d'un traumatisme crânien dépend des lésions cérébrales qui en découlent.

Les traumatismes crâniens se produisent lorsque des dommages au cerveau ont été causés par une force extérieure. Une partie du cerveau subit dans ce cas des contraintes mécaniques pouvant dépasser sa limite d'élasticité. A partir d'un certain seuil de contraintes mécaniques, les neurones subissent une déformation et sont endommagés. On considère qu'une déformation d'une dizaine de pourcent (0-20%) des cellules neuronales, dans un laps de temps de la milliseconde à la seconde suffit pour provoquer un traumatisme crânien [2]. Le cerveau n'étant pas en contact direct avec le crâne, un impact violent provoque un choc du cerveau à l'avant puis à l'arrière du crâne. Cela peut être assimilé à une accélération et une décélération (coup et contrecoup) et provoque un étirement ou un cisaillement des axones¹ à l'intérieur du cerveau.

Les traumatismes crâniens peuvent être causés par un nombre d'actions plus ou moins violentes. Il en existe deux sortes. Les premiers, induits par impact, sont provoqués par un choc physique du cerveau dans la boîte crânienne et représentent 75% des blessures [3]. Les plus typiques étant dus à des accidents de voiture, des chutes, la pratique de sports de contact ou encore apparaissent chez des enfants secoués violemment. Les seconds, induits par un souffle, sont couramment observés chez les soldats lors d'ondes de choc provoquées par la déflagration de grenades ou d'explosions, voir Figure I-1. A noter que si tous les traumatismes crâniens sont des lésions cérébrales traumatiques, l'inverse n'est pas vrai.

Concernant les facteurs de risque, les enfants de moins de 4 ans, les jeunes adultes de 15 à 24 ans et les adultes de plus de 75 ans sont les plus à même de souffrir de traumatismes crâniens.

¹ L'axone est le prolongement du corps cellulaire du neurone. C'est à travers l'axone que les influx nerveux sous forme de signaux électriques appelés potentiels d'action sont transmis.

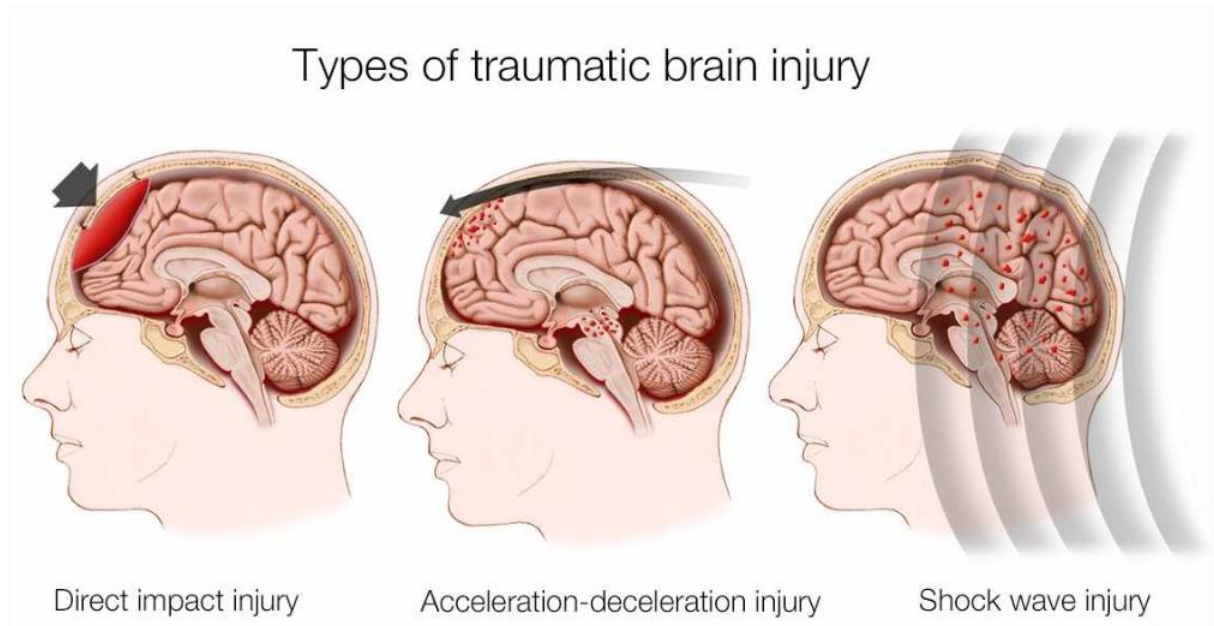


Figure I-1. Illustration des différents types de traumatismes crâniens. On relate un impact direct sur le crâne, une accélération et une décélération du cerveau dans la boîte crânienne, et enfin une onde de choc pouvant endommager le cerveau à l'intérieur de la boîte crânienne [4].

1.2. Les conséquences à long et court terme

Les traumatismes crâniens sont un important problème médical, de santé publique et un problème social dans le monde entier. Ils sont une cause majeure de mortalité et de morbidité chez les jeunes enfants [5]. En 2016, 82 000 décès et 2,1 millions de cas hospitaliers par an ont été dénombrés en Europe [6].

Les traumatismes crâniens peuvent être très différents. On distingue non seulement plusieurs types de traumatismes crâniens en fonction de leur niveau de gravité (léger, modéré et sévère) mais également différents types de lésions (extra ou intra-cérébrale) elles-mêmes pouvant être situées localement ou de manière diffuse. Les traumatismes crâniens sont classés comme légers, modérés ou sévères en fonction du niveau de conscience ou de l'échelle de Glasgow (GSC) après réanimation [7]. Dans la plupart des cas, les traumatismes cérébraux légers (GSC 13 à 15) sont des commotions cérébrales et le rétablissement neurologique est complet, bien que bon nombre de ces patients aient des difficultés de mémoire et de concentration à court terme. Dans le cas des traumatismes cérébraux modérés (GSC 9 à 12) le patient est léthargique ou engourdi et dans le cas d'une blessure grave (GSC ≤ 8), le patient est dans le coma, incapable d'ouvrir les yeux ou de suivre les ordres. Tous ces paramètres permettent ainsi de faire un diagnostic précis sur chaque patient. Il n'est donc pas aisé de

pouvoir étudier les traumatismes crâniens d'une manière unique, chaque traumatisme étant bien spécifique.

Ces dommages peuvent avoir des implications sur les fonctions biologiques à court et/ou long terme. Un traumatisme cérébral peut entraîner des conséquences physiques, cognitives, comportementales et émotionnelles. Même un traumatisme cérébral léger, y compris une commotion cérébrale, peut causer des problèmes à longue durée qui nuisent à la capacité d'une personne à accomplir des activités quotidiennes et à retourner au travail [8]. Ceci peut amener à une manifestation de processus pathologiques tels que l'apoptose², la rupture de la membrane cellulaire, une inflammation locale ou encore l'apparition de maladies comme Alzheimer ou Parkinson [9]–[11], voir Tableau I-1. De plus, les traumatismes crâniens peuvent amener à une augmentation du risque d'apparition d'autres problèmes pathologiques [8]. Des études récentes sur la population indiquent que de 1 à 3 ans après la blessure, par rapport à l'ensemble de la population, les personnes atteintes de traumatismes crâniens ont 1,8 fois plus de risque de déclarer une consommation occasionnelle excessive d'alcool [12] et sont plus susceptibles de développer des crises d'épilepsie [13]. Par ailleurs, de nouveaux problèmes de santé peuvent être associés au vieillissement. Ceux-ci comprennent 1,5 fois plus de risque de dépression [14], 2,3 et 4,5 fois plus de risque de déclarer la maladie d'Alzheimer associée à une blessure modérée et grave respectivement [15]. Une compréhension plus fine de ces mécanismes biologiques impliqués dans les traumatismes crâniens est importante pour le développement de soins, de traitements potentiels ainsi que pour la prévention.

Complications possibles	Apparition après blessure
Convulsions	24h à une semaine
Syndrome post-commotion cérébrale	Jours ou semaines
Epilepsie post-traumatiques	Plus d'une semaine
Hydrocéphalie	Premiers stades
Infections	Quelques semaines
Maladie d'Alzheimer	Quelques années
Maladie de Parkinson	Quelques années

Tableau I-1. Relation entre les effets à long et court terme et leurs temps d'apparition suite à des traumatismes crâniens.

² Processus de mort cellulaire programmée.

2. Méthodes d'étude des traumatismes crâniens

Afin de pronostiquer et d'étudier les traumatismes crâniens, l'imagerie médicale est primordiale. C'est pourquoi le monde de la recherche s'est longtemps intéressé à l'imagerie afin de déterminer les conséquences des traumatismes crâniens à l'aide de marqueurs biologiques et autres techniques [16], [17]. Néanmoins, une nouvelle approche a vu le jour avec la caractérisation électrique. En dénombrant pas moins de 86 milliards de neurones dans le cerveau humain, la communication entre les neurones via les influx nerveux est dense. L'influx nerveux est un phénomène de nature électrique qui se propage le long des neurones pour transmettre *l'information* telle que les commandes motrices du cerveau aux nerfs moteurs ou les messages des capteurs sensoriels. L'étude de l'activité électrique d'un tissu neuronal permet de connaître l'état de santé des cellules nerveuses.

En vue d'étudier le comportement biologique des neurones lorsqu'une contrainte mécanique est appliquée, une des manières d'appréhender le comportement des neurones est de mesurer l'activité électrique d'un réseau neuronal. Plusieurs approches sont alors possibles pour permettre de provoquer un choc. Pour cela, de nombreux systèmes *in vivo*³ et *in vitro*⁴ ont été développés, les deux méthodes étant complémentaires.

2.1. Les approches « *in vivo* »

Pour les approches *in vivo*, il faut distinguer la méthode permettant de provoquer le choc et les outils permettant de mesurer l'activité électrique suite à ce choc. Ceux-ci peuvent être complémentaires, mais ne sont généralement pas réunis en un même système. Les macro systèmes (dispositifs à l'échelle du cerveau) sont généralement utilisés pour induire un choc sur le cerveau de l'animal tandis qu'un micro système (dispositif à l'échelle de la cellule) peut être complémentaire pour permettre de mesurer l'activité électrique en l'apposant directement sur le cerveau à la suite du choc.

³ *In vivo* signifie en latin « au sein du vivant », soit à l'intérieur d'un organisme.

⁴ *In vitro* signifie en latin « dans le verre », soit en milieu artificiel.

2.1.1. *Macro systèmes provoquant un choc*

C'est le modèle animal, principalement le rongeur, qui est utilisé pour étudier les traumatismes crâniens *in vivo* [18]. Quatre approches spécifiques sont principalement utilisées :

- **Blessure à percussion liquide** [19] : le choc est infligé par un pendule heurtant le piston d'un réservoir rempli de liquide. Cela permet de générer une impulsion de pression de fluide.
- **Blessure par impact cortical contrôlé** [20] : dispositif à impact pneumatique ou électromagnétique pour entraîner un objet rigide.
- **Blessure par l'impact d'un poids** [21] : un poids chute directement sur le crâne de l'animal avec une pesée guidée.
- **Blessure par une explosion** [22] : utilisation d'un tube à choc entraîné par la compression pour simuler des effets de souffle.

2.1.2. *Microsystèmes mesurant l'activité électrique du cerveau*

L'équipe de Liang Guo *et al.* [23] a réalisé un microsystème intégré étirable sur support de polydiméthysiloxane plus communément appelé PDMS⁵. Ce microsystème peut faire l'interface entre des surfaces nerveuses et musculaires tout en étant connecté avec des composants électroniques standards, voir Figure I-2. Néanmoins, les électrodes présentent une impédance mesurée de 5,8 k Ω à 1 kHz et une rupture de conduction à des étirements compris entre 1 et 2%.

⁵ Le PDMS est un polymère étirable, transparent et biocompatible couramment utilisé dans les micro et nano technologies pour les applications biologiques.

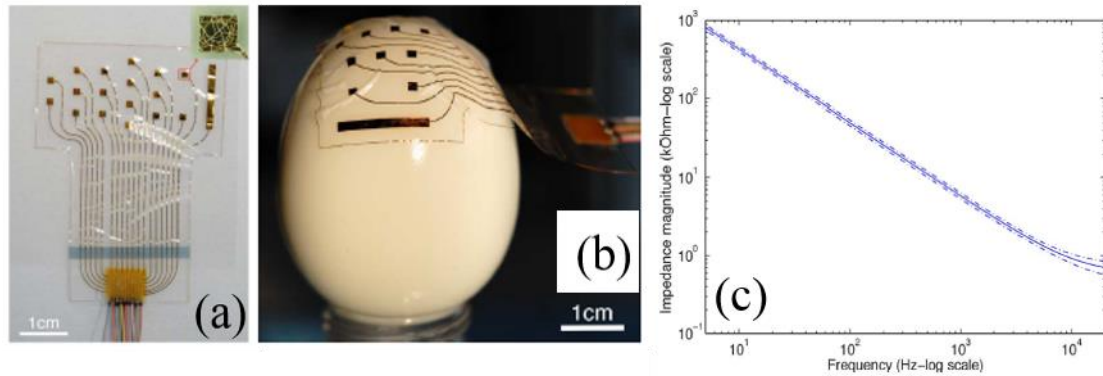


Figure I-2. Microsystème étirable intégré comprenant 16 électrodes. (a) La bande bleue est un résidu de substrat de PDMS épais sur lequel une couche anti-adhérente (films d'or d'une épaisseur de moins de 60 Å apparaissant en bleu) est déposée. L'excès du substrat de PDMS épais a été coupé par la suite. L'épaisseur totale du MEA étirable intégré est d'environ 60 μm . Dans l'encart on observe une vue rapprochée d'une électrode dont les rides apparaissent dans la structure du film or/PDMS. (b) Démonstration de la conformité de la surface du MEA. Celui-ci a été placé sur un œuf cuit (coquille retirée). (c) Spectre d'impédance des électrodes. Le diamètre des électrodes est de 1 mm et l'épaisseur du film d'or de 500 nm. La ligne continue représente le spectre moyen des 16 électrodes d'enregistrement et de l'électrode de référence, les lignes en pointillé représentent un écart-type par rapport à la moyenne. [23]

Cette même équipe a réalisé par la suite un système extensible permettant de faire l'interface neuronale utilisant un polymère conducteur [24], voir Figure I-3. Les électrodes conduisent jusqu'à un étirement de $22,8 \pm 1,6\%$ mais leur résistance augmente graduellement au cours de l'étirement, voir Figure I-3(b) et (c).

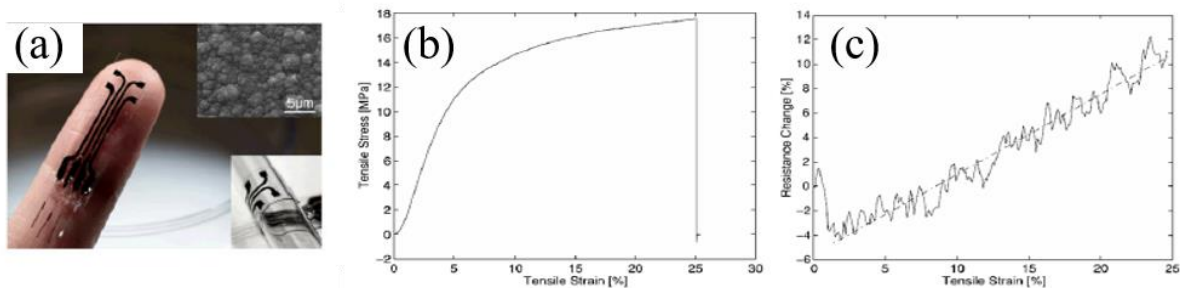


Figure I-3. Image d'un MEA sur polymère extensible. L'ouverture de l'électrode est de 1 mm de diamètre et les pistes font 0,5 mm de large. Encart du haut : image par microscopie électronique à balayage de la surface de l'électrode ; Encart du bas : le dispositif a été enroulé autour d'un embout de pipette en verre de 6,5 mm de diamètre. (b) et (c) présentent les tests électromécaniques des interconnexions étirables. (b) Courbe de la contrainte par rapport à la déformation d'une interconnexion étirable se cassant à 24,8% de déformation en traction. (c) Le trait continu représente la courbe de la résistance par rapport à la déformation de l'interconnexion étirable présentée en (b), la courbe a été lissée par une fonction linéaire (trait pointillé). On observe une diminution de la résistance de contact entre l'échantillon et les électrodes.

Ces approches peuvent être compliquées à mettre en place avec les réglementations sur les expérimentations animales, assez coûteuses car un animal équivaut à une expérience et une difficulté d'accéder aux tissus étudiés. De plus, de nombreuses différences physiologiques

peuvent entraîner des réactions sensiblement différentes au traumatisme et donc une répétabilité difficile entre animaux (espèce, sexe, âge...). Par ailleurs, le manque de précision et de contrôle de l'impact ne permet pas une bonne reproductibilité des expériences afin d'étudier les traumatismes crâniens. Enfin, les mesures spatiales et en temps réel des paramètres biologiques et mécaniques sont relativement compliquées. Il est donc difficile dans une approche *in vivo*, de contrôler et examiner précisément les blessures neurobiologiques. C'est pourquoi de nombreux chercheurs se sont tournés vers des systèmes *in vitro*.

2.2. Les approches « *in vitro* »

Les systèmes *in vitro* autorisent une autre approche. Tout d'abord et non des moindres, ils permettent un meilleur contrôle des conditions de lésions provoquées, ils ont besoin d'une faible quantité de cellules pour chaque expérience, un meilleur contrôle de l'environnement extracellulaire, ils sont mieux adaptés pour tester des hypothèses, ils permettent une meilleure reproductibilité et peuvent être modifiables en fonction du traumatisme étudié. Néanmoins, le modèle *in vitro* ne permettra pas de mimer la complexité de la biologie *in vivo* mais il permet de tester des hypothèses. Une étude a démontré que 88% des résultats *in vivo* ont été prédits par des modèles *in vitro*, ce qui démontre l'importance de ces systèmes pour l'étude des traumatismes crâniens [25].

2.2.1. Les différentes approches de lésions

En fonction de la pathologie étudiée, la manière de léser les cellules neuronales est importante. L'avantage des systèmes *in vitro* est la possibilité d'obtenir une bonne fiabilité, reproductibilité et efficacité. Plus précisément, les traumatismes crâniens peuvent être provoqués de manière statique ou dynamique. Morrison *et al.* ont publié un résumé sur les différentes approches de techniques de lésions [2], [25].

2.2.1.1. Les approches quasi-statiques

- **La section de neurones ou axotomie** : cette technique a l'avantage de pouvoir léser de manière précise — à l'aide d'une lame [26], d'un stylet [27] ou d'un laser, voir Figure I-4(a-b) — une partie d'un neurone sans endommager d'autres, elle est peu coûteuse et assez simple. Néanmoins, certaines variables mécaniques telles que la force appliquée, la contrainte ou encore le taux de contrainte sont difficilement contrôlables.
- **La compression d'un tissu** : en variant le poids, la taille, la durée et la vitesse de la compression, la sévérité de la blessure peut être changée, voir Figure I-4(c). Malgré cela, il est difficile de mesurer ces paramètres à l'endroit exact où la compression a été faite [28].
- **La pression hydrostatique** : cette technique diffère de la compression car une pression hydrostatatique stable est appliquée sur un temps donné [29], voir Figure I-4(d). Néanmoins, cette technique est moins représentative pour des traumatismes crâniens car le tissu cérébral possède la particularité d'être incompressible.

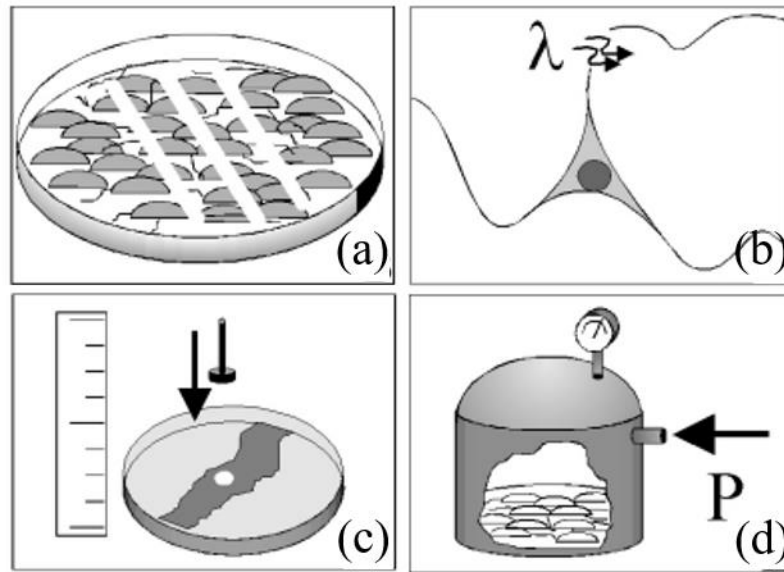


Figure I-4. Les approches quasi-statiques pour provoquer des traumatismes crâniens. (a) Section de neurones à l'aide d'un stylet. (b) Section d'un neurone à l'aide d'un laser. (c) Compression d'un tissu à l'aide d'un poids. (d) Pression hydrostatatique. Les flèches noires indiquent la contrainte appliquée sur l'échantillon. λ : longueur d'onde ; P : pression. [2]

2.2.1.2. Les approches dynamiques

- **L'accélération et la décélération** : l'accélération et la décélération représentent un des mécanismes clé des traumatismes crâniens, voir Figure I-5(a). Il est cependant difficile de mesurer au moment de ces deux phénomènes, la déformation exacte des cellules neuronales [30].
- **Le cisaillement hydrodynamique** : cette technique est moins représentative pour les traumatismes crâniens que la précédente, mais elle permet cependant de pouvoir appliquer une force hydrodynamique sur des cellules apposées sur un plateau tournant et de les visualiser sous un microscope [31], voir Figure I-5(b).
- **L'étirement des cellules** : lors d'un choc, les cellules neuronales et plus particulièrement les axones, subissent un étirement dans le cerveau. Cette technique permet d'avoir un bon contrôle sur la vitesse de déformation, tout en observant les cellules, mais également la possibilité d'avoir des mesures en temps réel [32], voir Figure I-5(c). Néanmoins, c'est une technique plus coûteuse et qui requiert un savoir technique sur les appareils utilisés.

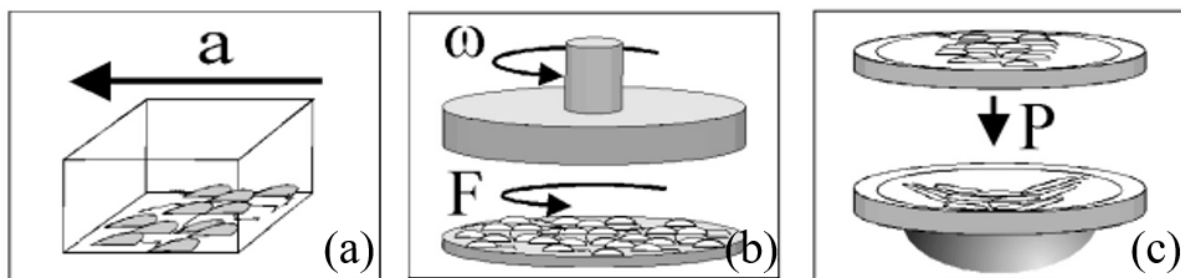


Figure I-5. Les approches dynamiques en *in vitro* pour provoquer des traumatismes crâniens. (a) Accélération et décélération. (b) Cisaillement hydrodynamique. (c) Etirement des cellules. Les flèches noires indiquent la contrainte appliquée sur l'échantillon. **a** : accélération ; **ω** : vitesse de rotation ; **F** : force ; **P** : pression. [2]

2.2.2. Le MEA : interface entre neurones et circuits électroniques

Ces dernières années, des outils commerciaux ont été développés par la société MultiChannel System© pour l'étude de réseaux neuronaux, un réseau de microélectrodes ou « MicroElectro Array » en anglais, communément appelé MEA. Ce système permet de mesurer l'activité électrique d'un réseau neuronal. Il est composé d'une plateforme de mesure qui permet d'interfacer un support, rigide en général, (réseau de microélectrodes sur lesquelles sont apposées les cellules) et d'une partie instrumentation dédiée au traitement du signal

électrique. Plusieurs géométries ont été développées pour permettre une grande variété d'applications comme les domaines de la neurobiologie et de l'électrophysiologie cardiaque. Un bon nombre de cellules ou tissus excitables peuvent être utilisés pour l'enregistrement extracellulaire *in vitro* ou *ex vivo*⁶ allant des neurones centraux ou périphériques jusqu'à la rétine en passant par les cellules musculaires. Compte tenu du contexte de mon travail, dans ce manuscrit, nous nous intéresserons au domaine de la neurobiologie.

2.2.2.1. Intérêt de l'utilisation du système MEA

Nous souhaitons développer un MEA étirable car cette technologie nous permettra d'étudier les TBI *in vitro* mais également parce que très peu de microsystèmes appropriés existent à l'heure actuelle sur le marché.

Dans ce projet, notre partenaire biologique (Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, UMR-S 1172 Inserm Lille) utilise le MEA commercial pour l'étude des mécanismes cellulaires physiopathologiques impliqués dans les tauopathies (elles-mêmes impliquées dans la maladie d'Alzheimer). C'est pourquoi nous avons conçu nos microsystèmes pour qu'ils soient compatibles avec l'instrumentation commerciale de référence. Ainsi, après avoir fabriqué notre dispositif, nous pourrions l'insérer dans un des deux compartiments du système MEA 2100© et ainsi observer et enregistrer les influx nerveux des cellules neuronales apposées sur notre microsystème.

A noter que deux versions de MEA flexibles existent, le FlexMEA et l'EcoFlexMEA. Ces deux MEA ont été développés pour des expériences *in vivo* et *in vitro*. Néanmoins leur support étant une feuille de polyimide, ces systèmes ne sont pas suffisamment déformables pour notre étude. A noter que d'autres outils permettent d'étudier des réseaux neuronaux, tels que la microfluidique⁷ [33].

2.2.2.2. Les caractéristiques du MEA

Le MEA est un dispositif contenant plusieurs électrodes permettant d'obtenir des signaux neuronaux, en faisant l'interface entre la matière biologique et des circuits

⁶ *Ex vivo* signifie en latin « hors du vivant », soit au plus proche de l'*in vivo* mais les tests sont effectués en dehors de l'organisme.

⁷ La microfluidique est la science et la technologie des systèmes manipulant de petits volumes de fluides (μL , nL).

électroniques. Les électrodes sont adressables et indépendantes et en contact direct avec le tissu neuronal. Ces électrodes permettent d'enregistrer les influx nerveux du réseau neuronal sans l'endommager sur une surface comprise entre 0.8 et 12 mm². Les signaux enregistrés sont ensuite amplifiés (par un amplificateur) et envoyés à l'ordinateur d'acquisition de données.

Le MEA utilisé par nos collaborateurs est le 60MEA200/30iR-Ti (NMI, Allemagne). Il est composé de 60 électrodes, voir Figure I-6. L'extrémité des électrodes et les contacts sont fabriqués en nitrure de titane (TiN) tandis que les connexions sont faites en titane. Elles sont disposées en forme de carré suivant un schéma de 8×8 présenté Figure I-6(a). Les plots de contact mesurent 2 mm de côté. L'électrode la plus large située à gauche du MEA est l'électrode de référence, le système n'est donc pas symétrique. L'électrode de référence permet de maintenir un potentiel invariant dans le milieu de culture. L'encapsulation des électrodes est faite à partir de nitrure de silicium sur l'ensemble du dispositif, mais ouverte sur l'extrémité des électrodes et l'électrode de référence. Les extrémités des électrodes qui seront en contact direct avec le tissu biologique sont séparées de 200 μm avec un diamètre de 30 μm . Le tissu biologique est déposé directement sur la zone d'enregistrement, zone centrale du MEA, voir Figure I-6(b). Le support est généralement du verre car transparent et biocompatible. Le niveau de bruit des électrodes est inférieur à 10 μV crête à crête. L'impédance des électrodes est inférieure à 100 k Ω .

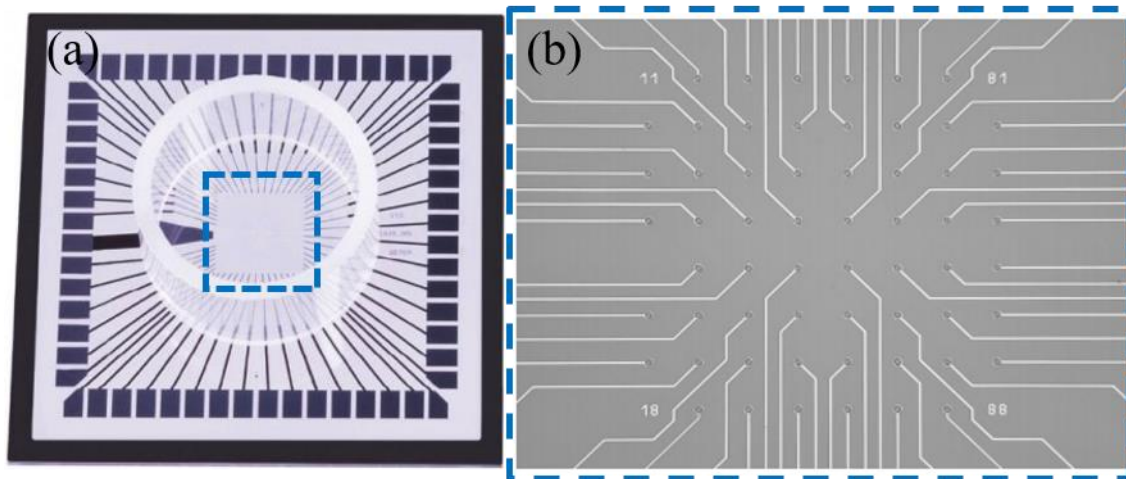


Figure I-6. Photographie d'un 60MEA200/30iR-Ti comprenant 60 électrodes reliées à des plots de contact. La large électrode située à gauche est l'électrode de référence. L'anneau central permet de recueillir le tissu biologique et donc le milieu de culture. L'ensemble du système est encapsulé par du nitrure de silicium mais ouvert sur l'extrémité des électrodes et sur l'électrode de référence. (b) Zoom des électrodes centrales du MEA. On observe qu'à l'extrémité de chaque électrode l'encapsulation est ouverte sur un diamètre de 30 μm pour permettre la connexion entre le réseau neuronal et les électrodes.

2.2.2.3. Les compartiments du MEA 2100©

La Figure I-7(a) présente le MEA 2100© capot ouvert avec ses deux compartiments vides. Les plaques métalliques dans les compartiments permettent de maintenir les cultures à une température fixe grâce à un contrôleur de température, généralement 37 °C pour les cellules. On aperçoit les broches de connexion permettant de faire la connexion entre le MEA 2100© et les plots de contact situés sur les dispositifs insérés dans les compartiments. La Figure I-7(b) présente le système MEA capot fermé avec les analyseurs de test de bruit, voir encart de la Figure I-7(b). Ils permettent de mesurer le bruit du système MEA sans signaux externes. Ils permettent de mesurer le bruit du système MEA sans signaux externes.

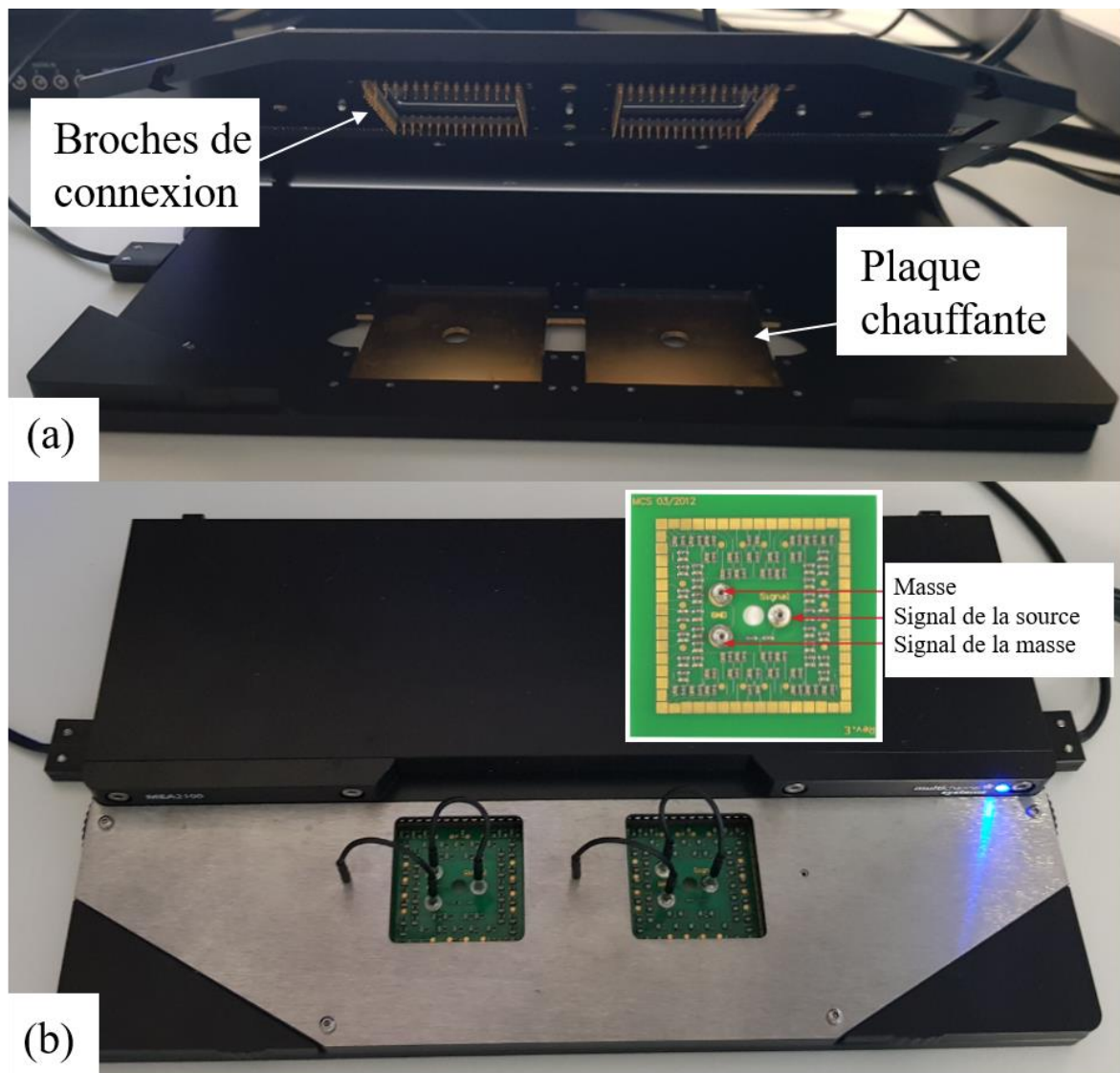


Figure I-7. Photos du système MEA 2100©. (a) Système capot ouvert avec les deux compartiments vides. Les plaques métalliques dans ces derniers permettent de maintenir une température fixe, généralement 37°C pour les cellules. (b) Système capot fermé avec les analyseurs de test de bruit, voir encart. Ils permettent de mesurer le bruit du système MEA sans signaux externes. Les câbles noirs sont reliés à la masse, un pour l'amplificateur et l'autre pour le signal. Les broches de connexion sont donc en contact direct avec les plots de contact visibles sur l'analyseur de bruit dans l'encart.

2.2.2.4. Présentation de l'interface du logiciel MEA 2100©

Lorsqu'un réseau neuronal apposé sur un MEA est arrivé à maturité (entre 2 à 3 semaines), des influx nerveux peuvent être détectés. La Figure I-8 nous présente l'interface du logiciel.

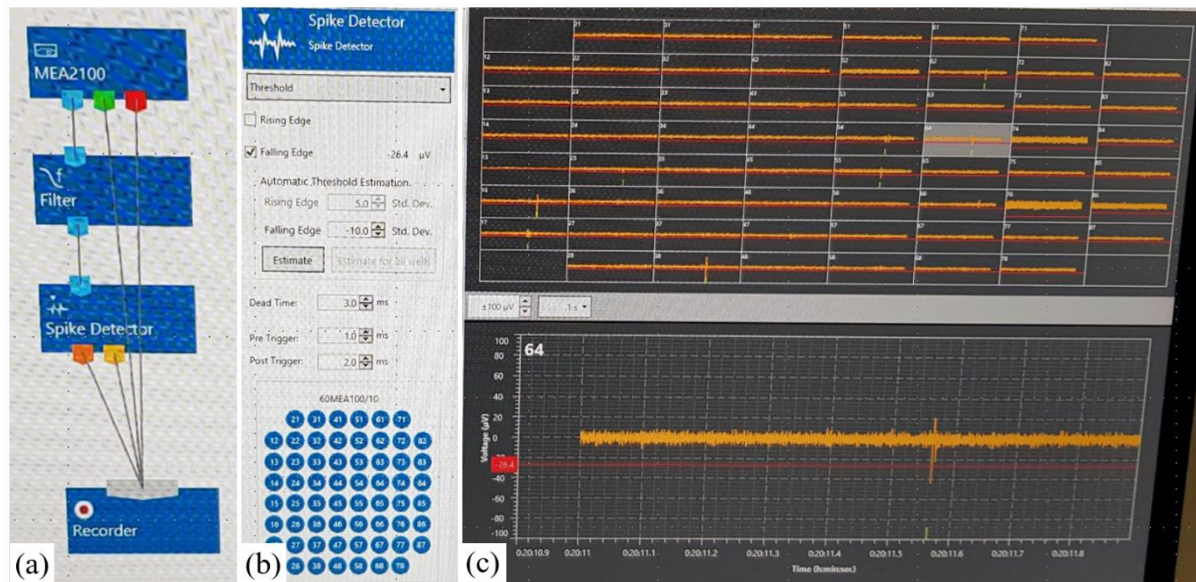


Figure I-8. Interface du logiciel du système MEA 2100©. (a) Les différents éléments qui composent le système. (b) Paramétrage du traitement de signal. Le schéma en bas correspond au numéro de chaque électrode du MEA. (c) Mesure du signal des 60 électrodes du dispositif MEA.

La Figure I-8(a) permet de relier les différents éléments qui composent le système :

- Le « MEA2100 » correspondant au dispositif complet avec ses deux compartiments.
- Un, « Filtre » qui permet d'appliquer des filtres temporels aux données brutes.
- Un « Spike Detector » qui détectera les influx nerveux du réseau neuronal.
- Enfin un « Recorder » permettra de générer de nouveaux fichiers d'enregistrement.

Il est nécessaire de définir les paramètres du capteur de l'activité neuronale (« Spike Detector »), voir Figure I-8(b). Dans notre cas, nous utilisons la technique de seuil. Les seuils sont calculés individuellement pour chaque électrode en multipliant un facteur défini par l'utilisateur par l'écart type du bruit sur chaque canal spécifique. Chaque fois que l'on appuie sur le bouton « Estimation », l'écart-type est calculé après 500 ms de données. Généralement, le seuil est fixé à 10 fois l'écart-type.

La Figure I-8(c) représente les 60 électrodes du MEA. Chaque fenêtre correspond à une électrode. La partie du bas est un zoom d'une des électrodes. La ligne rouge représente le seuil,

la ligne orange le signal de l'électrode. Ici nous constatons un signal reçu sur l'électrode car le seuil a été dépassé.

Bien que ce système ait prouvé son efficacité dans le monde de la recherche pour l'étude des réseaux neuronaux, il ne permet néanmoins pas de déformer les cellules mais uniquement de pouvoir les stimuler et d'enregistrer les réponses électriques cellulaires. En effet, les MEA commerciaux étant sur une surface rigide, il est impossible de faire subir une déformation aux cellules.

2.2.3. *Avantages des microsystèmes*

Nous avons vu que des microsystèmes existent pour enregistrer les réponses électriques d'un réseau neuronal *in vitro*. L'intérêt de pouvoir utiliser les micro et nano technologies est d'allier le stress mécanique et la caractérisation électrique d'un réseau neuronal.

3. *Etat de l'art des microsystèmes déformables*

Pour pouvoir étudier des réseaux neuronaux sous contrainte mécanique, un microsystème étirable est requis. Plusieurs études ont été faites avec notamment les travaux de Dollé *et al.* [17] qui ont permis d'observer les conséquences d'un traumatisme aux niveaux des axones lors d'un étirement sur les cellules neuronales. Grevesse *et al.* ont quant à eux mis en évidence deux comportements rhéologiques opposés entre le corps cellulaire (mou et caractérisé par une réponse de type solide élastique) et le neurite (plus rigide et caractérisé par une réponse visqueuse) [1]. La distinction des propriétés mécaniques des différents sous-compartiments d'un neurone est une information essentielle pour comprendre le comportement de la matière grise et blanche et identifier le mécanisme de développement des lésions axonales diffuses. Néanmoins, ces deux études n'abordent pas la caractérisation électrique des neurones.

Pour étudier la caractéristique électrique d'un réseau neuronal sous contrainte, nous avons besoin d'obtenir des électrodes robustes sous étirement sans fissuration. Cette section abordera dans un premier temps l'état de l'art des électrodes étirables et enchaînera avec plusieurs dispositifs permettant d'allier la contrainte mécanique et la caractérisation électrique du tissu biologique.

3.1. Modes de déformation d'un substrat

La déformation d'un système peut être effectuée de différentes manières : la technologie peut être pliable, élastique, compressible, flexible ou étirable, voir Figure I-9. La manière dont le système devra être déformable dépendra de l'application souhaitée.

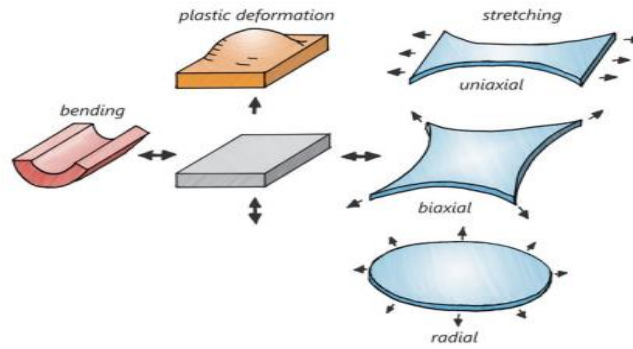


Figure I-9. Un substrat peut être déformé de manière permanente, plié ou étiré de manière uni-axiale, bi-axiale ou radiale par des forces mécaniques. [34]

Pour l'étude des traumatismes crâniens, la déformation la plus représentative est l'étirement des cellules. C'est pourquoi de nombreux systèmes se déforment uni-axialement, bi-axialement ou par gonflement d'une cavité. Dans notre cas, nous nous plaçons dans un cas simple d'étirement en faisant le choix de développer un dispositif étirable uni-axialement *in vitro*.

3.2. Récapitulatif des électrodes étirables

De nos jours, les microsystèmes étirables se développent dans plusieurs domaines avec un niveau de déformation au-dessus de 50%. Ces systèmes sont le plus souvent composés d'éléments conducteurs sur un substrat souple, tel qu'un élastomère [35]–[37]. Différents matériaux et procédés ont été étudiés pour obtenir des interconnexions robustes sur un substrat souple. On peut citer les films en couche mince [38], les nanofils [39], les nanomembranes [40], [41], matériaux 2D [42], matériaux 1D [43], les conducteurs polymériques [44] ou encore les métaux liquides [45].

Une grande partie des systèmes électroniques concerne des interconnexions conductrices fiables et robustes qui relient les différents dispositifs et composants sur une puce intégrée. C'est d'autant plus critique pour les systèmes flexibles, étirables et déformables où les différentes parties, y compris les interconnexions, peuvent être exposées à de fortes déformations mécaniques et créant des contraintes [46], [47]. Ces dernières peuvent conduire à

des ruptures mécaniques quand la résistance à la traction⁸ ou à la compression⁹ du matériau sont atteintes — conduisant finalement à la défaillance du dispositif ou du système.

D'autres voies ont été empruntées pour obtenir des interconnexions électriques sur substrat souple, en changeant cette fois-ci la configuration des électrodes présentées Figure I-10. Rogers *et al.* ont d'ailleurs réalisé un résumé des différentes configurations possibles [48]. Nous avons tout d'abord la configuration en vagues [49]. Celles-ci peuvent apparaître après étirement d'un substrat extensible métallisé mais également sur un substrat pré-étiré avant métallisation [50]–[54]. Une stratégie associée mais non plane est l'interconnexion faite par des ponts [33]. Lorsque le substrat est tendu, les ponts de liaison sont tirés vers le substrat pour devenir plats. Nous avons également de nouvelles formes qui sont apparues, avec notamment les formes en serpentins [55], [56] mais aussi les kirigamis [57]. Ces lignes changent de formes au cours de l'étirement et permettent ainsi d'être extensibles en s'allongeant sans se fissurer mais uniquement dans une seule direction d'étirement.

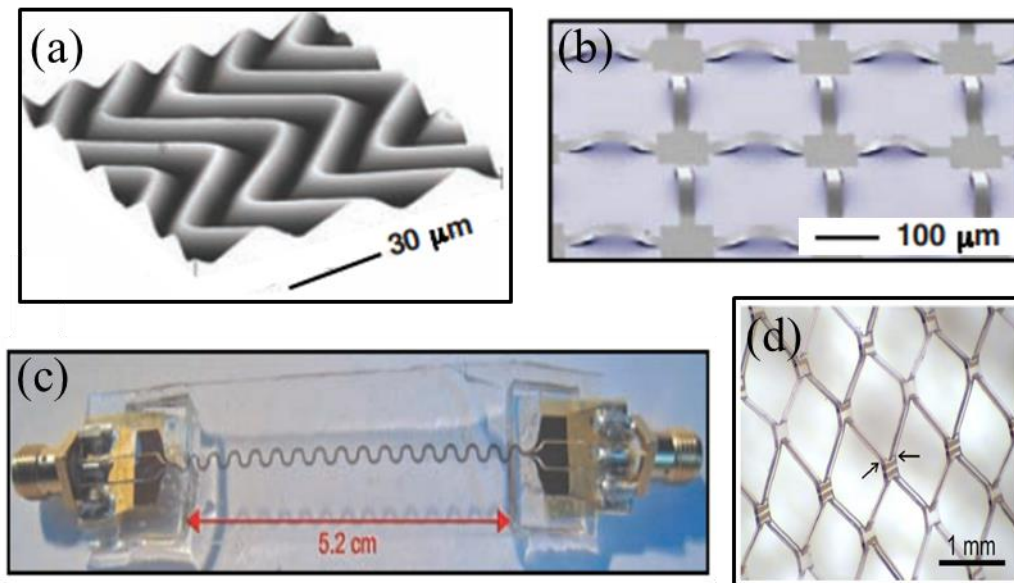


Figure I-10. Présentation des différentes configurations de lignes métallisées sur substrat souple possible. (a) Photo en microscopie à force atomique d'une membrane de silicium étirable (environ 100 nm d'épaisseur) en forme de vagues et collée à un morceau de caoutchouc [48]. (b) Photo en microscopie électronique à balayage à moyen grossissement d'une membrane de silicium très étirable (environ 100nm d'épaisseur) modelée en maillage et collée au substrat uniquement au niveau des plots carrés localisés entre les ponts formant des arcs. Le PDMS a été coloré en bleu [48]. (c) Guide d'onde coplanaire en métal en forme de serpentins dans une plaque de PDMS et relié aux connecteurs SMA standards pour un câble haute fréquence étirable [48]. (d) Image de microscope d'un dispositif étiré de 9 mm (180%). La contrainte est concentrée à deux points d'inflexion près de l'extrémité de la fente [57].

⁸ La résistance à la traction correspond à la capacité d'un matériau de résister à un étirement sans se fissurer.

⁹ La résistance à la compression est l'opposé de la résistance à la traction, soit la capacité d'un matériau à résister à une compression sans casser.

3.3. Microsystèmes étirables avec électrodes conductrices

Dans le but de stimuler la moelle épinière d'un rat *in vitro*, K.W. Meacham *et al.* [58] ont réalisé un MEA contenant des électrodes de 60 μm de diamètre par la technique de photolithographie. Les électrodes sont modelées sur un substrat de PDMS et encapsulées également avec du PDMS, étirées dans le sens longitudinal, voir Figure I-11. Deux configurations d'électrodes ont été étudiées, des électrodes longilignes et des électrodes en serpentins. Lors des tests électromécaniques, les électrodes longilignes se fissurent à environ 3%, alors que les lignes en serpentins se fissurent à environ 8%. L'impédance des électrodes est uniforme entre différents dispositifs (écart-type faible) et est comparable avec les MEA rigides. Ils ont néanmoins réussi à enregistrer des réponses biologiques de la moelle épinière sous stimulation grâce au MEA réalisé.

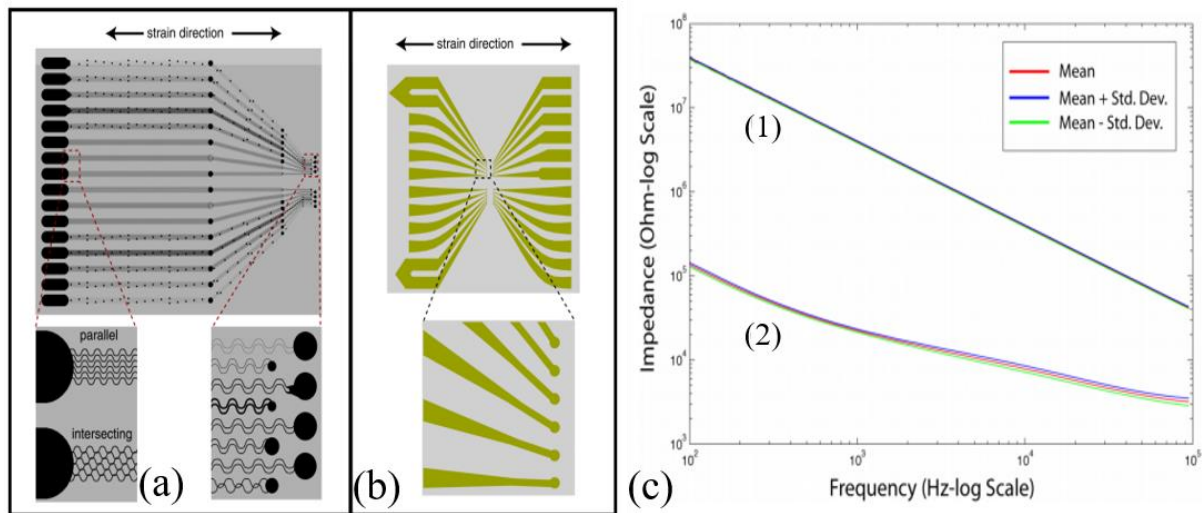


Figure I-11. Conception de lignes droites et en serpentins soumis à un étirement. (a) Un schéma d'électrodes en serpentins qui se croisent confère une plus grande élasticité au MEA sur support de PDMS (défaillance de conductivité à environ 8% d'étirement pour une électrode testée, mais qui fonctionne de nouveau en état de relaxation) alors que (b) les électrodes longilignes (défaillance à environ 3% de déformation sur une électrode testée y compris en état de relaxation). Les électrodes parallèles en serpentins présentées en (a) ne confèrent aucun avantage sur le plan de l'élasticité fonctionnelle par rapport au modèle des lignes droites présentées en (b). (c) Résultats de l'impédance électrique mesurée sur 19 électrodes de 4 MEA. Les électrodes des MEA présentaient toujours des valeurs d'impédance comparables à celles des électrodes des MEA rigides [59], [60]. Les électrodes encapsulées par du PDMS (1) ont démontré des valeurs d'impédance indiquant la présence d'un isolant (2). [58]

Lacour *et al.* ont réalisé un MEA étirable permettant de stimuler et d'enregistrer l'activité neuronale extracellulaire, voir Figure I-12. La technologie de microfabrication planaire a été utilisée pour réaliser le système. Il est compatible avec le système MultiChannel System© et a pu être étiré jusqu'à 8% mais la résistance augmente néanmoins fortement au cours de l'étirement.

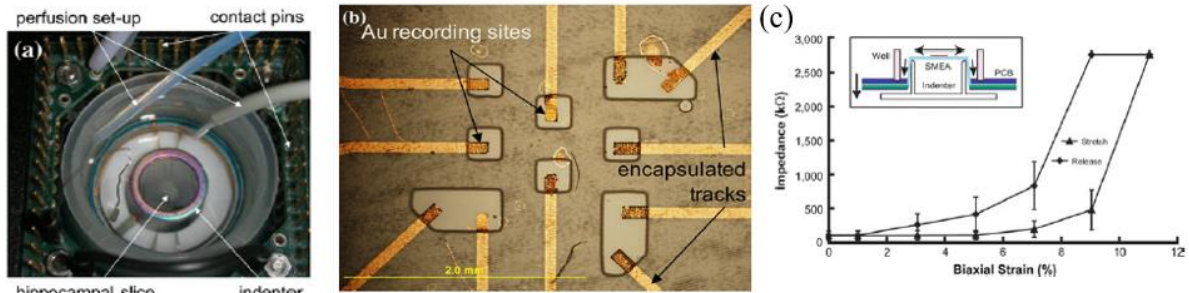


Figure I-12. Présentation du MEA étirable avec un zoom sur ses électrodes centrales et sa caractérisation électrique. (a) Mise en place expérimentale. Une tranche d'hippocampe est ensemencée sur un MEA étirable et montée sur un pénétrateur cylindrique creux. Sous contrainte mécanique, la membrane étirable glisse contre le pénétrateur et étire le MEA ainsi que la tranche d'hippocampe simultanément. Le MEA étirable est interfacé avec le système d'enregistrement du MEA MultiChannel© MEA60. (b) Vue de haut des microélectrodes d'or étirables sur un substrat de polyimide et encapsulées par un film de polyimide photosensible. Les sites d'enregistrement ont une surface de $30 \times 100 \mu\text{m}$ et sont ouverts dans le revêtement supérieur. (c) Impédance électrique des microélectrodes étirables en fonction de l'étirement radial. L'électrode est étirée jusqu'à 10% de déformation par incrément de 1 ou 2% d'étirement. L'encart présente un croquis de la civière radiale. [61]

Pour obtenir des lignes plus robustes, Romeo *et al.* [62] ont réalisé des îlots rigides intégrés dans leur support de PDMS à l'aide d'une résine photosensible, la SU-8, voir Figure I-13. Grâce à cette technologie alliant le PDMS et la SU-8, cela leur a permis d'obtenir des lignes conductrices jusqu'à 20% d'étirement. La fabrication du système a été réalisée par photolithographie. On observe que la résistance est plus faible que pour les autres systèmes, mais n'est cependant pas tout à fait stable, oscillant entre 120 et 850 Ω pour un étirement de 20%. A noter qu'aucune caractéristique électrique de tissu biologique n'est abordée.

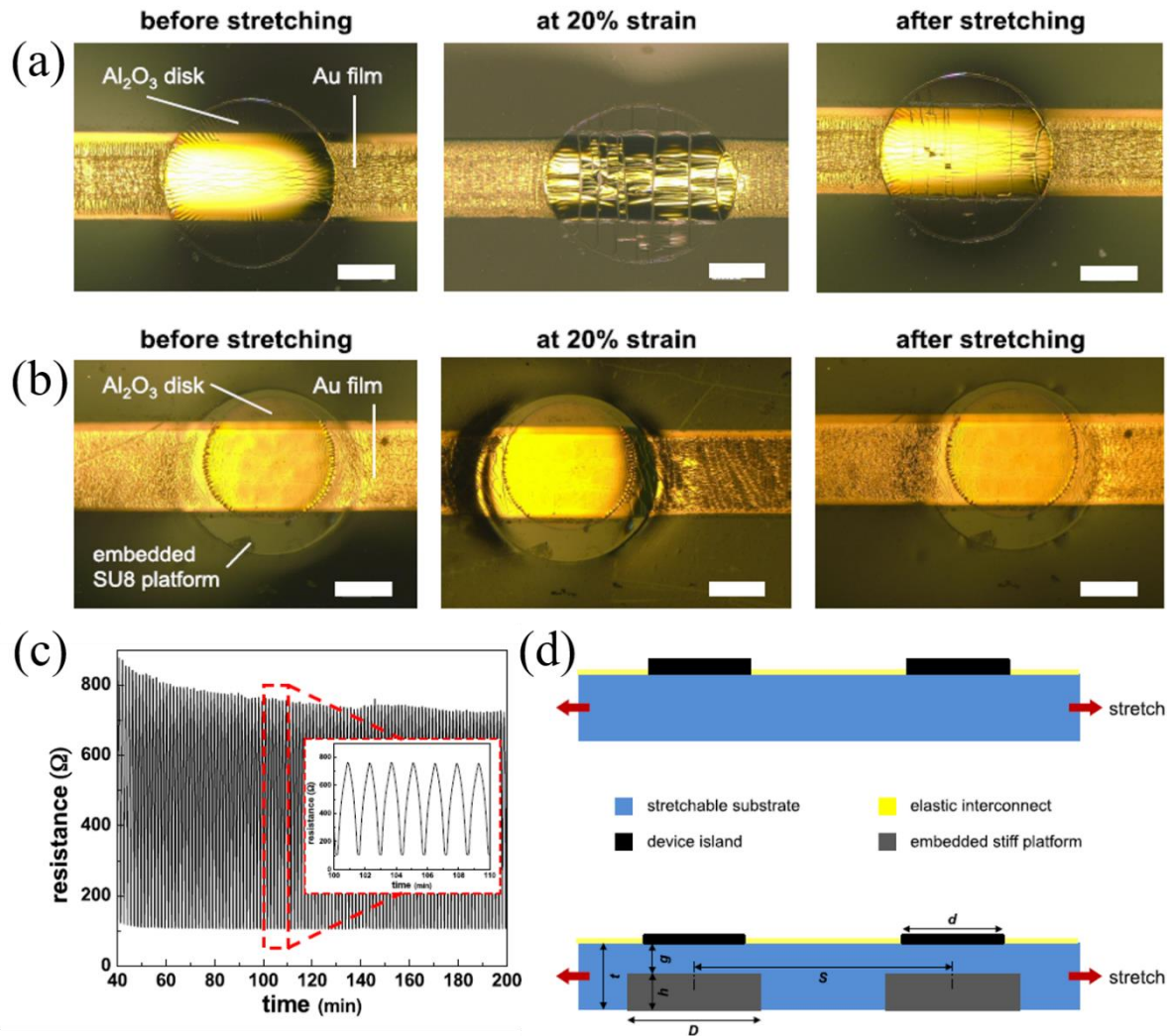


Figure I-13. Disques d'alumine extensibles sur support élastomère. Images optiques vue de haut pendant un cycle d'étirement de 20% de déformation appliquée pour (a) un disque de Al_2O_3 de 150 nm d'épaisseur, 1 mm de diamètre, déposé sur un substrat de PDMS et interconnecté avec un conducteur métallique mince (5/25/5 nm Ti/Au/Ti) ; échelle : 200 μm ; (b) un disque de Al_2O_3 de 150 nm d'épaisseur, 0,75 mm de diamètre, déposé au-dessus d'une plateforme de SU-8 de 1 mm de diamètre, 50 μm d'épaisseur, intégrée dans le support de PDMS de 0.1 mm d'épaisseur et interconnecté avec un conducteur métallique mince (5/25/5 nm Ti/Au/Ti) ; échelle : 200 μm . (c) Résistance électrique du conducteur métallique en fonction du temps de fonctionnement sur 5 disques de Al_2O_3 configurés comme en (b) pendant 100 cycles d'étirement à une déformation de 20%. (d) Architecture du circuit électronique étirable. En haut, vue transversale d'une conception antérieure comprenant des plateformes non déformables déposées sur le dessus du substrat étirable. En bas, vue transversale de la conception alternative. Les plateformes rigides sont encastrées dans le substrat extensible. Les appareils électroniques sont fabriqués directement sur la surface plane en élastomère, au-dessus des plateformes rigides.

La problématique étudiée est d'actualité car une start-up du nom de BMSEED a vu le jour en Arizona basée sur les recherches d'Olivier Graudejus [63]. Cette société se penche sur la recherche et le traitement des traumatismes cérébraux, des lésions médullaires, des commotions cérébrales répétées et des maladies neurodégénératives. Le dispositif qui nous intéresse particulièrement est le MEASSuRE (Micro Electrode Array Stretching Stimulating und Recording Equipment), voir Figure I-14(a). Ce dispositif reproduit l'environnement mécanique et électrique *in vivo* dans un environnement contrôlé *in vitro* en permettant l'application d'un étirement contrôlé (déformation, vitesse de déformation) à une culture cellulaire ou tissulaire tout en stimulant simultanément l'activité électro physiologique pour évaluer la santé des cellules, voir Figure I-14(b). MEASSuRE combine donc trois outils distincts en un seul système : un dispositif d'étirement cellulaire, un outil électrophysiologique et un système d'imagerie. Le dispositif peut appliquer un étirement jusque 50% à un taux de déformation de plus de 20% s⁻¹. La fréquence d'acquisition varie de 200 à 2000 images par seconde. Enfin, 2 × 60 voies permettent la stimulation et l'enregistrement pour l'étude électro physiologique.

Cette technologie repose sur un film d'or micro fissuré. En effet, la société indique que si le film d'or est lisse et sans motifs sur un support de PDMS, il se fissure sous un étirement de 2%, voir Figure I-14(c). Par contre en présence de microfissures, le film peut être étiré au-dessus de 70% tout en restant électriquement conducteur, voir Figure I-14(d). Néanmoins, la résistance est variable au cours de l'étirement passant de 200 à plus de 1000 Ω ce qui peut poser problème concernant la reproductibilité des mesures électriques avec le tissu biologique.

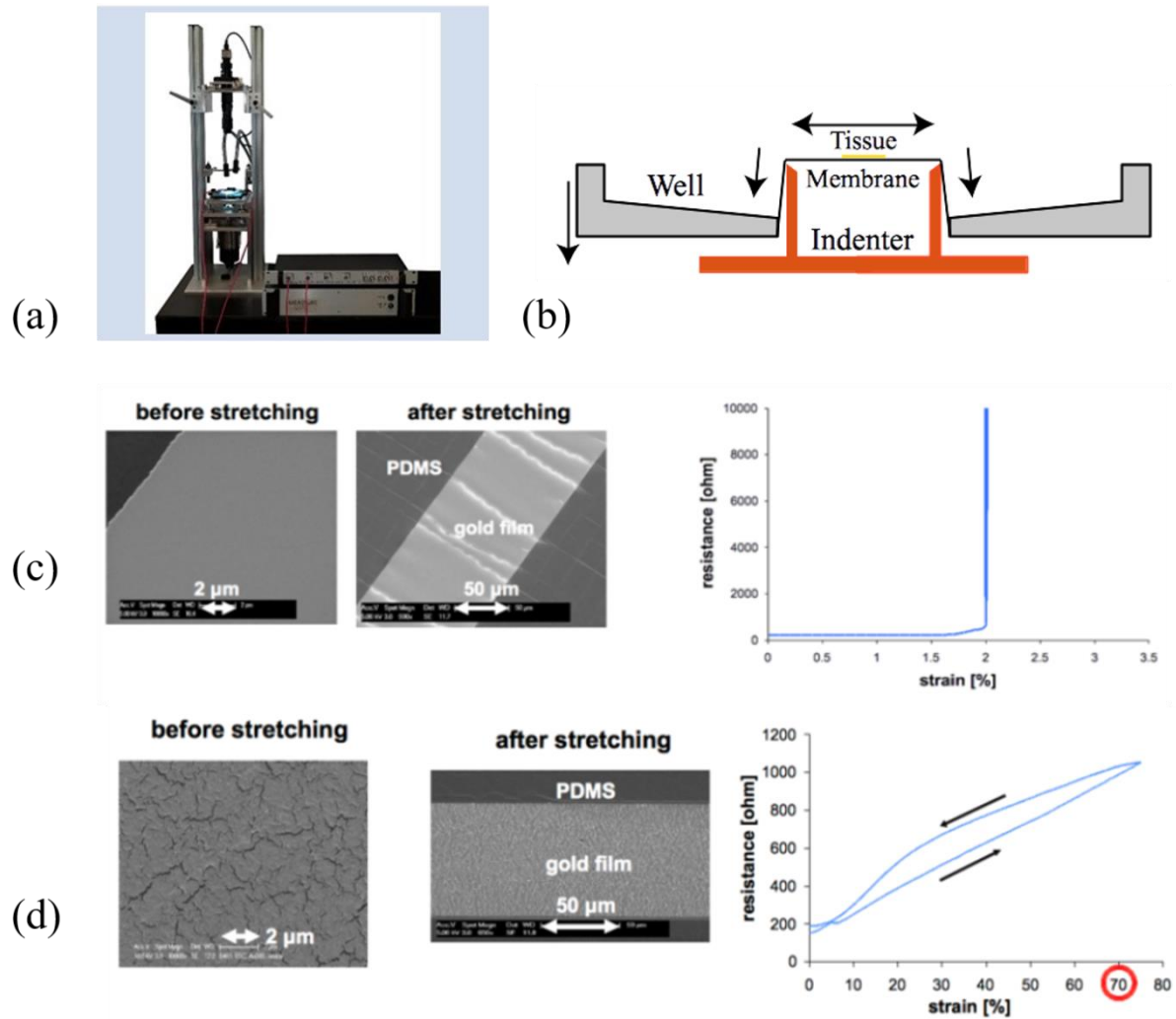


Figure I-14. Technologie de la start-up BMSEED. (a) MEASSuRE Premium permettant d'étirer, d'imager et de réaliser une étude électro physiologique. (b) Schéma du mécanisme d'étirement. Le tissu est étiré en tirant le MEA étirable sur un pénétrateur cylindrique [64]. (c) Les films d'or lisses se fissurent sous un étirement de 2% et cessent de conduire électriquement. (d) Les films d'or micro fissurés peuvent être étirés de plus de 70% tout en restant électriquement conducteur.

Après avoir vu ces différents dispositifs, on remarque que les technologies ont évolué permettant ainsi d'obtenir des électrodes conductrices au-delà de 10% de déformation, mais avec une résistance variable. Afin de travailler avec du tissu biologique et obtenir une bonne reproductibilité de dispositif en dispositif, il est préférable d'avoir une résistance faible et stable des électrodes au cours de l'étirement appliqué par rapport à l'impédance totale de l'électrode.

4. Approche choisie : un microsystème étirable pour l'étude des traumatismes crâniens

Nous avons vu avec l'état de l'art les conditions pour développer un système complet pour l'étude des traumatismes crâniens. Le but étant de pouvoir réaliser un dispositif capable d'endommager le tissu biologique pour ensuite le caractériser et d'observer sa réponse électrique sans altérer le dispositif lui-même.

Durant cette thèse, nous avons choisi d'utiliser les microtechnologies pour concevoir, fabriquer et caractériser un outil miniaturisé dédié à l'étude des conséquences de dommages d'étirement mécanique sur des cellules neuronales. L'objectif étant d'observer les effets de stress sur un réseau neuronal lors d'un traumatisme crânien, notamment en mesurant l'activité électrique avant et après étirement de ce réseau. Pour cela, un microsystème totalement étirable et biocompatible de technologie planaire comprenant des interconnexions robustes est requis. De plus, le MEA 2100© nous permettra d'enregistrer les caractérisations électriques des cellulesensemencées sur notre dispositif, qui sera placé dans un des deux compartiments. Le choix de la compatibilité avec le MEA 2100© commercial nous permet de nous affranchir du développement de l'instrumentation nécessaire pour la caractérisation électrique.

4.1. Adaptation de la microfabrication pour un système étirable biocompatible

Comprendre le comportement des matériaux soumis à de fortes contraintes mécaniques est la clé pour pouvoir optimiser les procédés de fabrication de systèmes électroniques flexibles originaux et robustes, étirables mais aussi déformables. Les outils de la microfabrication ont été développés pour des systèmes planaires. A présent, la méthode de fabrication doit évoluer pour obtenir un système déformable. Dans un premier temps, le substrat à la base rigide (typiquement le silicium ou le verre) doit être remplacé par un support souple tel que des polymères. Ensuite, les matériaux utilisés devront être biocompatibles et adaptés pour une technologie planaire et déformable. A noter que pour qu'un réseau neuronal développé et synchronisé puisse générer des réponses électriques, il doit être maintenu durant 3 semaines en culture sur le microsystème. Enfin, une encapsulation des électrodes est requise pour une meilleure protection mécanique et chimique au cours de l'étirement, surtout pour des applications à but biologique.

4.1.1. *Propriétés du substrat*

Les substrats flexibles destinés à remplacer les supports rigides dans les technologies planaires doivent répondre à de nombreuses exigences :

- **Propriétés optiques** : pour pouvoir observer correctement les microsystèmes fabriqués et les cellules sur les substrats souples, il est préférable d'avoir un substrat transparent dans le visible.
- **Propriétés de surface** : il est conseillé d'avoir un substrat non rugueux pour éviter toutes fissures dans les films en couche mince lors d'une métallisation.
- **Epaisseur du substrat** : que ce soit pour l'observation — microscope inversé pour la biologie — ou la déformation du substrat, il est plus adapté d'avoir un substrat de l'ordre de quelques centaines de microns.
- **Propriétés thermiques** : le substrat étant la plupart du temps un polymère, la température est un paramètre important. En ce qui concerne le PDMS, lors des étapes de microfabrication, les températures doivent être inférieures à 120 °C pour éviter des changements de propriétés mécaniques ou d'élasticité du substrat.
- **Propriétés chimiques** : le substrat ne doit pas relarguer de potentielles substances chimiques et doit être inerte lors de procédés chimiques durant toute la phase de culture soit 3 semaines.
- **Propriétés mécaniques** : le substrat doit être élastique pour travailler avec un substrat plus facilement déformable.
- **Propriétés électriques** : il est préférable de travailler avec un substrat à haute résistivité électrique et ainsi de minimiser de potentielles capacités de couplage.

4.1.2. *Propriétés des matériaux*

Tous les matériaux utilisés doivent être biocompatibles et doivent pouvoir être utilisés dans les procédés de microfabrication planaire.

4.2. Description générale du système et spécifications requises

Un microsystème permettant de réaliser une étude sur les traumatismes crâniens doit respecter de nombreux paramètres. Voici une liste non exhaustive des spécifications requises pour notre système :

- **Matériau pour support étirable** : fortement étirable (>20%), élastique, compatible avec des procédés planaires, transparent, autorisant un dépôt couche mince, de haute résistivité électrique, conduisant la chaleur, pouvant être coupé ou moulé à la taille souhaitée et décollé du support de base, biocompatible avec l'application souhaitée.
- **Conducteurs robustes pour les plots de contact/lignes/électrodes** : basse résistivité électrique, fabrication compatible avec des techniques planaires, mécaniquement robustes, pouvant être déposé en couche mince, électrochimie minimale, biocompatible.
- **Matériau pour le revêtement isolant** : haute résistivité électrique, étirable, élastique, transparent, modelable, compatible avec des techniques de microfabrication planaires, biocompatible, mécaniquement robustes, dépôt couche mince possible
- **Fabrication optimisée des matériaux/procédés** : aucun relargage de produits toxiques (y compris ceux issus de la fabrication comme les résines photosensibles) par le microsystème lors de la croissance des cellules, les procédés spécifiques (les étapes de cuisson) ne doivent pas endommager le microsystème.
- **Architecture/design du système** : doit être compatible avec le système MEA 2100©.

4.3. Approche pour la microfabrication

Pour une plus grande flexibilité dans la microfabrication, nous avons choisi la méthode de masquage permettant des tests de prototypage tout d'abord avec des masques physiques, et ensuite la photolithographie pour ainsi gagner en résolution. Cela nous permettra également de pouvoir usiner différents matériaux dans notre système au fur et à mesure des étapes de fabrication.

En utilisant le procédé en couche mince et la technologie « top-down » ou lithographique, un microsystème planaire était la solution la plus évidente. Ces choix permettront également de pouvoir réaliser une fabrication en grand nombre pour des tests de prototypage en parallèle par la suite.

4.4. *Choix des matériaux*

4.4.1. *Choix de support : le polydiméthylsiloxane (PDMS)*

Pour obtenir un support étirable jusque 50%, le matériau le plus couramment utilisé à la fois pour l'électronique flexible et étirable et pour les applications biologiques est le polydiméthylsiloxane ou PDMS. Ce matériau est par ailleurs couramment utilisé dans le laboratoire. L'utilisation du PDMS a de nombreux avantages. Tout d'abord, c'est un produit peu cher et très facile à manipuler, idéal pour une phase de prototypage et pour la production de masse. Ensuite, il peut être moulé à l'infini (voir Figure I-15) — le domaine de la microfluidique apprécie particulièrement ce produit. Par ailleurs, il peut subir un traitement de surface pour rendre sa surface hydrophile et ainsi offrir une meilleure adhésion. Pour finir, sa transparence — entre 240 nm et 1100 nm — et sa compatibilité générale lui permettent d'être le candidat idéal pour des microsystèmes étirables pour des applications biologiques.

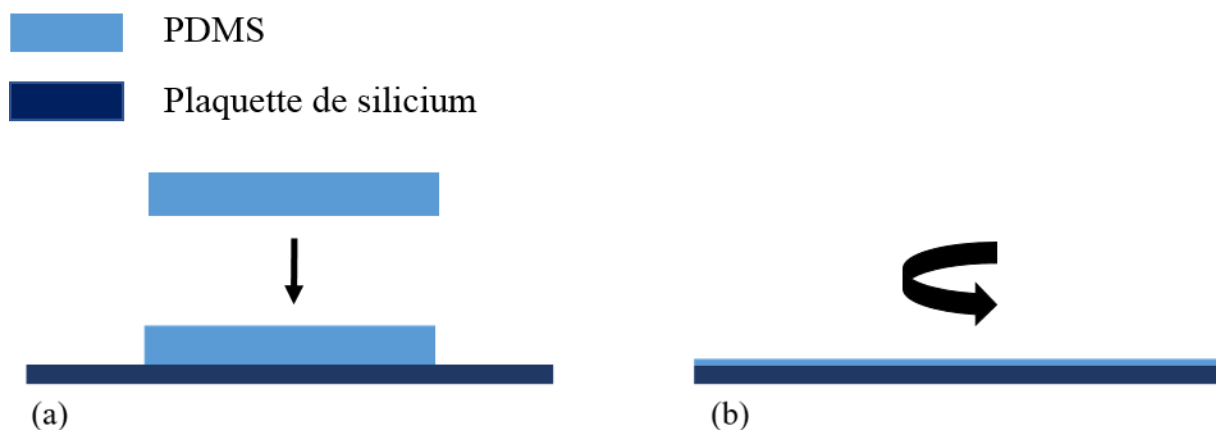


Figure I-15. Deux manières de pouvoir utiliser un support de PDMS pour des étapes de microfabrication. Pour permettre une meilleure maniabilité, la surface de PDMS repose ici sur une plaquette de silicium. (a) Un bloc de PDMS, d'une épaisseur de l'ordre du millimètre peut être posé sur une plaquette de silicium. Pour une meilleure adhérence entre le PDMS et la plaquette de silicium, un pistolet à azote peut être utilisé. (b) Une surface de PDMS fine, déposée par enduction centrifuge.

4.4.2. *Choix des matériaux conducteurs*

Concernant les conducteurs, nous avons choisi d'utiliser des métaux en couche mince. Cela nous permet d'utiliser la technologie planaire par lithographie. L'or sera utilisé comme métal de conduction en raison de ses nombreux avantages. Il possède une des meilleures conductivités parmi les métaux — après l'argent et le cuivre. De plus, il est biocompatible, inoxydable en condition ambiante et possède une grande ductilité. En raison de ses caractéristiques et de son inaltérabilité, il est adapté pour réaliser des interconnexions étirables.

Une étude sera présentée par la suite pour nous permettre de choisir ou non une couche d'adhésion entre le support de PDMS et l'or (voir Chapitre II). Les trois métaux étudiés seront le titane, le nickel et le chrome en raison de leurs caractères connus comme métaux d'accroche couramment utilisés dans les micro et nano technologies.

4.4.3. Choix des matériaux isolants

Pour la protection mécanique et chimique, les composants électroniques extensibles sont bien souvent encapsulés. Pour les applications biologiques dans l'électronique étirable, le substrat étant majoritairement du PDMS, il peut être également encapsulé par du PDMS, du Parylène, mais aussi à l'aide de multicouches de plusieurs polymères.

Dans notre cas, nous avons choisi le Parylène pour sa haute résistivité électrique, sa biocompatibilité, sa transparence et sa capacité à pouvoir être étiré. Par ailleurs, le Parylène peut être compatible avec des techniques de microfabrication planaires, et peut être modelé de plusieurs façons.

4.4.4. Matériaux rigides intermédiaires à disposition

Après avoir étudié l'état de l'art, on remarque l'utilisation de matériaux supplémentaires permettant aux interconnexions d'être renforcées. Pour cela, nous pouvons utiliser des résines photosensibles, compatibles avec des étapes de microfabrication en lithographie telle que la SU-8 utilisée pour créer des plateformes de soutien sous des lignes métallisées [48] (voir Chapitre III).

4.5. Compatibilité avec le MEA 2100©

Différents paramètres sont requis et indispensables pour que notre dispositif soit compatible avec le MEA 2100©. Des interconnexions adaptées doivent être développées, comprenant des pistes et des plots de contact robustes à haute déformation du microsystème. Les pistes et les plots permettront la connexion entre la matière biologique et le MEA 2100©.

Afin que le matériel biologique puisse croître durant plusieurs semaines sur notre microsystème, il doit être maintenu dans un milieu biologique. Pour cela, un puits de PDMS (permettant au système de rester totalement étirable) doit être créé pour contenir le milieu biologique. Pour éviter que le milieu de culture ne s'évapore et éviter toute contamination, une

membrane plastique doit être déposée sur le dessus. Pour cela, la société MultiChannel© utilise des anneaux en téflon parfaitement adaptés pour le MEA 2100©, voir Figure I-16. Cet anneau est directement posé sur les MEA et protège ainsi l'ensemble du matériel biologique. Le diamètre extérieur de l'anneau est de 31 mm et son diamètre intérieur de 24,5 mm. Par ailleurs, les électrodes centrales doivent donc être parfaitement centrées pour fermer le capot du MEA 2100©, voir Figure I-16(b-c).

Voici une liste qui synthétise les paramètres à respecter pour que notre microsystème soit compatible avec le MEA 2100© :

- **Localisation des plots de contact** : les broches de connexion du MEA 2100© qui viendront en contact des plots de contact de notre dispositif sont fixes, voir Figure I-7.
- **Emplacement de l'électrode de référence** : l'emplacement de l'électrode de référence dans le MEA 2100© est fixe, les dispositifs ne sont donc pas symétriques (l'électrode de référence se situe toujours à gauche, voir Figure I-6(a)).
- **Localisation des électrodes** : avec l'anneau de téflon posé sur le dispositif (voir Figure I-16), l'extrémité de chaque électrode sera en contact avec le tissu biologique. L'ensemble des électrodes doit donc être parfaitement centré par rapport au dispositif complet.
- **Diamètre et positionnement du puits** : le puits doit être adapté à l'anneau de téflon, son diamètre extérieur ne doit pas excéder 24,5 mm. Le positionnement du puits doit être centré avec une marge de ± 2 mm.
- **Taille du microsystème** : les encoches des compartiments mesurent $5,1 \times 5,1$ mm, un échantillon plus grand ne pourra donc pas être inséré.
- **Epaisseur du microsystème** : pour fermer le capot et ainsi permettre aux broches d'être connectées aux plots de contact, l'échantillon ne doit pas être trop épais (les MEA commerciaux ont une épaisseur de 1 mm).

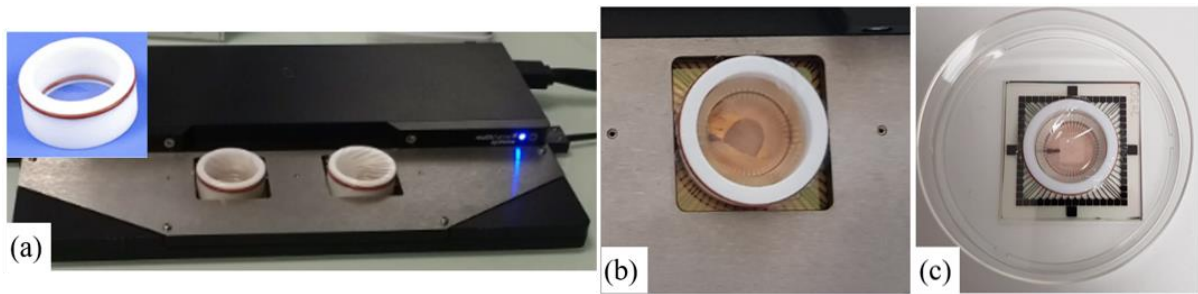


Figure I-16. Présentation des dimensions du MEA 2100©. Vue de face (a) et vue de haut (b) du MEA 2100© capot fermé contenant un MEA commercial surplombé d'un anneau plastique (encart en haut à gauche). (c) MEA commercial dans une boîte de pétri.

4.6. *Démarche fondamentale*

Notre technologie repose sur un substrat étirable comprenant des interconnexions métallisées. De par leur nature métallique, les interconnexions seront moins étirables que le support de PDMS. Ainsi, les contraintes mécaniques seront en majorité prises en charge par le support de PDMS et non par les interconnexions. Néanmoins, ces dernières devront être suffisamment rigides pour éviter toute fissure qui entraînerait une augmentation de la résistance au cours de l'étirement.

Nous allons dans un premier temps métalliser un support de PDMS à l'aide d'un masque physique pour étudier les différents types de métaux en couche mince adaptés pour notre microsystème étirable. La technologie par masque physique sera utilisée pour des éléments simples et permettra de tester rapidement les microsystèmes fabriqués. Par la suite, nous étudierons les conséquences de l'ajout d'une membrane d'un autre polymère photosensible (la SU-8) intercalée entre le PDMS et les métaux pour obtenir des électrodes plus rigides et sans microfissures sur substrat souple et permettant le report de contrainte des électrodes vers le substrat. Afin de connaître le degré de liberté dans le design final de notre microsystème, une étude sur l'orientation des connexions en fonction de l'étirement appliqué sera faite. Finalement, un nouveau procédé de microfabrication par photolithographie a été développé. Ce procédé nous permettra par ailleurs d'augmenter la résolution de notre microsystème et d'encapsuler les électrodes. Cette encapsulation est essentielle pour caractériser un réseau neuronal contenu dans un milieu biologique. La biocompatibilité des matériaux utilisés a été étudiée pour nous assurer de la compatibilité du microsystème complet avec la culture de neurones sur de longues durées, voir Chapitre V.

4.7. *Protocole envisagé*

En travaillant avec des cellules neuronales primaires, les cultures doivent croître durant 3 semaines pour que le réseau neuronal se forme et obtenir des réponses électriques. Afin de nous permettre de comparer nos microsystèmes aux MEA commerciaux, l'ensemencement des cellules neuronales se fera en parallèle sur les systèmes, l'idéal étant d'avoir 4 systèmes pour 1 culture. Le Tableau I-2 présente le protocole envisagé :

<i>Jours in vitro</i> (DIV)	Etapas de l'expérience
0	Ensemencement des cellules neuronales sur 2 microsystèmes et 2 MEA commerciaux
14	Enregistrement de l'activité électrique des cellules neuronales
21	Enregistrement de l'activité électrique des cellules neuronales avant étirement
	Prélèvement de 50 µL de milieu de culture pour les marqueurs inflammatoires
	Etirement des microsystèmes de 20% dans un laps de temps de 5 minutes
	Maintien de l'étirement durant 2h à 4h
	Relâchement des microsystèmes et mis au repos durant 1h
	Enregistrement de l'activité électrique des cellules neuronales après étirement
	Prélèvement de 50µL de milieu de culture
22	Enregistrement de l'activité électrique des cellules neuronales
23	Enregistrement de l'activité électrique des cellules neuronales
	Caractérisation optique
	Marquage de viabilité

Tableau I-2 : Protocole biologique envisagé après ensemencement des cellules neuronales sur nos microsystèmes fabriqués.

Conclusion

En dénombrant 50 millions de personnes souffrant de traumatismes crâniens chaque année dans le monde entier, l'intérêt de l'étude de cette pathologie n'est pas discutable. Les traumatismes crâniens sont une cause majeure de décès et d'invalidité et ont un impact significatif sur la santé publique et les coûts économiques. Avec un nombre toujours croissant de véhicules motorisés dans les pays en développement, la pratique de sports violents et des conflits militaires dans le monde entier, les traumatismes crâniens risquent d'augmenter. C'est pourquoi comprendre correctement ces mécanismes biologiques impliqués dans les traumatismes crâniens est un enjeu important pour le développement de soins et de traitements potentiels adaptés pour chaque patient et ainsi assurer un avenir plus sain pour les personnes atteintes.

Plusieurs chemins ont été empruntés pour percer à jour le développement des traumatismes crâniens. Différents systèmes *in vivo* et *in vitro* ont été développés ces dernières années pour nous permettre d'étudier cette pathologie. Néanmoins à ce jour, peu de systèmes permettent d'imiter un traumatisme crânien et de pouvoir étudier les réponses neuronales suite à ce choc sur un même dispositif. Les principaux problèmes rencontrés étant de pouvoir allier deux fonctions : réaliser des interconnexions rigides sur substrat déformable jusque 20% — déformation nécessaire pour considérer que les cellules neuronales ont subis un traumatisme crânien — et une résistance électrique faible et stable au cours de l'étirement pour obtenir de meilleurs signaux du réseau neuronal.

Pour nous permettre de palier à ces problèmes, l'utilisation de l'électronique étirable par les micro et nano technologies est indispensable. C'est pourquoi nous avons fait le choix de travailler en technologie planaire pour la métallisation en couche mince et la technique de la lithographie. Cette technologie nous permet également de produire un nombre important de substrats, paramètre essentiel pour la biologie qui requiert des études statistiques. Les matériaux utilisés devront bien entendu être biocompatibles et adaptés pour l'étude que nous voulons effectuer. Enfin, nous avons choisi d'adapter notre microsystème complet afin qu'il soit compatible à la technologie du MEA 2100© de la société MultiChannel System©.

Cette thèse présentera le déroulement des problèmes rencontrés ainsi que les différentes étapes technologiques développées pour les résoudre. Dans un premier temps, le Chapitre II

présentera l'étude des matériaux et techniques pour réaliser des électrodes métallisées sur substrat étirable. Ensuite, le Chapitre III abordera une nouvelle technique de microfabrication pour renforcer des interconnexions à résistance faible et stable sur substrat étirable. Par la suite, le Chapitre IV sera focalisé sur un procédé de microfabrication complet et présentera nos premiers microsystèmes. Enfin, le Chapitre V exposera l'adaptation du design de notre dispositif pour être biocompatible avec le MEA 2100© ainsi que les résultats expérimentaux sur les cellules neuronales.

Bibliographie

- [1] T. Grevesse, B. E. Dabiri, K. K. Parker, and S. Gabriele, "Opposite rheological properties of neuronal microcompartments predict axonal vulnerability in brain injury," *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 9475, Aug. 2015, doi: 10.1038/srep09475.
- [2] B. Morrison, K. E. Saatman, D. F. Meaney, and T. K. McIntosh, "In Vitro Central Nervous System Models of Mechanically Induced Trauma: A Review," *J. Neurotrauma*, vol. 15, no. 11, pp. 911–928, Nov. 1998, doi: 10.1089/neu.1998.15.911.
- [3] G. D. Murray *et al.*, "The European Brain Injury Consortium Survey of Head Injuries," *Acta Neurochir. (Wien)*, vol. 141, no. 3, pp. 223–236, Mar. 1999, doi: 10.1007/s007010050292.
- [4] "Traumatic brain injury - Symptoms and causes," *Mayo Clinic*. [Online]. Available: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/traumatic-brain-injury/symptoms-causes/syc-20378557>. [Accessed: 30-Sep-2019].
- [5] T. M. J. C. Andriessen, B. Jacobs, and P. E. Vos, "Clinical characteristics and pathophysiological mechanisms of focal and diffuse traumatic brain injury," *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 14, no. 10, pp. 2381–2392, Oct. 2010, doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01164.x.
- [6] M. Majdan *et al.*, "Epidemiology of traumatic brain injuries in Europe: a cross-sectional analysis," *Lancet Public Health*, vol. 1, no. 2, pp. e76–e83, 2016.
- [7] J. Ghajar, "Traumatic brain injury," *The Lancet*, vol. 356, no. 9233, pp. 923–929, Sep. 2000, doi: 10.1016/S0140-6736(00)02689-1.
- [8] J. A. Langlois, W. Rutland-Brown, and M. M. Wald, "The epidemiology and impact of traumatic brain injury: a brief overview," *J. Head Trauma Rehabil.*, vol. 21, no. 5, pp. 375–378, 2006, doi: 10.1097/00001199-200609000-00001.
- [9] H. Ahmadzadeh, D. H. Smith, and V. B. Shenoy, "Mechanical Effects of Dynamic Binding between Tau Proteins on Microtubules during Axonal Injury," *Biophys. J.*, vol. 109, no. 11, pp. 2328–2337, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.bpj.2015.09.010.
- [10] A. Goriely *et al.*, "Mechanics of the brain: perspectives, challenges, and opportunities," *Biomech. Model. Mechanobiol.*, vol. 14, no. 5, pp. 931–965, Oct. 2015, doi: 10.1007/s10237-015-0662-4.
- [11] V. E. Johnson, W. Stewart, and D. H. Smith, "Axonal pathology in traumatic brain injury," *Exp. Neurol.*, vol. 246, pp. 35–43, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.expneurol.2012.01.013.
- [12] M. D. Horner, P. L. Ferguson, A. W. Selassie, L. A. Labbate, K. Kniele, and J. D. Corrigan, "Patterns of alcohol use 1 year after traumatic brain injury: A population-based, epidemiological study," *J. Int. Neuropsychol. Soc.*, vol. 11, no. 3, pp. 322–330, May 2005, doi: 10.1017/S135561770505037X.
- [13] P. L. Ferguson, G. M. Smith, B. B. Wannamaker, D. J. Thurman, E. E. Pickelsimer, and A. W. Selassie, "A population-based study of risk of epilepsy after hospitalization for traumatic brain injury: Risk of Posttraumatic Epilepsy," *Epilepsia*, vol. 51, no. 5, pp. 891–898, May 2010, doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02384.x.
- [14] T. Holsinger *et al.*, "Head Injury in Early Adulthood and the Lifetime Risk of Depression," *ARCH GEN PSYCHIATRY*, vol. 59, p. 6, 2002.
- [15] B. L. Plassman *et al.*, "Documented head injury in early adulthood and risk of Alzheimer's disease and other dementias," *Neurology*, vol. 55, no. 8, pp. 1158–1166, 2000.
- [16] T. Woodcock and C. Morganti-Kossmann, "The Role of Markers of Inflammation in Traumatic Brain Injury," *Front. Neurol.*, vol. 4, 2013, doi: 10.3389/fneur.2013.00018.

- [17] J.-P. Dollé, B. Morrison III, R. S. Schloss, and M. L. Yarmush, "An organotypic uniaxial strain model using microfluidics," *Lab Chip*, vol. 13, no. 3, pp. 432–442, 2013, doi: 10.1039/C2LC41063J.
- [18] Y. Xiong, A. Mahmood, and M. Chopp, "Animal models of traumatic brain injury," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 14, no. 2, pp. 128–142, Feb. 2013, doi: 10.1038/nrn3407.
- [19] T. K. McIntosh *et al.*, "Traumatic brain injury in the rat: Characterization of a lateral fluid-percussion model," *Neuroscience*, vol. 28, no. 1, pp. 233–244, Jan. 1989, doi: 10.1016/0306-4522(89)90247-9.
- [20] C. Edward Dixon, G. L. Clifton, J. W. Lighthall, A. A. Yaghmai, and R. L. Hayes, "A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat," *J. Neurosci. Methods*, vol. 39, no. 3, pp. 253–262, Oct. 1991, doi: 10.1016/0165-0270(91)90104-8.
- [21] A. Marmarou, M. A. A.-E. Foda, W. van den Brink, J. Campbell, H. Kita, and K. Demetriadou, "A new model of diffuse brain injury in rats: Part I: Pathophysiology and biomechanics," *J. Neurosurg.*, vol. 80, no. 2, pp. 291–300, Feb. 1994, doi: 10.3171/jns.1994.80.2.0291.
- [22] L. Y. Leung, P. J. VandeVord, A. L. D. Cengio, C. Bir, K. H. Yang, and A. I. King, "Blast Related Neurotrauma: A review of Cellular Injury," p. 14, 2008.
- [23] Liang Guo, G. S. Guvanasen, Xi Liu, C. Tuthill, T. R. Nichols, and S. P. DeWeerth, "A PDMS-Based Integrated Stretchable Microelectrode Array (isMEA) for Neural and Muscular Surface Interfacing," *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–10, Feb. 2013, doi: 10.1109/TBCAS.2012.2192932.
- [24] L. Guo, M. Ma, N. Zhang, R. Langer, and D. G. Anderson, "Stretchable Polymeric Multielectrode Array for Conformal Neural Interfacing," *Adv. Mater.*, vol. 26, no. 9, pp. 1427–1433, Mar. 2014, doi: 10.1002/adma.201304140.
- [25] B. Morrison, B. S. Elkin, J.-P. Dollé, and M. L. Yarmush, "In Vitro Models of Traumatic Brain Injury," *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 13, no. 1, pp. 91–126, Aug. 2011, doi: 10.1146/annurev-bioeng-071910-124706.
- [26] A. G. Mukhin, S. A. Ivanova, J. W. Allen, and A. I. Faden, "Mechanical injury to neuronal/glial cultures in microplates: Role of NMDA receptors and pH in secondary neuronal cell death," *J. Neurosci. Res.*, vol. 51, no. 6, pp. 748–758, 1998, doi: 10.1002/(SICI)1097-4547(19980315)51:6<748::AID-JNR8>3.0.CO;2-B.
- [27] E. S. Tecoma, H. Monyer, M. P. Goldberg, and D. W. Choi, "Traumatic neuronal injury in vitro is attenuated by NMDA antagonists," *Neuron*, vol. 2, no. 6, pp. 1541–1545, Jun. 1989, doi: 10.1016/0896-6273(89)90042-1.
- [28] F. Sieg, P. Wahle, and H.-C. Pape, "Cellular Reactivity to Mechanical Axonal Injury in an Organotypic in Vitro Model of Neurotrauma," *J. Neurotrauma*, vol. 16, no. 12, pp. 1197–1213, Dec. 1999, doi: 10.1089/neu.1999.16.1197.
- [29] E. J. Murphy and L. A. Horrocks, "A Model for Compression Trauma: Pressure-Induced Injury in Cell Cultures," *J. Neurotrauma*, vol. 10, no. 4, pp. 431–444, Jan. 1993, doi: 10.1089/neu.1993.10.431.
- [30] J. H. Lucas and A. Wolf, "In vitro studies of multiple impact injury to mammalian CNS neurons: prevention of perikaryal damage and death by ketamine," *Brain Res.*, vol. 543, no. 2, pp. 181–193, Mar. 1991, doi: 10.1016/0006-8993(91)90027-S.
- [31] M. C. LaPlaca and L. E. Thibault, "An in vitro traumatic injury model to examine the response of neurons to a hydrodynamically-induced deformation," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 25, no. 4, pp. 665–677, Jul. 1997, doi: 10.1007/BF02684844.
- [32] D. H. Smith, J. A. Wolf, T. A. Lusardi, V. M.-Y. Lee, and D. F. Meaney, "High Tolerance and Delayed Elastic Response of Cultured Axons to Dynamic Stretch Injury," *J. Neurosci.*, vol. 19, no. 11, pp. 4263–4269, Jun. 1999, doi: 10.1523/JNEUROSCI.19-11-04263.1999.

- [33] E. Moutaux, "An integrated microfluidic/microelectrode array for the study of activity-dependent intracellular dynamics in neuronal networks," *Lab. Chip*, p. 11, 2018.
- [34] S. Wagner and S. Bauer, "Materials for stretchable electronics," *MRS Bull.*, vol. 37, no. 3, pp. 207–213, Mar. 2012, doi: 10.1557/mrs.2012.37.
- [35] R. Seghir and S. Arscott, "Mechanically robust, electrically stable metal arrays on plasma-oxidized polydimethylsiloxane for stretchable technologies," *J. Appl. Phys.*, vol. 118, no. 4, p. 045309, Jul. 2015, doi: 10.1063/1.4927616.
- [36] R. Seghir and S. Arscott, "Photo-hardenable and patternable PDMS/SU-8 hybrid functional material: A smart substrate for flexible systems," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 53, no. 18, pp. 1281–1291, Sep. 2015, doi: 10.1002/polb.23773.
- [37] T. Adrega and S. P. Lacour, "Stretchable gold conductors embedded in PDMS and patterned by photolithography: fabrication and electromechanical characterization," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 20, no. 5, p. 055025, May 2010, doi: 10.1088/0960-1317/20/5/055025.
- [38] N. J. Douville, Z. Li, S. Takayama, and M. D. Thouless, "Fracture of metal coated elastomers," *Soft Matter*, vol. 7, no. 14, p. 6493, 2011, doi: 10.1039/c1sm05140g.
- [39] P. Lee *et al.*, "Highly Stretchable and Highly Conductive Metal Electrode by Very Long Metal Nanowire Percolation Network," *Adv. Mater.*, vol. 24, no. 25, pp. 3326–3332, Jul. 2012, doi: 10.1002/adma.201200359.
- [40] H. Zhou *et al.*, "Fast flexible electronics with strained silicon nanomembranes," *Sci. Rep.*, vol. 3, no. 1, p. 1291, Dec. 2013, doi: 10.1038/srep01291.
- [41] X. Liu, Y. Zhu, M. W. Nomani, X. Wen, T.-Y. Hsia, and G. Koley, "A highly sensitive pressure sensor using a Au-patterned polydimethylsiloxane membrane for biosensing applications," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 23, no. 2, p. 025022, Feb. 2013, doi: 10.1088/0960-1317/23/2/025022.
- [42] K. S. Kim *et al.*, "Large-scale pattern growth of graphene films for stretchable transparent electrodes," *Nature*, vol. 457, no. 7230, pp. 706–710, Feb. 2009, doi: 10.1038/nature07719.
- [43] T. Sekitani *et al.*, "Stretchable active-matrix organic light-emitting diode display using printable elastic conductors," *Nat. Mater.*, vol. 8, no. 6, pp. 494–499, Jun. 2009, doi: 10.1038/nmat2459.
- [44] M. Vosgueritchian, D. J. Lipomi, and Z. Bao, "Highly Conductive and Transparent PEDOT:PSS Films with a Fluorosurfactant for Stretchable and Flexible Transparent Electrodes," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 22, no. 2, pp. 421–428, Jan. 2012, doi: 10.1002/adfm.201101775.
- [45] W. Kaczorowski *et al.*, "Evaluation of mechanical properties of carbon coatings synthesised in radio frequency plasma on PDMS," *Surf. Coat. Technol.*, vol. 333, pp. 220–228, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.surfcoat.2017.10.070.
- [46] C. Kotlowski *et al.*, "Electronic biosensing with flexible organic transistor devices," *Flex. Print. Electron.*, vol. 3, no. 3, p. 034003, Sep. 2018, doi: 10.1088/2058-8585/aad433.
- [47] F. Garcia-Castro, O. D. Sagazan, C. Simon, and N. Coulon, "Mechanical Microsensors for Pulse Measurement," *ECS Trans.*, p. 8, 2018.
- [48] J. A. Rogers, T. Someya, and Y. Huang, "Materials and Mechanics for Stretchable Electronics," *Science*, vol. 327, no. 5973, pp. 1603–1607, Mar. 2010, doi: 10.1126/science.1182383.
- [49] N. Bowden, W. T. S. Huck, K. E. Paul, and G. M. Whitesides, "The controlled formation of ordered, sinusoidal structures by plasma oxidation of an elastomeric polymer," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 75, no. 17, pp. 2557–2559, Oct. 1999, doi: 10.1063/1.125076.

- [50] B. Osmani, H. Deyhle, T. Töpper, T. Pfohl, and B. Müller, "Gold Layers on Elastomers near the Critical Stress Regime," *Adv. Mater. Technol.*, vol. 2, no. 10, p. 1700105, Oct. 2017, doi: 10.1002/admt.201700105.
- [51] M. Watanabe, H. Shirai, and T. Hirai, "Wrinkled polypyrrole electrode for electroactive polymer actuators," *J. Appl. Phys.*, vol. 92, no. 8, pp. 4631–4637, Oct. 2002, doi: 10.1063/1.1505674.
- [52] J. Jones, S. P. Lacour, S. Wagner, and Z. Suo, "Stretchable wavy metal interconnects," *J. Vac. Sci. Technol. Vac. Surf. Films*, vol. 22, no. 4, pp. 1723–1725, Jul. 2004, doi: 10.1116/1.1756879.
- [53] S. P. Lacour, J. Jones, Z. Suo, and S. Wagner, "Design and performance of thin metal film interconnects for skin-like electronic circuits," *IEEE Electron Device Lett.*
- [54] R. Rogel, B. L. Borgne, T. Mohammed-Brahim, E. Jacques, and M. Harnois, "Spontaneous Buckling of Multiaxially Flexible and Stretchable Interconnects Using PDMS/Fibrous Composite Substrates," *Adv. Mater. Interfaces*, vol. 4, no. 3, p. 1600946, Feb. 2017, doi: 10.1002/admi.201600946.
- [55] D. S. Gray, J. Tien, and C. S. Chen, "High-Conductivity Elastomeric Electronics," *Adv. Mater.*, vol. 16, no. 5, pp. 393–397, Mar. 2004, doi: 10.1002/adma.200306107.
- [56] Y.-Y. Hsu, M. Gonzalez, F. Bossuyt, J. Vanfleteren, and I. De Wolf, "Polyimide-Enhanced Stretchable Interconnects: Design, Fabrication, and Characterization," *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. 58, no. 8, pp. 2680–2688, Aug. 2011, doi: 10.1109/TED.2011.2147789.
- [57] A. Baldwin and E. Meng, "A kirigami-based Parylene C stretch sensor," in *Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2017 IEEE 30th International Conference on*, 2017, pp. 227–230.
- [58] K. W. Meacham, R. J. Giuly, L. Guo, S. Hochman, and S. P. DeWeerth, "A lithographically-patterned, elastic multi-electrode array for surface stimulation of the spinal cord," *Biomed. Microdevices*, vol. 10, no. 2, pp. 259–269, Apr. 2008, doi: 10.1007/s10544-007-9132-9.
- [59] M. O. Heuschkel, M. Fejtl, M. Raggenbass, D. Bertrand, and P. Renaud, "A three-dimensional multi-electrode array for multi-site stimulation and recording in acute brain slices," *J. Neurosci. Methods*, vol. 114, no. 2, pp. 135–148, Mar. 2002, doi: 10.1016/S0165-0270(01)00514-3.
- [60] H. Oka, K. Shimono, R. Ogawa, H. Sugihara, and M. Taketani, "A new planar multielectrode array for extracellular recording: application to hippocampal acute slice," *J. Neurosci. Methods*, vol. 93, no. 1, pp. 61–67, Oct. 1999, doi: 10.1016/S0165-0270(99)00113-2.
- [61] S. P. Lacour *et al.*, "Flexible and stretchable micro-electrodes for in vitro and in vivo neural interfaces," *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 48, no. 10, pp. 945–954, Oct. 2010, doi: 10.1007/s11517-010-0644-8.
- [62] A. Romeo, Q. Liu, Z. Suo, and S. P. Lacour, "Elastomeric substrates with embedded stiff platforms for stretchable electronics," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 102, no. 13, p. 131904, Apr. 2013, doi: 10.1063/1.4799653.
- [63] "BMSEED - BioMedical Sustainable Elastic Electronic Devices," *BMSEED*. [Online]. Available: <https://www.bmseed.com>. [Accessed: 04-Sep-2019].
- [64] B. Morrison, H. L. Cater, C. D. Benham, and L. E. Sundstrom, "An in vitro model of traumatic brain injury utilising two-dimensional stretch of organotypic hippocampal slice cultures," *J. Neurosci. Methods*, vol. 150, no. 2, pp. 192–201, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.jneumeth.2005.06.014.

Chapitre II.
Fabrication et
caractérisation
électromécanique
d'interconnexions
métalliques sur PDMS

1. Introduction

Ce chapitre présente les premiers travaux menés au cours de cette thèse. Ils concernent la fabrication et la caractérisation d'interconnexions métalliques déposées directement sur PDMS. A la lumière des conclusions de l'étude bibliographique présentée dans le 1^{er} chapitre, nous nous sommes intéressés aux points suivants : le polymère choisi comme matériau étirable et déformable, le métal constituant les interconnexions et les électrodes, le type de métal le mieux adapté pour assurer l'adhésion sur le polymère, l'impact de l'épaisseur de ces métaux dans le domaine nanométrique et sub-nanométrique sur la performance du système, et l'importance de la géométrie des interconnexions en fonction de la direction de la déformation mécanique appliquée. Après avoir détaillé les différentes étapes technologiques de fabrication, nous présenterons une caractérisation optique des dispositifs obtenus hors déformation mécanique en fonction des différents métaux testés. Les conclusions ainsi obtenues nous ont ensuite permis de caractériser optiquement et électriquement des lignes conductrices sur PDMS placées sous déformations mécaniques.

2. Etude de la fabrication d'interconnexions conductrices sur PDMS

Cette partie présentera une étude d'interconnexions métalliques sur un substrat souple. Pour cela, nous utilisons un matériau très largement utilisé dans l'électronique flexible pour les applications biologiques, soit le PDMS. Celui-ci nous permet d'avoir un substrat biocompatible, flexible, étirable, bas coût, et transparent. Dans l'objectif de créer des lignes conductrices et robustes sur substrat étirable, différents types de métaux ont été testés au cours de cette étude pour ainsi choisir le plus adapté pour notre système.

2.1. Mise en œuvre du PDMS

2.1.1. Préparation du PDMS

Tous les procédés et les mesures ont été effectués dans la salle blanche de l'IEMN de niveau ISO 5/7. Pour fabriquer les échantillons de PDMS, ceux-ci ont été préparés en utilisant un kit commercial (Sylgard 184, Dow Corning). Ce kit est composé d'une « base » et d'un « agent réticulant » à peser, mélanger, dégazer, et recuire.

Nous commençons par peser la base et l'agent réticulant pour obtenir un ratio de 10:1 (poids:poids). Ils sont ensuite mélangés énergiquement durant plusieurs minutes afin de s'assurer d'une bonne homogénéité. Lors du mélange, des bulles apparaissent du fait de l'incorporation d'air. Ces bulles d'air doivent être retirées du mélange, sans quoi elles seront emprisonnées dans le PDMS. Une chambre sous vide reliée à une pompe nous permet de dégazer le mélange pendant 30 minutes sous une pression de 10^{-4} mbar. Lorsque le mélange est dépourvu de bulles, le PDMS peut être versé dans des plats de téflon d'un diamètre d'environ 7,62 cm, correspondant à la taille d'une plaquette de silicium 3 pouces. Afin d'être réticulé, le mélange est ensuite chauffé dans un four à 100°C pendant 120 minutes — suivant la fiche technique du fabricant. Lorsque le PDMS est réticulé, il peut être démoulé et découpé à l'aide d'un scalpel. Nous utilisons des plats de téflon commerciaux car le PDMS se décolle très facilement après réticulation. Pour finir, les échantillons de PDMS sont détaillés pour obtenir des dimensions de 2 cm de largeur par 4 cm de longueur et une épaisseur de 1,7 mm.

Durant l'étape de préparation du PDMS, aucune poussière ne doit être incorporée au mélange pour ainsi prévenir de potentielles fissures liées aux défauts ainsi que pour les prochaines étapes technologiques liées à la lithographie. En effet, même dans un environnement de salle blanche, la nature isolante du PDMS amène à l'attraction de pollutions telles que des particules. Celles-ci peuvent être enlevées à l'aide d'un bain à ultrasons ou tout simplement avec du scotch en prenant soin de ne pas ajouter de résidu de colle.

2.1.2. Choix de l'épaisseur du PDMS

Pour travailler avec un microsystème flexible et étirable [1], il est important de connaître les propriétés mécaniques de celui-ci. Avec un rapport base:réticulant de 10:1, le PDMS possède un coefficient de Poisson¹ de 0,5, un module de Young² de 2,4 MPa et une résistance à la traction³ de 1,9 MPa [2]. Il est donc facilement déformable et mou et présente la capacité de s'étirer de 150%.

¹ Le coefficient de Poisson fait partie des constantes élastiques. Il définit le ratio de la déformation dans le sens transversal sur la déformation dans le sens longitudinal.

² Le module de Young ou module d'élasticité est la constante qui relie la contrainte de traction et le début de la déformation d'un matériau élastique isotrope. C'est une mesure de rigidité du matériau.

³ La résistance à la traction est la capacité d'un matériau à s'allonger sans se rompre, elle vient en opposition à la résistance de compression.

Afin d'éviter que le substrat de PDMS ne soit détérioré par un étirement ou une flexion non voulue, nous avons choisi de travailler dans un premier temps, avec un support de PDMS de $1,7 \pm 0,1$ mm d'épaisseur — le volume déposé dans les plats de téflon a été calculé pour obtenir cette épaisseur. La manipulation est également plus commode. La Figure II-1 présente la différence de raideur entre deux échantillons de PDMS de même dimension mais d'épaisseurs différentes de 1 mm et 500 μm . On observe que la raideur est proportionnelle à l'épaisseur de l'échantillon.

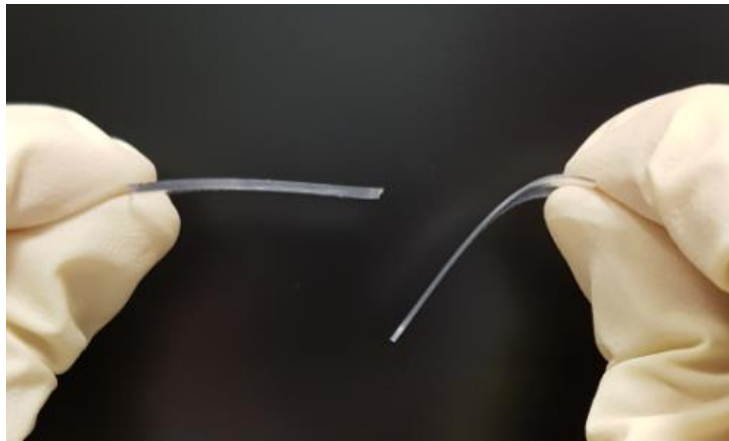


Figure II-1. Différence de raideur entre deux échantillons de PDMS avec des épaisseurs différentes. A gauche 1 mm et à droite 500 μm d'épaisseur. Les deux échantillons possèdent des dimensions identiques, 3 cm de long par 1,5 cm de large.

2.1.3. *Modification de surface du PDMS*

Précédant la métallisation, les échantillons de PDMS sont exposés à un plasma oxygène. Ce plasma oxygène modifie la chimie de surface du PDMS en produisant des terminaisons silanol (SiOH). Ce traitement rend ainsi la surface de PDMS hydrophile en permettant une meilleure adhésion des différents métaux déposés par la suite, voir Figure II-2.

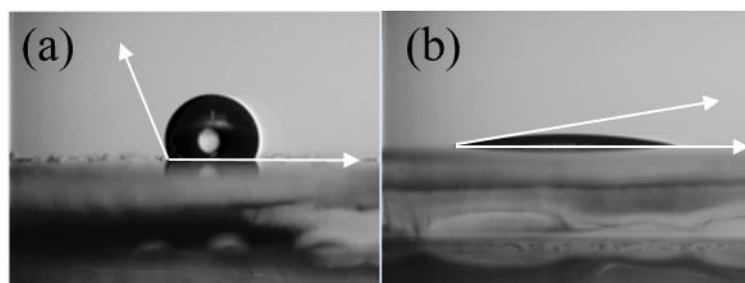


Figure II-2. Support de PDMS traité et non traité par un plasma oxygène. (a) Echantillon de PDMS non traité par un plasma oxygène, la goutte d'eau possède un angle de contact de $113^\circ \pm 1^\circ$. (b) Echantillon de PDMS traité au plasma oxygène, la goutte d'eau possède un angle de contact de $11^\circ \pm 1^\circ$.

Les paramètres du plasma oxygène ont déjà été optimisés [3] pour maximiser l'adhésion des métaux tout en évitant de créer des fissures à la surface du PDMS. En effet, si le plasma est trop fort, les contraintes mécaniques (en tension) dans la surface de « silice », amènent à l'apparition de fissures. Pour éviter cela, nous avons réglé la puissance à 75 W pour une durée de 10 secondes. Le procédé a été réalisé dans un bâti Plasmalab 80+ (Oxford Instruments, UK).

2.2. *Dépôt d'or directement sur PDMS*

Pour obtenir des interconnexions sur substrat souple, plusieurs techniques existent comme citées dans le Chapitre I section 3.2. Nous avons fait le choix d'utiliser des métaux en couche mince pour correspondre à une technologie planaire.

2.2.1. *Choix de métal*

L'or possède une des meilleures conductivités parmi les métaux — après l'argent et le cuivre — et peut être déposé en couche mince. Il possède un coefficient de Poisson de 0,42, un module de Young de 79 GPa et une ténacité comprise entre 100 et 120 MPa. C'est donc un matériau très malléable, facilement déformable mais non élastique, mou et présentant une capacité moyenne à propager une fissure. De plus, il est biocompatible, inoxydable en condition ambiante et possède une grande ductilité⁴. En raison de ses caractéristiques et de son inaltérabilité, il semble être un bon candidat pour réaliser des interconnexions étirables.

2.2.2. *Structuration des interconnexions par masque physique*

Dans un premier temps, nous avons décidé d'utiliser la méthode de masquage à l'aide d'un masque physique — tel un pochoir — pour sa simplicité d'utilisation et son faible coût. C'est une technique idéale pour une étape de prototypage rapide contrairement à la lithographie plus communément utilisée mais nécessitant plus d'étapes technologiques et donc plus longue à réaliser. Néanmoins, un masque physique impose des effets de bords et donc une moins bonne définition des motifs métallisés (voir Figure II-5 et II-6). Par ailleurs, cette technique ne nous permet pas d'avoir une résolution importante. C'est pourquoi nous commencerons par

⁴ La ductilité ou allongement à la rupture désigne la capacité d'un matériau à se déformer sans se rompre.

métalliser des lignes droites et par la suite, nous complexifierons le design en utilisant d'autres moyens complémentaires.

Le masque physique utilisé est d'une épaisseur de 50 μm d'un film de nickel. Il contient des lignes ayant des dimensions de 100 μm par 500 μm (40 au total) et 7,95 mm par 150 μm (15 au total), voir Figure II-4(b).

Après le passage du plasma oxygène, nous fixons le masque physique directement sur l'échantillon de PDMS à l'aide de pinces. Pour ne pas détériorer le plasma oxygène à la surface du PDMS, le masque physique ne doit pas bouger pendant et après la métallisation. Le masque et le support de PDMS sont placés sur le porte échantillon présenté Figure II-3. A noter que la surface rugueuse du porte échantillon permet au PDMS de ne pas adhérer à la surface.

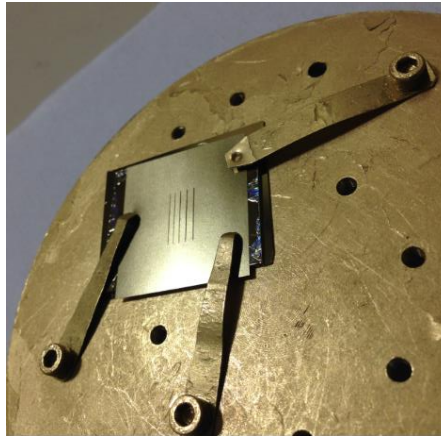


Figure II-3. Echantillon de PDMS surmonté par un masque physique, le tout maintenu par des pinces sur un porte échantillon.

2.2.3. Méthode de dépôt par évaporation sous vide

Pour pouvoir métalliser l'ensemble de nos échantillons, nous utilisons une technique de dépôt physique en phase vapeur : l'évaporation sous vide. Cette technique de dépôt en couche mince nous permet d'obtenir de faibles épaisseurs de métal de l'ordre de quelques nanomètres. Elle repose sur deux procédés élémentaires, l'évaporation d'une source chauffée et la condensation à l'état solide de la matière évaporée sur la cible du dépôt. L'évaporation a lieu sous vide, permettant ainsi à la matière de se propager jusqu'à la cible sans collision avec d'autres particules.

Les échantillons de PDMS (prétraités au plasma oxygène) sont donc métallisés en utilisant la métallisation sous vide à l'aide d'un masque physique, pour définir les lignes dans

un bâti MEB 550S electron beam evaporation system (Plassys, France) à une pression inférieure à 10^{-7} mbar. Durant l'évaporation sous vide, les échantillons de PDMS ont été maintenus à température ambiante à l'aide d'un système de refroidissement, le temps de pompage dure environ 1h.

Pour avoir une connaissance exacte de l'épaisseur de métal que nous déposons, toutes les épaisseurs des différents métaux ont été mesurées par AFM, voir Annexe A. L'épaisseur de l'or est donc de 21,6 nm avec une vitesse de dépôt de $0,5 \text{ nm s}^{-1}$.

La manipulation des échantillons après évaporation peut amener à des déformations non contrôlées : le fait de démonter notre système de la cible de métallisation peut provoquer des déformations sur notre dispositif. C'est pourquoi la manipulation post procédé a été faite de manière très précautionneuse pour éviter toute déformation avant caractérisation. Le masque physique a ensuite été retiré minutieusement de la surface de PDMS après avoir sorti les échantillons du bâti.

La Figure II-4(a) présente un échantillon de PDMS avec motifs de films d'or — indiqués par la flèche noire — à l'aide d'un masque physique présenté sur la Figure II-4(b).

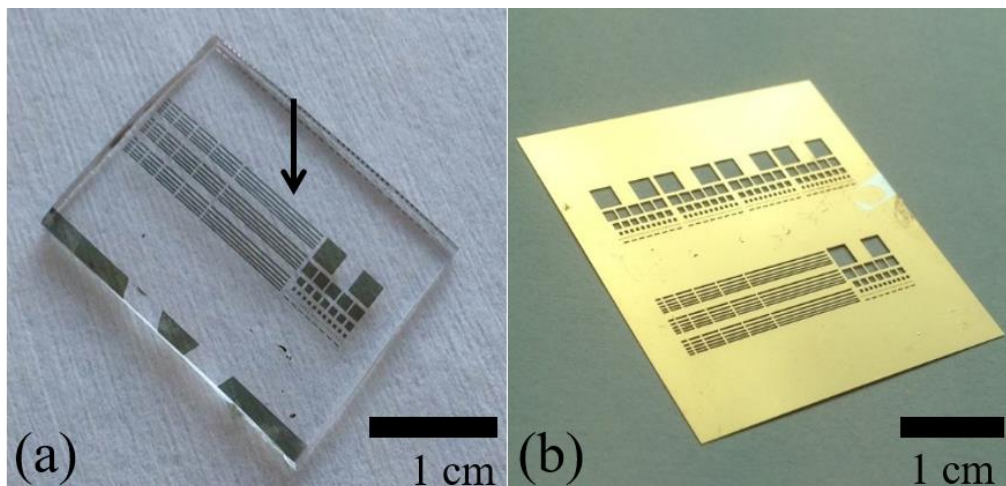


Figure II-4. Fabrication du PDMS métallisé. (a) Les motifs d'or d'une épaisseur de 21,6 nm sont évaporés thermiquement sous vide sur le support de PDMS. (b) Masque physique utilisé pour obtenir les motifs métalliques présentés en (a).

2.2.4. *Résultat de la métallisation d'or directement sur PDMS*

Après avoir fabriqué les échantillons de PDMS métallisés par de l'or, nous les avons observés au microscope — voir Figure II-5. On remarque que si l'or est évaporé seul directement sur une surface de PDMS, des effets de bords sont causés par le masque physique et par la mauvaise adhésion entre l'or et le PDMS (indiqué par des ellipses bleues dans la Figure II-5), phénomène connu dans la littérature [4]. De telles irrégularités le long des lignes métalliques peuvent entraîner des régions de contrainte qui conduisent à des fissures.

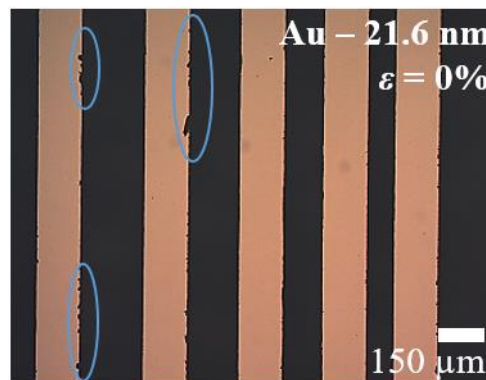


Figure II-5. Les effets de l'or évaporé seul directement sur PDMS (après plasma) sans déformation appliquée. Les lignes d'or sont d'une épaisseur de 21,6 nm, d'une largeur de 150 μm et d'une longueur de 7,95 mm. Les ellipses bleues indiquent les effets de bords causés par le masque physique.

L'or ne suffit donc pas pour pouvoir métalliser des interconnexions directement sur un substrat de PDMS, même avec un plasma oxygène optimisé. C'est pourquoi un métal d'accroche est requis pour que le métal adhère mieux sur la surface de PDMS pour ainsi obtenir une meilleure définition des lignes métallisées.

2.3. *Dépôt d'or sur différentes couches d'accroches*

Dans cette partie nous allons tester différents métaux comme couche d'adhésion pour obtenir une meilleure adhérence entre le métal et la surface de PDMS.

Les échantillons présentés dans cette partie sont des supports de PDMS fabriqués et soumis à un plasma à oxygène dans les mêmes conditions que présentées ci-dessus. La métallisation se fera également par évaporation sous vide à l'aide du même masque physique. Les vitesses de dépôt sont de 0,2 nm s^{-1} pour le titane et le nickel et 0,5 nm s^{-1} pour le chrome.

2.3.1. Caractéristiques de différents types de métaux

Pour réaliser une couche d'accroche, nous avons testé trois métaux en couche mince sur les substrats de PDMS : titane/or, nickel/or et chrome/or. Ces trois métaux ont été choisis en raison de leurs caractères connus comme 'métaux d'adhésion' ou couche d'accroche souvent utilisés dans les micro et nano technologies. Suite à une étude [3], l'épaisseur de la couche d'adhésion sera inférieure à 5 nm pour minimiser les fissures associées directement au procédé. Concernant l'épaisseur de l'or, une étude [5] suggère que la plage entre 10 et 50 nm de métal est l'épaisseur adéquate pour l'électronique flexible.

2.3.2. Etude des conditions d'apparition des fissures de procédé

Lors de la métallisation de films en couche mince sur PDMS, des fissures peuvent apparaître. Ces fissures, que nous appellerons « fissures de procédé », s'expliquent par la contrainte de traction résiduelle dans le film mince résultant du procédé. Analysons si les différents métaux utilisés dans cette étude amènent de la même manière à l'apparition des fissures de procédé.

La Figure II-6 présente des images de films métalliques sur PDMS immédiatement après métallisation. Les différents types d'évaporation et d'épaisseur sont nickel/or (2,6/21,6 nm) — Figure II-6(a), titane/or (2,6/21,6 nm) — Figure II-6(b), et chrome/or (2,6/21,6 nm) — Figure II-6(c).

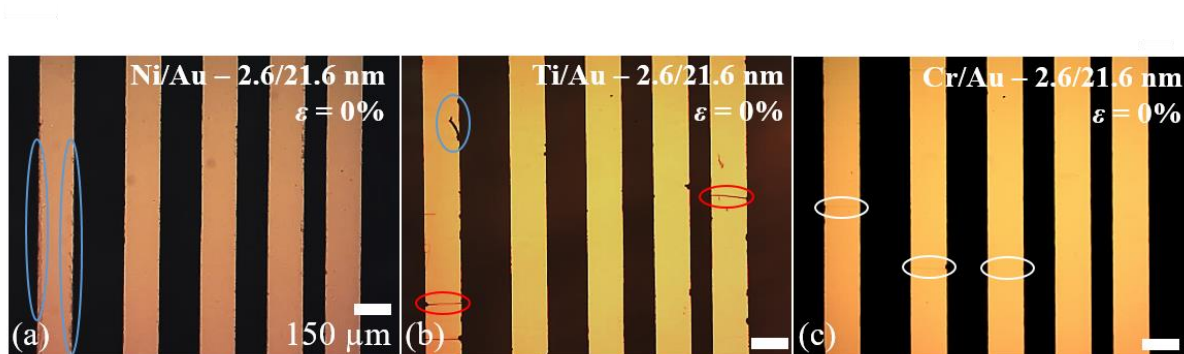


Figure II-6. Effets de différents types de métaux sur les fissures de procédé en films couches minces sur PDMS sans déformation appliquée. (a) Lignes de nickel/or (2,6/21,6 nm). (b) Lignes de titane/or (2,6/21,6 nm). (c) Lignes de chrome/or (2,6/21,6 nm). Les barres d'échelles représentent 150 µm.

On observe qu'il n'y a aucune fissure de procédé pour le nickel en tant que couche d'accroche. Des effets de bords causés par le masque physique (indiqués par des ellipses bleues

dans la Figure II-6(a) et Figure II-6(b)) sont malgré tout présents et peuvent entraîner des régions de contrainte qui pourraient conduire à des fissures avec ou sans déformation mécanique.

Concernant le titane, quelques fissures de procédé sont observées (indiquées par des ellipses rouges dans la Figure II-6(b) bien que beaucoup de lignes métallisées ne présentaient aucune fissure). Ces résultats indiquent qu'une contrainte résiduelle réside dans ces films — information bien documentée lorsque les évaporations de films en couches minces se font sur des substrats rigides [6], [7]. Bowden et al. [8] ont d'ailleurs reporté des structures organisées — présumées non fissurées — en utilisant des métallisations sur PDMS.

L'utilisation du chrome amène à peu de défauts le long des lignes métallisées. Nous constatons une définition très nette des lignes métallisées. En revanche, des fissures de procédé sont apparentes sur la plupart des lignes métalliques — voir les ellipses blanches sur la Figure II-6(c). La contrainte induite par le procédé dans les films de chrome est connue pour être bien supérieure à celle présentée par le nickel et le titane — tout du moins sur des substrats rigides [6]. Les fissures spontanées suivant l'évaporation thermique ont la caractéristique d'être perpendiculaires aux bords des lignes métalliques — comme précédemment observé sur des systèmes similaires de PDMS [3]. Le résultat de ces fissures induit la fragmentation des lignes métalliques en plots individuels isolés appelés *mesas*⁵. En observant la longueur de ces mesas [9], on remarque une certaine organisation [3] le long des lignes métallisées.

Après avoir analysé ces différents métaux en tant que couche d'accroche, le chrome se révèle être le meilleur choix et nous permet d'obtenir une très bonne définition sur l'ensemble des lignes métallisées. Néanmoins, le chrome peut amener à des fissures de procédé. Nous avons donc choisi d'optimiser l'épaisseur de chrome pour ainsi réduire l'apparition de ces fissures. Une comparaison de différentes épaisseurs de chrome en tant que couche d'adhésion complètera donc l'étude des fissures de procédé.

2.4. *Influence de l'épaisseur de la couche d'adhésion de chrome*

Une étude des fissures dans les mêmes conditions que les nôtres avec des épaisseurs de couche d'accroche de chrome de 5 et 10 nm a montré que plus le chrome était épais, plus les

⁵ Un mesa est un petit plateau ou une grande butte à sommet plat et aux versants abrupts.

fissures étaient présentes sur la surface métallisée [10]. Nous avons donc conclu qu'il fallait diminuer l'épaisseur de chrome. En utilisant toujours le même système de métallisation et des échantillons de PDMS identiques prétraités au plasma oxygène, nous avons testé des échantillons de différentes épaisseurs de couche d'accroche de chrome comprises entre 0,9 et 4,1 nm surmontées par 21,6 nm d'or. Ces épaisseurs ont été calibré par l'AFM, voir Annexe A.

La Figure II-7 présente des images de microscope optique — prises avec une lumière polarisée — de lignes chrome/or métallisées sur PDMS. L'évaporation de différentes épaisseurs de films de chrome sur PDMS amène à deux types de fissures de procédé. Lorsque l'épaisseur de chrome est inférieure à 3 nm, les fissures de procédé sont toujours perpendiculaires aux bords des lignes métallisées (indiquées par les ellipses blanches dans la Figure II-7(a)). Des fissures liées aux effets de bords peuvent également apparaître (indiquées par l'ellipse rouge Figure II-7(b)). En augmentant l'épaisseur de chrome jusque 4,1 nm (Figure II-7(c)), les fissures de procédé changent de forme et deviennent 'ondulées' — cela a d'ailleurs été prédit [11]. En revanche, lorsque le film de chrome est fin, ici 0,9 nm, aucune fissure de procédé n'apparaît.

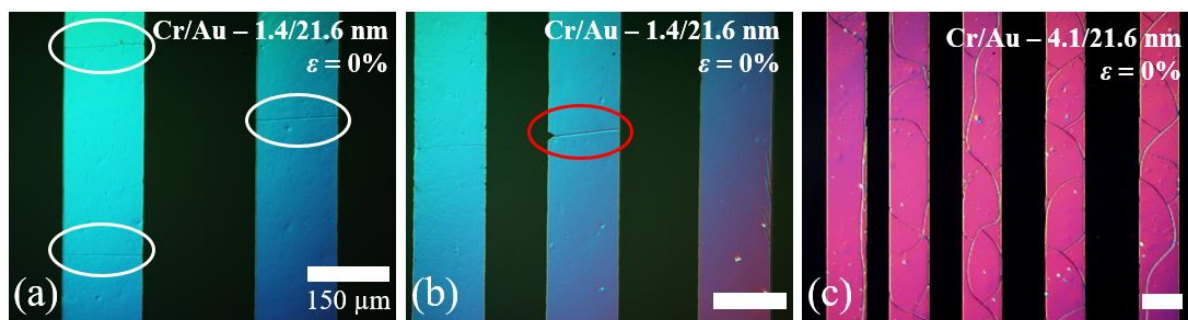


Figure II-7. L'effet de l'épaisseur des films sur les fissures de procédé sur des films métalliques minces évaporés sur PDMS. (a) Présence de fissures de procédé perpendiculaires aux bords des lignes de chrome/or (1,4/21,6 nm) évaporé — indiquées par les ellipses blanches. (b) Fissure de procédé causée par des effets de bords. (c) Le résultat de fissures de procédé ondulées sur des lignes de chrome/or (4,1/21,6 nm) évaporées. Les lignes métalliques ont une largeur de 150 μm .

Après ces observations, nous pouvons conclure que le chrome permet une bonne adhésion sur une surface de PDMS déformable [5], [12], [13] prétraité à un plasma oxygène. En revanche, si l'épaisseur de chrome est supérieure à 4 nm, les fissures deviennent aléatoires et anarchiques. A contrario, si l'on diminue l'épaisseur du film de chrome, les fissures de procédé sont de moins en moins nombreuses.

3. Etude sous déformation mécanique d'interconnexions métallisées sur PDMS

Pour mieux comprendre le phénomène de fissuration mais cette fois-ci sous déformation mécanique, étudions le comportement de lignes métallisées chrome/or sur PDMS avec une couche d'adhésion de chrome variant de 0,9 à 3,3 nm. Une étude succincte sur les couches d'accroche de titane et nickel sous déformation mécanique est présentée en Annexe B.

Notre technologie repose sur un substrat étirable comprenant des lignes métalliques bien moins étirables. C'est pourquoi ces dernières ont besoin d'être robustes afin que les déformations mécaniques soient absorbées par le support de PDMS et non par les lignes métallisées.

Un échantillon étirable avec des lignes métallisées non étirables ne se déformera pas de manière homogène sur l'ensemble du système. Le PDMS absorbera une grande partie des déformations ainsi que l'énergie à dissiper, contrairement aux lignes métallisées évaporées par-dessus. La proportion entre PDMS et lignes métallisées dans le sens de l'étirement est donc primordiale pour tout système étirable [10].

La première partie de cette étude présentera des échantillons avec des lignes métalliques orientées longitudinalement par rapport à l'étirement uni-axial appliqué, voir Figure II-8(a). Dans ce cas la proportion de PDMS pour amortir la déformation est relativement faible par rapport aux lignes métallisés, voir Figure II-8(b).

La deuxième partie quant à elle abordera un système avec des lignes métallisées orientées transversalement par rapport à l'étirement appliqué à l'échantillon, voir Figure II-8(c). La proportion de PDMS est alors plus importante que la surface de métal. Le PDMS pourra donc plus facilement être étiré. De plus, l'effet Poisson permettra de mettre en compression les lignes métalliques étirées et donc d'adoucir l'étirement appliqué sur ces lignes.

La déformation mécanique appliquée sur les échantillons est une tension quasi-uni-axiale c'est-à-dire sur un seul axe. En revanche, l'effet Poisson est visible sur la Figure II-8.

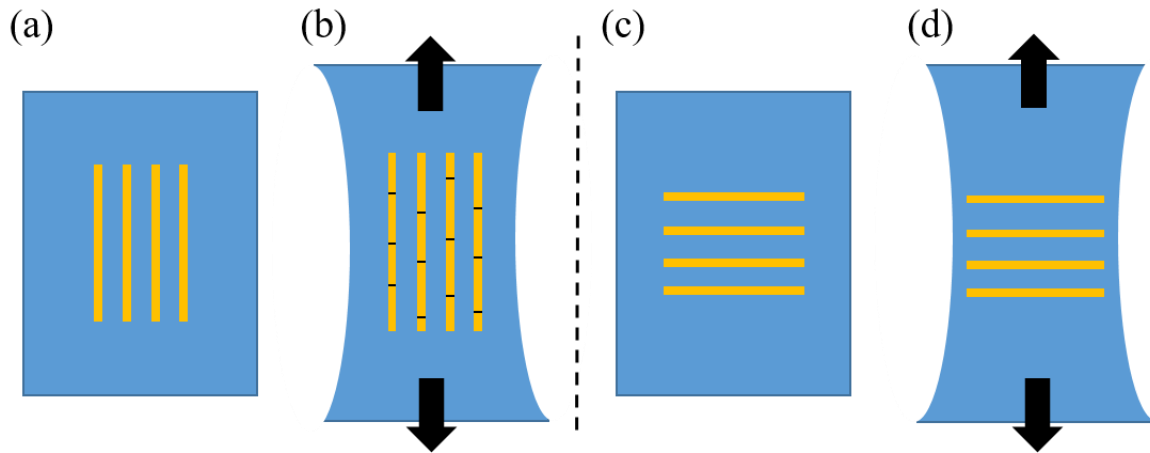


Figure II-8. Caractérisation mécanique en tension uni-axiale de lignes métalliques (a-b) orientées longitudinalement par rapport de la tension appliquée et (c-d) orientées transversalement par rapport à la tension appliquée.

3.1. Présentation du matériel d'étirement

Un dispositif capable d'imposer un étirement mécanique a été adapté pour les tests électromécaniques de nos échantillons de PDMS métallisés. Celui-ci comprend une plaque fixe et une plaque coulissante — présenté Figure II-9 — capable d'appliquer un étirement uni-axial sur les échantillons de PDMS. En effet, l'étirement augmente en tournant manuellement la molette et permet à la plaque coulissante d'appliquer cette traction. L'étirement appliqué dépendra de la largeur du pont initial séparant les deux plaques, voir Tableau II-1. Les graduations de mesures sur la molette nous permettent de calculer l'étirement appliqué sur les échantillons. La résolution de traction du dispositif d'étirement est de 0,1%, ce qui est largement suffisant pour les étirements appliqués sur nos échantillons — d'environ 70% au maximum (limite de la machine d'étirement). Les mesures en conséquence ont été faites avec un étirement par palier pour une vitesse d'environ $1\% \text{ s}^{-1}$.

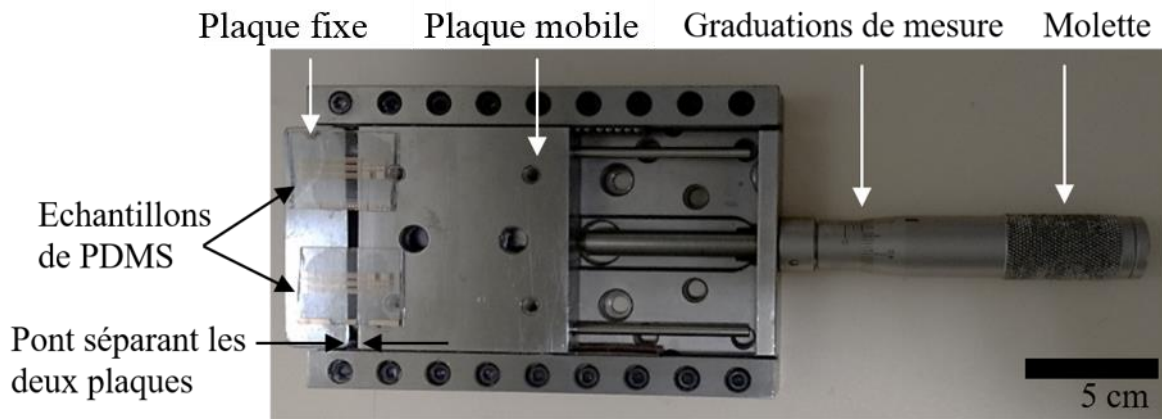


Figure II-9. Dispositif d'étirement comprenant une plaque fixe et une plaque coulissante. En tournant la molette, la plaque coulissante s'éloigne de la plaque fixe et permet d'étirer les échantillons. Le pont séparant les deux plaques régit l'application de l'étirement sur l'échantillon.

		ΔL (μm)	Etirement ($\Delta L/L$)	Etirement (%)
Si $L_0=5$ mm	1 graduation	10	0.002	0.2
	1 tour complet	500	0.1	10
Si $L_0=10$ mm	1 graduation	10	0.001	0.1
	1 tour complet	500	0.05	5

Tableau II-1. Mesure de l'étirement appliqué en fonction du pont initial séparant les plaques coulissante et fixe.

3.2. Mise en place de l'échantillon sur le dispositif d'étirement

Les échantillons de PDMS métallisés sont soigneusement montés sur la machine — encore une fois prudemment pour éviter toute application de déformation non contrôlée — ceci peut causer des fissures. Pour cela, une fois les échantillons fabriqués nous les posons délicatement sur le dispositif d'étirement. A l'aide de deux plaques perforées — présentées Figure II-10(a) — on vient pincer l'échantillon de chaque côté en vissant d'une part une plaque perforée sur la plaque fixe, et d'autre part la deuxième plaque perforée sur la plaque coulissante. Lorsque l'échantillon est monté, le PDMS est pincé entre deux plaques métalliques sur environ 2 cm de chaque côté, voir Figure II-10(b-c). La seule action de fixer mécaniquement les échantillons suffit à induire des déformations (flexion et gonflement dû à l'effet Poisson) sur l'échantillon. C'est pourquoi après avoir fixé et pincé l'échantillon il faut vérifier qu'il ne soit

pas déformé. Si une déformation subsiste, il faut appliquer quelques millimètres d'étirement à l'aide de la molette et ainsi obtenir un échantillon planaire. La Figure II-10 présente un échantillon monté dans l'appareil d'étirement. La flèche noire sur la Figure II-10(c) pointe les lignes métalliques sous déformation de traction uni-axiale.

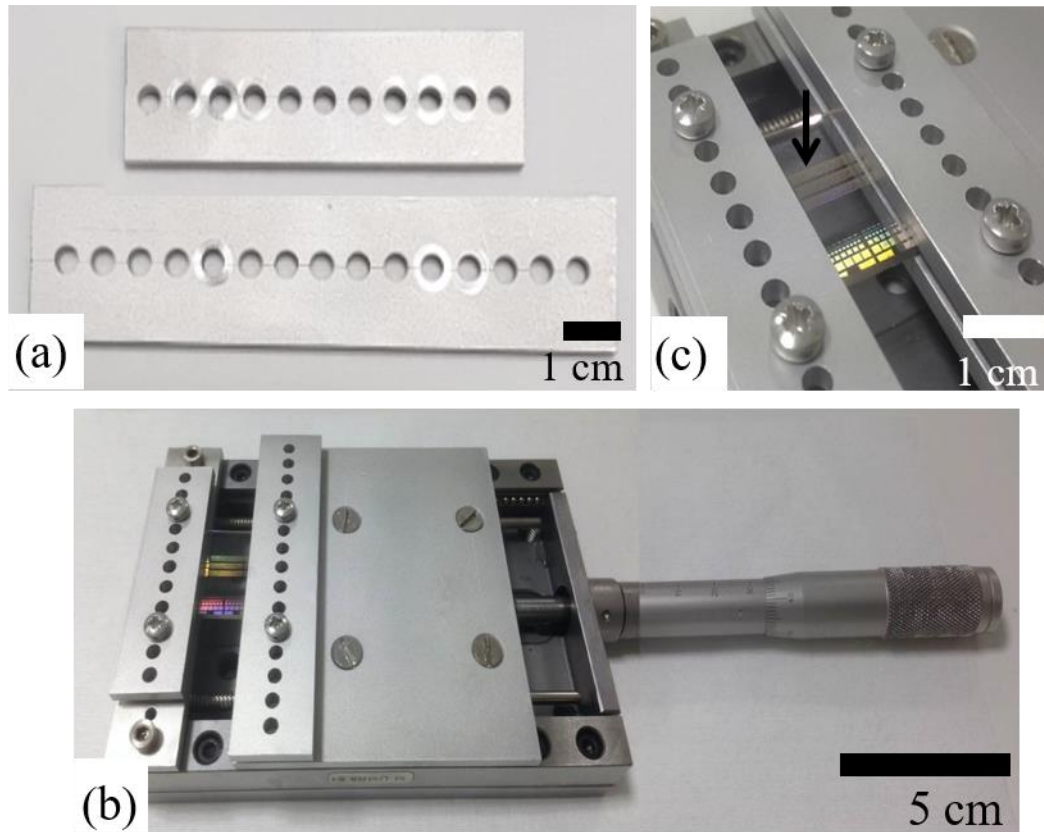


Figure II-10. Essais mécaniques du PDMS métallisé. (a) Plaques perforées permettant de pincer l'échantillon monté sur la machine. (b) L'échantillon de PDMS métallisé est monté sur une simple machine de test qui applique l'étirement sur l'échantillon. (c) La machine de test est composée d'une plaque fixe et d'une plaque coulissante. Les plaques perforées permettent de maintenir en place l'échantillon sur la machine de test. La flèche noire pointe des lignes métallisées sur substrat de PDMS sous déformation mécanique.

3.3. *Distinction entre l'étirement global et local*

Il est important de faire la distinction entre « la déformation globale » que nous appliquons à l'aide de notre système et « la déformation locale » mesurée localement sur l'échantillon au cours de notre étude. A l'aide de notre système, nous imposons un étirement global sur l'ensemble de nos échantillons lors des tests. L'étirement interligne local — entre deux lignes métallisées de l'échantillon — est calculé directement à partir d'images prises en différents points de nos échantillons à l'aide d'un microscope numérique VHX-6000 (Keyence, Japon ; résolution objectif $\times 100$: $2600 \times 3470 \mu\text{m}$;

résolution objectif $\times 1000$: $260 \times 347 \mu\text{m}$; résolution image : 1600×1200 pixels), et cela à chaque étirement appliqué suivant l'équation (1) suivante :

$$\varepsilon_{loc} = \Delta L_{loc} / L_{loc} , \text{ Equation (1)}$$

avec ε_{loc} l'étirement interligne calculé,

L_{loc} représente la longueur entre deux points distincts (*e.g.* coins des lignes métalliques) au début de l'expérience,

et ΔL_{loc} qui représente la changement de la longueur entre ces deux points.

Comme expliqué précédemment, le PDMS possède un coefficient de Poisson d'environ 0,5. Si on étire l'échantillon de PDMS dans un sens, il va se compresser dans l'autre. En plaçant les lignes métallisées au centre de l'échantillon de PDMS, on s'est assuré que l'effet Poisson et l'étirement appliqué soient homogènes (quasi-uni-axial).

Dans notre cas, le paramètre d'intérêt est l'étirement entre les lignes métalliques sur le PDMS, c'est-à-dire localement. En moyennant les déformations d'interlignes en différents points de la surface de l'échantillon, une courbe représentant la moyenne de la déformation interligne ε_{ave} peut être tracée.

3.4. Etude de lignes métalliques orientées longitudinalement par rapport à l'étirement

Dans un premier temps, l'étude se focalisera sur la robustesse des métallisations sur PDMS. Après avoir analysé les fissures de procédé, voyons à présent les fissures d'étirement. Celles-ci apparaissent au cours de l'application d'une déformation mécanique. La première étape est donc de faire une étude du nombre et de la largeur de fissures au cours de l'étirement en variant l'épaisseur de la couche d'adhésion, soit le chrome. L'épaisseur de l'or est quant à elle fixe, d'une valeur de 21,6 nm. Dans cette partie, 18 échantillons ont été fabriqués, ce qui représente environ 270 lignes métalliques étudiées.

3.4.1. Evolution des fissures d'étirement

La Figure II-11 présente l'effet de l'étirement uni-axial longitudinal sur des lignes métallisées de chrome/or (0,9/21,6 nm) sur PDMS. L'épaisseur du film d'adhésion a été fixée à 0,9 nm afin d'éviter les fissures de procédé (étudiées précédemment). Après avoir placé l'échantillon métallisé sur le dispositif d'étirement, nous appliquons un étirement constant tout en prenant des images tous les 1,5% environ.

Plusieurs observations sont apparentes dans la Figure II-11. A 0%, aucune fissure de procédé n'est observée sur les lignes de chrome/or avec une épaisseur de la couche d'accroche de 0,9 nm. Ensuite, le nombre de fissures d'étirement augmente avec l'étirement croissant. Enfin, l'effet Poisson est visible sur les lignes métalliques — il en résulte une compression des lignes de chrome/or dans la direction transverse à l'étirement.

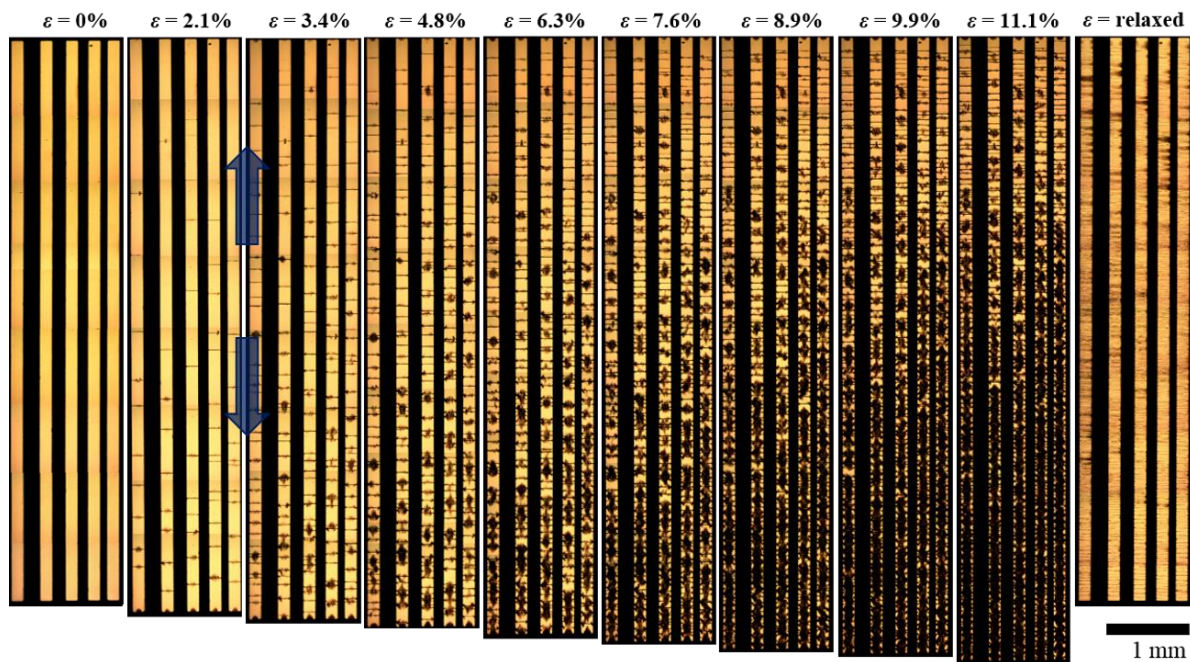


Figure II-11. Evolution des fissures d'étirement des lignes chrome/or métallisées sur substrat de PDMS en fonction de l'étirement uni-axial appliqué. De gauche à droite l'étirement commence à 0% jusque ~11%. L'image la plus à droite montre l'échantillon dans son état « relaxé » à 0% après étirement. La métallisation a été faite par évaporation sous vide, les lignes présentées sont en chrome/or (0,9/21,6 nm) sur PDMS. L'étirement a été appliqué dans le sens longitudinal par rapport aux lignes métalliques indiquées par les flèches bleues.

Si l'on compare la première image (à 0%) et la dernière image sous étirement uni-axial (à 11.1%), le plus grand écart horizontal entre les lignes métalliques se réduit de 217 μm à 206 μm , ce qui équivaut à une compression de 5%. Suivant l'équation (2) de Poisson, nous avons :

$$\nu = \frac{\text{compression transversale}}{\text{allongement axial}}, \text{ Equation (2)}$$

avec ν le coefficient de Poisson,

compression transversale représentant la différence de largeur avant et après étirement en fonction de la largeur initiale, ici exprimée en pourcentage,

et *allongement axial* représentant la différence de longueur avant et après étirement en fonction de la longueur initiale, ici exprimé en pourcentage.

Nous obtenons un coefficient de Poisson de 0,45, valeur proche de la littérature égale à environ 0,5 pour le PDMS. Il est à noter que l'effet Poisson n'est pas uniforme tout le long de l'échantillon — cela est visible par l'ombre qui devient plus apparente sur la partie inférieure de l'image. Cet effet est causé par le montage de l'échantillon sur la machine de test qui est pincé plus fortement sur la partie inférieure de l'image que sur la partie supérieure.

3.4.2. Evolution de la largeur des fissures

La Figure II-12 illustre les effets de l'épaisseur de chrome sur les fissures d'étirement — exemple d'un étirement fixé à 7,5%. Les différentes épaisseurs de chrome étudiées sont 0,9 nm (Figure II-12(a)), 2 nm (Figure II-12(b)), et 3,3 nm (Figure II-12(c)). La Figure II-12(d) présente la moyenne des largeurs de fissures f_a (mesurées avec le profil 3D optique à l'aide d'un profilomètre optique par interférence Contour GT-X 3D, Bruker Corp., USA) en fonction de l'étirement appliqué ε et de l'épaisseur du film de chrome.

Il y a plusieurs points à mettre en avant ici. Premièrement, après étirement uni-axial de l'échantillon, les fissures d'étirement sont perpendiculaires sur toute la longueur des lignes de chrome/or quelle que soit l'épaisseur de chrome. Deuxièmement, on observe moins de fissures d'étirement avec une épaisseur de 0,9 nm de chrome qu'avec une épaisseur de 2 nm pour une même valeur d'étirement. Ceci peut être expliqué par des études expérimentales [3] qui ont

montré que la traction ultime des films de chrome augmente lorsque l'épaisseur du film diminue.

En revanche, une épaisseur plus importante de chrome (ici 3,3 nm) résulte en un nombre de fissures d'étirement plus faible par rapport à une épaisseur de 2 nm. Dans ce cas, les paramètres de largeur de fissure et d'épaisseur de film doivent être pris en compte. La traction uni-axiale est prise en charge par le PDMS, et donc augmente la largeur de la fissure plutôt que de créer d'autres fissures dans le métal. Si la fissure est large, cela suggère des mesas plus robustes mécaniquement [14].

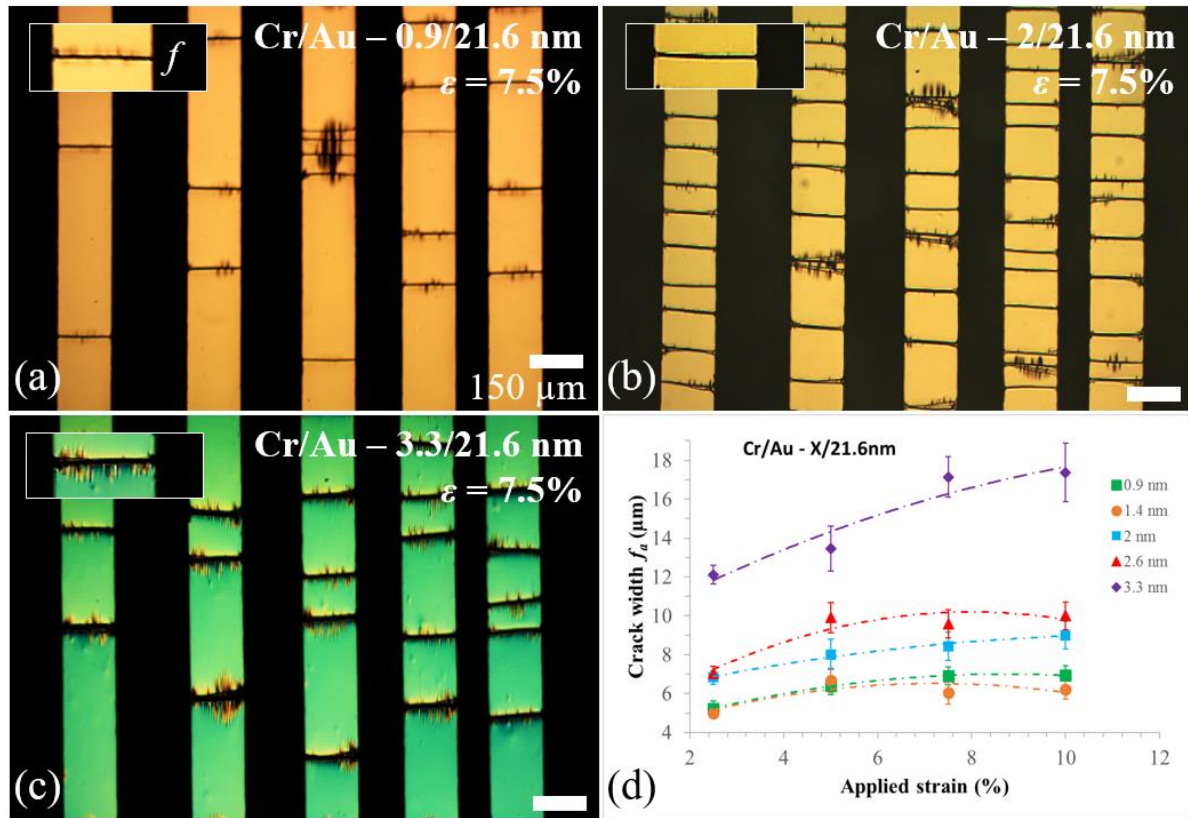


Figure II-12. Evolution de la largeur de fissure en fonction de l'épaisseur de chrome sur PDMS. (a) Lignes de chrome/or (0,9/21,6 nm) sur PDMS. (b) Lignes de chrome/or (2/21,6 nm) sur PDMS et (c) Lignes de chrome/or (3,3/21,6 nm) sur PDMS. L'étirement appliqué est de 7,5%. (d) Mesures expérimentales de la moyenne de largeur de fissure f_a en fonction de l'étirement appliqué ϵ et de l'épaisseur de chrome. Les bars d'échelle représentent 150 μm .

Dans la littérature, pour des films de chrome évaporés sous vide (gamme d'épaisseur = 50-300 nm) sur des films de polyimide, Cordill *et al.* [15] démontrent que la moyenne de longueur de mesa diminue avec l'épaisseur du film — ils ont également montré que la contrainte de fracture augmente en diminuant l'épaisseur du film. Jin *et al.* [16] ont observé des

fissures périodiques parallèles sur des films de chrome (gamme d'épaisseur = 15-140 nm) sur des substrats de Polyéthylène Téréphtalate (PET) et ont remarqué une plus grande densité de fissures sur des films fins.

La Figure II-12(d) synthétise la variation de la largeur de fissures en fonction des différentes épaisseurs de chrome testées et des étirements appliqués. Tout d'abord, en augmentant l'étirement on obtient une plus large fissure — ceci est compréhensible avec un modèle simple à ressort qui prend en compte les délaminages locaux sur les sites de fissures [3]. Ensuite, en diminuant l'épaisseur de chrome cela conduit à diminuer également la largeur de fissure pour un même étirement. Pour les substrats flexibles, l'épaisseur de la couche d'accroche joue un rôle majeur dans le procédé de fissuration pour les films fins [17]. Sakorikar *et al.* [14] ont également observé qu'en utilisant les films d'oxyde de graphène sur PDMS la largeur de fissure est dépendante de l'épaisseur du film : lorsque l'épaisseur varie de 135 à 300 nm, la largeur de fissure est comprise entre 0,28 et 3,47 μm . De plus, cette équipe a également démontré que la moyenne de « la densité de fissure » — liée à l'inverse de la moyenne de longueur de mesa — diminue avec l'épaisseur du film, mais est également dépendante de la vitesse d'étirement appliqué. Pour de faibles vitesses d'étirement, la densité de fissure est moindre. La vitesse d'étirement dans nos expériences est d'environ $1\% \text{ s}^{-1}$, l'effet de ce paramètre n'a pas été étudié dans ce chapitre.

3.4.3. *Evolution moyenne de longueur de mesas et de densité de fissures*

Abordons à présent l'évolution de la longueur de mesas et de densité de fissures, paramètres liés car ils représentent l'inverse l'une de l'autre. La Figure II-13 présente la moyenne expérimentale de longueur de mesas λ_a en fonction de l'étirement appliqué tandis que la Figure II-14 présente la densité de fissures en fonction de l'étirement appliqué (nombre de fissures par millimètre). L'étirement appliqué est inférieur à $\varepsilon = 10\%$ pour cinq épaisseurs de chrome allant de 0,9 nm à 3,3 nm. La moyenne de longueur de mesas, la densité de fissures et leurs erreurs respectives (voir Annexe C pour le calcul de la probabilité normale des données) sont calculées sur un échantillon de données compris entre 35 et 133 mesas, en fonction de l'épaisseur de métal et de l'étirement appliqué.

Nous constatons un nombre croissant de fissures d'étirement le long des lignes métallisées en augmentant l'épaisseur du film d'accroche de chrome jusqu'à 2 nm (présenté

Figure II-13 et Figure II-14) au cours de l'étirement appliqué. En effet après cette limite, nous observons une augmentation de la largeur des fissures (comme démontré Figure II-12) au détriment de la création de fissures (voir Annexe D).

La moyenne du nombre de fissures (par unité de distance) pour toutes les épaisseurs de chrome varie linéairement en fonction de l'étirement appliqué. Les valeurs tabulaires des résultats se situent Annexe E.

Il est intéressant de noter qu'en utilisant un masque physique, les lignes métalliques obtenues sont non uniformes le long des lignes — tout du moins comparativement à des lignes métalliques qui auraient été obtenues en lithographie. Les effets de bords sont connus pour conduire à une contrainte qui conduit inévitablement à une fracture du métal. La régularité des longueurs de mesas et du nombre de fissure (par unité de distance) présentée Figure II-14 ont un écart-type relativement faible. Ceci suggère que la non-uniformité aléatoire des bords des lignes métalliques n'est pas un facteur clé dans la détermination des longueurs de mesas.

On constate également que les barres d'erreur sont moins importantes dans la Figure II-14 que dans la Figure II-13. Les données montrent que le nombre de fissures (par unité de distance) est constant de ligne en ligne. A contrario, les données suggèrent que la moyenne des longueurs de mesas varie quelque peu — tout en conservant le nombre de fissures (par unité de distance). C'est pourquoi, la Figure II-14 donne une idée plus globale et explicite du comportement des lignes métallisées contrairement à la Figure II-13 qui, elle, contient des variations à une échelle plus locale.

La régularité des fissures d'étirement est reflétée par la distribution Gaussienne des longueurs de mesas (Annexe C). De plus, on remarque que le degré d'organisation des mesas dépend non seulement de l'étirement appliqué mais également de l'épaisseur de métal (Annexe F).

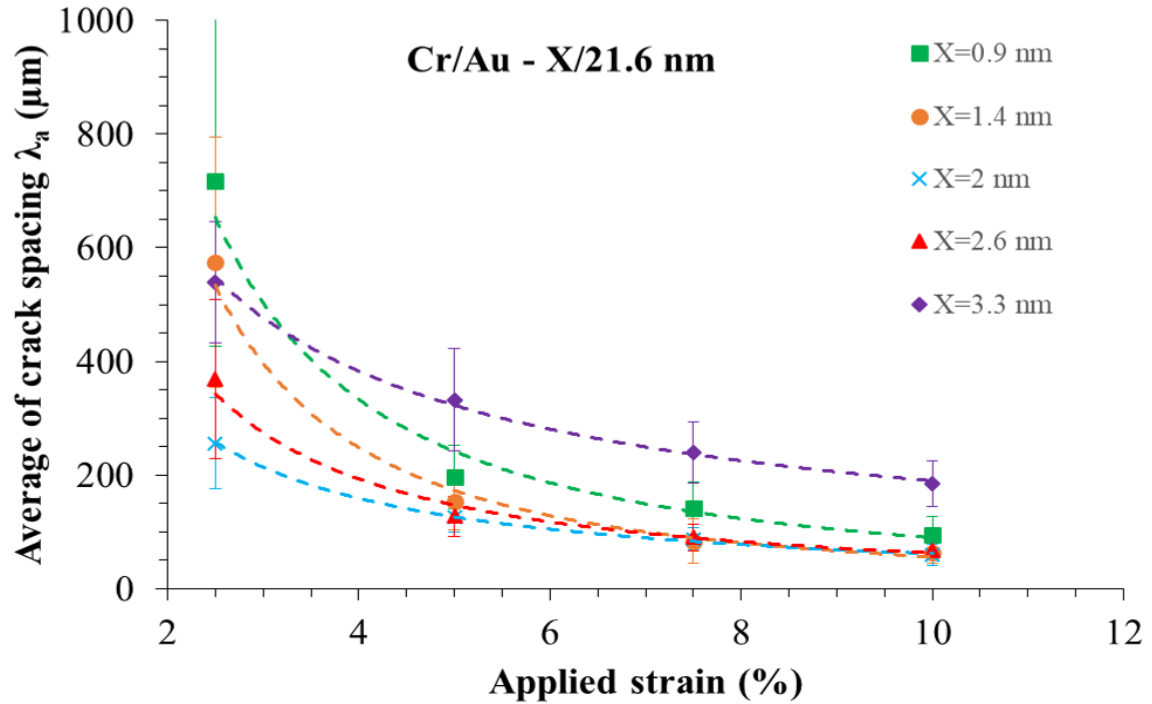


Figure II-13. Moyenne de longueur de mesa en fonction de l'étirement appliqué pour des lignes de chrome/or sur substrat de PDMS. L'épaisseur du film de chrome varie de 0,9 nm à 3,3 nm. L'épaisseur de l'or est fixée à 21,6 nm. L'étirement appliqué est longitudinal par rapport à la direction des lignes métallisées. Les données récoltées proviennent de lignes métallisées de 7,95 mm de longueur pour une largeur de 150 μm . Les données numériques sont présentées en Annexe Tableau E-1.

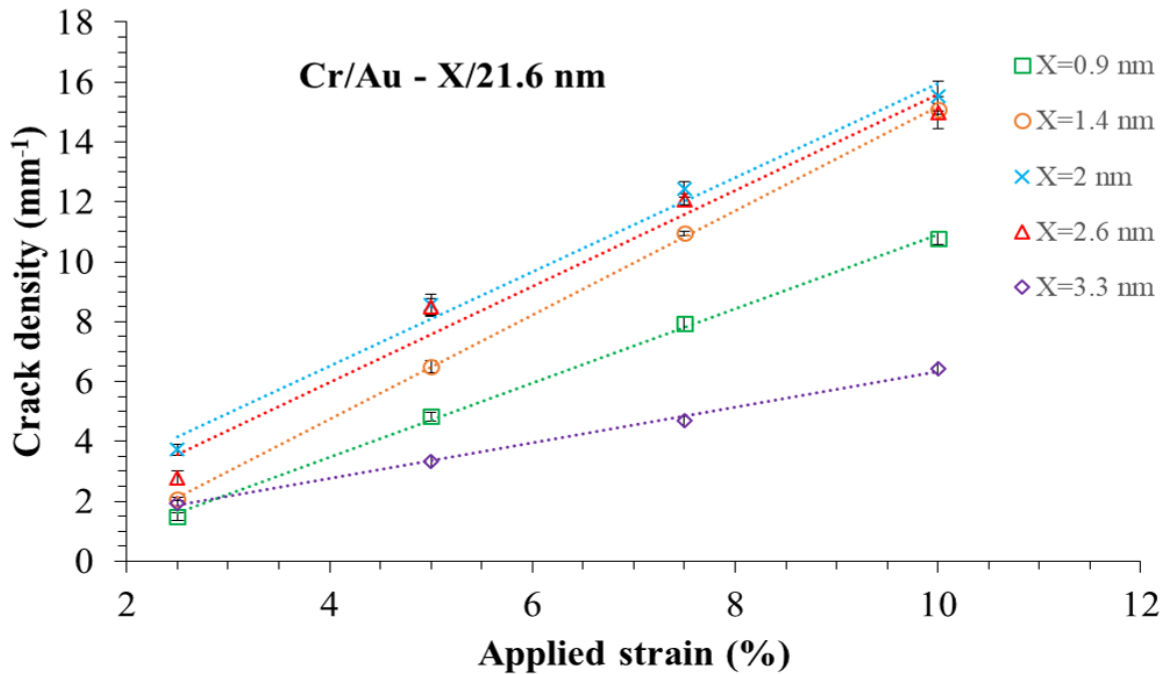


Figure II-14. Densité des fissures en fonction de l'étirement appliqué. Cinq épaisseurs différentes de chrome sont ici présentées allant de 0,9 nm à 3,3 nm. L'étirement appliqué est longitudinal par rapport à la direction des lignes métallisées. Les données récoltées proviennent de lignes métallisées de 7,95 mm de longueur pour une largeur de 150 μm . Les données numériques sont présentées en Annexe Tableau E-1.

3.4.4. Contournement de l'impasse technologique

Nous avons donc mené une étude scientifique et technologique pour la première partie de la thèse. Nous avons constaté qu'étirer des lignes métalliques orientées longitudinalement par rapport à l'étirement appliqué résultait invariablement en des fissures quelle que soit l'épaisseur de la couche d'adhésion. C'est pourquoi nous avons changé la disposition des lignes métallisées qui seront cette fois-ci transversales et non longitudinales par rapport à l'étirement appliqué. A noter que la moyenne de l'étirement interligne dépend de l'architecture globale de l'échantillon. Ceci doit être pris en considération dans la conception du système flexible suivant.

3.5. Etude et tests électromécaniques de lignes métalliques orientées transversalement par rapport à l'étirement

3.5.1. Observation du comportement des lignes métalliques

Etudions à présent le comportement de lignes métallisées orientées transversalement par rapport à l'étirement appliqué sur PDMS. Dans cette configuration, l'effet Poisson sera bénéfique, voir Figure II-8. En effet, cette constante va influencer sur la longueur L des lignes métalliques ainsi que sur l'épaisseur t soumises à compression alors que la largeur w des lignes métalliques sera en tension mécanique. Dans cette partie, 5 échantillons ont été fabriqués mais deux longueurs de lignes métallisées ont été étudiées (2,62 mm et 7,95 mm) pour un total de 150 lignes métalliques.

Nous avons constaté dans la partie précédente qu'il est préférable d'utiliser une couche d'adhésion de chrome de 0,9 nm pour éviter les fissures de procédé et limiter le nombre de fissures d'étirement. Dans le but de réaliser une caractérisation électrique, la suite de cette partie présentera des lignes métallisées de 0,9 nm d'épaisseur de chrome surmontées par 21,6 nm d'or. La fabrication et la métallisation ont été faites suivant le même procédé expliqué section II-2. Concernant la déformation mécanique, elle a été effectuée suivant les mêmes conditions expliquées section II-3.2.

La Figure II-15 présente des images de microscope optique de lignes chrome/or orientées transversalement par rapport à l'étirement. Cette configuration a révélé des comportements mécaniques intéressants.

Premièrement, l'effet Poisson devient de plus en plus visible pour un étirement croissant, voir Figure II-15(a-h). Deuxièmement, on constate des fissures sur les lignes métallisées au cours de l'étirement mais elles sont cette fois-ci parallèles à la longueur des lignes métallisées quelles que soient leurs longueurs, voir Figure II-15. Troisièmement, des fissures de procédé apparaissent, orientées perpendiculairement aux bords de quelques longues lignes métalliques. Pourtant, la microscopie révèle que la largeur des fissures de procédé diminue en augmentant l'étirement, certainement dû à l'effet Poisson. Enfin, en constatant le comportement des fissures de procédé et d'étirement, une caractérisation électrique peut être effectuée sur ces lignes métallisées dans cette configuration.

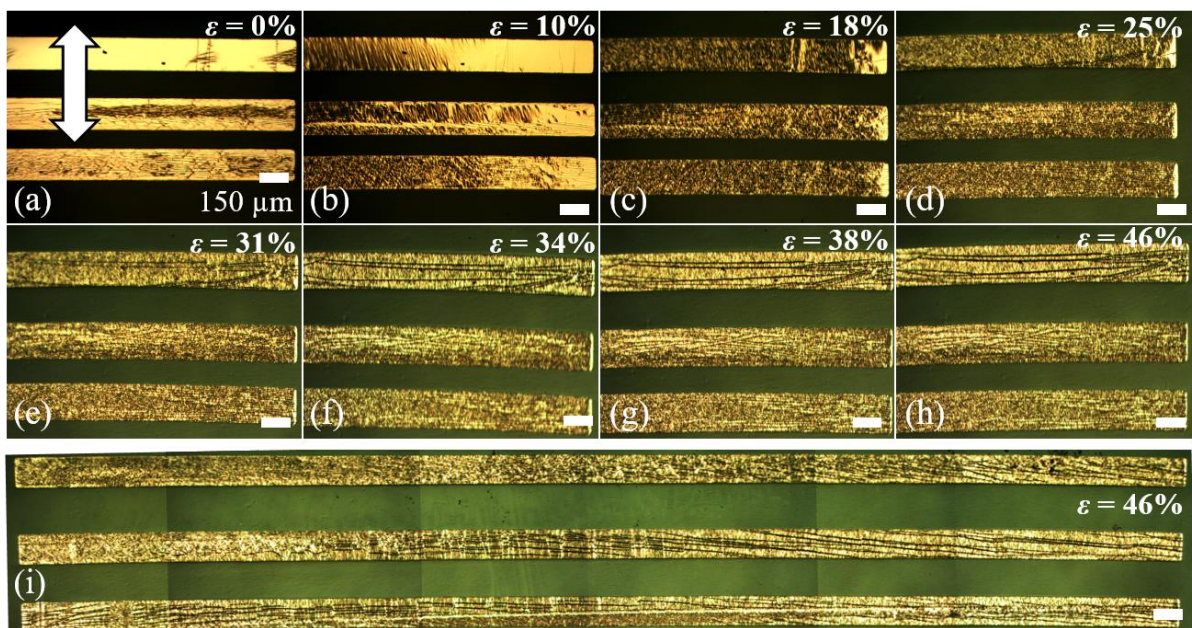


Figure II-15. Images de microscope optique présentant des lignes métallisées en couche mince de chrome/or (0,9/21,6 nm) évaporés sur PDMS orientées transversalement par rapport à l'étirement. (a-h) L'étirement varie de 0% à 46%, la longueur des lignes métalliques est de 2,62 mm pour une largeur de 150 μ m. (i) Ligne d'une longueur de 7,95 mm sous 46% d'étirement. Les barres d'échelle représentent 150 μ m. La flèche indique le sens de l'étirement sur l'échantillon — les lignes métalliques sont orientées transversalement par rapport à l'étirement.

3.5.2. Matériel pour la caractérisation électrique

Concernant les tests électriques, nous utilisons un générateur de courant pour déterminer la caractéristique courant-tension des lignes métalliques réalisées (2612 System SourceMeter, Keithley, USA piloté par logiciel LabView). Une machine sous pointes est utilisée pour une manipulation micrométrique des sondes.

Afin de mesurer la résistance électrique des lignes métalliques et observer les effets combinés des fissures et de l'effet Poisson, deux types de sondes (tungsten PTG20-10 Microworld, France) ont été utilisées, voir Figure II-16. La sonde présentée Figure II-16(a) possède un rayon de courbure de $10\text{ }\mu\text{m}$ tandis que celui de la sonde présentée Figure II-16(b) est de $750\text{ }\mu\text{m}$. En travaillant avec des lignes métallisées de $150\text{ }\mu\text{m}$ de largeur, la surface sondée sera donc différente.

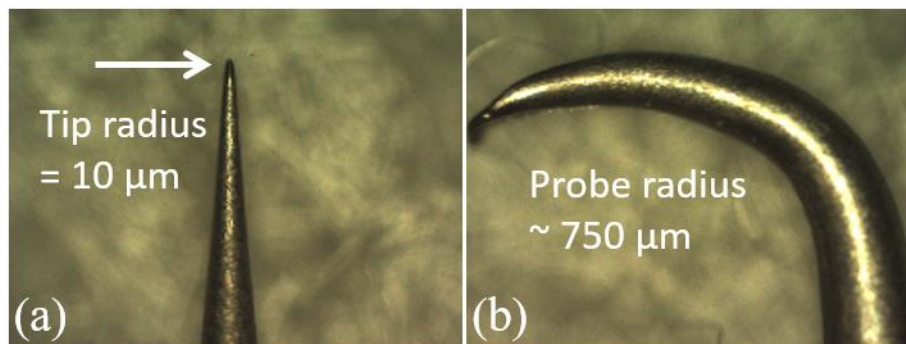


Figure II-16. Photos optiques des sondes utilisées pour la caractérisation électrique. (a) Sondes de $10\text{ }\mu\text{m}$ de rayon de courbure. (b) Sondes de $750\text{ }\mu\text{m}$ de rayon de courbure.

Pour effectuer les mesures électriques sous déformation mécanique, les lignes métallisées ont été étirées séparément, imagées par plusieurs méthodes, et ensuite sondées électriquement. La section suivante présente un résumé de toutes les mesures effectuées sur les échantillons.

3.5.3. Résumé des caractéristiques électromécaniques expérimentales

La caractéristique courant-tension est une donnée importante dans notre étude, celle-ci permet de mesurer la résistance de chaque ligne. Nous pouvons appliquer un étirement uni-axial sur nos échantillons et mesurer l'évolution de la résistance électrique (la piezorésistance).

Analysons à présent la caractérisation électromécanique des différentes lignes métalliques réalisées. La Figure II-17 présente le résumé des résultats électriques, obtenus sur les lignes métalliques en couche mince de chrome/or (0,9/21,6 nm) d'une longueur de 2,6 mm, mesurés par les deux types de sonde. La Figure II-17(a-b) représente le premier cycle d'étirement uni-axial de 0 à 46% subis par les échantillons. La Figure II-17(c-d) présente le deuxième et troisième cycle d'étirement uni-axial. Les caractéristiques électriques des lignes métalliques illustrées en rouge, bleu et vert ont été mesurées à l'aide des petites sondes. La caractéristique électrique de la ligne présentée en jaune a été mesurée à l'aide des larges sondes. La Figure II-17(b) et (d) représente la résistance normalisée (R/R_0) de la Figure II-17(a) et (c) respectivement, tracée de manière logarithmique (à l'aide du logiciel Microsoft Excel) en fonction de l'étirement appliqué [5], [18].

On constate tout d'abord que les courbes courant-tension sont linéaires indiquant un comportement ohmique (voir Annexe G). Ensuite lors du premier cycle d'étirement, on observe une augmentation non linéaire de la résistance électrique en fonction de l'étirement appliqué, voir Figure II-17(a). Ce phénomène est dû à la présence de micro fissures le long des lignes métalliques [5]. Les courbes présentées Figure II-17(a-b) révèlent deux types de comportement : une augmentation rapide de la résistance (symboles pleins bleus et rouges) en fonction de l'étirement et une augmentation plus lente (symboles pleins verts). Pourtant, lorsque les lignes métalliques subissent un deuxième cycle d'étirement, leur comportement devient identique. En effet, la résistance augmente rapidement avec l'étirement (symbole creux), voir Figure II-17(c-d). L'observation à retenir ici est le comportement électromécanique relativement stable, obtenu à l'aide des sondes de faible rayon de courbure, sur les lignes métalliques au cours d'un premier cycle de 0 à 46% d'étirement.

Par la suite, une quatrième ligne a été testée électro-mécaniquement dans les mêmes conditions mais cette fois-ci à l'aide des sondes à large rayon de courbure. La mesure électrique est tracée Figure II-17(c-d) en jaune au cours d'un troisième cycle d'étirement. On remarque que la résistance électrique augmente mais plus faiblement que les autres lignes métalliques. On constate que la mesure de la résistance électrique avec de petites sondes est beaucoup moins stable qu'avec de larges sondes.

En travaillant sur une technologie souple, lorsque les échantillons sont montés sur le dispositif d'étirement, ils sont pincés uniquement aux deux extrémités grâce aux plaques perforées, le centre de l'échantillon est donc sans support. La surface de PDMS contenant les

lignes métallisées en son centre peut être assimilée à un « trampoline ». Des sondes avec un rayon de courbure de 10 μm assimilées à des « pointes » peuvent endommager les lignes métalliques et provoquer des fissures car une petite partie de la ligne est sondée. En revanche, les sondes avec un rayon de courbure de 750 μm assurent le contact physique sur toute la largeur de la ligne sans pour autant endommager les lignes métalliques et sont donc plus adaptées dans notre cas.

Nous avons donc réalisé des lignes métallisées sur substrat étirable conduisant jusque 46% d'étirement uni-axial tout en conservant une résistance relativement stable.

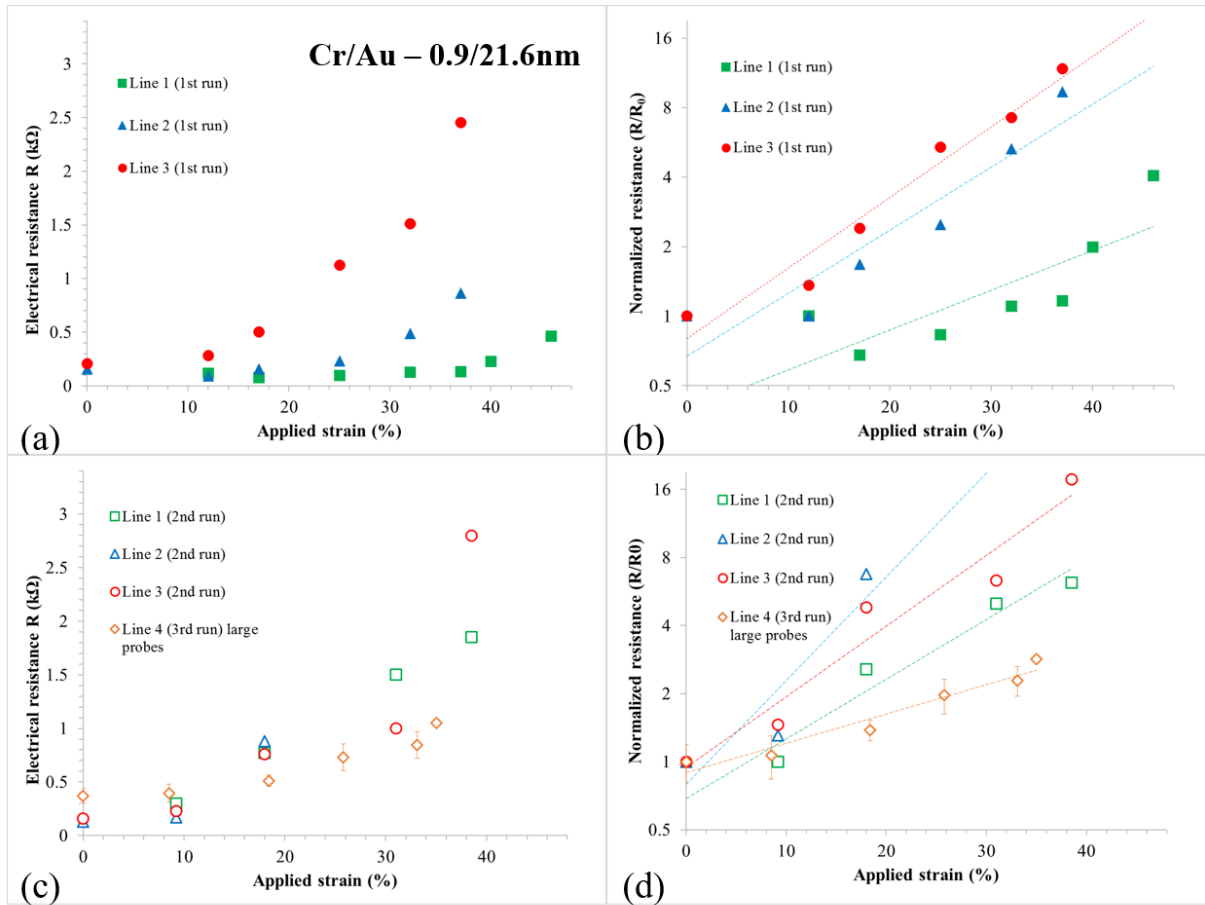


Figure II-17. Résumé de la caractérisation électromécanique. (a) Tracé de la résistance électrique mesurée à l'étirement initial en fonction de l'étirement en utilisant les petites sondes. (b) Tracé de la résistance électrique normalisée mesurée à l'étirement initial en fonction de l'étirement en utilisant les petites sondes. (c) Tracé de la résistance électrique mesurée aux étirements suivants en fonction de l'étirement en utilisant les petites et les grandes sondes. (d) Tracé de la résistance électrique normalisée mesurée aux étirements suivants en fonction de l'étirement en utilisant les petites et les grandes sondes.

3.5.4. *Modèle de conduction utilisant les sondes de faible rayon de courbure*

Pour comprendre ces observations obtenues avec les petites sondes, le schéma de la Figure II-18 illustre les effets potentiels, dans un cas idéal, des fissures parallèles — le long des lignes métallisées — sur la résistance électrique.

Si nous supposons qu'il n'y a pas de fissures de procédé ni de contrainte résiduelle dans le film métallique, alors la résistance de la ligne sans déformation mécanique est définie et calculée purement géométriquement (w largeur, L longueur et t épaisseur de ligne) — voir Figure II-18(a) — cercle rouge numéro 1. Si un faible étirement (cercle rouge numéro 2) est appliqué longitudinalement sur l'échantillon, la longueur L de la ligne et son épaisseur t seront en compression — voir Figure II-18(b). Dans ce cas, la résistance électrique des lignes métallisées diminuera due aux changements géométriques. En augmentant l'étirement longitudinal (cercle rouge numéro 3), les premières fissures horizontales apparaissent — la largeur des lignes métalliques w étant en tension — voir Figure II-18(c). Comme les pointes des sondes sont plus petites que la largeur de la ligne w , seuls quelques chemins horizontaux pourront conduire électriquement — et la résistance électrique mesurée augmentera. En continuant à augmenter l'étirement longitudinal (cercle rouge numéro 4) cela conduit à plus de fissures horizontales — et donc à une augmentation de la résistance électrique — voir Figure II-18(d). Lorsque l'étirement longitudinal imposé retombe à zéro — voir Figure II-18(e), les fissures sont de nouveau physiquement en contact — ce résultat de résistance à étirement zéro équivaut à une résistance initiale observée non fissurée — *c.f.* Figure II-18(a). Il faut souligner que lorsque le même étirement (cercle violet numéro 3) est appliqué (présenté dans la Figure II-18(c)) — la ligne possède déjà des fissures horizontales dues à l'étirement précédent (comme dans la Figure II-18(d)). La résistance électrique est alors plus grande que pour le premier cycle. L'étirement initial induit des fissures qui conduisent à un comportement électromécanique stable pour les étirements suivants. Ceci est démontré en comparant les points de données pleins (étirement initial) et les points de données creux (deuxième étirement) dans la Figure II-17.

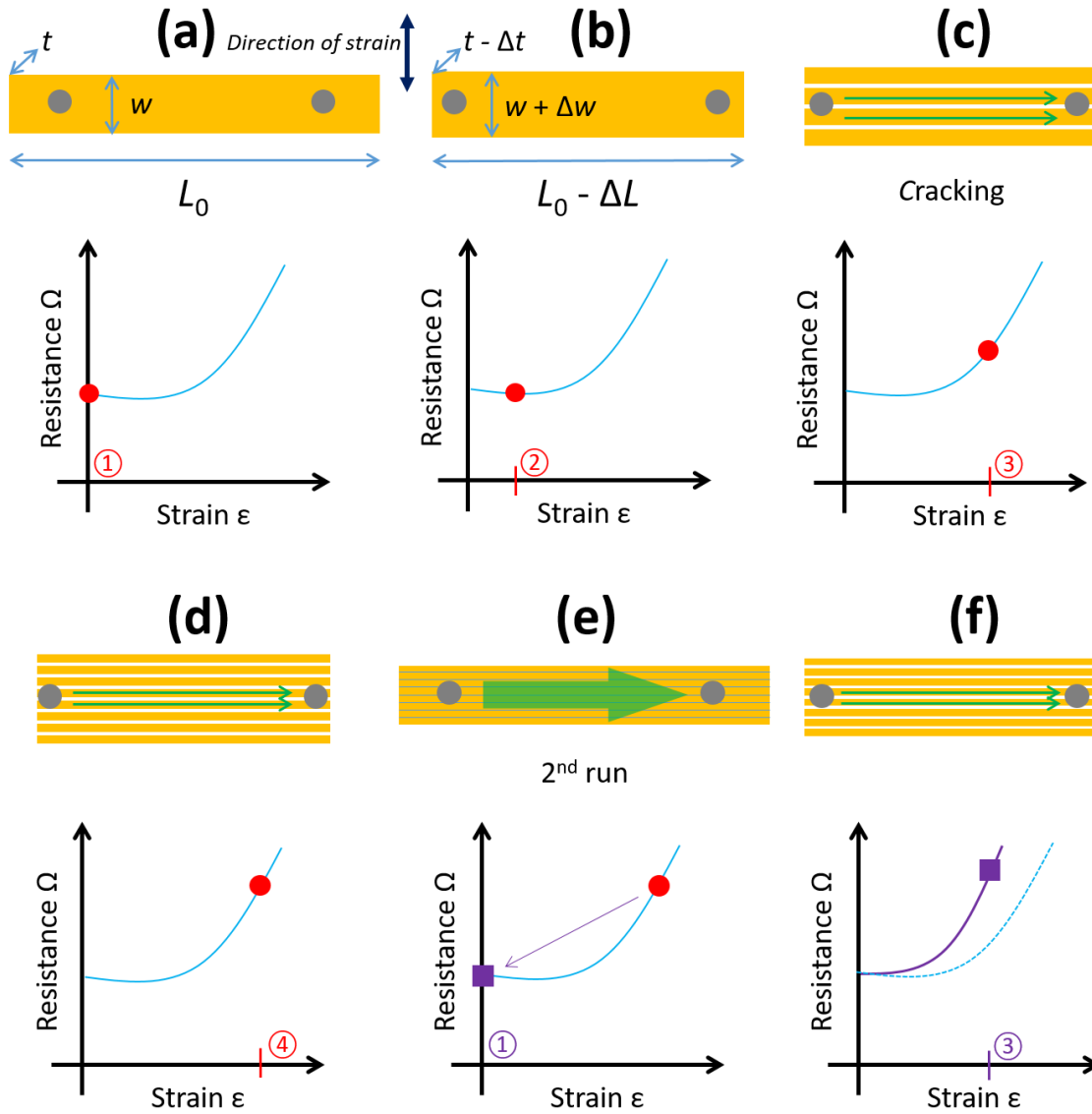


Figure II-18. Sondage des lignes métalliques orientées transversalement à l'étirement en utilisant les petites sondes. (a) Condition à zéro étirement ①. (b) Condition à faible étirement ② avant les premières fissures. (c) Fissures initiales menant à l'apparition de longues fissures transversales pour des étirements plus élevés ③. (d) Condition à fort étirement ④ menant à plus de fissures. (e) Condition à l'étirement zéro ① après le premier cycle d'étirement et (f) Condition après l'énème cycle ③ comme pour le (c). Les numéros circlés correspondent à des valeurs d'étirements spécifiques. Les sites de contact des sondes sont indiqués par les cercles gris.

3.5.5. *Modèle de conduction utilisant les sondes à large rayon de courbure*

La Figure II-19 propose un modèle pour expliquer le comportement du système avec les larges pointes courbées en fonction de l'application longitudinale de l'étirement.

Comme précédemment, la résistance à zéro étirement est une valeur fixe — voir Figure II-19(a) — cercle rouge numéro 1. L'application d'un faible étirement (cercle rouge numéro 2) ne mène à aucune fissure mais uniquement à un changement de géométrie du système et résulte en une petite réduction de la résistance électrique des lignes métallisées, voir Figure II-19. En augmentant l'étirement appliqué (cercle rouge numéro 3) cela mène à la formation de fissures horizontales le long des lignes métallisées — Figure II-19(c) — comme pour la Figure II-18. Toutefois, les sondes étant plus larges que la largeur de la ligne, la résistance mesurée correspond à l'ensemble n de toutes les lignes métalliques en parallèle. L'augmentation de l'étirement longitudinal (cercle rouge numéro 4) conduit à la formation d'autres fissures. Mais les sondes sont en contact avec toutes les lignes métalliques parallèles, donc la résistance devrait — tout du moins en principe — rester relativement constante, voir Figure II-19(d). A l'étirement zéro du deuxième cycle, la résistance électrique revient à la même valeur qu'au début du premier cycle car : (i) toutes les fissures forment un court-circuit (ii) la taille de la sonde est plus large que la largeur de la ligne w . Faire des cycles d'étirement mène à la même valeur de résistance pour tous les étirements suivants (cercle violet numéro 3) — car il n'y a pas de comportement d'hystérésis dans le système.

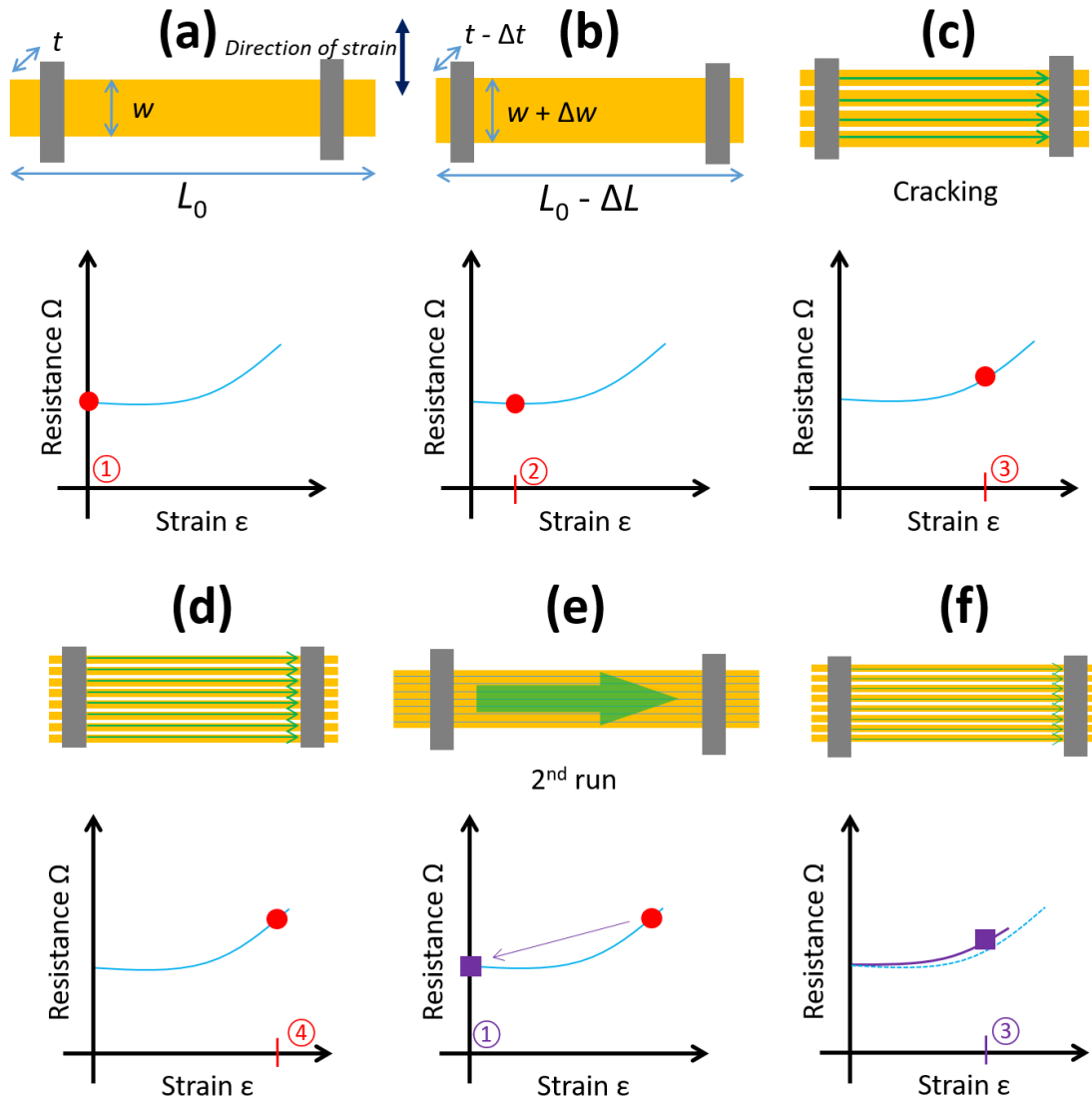


Figure II-19. Sondage des lignes métalliques transversalement orientées à l'étirement en utilisant de larges sondes. (a) Condition à l'étirement zéro ①. (b) Condition à faible étirement ② avant les premières fissures. (c) Fissures initiales menant à l'apparition de longues fissures transversales pour des étirements plus élevés ③. (d) Condition à fort étirement ④ menant à plus de fissures. (e) Condition à l'étirement zéro ① après le premier cycle d'étirement et (f) Condition après le $n^{\text{ème}}$ cycle ③ comme pour le (c). Les numéros cerclés correspondent à des valeurs d'étirements spécifiques. Les sites de contact des sondes sont indiqués par les rectangles gris.

3.5.6. *Bénéfices de l'effet Poisson*

Nous avons observé un autre fait important durant ces expériences. Certaines lignes métalliques de nos échantillons contenaient des fissures de procédé perpendiculaires sur la longueur L et possédaient donc une résistance initiale infinie à l'étirement zéro — *i.e.* circuit ouvert dû aux fissures. L'insert en haut à gauche de la Figure II-20 illustre la variation de la résistance électrique en fonction de l'étirement — initialement circuit ouvert à l'étirement zéro. L'insert en bas à droite de la Figure II-20 présente un schéma illustrant l'effet Poisson. On constate que l'effet mécanique de l'effet Poisson provoque une compression des lignes métallisées et mène à court-circuiter les fissures de procédé. L'effet Poisson électromécanique induit un phénomène d'auto-réparation pour les lignes métalliques orientées transversalement à l'étirement.

Ce résultat peut être vu dans un contexte plus large, en utilisant ce phénomène d'auto-réparation de films en couche mince et devenir un domaine émergent [19], [20]. Ces résultats peuvent être comparés à l'effet Poisson suggéré par les effets de percolation observés dans les structures de PDMS métallisés soumis à un certain niveau de cycle répétitif [21]. Il a été récemment démontré que l'effet Poisson peut être adapté pour certaines applications [22], suggérant qu'il peut y avoir une grande importance dans les applications flexibles.

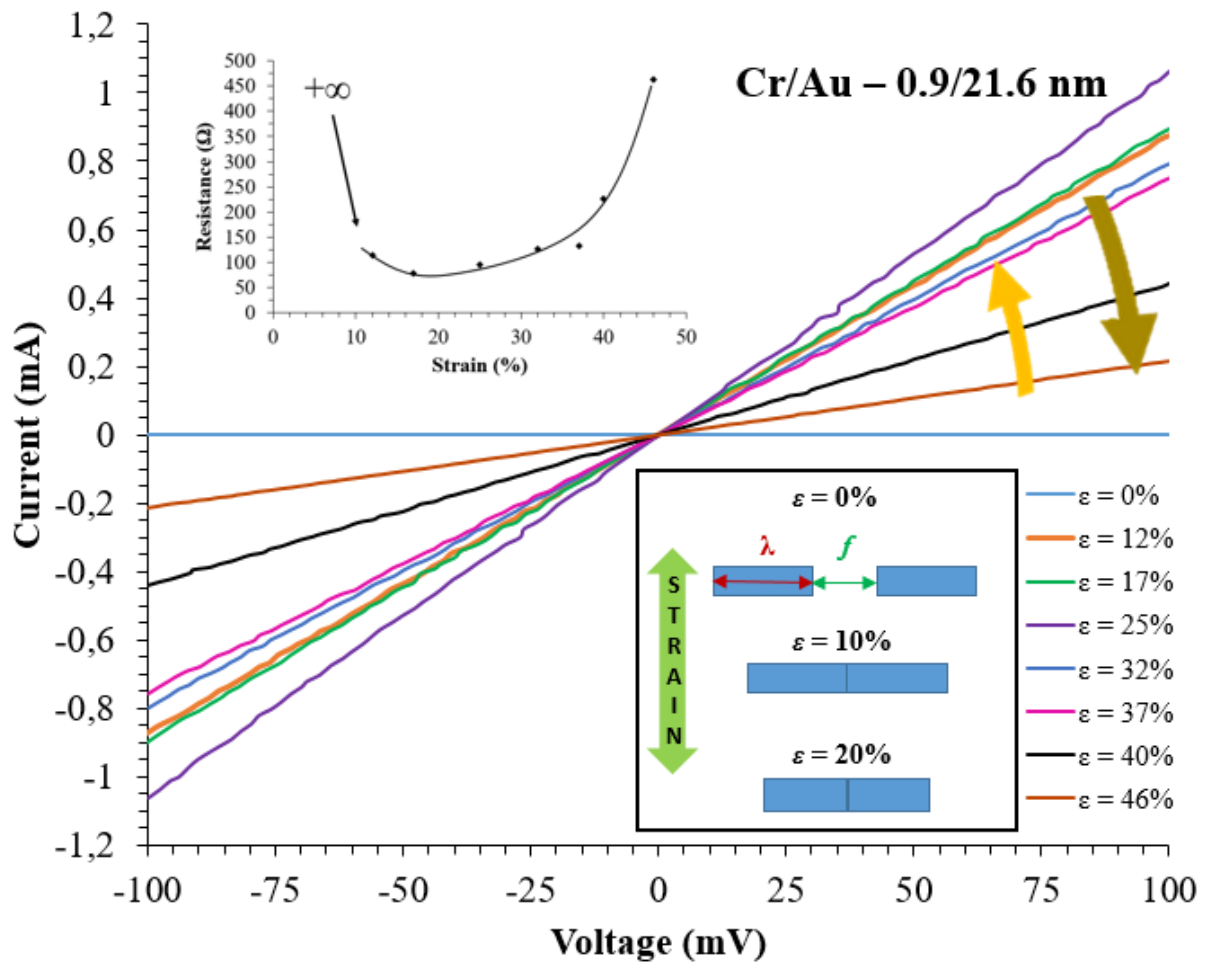


Figure II-20. Résultats électromécaniques présentant l'effet d'auto-réparation sur un graphique contenant des courbes de courant-tension pour des lignes de Cr/Au (0,9/21,6 nm) en couche mince en fonction de l'étirement appliqué sur l'échantillon. L'insert en haut à gauche montre la variation de la résistance électrique en fonction de l'étirement — initialement circuit ouvert à l'étirement zéro. L'insert en bas à droite montre un schéma illustrant l'effet Poisson permettant de court-circuiter les fissures et donc mène bien au phénomène d'auto-réparation. λ représente la longueur d'un mesa alors que le f représente la largeur de la fissure.

Conclusion

En conclusion, le PDMS peut aisément être métallisé en utilisant la technique d'évaporation sous vide à l'aide d'un masque physique pour former des lignes d'or. Néanmoins, une couche d'accroche est nécessaire pour obtenir une bonne adhésion entre le métal et la surface de PDMS. L'adhérence de telles lignes métalliques sur le PDMS a été renforcée grâce aux films en couche mince de titane, nickel et chrome. Les tests mécaniques et électromécaniques révèlent les potentiels effets technologiques utiles pour exploiter la fissuration de notre système. Deux types de fissures ont été observés dans de tels systèmes — les fissures de procédé et les fissures d'étirement.

Les fissures de procédé se produisent spontanément via une contrainte résiduelle créée lors du procédé tandis que les fissures d'étirement sont causées par l'étirement appliqué sur les échantillons par la machine de test. Des fissures de procédé sont observées lorsque l'on utilise le titane, le chrome et le nickel en couche d'accroche. Néanmoins, les fissures de procédé peuvent être fortement limitées quand la couche d'adhérence de chrome est inférieure à 1 nm.

Les fissures d'étirement apparaissent dans des lignes métalliques orientées longitudinalement par rapport à l'étirement uni-axial appliqué avec des couches d'accroche de titane et de nickel — à de relativement faibles étirements $\sim 5\%$ dans le contexte de l'électronique étirable. Dans les films de chrome, des fissures régulières d'étirement apparaissent pour ainsi former des mesas métalliques rectangulaires le long des lignes métalliques. La régularité des fissures observées dépend de l'étirement longitudinal appliqué et de l'épaisseur du film — les résultats suggèrent une organisation des fissures et la possibilité de créer des mesas de métal sur substrat flexible sans utiliser la technique de lithographie et de gravure. Les fissures d'étirement périodiques sont en concordance avec les modèles analytiques donnés dans la littérature. La ténacité des films en couche mince peut être estimée en utilisant cette étude.

Lorsque les lignes de métal sont alignées transversalement par rapport à la direction de l'étirement, un effet d'auto-réparation électromécanique a été observé sur plusieurs lignes métalliques. L'effet Poisson permet d'obtenir des courts-circuits avec les fissures de procédé à une valeur critique d'étirement — et permet ainsi que la ligne entière redevienne conductrice électriquement, jusqu'à de fortes valeurs d'étirements $\sim 40\%$. Enfin, la méthode de masquage utilisée pour métalliser le PDMS est facile à mettre en œuvre, utile pour des études

expérimentales fondamentales sur les fissures et permet de mettre à l'épreuve les modèles. La fissuration dans de tels films permet l'observation de comportements électromécaniques originaux qui pourraient être technologiquement utiles.

Pour la suite de cette thèse, cette seule technologie ne suffit pas. En effet, malgré une couche d'accroche qui permet une meilleure adhésion de l'or, des fissures parallèles aux bords des lignes métalliques apparaissent au cours de l'étirement. De plus, des microfissures se créent et augmentent la résistance des lignes métallisées. C'est pourquoi une interface supplémentaire entre les métaux et la surface de PDMS doit être déposée. Celle-ci permettra de renforcer les lignes métallisées sur la surface de PDMS et ainsi déplacer la déformation mécanique dans le système. Cette interface devra bien évidemment être biocompatible et adaptée pour une technologie planaire dans un procédé de microfabrication.

Bibliographie

- [1] J. A. Rogers, T. Someya, and Y. Huang, "Materials and Mechanics for Stretchable Electronics," *Science*, vol. 327, no. 5973, pp. 1603–1607, Mar. 2010.
- [2] R. Seghir and S. Arscott, "Extended PDMS stiffness range for flexible systems," *Sens. Actuators Phys.*, vol. 230, pp. 33–39, Jul. 2015.
- [3] R. Seghir and S. Arscott, "Controlled mud-crack patterning and self-organized cracking of polydimethylsiloxane elastomer surfaces," *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 14787, Dec. 2015.
- [4] G. S. Ferguson, M. K. Chaudhury, G. B. Sigal, and G. M. Whitesides, "Contact Adhesion of Thin Gold Films on Elastomeric Supports: Cold Welding Under Ambient Conditions," *Science*, vol. 253, no. 5021, pp. 776–778, Aug. 1991.
- [5] T. Adrega and S. P. Lacour, "Stretchable gold conductors embedded in PDMS and patterned by photolithography: fabrication and electromechanical characterization," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 20, no. 5, p. 055025, May 2010.
- [6] E. Klokholm and B. S. Berry, "Intrinsic Stress in Evaporated Metal Films," vol. 115, no. 8, p. 4.
- [7] J. A. Thornton and D. W. Hoffman, "Stress-related effects in thin films," *Thin Solid Films*, vol. 171, no. 1, pp. 5–31, Apr. 1989.
- [8] N. Bowden, S. Brittain, A. G. Evans, J. W. Hutchinson, and G. M. Whitesides, "Spontaneous formation of ordered structures in thin films of metals supported on an elastomeric polymer," *Nature*, vol. 393, no. 6681, pp. 146–149, May 1998.
- [9] M. D. Thouless, Z. Li, N. J. Duville, and S. Takayama, "Periodic cracking of films supported on compliant substrates," *J. Mech. Phys. Solids*, vol. 59, no. 9, pp. 1927–1937, Sep. 2011.
- [10] R. Seghir and S. Arscott, "Mechanically robust, electrically stable metal arrays on plasma-oxidized polydimethylsiloxane for stretchable technologies," *J. Appl. Phys.*, vol. 118, no. 4, p. 045309, Jul. 2015.
- [11] J. W. Hutchinson and Z. Suo, "Mixed Mode Cracking in Layered Materials," in *Advances in Applied Mechanics*, vol. 29, J. W. Hutchinson and T. Y. Wu, Eds. Elsevier, 1991, pp. 63–191.
- [12] Z. Yu, O. Graudejus, C. Tsay, S. P. Lacour, S. Wagner, and B. Morrison, "Monitoring Hippocampus Electrical Activity *In Vitro* on an Elastically Deformable Microelectrode Array," *J. Neurotrauma*, vol. 26, no. 7, pp. 1135–1145, Jul. 2009.
- [13] S. P. Lacour *et al.*, "Flexible and stretchable micro-electrodes for in vitro and in vivo neural interfaces," *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 48, no. 10, pp. 945–954, Oct. 2010.
- [14] T. Sakorikar, M. K. Kavitha, P. Vayalamkuzhi, and M. Jaiswal, "Thickness-dependent Crack Propagation in Uniaxially Strained Conducting Graphene Oxide Films on Flexible Substrates," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 2598, Dec. 2017.
- [15] M. J. Cordill, A. Taylor, J. Schalko, and G. Dehm, "Fracture and Delamination of Chromium Thin Films on Polymer Substrates," *Metall. Mater. Trans. A*, vol. 41, no. 4, pp. 870–875, Apr. 2010.
- [16] H. Jin, W.-Y. Lu, M. J. Cordill, and K. Schmidegg, "In situ Study of Cracking and Buckling of Chromium Films on PET Substrates," *Exp. Mech.*, vol. 51, no. 2, pp. 219–227, Feb. 2011.

- [17] S.-H. Jen, J. A. Bertrand, and S. M. George, "Critical tensile and compressive strains for cracking of Al_2O_3 films grown by atomic layer deposition," *J. Appl. Phys.*, vol. 109, no. 8, p. 084305, Apr. 2011.
- [18] T. Li, Z. Huang, Z. Suo, S. P. Lacour, and S. Wagner, "Stretchability of thin metal films on elastomer substrates," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 85, no. 16, pp. 3435–3437, Oct. 2004.
- [19] R. Tepper *et al.*, "Polymeric Halogen-Bond-Based Donor Systems Showing Self-Healing Behavior in Thin Films," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 56, no. 14, pp. 4047–4051, Mar. 2017.
- [20] E. S. H. Kang, H. Zhang, W. Donner, and H. von Seggern, "Electrical and Structural Origin of Self-Healing Phenomena in Pentacene Thin Films," *Adv. Mater.*, vol. 29, no. 15, p. 1604833, Apr. 2017.
- [21] I. M. Graz, D. P. J. Cotton, and S. P. Lacour, "Extended cyclic uniaxial loading of stretchable gold thin-films on elastomeric substrates," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 94, no. 7, p. 071902, Feb. 2009.
- [22] P. Yan *et al.*, "3D Printing Hierarchical Silver Nanowire Aerogel with Highly Compressive Resilience and Tensile Elongation through Tunable Poisson's Ratio," *Small*, vol. 13, no. 38, p. 1701756, Oct. 2017.

Chapitre III.
Technologie SU-8/PDMS
métallisée pour des
interconnexions sur
substrat étirable

1. Introduction

Dans le domaine de l'électronique flexible, et comme nous l'avons vu dans le Chapitre II, métalliser des interconnexions ou de plus grandes surfaces en couche mince directement sur PDMS résulte invariablement en des fissures (autant microscopiques [1] que macroscopiques [2]) même en optimisant les couches d'accroche et les contraintes mécaniques. Ces fissures mènent à une rapide augmentation de la résistance électrique et de la résistivité lorsque les contraintes mécaniques augmentent et peuvent amener au dysfonctionnement du système. Afin de surmonter ces problèmes, dans le cadre de procédés de microfabrication en technologie planaire (solution adoptée dans cette étude), quelques solutions hybrides ont été démontrées dans la littérature. Ainsi, dans le cas de systèmes flexibles, soit le renforcement est généré en plaçant la métallisation sur un axe mécaniquement neutre [3], soit en insérant un élément rigide à proximité du système conducteur pour le solidifier [4]–[6]. Le premier cas génère trop de contraintes techniques pour notre application, alors que dans le deuxième, comme nous l'avons vu dans le 1^{er} chapitre (section 3.3, Fig. I-13), l'élément rigide doit répondre à des critères de compatibilité vis-à-vis du matériau flexible support (dans notre cas le PDMS) : coefficient de dilatation thermique et énergie de surface compatibles.

Nous avons donc choisi de renforcer nos interconnexions métallisées grâce à une interface supplémentaire placée entre les métaux et la surface de PDMS. Cette interface permettra de rigidifier les lignes métalliques et ainsi de déplacer la déformation mécanique vers le support de PDMS, qui est plus flexible. Par ailleurs, nous devons également réfléchir à l'architecture de notre système pour que celui-ci respecte le cahier des charges exposé dans le Chapitre I. C'est pourquoi cette partie présentera non seulement une étude des propriétés électromécaniques de lignes métalliques et de plots de contact de différentes tailles sur une bicouche polymère / PDMS mais également une étude de l'influence de l'orientation des lignes métalliques (de 0° à 90°) vis à vis de la direction de la déformation mécanique — cette étude est importante par rapport à l'architecture finale du microsystème. Ces informations nous permettront de déterminer notre degré de liberté lors de la conception du système final. Enfin d'un point de vue technologique, pour les mêmes raisons de simplicité et de rapidité de mise en œuvre qu'au chapitre précédent, nous avons choisi de continuer à n'utiliser que des masques physiques.

2. Une résine photosensible : la SU-8

La résine photosensible SU-8 a été choisie pour former cette fine membrane mécaniquement rigide sur un support de PDMS. Il s'agit d'un polymère pouvant être mis en œuvre par enduction centrifuge sur quasi toutes surfaces planes grâce à sa viscosité pour des épaisseurs allant de 500 nm à 200 μ m en fonction des propriétés des différentes séries commercialisées. Par ailleurs, ses coefficients de dilatation thermique et d'énergie de surface sont compatibles avec le PDMS.

Elle peut être utilisée pour réaliser des motifs à haut rapport d'aspect en utilisant la technique de photolithographie¹. En effet, la SU-8 est une résine photosensible négative couramment utilisée dans les procédés de microfabrication [7]. La SU-8 est composée de monomères, de sels photosensibles et de solvants. Lors du premier recuit, la plupart des solvants sont évaporés et la SU-8 se solidifie. Lorsqu'une partie (non masquée) de la SU-8 est exposée aux UV, les sels créent des « photo-acides ». Ces derniers stimulent la polymérisation lors du recuit après UV. Une étape de révélation dans un développeur permet ensuite de réaliser le motif attendu.

Cette résine a également été largement étudiée dans le cadre de l'électronique flexible. En effet, une étude de la SU-8 métallisée montre l'absence de microfissures dans un film nanométrique à l'aide de la technique de corrélation d'image numérique [8]. Un grand nombre de travaux ont montré l'intérêt de combiner la SU-8 et le PDMS dans de nombreux procédés innovants [9], [10], tels que la réalisation de larges motifs de SU-8 directement sur PDMS [11], la création de moules en SU-8 pour la fabrication de dispositifs en PDMS [12], l'enchâssement d'éléments de SU-8 métallisée dans un système final intégrant différents matériaux [13]–[15] ou une approche hybride combinant, avant recuit, un mélange SU-8 et PDMS présentant des propriétés physiques dépendant des proportions spécifiques du mélange [16]. Enfin elle est principalement utilisée dans la fabrication de composants MEMS² ou de dispositifs microfluidiques [17] [18], [19]. Il s'agit également d'un matériau dont la biocompatibilité a été

¹ La photolithographie est l'ensemble des opérations permettant de transposer une image vers un substrat. Des résines photosensibles négatives ou positives étalées en couche mince par enduction centrifuge sur le substrat sont ensuite exposées aux UV puis plongées dans un développeur pour permettre de définir le motif que l'on souhaite reproduire.

² Microsystèmes électromécaniques — *MicroElectroMechanical Systems*

avérée pour de nombreuses applications, ce qui explique pourquoi elle est souvent utilisée dans les BioMEMS³ [20]–[25].

3. Microfabrication pour le renforcement des interconnexions métallisées sur PDMS

3.1. Choix du matériel, des matériaux et leurs propriétés

3.1.1. Matériaux choisis

Les dimensions des supports de PDMS diffèrent de ceux utilisés dans le Chapitre II avec une épaisseur de 1 mm, une longueur de 2 cm et une largeur de 1,5 cm (taille compatible avec l'appareil d'étirement et les masques mécaniques). Cela s'explique par le fait que nous devons déposer notre échantillon de PDMS pré-découpé sur silicium pour pouvoir ensuite étaler la SU-8 par enduction centrifuge. Une épaisseur plus fine de PDMS permettra ainsi de favoriser l'adhésion du PDMS sur le silicium lors du dépôt de SU-8. Concernant la modification de surface du PDMS, les échantillons sont introduits dans le bâti Diener Pico (Diner Electronic GmbH, Allemagne) afin d'obtenir un plasma de 1700 Joules.

La SU-8 polymérisée possède des propriétés mécaniques qui dépendent des conditions du procédé [26]. Nous avons besoin ici d'une membrane de SU-8 permettant d'obtenir une bi-couche de polymère, alliant la SU-8 et le PDMS. C'est pourquoi nous utilisons de la SU-8 2002 pour obtenir une épaisseur sub-micrométrique de 800 ± 10 nm d'épaisseur (mesuré sur le PDMS) avec comme propriétés, un module de Young compris entre 1,7 et 2,2 GPa [26] et une résistance ultime à la traction comprise entre 60 et 130 MPa [27].

Nous avons réalisé une étude qui a démontré que la bicouche de métallisation titanium/or (Ti/Au) — avec une épaisseur de 5/50 nm — a tendance à se fissurer à de faibles étirements lorsque ces métaux sont déposés directement sur du PDMS, voir Annexe B. C'est pourquoi en utilisant cette combinaison, la contribution de la SU-8 sera facilement apparente. De plus, le titane évaporé possède une plus grande force de liaison à la SU-8 que l'or évaporé.

³ MEMS utilisé pour les applications biologiques.

3.1.2. Masques mécaniques

Pour obtenir un microsystème qui respecte le cahier des charges exposé dans le Chapitre I sections 4.2. et 4.5., réaliser et tester des pistes ne suffit pas. Nous avons également besoin de plots de contact permettant de faire la connexion entre les électrodes de notre système et les broches du dispositif de mesure le MEA 2100© de la société MultiChannel System© dédié à l'enregistrement de la réponse électrique du réseau neuronal apposé sur notre système.

Plusieurs masques ont été utilisés dans ce but — voir Figure III-1, permettant ainsi d'analyser les différentes géométries d'interconnexions sur PDMS. Les trois masques physiques présentés sont d'une épaisseur de 50 μm d'un film de nickel.

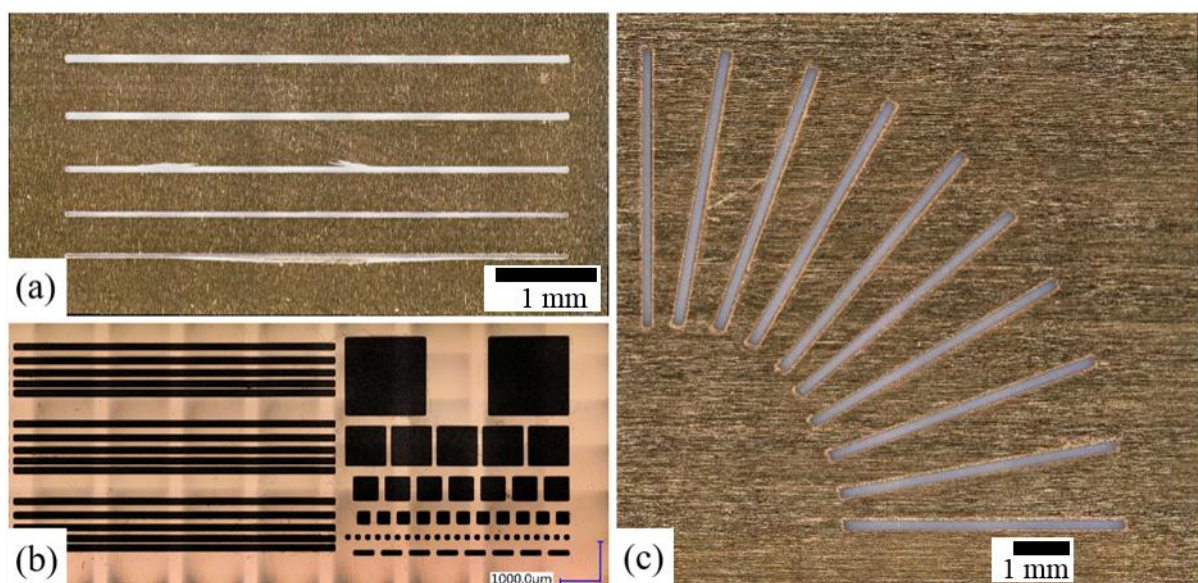


Figure III-1. Photographies des masques physiques utilisés dans cette étude. (a) Les lignes sont d'une longueur de 1 cm et d'une largeur comprise entre 40 μm et 120 μm de largeur. (b) Toutes les lignes sont d'une longueur de 7,95 mm et d'une largeur de 150 μm . Des plots de différentes tailles sont également présents, de 2000*2000 μm à 100*100 μm . (c) Les lignes ont une longueur de 5 mm et une largeur de 150 μm . Chaque ligne possède un angle différent θ relatif à la direction longitudinale de l'étirement, θ varie de 0° (ligne horizontale) à 90° (ligne verticale).

Le masque présenté Figure III-1(a) contient des lignes de 1 cm de longueur mais de différentes largeurs, comprises entre 40 μm et 120 μm . Ce masque servira à étudier la largeur critique des lignes en utilisant notre procédé de microfabrication.

Le masque présenté Figure III-1(b) est identique à celui utilisé dans le Chapitre II. Il permettra non seulement de comparer la rigidité des lignes (150 μm de largeur par 7,95 mm de longueur) avec et sans SU-8 mais également d'étudier des plots de contact de différentes tailles (de 100 μm de côté jusque 2000 μm).

Enfin, le masque présenté Figure III-1(c) possède des lignes d'une longueur de 5 mm et d'une largeur de 150 μm . Pour nous permettre d'adapter le design pour notre système final, ces lignes présentent un angle compris entre 0 et 90° par rapport à l'étirement uni-axial, avec un pas de 10°.

3.1.3. Matériel électromécanique utilisé

L'ensemble du matériel électromécanique est identique à celui utilisé dans le Chapitre II. Nous utilisons donc le dispositif d'étirement qui appliquera la déformation mécanique sur les échantillons, les sondes présentant un large rayon de courbure et le générateur de courant permettant d'obtenir les caractéristiques courant-tension de nos interconnexions.

3.2. Procédé de microfabrication par masque physique

Un nouveau procédé micro technologique original a été développé pour la fabrication des échantillons — voir Figure III-2. Une membrane de SU-8 a été intercalée entre les métaux et le support de PDMS permettant de rigidifier les interconnexions métalliques. En effet, cette membrane mécaniquement robuste permettra non seulement de réduire la formation de macro ou micro fissure dans le film métallique, mais également de déplacer la déformation mécanique sous étirement vers le support de PDMS.

Le procédé implique une métallisation à l'aide d'un masque physique sur un support de PDMS pré moulé d'une épaisseur de $1 \pm 0,1$ mm. Il s'agit donc d'un procédé « auto aligné » puisque le masque physique est retiré de l'échantillon seulement après l'étape de métallisation. Le masque mécanique sert donc pour insoler la SU-8 et déposer la métallisation.

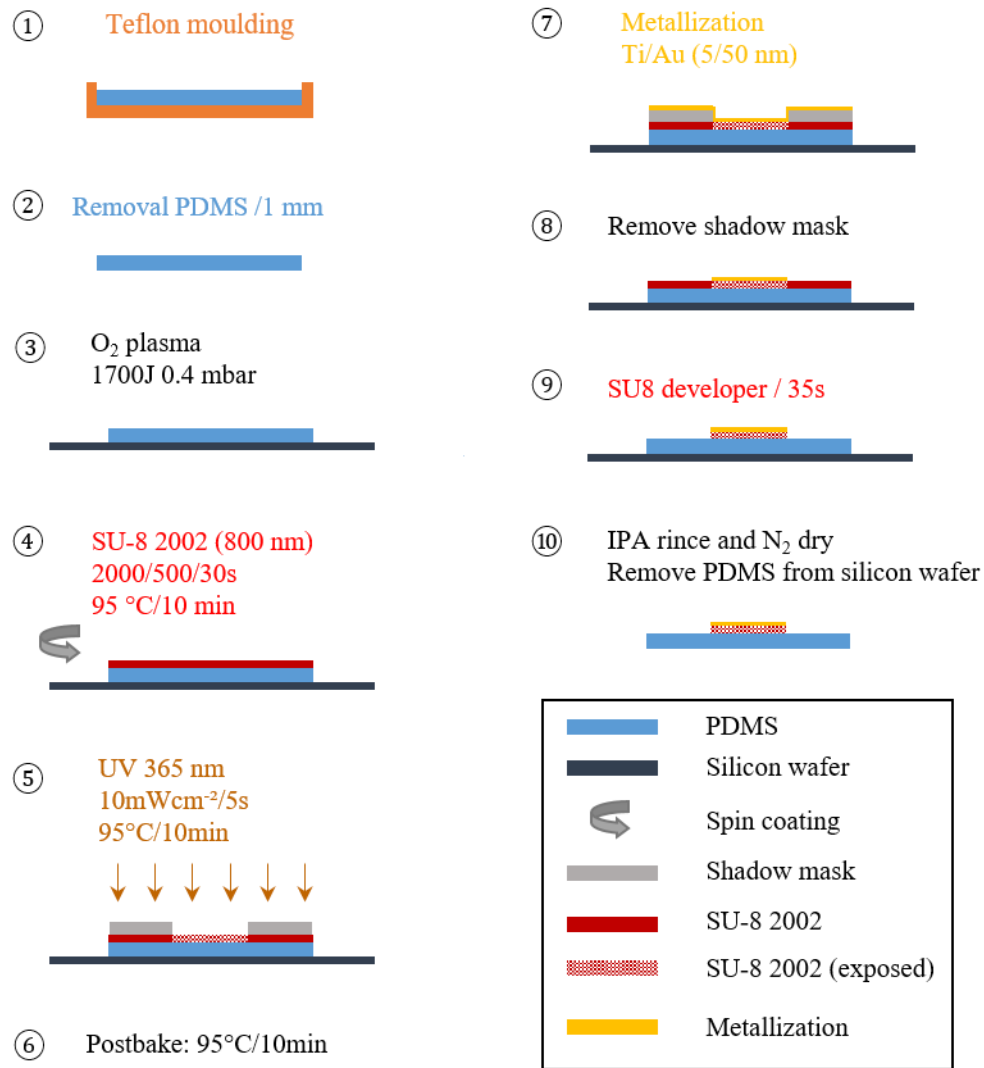


Figure III-2. Procédé de microfabrication développé dans cette étude pour la fabrication d'une membrane de SU-8 mécaniquement robuste métallisée sur PDMS. Procédé auto-aligné utilisant un masque physique sur du PDMS pré moulé.

La mise en œuvre du PDMS est identique à celle présentée dans le Chapitre II (section 2.1). En revanche, le volume utilisé a été calculé de manière à obtenir une épaisseur de PDMS d'environ 1 mm dans les plats en téflon. L'épaisseur de PDMS étant inférieure au millimètre, il a fallu s'assurer de la planarité des échantillons en vérifiant l'horizontalité de la plaque chauffante avant cuisson. L'échantillon est ensuite placé sur cette plaque chauffante, portée initialement à une température de 20°C. Une rampe de température est ensuite appliquée jusqu'à 80°C ($\sim 1^\circ\text{C s}^{-1}$) pendant 1h. Enfin, ils sont placés dans un four à 100°C pendant 30 minutes — une température et un temps conseillés par le fournisseur commercial.

Comme expliqué dans le Chapitre II, l'échantillon de PDMS est ensuite découpé à l'aide d'un scalpel aux dimensions de 1,5 cm par 2 cm. Durant la découpe, la prudence est de rigueur pour éviter toutes sources de fibres et de particules, l'utilisation du papier salle blanche est essentielle pour maintenir une surface propre de PDMS. L'épaisseur de PDMS mesurée est de $980 \pm 5 \mu\text{m}$.

3.3. *Procédé technique d'une membrane de SU-8*

Pour permettre d'étaler la résine SU-8 par enduction centrifuge, les échantillons de PDMS sont déposés sur des substrats de silicium de 3 pouces — les bords de PDMS ont été placés suivant l'orientation $\langle 110 \rangle$ afin que le silicium soit ensuite clivé à une taille légèrement supérieure à l'échantillon de PDMS, voir Figure III-3. A cette étape, un pistolet d'azote a été utilisé pour s'assurer de l'adhésion du PDMS sur le silicium.

Les surfaces de PDMS sont ensuite traitées par un plasma oxygène rendant leurs surfaces hydrophiles et permettant une bien meilleure adhésion de la résine photosensible de SU-8 durant la phase d'enduction centrifuge. Les paramètres de fonctionnalisation du PDMS par le plasma oxygène sont identiques à ceux expliqués dans le Chapitre II section 2.1.3.

Les surfaces de PDMS sont ensuite recouvertes de SU-8 2002 (Microchem, USA). Une épaisseur uniforme de SU-8 de $800 \pm 10 \text{ nm}$ est obtenue en tournant à 2000 tours par minute (tpm), avec une accélération de 500 tpm s^{-1} durant 30s. Une cuisson avant exposition aux UV est réalisée dans un four à 95°C pendant 10 min. A noter que l'on observe une bonne adhésion entre les échantillons de PDMS et le substrat de silicium.

Le résultat est une membrane de SU-8 sur le PDMS qui est uniforme et topographiquement lisse. Un démouillage occasionnel mineur ($< 500 \mu\text{m}$ de large) de la SU-8 est observé sur les bords de PDMS — observable sur la Figure III-3. Pour manipuler plus facilement les échantillons, le substrat de silicium est ensuite clivé à une taille légèrement supérieure à l'échantillon de PDMS comme présenté Figure III-3.

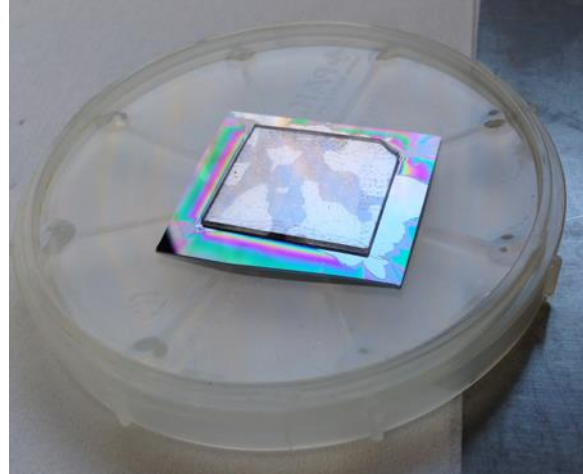


Figure III-3. Echantillon de PDMS posé sur un substrat de silicium clivé. On observe sur les bords de l'échantillon un démouillage de la SU-8.

3.4. *Métallisation de la membrane de SU-8*

Le masque physique est alors placé sur la surface de SU-8-PDMS/silicium. Le masque physique restant en place jusqu'à l'étape de métallisation, nous sommes en présence d'un procédé de métallisation auto-aligné. Les masques physiques présentés Figure III-1 contiennent les motifs pré-gravés pour la métallisation.

L'échantillon est ensuite fixé sur une plaque d'évaporation commerciale via des clips à ressorts et permet ainsi de maintenir fermement l'ensemble masque physique/SU-8/PDMS/silicium.

Un recuit à 95° pendant 10 minutes est réalisé avant exposition aux UV à travers les ouvertures du masque physique (5 secondes à 10 mW cm⁻² à l'aide d'un aligneur de masque Suss Microtech, Allemagne).

L'ensemble est ensuite placé dans un four à 95°C pendant 10 minutes de sorte à polymériser la résine photosensible SU-8 exposée. Il est à noter qu'en plus du fait que le PDMS adhère correctement à la plaquette de silicium, le masque mécanique est à présent fixé ce qui évite ainsi la délamination et l'expansion thermique du PDMS.

Vient ensuite l'étape de la métallisation. Pour cela, l'ensemble est métallisé avec 5 nm de titane pour la couche d'accroche et de 50 nm d'or pour le métal de conduction dans un bâti d'évaporation sous vide (MEB 550S electron beam evaporation system- Plassys, France) dans les mêmes conditions qu'expliquées dans le Chapitre II section 2.2.3.

Après avoir retiré le masque physique, on obtient des motifs de SU-8 métallisés. Il faut à présent retirer la résine SU-8 non polymérisée car non exposée et non métallisée. Pour cela, on plonge l'échantillon dans une solution de développement commerciale pour SU-8 (1-Methoxy-2-propyl acétate) durant 35s.

Pour finir, l'échantillon est décollé mécaniquement de la plaquette de silicium à l'aide de pince en prenant soin de ne pas appliquer de déformation sur les lignes métallisées. Il est ensuite rincé avec de l'isopropanol (IPA) et séché à l'aide d'un pistolet à azote. La Figure III-4 présente trois échantillons réalisés avec les différents masques physiques.

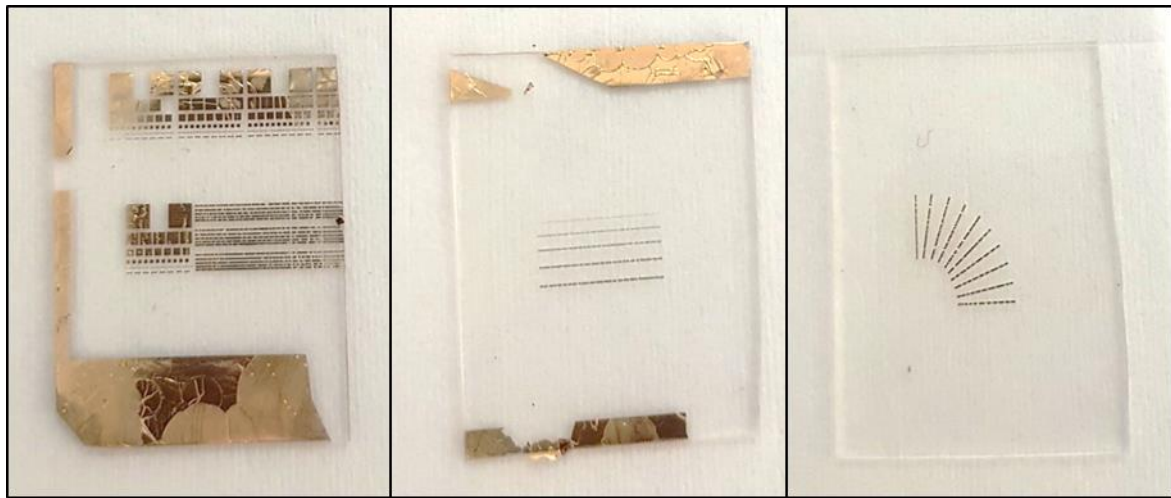


Figure III-4. Photographies des trois échantillons de PDMS réalisés grâce aux trois masques physiques différents. Les motifs sont réalisés à partir d'une couche d'accroche de titane d'une épaisseur de 5 nm recouverte d'une épaisseur de 50 nm d'or.

4. Résultats expérimentaux

4.1. Motifs topographiques résultant des procédés avant étirement

En utilisant un procédé de microfabrication simple et rapide et trois masques différents, une dizaine d'échantillons ont été fabriqués pour un total de 90 lignes métallisées et 144 plots de contact. Ainsi, nous observons deux topographies différentes de lignes de SU-8 métallisées sur PDMS :

- des structures en ponts causées par la délamination de la SU-8 du PDMS
- et des structures en plis ou vagues dû au relâchement du PDMS.

Par la suite, une caractérisation des propriétés électromécaniques de ces échantillons a pu être réalisée.

4.1.1. Structure en ponts : délamination de la SU-8 du PDMS

La première topographie observée est une structure constituée de ponts causée par la délamination de la SU-8 sur PDMS visible Figure III-5. Nous observons une hauteur de ponts de 29 μm à son maximum, une délamination sur une longueur de 130 μm avec une périodicité de 550 μm (5 lignes métallisées étudiées).

Les micro ponts obtenus apparaissent lorsque l'échantillon est plongé dans la solution de développement de la SU-8. Lorsque la résine SU-8 non exposée est développée et que le PDMS est retiré du substrat de silicium, des contraintes résiduelles induites par le procédé peuvent amener à leur formation. Cette délamination s'explique par une faible adhésion entre la SU-8 et le PDMS. Ainsi toutes contraintes causent le décollement. Néanmoins, nous notons que la contribution des contraintes intrinsèques causées par la polymérisation de la SU-8 est probablement plus faible comparée à celles provoquées par une expansion thermique du PDMS.

En utilisant ce procédé d'auto-alignement, nous obtenons une définition correcte des interconnexions étudiées sur membrane de SU-8. Néanmoins, les lignes métalliques d'une largeur inférieure à 60 μm ne sont pas adaptées pour ce type de procédé car les lignes métallisées ne sont pas bien définies ou se fissurent sur le support de PDMS.

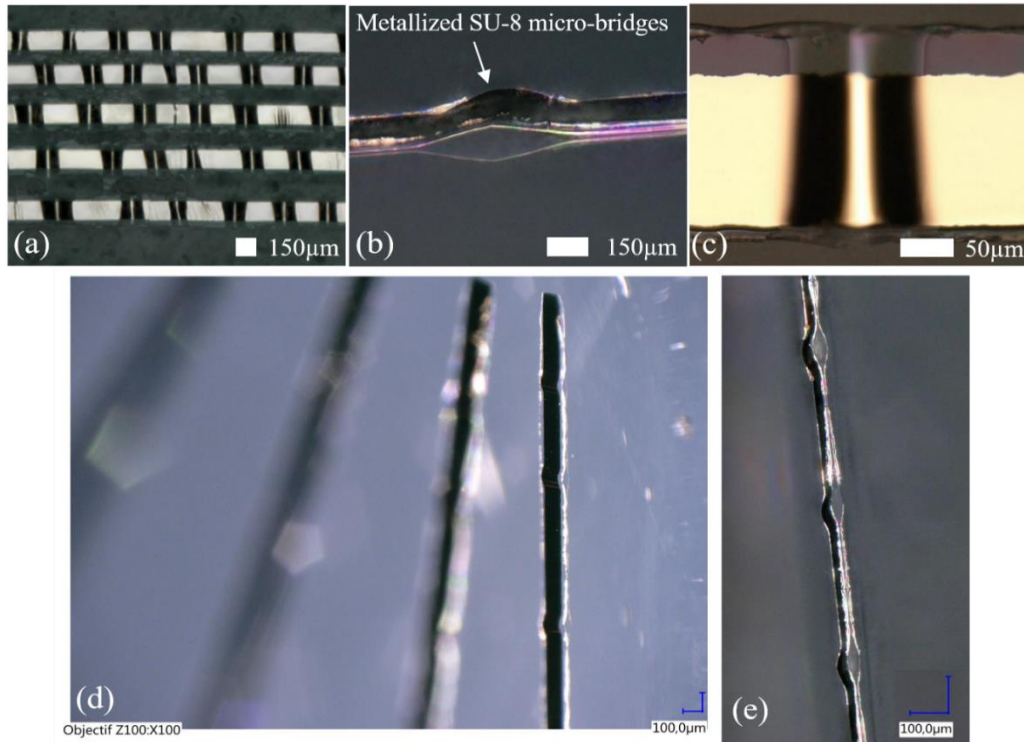


Figure III-5. (a-e) Photographies présentant des lignes métalliques contenant des micro-ponts. Un décollement d'un micro-pont est clairement visible en (b). (d) Micro ponts avec différents angles des lignes. (e) Photos prises de profil le long des lignes métalliques. On peut voir clairement les lignes métallisées détachées de la surface de PDMS.

4.1.2. Structure en plissement ou vagues

La deuxième topographie observée est une structure en plissement ou vague. Ces plis peuvent être créés si le bloc de PDMS se détache par inadvertance du substrat de silicium lors de la première étape de cuisson de SU-8. Ces plis peuvent apparaître sur de petites mais également sur de larges surfaces.

4.1.2.1. Observation sur des lignes

La Figure III-6 présente les plis, induits par le procédé, dans la membrane de SU-8 sur le support de PDMS. La Figure III-6(a) a été prise par microscopie électronique à balayage. Ces plis sont dus à la contrainte de compression induite thermiquement. Leur période et amplitude ont été mesurées à l'aide d'un profilomètre optique par interférence 3D (Contour GT-X 3D, Bruker Corp., USA) présenté Figure III-6(b-d). Ils sont ordonnés et majoritairement perpendiculaires à la longueur des lignes de SU-8 métallisées avec une période de 49,5 μm et une amplitude de 2,4 μm (5 lignes métallisées étudiées).

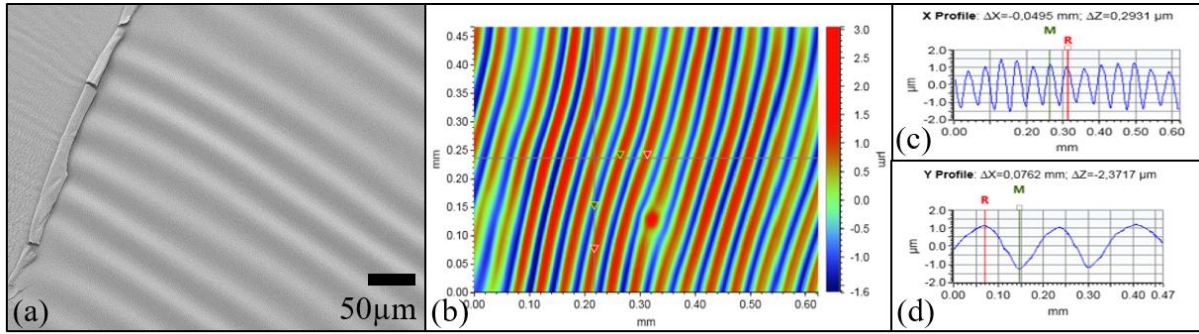


Figure III-6. Plis induits par le procédé dans le film de 800 nm de SU-8 sur un support de PDMS. (a) Image par microscopie électronique à balayage. (b) Caractérisation à l'aide d'un profilomètre optique par interférence. (c) et (d) montrent les profils des plis. (c) et (d) présentent leur fréquence et amplitude respectivement.

4.1.2.2. Observation sur de grandes surfaces

Les plis observés sur de grandes surfaces sont en contraste avec ceux observés sur de faibles surfaces dans la membrane de SU-8, voir Figure III-7. Sur de larges surfaces, nous observons des plis orientés aléatoirement, phénomène connu dans la littérature [28]–[32] et expliqué dans le Chapitre I section 3.2.

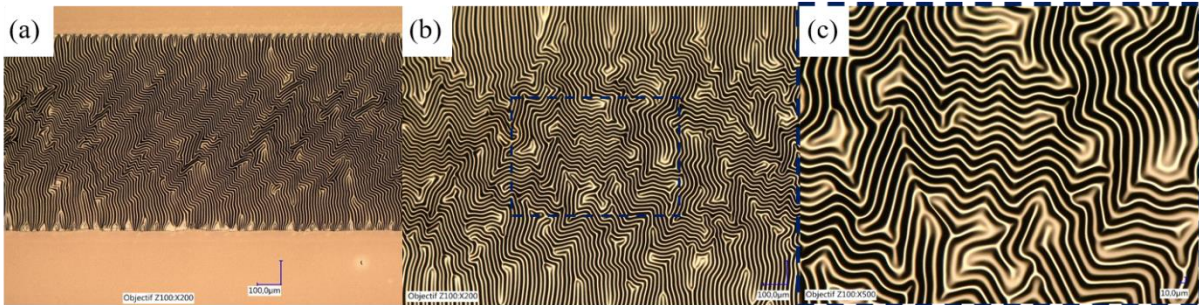


Figure III-7. Vagues observées sur de très larges surfaces et orientées aléatoirement.

Il n'est donc pas étonnant d'obtenir ce type de topographie pour une technologie planaire de lignes métallisées sur un substrat de polymère. Grâce à notre procédé de microfabrication, nous avons pu détecter à quelle étape ces topographies apparaissent.

4.2. *Étirement mécanique des échantillons*

Bien que nos lignes métallisées sur membrane de SU-8 sur substrat étirable ne soient pas lisses, nous pouvons néanmoins les étirer uni-axialement en utilisant le même protocole défini dans le Chapitre I section II-3.2. Ainsi nous avons pu déposer et fixer nos échantillons sur le dispositif d'étirement en prenant soin de ne pas appliquer d'étirement non voulu. La mesure de l'étirement appliqué est équivalente à celle expliquée dans le Chapitre II section II-3.3. Les propriétés électriques des lignes métallisées ont été mesurées en utilisant le même matériel exposé dans le Chapitre II section 3.6.

4.2.1. *Lignes métallisées orientées transversalement par rapport à l'étirement*

Le procédé de microfabrication est identique pour tous les échantillons mais ces derniers diffèrent par leurs dimensions en fonction des masques physiques utilisés, voir Figure III-1(a-b). La fabrication de 4 échantillons nous a permis d'étudier un total de 50 lignes métallisées. Pour compléter les observations faites dans le Chapitre II, les lignes métallisées étudiées seront orientées transversalement par rapport à l'étirement appliqué.

La Figure III-8 présente les mesures de résistance R ainsi que la résistivité ρ tracées point par point en fonction de la moyenne de l'étirement interligne. La configuration des lignes métalliques sur l'échantillon étant différente, le nombre de points de mesure pour calculer la moyenne de l'étirement interligne est différent. Cette moyenne a été calculée pour le masque physique numéro 1 présenté Figure III-1(a) à partir de 4 points de mesure alors que pour le masque physique numéro 2 présenté Figure III-1(b), 10 points de mesure ont été pris pour calculer la moyenne de l'étirement interligne. Les marques triangulaires correspondent aux mesures de résistance d'une ligne métallique sur le masque physique numéro 1 (80 μm de largeur sur 1 cm de longueur) tandis que les marques carrées correspondent à la moyenne des mesures de 9 lignes métallisées (de mêmes dimensions, 150 μm de largeur par 7,95 mm de longueur) sur le masque physique numéro 2. Les lignes pleines représentent la résistance des lignes alors que les lignes pointillées correspondent à la résistivité des lignes métalliques.

La résistivité ρ des lignes métallisées a été calculée en prenant en compte tout changement induit mécaniquement dans les dimensions de la métallisation et en utilisant

l'équation (3) ci-dessous. A noter que les valeurs de résistivité sont bien évidemment dominées par l'or.

$$\rho = Rwt/l, \text{ Equation (3)}$$

avec R la résistance mesurée des lignes métallisées,

w la largeur d'une ligne métallisée,

t l'épaisseur d'or de la ligne métallisée

et l la longueur séparant les deux sondes lors des mesures électriques.

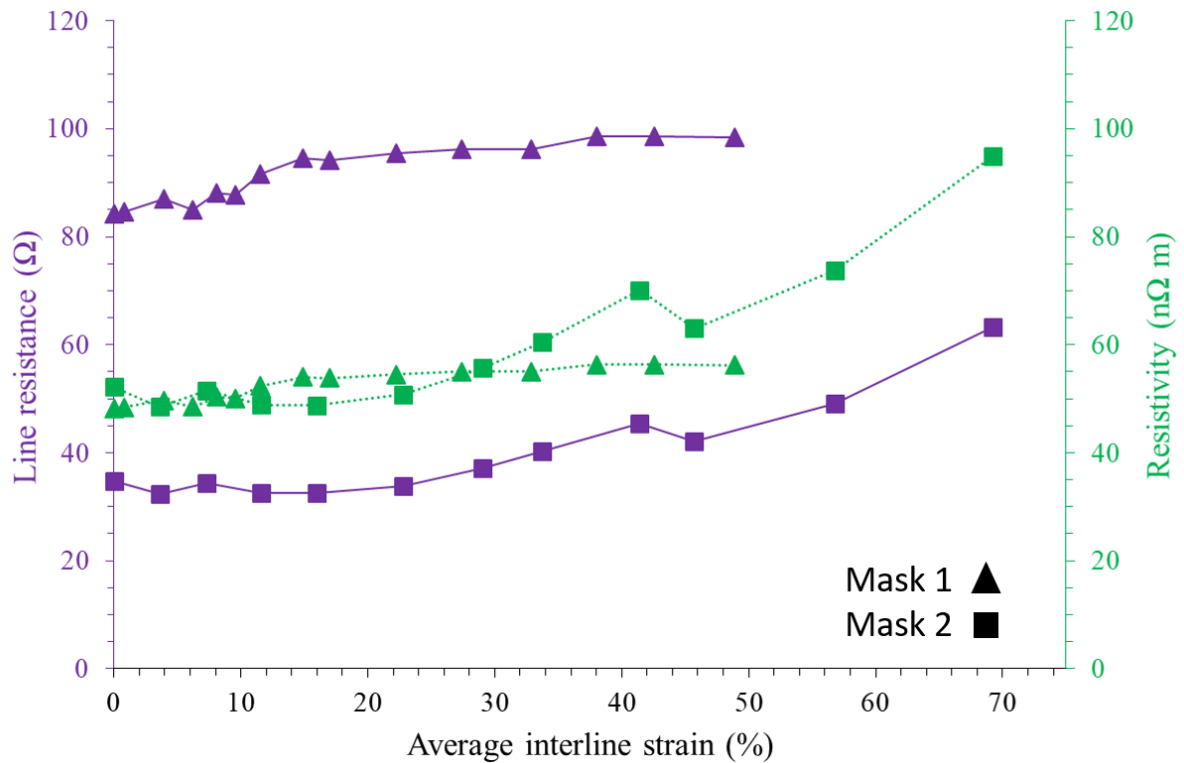


Figure III-8. La résistance électrique et la résistivité mesurées des lignes d'or/titane/SU-8 transversalement orientées à l'étirement sur PDMS en fonction de la moyenne de l'étirement interligne pour les deux masques physiques utilisés. Les traits pleins représentent la résistance des lignes métallisées, alors que les traits pointillés représentent la résistivité des lignes métallisées. Les marques triangulaires représentent une ligne métallique du masque physique 1 (voir Figure III-1(a)), avec pour dimensions 80 μm de largeur par 1 cm de longueur. Les marques carrées représentent une moyenne des mesures de 9 lignes d'or/titane/SU-8 du masque physique 2 (voir Figure III-1(b)), avec pour dimensions 150 μm de large par 7,95 mm de long. L'épaisseur des lignes d'or/titane/SU-8 sont de 50/5/800 nm.

L'observation principale à faire ici est que la résistance des lignes métallisées demeure constante jusqu'à un étirement interligne local moyen d'environ 50%. Ceci est dû à l'absence de microfissure ou macrofissure sur les lignes d'Au/Ti/SU-8. Bien que la résistance soit

différente entre la ligne métallique du masque 1 (marques triangulaires en violet) et la moyenne des lignes métalliques du masque 2 (marques carrées en violet), leurs résistivités quant à elles sont très proches (courbes vertes).

Dans la littérature, la résistivité thermique de l'or évaporé à température ambiante est typiquement aux alentours de $30 \text{ n}\Omega \text{ m}$ pour un film d'environ 60 nm d'épaisseur [33] — ceci pouvant être comparé à la résistivité de l'or pur qui est d'environ $22 \text{ n}\Omega \text{ m}$. La moyenne de résistivité mesurée des lignes d'or/titane/SU-8 jusque 30% d'étirement interligne moyen est ici de $51,2 \text{ n}\Omega \text{ m} \pm 2,6 \text{ n}\Omega \text{ m}$; et au-dessus de 50% d'étirement interligne moyen la résistivité est de $53,5 \text{ n}\Omega \text{ m} \pm 5,2 \text{ n}\Omega \text{ m}$.

Nous avons donc réalisé des lignes métallisées sur membrane de SU-8 sur un substrat de PDMS avec une résistance faible et constante au cours d'un étirement uni-axial allant jusqu'à 50%. La résistance augmente lorsque la moyenne d'étirement interligne atteint 60%, ceci étant dû aux microfissures créées sur les lignes métallisées sans pour autant créer des macrofissures. En ramenant la résistance des lignes métallisées en valeur de résistivité grâce à leurs dimensions, nous constatons que les valeurs sont proches de la littérature pour de l'or évaporé [33]. Notre procédé de microfabrication permet de réaliser des interconnexions rigides sur substrat souple avec une résistivité stable quelles que soient leurs dimensions. Ce résultat peut donc être une avancée pour des microsystèmes étirables de technologie planaire compatible avec la microfabrication planaire.

4.2.2. *Plots de contact*

Afin de connecter le microsystème à l'appareil MEA 2100©, un autre élément d'interconnexions à savoir des plots de contact est nécessaire. Des plots de contact de différentes dimensions ont été testés allant de $100 \mu\text{m}$ à $2000 \mu\text{m}$ de côté, voir Figure III-9 afin d'étudier leur comportement sous déformation mécanique.

On observe que les plots de contact de grande surface sont soumis très rapidement aux déformations mécaniques contrairement aux plots de petites tailles. L'effet Poisson est visible dès 7,5% d'étirement et est de plus en plus présent au cours de l'étirement (formation de plis). Par ailleurs, le nombre de fissures est plus élevé lorsque les plots de contact ont une surface plus grande [2], [34]. En revanche, les plots de contact de $100 \mu\text{m}$ de côté sont très robustes,

nous n'avons observé aucune fissure au-delà de 58% d'étirement. Leurs dimensions restent stables et ils ne se déforment pas malgré la déformation mécanique appliquée.

Le Tableau III-1 synthétise les étirements supportés par les plots de contact avant fissuration en fonction de leurs dimensions.

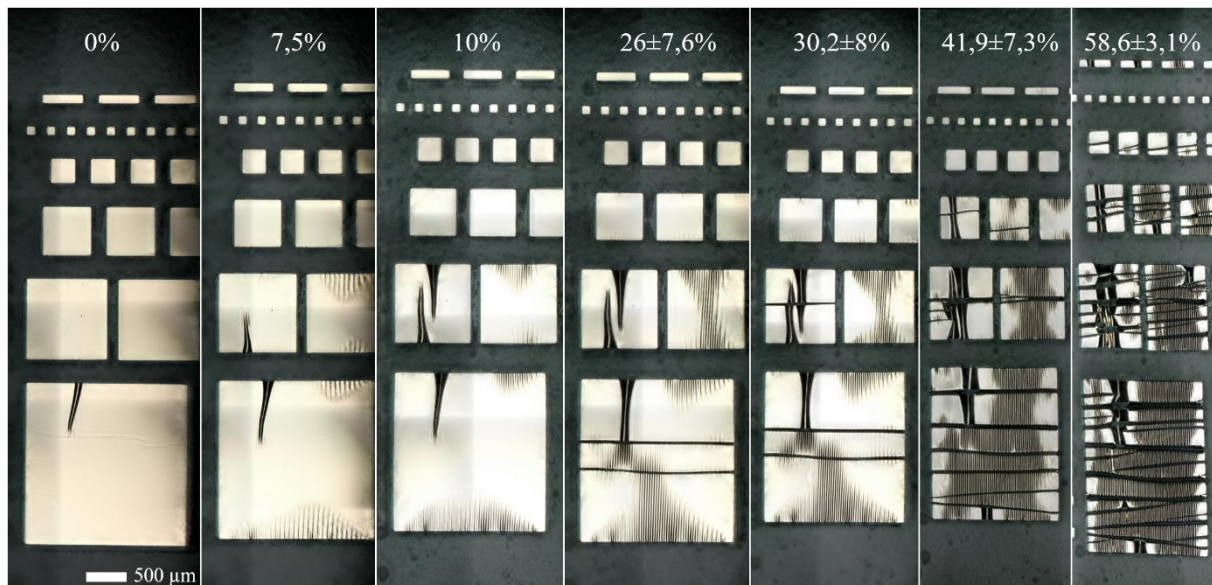


Figure III-9. Présentation des pads sous étirement mécanique. L'étirement local a été calculé en faisant la moyenne des distances mesurées entre les différents pads.

Dimensions des plots de contact (μm)	Etirement maximum avant fissure (%)
2000×2000	26,0±7,6
1000×1000	30,2±8,0
600×600	41,9±7,3
300×300	58,6±3,1
100×100	Aucune fissure observée

Tableau III-1. Récapitulatif des étirements maximums avant fissure mesurés pour les plots de contact d'or/titane/SU-8 modelés par lithographie sur PDMS.

Nous obtenons des plots de contact capables de supporter un étirement uni-axial au-delà de 50% pour des plots de 100 et 200 μm de côté sans observer de macro ou micro fissures. Dans notre cas, les plots d'intérêt sont ceux de 2000 μm de côté car leurs tailles correspondent à celles des plots de contacts des MEA commerciaux. Notre but étant d'étirer notre système jusque 20%, les plots de contact fabriqués sont stables et sans fissure jusque 26±7,6% d'étirement uni-axial. Pour nous permettre d'aligner plus facilement les plots de contact du microsystème avec les broches de connexions du MEA 2100©, il est préférable d'utiliser de plus grandes plots de

contact. A noter que les MEA rigides possèdent des plots de 2000 μm de côté. C'est pourquoi nous avons choisi de travailler avec des plots de contact de la même dimension.

En utilisant le même procédé de microfabrication, nous pouvons fabriquer des plots de contact et des lignes métallisées sur substrat étirable pour constituer nos interconnexions. Celles-ci sont dépourvues de macro et microfissure, et leur résistivité est stable et constante au cours de l'étirement appliqué.

4.2.3. Lignes métallisées orientées sous différents angles par rapport à l'étirement

4.2.3.1. Observations optiques

Après avoir testé des lignes métallisées orientées longitudinalement puis transversalement par rapport à l'étirement, il est important d'observer le comportement mécanique et électromécanique de lignes métallisées de SU-8 sous différentes orientations d'angle présentées Figure III-10. Cette étude nous permettra de déterminer l'angle critique à ne pas excéder pour notre design (architecture du microsystème) final et ainsi déterminer notre degré de liberté lors de la conception du système final.

Pour cela, nous avons fabriqué 3 échantillons qui contiennent chacun 10 lignes d'or/titane/SU-8 (50/5/800 nm) obtenues par lithographie sur un support de PDMS. L'orientation de l'angle θ varie de 0° (ligne transversale par rapport à l'étirement) à 90° (ligne longitudinale par rapport à l'étirement) par pas de 10° .

L'échantillon est monté sur notre dispositif pour être étiré dans la direction longitudinale comme le montrent les flèches noires présentes sur la Figure III-10. L'échantillon est ensuite étiré et imagé à l'aide d'un microscope numérique qui nous permet d'avoir une vue large par un assemblage de photos haute résolution qui sera par la suite analysé. Le système d'étirement nous permet d'appliquer un étirement global croissant. Cependant, en sachant que l'architecture de l'échantillon joue un rôle primordial pour déterminer l'étirement local, 19 points de mesure ont été choisis sur l'échantillon. Ces valeurs nous permettent de former, en première approche, une « cartographie d'étirement local » de l'échantillon, présentée Figure III-11. Ainsi l'étirement interligne sera connu pour évaluer la moyenne d'étirement interligne et ainsi tracer les données.

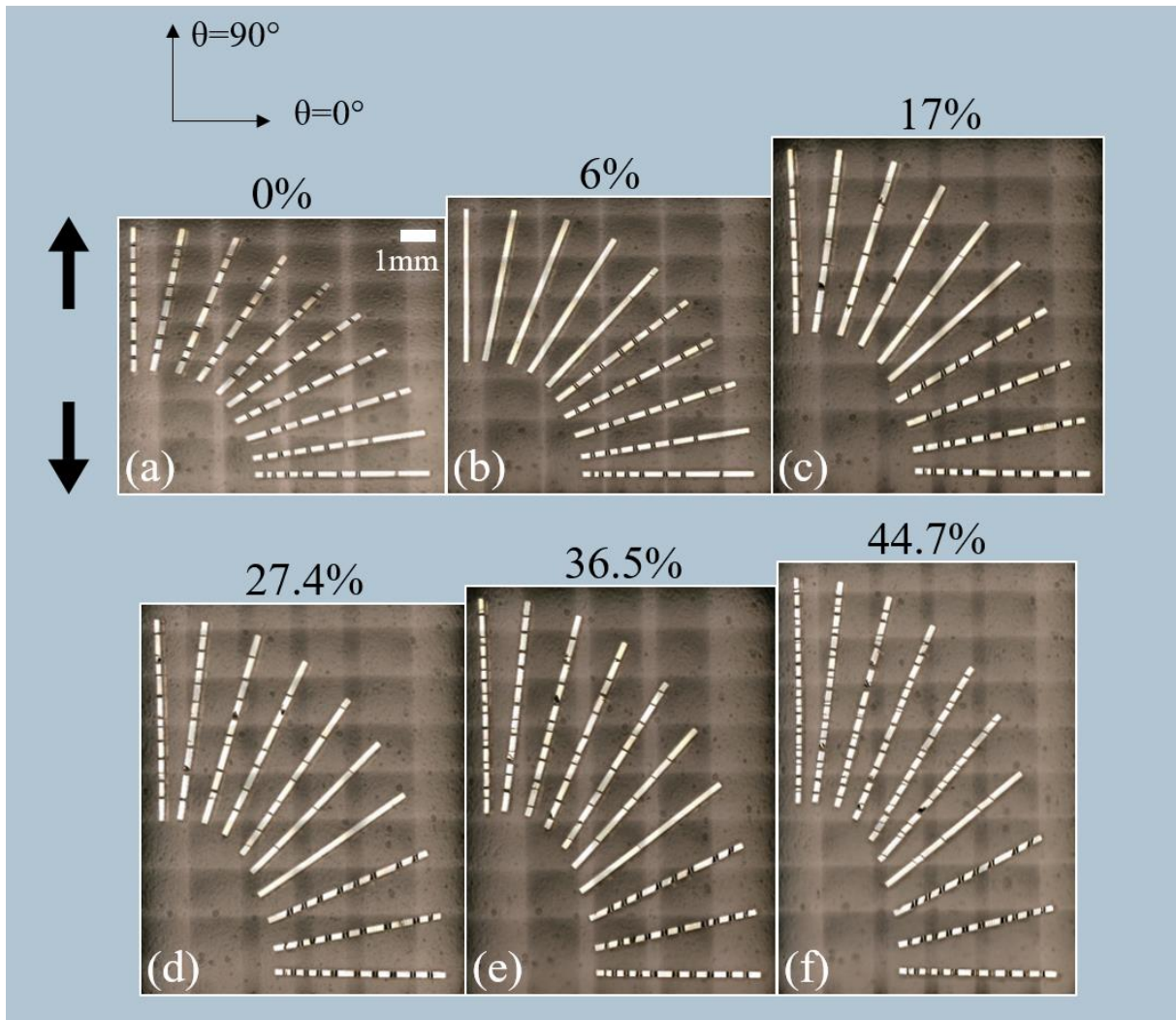


Figure III-10. Images de microscopie optique montrant les lignes métallisées orientées avec un angle à différentes valeurs par rapport à l'étirement interligne moyen (indiqué sur chaque image). L'échantillon contient 10 lignes métalliques avec un étirement interligne moyen variant de 0% (a) à 46,4% (h) et relâché — échantillon à 0% d'étirement après expérience (i). L'étirement est appliqué longitudinalement par rapport à l'échantillon, ceci étant indiqué par les flèches noires. Toutes les lignes d'or/titane/SU-8 (50/5/800 nm) sont réalisées par masquage physique sur PDMS. Les lignes métallisées ont une longueur de 5 mm et une largeur de 150 μm . Chaque ligne métallique possède un angle différent θ relatif à la direction longitudinale de l'étirement, θ varie de 0° (référé à la ligne horizontale) à 90° (référé à la ligne verticale) par pas de 10° .

Initialement, à zéro étirement — voir Figure III-10(a) — les contraintes isotropes mécaniques, induites par le procédé, mènent à la formation de micro-ponts sur toutes les lignes métallisées (voir Figure III-1). Lorsque l'échantillon est étiré, les micro-ponts disparaissent graduellement en fonction de l'orientation de la ligne métallique et de l'étirement interligne moyen. A 6% d'étirement, les micro-ponts disparaissent des lignes métalliques ayant un angle θ compris entre 90° et 50° . Ensuite, à 7,8% d'étirement, des fissures apparaissent sur les lignes

métalliques avec un angle θ compris entre 90° et 60° probablement dû à la résistance ultime à la traction (uts) de la SU-8 qui est atteinte.

A contrario, 2 lignes métallisées présentent des micro-ponts supplémentaires dus à l'effet Poisson, qui démarrent à 7,8% pour la ligne métallisée avec un angle $\theta = 10^\circ$ et à 14,2% pour la ligne métallisée avec un angle $\theta = 0^\circ$. Concernant la ligne métallisée avec un angle $\theta = 20^\circ$, son comportement est particulier. En effet, aucun changement n'a lieu sur la ligne métallisée durant l'étirement. Ces observations suggèrent que l'effet Poisson et l'étirement longitudinal se compensent entre eux.

Les micro-ponts disparaissent pour les lignes métallisées présentant un angle $\theta = 30^\circ$ et 40° à 27,4% et 17% d'étirement respectivement, mais elles commencent à se fissurer à 36,5% et 27,4% d'étirement. Les lignes métalliques avec un angle θ supérieur à 40° ont quant à elles de plus en plus de fissures au cours de l'étirement. A un étirement égal à 44,7%, si l'angle θ est inférieur à 20° , il n'y a pas de fissures sur les lignes métallisées.

De manière intéressante, pour les lignes métalliques avec un angle $\theta = 30^\circ$ et $\theta = 60^\circ$ sous déformation mécanique à hauts étirements, les fissures ne sont plus perpendiculaires aux bords des lignes métalliques. Lorsque l'étirement appliqué revient à zéro les micro-ponts demeurent à la même place pour les faibles valeurs de θ et sont créés de nouveau pour de plus grandes valeurs de θ .

Nos observations conduisent à dire que les lignes métalliques orientées avec un angle inférieur ou égal à 20° sont en compression au cours de l'étirement uni-axial et ne se fissurent pas, même sous forte déformation mécanique. Les lignes métalliques orientées avec un angle compris entre 30° et 50° se fissurent à partir de 17% d'étirement. Enfin, les lignes métalliques orientées avec un angle supérieur ou égal à 60° se fissurent rapidement, même à faible étirement. L'angle critique à ne pas dépasser pour que les lignes métallisées ne se fissurent pas au cours d'un étirement d'environ 50% est donc d'environ 20° .

4.2.3.2. *Cartographie de l'étirement appliqué*

Une analyse de ces images nous permet de réaliser une cartographie d'étirement local sur l'ensemble de l'échantillon à différentes valeurs d'étirement global. Ceci est l'équivalent de ce qui peut être fait automatiquement et à de meilleures résolutions avec des images

numériques en utilisant des techniques de corrélation. L'évolution de cette cartographie d'étirement interligne est présentée Figure III-11.

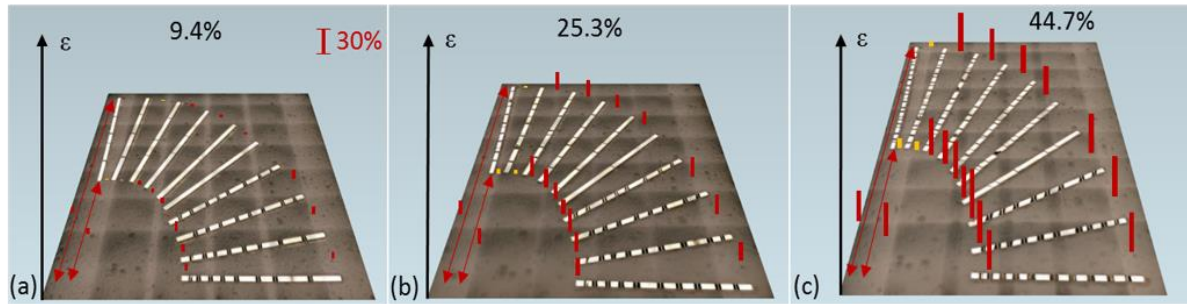


Figure III-11. Vue 3D en perspective de l'échantillon nous montrant la cartographie d'étirement interligne calculé moyen, ici (a) 9,4%, (b) 25,3% et (c) 44,7%. Les colonnes rouges indiquent l'étirement local dans la direction longitudinale alors que les colonnes jaunes indiquent l'étirement local dans la direction transverse — dû à l'effet Poisson. L'échelle correspond à 30% d'étirement.

Nous savons que l'architecture est un élément important pour que la déformation soit plus ou moins homogène sur l'ensemble de l'échantillon. Grâce à cette cartographie, on s'assure que nous avons des proportions entre les lignes métalliques et le PDMS qui permettent d'obtenir un étirement — mesuré localement au niveau des lignes — relativement homogène.

4.2.3.3. Caractéristiques électriques

Regardons à présent les mesures électriques sous déformation mécanique de ces échantillons. La Figure III-12 présente les résultats électriques et mécaniques (évolution des fissures et des micro-ponts) des échantillons.

Nous constatons dans un premier temps que la valeur de la conductance électrique est relativement stable ($32,1 \pm 2,3$ mS) pour toutes les lignes métalliques qui conduisent (donc non fissurées). Au-dessus de 44,7% d'étirement interligne moyen, seules 3 lignes métallisées demeurent conductrices (sans fissure) et présentent une conductance électrique toujours stable et faible. L'angle critique θ_c d'environ 20° assure une continuité électrique pour un étirement interligne moyen compris entre 0 et 50%.

Dans un second temps, en prenant les valeurs de conductance de la Figure III-12(a), nous pouvons tracer la conductivité de chaque ligne métallique. La résistivité moyenne de l'ensemble des lignes métallisées sans fissures est d'environ

$53,6 \pm 3,9 \text{ n}\Omega \text{ m}$ ($\sim 18,7 \times 10^6 \text{ S m}^{-1}$) — valeur comparable avec la résistivité attendue pour des films d'or de haute qualité sur des surfaces rigides polies [33].

Ensuite, le nombre de fissures augmente en fonction de l'étirement interligne moyen — voir Figure III-12(c). Pour les lignes métalliques avec un θ proche de 80° , les fissures apparaissent rapidement pour de faibles valeurs d'étirement. En analysant maintenant à plus petite échelle les images obtenues, on peut tracer la longueur moyenne des mesas en fonction de l'étirement interligne moyen comme présenté dans la Figure III-12(d). Les courbes en pointillés sont tracées à partir d'un modèle de fissuration en couches minces bien connu [35], [36] où la caractéristique de la longueur moyenne des mesas λ_a (sous étirement uni-axial et avec t_f l'épaisseur de la couche mince) a été modélisée par l'équation suivante :

$$\lambda_a = 5.6 \sqrt{\frac{t_f \Gamma_f}{\varepsilon_f^2 \bar{E}_f}}, \text{ Equation (4)}$$

avec Γ_f représentant la caractéristique de la résistance du film à la propagation de fissures en Jm^{-2} ,

avec ε_f l'étirement dans le film ($\varepsilon_f = \Delta L_f / L_f$) où L_f représente la longueur sans déformation mécanique et ΔL_f correspondant à l'augmentation de la longueur,

avec $\bar{E}_f = E_f / (1 - \nu^2)$ où E_f représente le module de Young du film et ν le coefficient de Poisson du film.

On remarque que les résultats expérimentaux respectent ce modèle de fissuration avec la longueur moyenne des mesas qui est inversement dépendante de l'étirement appliqué.

Toutefois, nous montrons ici que θ a une influence sur la moyenne de la longueur des mesa pour un étirement donné — démontrant clairement que l'architecture a un rôle clé dans le comportement des systèmes flexibles. A noter que dans la Figure III-12(d), lorsque 2 points de données ont la même valeur, cela signifie qu'il n'y a pas eu de fissures entre les deux valeurs d'étirement — indiqué par des flèches dans la Figure III-12(d).

La Figure III-12(e) présente la courbe de la variation de largeur des fissures dans les lignes Au/Ti/SU-8 en fonction de l'étirement interligne moyen. Lorsque l'étirement appliqué augmente, la largeur des fissures s'agrandit en règle générale sur les lignes métallisées. Il est à noter que la largeur des fissures peut diminuer au cours d'étirements successifs — la raison

pour ce phénomène est que l'étirement mécanique peut être redistribué dans le PDMS par la formation de nouvelles fissures.

La Figure III-12(f) présente l'évolution des micro-ponts en fonction de l'étirement interligne moyen. A un étirement relativement faible égal à 6%, les lignes métalliques présentant un angle θ compris entre 90° et 50° ne contiennent plus de micro-ponts. A l'inverse, pour les lignes métallisées avec une valeur faible de θ égal à 0° et 10° , les micro-ponts se créent au fur et à mesure que l'étirement longitudinal augmente, dû à l'effet Poisson. Pour finir, pour la ligne métallique orientée avec un θ égal à 20° , aucun micro-pont ni aucune fissure n'apparaissent durant l'expérience (avec un étirement interligne supérieur à 46,4%). Nous pensons que l'effet Poisson et l'étirement se compensent autour de cette valeur de θ .

Pour synthétiser, nous pouvons dire que les lignes métalliques orientées avec un angle inférieur ou égal à 20° sont en compression au cours de l'étirement uni-axial et ne se fissurent pas, même à fort étirement. Les lignes métalliques orientées avec un angle compris entre 30° et 50° se fissurent au fur et à mesure de l'étirement appliqué mais à partir de 17% d'étirement. Enfin, les lignes métalliques orientées avec un angle supérieur ou égal à 60° se fissurent rapidement, même à faible étirement.

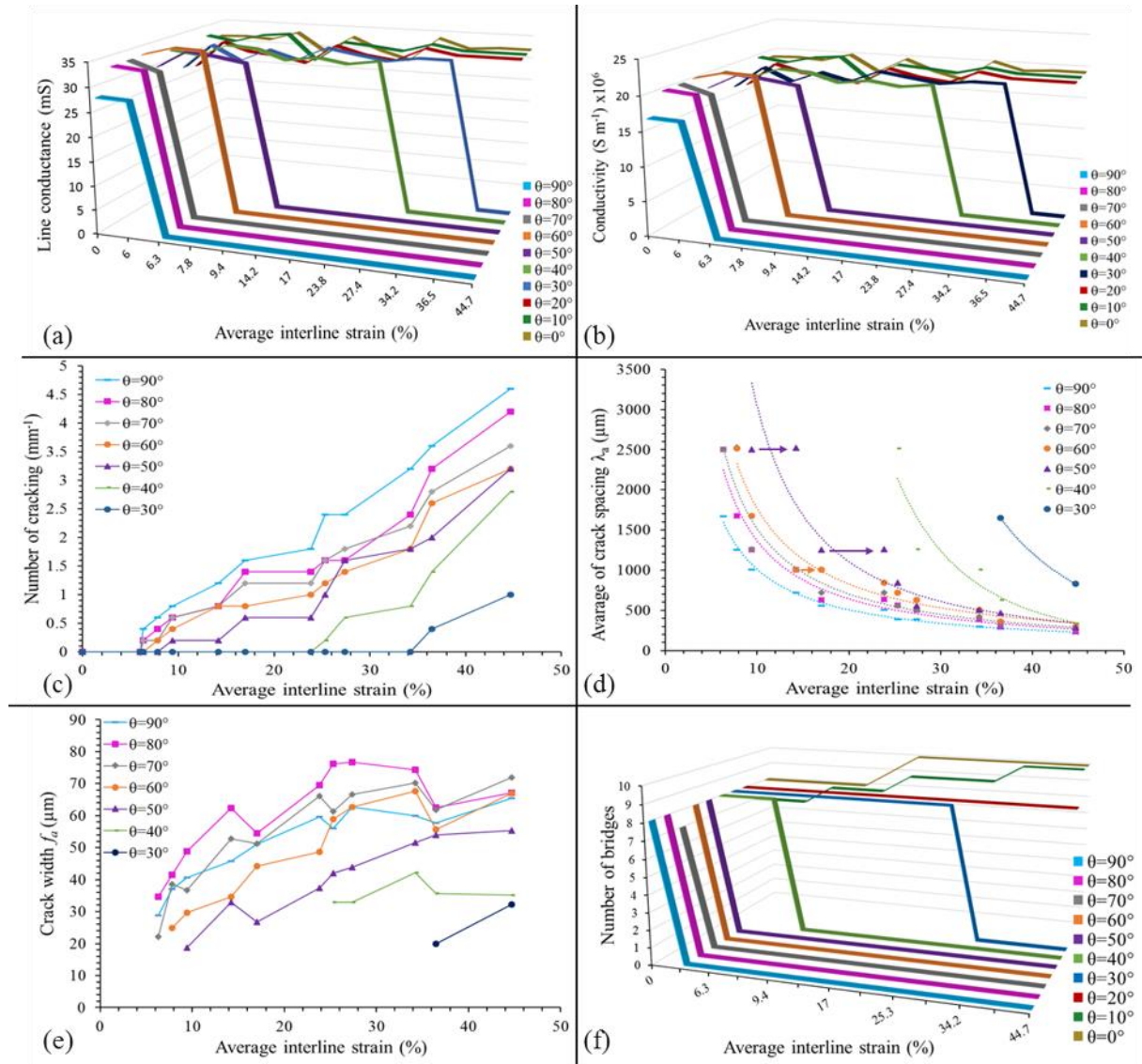


Figure III-12. Résumé des caractérisations électriques, du nombre de fissures, et de l'évolution des micro-ponts en fonction de l'étirement interligne moyen pour les lignes d'Au/Ti/SU-8 (50/5/800 nm) modelées par lithographie à différentes orientation d'angle par rapport à l'étirement extérieur appliqué. (a) Mesure de la conductance des lignes métalliques avec un angle θ compris entre 0° et 90° en fonction de l'étirement interligne moyen. (b) Conductivité des lignes métalliques avec un angle θ compris entre 0° et 90° en fonction de l'étirement interligne moyen. (c) Nombre de fissures (mm^{-1}) N sur les lignes métalliques avec un angle θ compris entre 30° et 90° en fonction de l'étirement interligne moyen. (d) Moyenne des longueurs de mesa λ_a des lignes métalliques avec un angle θ compris entre 30° et 90° en fonction de l'étirement interligne moyen. Les courbes obtenues sont réalisées grâce à un modèle de fissuration en couche minces [35]. (e) Largeur de fissure f_a des lignes métalliques avec un angle θ compris entre 30° et 90° en fonction de l'étirement interligne moyen. (f) Evolution du nombre de micro-ponts en fonction de l'étirement interligne moyen.

4.2.4. *Modèle sur le comportement des lignes métallisées de différentes orientations*

Nous avons développé un modèle mécanique simple qui nous permet de vérifier les observations faites dans la partie précédente. Notre modèle repose sur un modèle linéaire à base de ressorts qui prédit la déformation subie par les lignes de SU-8 métallisées sous différentes orientations d'angle et en fonction des différentes déformations appliquées sur l'échantillon de PDMS. Le modèle prend en compte plusieurs paramètres tels que les dimensions géométriques, le coefficient de Poisson du PDMS et le module de Young du PDMS, de la SU-8 et des métaux. Ces valeurs étant connues dans la littérature, aucun paramètre d'ajustement n'est nécessaire. Bien que le modèle retranscrive l'essentiel de notre expérience, la fissuration des lignes métallisées étant un phénomène non linéaire, celui-ci doit être considéré comme semi-quantitatif.

L'échantillon idéal présenté Figure III-13 peut être divisé en 3 portions distinctes. Premièrement, les lignes sont composées d'une multi-épaisseur en couche mince d'Au/Ti/SU-8. Les lignes ont une longueur l et une largeur w . Lorsque l'angle d'orientation θ varie, la longueur effective et la largeur effective deviennent respectivement l_{eff} et w_{eff} . L'épaisseur de l'or, du titane et de la SU-8 sont t_{Au} , t_{Ti} et t_{SU-8} . Deuxièmement, les portions de PDMS en série avec les lignes métallisées — référencées comme $PDMS_1$ (bleu). Troisièmement, la portion de PDMS en parallèle avec les lignes métallisées — référencée comme $PDMS_2$ (rouge). Le support de PDMS possède une longueur l_0 , une largeur w_{PDMS} , et une épaisseur t_{PDMS} . Le modèle suppose une réponse linéaire-élastique (ou Hookean) à la déformation et ne considère qu'une seule ligne métallisée sur la surface du substrat.

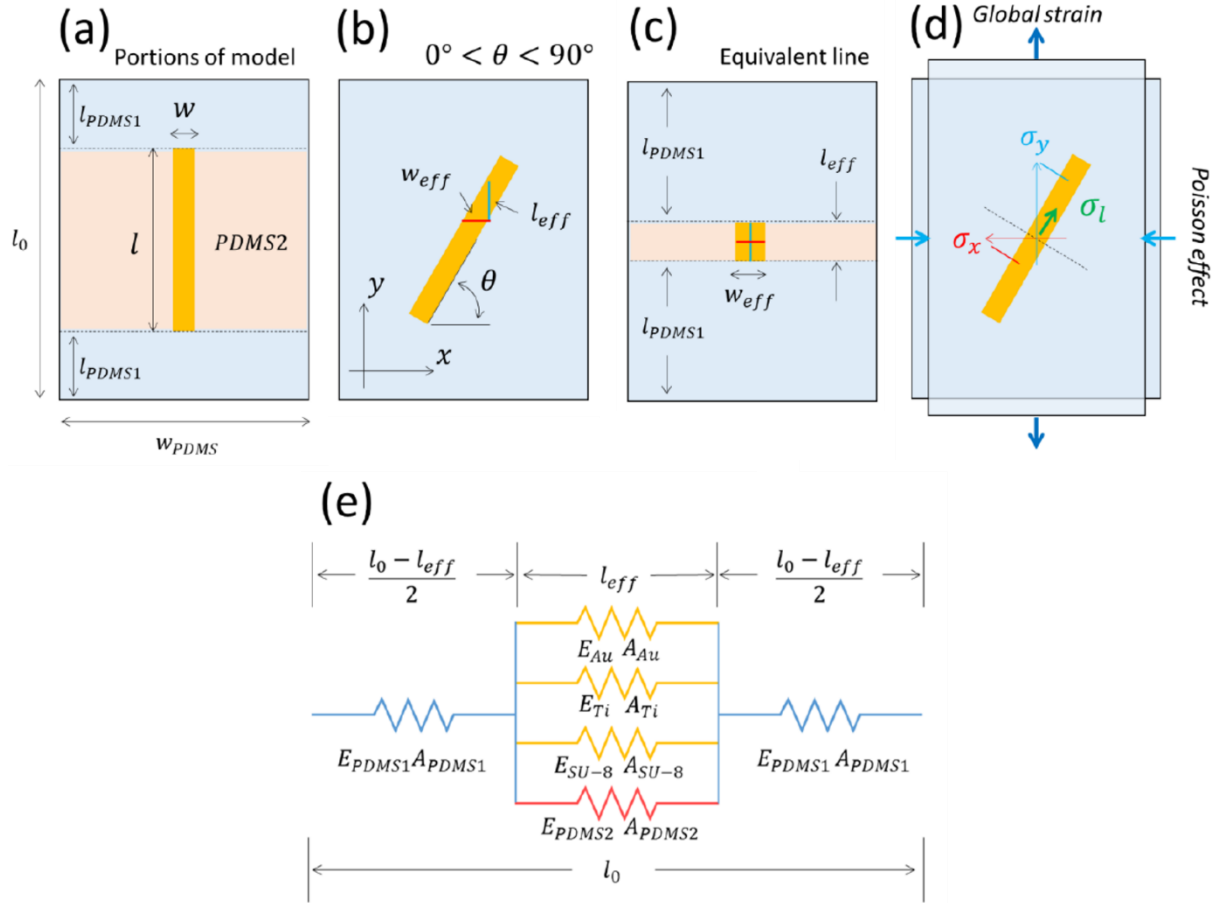


Figure III-13. Modèle du comportement de la membrane de SU-8 métallisée sur support de PDMS. (a) Une ligne unique en couche mince de Au/Ti/SU-8 sur un support rectangulaire épais de PDMS (bleu clair). La ligne métallique est orientée sous un angle θ relatif au bord inférieur de l'échantillon. On définit une longueur effective l_{eff} (trait bleu) et une largeur effective w_{eff} (trait rouge) parallèle et perpendiculaire à la direction longitudinale de l'étirement appliqué. (c) La ligne droite équivalente à celle présentée en (b) a pour dimension l_{eff} et w_{eff} . (d) Effet d'une contrainte globale et de l'effet Poisson associé sur l'échantillon. La contrainte totale suivant la ligne θ_l est calculée par la différence des composantes de θ_x et θ_y projetées dans la direction de la ligne. (e) Modèle Hookean à base de ressorts. Le modèle sépare le PDMS en 2 parties : 2 portions $PDMS_1$ (bleu) et une portion $PDMS_2$ (rouge) qui est en parallèle avec la ligne Au/Ti/SU-8 (jaune).

En se basant sur le modèle de la Figure III-13, les dimensions effectives de la ligne droite équivalente peuvent être approximées par les formules suivantes :

$$l_{eff} = \frac{w}{\cos \theta} ; \text{Equation (5)}$$

$$w_{eff} = \frac{w}{\sin \theta} ; \text{Equation (6)}$$

Les équations ci-dessus ne sont valides qu'en respectant certaines limites. A des angles proches de 90° , si $l_{eff} > l$ alors l_{eff} devient l . Pour de faibles angles, si $w_{eff} > l$ alors w_{eff} devient l .

Considérons à présent la direction y . L'étirement mécanique *en série* (les portions $PDMS_1$ et la ligne effective / portion $PDMS_2$) additionné à l'étirement totale est donné par :

$$\Delta l_0 = 2\Delta l_{PDMS1} + \Delta l_{eff} ; \text{Equation (7)}$$

La contrainte mécanique dans la portion parallèle centrale (la ligne effective plus la portion $PDMS_2$) additionnée au stress total donne :

$$\sigma_y = \sigma_{PDMS2} + \sigma_{SU-8} + \sigma_{Ti} + \sigma_{Au} ; \text{Equation (8)}$$

$$\sigma_y = (E_{PDMS2} + E_{SU-8} + E_{Ti} + E_{Au}) \frac{\Delta l_{eff}}{l_{eff}} ; \text{Equation (9)}$$

La contrainte mécanique en parallèle est égale à :

$$\Delta l_{PDMS2} = \Delta l_{SU-8} = \Delta l_{Ti} = \Delta l_{Au} = \Delta l_{eff} ; \text{Equation (10)}$$

La somme des forces des couches individuelles des portions effectives en parallèle (lignes rouge à doré Figure III-14) sont égales aux forces des deux portions $PDMS_1$, ce qui nous donne :

$$\frac{\Delta l_{eff}}{l_{eff}} \sum t_n E_n = t_{PDMS1} E_{PDMS1} \frac{\Delta l_{PDMS1}}{l_{PDMS1}} ; \text{Equation (11)}$$

Ce qui nous donne pour une portion $PDMS_1$:

$$\Delta l_{PDMS1} = \frac{\Delta l_0 - \Delta l_{eff}}{2} ; \text{Equation (12)}$$

Par conséquent, l'extension dans la ligne plus la portion $PDMS_2$ Δl_{eff} est égale à :

$$\Delta l_{eff} = \frac{\alpha_y}{\alpha_y + \beta_y} \Delta l_0 ; \text{Equation (13)}$$

Où :

$$\alpha_y = \frac{t_{PDMS1} E_{PDMS1}}{2l_{PDMS1}} ; \text{Equation (14)}$$

$$\beta_y = \frac{\sum t_n E_n}{l_{eff}} ; \text{Equation (15)}$$

Par conséquent, la contrainte mécanique longitudinale dans la couche de SU-8 est donnée par :

$$\sigma_y = E_{SU-8} \frac{\Delta l_{eff}}{l_{eff}} ; \text{Equation (16)}$$

Ou en termes d'extension totale Δl_0 nous avons :

$$\sigma_y = \frac{\alpha_y}{(\alpha_y + \beta_y)} \frac{E_{SU-8}}{l_{eff}} \Delta l_0 ; \text{Equation (17)}$$

Considérons à présent la direction x . Nous pouvons utiliser les arguments de la même manière que ci-dessus pour calculer la contrainte mécanique transversale σ_x dans la ligne. Pour ce faire, les mêmes équations ont été utilisées mais avec les dimensions modifiées où les dimensions longitudinales deviennent les dimensions transversales. Nous pouvons donc écrire pour σ_x :

$$\sigma_x = \frac{\alpha_x}{(\alpha_x + \beta_x)} \frac{E_{SU-8}}{w_{eff}} \Delta w_0 ; \text{Equation (18)}$$

Où :

$$\Delta w_0 \sim \nu_{PDMS} \Delta l_0 ; \text{Equation (19)}$$

Nous pouvons à présent calculer la contrainte mécanique dans la ligne σ_l suivant la direction de la ligne en prenant en compte l'orientation de l'angle et de l'effet Poisson en utilisant la relation suivante :

$$\sigma_l = \sigma_y \sin \theta - \sigma_x \cos \theta ; \text{Equation (20)}$$

Ces composantes sont indiquées dans la Figure III-13(d). Les équations (17), (18) et (19) peuvent être injectées dans l'équation (20) afin de tracer la contrainte dans la ligne en fonction de la déformation appliquée $\Delta l_0 / l_0$ pour divers orientations d'angle θ . Ceci sera présenté sous forme d'isoplèthe dans la Figure III-14.

D'après l'équation (20), pour un angle de ligne donné, la contrainte dans la ligne sera nulle en raison de la compensation de la contrainte longitudinale appliquée et par la contrainte de compression latérale due à l'effet Poisson. A partir de l'équation (20) si $\sigma_l = 0$ nous avons :

$$\tan \theta = \frac{\sigma_x}{\sigma_y}; \text{ Equation (21)}$$

A partir des équations (16), (17) et (18), nous avons :

$$\frac{\sigma_x}{\sigma_y} \sim \nu_{PDMS}; \text{ Equation (22)}$$

Enfin :

$$\theta = \tan^{-1} \nu_{PDMS}; \text{ Equation (23)}$$

Discutons maintenant de la contrainte mécanique subie par la membrane de SU-8 métallisée. La fissuration des lignes se produit lorsque la contrainte d'étirement dans la membrane de SU-8 atteint sa valeur de résistance à la traction. Comme nous pouvons le voir dans la Figure III-13, la fissuration des lignes est perpendiculaire à l'axe longitudinal des lignes — ou au bord des lignes — c'est pourquoi nous nous concentrons sur la composante longitudinale de la contrainte de la SU-8. La Figure III-14 présente la contrainte longitudinale de la SU-8 en fonction de deux paramètres : la contrainte mécanique appliquée sur l'échantillon de PDMS sur l'axe des abscisses et de l'orientation de la ligne sur l'axe des ordonnées. Les points bleus représentés dans la Figure III-14 correspondent à nos données expérimentales (en fonction de l'angle et de l'étirement appliqué) lorsque nos lignes se sont fissurées.

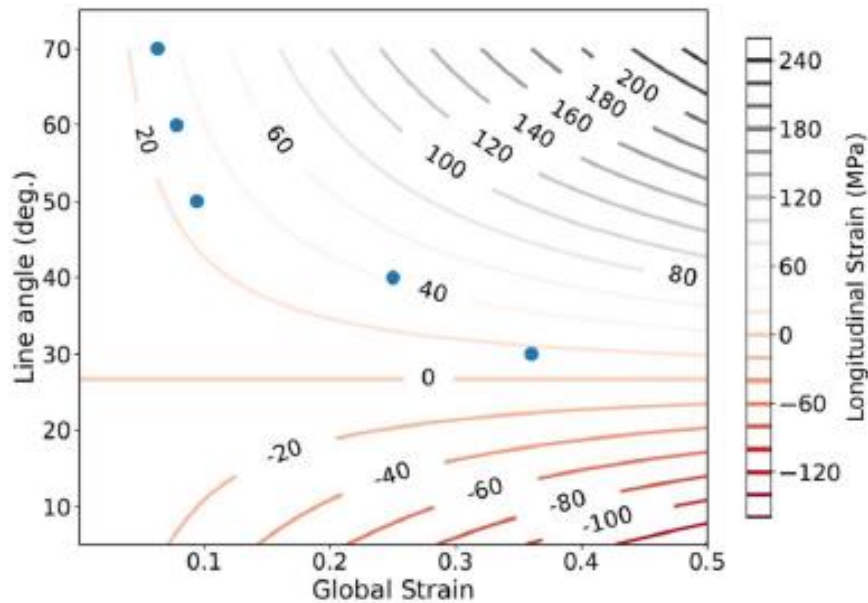


Figure III-14. Isoplèthe de la contrainte longitudinale de la SU-8 dans une ligne métallisée en fonction de l'orientation de cette ligne et de l'étirement appliqué sur l'échantillon de PDMS. Les points bleus représentent les données expérimentales (en fonction de l'angle et de l'étirement appliqué) lorsque la ligne s'est fissurée.

La Figure III-14 nous permet d'observer différents comportements. Tout d'abord, les lignes métalliques orientées avec un angle inférieur à 20° ne se fissurent pas. Ensuite, deux zones peuvent être identifiées — séparées par la ligne horizontale indiquant aucun étirement longitudinal dans la membrane de SU-8. Pour les lignes métalliques orientées avec un angle inférieur à 26° , l'étirement longitudinal est négatif — elles sont en compression — alors que les lignes métalliques orientées avec un angle supérieur à 26° sont en étirement. A noter que la ligne métallisée orientée à exactement 26° ne subit pas d'étirement. En effet, l'étirement appliqué à l'échantillon de PDMS et l'effet Poisson se compensent parfaitement pour cet angle.

Notre modèle vérifie nos résultats expérimentaux, à savoir que les lignes métalliques orientées avec un angle inférieur à 30° ne subissent pas de contrainte d'étirement mais plutôt une contrainte de compression. On remarque également que la fissuration observée sur le modèle se produit à la résistance de traction aux alentours de 20 MPa. Cette valeur correspond à l'estimation de la résistance de traction de la SU-8 qui est d'environ 30 MPa.

Nos expériences expérimentales et le modèle suggèrent que l'effet Poisson conduit à une contrainte de compression. L'effet de cette dernière est de réduire la déformation dans la ligne métallique pour un étirement longitudinal donné, et plus encore quand l'orientation de l'angle de la ligne métallisée est réduite. De plus, l'association de la contrainte de compression et de la contrainte de Poisson transversale annule l'étirement appliqué sur l'échantillon à un angle $\theta = \tan^{-1} \nu_{PDMS} \sim 26,5^\circ$.

Conclusion

Nous pouvons conclure que le développement d'un procédé innovant de microfabrication permet de fabriquer des lignes métallisées ainsi que des plots électromécaniquement stables sur des échantillons de PDMS étirables. Ceci peut être réalisable en utilisant une membrane de SU-8 2002 de 800 ± 10 nm d'épaisseur insérée entre la surface de PDMS d'une épaisseur de $1 \pm 0,1$ mm et les métaux évaporés (Ti/Au, 5/50 nm). Cette membrane permet de protéger les films en couche mince métallique des éventuelles fissures microscopiques et macroscopiques induites soit par le procédé de fabrication soit par un étirement uni-axial. La résine SU-8 a été utilisée ici avec succès en tant qu'élément de protection et de renforcement vis-à-vis de contraintes d'étirement mais également de compression. A noter que d'autres matériaux compatibles avec la photolithographie peuvent être envisagés sans aucun doute comme élément de blindage pour éviter des contraintes à hauts étirements.

En conséquence, nous obtenons des lignes conductrices jusque 46% d'étirement avec une résistance stable durant la contrainte mécanique. Nous avons démontré également que de larges plots de contact peuvent être fabriqués et montré leurs limites en termes d'étirement. Ces limites sont régies en grande partie par les dimensions des plots qui jouent un rôle important. A noter que les lignes métallisées de SU-8 sur PDMS sont plus robustes à de multiples sondages comparativement aux lignes métallisées testées dans le Chapitre II (métallisation directe sur PDMS) quel que soit le type de sondes utilisées.

Par ailleurs, nous avons également démontré l'effet de l'orientation de la ligne relative à la direction de l'étirement longitudinal. Cette dernière expérience a révélé l'angle critique à ne pas excéder pour éviter toute fissure, qu'elle soit macroscopique ou microscopique. Cela nous a permis d'obtenir une résistance électrique des lignes métallisées stable tout au long de l'étirement croissant subi par ces lignes. A noter que la résistivité de ces lignes métalliques est d'environ $50 \text{ n}\Omega \text{ m}$ pour un étirement d'environ 40%, résistivité comparable à l'or évaporé connu dans la littérature.

De plus, l'architecture et le design sont des points importants pour l'électronique flexible. A l'heure actuelle, peu ou pas de technologies planaires, compatible avec des procédés de microfabrication, biocompatible et possédant une résistivité constante durant un étirement

uni-axial, existent. C'est pourquoi ces différentes études de dimensionnement et d'orientation sur des lignes métallisées sur substrat étirable ont été réalisées pour nous permettre d'adapter au mieux le design de notre système final.

Cependant, la technique de masque physique pour un système auto-aligné est certes simple, rapide et adaptée pour les premiers tests de prototypage, mais a néanmoins ses limites avec entre autres la possibilité de créer des effets de bords ou une résolution moindre (fabrication difficile de lignes métalliques d'une largeur inférieure à 60 μm). Pour améliorer notre procédé de microfabrication nous devons nous tourner vers la technique de photolithographie possédant une meilleure résolution et de plus larges possibilités en microfabrication.

Bibliographie

- [1] S. P. Lacour, S. Wagner, Z. Huang, and Z. Suo, "Stretchable gold conductors on elastomeric substrates," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 82, no. 15, pp. 2404–2406, Apr. 2003.
- [2] R. Seghir and S. Arscott, "Controlled mud-crack patterning and self-organized cracking of polydimethylsiloxane elastomer surfaces," *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 14787, Dec. 2015.
- [3] J. Viventi *et al.*, "Flexible, foldable, actively multiplexed, high-density electrode array for mapping brain activity in vivo," *Nat. Neurosci.*, vol. 14, no. 12, pp. 1599–1605, Dec. 2011.
- [4] T. Someya, T. Sekitani, S. Iba, Y. Kato, H. Kawaguchi, and T. Sakurai, "A large-area, flexible pressure sensor matrix with organic field-effect transistors for artificial skin applications," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 101, no. 27, pp. 9966–9970, Jul. 2004.
- [5] I. M. Graz, D. P. J. Cotton, A. Robinson, and S. P. Lacour, "Silicone substrate with *in situ* strain relief for stretchable thin-film transistors," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 98, no. 12, p. 124101, Mar. 2011.
- [6] A. Romeo, Q. Liu, Z. Suo, and S. P. Lacour, "Elastomeric substrates with embedded stiff platforms for stretchable electronics," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 102, no. 13, p. 131904, Apr. 2013.
- [7] H. Lorenz, M. Despont, N. Fahrni, N. LaBianca, P. Renaud, and P. Vettiger, "SU-8: a low-cost negative resist for MEMS," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 7, no. 3, pp. 121–124, Sep. 1997.
- [8] T. Roland, S. Arscott, L. Sabatier, L. Buchaillot, and E. Charkaluk, "Digital image correlation of metal nanofilms on SU-8 for flexible electronics and MEMS," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 21, no. 12, p. 125005, Dec. 2011.
- [9] J. N. Patel, B. Kaminska, B. L. Gray, and B. D. Gates, "PDMS as a sacrificial substrate for SU-8-based biomedical and microfluidic applications," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 18, no. 9, p. 095028, Sep. 2008.
- [10] J. N. Patel, B. Kaminska, B. L. Gray, and B. D. Gates, "A sacrificial SU-8 mask for direct metallization on PDMS," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 19, no. 11, p. 115014, Nov. 2009.
- [11] J. N. Patel, B. L. Gray, B. Kaminska, N.-C. Wu, and B. D. Gates, "SU-8- and PDMS-based hybrid fabrication technology for combination of permanently bonded flexible and rigid features on a single device," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 23, no. 6, p. 065029, Jun. 2013.
- [12] B.-H. Jo, L. M. Van Lerberghe, K. M. Motsegood, and D. J. Beebe, "Three-dimensional micro-channel fabrication in polydimethylsiloxane (PDMS) elastomer," *J. Microelectromechanical Syst.*, vol. 9, no. 1, pp. 76–81, Mar. 2000.
- [13] M.-H. Wu, H. Cai, X. Xu, J. P. G. Urban, Z.-F. Cui, and Z. Cui, "A SU-8/PDMS Hybrid Microfluidic Device with Integrated Optical Fibers for Online Monitoring of Lactate," *Biomed. Microdevices*, vol. 7, no. 4, pp. 323–329, Dec. 2005.
- [14] T.-Y. Chao, M. C. Hsu, C.-D. Lin, and Y. T. Cheng, "SU-8 serial MEMS switch for flexible RF applications," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 21, no. 2, p. 025010, Feb. 2011.
- [15] Y. Ren *et al.*, "A Simple and Reliable PDMS and SU-8 Irreversible Bonding Method and Its Application on a Microfluidic-MEA Device for Neuroscience Research," *Micromachines*, vol. 6, no. 12, pp. 1923–1934, Dec. 2015.
- [16] R. Seghir and S. Arscott, "Photo-hardenable and patternable PDMS/SU-8 hybrid functional material: A smart substrate for flexible systems," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 53, no. 18, pp. 1281–1291, Sep. 2015.

- [17] J. C. Ribeiro, G. Minas, P. Turmezei, R. F. Wolffenbuttel, and J. H. Correia, "A SU-8 fluidic microsystem for biological fluids analysis," *Sens. Actuators Phys.*, vol. 123–124, pp. 77–81, Sep. 2005.
- [18] G. Voskerician *et al.*, "Biocompatibility and biofouling of MEMS drug delivery devices," *Biomaterials*, vol. 24, no. 11, pp. 1959–1967, May 2003.
- [19] P. Abgrall, V. Conedera, H. Camon, A.-M. Gue, and N.-T. Nguyen, "SU-8 as a structural material for labs-on-chips and microelectromechanical systems," *ELECTROPHORESIS*, vol. 28, no. 24, pp. 4539–4551, Dec. 2007.
- [20] S.-H. Cho, H. M. Lu, L. Cauller, M. I. Romero-Ortega, J.-B. Lee, and G. A. Hughes, "Biocompatible SU-8-Based Microprobes for Recording Neural Spike Signals From Regenerated Peripheral Nerve Fibers," *IEEE Sens. J.*, vol. 8, no. 11, pp. 1830–1836, Nov. 2008.
- [21] G. Kotzar *et al.*, "Evaluation of MEMS materials of construction for implantable medical devices," *Biomaterials*, vol. 23, no. 13, pp. 2737–2750, Jul. 2002.
- [22] K. V. Nemani, K. L. Moodie, J. B. Brennick, A. Su, and B. Gimi, "In vitro and in vivo evaluation of SU-8 biocompatibility," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 7, pp. 4453–4459, Oct. 2013.
- [23] E. Kim *et al.*, "Nano-patterned SU-8 surface using nanosphere-lithography for enhanced neuronal cell growth," *Nanotechnology*, vol. 27, no. 17, p. 175303, Apr. 2016.
- [24] L. J. Fernández *et al.*, "Study of functional viability of SU-8-based microneedles for neural applications," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 19, no. 2, p. 025007, Feb. 2009.
- [25] A. Altuna *et al.*, "SU-8-based microneedles for *in vitro* neural applications," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 20, no. 6, p. 064014, Jun. 2010.
- [26] R. Feng and R. J. Farris, "Influence of processing conditions on the thermal and mechanical properties of SU8 negative photoresist coatings," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 13, no. 1, pp. 80–88, Jan. 2003.
- [27] C. J. Robin, A. Vishnoi, and K. N. Jonnalagadda, "Mechanical Behavior and Anisotropy of Spin-Coated SU-8 Thin Films for MEMS," *J. Microelectromechanical Syst.*, vol. 23, no. 1, pp. 168–180, Feb. 2014.
- [28] B. Osmani, H. Deyhle, T. Töpper, T. Pfohl, and B. Müller, "Gold Layers on Elastomers near the Critical Stress Regime," *Adv. Mater. Technol.*, vol. 2, no. 10, p. 1700105, Oct. 2017.
- [29] D.-Y. Khang, "A Stretchable Form of Single-Crystal Silicon for High-Performance Electronics on Rubber Substrates," *Science*, vol. 311, no. 5758, pp. 208–212, Jan. 2006.
- [30] N. Bowden, S. Brittain, A. G. Evans, J. W. Hutchinson, and G. M. Whitesides, "Spontaneous formation of ordered structures in thin films of metals supported on an elastomeric polymer," *Nature*, vol. 393, no. 6681, pp. 146–149, May 1998.
- [31] N. Bowden, W. T. S. Huck, K. E. Paul, and G. M. Whitesides, "The controlled formation of ordered, sinusoidal structures by plasma oxidation of an elastomeric polymer," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 75, no. 17, pp. 2557–2559, Oct. 1999.
- [32] H. Vandeparre, S. Gabriele, F. Brau, C. Gay, K. K. Parker, and P. Damman, "Hierarchical wrinkling patterns," *Soft Matter*, vol. 6, no. 22, p. 5751, 2010.
- [33] J. R. Sambles, K. C. Elsom, and D. J. Jarvis, "The Electrical Resistivity of Gold Films," *Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.*, vol. 304, no. 1486, pp. 365–396, Mar. 1982.
- [34] R. Seghir and S. Arscott, "Mechanically robust, electrically stable metal arrays on plasma-oxidized polydimethylsiloxane for stretchable technologies," *J. Appl. Phys.*, vol. 118, no. 4, p. 045309, Jul. 2015.
- [35] M. D. Thouless, "Crack Spacing in Brittle Films on Elastic Substrates," *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 73, no. 7, pp. 2144–2146, Jul. 1990.

- [36] M. D. Thouless, Z. Li, N. J. Douville, and S. Takayama, “Periodic cracking of films supported on compliant substrates,” *J. Mech. Phys. Solids*, vol. 59, no. 9, pp. 1927–1937, Sep. 2011.

Chapitre IV.
Procédé de
microfabrication par
photolithographie pour
des interconnexions
encapsulées et des
électrodes sur substrat
étirable

1. Introduction

Après avoir étudié la formation de fissures dans des lignes métallisées obtenues par la technique de masquage physique sur substrat souple de PDMS vu dans le Chapitre II, nous avons ajouté une interface supplémentaire de SU-8 permettant de renforcer ces lignes. Dans le Chapitre III, en utilisant la même technique de masquage physique « auto-aligné », nous avons réalisé des interconnexions avec une résistance stable et basse jusque 46% d'étirement uni-axial et des plots de contact non fissurés jusque 26% sous déformation mécanique. Cela nous a permis d'étudier les dimensionnements adéquats et l'architecture des interconnexions requise pour notre système étirable. Ceci étant dit, la technique de masquage physique présente des limites qui seront préjudiciables à l'obtention de notre dispositif final : résolution inférieure à 20 μm impossible avec les masques physiques utilisés précédemment, définition de moindre qualité le long des interconnexions, possibles fissures lors du retrait du masque physique, manipulation au cours du procédé plus difficile car le masque physique ne doit pas bouger et étapes d'alignement multi-niveaux prohibitives. De plus, l'alignement photolithographique de différents masques physiques reste très problématique.

Dans ce chapitre nous allons aborder la technique de photolithographie, permettant d'obtenir une meilleure résolution et une plus large gamme de possibilités dans la microfabrication. En tenant compte du cahier des charges présentées dans le Chapitre I, nous devons développer un microsystème intégrant des interconnexions encapsulées et des électrodes biocompatibles, mais en technologie étirable et planaire avec un support de PDMS. Le PDMS étant simple d'utilisation, sa mise en œuvre n'est généralement pas sujette à discussion. En revanche l'utilisation d'un support de PDMS pour effectuer des étapes de photolithographie n'est pas usuelle. En effet, la non-uniformité de la surface de PDMS peut amener à une réduction de résolution due à un contact défaillant entre le masque de photolithographie et la surface. La préparation et la manipulation de l'échantillon de PDMS doivent donc être étudiées attentivement pour obtenir une réalisation correcte de notre procédé.

A noter que pour atteindre le dispositif souhaité, des étapes supplémentaires de fabrication doivent être développées : planarisation du PDMS, encapsulation des interconnexions afin de les isoler électriquement, gravure de parylène pour l'ouverture des électrodes, ajout d'un puits de PDMS destiné à contenir le matériel biologique et la libération des microsystèmes de la plaquette de silicium.

Nous présenterons donc, à la lumière des résultats obtenus dans les deux chapitres précédents (et basé sur le cahier des charges du Chapitre I), un nouveau procédé de microfabrication photolithographique complet original pour la réalisation d'un réseau d'électrodes souples dédié à l'étude des traumatismes crâniens. Le système complet final sera quant à lui présenté dans le Chapitre V.

2. Procédé de microfabrication complet

La Figure IV-1 présente le procédé complet de microfabrication des échantillons. Chaque étape sera expliquée en détail dans les sections suivantes.

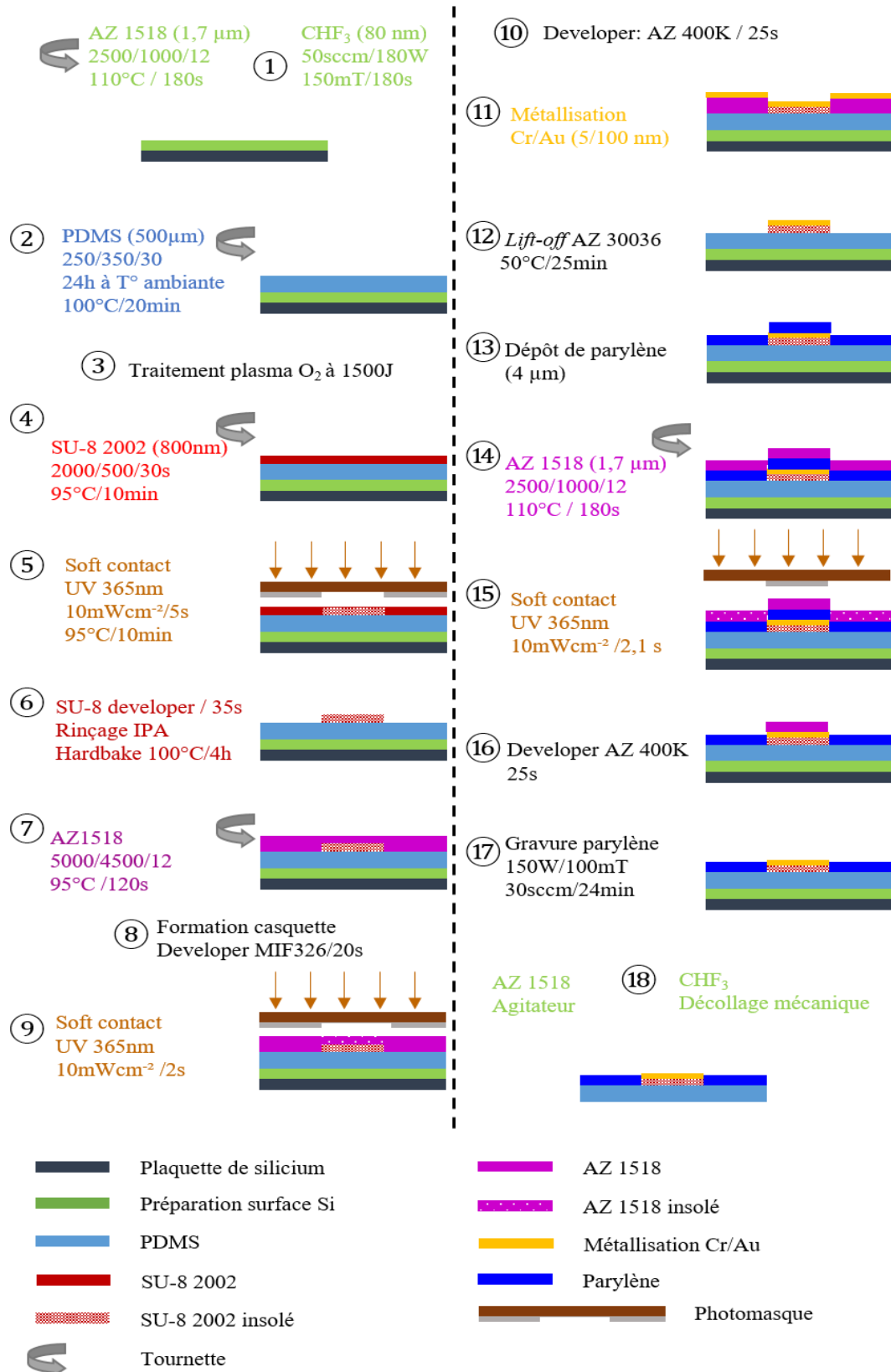


Figure IV-1. Procédé de microfabrication complet pour les microsystèmes étirables.

3. Techniques de libération du système final d'une plaquette de silicium

Bien que la libération des microsystèmes sera effectuée à la fin du procédé de microfabrication, la préparation de la plaquette de silicium doit être faite en premier lieu.

Jusqu'à présent nous avons travaillé avec des échantillons de PDMS d'une épaisseur comprise entre 1 et 2 mm. Nous avons décidé de réduire l'épaisseur de PDMS afin de nous permettre d'étirer plus facilement les échantillons et d'observer les cellules neuronales — utilisation d'un microscope inversé en milieu biologique. Pour cela, nous utilisons la technique d'enduction centrifuge pour obtenir une membrane de PDMS d'une épaisseur d'environ 500 μm sur une plaquette de silicium.

Pour effectuer les différentes étapes de microfabrication, nous avons besoin d'un support rigide, tel que le verre ou le silicium. Dans notre cas, nous avons choisi de travailler avec des plaquettes de silicium car celles-ci sont compatibles avec tous les outils de technologie planaire, le dépôt de PDMS est connu [1] et elles peuvent se cliver si besoin.

3.1. Préparation de la surface de silicium pour faciliter la libération de la membrane de PDMS

Pour effectuer les différentes étapes de photolithographie et la membrane de PDMS, nous avons besoin d'utiliser une surface rigide, ici une galette de silicium. Néanmoins, pour obtenir un microsystème étirable, nous aurons besoin de nous affranchir de ce support. C'est pourquoi il est nécessaire de préparer la surface de silicium pour faciliter la libération de la membrane en fin de procédé.

3.1.1. Traitement de surface à l'aide d'un plasma CHF_3

Au début de cette thèse, pour fabriquer nos échantillons de PDMS, le PDMS était coulé dans des plats de téflon hydrophobe (épaisseur obtenue de 1 à 2 mm). En effet, le PDMS réticulé après cuisson se décollait facilement des moules. En se basant sur ce constat, nous avons déposé une surface dite « téflonnée » à l'aide d'un plasma de trifluorométhane ou CHF_3 sur nos

plaquettes de silicium pour ainsi obtenir une surface hydrophobe qui présente donc une faible adhésion [2].

Après avoir nettoyé et séché à l'aide d'un pistolet azote la plaquette de silicium (IPA, acétone et eau DI), celle-ci a été introduite dans un bâti Plasmalab 80+ (Oxford Instruments, UK). Avec un débit de 50 sccm de CHF_3 , une puissance de 180 W, une pression de 150 mT et un temps de procédé de 3 minutes, nous obtenons une surface téflonnée d'une épaisseur de 80 nm (mesuré à l'aide d'un profilomètre Bruker).

Avec cette technique, le traitement de surface permet d'obtenir une surface hydrophobe de manière rapide et simple et de faciliter la libération de la membrane de PDMS. Néanmoins, le décollement se fait manuellement à l'aide de pinces et donc suppose que l'on puisse appliquer une déformation mécanique sur la membrane.

3.1.2. Résine photosensible comme couche sacrificielle : l'AZ 1518

Une méthode permettant de décoller une membrane de PDMS de manière moins contraignante est donc nécessaire. L'idée est de provoquer la libération de la membrane dans un liquide par dissolution d'une couche sacrificielle sous-jacente [3]. Plusieurs résines photosensibles peuvent jouer le rôle de couche sacrificielle. Nous avons choisi d'utiliser l'AZ 1518 comme résine sacrificielle car celle-ci peut être étalée en fine couche (épaisseur inférieure à 2 μm). De plus, pour pouvoir développer la résine et ainsi libérer la membrane de PDMS, nous utilisons une base (AZ 400K) afin de minimiser l'usage de solvants pouvant affecter les cultures cellulaires. Enfin cette base n'a également aucun effet sur la résine photosensible SU-8. Par ailleurs, cette résine était déjà intégrée dans notre procédé de microfabrication.

Après avoir nettoyé (IPA, acétone et eau DI) et séché (à l'aide d'un pistolet azote) la plaquette de silicium, nous positionnons notre support sur une tournette commercial Delta 10 BM (Suss MicroTec Lithography GmbH, Allemagne) pour déposer la résine photosensible AZ 1518 par enduction centrifuge. Pour obtenir une épaisseur de 1,7 μm de résine (mesurée à l'aide d'un profilomètre Bruker), le dépôt se fait à 2500 tours par minute (tpm), une accélération de 1000 tpm s^{-1} pendant 12 secondes. Après dépôt, la plaquette de silicium est déposée sur une plaque chauffante (Prazitherm, Allemagne) à 110°C pour réticuler la résine pendant 3 minutes. Par la suite, nous effectuons une exposition pleine plaque à 365 nm pendant 2,1 secondes à

l'aide d'un aligneur de masque (MA6/BA6 240-400 nm, Suss MicroTec Lithography GmbH, Allemagne).

Pour la libération de la membrane, l'échantillon est plongé dans le développeur AZ 400K dans un agitateur pour que la résine se détache du support et permette ainsi la libération de la membrane de PDMS.

Cette technique est mécaniquement moins contraignante car non manuelle, mais elle peut présenter des conséquences rédhibitoires pour notre application. En effet, le système complet est plongé dans le développeur qui est une base et qui ne comporte donc pas de solvants. Néanmoins, le microsystème doit être nettoyé durant plusieurs minutes et introduit dans un dessiccateur pour s'assurer qu'aucun résidu potentiellement toxique (pour l'application biologique) ne soit présent sur le système (présence en surface ou par absorption dans le PDMS).

4. Etude d'un dépôt de PDMS sur plaquette de silicium

Après dépôt de la surface sacrificielle, nous déposons le PDMS par enduction centrifuge pour obtenir une membrane. Néanmoins, pour obtenir une épaisseur de 500 μm , la vitesse de la tournette doit être relativement faible (quelques centaines de tours par minute). Le PDMS étant un polymère visqueux, les premiers échantillons réalisés présentaient un bourrelet sur le rebord de la plaquette de silicium. Pour obtenir une bonne résolution lors de nos étapes de photolithographie, nous devons supprimer ce bourrelet. Nous avons donc réalisé une étude pour nous permettre d'obtenir une surface de PDMS plane sur l'ensemble de la plaquette de silicium.

La préparation du PDMS est identique à celle expliquée dans le Chapitre II section 2.1.1.

4.1. Dépôt de PDMS par enduction centrifuge

La Figure IV-2 présente les deux procédés de fabrication de support de PDMS (sans ou avec étapes de planarisation). Les deux premières étapes ① et ② sont communes puis les deux procédés diffèrent. La partie comprenant les étapes ③ et ④ constitue le procédé sans planarisation tandis que les étapes ③ à ⑦ représentent les étapes de planarisation. Nous avons mesuré par la suite les profils des surfaces obtenues au profilomètre présentés Figure IV-2(a-c). Les courbes rouges et bleues représentent les profils des procédés non

planarisés et planarisés respectivement sur plaquette de silicium en fonction de différentes vitesses d'enduction centrifuge. Tous les échantillons planarisés l'ont été durant 24h. A noter que la condition 0h correspond aux surfaces non planarisées.

Après avoir préparé le PDMS, nettoyé (IPA, acétone et eau DI) et séché (à l'aide d'un pistolet azote) la plaquette de silicium, nous la plaçons sur la tournette. Un volume fixe de 8 mL de PDMS est déposé au centre de la plaquette de silicium, ce qui crée un étalement immédiat du PDMS sur environ 4 cm de diamètre, voir Figure IV-2①. Le mélange de PDMS est ensuite étalé sur des plaquettes de silicium à différentes vitesses pour cette étude, 250, 350 et 500 tpm, avec une accélération de 350 tpm s⁻¹ durant 30 secondes. Un bourrelet et une surface de PDMS non uniforme sont visibles juste après l'enduction centrifuge, voir Figure IV-2②.

Regardons dans un premier temps les étapes de non planarisation. Des blocs de métal d'un diamètre de 4 cm permettent de surélever les galettes de silicium et ainsi éliminer tout problème causé par l'écoulement du PDMS sur la face arrière de la plaquette. Ces blocs ont été déposés sur une plaque chauffante (100°C pendant 20 minutes). Les blocs de métal sur lesquels les plaquettes sont placées ont été soigneusement mis à niveau à $\pm 0.1^\circ$ près — nous soulignons qu'il s'agit d'un point critique de l'étape de planarisation. L'exactitude ($< 0.1^\circ$) du niveau à bulle a été vérifiée avec une surface nivelée calibrée.

Cette première cuisson permet une polymérisation rapide, voir Figure IV-2③. Pour terminer la cuisson (polymérisation et extraction de solvants) du PDMS, un four est indispensable permettant ainsi une répartition égale de la chaleur sur l'ensemble de la surface de PDMS. Nous plaçons donc les échantillons dans un four (Mettler GmbH, Allemagne) à 100°C pendant 30 minutes et ainsi compléter la cuisson et la polymérisation de la surface de PDMS, voir Figure IV-2④. La viscosité du PDMS sera initialement réduite en raison du changement rapide de température. Cependant, la hausse de la température augmente aussi considérablement le taux de polymérisation en fixant rapidement le profil de bourrelet aux bords de la plaquette de silicium.

Nous pouvons à présent mesurer leurs profils à l'aide d'un profilomètre (DektakXT, Bruker, USA). Les courbes rouges sur la Figure IV-2(a)-(c) représentent les résultats des profils des surfaces de PDMS sur plaquette de silicium sans planarisation mesurés en fonction de différentes vitesses d'enduction.

Les échantillons non planarisés présentent un bourrelet relativement épais par rapport à l'épaisseur totale du PDMS. Ce bourrelet est associé à un creux qui est positionné davantage vers le centre de la plaquette. La hauteur de ce bourrelet est plus grande que la profondeur du creux pour les trois vitesses d'enduction centrifuge. Cependant, la longueur totale du bourrelet et du creux est indépendante de la vitesse, et mesure environ 30 mm, observable Figure IV-2(a-c). Par ailleurs, nous observons qu'en diminuant la vitesse d'enduction centrifuge, le bourrelet et le creux se déplacent vers le centre de la plaquette.

Si des procédés de photolithographie doivent être réalisés par la suite sur ces surfaces, la non-uniformité de la surface de PDMS amènera à une réduction de résolution due au fait que le contact entre le masque de photolithographie et la surface sera très faible. C'est pourquoi des étapes supplémentaires sont nécessaires pour obtenir une surface uniforme et plane de PDMS. Une étude sur l'influence d'un bourrelet dans la surface de PDMS pour des étapes de photolithographie est présentée en Annexe H.

Intéressons-nous à présent aux étapes de planarisation. Les deux premières étapes sont identiques à celles des échantillons non planarisés, voir Figure IV-2① et ②. Lorsque le dépôt de PDMS est terminé, les plaquettes ont été délicatement placées sur les mêmes blocs de métal sur une table à température ambiante. Les blocs de métal, sur lesquels les plaquettes sont placées, ont été soigneusement mis à niveau à $\pm 0.1^\circ$ près. Les échantillons ont été recouverts (sans les toucher) pour éviter tout dépôt de particules et ont été laissés à 20°C durant 24 heures. Durant la période de planarisation — voir Figure IV-2③ à ⑦ — cette dernière entraîne un reflux et la réduction du bourrelet. Le reflux se produit lorsque la viscosité du PDMS reste relativement faible. Ensuite la polymérisation augmente la viscosité du PDMS. Lorsque le reflux et la polymérisation sont suffisamment avancés pour permettre de manipuler les échantillons sans endommager la surface de PDMS à long terme (les pinces ne laissent pas de défauts dans le PDMS), l'échantillon est transféré dans un four (Mettler GmbH, Allemagne), voir Figure IV-2⑦. Les échantillons sont enfin polymérisés définitivement dans un four à 100°C pendant 20 minutes — comme la viscosité du PDMS est maintenant élevée, il n'est pas nécessaire d'avoir une surface parfaitement plane dans le four.

Les courbes bleues sur la Figure IV-2(a-c) représentent les résultats des profils des surfaces de PDMS sur plaquette de silicium avec planarisation mesurés en fonction de différentes vitesses d'enduction. Après une planarisation de 24h, le bourrelet et le creux

disparaissent quasiment. On remarque qu'une meilleure planarisation est réalisée pour des vitesses de rotation plus faible.

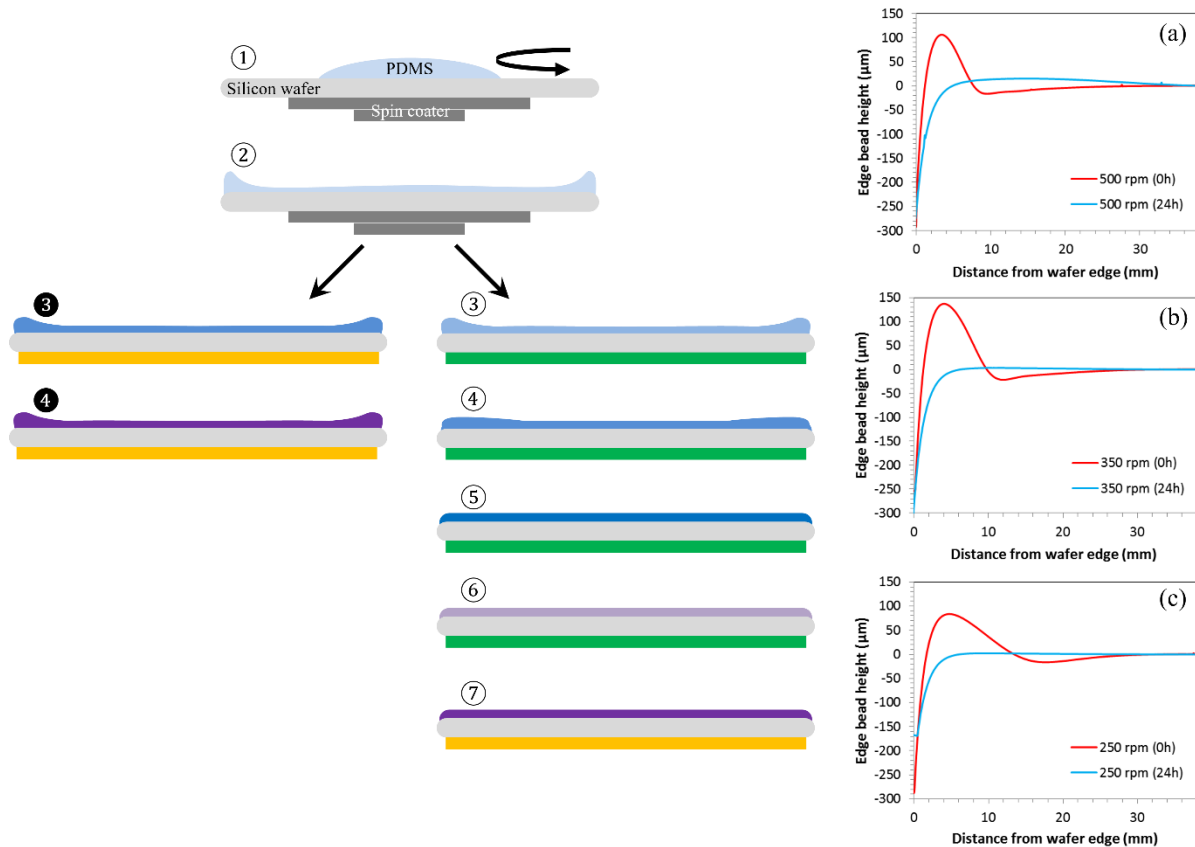


Figure IV-2. Schéma illustrant les différentes étapes de procédé qui résultent en une surface de PDMS non planarisée présentant un bourrelet sur l'extrémité de la plaquette de silicium à gauche et une surface de PDMS planarisée sans bourrelet extérieur au centre. ① Un volume fixe (8 mL) de PDMS est déposé sur le centre de la plaquette de silicium pour ensuite être étalé par enduction centrifuge à l'aide d'une tournette. ② Profil de l'échantillon juste après le dépôt par tournette. ③ L'échantillon est ensuite déposé sur une plaque chauffante mise à niveau (100°C) juste après le dépôt par tournette pour que le PDMS réticule. ④ La polymérisation du PDMS est complète, mais on observe la présence d'un bourrelet sur l'extrémité de la plaquette de silicium. ③-⑦ Échantillon faisant l'objet d'une planarisation sur une surface mise à niveau. (g) L'échantillon est ensuite réticulé sur une plaque chauffante mise à niveau (100°C) pour que la polymérisation soit complète. La surface (en vert) est correctement mise à niveau à 0,1° près. La plaque du four (en jaune) n'est pas nécessairement mise à niveau car le PDMS a atteint une viscosité élevée [3]. Les autres couleurs (bleu clair et violet) du film de PDMS indiquent les différents stades de polymérisation et le changement de viscosité associé. A droite, les profils des surfaces de PDMS avec et sans planarisation à différentes vitesses de la tournette. Le PDMS a été étalé par enduction centrifuge sur des plaquettes de silicium à (a) 500 tpm, (b) 350 tpm et (c) 250 tpm. Le temps de planarisation est de 24h. Les courbes des échantillons non-planarisés sont indiquées en rouge et étiquetées par ①. Les courbes des échantillons planarisés sont indiquées en bleu et étiquetées par ②. L'abscisse correspond à la distance du bord de la plaquette de silicium.

4.2. *Profils de PDMS pour une même vitesse mais avec un temps de planarisation différent*

Regardons à présent les profils des surfaces de PDMS après planarisation mais avec un temps de planarisation variant de 0h à 72h, voir Figure IV-3. Notons que la condition 0h correspond à une surface non planarisée.

Tous les échantillons de PDMS ont été étalés de la même manière, à 250 tpm, une accélération de 350 tpm s^{-1} pendant 30 secondes. On constate que le bourrelet diminue en augmentant le temps de planarisation. Au bout d'une heure de planarisation, la hauteur du bourrelet a considérablement diminué et se déplace vers le centre de la plaquette (environ 18 mm). Après 5h la planarisation n'est pas complète, la hauteur la plus élevée du bourrelet continue de se déplacer vers le centre de la plaquette (à environ 24 mm) tandis que le bord du bourrelet (environ 10 mm) est plus fin que la surface de PDMS située au centre de la plaquette, voir Figure IV-3(b). Après 24h de planarisation, la surface de PDMS est quasi-plane. La hauteur maximale mesurée est de $2 \mu\text{m}$ par rapport au centre de la plaquette. Au bout de 72h, la planarisation continue de progresser mais diminue de seulement $0,5 \mu\text{m}$ de hauteur.

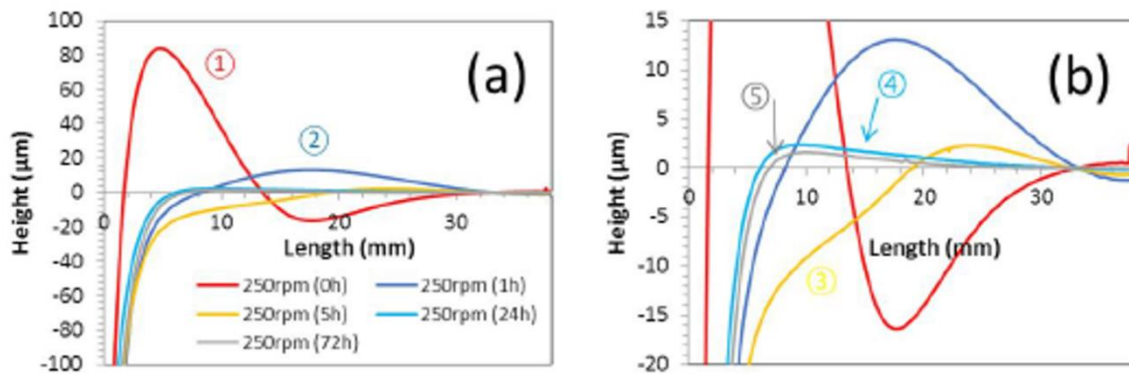


Figure IV-3. Profils des surfaces de PDMS planarisées après différents temps de planarisation. (a) Hauteur du profil de surface par rapport à la distance du bord de la plaquette de silicium et (b) zoom sur l'ordonnée. Les profils présentés ont des temps de planarisation de 0h (courbe rouge ①), 1h (courbe bleu foncé ②), 5h (courbe jaune ③), 24h (courbe bleu clair ④) et 72h (courbe grise ⑤). La vitesse de dépôt est de 250 tpm pour tous les échantillons. L'abscisse correspond à la distance du bord de la plaquette de silicium.

4.3. Paramètres choisis pour la membrane de PDMS

Au cours de nos étapes de microfabrication, nous allons utiliser la technique de photolithographie. La planarisation est donc un élément essentiel pour obtenir une surface plane de PDMS.

Après avoir étudié ces différentes surfaces, nous avons décidé d'étaler nos surfaces de PDMS à 250 tpm, à une accélération de 350 tpm s⁻¹ durant 30 secondes. Une étape de planarisation de 24h sera ensuite effectuée car une réduction de 0.5 µm de hauteur du bourrelet est négligeable. Pour une polymérisation complète, les échantillons seront ensuite placés dans un four et durcis pendant 20 minutes à 100°C. Ces paramètres nous permettent d'obtenir des échantillons de PDMS d'une épaisseur de 500±10 µm. Toutes les cuissons suivantes dans le procédé de microfabrication s'effectueront dans un four pour une meilleure répartition de la chaleur sur l'ensemble de la surface.

A noter que lors de la planarisation, du PDMS coule et se fixe en dessous de la plaquette de silicium. Avant toute autre étape de microfabrication, la plaquette doit être nettoyée afin de retirer l'excédent de PDMS. Pour cela, une simple pince et un chiffon salle blanche suffisent pour retirer l'excès de PDMS suivi d'un nettoyage à l'IPA sur le dos de la plaquette de silicium. Lors du nettoyage, nous prenons soin de ne pas toucher la surface de PDMS afin ne pas l'altérer.

5. Réalisation de motifs de SU-8 2002 par photolithographie

Après avoir réalisé notre membrane de PDMS, les échantillons sont soumis à un plasma oxygène pour modifier la surface de PDMS. Celle-ci est ainsi hydrophile pendant une trentaine de minutes [4]. Pour cela, nous plaçons notre échantillon dans le bâti Diener Pico (Diner Electronic GmbH, Allemagne). Nous réglons la puissance à 42% (100% équivaut à 200 W) pendant 18s pour obtenir un plasma de 1500 Joules [4].

Par la suite, le dépôt de la résine SU-8 2002 est réalisé par enduction centrifuge environ 10 minutes après le plasma oxygène. Les paramètres de dépôt de la SU-8 sont identiques à ceux utilisés dans le Chapitre III section 3.3 soit une vitesse de 2000 tpm, une accélération de 500 tpm s⁻¹ pendant 30 secondes. La réticulation de la résine s'effectue dans un four à 95°C pendant 10 minutes et nous obtenons une fine couche de SU-8 de 800±10 nm d'épaisseur.

Il faut à présent créer des motifs de SU-8 à l'aide d'un masque de photolithographie. Pour cela on utilise un aligneur commercial MA6/BA6 240-400 nm (Suss MicroTec Lithography GmbH, Allemagne). Nous fixons notre masque (préalablement nettoyé à l'IPA et séché au pistolet azote) dans l'aligneur et nous plaçons notre échantillon sur le porte échantillon en prenant soin du bon alignement avec le grand méplat de la plaquette de silicium (pour pouvoir la cliver par la suite). Nous alignons ensuite les motifs du masque au centre de l'échantillon. En raison de la surface souple de notre échantillon, le contact entre le masque et notre échantillon est en mode « soft contact » pour ne pas altérer la surface de SU-8. La résine est exposée à une puissance de 10 mW/cm^2 pendant 5 secondes à une longueur d'onde de 365 nm. L'échantillon est placé ensuite dans un four à 95°C pendant 10 minutes pour polymériser la résine SU-8 exposée aux lumières UV. Pour révéler les motifs de SU-8, nous plongeons l'échantillon dans une solution de développement SU-8 (1-Methoxy-2-propyl acétate) durant 35 secondes. Ensuite, l'échantillon est rincé avec de l'isopropanol (IPA) et séché à l'aide d'un pistolet azote.

Pour finir, une cuisson après développement de la résine SU-8 est nécessaire pour une bonne adhérence sur le substrat et pour que ses propriétés ne soient pas altérées par la suite durant les étapes de microfabrication. Selon la fiche technique du fabricant, la SU-8 2002 est complètement polymérisée entre 150°C et 250°C pendant 5 à 30 minutes et dépourvue de solvants. Travaillant sur un support de PDMS, aucune cuisson haute température n'a été effectuée sur les échantillons, évitant ainsi que le PDMS ne se rétracte au cours de la cuisson. Nous avons donc adapté la cuisson après développement pour une température plus basse mais plus longue, soit à 100°C durant 4h. La Figure IV-4 nous présente les motifs de résine SU-8 sur notre échantillon de PDMS.

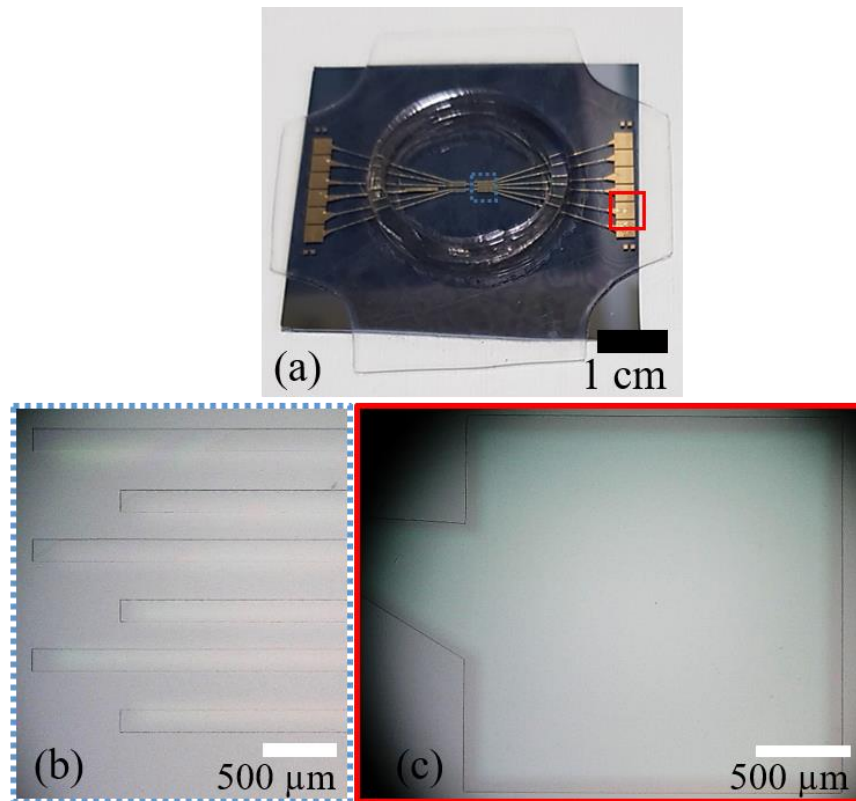


Figure IV-4. Réalisation de motifs de SU-8 2002 par photolithographie sur une surface de PDMS. (a) Microsystème complet. (b) Lignes révélées de 150 μm de largeur. (c) Plots de contact de 2000 μm de côté.

L'étape de modification de surface par plasma oxygène est une étape importante dans notre procédé de microfabrication. Elle a été optimisée [4]. Si celui-ci est trop fort, des fissures peuvent apparaître sur la surface de PDMS et ainsi potentiellement modifier les motifs de SU-8, présentées Figure IV-4. La Figure IV-5(b) nous montre une fissure dans la surface de PDMS qui s'est propagée sur la surface de SU-8. Si l'on métallise cette ligne, cette fissure sera présente. En revanche, la Figure IV-5(c) présente une fissure dans la surface de PDMS mais qui ne se propage pas sur la surface de SU-8. La fissure est en-dessous de la résine SU-8, cela revient à un micro-pont (présentés dans le Chapitre III section 4.1.1). Si l'on métallise cette ligne, celle-ci ne sera pas fissurée.

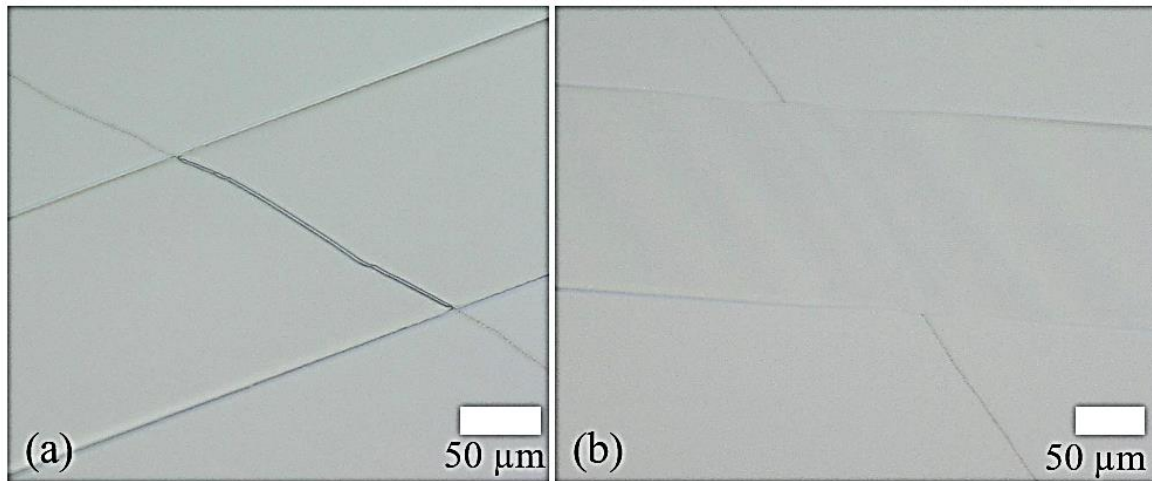


Figure IV-5. Problèmes rencontrés lors du développement de la SU-8. Si une fissure apparaît dans la surface de PDMS, soit la fissure se propage sur la surface de SU-8 développée (a), soit la fissure se situe sous la SU-8 et est alors assimilée à un micro-pont (b).

6. *Métallisation localisée de la SU-8*

En utilisant une nouvelle fois la technique de photolithographie, nous métallisons la résine SU-8 par la technique de lift-off. Pour cela, l'ensemble de la surface de l'échantillon sera recouverte d'un film métallique (ici Cr/Au, 5/100 nm) puis les parties indésirables seront éliminées au moyen d'une gravure à travers un masque de résine. La résine sera exposée aux lumières UV pour permettre d'obtenir les motifs souhaités. En développant la résine, les parties non insolées disparaîtront dans la solution de développement ainsi que le métal déposé à sa surface, laissant ainsi les motifs métalliques recherchés. Cependant, pour obtenir une bonne résolution de motifs métalliques, nous avons réalisé un profil dit « casquette ».

6.1. *Réalisation d'un profil casquette*

Pour réaliser notre profil casquette, nous avons utilisé la résine AZ 1518. Nous étalons cette résine sur notre échantillon par enduction centrifuge à l'aide d'une tournette à une vitesse de 5000 tpm, une accélération de 4500 tpm s^{-1} pendant 12 secondes. L'échantillon est ensuite placé dans un four à 95°C pendant 2 minutes pour polymériser la résine. Nous obtenons ainsi une épaisseur de résine d'environ $1 \mu\text{m}$. Ensuite, nous plongeons l'échantillon dans une solution de développement AZ MIF 326 durant 20 secondes pour obtenir notre profil casquette. L'ensemble est ensuite rincé à l'eau durant 1 minute.

Le masque de photolithographie (identique à celui utilisé pour les motifs de SU-8) est fixé et l'échantillon placé dans l'aligneur. Un alignement entre le masque et les motifs de

SU-8 présents sur l'échantillon est alors effectué. La résine est exposée à une puissance de 10 mW cm^{-2} pendant 2 secondes en mode « soft contact ».

Pour finir, nous développons la résine AZ 1518. Pour cela, nous mélangeons $\frac{1}{4}$ de solution de développement AZ 400K pour $\frac{3}{4}$ d'eau déionisée (DI). Nous plongeons ensuite notre échantillon dans cette solution durant 25 secondes puis nous rinçons pendant 1 minute à l'eau DI. Rappelons que le développeur AZ 400K est une base et non un solvant, donc sans danger potentiel de relargage de solvants pour la résine SU-8. A noter que toutes ces étapes doivent être compatibles avec le PDMS et les couches déposées précédemment.

6.2. *Métallisation de la bicouche Cr/Au*

Comme démontré dans le Chapitre II section 2.4, la bicouche de métal chrome/or est la plus appropriée. Cela nous permet d'obtenir une bonne adhérence des métaux sur le substrat, une bonne conductivité, une biocompatibilité vérifiée et une inaltérabilité sous condition ambiante.

Après avoir effectué le profil casquette, la surface est placée sur un porte échantillon pour une évaporation sous vide dans les mêmes conditions que celles relatées dans le Chapitre II section 2.2.3. Nous déposons 5 nm de chrome en tant que couche d'accroche et 100 nm d'or pour la couche de conduction. A noter que l'épaisseur de chrome est plus épaisse que dans le Chapitre II section 3 car elle repose sur une fine couche de SU-8 ce qui amoindrit la contrainte résiduelle dans le film — on bénéficiera également d'une meilleure adhésion. De plus, nous avons décidé d'augmenter l'épaisseur de l'or pour obtenir une meilleure résistivité.

6.3. *Lift-off de Cr/Au*

Suite à la métallisation, nous pouvons à présent effectuer le lift-off pour obtenir les motifs métalliques souhaités. La solution de développement adaptée pour la résine AZ 1518 est l'AZ 30036. La fiche fabricant préconise de chauffer la solution à 70°C et de réaliser un lift-off de minimum 45 minutes. Cependant, l'AZ 30036 étant à base de solvants, nous avons adapté le temps et la température pour éviter l'absorption de solvant dans notre système. Nous plongeons donc notre échantillon dans la solution d'AZ 30036 chauffée à 50°C pour un temps total de 25 minutes. Après 10 minutes dans la solution, nous utilisons une pipette pour aider le

métal à se décoller de la plaquette de silicium et ainsi accélérer le processus. Lorsque le lift-off est réalisé, l'échantillon est rincé à l'IPA et séché au pistolet azote. Pour éviter que des solvants ne soient toujours présents, l'échantillon est placé par la suite dans un dessiccateur relié à une pompe à vide durant 30 minutes.

Bien que l'échantillon soit resté un temps minimum dans la solution de développement, la surface de PDMS se décolle au niveau des bords de la plaquette de silicium. En effet, en utilisant la résine sacrificielle AZ 1518, la solution d'AZ 30036 a dissout une petite surface de résine sur les bords de l'échantillon. Le PDMS s'étant rétracté (car plus maintenu à certains endroits du bord de la plaquette de silicium), les lignes métalliques le sont également ce qui provoque une topographie en vagues, vu dans la Chapitre III section 4.1.2. Néanmoins, aucune fissure n'est observée sur les interconnexions métallisées.

En revanche en utilisant une surface de CHF_3 , le problème de libération de la membrane de PDMS sur les bords de la plaquette de silicium n'a pas lieu d'être. La Figure IV-6 présente un échantillon après lift-off (surface traitée par plasma CHF_3) avec une métallisation sur SU-8 très nette.

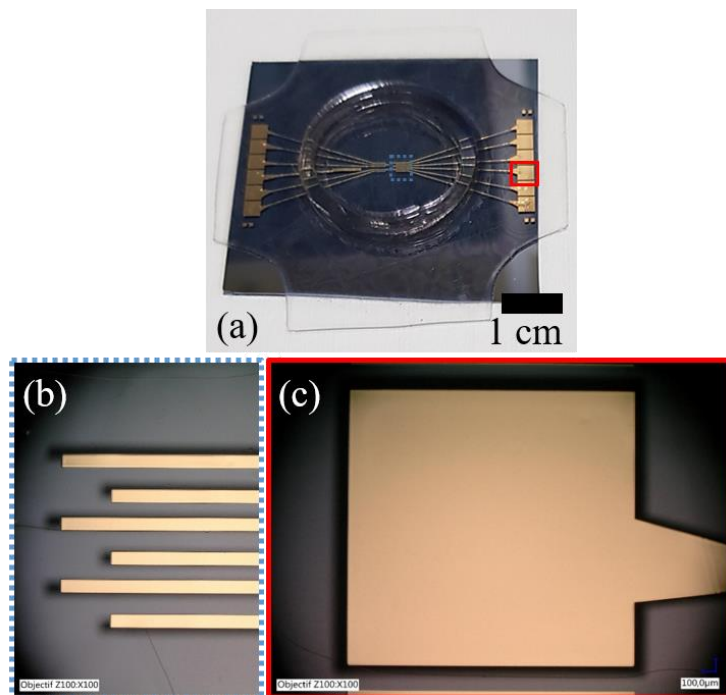


Figure IV-6. Electrodes et plots de contact métallisés Cr/Au (5/100) nm sur substrat de PDMS déposés sur une surface de CHF_3 . (a) Electrodes métallisées sur substrat de CHF_3 /PDMS de 150 μm de large. Les fissures observées à gauche et en bas de la photo sont présente dans la surface de PDMS mais pas sur les électrodes. (b) Plots de contact de 2 mm de côté métallisés sur surface téflonnée/PDMS. Les photographies ayant le même zoom, la barre d'échelle est identique.

7. *Dépôt de parylène*

L'application finale de notre microsystème étant biologique, il est souvent recommandé d'encapsuler le dispositif pour éviter tout relargage de produits toxiques. Au-delà de l'isolation électrique, une encapsulation des électrodes est requise pour une meilleure protection mécanique et chimique au cours de l'étirement. Pour cela, nous avons décidé de travailler avec un film polymérique : le parylène¹.

Pour nous permettre de visualiser et d'enregistrer les signaux du réseau neuronal, l'extrémité des électrodes sera en contact direct avec les cellules neuronales. Celles-ci sont contenues dans un milieu de culture, le tout dans un puits pour les maintenir en vie durant plusieurs semaines. Le milieu de culture permet de faire la liaison électrique entre les différentes électrodes recevant les signaux du réseau neuronal et l'électrode référence.

Pour maximiser le rapport signal sur bruit lors des mesures électriques, nous devons encapsuler les électrodes et ne garder qu'une ouverture de 50 μm de diamètre sur chaque électrode à leur extrémité. L'électrode de référence ainsi que les plots de contact doivent également être ouverts pour permettre la liaison avec le MEA 2100©.

Nous travaillons avec du parylène de type C en raison de sa meilleure résistance mécanique et sa commodité à être gravé par un plasma oxygène [5], [6]. Il est obtenu par condensation et polymérisation du monomère gazeux et crée un film fin, transparent, uniforme et continu sur tout type de substrat. L'épaisseur déposée dépend directement de la masse de dimère initiale car l'intégralité du dimère introduit est consommée lors du dépôt. La vitesse de dépôt dépend du type, de la masse de dimère et de la température de l'évaporateur ($\sim 0.3 \mu\text{m}/\text{min}$ pour 1 gramme de parylène C).

Le fonctionnement du dépôt de parylène s'explique en trois phases. Tout d'abord, le dimère solide sous forme de poudre introduit dans la nacelle est chauffé sous vide primaire jusqu'à se sublimer. Ensuite, ce dimère gazeux transite par une zone de pyrolyse pour y être « craqué » en 3 monomères réactifs. Enfin, pénétrant dans la chambre de déposition à température ambiante, les monomères s'adsorbent sur toutes les surfaces exposées et polymérisent spontanément, formant le film de parylène. La Figure IV-7 illustre le principe de fonctionnement du dépôt de parylène.

¹ Le parylène est un film polymère biocompatible déposé par évaporation sous vide.

8. *Masquage et gravure du parylène à l'aide d'une résine photosensible*

Nous avons tout d'abord réalisé des films de parylène sur support de PDMS afin d'observer leurs comportements sous déformation mécanique, voir Figure IV-8. Les échantillons ont subi un masquage avec une résine photosensible (AZ 1518) à l'aide d'un masque de photolithographie. Les ouvertures dans le film de parylène ont ensuite été réalisées par gravure au plasma oxygène.

La Figure IV-8(a) présente un échantillon non étiré avec des ouvertures circulaires dans le film de parylène sur un support de PDMS. La Figure IV-8(b) illustre ce même échantillon mais sous déformation mécanique représentée par les flèches noires, les ouvertures sont à présent ovales. A noter que la surface de PDMS apparente est très faible comparée à celle du parylène sur l'ensemble de l'échantillon. Ceci provoque une forte contrainte des effets de compression très nets dans les ouvertures circulaires.

Par ailleurs, le PDMS et le parylène ont pour coefficient de résistance à la traction de 1,9 MPa et 69 MPa respectivement, leur comportement à un étirement mécanique est donc différent. Le PDMS subit donc une déformation locale de 19,4% tandis que la déformation locale du parylène est de 5,4%. La déformation locale est calculée suivant l'explication donnée dans le Chapitre II section 3.3. Nous observons également que le film de parylène n'est plus lisse après étirement mais forme des crevasses, car non élastique contrairement au PDMS, ce qui pourrait poser problème pour les cultures cellulaires. C'est pourquoi le film de parylène sera présent uniquement sur les interconnexions et non sur l'ensemble du microsystème. De plus, la résistance à la traction du parylène étant plus élevée que celui du PDMS, l'encapsulation par un film de parylène permettra de renforcer les interconnexions.

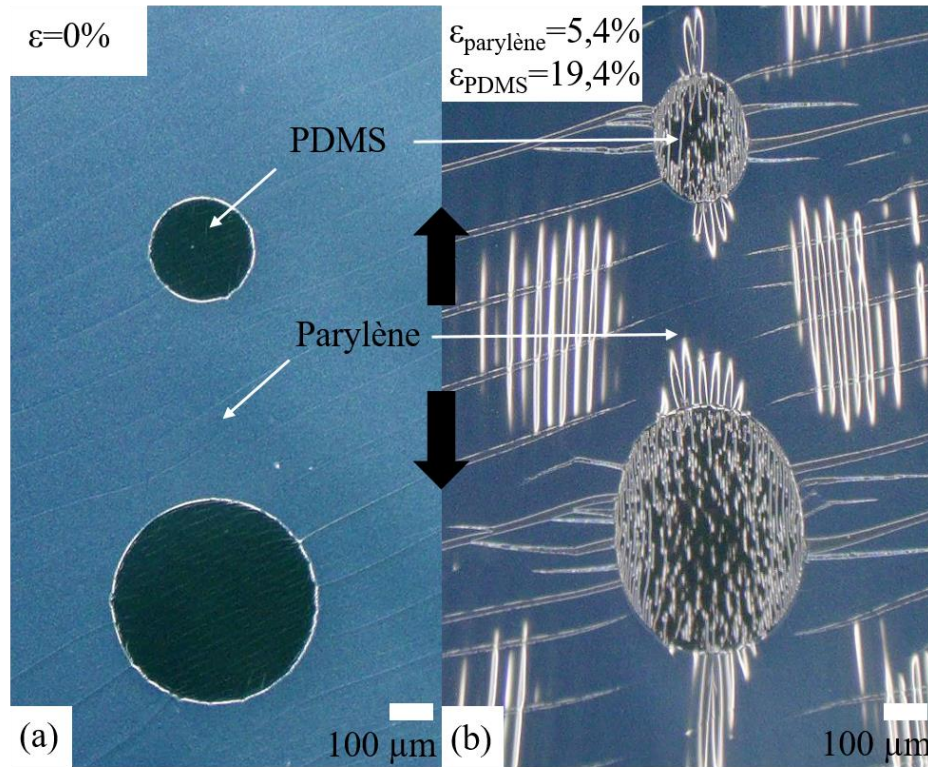


Figure IV-8. Photographies d'un échantillon de PDMS recouvert d'un film de parylène. Les ouvertures dans le parylène ont été réalisées par plasma oxygène. (a) Echantillon non étiré. (b) Echantillon sous déformation mécanique.

Nous pouvons à présent nous intéresser à la gravure de notre échantillon. Après avoir déposé le film de parylène, nous devons à présent le graver pour nous permettre d'obtenir sur les interconnexions :

- des ouvertures de 50 μm de diamètre sur l'extrémité des électrodes,
- une ouverture sur l'électrode de référence
- et des ouvertures sur les plots de contact.

Plusieurs techniques permettent de graver la matière à l'aide d'un masque de photolithographie. Pour les différentes techniques, l'échantillon sera introduit dans un aligneur afin que la résine photosensible soit insolée et développée aux emplacements souhaités, la gravure pourra ensuite être réalisée.

Le procédé classique de gravure est de recouvrir le parylène par une fine couche de résine. Cette technique n'est pas adaptée dans notre cas car l'épaisseur du parylène est trop épaisse. Ainsi une possibilité de mauvaise sélectivité de gravure entre le masque et la matière à graver peut apparaître. La deuxième technique possible diffère de la première en recouvrant le

parylène cette fois-ci par une épaisse couche de résine. Néanmoins, bien que cette technique puisse permettre de retirer la résine par un plasma oxygène, l'interface entre la résine et la matière peut amener à une possible pollution de la surface par la matière non gravée.

Nous avons donc développé une troisième solution, présentée Figure IV-9. Cette technique repose sur un procédé tout-en-un. L'étape ① consiste à déposer dans un premier temps une épaisseur plus importante de parylène sur l'ensemble de l'échantillon. Par la suite, nous déposons la résine d'une épaisseur de l'ordre du micromètre par enduction centrifuge et créons un masque de résine par photolithographie. Notez que ces étapes ne sont pas présentées dans la Figure IV-9. Lors de l'étape ②, la résine et le parylène commencent à être gravés par le plasma oxygène en même temps. Durant l'étape ③, la résine a été complètement gravée, mais celle-ci nous a permis d'obtenir une marche de parylène ce qui représente le transfert de masque du parylène. Enfin, l'étape ④ présente la fin de la gravure sans interface polluée.

Cette technique permet de n'utiliser aucun solvant en fin de procédé et ainsi une absence de pollution de surface. En effet la surface n'a jamais été en contact avec la résine et nous avons également obtenu un auto-nettoyage de la résine au cours du procédé. Nous avons donc développé cette méthode de gravure du parylène pour l'encapsulation des interconnexions sur le microsystème.

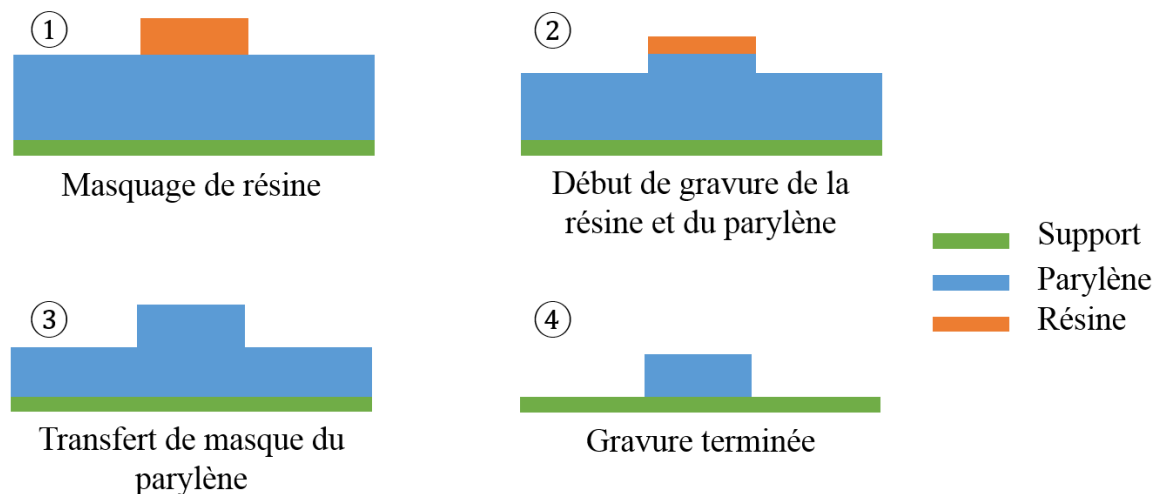


Figure IV-9. Technique développée pour graver le parylène à l'aide d'un plasma oxygène par un procédé de transfert de masque. ① Après avoir étalé et développé la résine photosensible sur l'échantillon, nous obtenons un masquage de résine sur la matière à graver, le parylène. ② Début de gravure de la résine et du parylène par le plasma oxygène. ③ Après que la résine soit totalement gravée, nous obtenons un masque de parylène. Cette étape constitue le transfert de masque du parylène. ④ La gravure est terminée lorsqu'il n'y a plus de parylène sur le support, ici le PDMS, aux endroits souhaités. Nous effectuons une vérification de la surface de PDMS au cours de la gravure afin de ne pas la graver et d'éviter des fissures de silice.

Pour graver le parylène nous utilisons donc une résine photosensible, l’AZ 1518 car nous avons constaté que sa vitesse de gravure est quasi-identique à celle du parylène par plasma oxygène (environ 220 nm/min). La résine sera étalée sur notre échantillon pour être ensuite exposée et développée. La résine restante sera localisée uniquement sur les interconnexions pour une isolation électrique lors de tests en milieu liquide. Ce procédé nous permettra d’obtenir une épaisseur de parylène d’environ 2 μm uniquement sur les interconnexions alors que le reste de l’échantillon (comprenant les électrodes, l’électrode de référence et les plots de contact) sera dépourvu de parylène.

Pour cela, nous déposons 1,7 μm de résine AZ 1518 sur l’ensemble de l’échantillon par enduction centrifuge à une vitesse de 2500 tpm, 1000 tpm s^{-1} durant 12 secondes. L’échantillon est ensuite placé dans un four pour polymériser la résine à une température de 110°C pendant 3 minutes.

L’échantillon est ensuite placé dans l’aligneur avec le masque de photolithographie (préalablement nettoyé à l’IPA) fixé. Après alignement, la résine est exposée à 10mW/cm⁻² pendant 2,1 secondes en mode « soft contact ». Nous poursuivons par le développement de la résine avec le développeur AZ 400K. Dans les mêmes conditions que précédemment, nous mélangeons $\frac{1}{4}$ de solution de développement AZ400K pour $\frac{3}{4}$ d’eau DI. Nous plongeons ensuite notre échantillon dans cette solution durant 25 secondes puis nous rinçons pendant 1 minute à l’eau DI.

La Figure IV-10 présente la topographie obtenue. Dans un premier temps nous avons réalisé un masque permettant de déposer du parylène suivant les dimensions des interconnexions, voir Figure IV-10(b). Nous avons décidé par la suite d’élargir le masquage des électrodes par le parylène (15 μm de chaque côté des lignes métalliques) pour plus de facilité lors de l’alignement mais surtout pour une meilleure encapsulation des interconnexions, voir Figure IV-10(c).

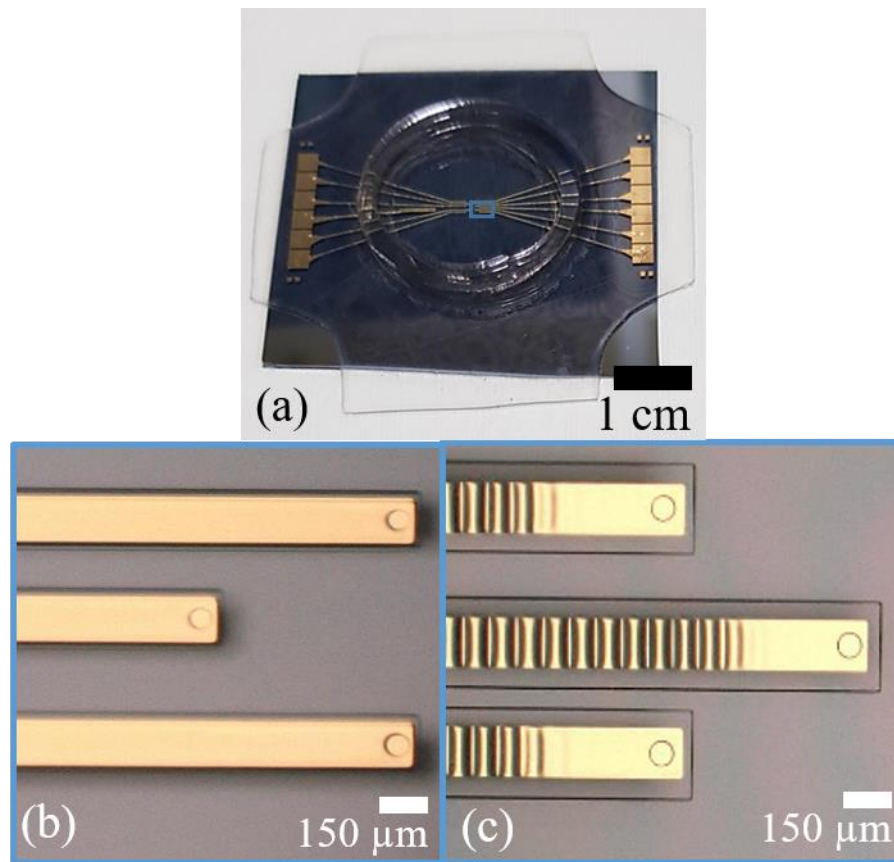


Figure IV-10. Vue du dessus du masquage de parylène à l'aide d'une résine photosensible AZ 1518. Les lignes métallisées sont d'une largeur de $150\ \mu\text{m}$. (a) Microsystème complet. (b) Premier masque suivant les dimensions des lignes métallisées avec pour surface sacrificielle une couche de CHF_3 . (c) Masque avec des dimensions supérieures aux lignes métalliques, une marge de $15\ \mu\text{m}$ de chaque côté a été ajoutée. La couche sacrificielle est faite de résine AZ 1518, c'est pourquoi nous obtenons la topographie avec des vagues.

Après avoir effectué le masquage du parylène, nous pouvons à présent le graver à l'aide d'un plasma oxygène. Pour cela, nous introduisons notre échantillon dans le bâti Plasmalab 80+ (Oxford instruments, UK). Nous réglons la puissance à 150 W, une pression à 100 mT, un débit d'oxygène de 30 sccm pendant 24 minutes.

La Figure IV-11 présente deux échantillons après gravure de parylène. La Figure IV-11(a) montre un échantillon où la gravure a été correcte avec des ouvertures plus claires du fait que ça soit de l'or dépourvu de parylène. En revanche, la Figure IV-11(b) présente un échantillon qui a été gravé trop longtemps. Nous remarquons (i) que le film de parylène est très fin et d'une couleur noire, (ii) la gravure du parylène n'est pas uniforme sur l'ensemble de l'échantillon et (iii) si le plasma dure trop longtemps cela provoque des fissures de « silice »

sur la surface de PDMS qui est dépourvue de parylène [4]. Ces fissures de silice peuvent entraîner des contraintes dans la surface de PDMS et créer par la suite des fissures dans les lignes métallisées. Le suivi de la gravure se fait par interférométrie afin d'obtenir en fin de procédé une épaisseur de $2 \pm 0,5 \mu\text{m}$ de parylène permettant ainsi d'éviter de sur-doser la surface de PDMS dépourvue de parylène.

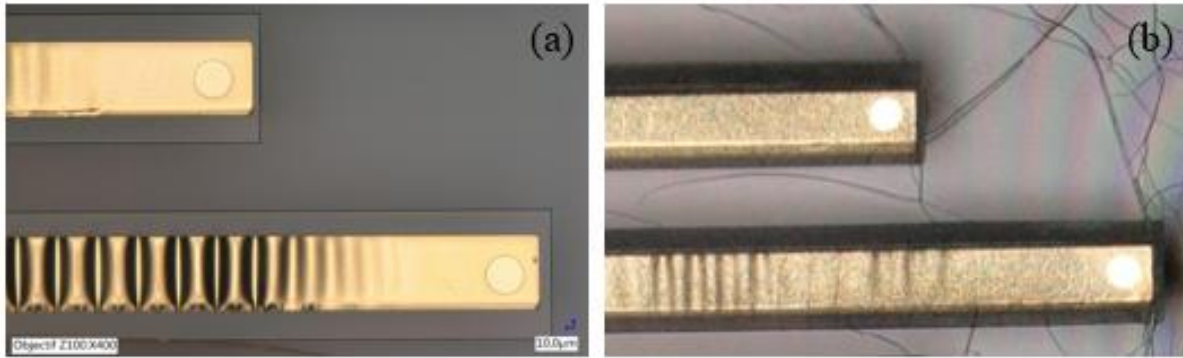


Figure IV-11. Vue du dessus des lignes métallisées encapsulées de parylène sur support de PDMS et gravées par plasma oxygène pour un diamètre de $50 \mu\text{m}$. (a) Gravure correcte (b) Gravure trop longue provoquant des fissures de silice sur la surface de PDMS.

9. *Libération de la membrane de PDMS de la plaquette de silicium*

La fabrication de lignes renforcées, métallisées et encapsulées sur support de PDMS est maintenant terminée. Nous devons à présent décoller le substrat de PDMS de la plaquette de silicium pour obtenir un microsystème totalement étirable. Comme cela a été dit auparavant, nous avons opté pour deux techniques de couches sacrificielles, une surface de CHF_3 et la résine AZ 1518. Auparavant, nous devons découper notre système dans les dimensions adéquates.

9.1. *Utilisation du CHF_3*

En utilisant un dépôt de CHF_3 pour obtenir une surface hydrophobe, cela permet de décoller plus facilement la membrane de PDMS de la plaquette de silicium. Aucun produit n'est nécessaire pour cette méthode, il suffit de décoller le PDMS avec deux pinces simultanément en tirant de chaque côté de l'échantillon. Pour diminuer le risque de fissures au niveau des interconnexions, celles-ci doivent être parallèles à la partie décollée. Cette technique est néanmoins manuelle et peut s'avérer dangereuse pour les interconnexions.

9.2. *Utilisation d'une résine photosensible sacrificielle*

En utilisant une résine photosensible sacrificielle, le décollement de la membrane de PDMS de la plaquette de silicium est beaucoup plus doux mécaniquement parlant. Après avoir découpé le microsystème dans les bonnes dimensions à l'aide d'un patron en plastique, une partie de la résine sacrificielle est maintenant à découvert sur la plaquette de silicium. En déposant l'échantillon dans la solution de développement d'AZ 400K dans un bain mouvant pendant 30 minutes, celle-ci va sous graver au fur et à mesure la résine AZ 1518 et ainsi libérer la membrane de PDMS de la plaquette de silicium. Pour plus de rapidité, l'utilisation d'une pipette est possible. Néanmoins, il ne faut pas appliquer trop de pression sur les lignes métalliques avec la pipette, car nous avons constaté que celles-ci peuvent se décoller de la membrane de PDMS. Cette technique est plus douce que la précédente, mais l'échantillon complet est introduit dans le développeur, des produits toxiques peuvent donc être déposés sur ou dans le microsystème. Il est recommandé de déposer l'échantillon dans un dessiccateur par la suite pour éviter toute pollution.

10. *Design de l'anneau de PDMS étirable contenant le milieu biologique*

Pour pouvoir maintenir les cellules neuronales en vie, elles doivent être dans une solution de milieu de culture. C'est pourquoi nous avons besoin d'un puits qui contiendra le liquide. Pour permettre à notre échantillon de rester totalement étirable, le puits est fabriqué en PDMS.

Pour cela, nous coulons du PDMS — préparé de la même manière que dans le Chapitre II section 2.1.1. — dans une boîte de pétri pour obtenir une hauteur de 1 mm. Ensuite, avec les emportes pièces conçus au laboratoire — voir Figure IV-12 — nous pouvons fabriquer nos puits, comme présentés Figure IV-12(b). Pour une meilleure flexibilité et s'assurer que l'électrode référence soit dans le milieu de culture, nous avons découpé une partie du puits intérieur avec le plus petit emporte-pièce pour obtenir les dimensions adéquates pour notre microsystème, voir Figure IV-12(c). Enfin, nous positionnons et collons ce puits avec du PDMS non réticulé directement sur notre système à l'aide d'un pinceau. Le microsystème est ensuite inséré dans un four à 100°C durant 15 minutes. Pour s'assurer que le puits ne glisse pas, la plaque du four doit être préalablement nivelée — comme pour l'étape de planarisation. Les

dimensions de ce puits sont directement liées au MEA 2100© comme justifié dans le Chapitre I section 4.5.

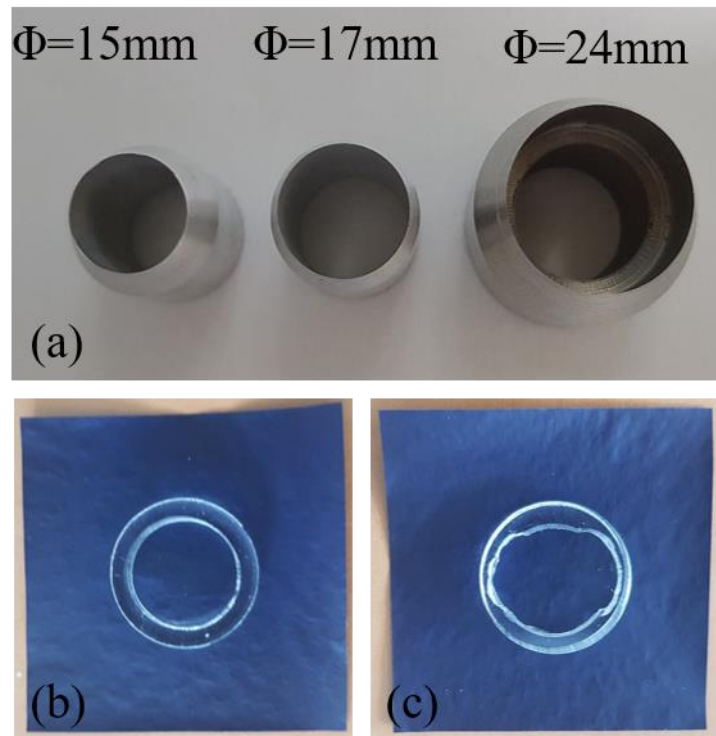


Figure IV-12. Vue de haut des emporte-pièces pour créer des puits de PDMS et le résultat des puits de PDMS fabriqués. (a) Emporte-pièce de différentes dimensions. Celui de 24 mm de diamètre permet de créer le diamètre extérieur du puits, celui de 17 mm permet de découper l'intérieur du puits alors que le 15 mm permet de « croquer » l'intérieur du puits de PDMS pour l'électrode de référence. (b) Puits de PDMS découpé. (c) Puits de PDMS croqué sur les côtés pour une surface plus large.

Conclusion

L'utilisation d'un support de PDMS pour effectuer des étapes de photolithographie n'est pas habituelle. Cependant cela s'est avéré nécessaire compte tenu de notre objectif. Nous avons donc développé un nouveau procédé original de microfabrication pour réaliser des microsystèmes sur substrat étirable compatible avec le MEA 2100© de la société MultiChannel System© [7]. Chaque étape de ce procédé a dû être repensée, étudiée et optimisée tout en s'assurant qu'elles soient compatibles entre elles.

Après avoir conçu une surface de PDMS parfaitement plane sur plaquette de silicium téflonnée ou couverte d'une résine sacrificielle, nous avons créé des zones en SU-8 qui sont ensuite métallisées pour ainsi créer des interconnexions sur substrat étirable. L'application finale étant biologique, nous avons protégé ces interconnexions avec du parylène afin de les encapsuler. Pour ce faire, un plasma oxygène et un transfert de masque par technique de photolithographie nous a permis de graver le parylène et ainsi créer des ouvertures sur les électrodes, l'électrode de référence et les plots de contact tout en encapsulant localement les interconnexions. Ensuite, un puits de PDMS a été réalisé permettant d'accueillir le matériel biologique dans un milieu de culture. Enfin, nous avons testé deux approches afin de décoller le système de la surface de la plaquette de silicium : une surface téflonnée et une couche de résine sacrificielle. Nous constatons que ces deux approches ont des avantages et des inconvénients et pourraient donc être optimisées.

Bibliographie

- [1] A. Mata, A. J. Fleischman, and S. Roy, “Characterization of Polydimethylsiloxane (PDMS) Properties for Biomedical Micro/Nanosystems,” *Biomed. Microdevices*, vol. 7, no. 4, pp. 281–293, Dec. 2005.
- [2] M. K. Filippidou, E. Tegou, V. Tsouti, and S. Chatzandroulis, “A flexible strain sensor made of graphene nanoplatelets/polydimethylsiloxane nanocomposite,” *Microelectron. Eng.*, vol. 142, pp. 7–11, Jul. 2015.
- [3] C. Sötebier, A. Michel, and J. Fresnais, “Polydimethylsiloxane (PDMS) Coating onto Magnetic Nanoparticles Induced by Attractive Electrostatic Interaction,” *Appl. Sci.*, vol. 2, no. 2, pp. 485–495, May 2012.
- [4] R. Seghir and S. Arscott, “Controlled mud-crack patterning and self-organized cracking of polydimethylsiloxane elastomer surfaces,” *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 14787, Dec. 2015.
- [5] E. Mengi and Yu-Chong Tai, “Parylene etching techniques for microfluidics and biomems,” in *18th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, 2005. MEMS 2005.*, Miami Beach, FL, USA, 2005, pp. 568–571.
- [6] E. Meng, P.-Y. Li, and Y.-C. Tai, “Plasma removal of Parylene C,” *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 18, no. 4, p. 045004, Apr. 2008.
- [7] T. Baëtens and S. Arscott, “Planarization and edge bead reduction of spin-coated polydimethylsiloxane,” *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 29, no. 11, p. 115005, Nov. 2019.

Chapitre V.
Réalisation d'un
microsystème étirable pour
l'étude des traumatismes
crâniens

1. Introduction

Les chapitres précédents nous ont permis de développer et d'optimiser les opérations technologiques nécessaires à la réalisation des différentes briques qui composent notre microsystème. Nous avons à présent une technologie optimisée de microsystème étirable contenant des interconnexions encapsulées par du parylène et des électrodes robustes à l'étirement grâce à une couche mince de SU-8 intercalée entre le support de PDMS et les métaux. Ainsi, la déformation est prise en charge par le PDMS et non les interconnexions. Une étude, sous contrainte mécanique, du comportement des interconnexions (pistes et plots de contacts) a dû être réalisée en amont pour nous permettre d'adapter le design de notre microsystème. Enfin, la compatibilité nécessaire avec le MEA 2100© de la société MultiChannel System[1] nous a contraints à respecter certaines dimensions et emplacements des interconnexions.

Dans ce dernier chapitre nous allons aborder 3 sujets. Tout d'abord, une étude de la biocompatibilité des matériaux utilisés sera présentée. Ensuite, le design final du microsystème ainsi que le protocole d'opération avec le dispositif MEA 2100© sera abordé. Enfin, le protocole des expériences biologiques dans le contexte d'un microsystème étirable et les résultats expérimentaux obtenus avec les premiers prototypes seront détaillés.

2. Etude de la biocompatibilité des matériaux utilisés

2.1. Etat de l'art de la biocompatibilité des matériaux utilisés

La biocompatibilité du PDMS [2], des métaux utilisés (soit l'or et le chrome [3]) ainsi que celle du parylène [4], [5] a été étudiée et validée pour les cultures de neurones. En revanche concernant la biocompatibilité de la résine SU-8, les résultats de la littérature sont un peu moins unanimes concernant la culture de cellules neuronales primaires.

La biocompatibilité de la SU-8 a été validée *in vitro* avec des cultures de fibroblastes de souris [6], de fibroblastes humains [7], [8], de cellules gliales périphériques [7] et de lignées cellulaires gliales de rat [9], [10]. La problématique principale de ces expériences est qu'elles ne durent pas plus de 7 jours alors que les neurones primaires ont besoin de plusieurs jours voire plusieurs semaines afin de développer un réseau neuronal mûre. De plus, les résultats issus des tests de biocompatibilité effectués à partir de lignées cellulaires neuronales pourraient ne

pas être pertinents car les cellules neuronales primaires sont plus sensibles à leur environnement (température ou encore milieu de culture affecté par le relargage de produits toxiques issus des matériaux utilisés).

D'autres études sur les neurones de l'hippocampe [11] ainsi que sur des neurones corticaux primaires de souris dans un dispositif microfluidique MEA [12] ont été réalisées en 2015. Bien que la biocompatibilité soit avérée, ces deux cultures de neurones ne sont pas directement en contact avec la résine SU-8. Par ailleurs, des explants de ganglion racinaire dorsal ont également été cultivés en présence de microsondes à base de SU-8 [7]. Dans la même étude, les auteurs ont également implanté avec succès ces microsondes dans les nerfs sciatiques de rats pendant près d'un an [7]. Néanmoins, un degré substantiel de maturation était déjà atteint lorsque les cellules sont entrées en contact avec la SU-8. La biocompatibilité de la SU-8 pour les cellules neuronales primaires peut donc être discutable dans ces conditions.

Vernekar *et al.* [13] ont étudié quant à eux des cellules neuronales primaires ensemencées directement sur SU-8 non traitée. Ils ont remarqué que les cellules présentaient une mauvaise adhésion. En effet, une activation par plasma oxygène améliore considérablement l'adhésion et la croissance des cellules [8], [13]. D'autres techniques peuvent également améliorer l'adhésion cellulaire sur la SU-8 comme un revêtement de parylène, la microstructuration ou un traitement thermique [13]–[15]. Le traitement thermique peut en effet limiter le relargage de produits toxiques, néanmoins un recuit de 3 jours sous vide à 150°C comme préconise le papier de Vernekar *et al.* [13] est un temps relativement long pour un procédé de microfabrication de 2 semaines.

Dans notre cas nous avons décidé d'étudier la biocompatibilité de la SU-8 au travers d'un protocole simplifié de traitement de la SU-8 : surface non structurée, sans plasma oxygène et avec un temps de cuisson court. Cette technique sera adaptée au développement de cellules neuronales directement ensemencées sur des surfaces de SU-8. Nous décidons de varier la température avec un temps de cuisson de 2h de la SU-8 après l'étape d'insolation aux UV.

2.2. Description de la préparation des substrats

Le protocole biologique a été développé et réalisé par Séverine Bégard et Sophie Halliez au Centre de recherche Jean-Pierre Aubert (UMR-S 1172 Inserm Lille). Plus de 200 échantillons ont été fabriqués pour obtenir des données statistiques fiables :

- Surface de SU-8 traitée à 100°C : 58
- Surface de SU-8 traitée à 180°C : 92
- Surface de SU-8 traitée à 200°C : 58
- Surface de PDMS : 25

2.2.1. Préparation des substrats avec la résine SU-8 2002

Le dépôt de la résine SU-8 2002 est réalisé par enduction centrifuge sur des lamelles de verre circulaires de 18 mm de diamètre. Après avoir retiré les potentielles poussières sur les lamelles de verre à l'aide d'un pistolet azote, le dépôt de la résine SU-8 peut démarrer. Les paramètres de dépôt de la SU-8 sont les suivants : vitesse de 2000 tpm, accélération de 500 tpm s⁻¹ pendant 12 secondes. La réticulation de la résine s'effectue sur une plaque chauffante à 95°C pendant 2 minutes. Les échantillons sont ensuite totalement insolés (sans utilisation de masque physique ou photolithographie) dans un aligneur commercial à une puissance de 10 mW cm⁻² pendant 5 secondes à une longueur d'onde de 365 nm [16]. Afin de polymériser la résine SU-8, les échantillons sont ensuite placés sur une plaque chauffante à 95°C durant 2 minutes.

Pour étudier les différents comportements des cellules neuronales sur nos surfaces de SU-8, les échantillons sont ensuite répartis en 3 groupes distincts en variant la température de « hardbake » ou recuit post-insolation à 100°C, 180°C et 200°C durant 2h. De plus, nous avons testé deux autres substrats couramment utilisés pour la culture de cellules neuronales : le polystyrène traité par culture tissulaire (TC) et le PDMS. Les substrats témoins seront les lamelles de verre sans traitement. Le PDMS a été réalisé par le procédé expliqué Chapitre II section 2.1.1. Il a ensuite été directement moulé dans des plaques 12 puits et cuit au four durant 2h à 70°C.

Toutes les échantillons ont ensuite été introduits dans des plaques 12 puits, voir Figure V-1. Les plaques 12 puits ont ensuite été fermées en salle blanche et stérilisées une première fois sous lampe UV durant 1h avant transport des échantillons puis stérilisées une deuxième fois dans le laboratoire de biologie.

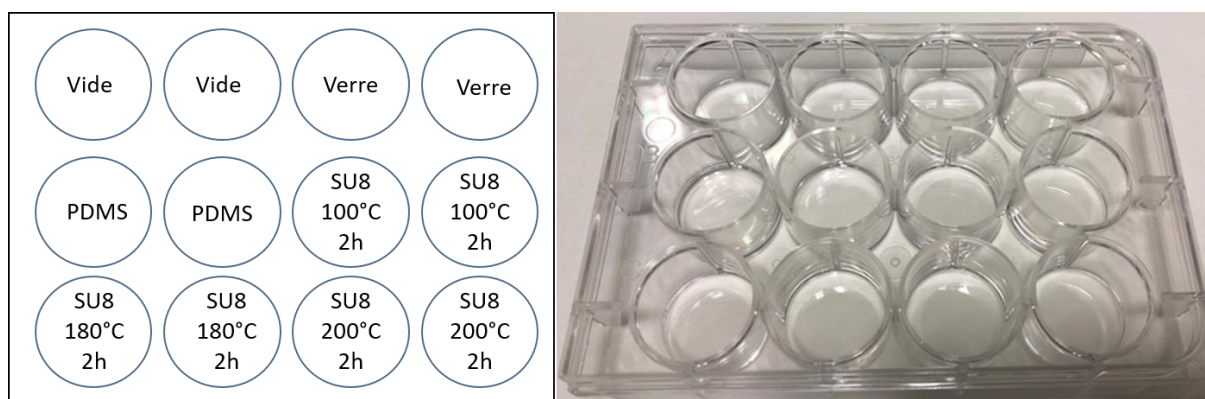


Figure V-1. Organisation des échantillons dans les plaques 12 puits pour l'ensemencement des cellules par la suite. « Vide » signifie qu'aucune lamelle de verre n'a été introduite dans le puits. « Verre » correspond à l'insertion d'une lamelle de verre sans traitement dans le puits. « PDMS » signifie que du PDMS préalablement préparé a été directement moulé et cuit au fond du puits dans la plaque 12 puits. Les conditions restantes correspondent à l'insertion de lamelles de verre recouvertes par de la résine SU-8 ayant subi une cuisson à 100°C, 180°C et 200°C durant 2h. Les lamelles de verre possèdent un diamètre de 18 mm.

2.2.2. Culture cellulaire

Précédant les tests biologiques, chaque échantillon testé a été recouvert d'un mélange de Poly-D-lysine (0,5mg /mL, Sigma) et de laminine (10µg/mL, Sigma). La solution de revêtement a été appliquée pendant 2h à température ambiante, puis lavée avec de l'eau stérile (Corning) et séchée à l'air.

Les cellules corticales primaires de rat ont été préparées à partir d'embryon de rat Wistar âgé de 18 jours comme expliqué dans le papier de Galas *et al.* [17]. La recherche expérimentale a été réalisée avec l'approbation d'un comité d'éthique (accord APAFIS#2264-2015101320441671 de CEEA75, Lille, France) et suit les directives européennes sur l'utilisation des animaux. Les femelles en gestation (Janvier Labs) ont été hébergées dans une pièce à température contrôlée (20-22°C) maintenue selon un cycle jour/nuite de 12h avec de la nourriture et de l'eau fournies *ad libitum*.

Le milieu de culture est constitué de Neurobasal (Gibco) additionné de B-27 (Gibco) d'antibiotiques et d'antimycosiques (Gibco) et de L-glutamine (Gibco). Pour chaque échantillon, 250 000 cellules ont étéensemencées dans 1.5mL de milieu de culture. Les cultures ont été conservées dans un incubateur à cellules (ThermoScientific) à 37°C dans une atmosphère à 5% de CO₂.

2.2.3. Tests d'activité métabolique et de mort cellulaire

Afin de doser l'activité métabolique par rapport au nombre de cellules viables, la réduction cellulaire du MTS tétrazolum en formazan a été quantifiée à l'aide du test de prolifération cellulaire CellTiter 96 en solution aqueuse (Promega), conformément aux instructions du fabricant. Les cellules cultivées sur du verre ont été utilisées comme référence. Pour doser la mort cellulaire, la libération de lactate déshydrogénase (LDH) dans le milieu cellulaire a été quantifiée à l'aide du dosage de cytotoxicité non radioactive CytoTox 96 (Promega) en suivant les instructions du fabricant. La libération maximale de LDH a été déterminée en ajoutant une solution de lyse (Triton X-100 à 9%) à des cellules cultivées sur du verre. Les différences significatives entre les résultats obtenus pour les cellules cultivées sur du verre et celles obtenues pour d'autres substrats ont été examinées à l'aide des tests non paramétriques de Mann-Whitney et de Wilcoxon, et les valeurs $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

2.2.4. Imagerie de la culture cellulaire

Les cellules ont été fixées avec 4% de formaldéhyde. Les cellules ont ensuite été perméabilisées avec du tampon de blocage (PBS avec 1% de sérum albumine bovine et 0,1% de Triton X-100) pendant 10 minutes à température ambiante et incubées avec des anticorps NeuN (Millipore) et Homer1 (Système synaptique) dilués dans du tampon de blocage pendant une nuit à 4°C, suivis par Alexa Flour, anticorps secondaires conjugués (Invitrogen) 568 et 488 durant 3 heures à la température ambiante et dapi (Thermofischer). L'immunomarquage a été observé avec un microscope confocal inversé (LSM 710, AxioObserver Zeiss) avec une lentille 40x. Les images ont été traitées avec le logiciel ZEN (Zeiss), voir Figure V-2.

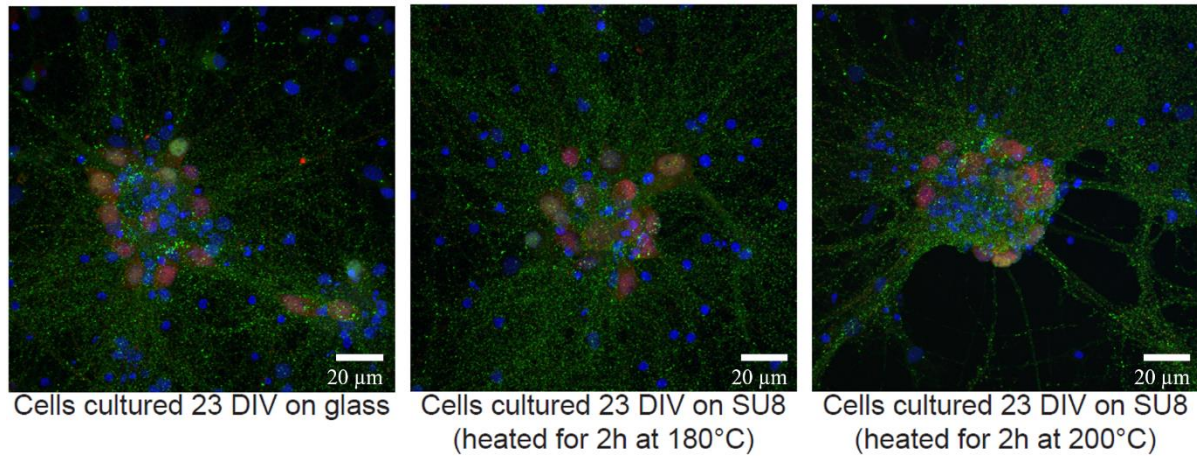


Figure V-2. Immunomarkage de cellules corticales cultivées sur verre (à gauche), sur SU-8 recuit pendant 2 heures à 180°C (au milieu) et sur SU-8 recuit pendant 2 heures à 200°C (à droite). NeuN est coloré en rouge, Homer1, une protéine post-synaptique, en vert et les noyaux en bleu.

2.2.5. Résultats expérimentaux

Les tests d'activité métabolique et de mort cellulaire ont été effectués à 7 DIV, 14 DIV, 21 DIV et 28 DIV. Les cellules cultivées sur du verre ont été utilisées comme références internes.

La Figure V-3 présente les tests de biocompatibilité de la résine SU-8 suivant l'activité métabolique et la mort cellulaire. Les cellules corticalesensemencées sur le polystyrène traité par culture tissulaire et le PDMS ne présentent aucune différence significative par rapport aux cellules corticales cultivées sur du verre, excepté les cellules sur le PDMS à 21 DIV. De plus, les cellules corticales semblent optiquement similaires sur tous ces substrats.

Les tests métaboliques et de mort cellulaire ont révélé, respectivement, moins de cellules vivantes et un pourcentage accru de cellules mortes à presque chaque stade pour les surfaces de SU-8 recuite à 100°C. Après 21 DIV et 28 DIV, l'activité métabolique moyenne présentée par les cellules corticales cultivées atteint respectivement 26% et 40% par rapport aux cellules corticales cultivées sur du verre. Nous pouvons conclure qu'un traitement thermique de la SU-8 à 100°C durant 2h n'est pas suffisant pour permettre à des cellules corticales primaires de se développer sur ces surfaces.

Concernant les échantillons recuits à 180°C et 200°C durant 2h, l'activité métabolique et la mort cellulaire révèlent moins de cellules vivantes à 7 DIV et 21 DIV et un pourcentage accru de cellules mortes à 14 DIV et 21 DIV. Au bout de 21 DIV et 28 DIV, l'activité métabolique des cellules corticales sur les surfaces recuites à 180°C atteint respectivement 64% et 67% comparé aux cellules corticalesensemencées sur du verre. Pour les mêmes périodes, les surfaces recuites à 200°C présentent une activité métabolique respectivement de 71% et 79%. Toutefois optiquement, les cellules corticales sur les surfaces de SU-8 recuites à 200°C se comportent différemment des cellules sur le verre. Nous observons que les cellules se regroupent pour former des paquets et étendent leurs neurites¹ comme présentées Figure V-2, comportement typique de neurones stressés.

Pour conclure, nos résultats suggèrent qu'un traitement thermique de la SU-8 durant 2h à 180°C associé au revêtement traditionnel utilisé en biologie cellulaire suffit à éviter le relargage de produits toxiques pour les cellules corticales et permet l'adhésion et le développement de ces cellules.

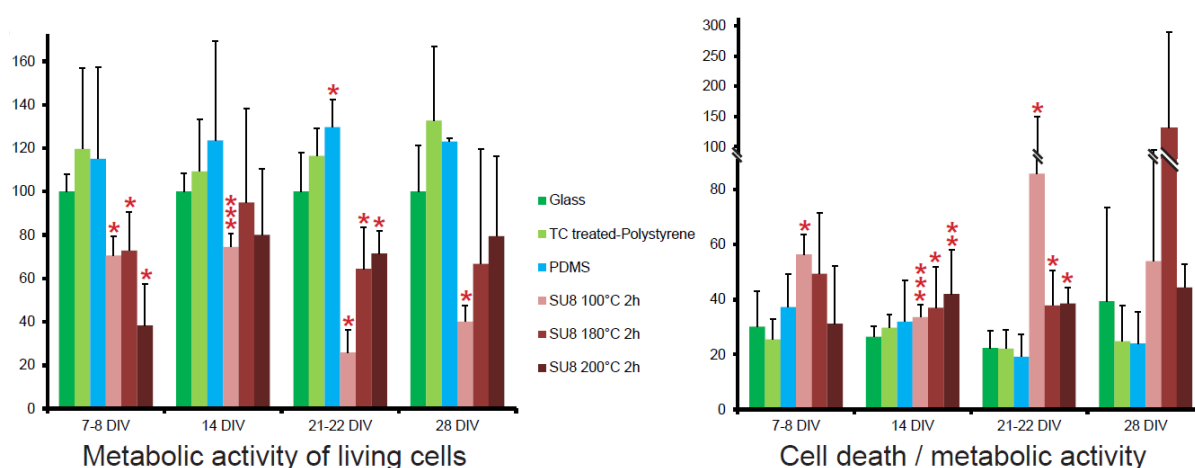


Figure V-3. Test de biocompatibilité de la résine SU-8 après différents traitements de température en comparaison avec des matériaux couramment utilisés pour la culture cellulaire. Comparaison de l'activité métabolique (reflétant le nombre de cellules vivantes) à gauche et de la mort (rapport de la mort cellulaire sur l'activité métabolique) à droite de cellules corticales cultivées sur différents substrats après 7-8 DIV, 14 DIV, 21-22 DIV et 28 DIV. Au moins n=3 pour chaque condition. * : p<0,05, ** : p<0,01 et *** : p<0,005. Les données tabulaires sont présentées Annexe I.

¹ Neurite signifie le prolongement cytoplasmique d'un neurone en cours de formation.

3. Microsystème étirable pour la problématique des traumatismes crâniens

Après avoir développé un procédé de microfabrication planaire et biocompatible pour l'étude des traumatismes crâniens, l'adaptation de l'architecture a dû être pensée pour qu'elle soit compatible avec le design du MEA 2100©. Pour cela, les interconnexions comprenant les pistes et les plots de contact ainsi que l'électrode de référence ont été modifiés. Cette partie expose l'organisation de ces différents éléments sur notre microsystème étirable ainsi que le microsystème réalisé.

3.1. Design du microsystème complet

Les systèmes MEA rigides sont pourvus de 60 électrodes disposées suivant un carré de 8x8 comme présenté Figure I-6. On s'aperçoit que les interconnexions sont organisées sans contrainte apparente sur l'angle que forment les lignes de connexions. Or, nous avons vu dans le Chapitre III que pour éviter toute fissure dans les lignes sous contrainte mécanique, l'angle critique pour notre configuration métal/polymère est d'environ 70° par rapport à la direction de l'étirement appliqué. Du fait de cette contrainte, nous devons adapter le design des interconnexions et supprimer un grand nombre d'électrodes.

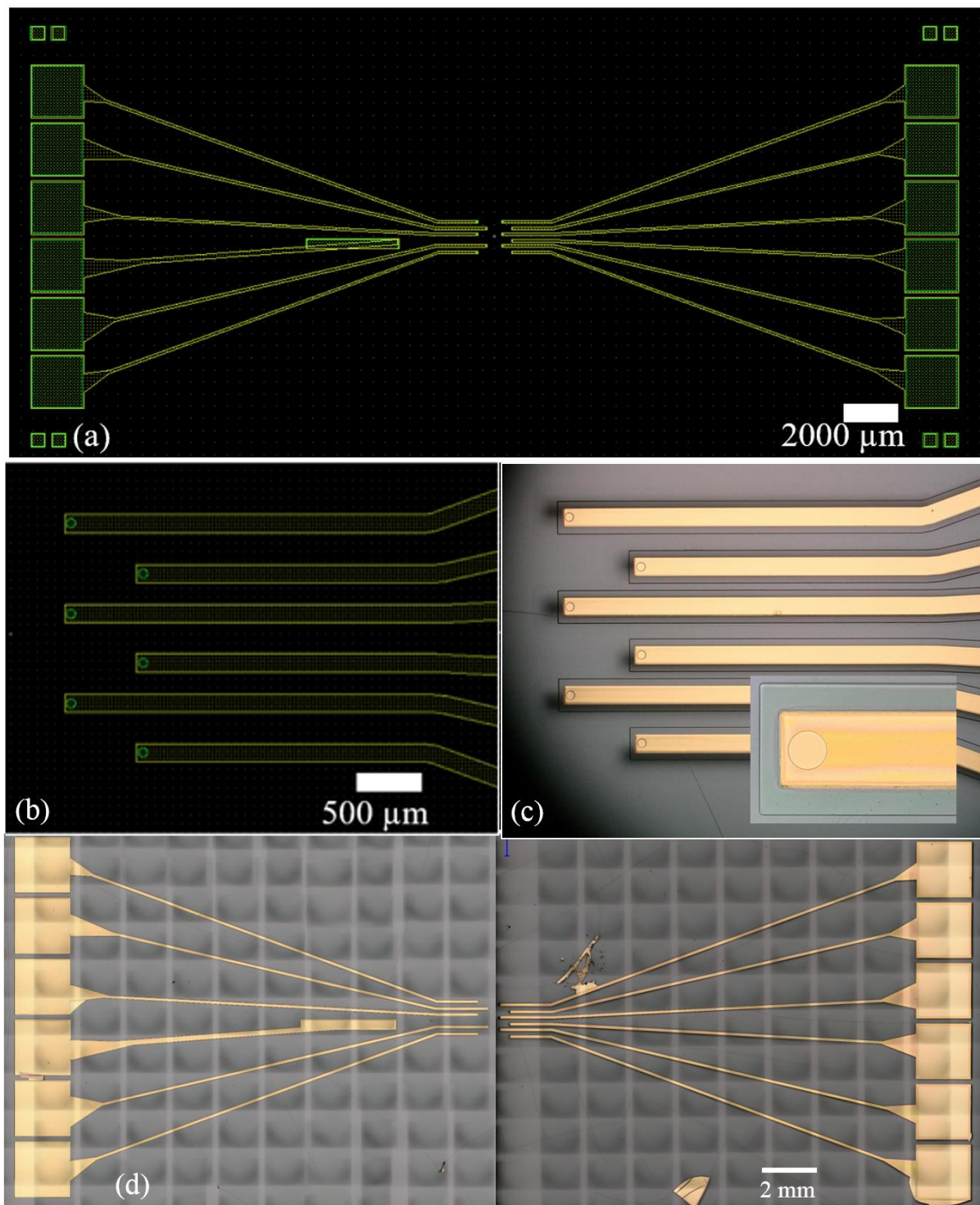
La Figure V-4 présente la disposition finale de nos interconnexions sur notre microsystème étirable. Le design en jaune représente le masque positif de photolithographie pour la réalisation des électrodes d'abord en SU-8 puis pour la métallisation, voir Chapitre IV. Le design en vert concerne la gravure du parylène, c'est un masque négatif de photolithographie.

La disposition finale du microsystème comporte plusieurs éléments :

- 12 interconnexions indépendantes, dont 1 électrode de référence de grande surface. Toutes les lignes ont une largeur de 150 μm exceptée l'électrode de référence.
- Les plots de contact électrique de chaque côté pour un nombre total de 12.
- Les pistes conductrices élargies sous forme de triangle permettant de faire la connexion entre les plots de contact et les interconnexions orientées selon un angle. Cet élargissement permet de diminuer les contraintes mécaniques lors du procédé de microfabrication.
- Les interconnexions orientées possèdent un angle de 4°, 10° et 20°.

- Les interconnexions centrales sont orientées transversalement par rapport à l'étirement appliqué. La Figure V-4(b) présente un zoom des interconnexions centrales, où l'on aperçoit l'ouverture des électrodes pour que celles-ci soient en contact avec le matériel biologique (design vert).
- Les carrés aux 4 coins de la Figure V-4 sont des marques d'alignement pour effectuer les différentes étapes de photolithographie.

Suivant l'étude dans le Chapitre III section 4.2.2., nous avons opté pour des plots de contact de 2000 μm de côté (identiques à ceux des MEA rigides) car ils peuvent être étirés jusque 26% uni-axialement sans création de fissures et permettent un bon alignement avec les broches de connexion du MEA 2100©, voir Figure V-5.



3.2. Réalisation du microsystème complet par la technologie planaire

Cette section présentera les différentes parties qui composent le microsystème par la technologie planaire décrite dans le chapitre précédent à savoir : les plots de contact, l'agencement des interconnexions, les électrodes et l'électrode de référence.

3.2.1. Les plots de contact

Les 12 plots de contacts sont disposés sur deux côtés de l'échantillon. La Figure V-5(a) présente un plot de contact du microsystème avant décolllement de la plaquette de silicium. Nous apercevons la gravure de parylène et le début de l'interconnexion encapsulée. La Figure V-5(b) représente un plot de contact après décolllement du microsystème et ayant été contacté avec le MEA 2100©. Notons que dans cet exemple l'alignement entre le parylène et le plot de contact n'est pas correct. Cela est dû au décolllement partiel de la surface de PDMS lors du lift-off. Nous observons également les marques des broches de connexion du MEA 2100© sur le plot de contact. Malgré la force appliquée sur le plot de contact des broches de connexion, aucune fissure n'apparaît. De plus, la précision du positionnement du microsystème dans le MEA 2100© peut être évaluée à plus ou moins 1mm — ce qui confirme notre choix de plot de contact de 2 mm de côté.

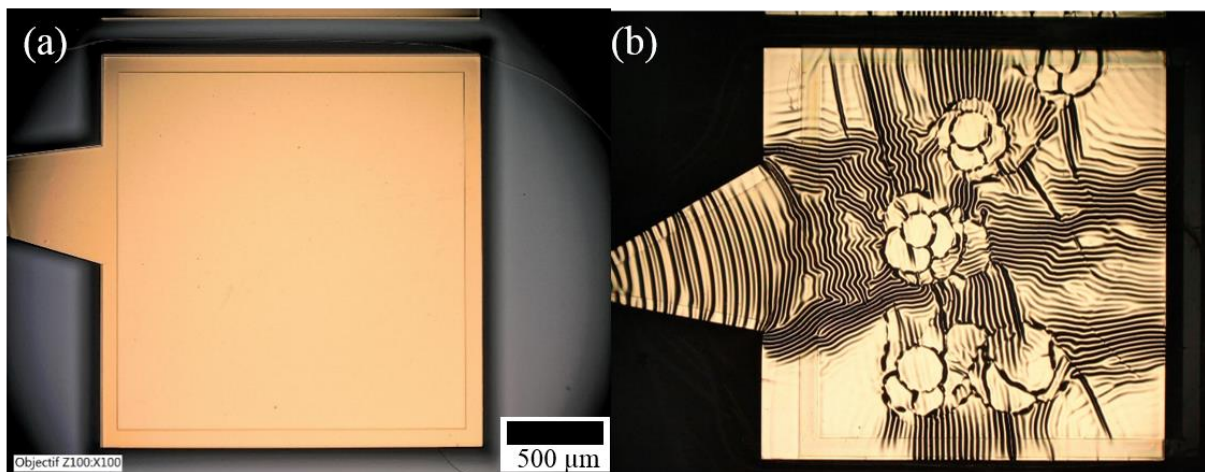


Figure V-5. Plots de contact de 2000 µm de côté après gravure de parylène. (a) Avant décolllement du microsystème de la plaquette de silicium. (b) Après décolllement du substrat. Plot de contact ayant été contacté par les broches de connexion du MEA 2100©.

3.2.2. *Agencement des interconnexions*

La Figure V-6 présente la réalisation des interconnexions orientées sous différents angles permettant de connecter les électrodes aux plots de contact. A noter que l'échantillon présenté Figure V-6 a été fabriqué en utilisant la technique de couche sacrificielle à l'aide de la résine photosensible AZ 1518, c'est pourquoi nous observons des vagues le long de ces lignes. Pour rappel lors du lift-off de métal, certaines extrémités de la surface de PDMS ont été décollées de la plaquette de silicium et cela a provoqué une rétraction de cette surface. Néanmoins, aucune fissure n'est observée après ce phénomène.

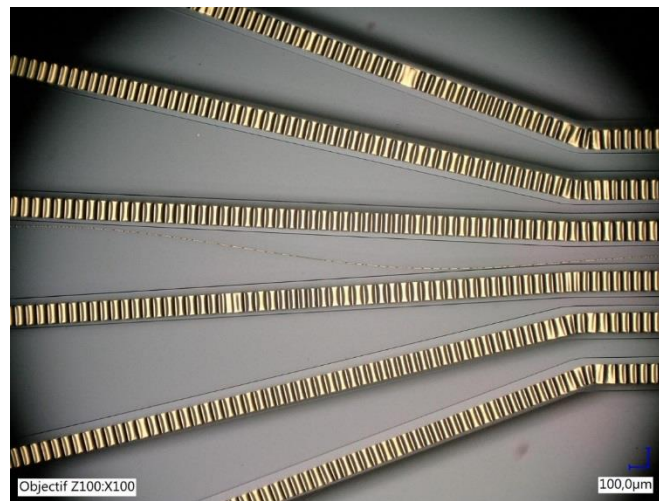


Figure V-6. Photographie des lignes orientées sous un angle de 4°, 10 et 20° après gravure de parylène. Toutes les lignes présentées ont une largeur de 150 µm.

3.2.3. *Électrodes*

Les interconnexions encapsulées aboutissent aux électrodes circulaires dépourvues de parylène, présentées Figure V-7. Comme pour les systèmes MEA rigides commerciaux, elles sont séparées de 200 µm évitant ainsi d'enregistrer un même signal sur plusieurs électrodes si un amas de cellules se forme, voir Figure V-7(a). Enfin, elles sont ouvertes à leur extrémité sur un diamètre de 50 µm par une gravure au plasma oxygène pour permettre la connexion entre les électrodes et le réseau de neurones étudié, voir Figure V-7(b).

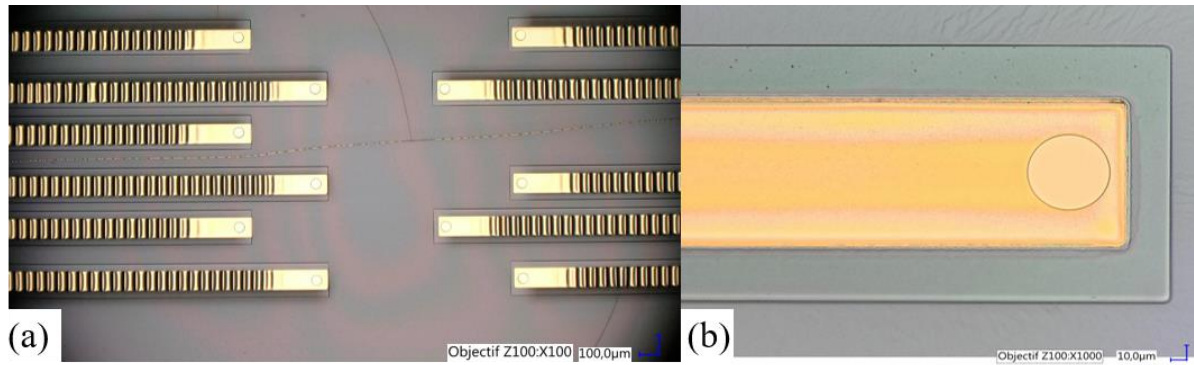


Figure V-7. Photographies des électrodes centrales orientées transversalement par rapport à l'étirement appliqué après gravure au plasma oxygène. Chaque extrémité des électrodes est ouverte sur un diamètre de 50 μm .

3.2.4. *Électrode de référence*

Sur les MEA commerciaux rigides, l'électrode de référence est sous forme de « flèche », voir Figure I-6. Pour permettre d'étirer nos échantillons sous contrainte mécanique, l'électrode de référence a été conçue pour que celle-ci ne se fissure pas au cours de l'étirement. Pour cela, nous avons décidé de la modéliser sous forme d'un rectangle à large rapport d'aspect orienté transversalement à l'étirement uni-axial, voir Figure V-8. L'électrode de référence mesure 3800 μm de longueur sur 400 μm de largeur.



Figure V-8. Photographie de l'électrode de référence avant gravure au plasma oxygène. L'électrode de référence mesure 3800 μm de longueur par 400 μm de largeur.

3.3. *Finalisation du microsystème*

Après avoir effectué les différentes étapes de fabrication, le microsystème n'est pas encore prêt pour l'ensemencement des cellules, trois opérations sont encore nécessaires : la découpe du microsystème, le collage du puits de PDMS qui accueillera le tissu biologique et le décollement du microsystème de la plaque de silicium.

3.3.1. *Découpe du microsystème*

La géométrie du support de notre microsystème a été conçue de telle manière que la partie étirée sous contrainte mécanique soit uniquement le centre du microsystème contenant le tissu biologique. Les parties supérieure et inférieure du PDMS seront maintenues par notre système d'étirement. Cela permet ainsi de préserver les plots de contact ainsi qu'une partie des électrodes. La Figure V-9(a) présente le patron que nous avons utilisé pour découper notre microsystème ainsi qu'un échantillon découpé Figure V-9(b).

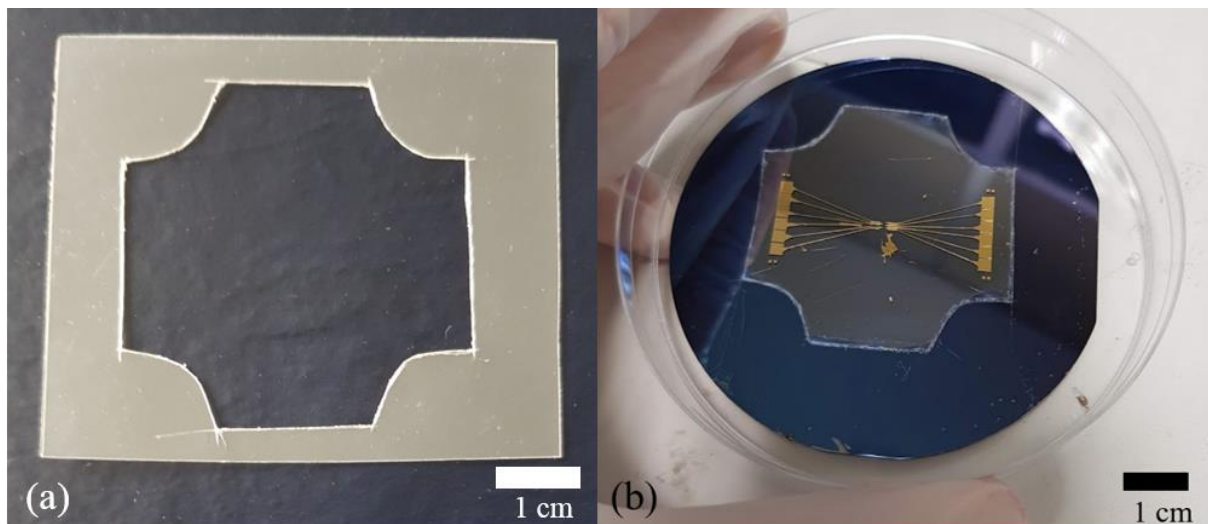


Figure V-9. Patron (a) et résultat de découpe de notre microsystème (b).

3.3.2. Collage du puits de PDMS et décollement du microsystème de la plaquette de silicium

Après avoir réalisé notre procédé de microfabrication, nous pouvons coller le puits de PDMS centré sur les électrodes centrales puis cliver la plaquette de silicium. La Figure V-10 présente deux systèmes finaux complets. Afin de réaliser des tests préliminaires sur le MEA 2100©, l'échantillon présenté Figure V-10(a) n'a pas été décollé de la plaquette de silicium. La Figure V-10(b) présente un système final complet totalement étirable car décollé de la plaquette de silicium. Le protocole a été présenté dans le Chapitre IV section 9.

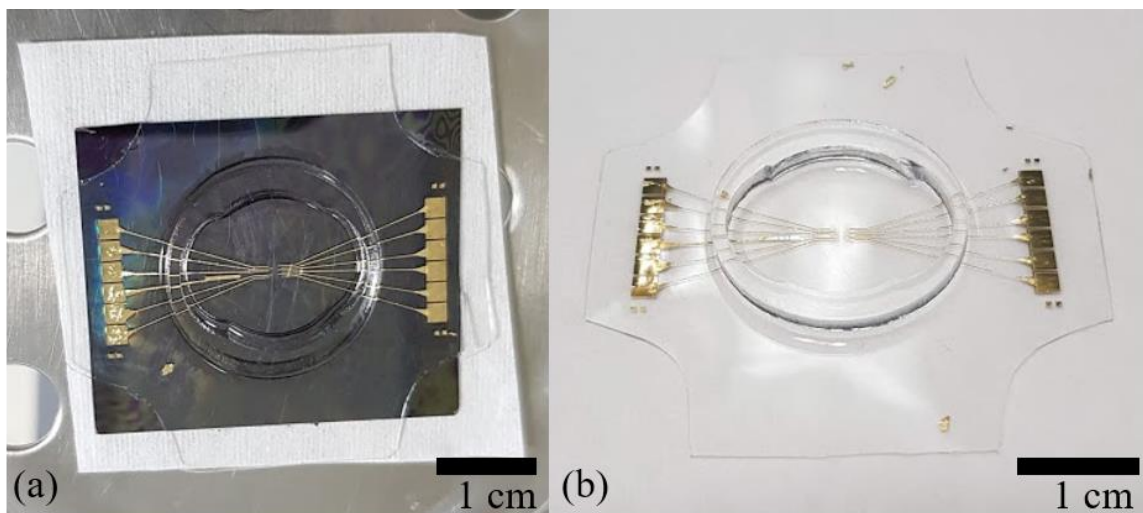


Figure V-10. Systèmes finaux (a) collé à la plaquette de silicium pour des tests préliminaires et (b) décollé pour obtenir un système totalement étirable.

4. Protocole biologique

Un protocole biologique bien établi est nécessaire pour toute expérience biologique. Le protocole biologique utilisé a été développé et réalisé par Séverine Bégard et Sophie Halliez dans le Centre de recherche Jean-Pierre Aubert (UMR-S 1172 Inserm Lille). A noter que ce protocole diffère de celui présenté pour la validation de la SU-8 (avec des neurones issus d'embryons de rats). Dans le cas présent, des embryons de souris ont été utilisés.

4.1. « Coating » : traitement de surface

Le coating est un traitement de surface permettant de promouvoir l'adhésion des neurones lors de l'ensemencement des cellules dans le puits de PDMS. Le coating choisi est un mélange de Poly-D-lysine (0,5 mg/mL, Sigma) et de laminine (10 µg/mL, Sigma). La solution de coating a été déposée durant 30 minutes à température ambiante dans le puits du microsystème où se situera le matériel biologique. Un nettoyage a ensuite été réalisé avec de l'eau stérile (Corning) et ensuite séché à l'air.

4.2. Culture cellulaire

Les cellules primaires corticales de souris ont été préparées à partir d'embryons de souris C57BL/6 au jour embryonnaire 15,5 comme expliqué dans le papier de Galas *et al.* [17]. Brièvement, le cerveau et les méninges ont été enlevés. Le cortex a été soigneusement disséqué et mécaniquement dissocié en milieu de culture par trituration avec une pipette Pasteur en verre. Les expériences réalisées ont été approuvées par le comité d'éthique (accord APAFIS#2264-2015101320441671 de CEEA75, Lille, France) et suivant les réglementations européennes pour l'utilisation des animaux.

Les femelles en gestation (Janvier Labs) étaient logées dans une pièce à température contrôlée (20 à 22°C) maintenue pendant un cycle de 12h par jour/nuit avec de la nourriture et de l'eau fournies *ad libitum*.

4.3. Ensemencement des microsystèmes

Le milieu de culture a été fait à partir de Neurobasal (Gibco) supplémenté par du B-27 (Gibco), de l'Antibiotique-Antimycotiques (Gibco) et de la L-glutamine (Gibco).

Pour chaque échantillon, une goutte comprise entre 30 et 50 µL de coating a été déposée sur les microsystèmes au niveau des électrodes centrales. Après 30 minutes, rinçage puis séchage, une goutte de culture cellulaire comprise entre 30 et 50 µL a été déposée au même endroit. Enfin, pour préserver les cellules et permettre leur développement, le puits de PDMS comprenant le tissu biologique a été rempli avec 1 mL de milieu de culture, volume suffisant pour éviter l'évaporation et permettant de recouvrir l'électrode de référence.

Les cultures ont été conservées dans un incubateur (ThermoScientific) maintenu à 37°C dans une atmosphère contenant 5% de CO₂.

4.4. Préservation des cultures cellulaires sur les microsystèmes

Pour préserver les cultures cellulairesensemencées sur nos microsystèmes, elles sont maintenues dans un milieu de culture. Par ailleurs, pour éviter toute contamination et évaporation du milieu de culture, un anneau en téflon surmonté d'une membrane plastique de la société MultiChannel© est déposé au-dessus du puits, présenté Figure I-15. Cette membrane hydrophobe semi-perméable est sélectivement perméable aux gaz (O₂, CO₂) mais pas à la vapeur liquide permettant ainsi de garder la culture propre et stérile.

5. Résultats expérimentaux

Pour obtenir des résultats expérimentaux à partir de nos microsystèmes sur le MEA 2100©, une quinzaine d'échantillons au total a été fabriquée. 6 échantillons ont étéensemencés avec des cultures primaires de neurones (2 échantillons encore collés au silicium et 4 échantillons sans support rigide et donc totalement étirables).

5.1. Compatibilité de notre microsystème avec le MEA 2100©

Pour vérifier la compatibilité entre nos microsystèmes et le MEA 2100©, nous devons nous assurer d'un signal correct sur les électrodes. Pour cette étape, les microsystèmes sont dépourvus de matériel biologique.

Nous insérons les microsystèmes dans les compartiments du MEA 2100©. Nous remplissons les puits de chaque microsystème avec un tampon phosphate salin ou PBS. Ainsi, la mesure du signal électrique de chaque électrode est calculée en fonction de l'électrode de référence. A présent nous pouvons refermer le capot. Après s'être assuré que les broches de connexion du MEA 2100© soient en contact avec les plots de contact de nos microsystèmes, nous pouvons démarrer le logiciel.

La Figure V-11 présente l'interface du logiciel avec la mesure des signaux des électrodes d'un microsystème. Chaque cellule représente le signal issu d'une électrode. Toutes

nos électrodes possèdent un bruit très faible comparativement aux autres emplacements car ces derniers ne sont en contact avec aucune électrode. Les 11 électrodes de notre microsystème présentent un bruit compris entre 9 et 11 μV pour une surface d'enregistrement de 50 μm de diamètre, la 12^{ème} étant l'électrode de référence (encadrés vert).

Malgré un nombre faible d'électrodes sur nos microsystèmes, nous obtenons un ratio signal sur bruit, pour toutes nos électrodes sur substrat étirable, comparable aux MEA commerciaux rigides (compte tenu de la différence de taille des électrodes). Ces derniers possèdent des électrodes avec un signal compris entre 20 et 30 μV pour une surface d'enregistrement de 30 μm de diamètre, voir Figure V-11.

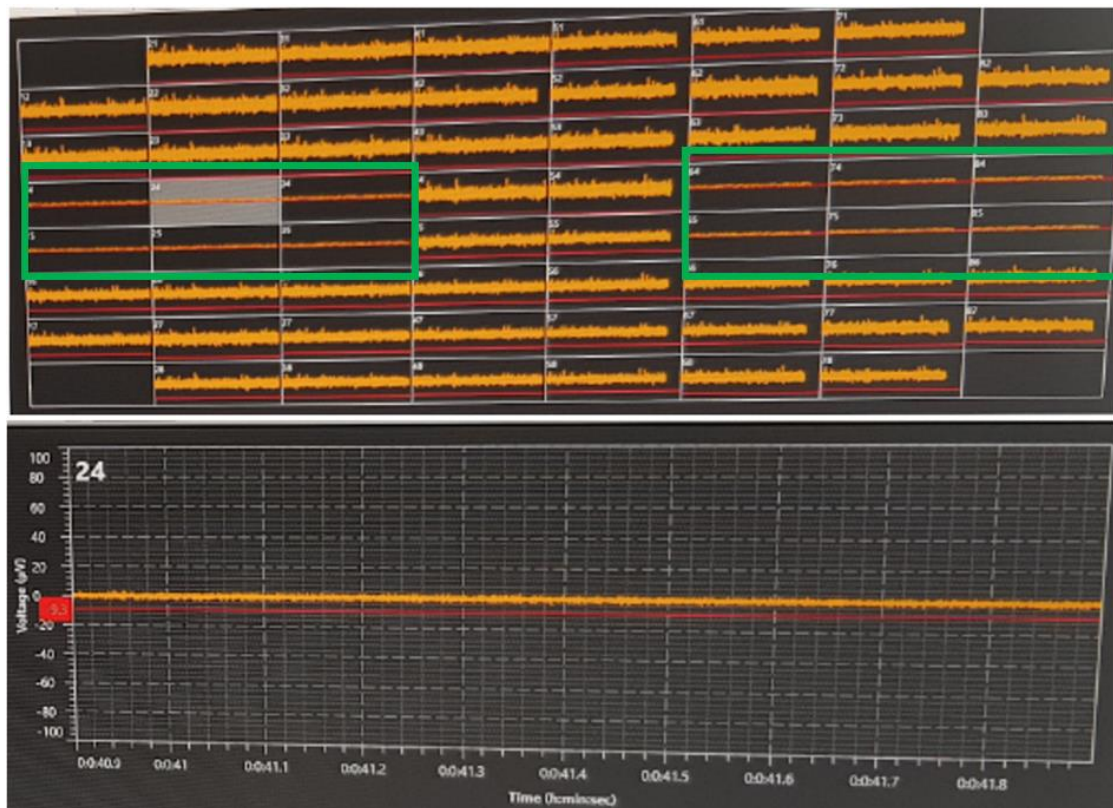


Figure V-11. Capture d'image de l'interface du logiciel : mesures des signaux des électrodes d'un microsystème en continu (encadrés vert). L'interface du haut représente les 60 électrodes du MEA commercial avec une cellule équivalant à une électrode. Notre microsystème comporte quant à lui 12 électrodes. L'interface du bas est un zoom d'une électrode sélectionnée de notre microsystème. Les électrodes de notre microsystème possèdent un faible bruit (encadré vert). Les emplacements restants possèdent un signal fortement bruité car aucune électrode n'est connectée aux broches de connexions du MEA 2100©.

5.2. Visualisation et enregistrement de signaux électriques de réseaux neuronaux sur le microsystème

Pour nous permettre de vérifier la bonne croissance des cellules neuronales, le même ensemencement de cellules a été effectué sur nos microsystèmes en parallèle avec des MEA commerciaux, permettant d'avoir une expérience témoin.

5.2.1. Mise en place des dispositifs dans le MEA 2100©

Au bout de 12 DIV, les cellules neuronales ont pu croître et développer un réseau permettant d'enregistrer un influx nerveux. Lorsqu'on souhaite enregistrer les signaux électriques d'un dispositif dans le MEA 2100©, la procédure usuelle appliquée pour des MEA commerciaux est mise en place.

Tout d'abord il faut s'assurer que le contrôleur de température des compartiments du MEA 2100© est réglé à 37°C. Le simple fait de déplacer les dispositifs, et donc les cellules, de l'incubateur au MEA 2100© induit un stress pour les cellules. C'est pourquoi lorsque le dispositif sera positionné dans un des deux compartiments, les cultures sont laissées au repos durant 15 minutes (visualisation du signal sans enregistrement) suivi de 5 minutes d'enregistrement (protocole préalablement chargé dans le logiciel). Comme dit précédemment, ce protocole est standard pour les MEA commerciaux. Nous pouvons par la suite positionner les MEA en prenant soin de placer l'électrode de référence sur la gauche, voir Figure V-12. Les boîtes de pétri contenant les dispositifs sont alors remises dans l'incubateur. Dans l'onglet « Spike Detector » on vérifie que les électrodes ne soient pas bruitées. Si c'est le cas, il faut arrêter l'acquisition et nettoyer précautionneusement les broches de connexion avec un papier imprégné d'éthanol à 70%, puis relancer l'acquisition. L'enregistrement débute alors automatiquement durant 5 minutes après 15 minutes de visualisation du signal sans enregistrement. Lorsque l'enregistrement est terminé, l'acquisition est stoppée et les dispositifs sont rapidement replacés dans l'incubateur.

A noter que le support du MEA commercial est parfaitement adapté au MEA 2100©. Les MEA commerciaux étant facilement manipulables par leur nature rigide, ils sont rapidement déposés dans un des deux compartiments du MEA 2100© et les cellules sont rapidement maintenues à 37°C grâce au support de verre. En revanche, en ce qui concerne notre

microsystème, il est plus difficile de le manipuler car il est souple, nous mettons donc plus de temps pour l'insérer dans le compartiment. Il faut ensuite le placer correctement sur le MEA 2100© : positionnement des plots de contact exactement en dessous des broches de connexion, voir Figure V-12.



Figure V-12. MEA 2100© contenant un microsystème réalisé en PDMS à gauche et un MEA commercial à droite.

5.2.2. Mesures des signaux électriques du réseau neuronal dans le MEA 2100©

Après avoir déposé notre microsystème et le MEA commercial dans le MEA 2100©, nous observons, après 1 minute, des réponses électriques du réseau neuronal sur les deux systèmes. Sur notre microsystème, nous observons des réponses électriques approximativement toutes les 15 secondes, tandis que sur le MEA commercial de plus nombreuses réponses électriques sont observées. En effet, celui-ci possède 59 électrodes d'enregistrement tandis que notre microsystème n'en possède que 11. Néanmoins, après 5-6 minutes d'observation, nous constatons que sur notre microsystème les réponses électriques sont de moins en moins fréquentes, soit toutes les 30 secondes. Au bout de 13 minutes, nous ne visualisons plus aucun signal avec notre microsystème, tandis que sur le MEA commercial, nous observons toujours des réponses électriques.

Ayant suivi le protocole standard des MEA commerciaux pour ce premier essai, l'enregistrement n'a démarré qu'au bout de 15 minutes de visualisation. C'est pourquoi une capture d'image a été effectuée au bout de 9-10 minutes pour conserver une trace du signal électrique généré par le réseau de neurones, au bout de 12 DIV, sur le MEA commercial présenté Figure V-13(a) et sur notre microsystème présenté Figure V-13(b). Les images présentées ont été prises au même moment.

Lors de ce test, sur le MEA commercial, la plupart des électrodes fonctionnent avec un signal mis à part 3 électrodes, voir Figure V-13(a). Concernant les électrodes sur notre microsystème, on remarque la présence de signaux issus de 13 électrodes dont 1 référence (plutôt que 12), voir Figure V-13(b). A la fin de l'expérience, lorsque nous retirons les systèmes de l'appareil, nous remarquons que notre microsystème n'a pas été parfaitement centré par rapport aux broches de connexion. Deux broches du MEA 2100© sont en contact avec deux plots de notre microsystème ce qui explique la présence d'une électrode supplémentaire.

Dans la Figure V-13, la fenêtre située en-dessous des 60 emplacements des électrodes correspond au zoom de l'électrode sélectionnée, l'électrode numéro 65 de notre microsystème et l'électrode numéro 64 du MEA commercial. Nous observons que le signal reçu sur le MEA commercial se décompose en deux pics, tout d'abord un négatif puis un positif. Sur notre microsystème nous observons la même forme de signal mais de manière moins bruitée. Suivant la littérature, nous constatons que le signal reçu correspond à une mesure en extra cellulaire, le signal composé de deux pics positif et négatif représente la somme de la forme du potentiel d'action² intracellulaire et de sa dérivée par rapport au temps. La répartition entre les deux formes dépend de la proximité de la cellule à l'électrode [18].

Bien que notre microsystème étirable possède un nombre plus faible d'électrodes que le MEA commerciaux rigides, nous avons détecté des signaux électriques. Cette observation montre bien que notre microsystème permet la visualisation et donc l'enregistrement d'influx nerveux d'un tissu neuronal.

² Le potentiel d'action est un courant électrique qui se propage le long de l'axone du neurone pour transmettre un signal à un ou plusieurs neurones.

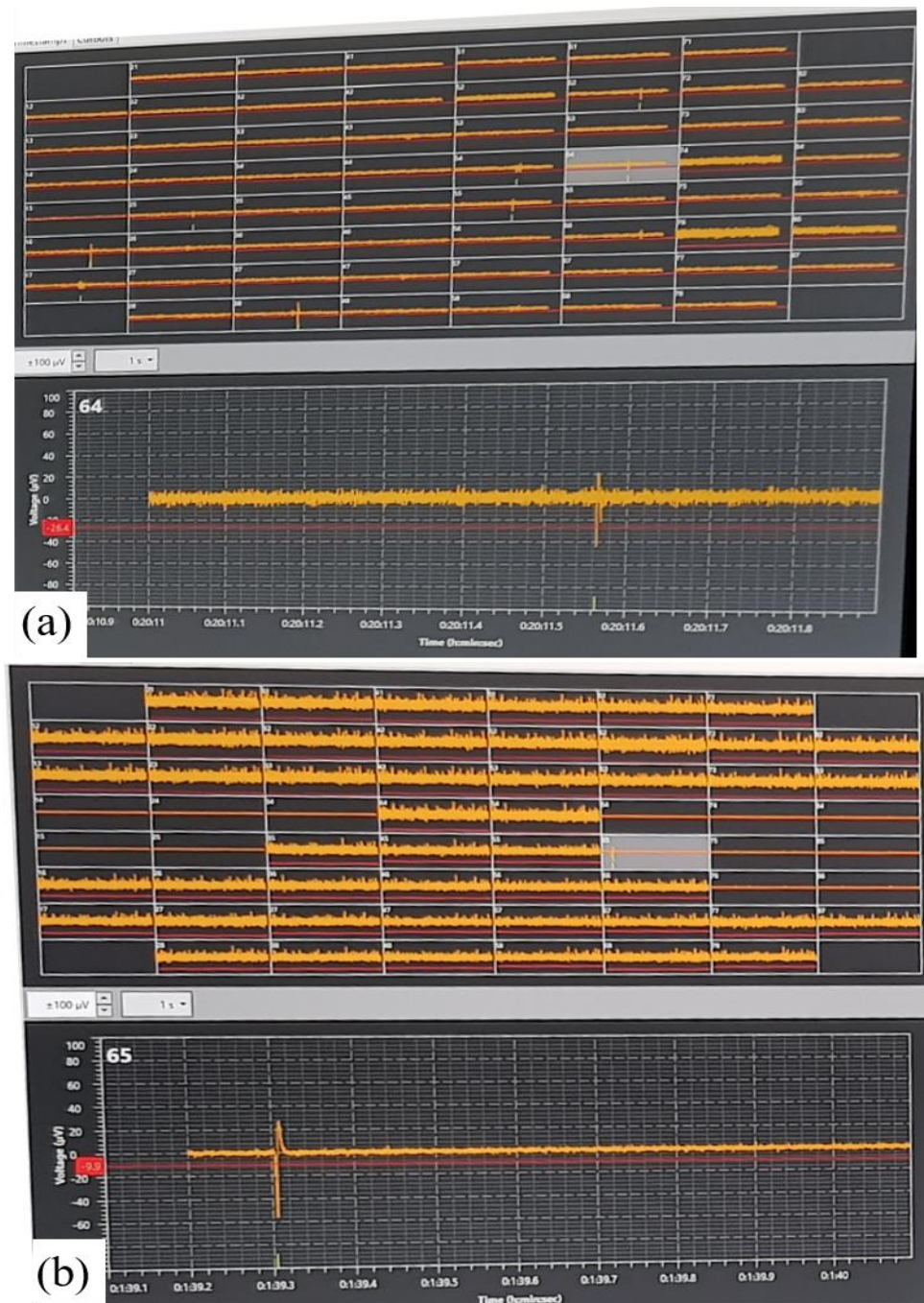


Figure V-13. Capture d'écran manuel de l'interface du logiciel Multichannel System© avec en (a) un MEA commercial et en (b) un des microsystèmes. Nous observons un signal sous forme de potentiel d'action sur notre microsystème et un signal sous forme de pic sur le MEA commercial.

5.2.3. Hypothèses et interprétation

Après avoir observé cette chute de signaux électriques du réseau neuronal, sur notre microsystème, au cours du temps, nous pensons qu'une modification de la température du microsystème peut en être la cause. En effet, entre la sortie de l'incubateur et la pose du microsystème dans le compartiment, 5 minutes se sont déroulées. Durant cette phase, le support de PDMS a pu se refroidir et ainsi les cellules apposées sur notre microsystème n'ont pas été maintenues à 37°C. Au début de l'observation nous pensons que les cellules étaient encore vivantes mais le temps que le support PDMS soit à nouveau à 37°C, les cellules mouraient au fur et à mesure et nous observions de moins en moins de signal. Au bout de 13 minutes nous n'observions plus aucun signal car toutes les cellules étaient probablement mortes. Nous préconisons par la suite un temps inférieur à 2 minutes pour éviter toute chute de température. D'autres dispositifs doivent être fabriqués et testés afin de prouver que cet effet thermique est bien la cause de notre problème.

5.2.4. Réutilisation des microsystèmes

Après avoir réalisé des enregistrements sur nos microsystèmes, nous les avons nettoyés à l'aide d'un détergeant + protéase (tergazyme) pour nous permettre de les réutiliser. Nos dispositifs ont donc été insérés de nouveau dans le MEA 2100© et nous avons observé que les électrodes étaient toujours en fonctionnement.

Néanmoins, après ensemencement d'une nouvelle culture cellulaire, aucun signal n'a été visualisé. Une étude plus approfondie ainsi qu'un nombre plus important de microsystème serait nécessaire afin de connaître les raisons de cette absence de signal des cultures cellulaires.

5.3. *Problèmes rencontrés*

Nous avons rencontré certains problèmes au cours de nos expériences. Tout d'abord, la manipulation des échantillons est difficile. En effet, l'anneau plastique recouvrant nos puits de PDMS sur nos microsystèmes ne peut pas être fermement maintenu car il risquerait de le déformer. Il faut donc manipuler le microsystème à l'aide d'une pince sans le déformer pour l'insérer dans le MEA 2100©. Les puits des MEA commerciaux étant en verre, l'anneau plastique peut être attaché à ce dernier, ce qui évite ce problème.

Par ailleurs, après avoir déposé l'anneau plastique sur nos microsystèmes, il n'est pas aisé de positionner parfaitement nos dispositifs sous les broches de connexion du MEA 2100©.

Ensuite, nos microsystèmes en PDMS ne possèdent pas les mêmes propriétés thermiques que les MEA commerciaux en verre. Il faut donc rapidement faire le transfert entre l'incubateur et le MEA 2100© pour éviter toute évolution trop rapide de la température, sinon les cellules ne seront plus maintenues à 37°C et cela peut entraîner leurs morts précoces.

Enfin, certaines cultures cellulaires n'ont donné aucun signal sur nos microsystèmes tandis que sur les MEA commerciaux ces mêmes cultures cellulaires (faites en parallèle) permettaient de visualiser du signal. Des études plus approfondies avec un nombre plus important de microsystèmes doivent être réalisées pour permettre de cibler les problèmes comme une adaptation du protocole biologique pour nos microsystèmes étirables.

Conclusion

En conclusion, nous avons validé la biocompatibilité de la SU-8 avec des cultures de neurones primaires avec un protocole simplifié. Un traitement thermique de la SU-8 2002 durant 2h suffit à éviter le relargage de produits toxiques pour les cellules et permet l'adhésion et le développement de ces cellules durant plusieurs jours.

De plus, les microsystèmes ont été testés en présence de PBS mais sans matériel biologique afin de mesurer leur réponse électrique. Elle est comparable aux dispositifs commerciaux en tenant compte de la différence de taille des électrodes. Le rapport signal sur bruit de notre microsystème est comparable à celui des MEA commerciaux.

Enfin, nous avons réalisé un microsystème étirable permettant de visualiser et d'enregistrer des réponses électriques d'un réseau neuronal apposé sur notre microsystème. En adaptant notre procédé de microfabrication et le design de notre disposition finale, nous avons réussi à obtenir des influx nerveux sous forme de potentiel d'action.

Néanmoins, les cultures cellulaires n'ont pas toujours survécu sur nos microsystèmes. Ceci est peut-être dû au protocole biologique non adapté à nos microsystèmes étirables. C'est pourquoi nous n'avons pas pu réaliser d'étirement sur les cellules neuronales afin de compléter cette étude.

Bibliographie

- [1] “www.multichannelsystems.com | Innovations in Electrophysiology.” [Online]. Available: <https://www.multichannelsystems.com/>. [Accessed: 06-Sep-2019].
- [2] C. Hassler, T. Boretius, and T. Stieglitz, “Polymers for neural implants,” *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 49, no. 1, pp. 18–33, Jan. 2011.
- [3] O. Palyvoda, C.-C. Chen, and G. W. Auner, “Culturing neuron cells on electrode with self-assembly monolayer,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 22, no. 9–10, pp. 2346–2350, Apr. 2007.
- [4] J. B. Fortin and T.-M. Lu, “Deposition Equipment,” in *Chemical Vapor Deposition Polymerization: The Growth and Properties of Parylene Thin Films*, J. B. Fortin and T.-M. Lu, Eds. Boston, MA: Springer US, 2004, pp. 9–22.
- [5] J. Hsu, L. Rieth, R. A. Normann, P. Tathireddy, and F. Solzbacher, “Encapsulation of an Integrated Neural Interface Device With Parylene C,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 56, no. 1, pp. 23–29, Jan. 2009.
- [6] G. Kotzar *et al.*, “Evaluation of MEMS materials of construction for implantable medical devices,” *Biomaterials*, vol. 23, no. 13, pp. 2737–2750, Jul. 2002.
- [7] S.-H. Cho, H. M. Lu, L. Cauller, M. I. Romero-Ortega, J.-B. Lee, and G. A. Hughes, “Biocompatible SU-8-Based Microprobes for Recording Neural Spike Signals From Regenerated Peripheral Nerve Fibers,” *IEEE Sens. J.*, vol. 8, no. 11, pp. 1830–1836, Nov. 2008.
- [8] M. Hennemeyer, F. Walther, S. Kerstan, K. Schürzinger, A. M. Gigler, and R. W. Stark, “Cell proliferation assays on plasma activated SU-8,” *Microelectron. Eng.*, vol. 85, no. 5–6, pp. 1298–1301, May 2008.
- [9] E. S. Ereifej, S. Khan, G. Newaz, J. Zhang, G. W. Auner, and P. J. VandeVord, “Characterization of astrocyte reactivity and gene expression on biomaterials for neural electrodes,” *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 99A, no. 1, pp. 141–150, Oct. 2011.
- [10] K. V. Nemani, K. L. Moodie, J. B. Brennick, A. Su, and B. Gimi, “In vitro and in vivo evaluation of SU-8 biocompatibility,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 7, pp. 4453–4459, Oct. 2013.
- [11] T. Zhou, S. F. Perry, Y. Berdichevsky, S. Petryna, V. Fluck, and S. Tatic-Lucic, “Multi-electrode array capable of supporting precisely patterned hippocampal neuronal networks,” *Biomed. Microdevices*, vol. 17, no. 1, p. 2, Feb. 2015.
- [12] Y. Ren *et al.*, “A Simple and Reliable PDMS and SU-8 Irreversible Bonding Method and Its Application on a Microfluidic-MEA Device for Neuroscience Research,” *Micromachines*, vol. 6, no. 12, pp. 1923–1934, Dec. 2015.
- [13] V. N. Vernekar *et al.*, “SU-8 2000 rendered cytocompatible for neuronal bioMEMS applications,” *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2008.
- [14] S. L. Tao, K. C. Popat, J. J. Norman, and T. A. Desai, “Surface Modification of SU-8 for Enhanced Biofunctionality and Nonfouling Properties,” *Langmuir*, vol. 24, no. 6, pp. 2631–2636, Mar. 2008.
- [15] Y. Choi, R. Powers, V. Vernekar, A. B. Frazier, M. C. LaPlaca, and M. G. Allen, “HIGH ASPECT RATIO SU-8 STRUCTURES FOR 3-D CULTURING OF NEURONS,” p. 5.
- [16] M. Gaudet and S. Arscott, “A user-friendly guide to the optimum ultraviolet photolithographic exposure and greyscale dose of SU-8 photoresist on common MEMS, microsystems, and microelectronics coatings and materials,” *Anal. Methods*, vol. 9, no. 17, pp. 2495–2504, 2017.

- [17] M.-C. Galas *et al.*, "The Peptidylprolyl *cis/trans* -Isomerase Pin1 Modulates Stress-induced Dephosphorylation of Tau in Neurons: IMPLICATION IN A PATHOLOGICAL MECHANISM RELATED TO ALZHEIMER DISEASE," *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 28, pp. 19296–19304, Jul. 2006.
- [18] B. P. Bean, "The action potential in mammalian central neurons," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 8, no. 6, pp. 451–465, Jun. 2007.

Conclusion générale & perspectives

Afin d'être au plus proche des lésions causées par un choc extérieur (synonyme de traumatisme crânien), le développement de systèmes étirables *in vitro* permettrait de réaliser des expériences reproductibles, avec des conditions de lésions et un contrôle de l'environnement extracellulaire bien maîtrisées. En vue d'étudier le comportement biologique des neurones, une des manières d'appréhender le comportement d'un réseau de neurones est de mesurer son activité électrique. Pour l'étude des traumatismes crâniens soit un étirement de neurones, nous avons donc besoin d'un microsystème *in vitro* qui permet non seulement de contraindre mécaniquement les neurones mais également de pouvoir mesurer leurs activités électriques.

Le développement de composants fonctionnels sur support étirable est une thématique d'actualité en tant que telle dans le domaine de la microélectronique. Néanmoins, vouloir étudier un réseau neuronal de culture primaire sous contrainte mécanique ajoute une contrainte supplémentaire puisque la biocompatibilité *in vitro* sur plusieurs semaines du microsystème fabriqué doit être assurée afin de pouvoir mesurer son activité électrique. De plus le protocole biologique de manipulation de cellules sur système souple doit être adapté par rapport à celui adopté pour les dispositifs commerciaux rigides.

Le travail de cette thèse répond à la problématique suivante : la réalisation d'un dispositif permettant de contraindre un réseau de neurones par un étirement mécanique tout en étant capable de le visualiser et d'enregistrer son activité électrique. Pour cela, l'alliance de l'électronique étirable et de la microfabrication ont été la clé afin de fabriquer un microsystème capable de réaliser ces deux fonctions.

Le Chapitre I a permis de présenter les différents systèmes *in vivo* et *in vitro* existants ainsi que leurs limites et de justifier l'intérêt d'un microsystème permettant de contraindre mécaniquement et de caractériser un réseau de neurones sur un même dispositif. Par la suite, notre approche ainsi que les spécifications requises pour un tel système ont été présentées : un microsystème qui doit avoir certaines caractéristiques physiques, biocompatible pour une culture primaire de minimum 3 semaines, compatible avec le MEA 2100© et supportant un étirement d'environ 20%.

La réalisation et la caractérisation d'interconnexions métalliques sur support étirable sont exposées dans le Chapitre II. Cette étude nous a permis de constater l'importance de l'orientation des interconnexions métalliques par rapport à la direction de la contrainte appliquée afin de limiter les fissures. Des interconnexions de chrome surmontées par de l'or ont été réalisées par masquage physique sur substrat de PDMS. Elles présentent une résistance de $1\text{ k}\Omega$ jusque 40% d'étirement avec un bénéfice observé de l'effet Poisson.

Dans le but de rigidifier les interconnexions métalliques et d'éviter la création des fissures, une couche mince de résine photosensible de SU-8 a été intercalée entre le PDMS et les métaux, les résultats sont présentés dans le Chapitre III. Cela a permis d'obtenir des conducteurs métalliques avec une résistivité faible et stable d'environ $50\text{ n}\Omega\text{ m}$ proche de l'or évaporé jusque 46% d'étirement. Une étude sur l'orientation des interconnexions par rapport à l'étirement ainsi qu'un modèle mécanique validant l'étude expérimentale a permis de déterminer un angle critique à ne pas excéder pour une épaisseur de résine donnée — ceci a révélé l'importance de l'architecture dans les microsystèmes étirables de ce type.

Cette partie a aussi mis en évidence certaines limitations dues au masquage physique telles que les effets de bords ou la résolution trop faible (fabrication difficile de lignes d'une largeur inférieure à $60\text{ }\mu\text{m}$). La photolithographie est une technologie de fabrication planaire qui peut être adaptée aux substrats souples et étirables et permet de surmonter ces limitations. C'est pourquoi la technologie par photolithographie a par la suite remplacé le masquage physique. Cependant, il y a très peu d'exemples de la fabrication d'un microsystème sur substrat souple par la technologie de photolithographie. Un procédé original de microfabrication comprenant plusieurs étapes de photolithographie sur substrat étirable a donc dû être développé. Le Chapitre IV présente chaque étape de ce nouveau procédé mis au point au cours de la thèse. Chaque étape (matériaux, techniques de fabrication, et consommables) a été étudiée et pensée afin d'être compatible entre-elles. Ce procédé a permis la fabrication de microsystèmes en intégrant 3 étapes de photolithographie successives sur PDMS.

Par ailleurs, la biocompatibilité de ce microsystème devait être validée afin de réaliser une culture cellulaire primaire sur une durée de 3 semaines de façon à obtenir un réseau de neurones mature. En ce qui concerne le PDMS, le chrome, l'or et le parylène, la biocompatibilité a été étudiée et validée par différentes études (travaux antérieurs à cette thèse). En revanche, les résultats de la littérature concernant la biocompatibilité de la résine photosensible SU-8 étaient moins formels concernant la culture de cellules neuronales

primaires ciblées. Nous avons donc étudié et validé en condition réelle, soit sur 3 semaines, un protocole expérimental pour assurer la biocompatibilité de la SU-8 sur des cultures primaires de neurones, les résultats sont présentés dans le Chapitre V. Le traitement thermique étant un des paramètres essentiels afin de limiter le relargage de produits toxiques, cette étude a permis d'obtenir les paramètres optimisés concernant le recuit de la SU-8 (température et temps). A noter que nous avons dû adapter ces paramètres pour le procédé de microfabrication développé pour l'application ciblée. Ensuite, le Chapitre V présente également le design et la réalisation d'un microsystème étirable compatible avec l'appareil commercial, le MEA 2100©. La caractérisation électrique du réseau de neurones que l'on a fait croître sur le microsystème a été réalisée au moyen de ce dispositif. Cela nous a permis d'enregistrer des réponses électriques sur notre microsystème sur des cellules neurones primaires au bout de 12 jours *in vitro*. Nous avons constaté que le ratio signal/bruit est comparable pour notre microsystème avec les MEA commerciaux compte tenu de la différence de taille des électrodes.

Au terme de ce travail, plusieurs conclusions sont à mettre en évidence sur le plan de la microfabrication étirable :

- La métallisation directe d'or sur PDMS est à proscrire pour éviter les microfissures de procédé, une couche d'accroche est donc nécessaire.
- En utilisant une bicouche métallique, nous évitons les microfissures de procédé. Pourtant, les électrodes métalliques ne sont pas assez rigides et des fissures apparaissent à faible contrainte.
- L'ajout d'une couche mince et robuste de la résine photosensible SU-8 2002 permet de pallier à ce problème et d'obtenir des interconnexions métalliques conductrices à de hauts étirements, jusqu'à environ 40%.
- L'orientation des interconnexions métalliques est cruciale par rapport à la contrainte mécanique appliquée — ceci joue un rôle clé dans le design de l'architecture du microsystème.
- Un procédé de microfabrication par photolithographie sur PDMS permet d'obtenir une grande versatilité en termes de technologie planaire ainsi qu'une meilleure résolution pour le microsystème.
- La biocompatibilité de la résine SU-8 2002 a été validée pour la culture de neurones primaires pour une durée de 3 semaines. La résine peut donc être intégrée au procédé de microfabrication du microsystème.

- Enfin, les microsystèmes développés sont capables d'enregistrer des signaux électriques émanant du réseau de neurones ensemencés sur nos dispositifs.

Les perspectives de ce travail sont nombreuses. En voici quelques exemples.

Une première perspective à moyen terme concerne l'application spécifique dans ce projet, soit les traumatismes crâniens. Une étude sous contrainte mécanique des microsystèmes avec le protocole biologique envisagé pourrait être réalisée. Une étude sur les cellules neuronales avant et après étirement pourrait être menée afin d'investiguer les traumatismes crâniens au niveau biologique avec par exemple des marqueurs par fluorescence.

Une deuxième perspective à plus long terme consiste à modifier le microsystème en améliorant sa fonctionnalité. Pour cela, l'augmentation de l'étirement du microsystème (supérieur à 20%) et la stabilité mécanique devront être améliorées. D'autres épaisseurs de la SU-8 pourraient être envisagées afin d'étudier le comportement de conducteurs métalliques sur substrat souple. D'autres résines pourraient également être examinées. Cela permettrait d'aboutir à d'autres applications et ainsi étudier d'autres types cultures telles que des cellules musculaires.

Une troisième perspective concerne le microsystème en lui-même. En observant la technologie mature des MEA commerciaux rigides, toutes les électrodes ne reçoivent pas simultanément un signal électrique du réseau neuronal. En partant de ce principe, il est plus propice d'obtenir un signal en augmentant le nombre d'électrodes car nous augmentons la surface d'enregistrement sur le système. Nous pourrions dans un premier temps complexifier le design des électrodes en augmentant leur nombre tout en respectant l'angle critique d'environ 20°. Dans un second temps, un confinement (physique ou chimique) des cellules pourrait être réalisé à l'aide par exemple des canaux microfluidiques afin de séparer les différentes parties d'un neurone, soit les somas d'un côté et les axones de l'autre ou encore d'étudier deux types cellulaires sur un même dispositif. L'utilisation d'un modelage chimique pourrait également être envisagée. En organisant un réseau de neurones suivant une topologie imposée permettrait d'observer l'importance de la régionalisation des propriétés mécaniques et de la détection de la rigidité au sein de microcompartiments neuronaux.

La quatrième perspective concerne la biologie. Sur plusieurs systèmes réalisés au cours de cette thèse, certaines cultures neuronales n'ont pas abouti en des réponses électriques sur les microsystèmes alors que sur les MEA commerciaux ensemencés avec la même culture des

signaux électriques ont été obtenus. Dans un premier temps, une adaptation du protocole biologique pour les microsystèmes étirables pourrait être probante avec par exemple un enregistrement plus rapide des cellules neuronales et un temps moins long dans le MEA 2100© afin de limiter la variation de température du système. Dans un deuxième temps, une étude sur d'autres cultures de neurone déjà matures pourrait être effectuée, avec par exemple des tranches de cerveau qui permettent d'obtenir des signaux électriques en quelques jours ou encore l'étude sur des sphéroïdes. Cette approche permettrait de mettre en avant les problèmes liés aux microsystèmes, dus à de potentiels relargages de produits toxiques ou par manque d'adhésion des cellules sur les microsystèmes.

Annexes

Annexe A : Vérification des épaisseurs de métaux par Microscopie à Force Atomique (AFM)

Pour vérifier l'épaisseur des métaux déposés, nous avons métallisé un substrat de silicium avec un masque par photolithographie (procédé lift-off), permettant d'avoir une meilleure résolution avec l'AFM. Le tableau suivant montre les résultats de ces tests.

Les tests de 20 nm d'or seul et 1 nm de Cr surmonté de 20 nm d'or nous permettent d'observer l'oxydation pour le Cr. Nous avons conclu que l'oxyde natif de Cr est d'environ 1 nm d'épaisseur, et ainsi enlever cette épaisseur d'oxyde pour chaque épaisseur réalisée (dernière ligne du tableau).

Métaux	Cr	Cr	Cr	Cr	Cr	Au	Cr/Au
<i>Temps d'évaporation (s)</i>	2,5	5	10	12,5	15	40	5/40
<i>Epaisseurs réelles (nm)</i>	2,5 - 3	3,3	4 - 5	4,3	6	21,6	23,1
<i>Epaisseurs réelles sans oxyde natif (nm)</i>	1,5 - 2	2,3	3 - 4	3,3	5	21,6	22,1

Tableau A-1. Récapitulatif des épaisseurs mesurées de différents métaux sur silicium.

Annexe B : Etude comparative sous contrainte mécanique des différentes couches d'accroche (Ni, Ti, Cr)

Les échantillons présentés Figure B-1 ont été fabriqués de la même manière qu'expliqué dans le Chapitre II section 2.3.

La Figure B-1 présente des fissures d'étirement pour différents métaux utilisés dans cette étude – or (Figure 8a), nickel/or (Figure 8b), titane/or (Figure 8c) et chrome/or (Figure 8d). L'épaisseur d'or est de 21.6 nm et l'épaisseur des couches d'adhésion est de 2.6 nm.

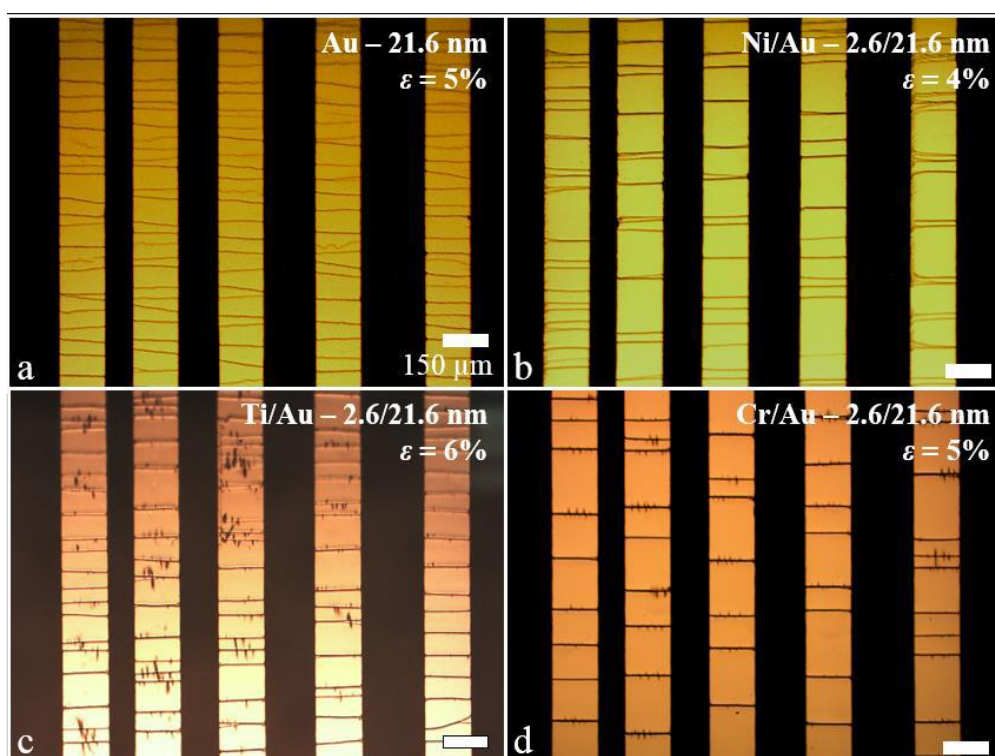


Figure B-1. Fissures d'étirement pour différents types de métaux évaporés en couche mince sur PDMS. (a) Lignes d'or (21.6nm) sans couche d'adhésion. (b) Lignes de nickel/or (2.6/21.6nm). (c) Lignes de titane/or (2.6/21.6nm). (d) Lignes de chrome/or (2.6/21.6nm). L'étirement appliqué pour tous les métaux est compris entre 4% et 6%. Les lignes ont une largeur de 150μm. Les barres d'échelle représentent 150μm.

La Figure B-1 a été obtenue en appliquant un étirement uni-axial sur toute la longueur des lignes (7.95 mm de longueur par 150 μm de largeur). Des fissures d'étirement sont alors observées sur tous les échantillons – on remarque que l'orientation et la périodicité des fissures dépendent du type de métal et de son épaisseur. Par exemple, le film d'or (en absence de couche d'adhésion) amène à des fissures non perpendiculaires, ce qui n'est pas le cas pour des lignes associant or et film d'accroche. Quand le nickel et le titane sont utilisés en couche d'adhésion,

des fissures d'étirement apparaissent en grand nombre sur les films alors qu'ils ne présentaient peu ou pas de fissures de procédé. Et pour finir avec le chrome, les fissures sont quant à elles perpendiculaires par rapport aux bords des lignes, plus nettes et moins nombreuses. Les fissures d'étirement dans de tels films se produisent à de faibles étirements d'environ 5%. La moyenne de la longueur des mesas λ_a et le nombre de fissures (par unité de distance) N pour un étirement d'environ 5% ont été évalués dans le tableau suivant.

Métaux	λ_a (μm)	N (mm^{-1})
Or	47.4	21.1
Nickel/Or	67.1	14.9
Titane/Or	66.7	15
Chrome/Or	136.9	7.3

Tableau B-1. Tableau récapitulatif de la moyenne de la longueur des mesas λ_a et du nombre de fissures N (par unité de distance) pour différents métaux après un étirement uni-axial de 5%.

Annexes C : Courbe de probabilité normale des données expérimentales

Les données de longueurs de *mesas* peuvent être testées pour leur *normalité* – i.e. en accord avec la loi normale dite distribution Gaussienne. Pour pouvoir appliquer cette loi, les données de longueurs de mesas λ de chaque échantillon – et à chaque valeur d'étirement – (n valeurs) sont dans un premier temps classées de la plus petite à la plus grande valeur. Ensuite, chaque donnée (valeur du mesa λ) est assignée à un numéro de donnée intégré (i). Pour finir, la formule suivante est implémentée pour calculer le *score-z* (z_i) :

$$z_i = \Phi^{-1}\left(\frac{i - 0.5}{n}\right)$$

Avec Φ^{-1} la *fonction normale standard quantile*. L'équation ci-dessus est valide à condition que $n > 10$ avec n le nombre de mesa. La solution de cette équation peut être facilement résolue par le logiciel e.g. Excel 2016 (Microsoft, USA). Finalement, les données triées (longueur mesa λ) sont ensuite placées sur l'abscisse (axe x) en fonction de la valeur correspondante z_i calculée, placée sur l'axe des ordonnées (axe y) pour obtenir ce qu'on appelle la *probabilité normale*. La Figure C-1 présente une courbe de probabilité normale typique obtenue par quelques données de longueur de mesa λ .

Quelques points sont à soulever à propos de ces courbes. Tout d'abord, si les données suivaient parfaitement une distribution normale, les points suivraient parfaitement une évolution linéaire. Clairement ce n'est pas le cas ici, mais ils suivent *approximativement* une tendance linéaire – cela justifie l'utilité de l'écart type pour calculer *l'erreur* dans le manuscrit. Ensuite, l'approximation d'une distribution normale semble s'améliorer avec l'augmentation de l'étirement appliqué et les longueurs de mesa qui se réduisent. Cette constatation est visible sur le Tableau C-1 avec le coefficient de détermination (R^2) qui semble augmenter avec l'étirement. Cette dernière observation peut suggérer une meilleure organisation dans le système à petite échelle (de petits mesas) obtenus par étirement mécanique. Finalement, à une valeur d'étirement plus élevée (10% ici) quelques valeurs de longueur de mesa s'éloignent de la distribution normale – voir insert dans la Figure C-1. Plus d'observations et de travail sont à effectuer pour permettre d'approfondir ces observations.

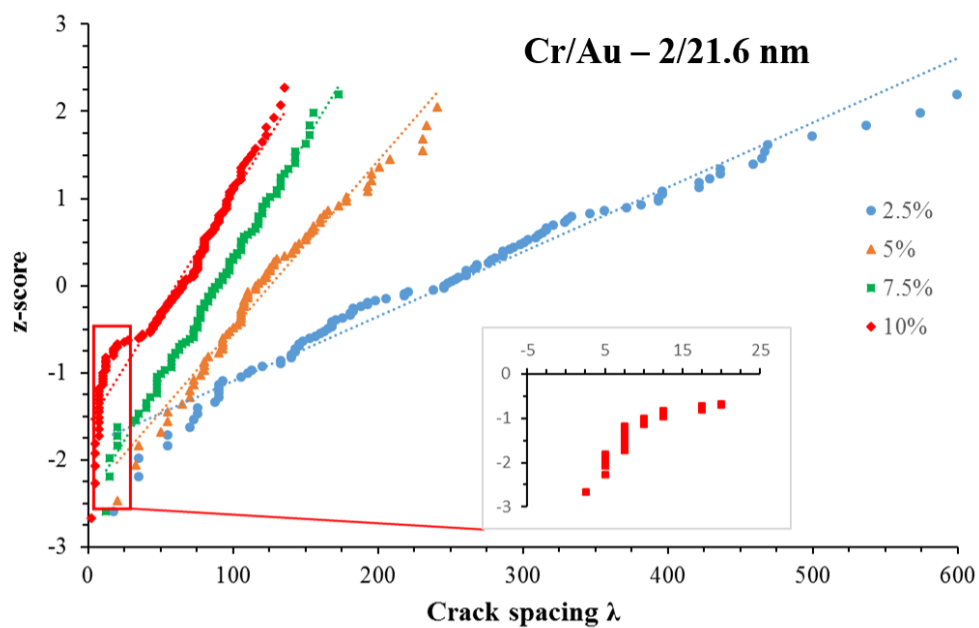


Figure C-1 : Probabilité normale pour les lignes de Cr/Au à différents étirements mécaniques.

Strain (%)	R^2
2.5	0.966
5	0.968
7.5	0.989
10	0.99

Tableau C-1 : Résultats numériques des données expérimentales obtenues dans cette étude.

Annexes D : Courbes de densité des fissures en fonction de l'épaisseur de chrome et de l'étirement appliqué

La Figure D-1 présente les courbes de densité des fissures en fonction de l'étirement appliqué et de l'épaisseur de chrome pour 5 épaisseurs allant de 0.9 nm à 3.3 nm (lignes de 7.95 mm de longueur pour une largeur de 150 μm). Nous observons une augmentation du nombre de fissures pour des épaisseurs comprises entre 0.9 et 2 nm. Ensuite, pour une épaisseur de 2 nm de chrome, un optimum est observé quel que soit l'étirement appliqué. En effet, en dessous d'une épaisseur de 2 nm de chrome, les fissures sont moins nombreuses, de la même manière que pour une épaisseur supérieure à 2 nm. Enfin, pour des épaisseurs de chrome comprises entre 2 et 3.3 nm, la largeur des fissures augmente au détriment de la création des fissures dans les lignes métalliques, c'est pourquoi nous observons une diminution du nombre de fissures.

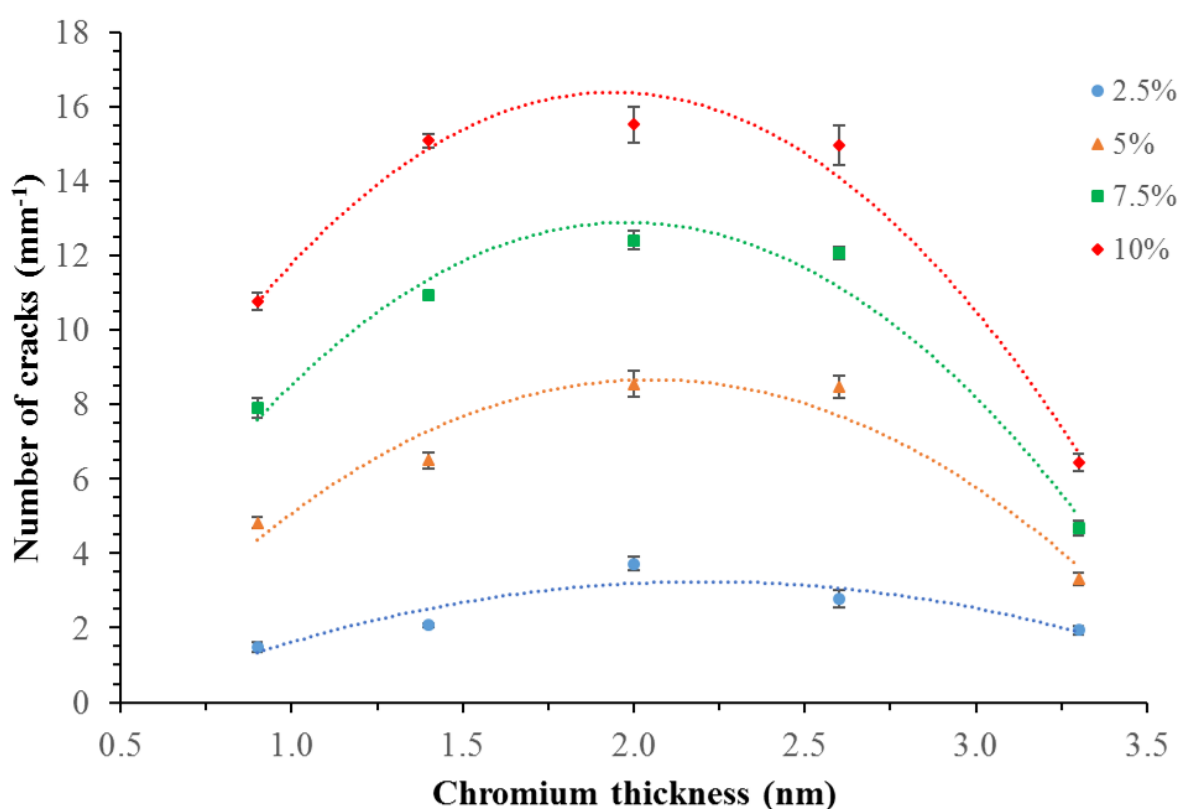


Figure D-1 : Courbes de densité des fissures en fonction de l'étirement appliqué et de l'épaisseur de chrome. Cinq épaisseurs de films de chrome différentes ont été testées, de 0.9 nm à 3.3 nm.

Annexes E : Valeurs tabulaires des Figure II-13 et Figure II-14

Le tableau suivant présente les données numériques récoltées dans cette étude.

	Strain (sample)	Crack spacing		Number of cracks (per length)	
		Lambda (μm)	SD	N (mm ⁻¹)	SD
Cr/Au (0.9/21.6 nm)	2.5%	717.32	291.37	1.48	0.14
	5%	196.60	54.86	4.83	0.14
	7.5%	142.40	46.35	7.92	0.26
	10%	95.59	32.25	10.79	0.23
Cr/Au (1.4/21.6 nm)	2.5%	575.11	220.04	2.08	0.04
	5%	153.01	49.10	6.50	0.20
	7.5%	83.95	38.59	10.94	0.09
	10%	62.73	18.32	15.09	0.18
Cr/Au (2/21.6 nm)	2.5%	255.86	80.54	3.72	0.19
	5%	126.41	26.31	8.55	0.35
	7.5%	87.02	19.54	12.43	0.26
	10%	59.75	19.39	15.53	0.49
Cr/Au (2.6/21.6 nm)	2.5%	368.70	139.67	2.79	0.23
	5%	127.22	35.27	8.48	0.30
	7.5%	90.15	23.06	12.07	0.18
	10%	67.55	16.96	14.97	0.53
Cr/Au (3.3/21.6 nm)	2.5%	539.80	107.01	1.94	0.11
	5%	331.86	90.21	3.32	0.16
	7.5%	240.03	53.39	4.68	0.21
	10%	185.08	40.47	6.44	0.22

Tableau E-1 : Résultats numériques des données expérimentales récoltées dans cette étude pour les Figures II-13 et Figure II-14.

Les données expérimentales de la Figure II-14 du manuscrit sont lissées en utilisant une régression linéaire. L'équation pour le nombre de fissures N (mm⁻¹) en fonction de l'étirement appliqué ε (%) est :

$$N = \alpha\varepsilon + \beta$$

Les données numériques des pentes alpha, de l'intersection beta, et du coefficient de détermination R^2 sont données dans le Tableau E-2 suivant :

Epaisseur de Cr (nm)	Pente α	Intersection β	R^2
0.9	1.241	-1.497	0.998
1.4	1.777	-2.537	0.999
2	1.572	0.233	0.991
2.6	1.605	-0.453	0.975
3.3	0.595	0.377	0.996

Tableau E-2 : Valeurs numériques des pentes, intersections, et coefficient de détermination R^2 pour les données présentées dans la Figure II-14 du manuscrit.

Annexes F : Courbes de coefficient de variation

Afin de révéler l'organisation sous-jacente du ratio de dispersion (écart-type) des fissures d'étirement à la moyenne des longueurs de mesa, nous pouvons les tracer en fonction de l'étirement appliqué pour plusieurs épaisseurs de chrome. Le ratio de l'écart-type à la moyenne est connu sous le nom de coefficient de variation (CV) – utilisé dans ce cas pour mesurer l'ordre (la régularité des longueurs de mesa dans notre cas) avec des changements d'échelle (la largeur de fissure pour notre étude). Pour les films de chrome/or, le CV a été tracé dans la Figure F-1.

Tout d'abord, indépendamment de l'épaisseur, augmenter l'étirement mène à une augmentation apparente de l'organisation des fissures. Ensuite, à de forts étirements, diminuer l'épaisseur de chrome mène à une meilleure organisation des fissures. Par exemple, à une valeur fixe d'étirement de 7.5%, diminuer l'épaisseur de chrome de 3.3 nm à 1.4 nm résulte en une diminution du CV d'un facteur 5.

A de faibles étirements, l'influence des effets de bords et leur concentration de stress associé, mènent à des fissures aléatoires ou 'moins périodiques' quelle que soit l'épaisseur de chrome. Au fur et à mesure que l'étirement augmente, la fissuration devient dominante par la périodicité des fissures.

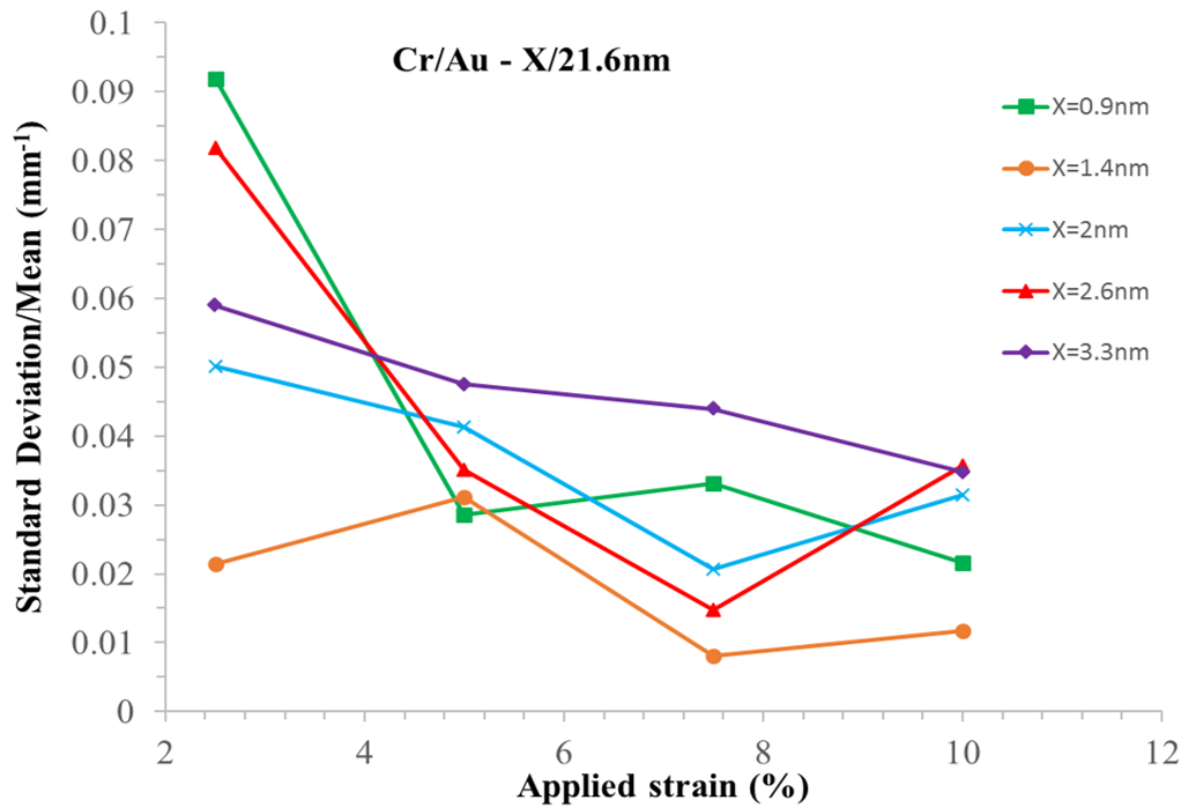


Figure F-1 : Courbes du ratio de l'erreur/moyenne des longueurs de mesa en fonction de l'étirement appliqué et de l'épaisseur du chrome. Cinq épaisseurs de films de chrome différentes ont été testées, de 0.9 nm à 3.3 nm. Les données ont été obtenues à partir de lignes métalliques de 7.95 mm de long par 150 μm de large.

Annexe G : Courbes courant-tension typiques de lignes métalliques orientées transversalement par rapport à l'étirement sur PDMS

La Figure G-1 présente les caractéristiques courant-tension des lignes métalliques de Cr/Au (0.9/21.6 nm) sur PDMS orientées transversalement par rapport à la contrainte mécanique en fonction de l'étirement appliqué sur l'échantillon. On constate que les caractéristiques courant-tension linéaires sont typiques d'un comportement ohmique.

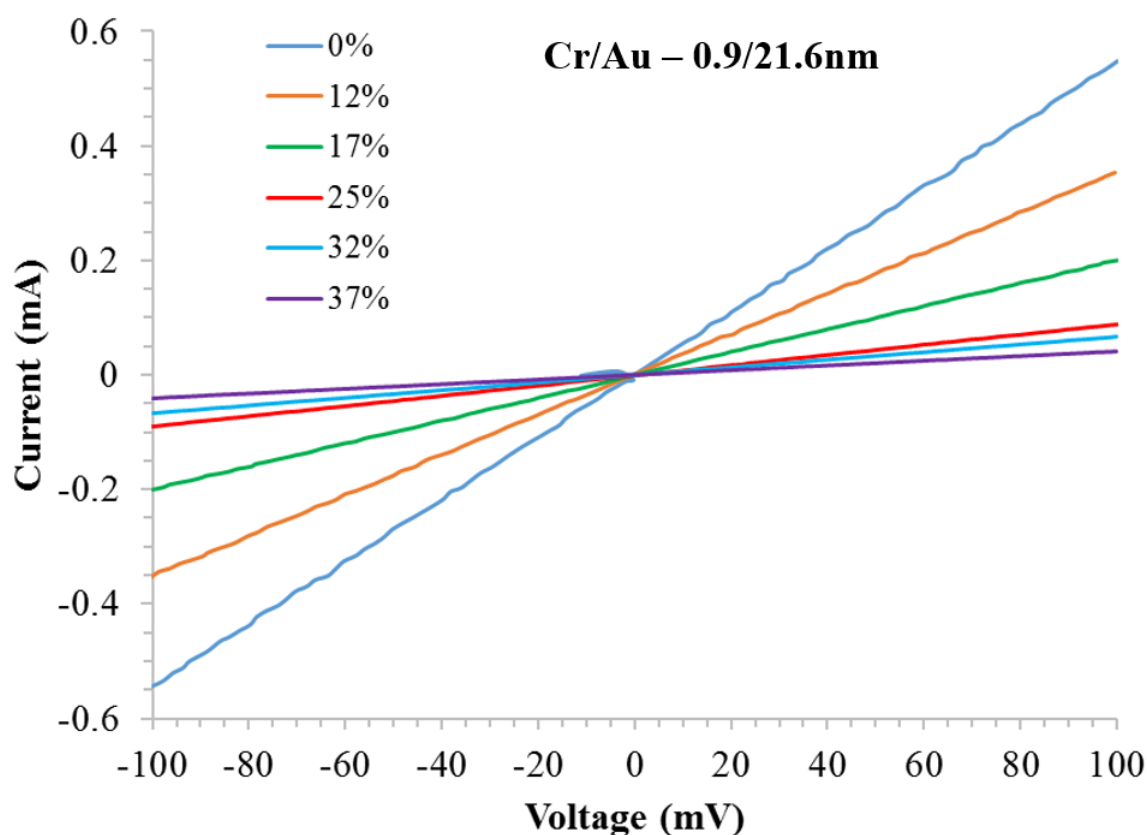


Figure G-1 : Caractéristiques courant-tension des lignes métalliques orientées transversalement par rapport à la contrainte mécanique de Cr/Au sur PDMS en fonction de l'étirement appliqué sur l'échantillon (%).

Annexe H : Influence d'un bourrelet sur une surface de PDMS pour des étapes de photolithographie

Nous avons étudié l'influence d'une surface non planarisée de PDMS (présence d'un bourrelet) sur la résolution des opérations de photolithographie. Pour ce faire, une résine photosensible a été déposée par enduction centrifuge sur deux surfaces de PDMS (avec et sans étape de planarisation). Afin de prouver les bénéfices de cette technique, nous avons réalisé des étapes typiques de photolithographie sur une surface de PDMS obtenue par enduction centrifuge. Pour cela, nous avons utilisé la résine photosensible AZ 1518. Un masque standard de photolithographie chrome/quartz (réalisé dans notre laboratoire) contenant des motifs carrés de dimensions variant de 10 μm à 2 μm de côté a été utilisé pour l'exposition aux UV à 365 nm dans un aligneur. L'épaisseur d'AZ 1518 est d'environ 1.7 μm (mesurée à l'aide d'un profilomètre DektaXT, Bruker, USA). Ce masque a permis d'obtenir des ouvertures dans la résine photosensible sur l'ensemble de la surface de PDMS (à savoir du centre jusqu'au bourrelet présent sur les bords de l'échantillon) afin de déterminer expérimentalement la résolution de la photolithographie sur de telles surfaces. En pratique, les paramètres d'exposition avec le masque étaient en mode « soft contact » avec une pression entre le masque et l'échantillon de l'ordre de 0.2 bar (2×10^4 Pa).

La Figure H-1 présente des images optiques du masque de photolithographie prises à l'aide d'un microscope numérique (VHX-5000, Keyence, Japon), voir Figure H-1(a) ainsi que des motifs associés suite aux étapes de photolithographie sur une surface de PDMS non planarisée et planarisée visible Figure H-1(b) et H-1(c). L'ensemble des photographies ont été prises à 10 mm du bord de l'échantillon (excepté l'encart de la Figure H-1(b) où la photographie a été prise à 5 mm du bord de l'échantillon). En comparant la Figure H-1(b) et la Figure H-1(c), on constate que l'on peut obtenir une résolution de 2 μm en utilisant une surface planarisée de PDMS. En revanche, une résolution beaucoup plus faible est obtenue sur une surface non planarisée de PDMS. La résolution R par photolithographie est calculée par l'équation suivante :

$$R = \frac{3}{2} \sqrt{\lambda \left(s + \frac{z}{2} \right)}; \text{Equation H-1}$$

Avec λ la longueur d'onde de la lumière utilisée pour l'exposition,

s l'écart de distance entre le masque de photolithographie et la résine photosensible

et z l'épaisseur de la résine photosensible.

Dans cette étude, l'écart de distance est expliqué par la présence d'un bourrelet sur le bord de l'échantillon et donc de la non-uniformité de l'épaisseur de PDMS. La résolution obtenue par photolithographie peut être calculée en fonction de la distance latérale du bord de l'échantillon à partir de l'équation H-1, en assimilant s par la différence de distance entre la surface de PDMS et de la hauteur du bourrelet présent sur le bord de l'échantillon. Ce résultat expérimental nous permet d'estimer la résolution dans les deux cas étudiés ici.

Dans le cas de surface de PDMS non planarisée, la résolution est faible excepté à la position supérieure du bourrelet où le masque de photolithographie est en contact avec la résine photosensible. Dans le cas de surface de PDMS planarisée, la résolution reste inférieure à $5\text{ }\mu\text{m}$ du centre de l'échantillon jusqu'à 5 mm du bord de l'échantillon, ce qui représente 87.3% de l'échantillon. Le bénéfice d'une surface planarisée permet donc une surface de travail de l'échantillon bien plus importante que sur une surface non planarisée pour des étapes de photolithographie.

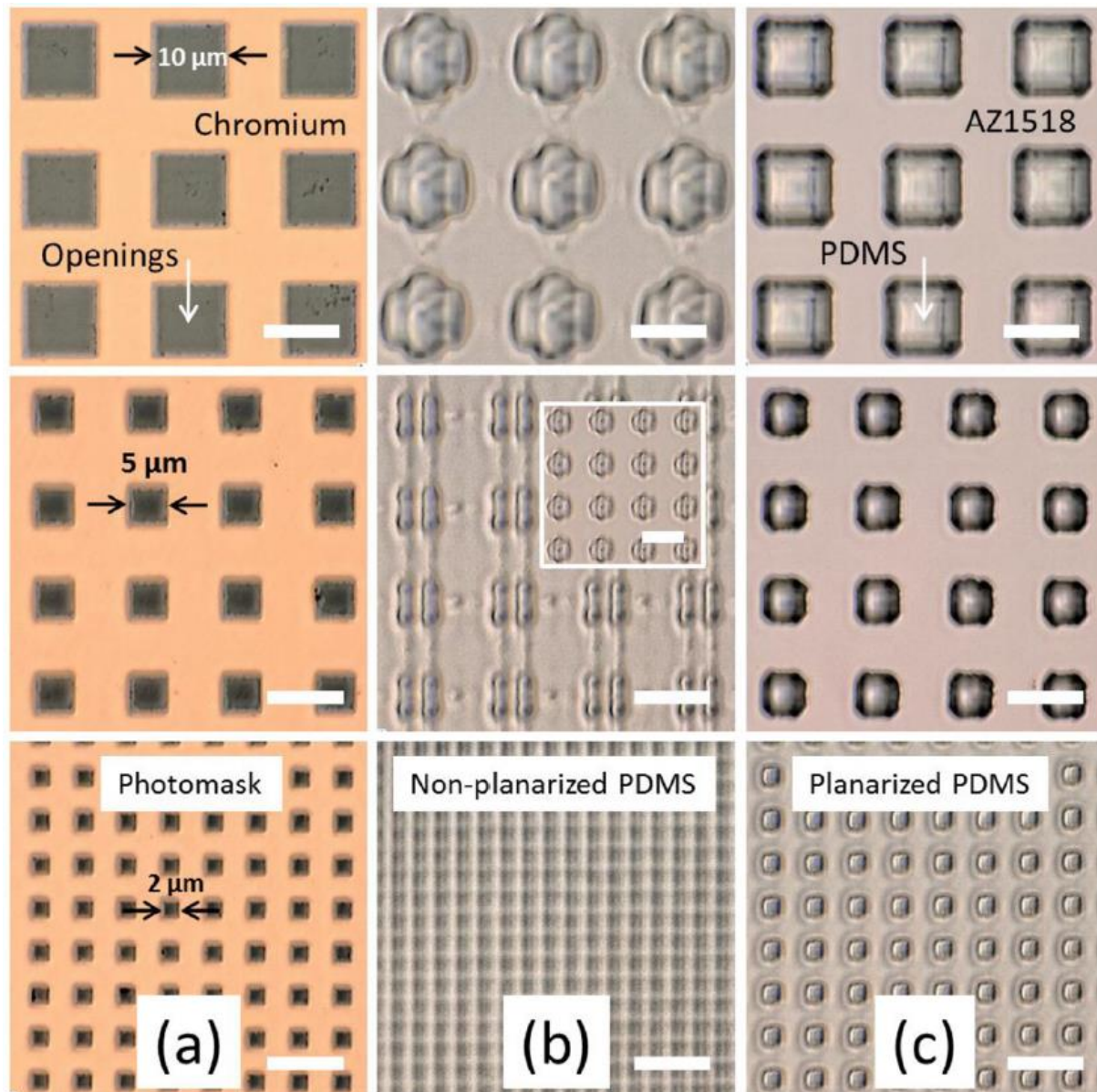


Figure G-1. Etapes de photolithographie réalisées à l'aide d'une résine photosensible positive déposée sur des surfaces de PDMS. (a) Photographies du masque de photolithographie en chrome/quartz utilisé. Les ouvertures carrées ont pour dimensions 10 μm de côté (image du haut), 5 μm de côté (image du centre) et 2 μm de côté (image du bas). (b) Résultats obtenus sur une surface de PDMS non planarisée. (c) Résultats obtenus sur une surface de PDMS planarisée. Les images du haut, du centre et du bas en (b) et (c) correspondent aux ouvertures par photolithographie de la résine photosensible obtenues en utilisant le masque de photolithographie présenté en (a). Les surfaces de PDMS ont été étalées par enduction centrifuge à une vitesse de 250 rpm. L'épaisseur de la résine photosensible AZ 1518 est d'environ 1.7 μm . Les photographies ont été prises à environ 10 mm du bord de l'échantillon excepté pour l'encart sur l'image du centre en (b) qui a été prise à 5 mm du bord de l'échantillon. Les photographies ont été prises à l'aide d'un microscope numérique VHX-5000 (Keyence, Japon). Les barres d'échelle correspondent à 10 μm .

Annexe I : Valeurs tabulaires de la Figure V-3

Le tableau suivant présente les données numériques de l'activité métabolique moyenne présentées Figure V-3.

<u>Moyenne</u>	7-8 DIV	14 DIV	21-22 DIV	28 DIV
Verre	100	100	100	100
Plastique	120	109	116	133
PDMS	115	124	130	123
SU-8 100°C	71	74	26	40
SU-8 180°C	73	95	64	67
SU-8 200°C	38	80	71	79

Tableau I-1. Valeurs numériques de l'activité métabolique moyenne présentées dans la Figure V-3 du manuscrit.

Le tableau suivant présente les données numériques de l'écart-type de l'activité métabolique présenté Figure V-3.

<u>Ecart-type</u>	7-8 DIV	14 DIV	21-22 DIV	28 DIV
Verre	8	8	18	21
Plastique	37	24	13	34
PDMS	42	46	13	2
SU-8 100°C	9	6	10	7
SU-8 180°C	18	43	19	53
SU-8 200°C	19	30	11	37

Tableau I-2. Valeurs numériques de l'écart-type de l'activité métabolique présentées dans la Figure V-3 du manuscrit.

Le tableau suivant présente les données numériques du rapport de la mort cellulaire sur l'activité métabolique moyenne présentée Figure V-3.

<u>Moyenne</u>	7-8 DIV	14 DIV	21-22 DIV	28 DIV
Verre	30	27	22	39
Plastique	26	30	22	25
PDMS	37	32	19	24
SU-8 100°C	56	34	86	54
SU-8 180°C	49	37	38	128
SU-8 200°C	31	42	39	44

Tableau I-3. Valeurs numériques du rapport de la mort cellulaire sur l'activité métabolique moyenne présentées dans la Figure V-3 du manuscrit.

Le tableau suivant présente les données numériques de l'écart-type du rapport de la mort cellulaire sur l'activité métabolique présentée Figure V-3.

<u>Ecart-type</u>	7-8 DIV	14 DIV	21-22 DIV	28 DIV
Verre	13	4	6	34
Plastique	7	5	7	13
PDMS	12	15	8	12
SU-8 100°C	7	5	64	41
SU-8 180°C	22	15	13	159
SU-8 200°C	21	16	6	8

Tableau I-4. Valeurs numériques de l'écart-type du rapport de la mort cellulaire sur l'activité métabolique présentées dans la Figure V-3 du manuscrit.

PUBLICATIONS REALISEES AU COURS DE LA THESE

Baëtens, T., Pallecchi, E., Thomy, V., & Arscott, S. (2018). Cracking effects in squashable and stretchable thin metal films on PDMS for flexible microsystems and electronics. *Scientific reports*, 8(1), 9492.

Baëtens, T., Pallecchi, E., Thomy, V., & Arscott, S. (2019). Metallized SU-8 thin film patterns on stretchable PDMS. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 29(9), 095009.

Baëtens, T., & Arscott, S. (2019). Planarization and edge bead reduction of spin-coated polydimethylsiloxane. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 29(11), 115005.

En révision

Baëtens, T., Begard, S., Pallecchi, E., Thomy, V., Arscott, S. & Halliez, S. Simplified processing of SU-8 photoresist for optimal neuronal cell biocompatibility in BioMEMS. *Materials Today Communications*.

Résumé

Alors que 50 millions de personnes souffrent de traumatismes crâniens chaque année dans le monde entier, le choc (stress mécanique externe), engendré à cette occasion sur le réseau neuronal, peut amener à l'apparition de lésions cérébrales traumatiques. A moyen et long terme, ce processus peut entraîner une neuro-inflammation et la manifestation de pathologies telles que la maladie de Parkinson ou d'Alzheimer. Ce travail de doctorat a pour objectif de développer un microsystème étirable pour l'étude électro-mécanique de réseaux de neurones in vitro. Un tel microsystème doit intégrer des électrodes isolantes, mécaniquement robustes sur le support étirable. La première partie de ce travail a consisté en l'étude de la métallisation directe sur PDMS par masquage physique. Ensuite, une couche mince de la résine photosensible 'SU-8' a été intercalée entre le PDMS et les métaux permettant ainsi de rigidifier les lignes métalliques et déplacer la contrainte mécanique vers le support de PDMS. Afin d'éviter toute fissure sous contrainte mécanique, l'architecture et l'orientation des électrodes a été étudiée et validée par un modèle physique. Dans un deuxième temps, un microsystème de PDMS/SU-8/Cr-Au/Parylène a ensuite été fabriqué par photolithographie via une technologie planaire et est compatible avec le dispositif commercialisé par MultiChannel System© qui permet de visualiser et d'enregistrer les influx nerveux d'un réseau neuronal mature. Pour la fabrication du microsystème étirable, un procédé de microfabrication complet a été développé pour 3 étapes de photolithographie sur PDMS. La fonctionnalité de ce microsystème a été validée par la visualisation de réponses électriques d'un réseau neuronal au bout de 12 jours in vitro (DIV). Ce microsystème présente des électrodes avec un ratio signal/bruit comparable aux MultiElectrode Array (MEA) commerciaux.

Mots clés : microtechnologie, microsystème, électrodes étirables, SU-8, PDMS, réseaux de neurones biologiques.

Abstract

50 million people suffer from head trauma each year worldwide. The shock (external mechanical stress) acting on neural networks inside the brain can lead to the appearance of traumatic brain injuries (TBI). In the short term and long term, this process can lead to neuroinflammation and the manifestation of pathologies such as Parkinson's disease or Alzheimer's disease. This thesis aims to develop a stretchable microsystem for the electromechanical study of neural networks in vitro. Such a microsystem must integrate insulated electrodes which are mechanically robust on the stretchable support. The first part of this work consisted in studying the direct metallization on PDMS using physical masking. Next, a patterned photoresist (SU-8) thin film was then used between the PDMS and the metals. The stiff SU-8 shields the metallization from strain—which now occurs in the adjacent PDMS. In order to avoid cracks under mechanical stress, the architecture and orientation of the electrodes has been studied and validated by a physical model. The second part was the fabrication of a PDMS/SU-8/Cr-Au/Parylene stretchable microsystem by photolithography using a planar process developed during the thesis work. The microsystem is compatible with MultiChannel System© commercial device which allows the visualization and recording the nerve impulses of a mature neural network. A microfabrication process has been developed with 3 photolithography steps on a PDMS substrate. The functionality of the microsystem has been validated by the visualization of electrical responses of neural network at 12 days in vitro (DIV). In addition, this microsystem demonstrates a signal/noise ratio comparable to commercial MultiElectrode Array (MEA).

Keywords: microtechnology, microsystem, stretchable electrodes, SU-8, PDMS, biological neuronal network