

Titre : Mise au point d'un laboratoire sur puce pour la détection de cellules eucaryotes par des capteurs à magnétorésistance géante

Mots clés : biocapteur, diagnostic, magnétorésistance géante, microfluidique

Résumé : Les tests « *in vitro* » permettent d'établir près de 70% des diagnostics et leur développement pour une utilisation au plus près du patient apparaît comme un enjeu majeur de santé publique. Dans ce contexte, les critères ASSURED ("Affordable, Sensitive, Specific, User-friendly, Rapid and robust, Equipment-free and Deliverable to end-users") ont été définis par l'organisation mondiale de la santé pour que les chercheurs développent des outils de diagnostic dits "Point of Care" utilisables par le plus grand nombre. Avec l'essor de la microfluidique, la gamme des dispositifs possibles s'est élargie et des biocapteurs intégrés ont été développés, transformant le signal biologique d'une reconnaissance d'un biomarqueur par une sonde biologique en un signal optique, électrochimique, mécanique ou encore magnétique. Comme les milieux biologiques sont en grande majorité amagnétiques, les capteurs magnétiques ne sont pas affectés par l'utilisation de matrices biologiques complexes comme peuvent l'être les mesures optiques ou électrochimiques. De plus ces capteurs sont faciles à produire et intégrables dans les puces microfluidiques. Cette thèse a pour objectifs de concevoir un outil de diagnostic *in vitro* basé sur des cap-

teurs à magnétorésistance géante et de tester ses performances. Son développement a été mené en utilisant une lignée cellulaire de myélome murin. Les cellules sont marquées spécifiquement par des particules magnétiques fonctionnalisées par des anticorps dirigés contre un de leurs antigènes et sont passées dans le canal microfluidique au-dessus des capteurs. Cette méthode dynamique de détection permet de compter les objets magnétiques un par un. La difficulté réside dans la distinction des signaux spécifiques provenant des cellules marquées des signaux faux positifs induits par les billes restant en solution. Deux types de dispositifs ont été conçus dans cette thèse pour lever ce verrou. Le premier possède une couche inerte de séparation de quelques micromètres entre les capteurs GMR et le canal qui permet de supprimer les signaux des billes isolées. Le second dispositif, qui a des capteurs à la fois au-dessus et au-dessous du canal microfluidique, permet une double détection simultanée de chaque objet magnétique. Il est ainsi possible de connaître le nombre de billes qui les marquent et de déterminer s'il s'agit d'un agrégat de billes ou d'un objet biologique.

Title : Development of a lab on a chip for the detection of eukaryotic cells by giant magnetoresistance sensors

Keywords : biosensor, diagnostic, giant magnetoresistance, microfluidics

Abstract : The "*in vitro*" tests are requested for the establishment of nearly 70% of diagnoses and their development for on-site detection therefore appears to be a major public health issue. In this context, the ASSURED criterion ("Affordable, Sensitive, Specific, User-friendly, User-friendly, Rapid and robust, Equipment-free and Deliverable to end-users") has been defined by the World Health Organization to encourage researchers to develop diagnostic tools called "Point of Care" that can be widely used. With the rise of microfluidics, the range of possible devices has broadened and integrated biosensors have been developed, transforming the biological signal from a biomarker recognition by a biological probe into an optical, electrochemical, mechanical or magnetic signal. As biological environments are largely non-magnetic, magnetic sensors are not affected by the use of complex biological matrices as can be optical or electrochemical measurements. In addition, these sensors are easy to produce and can be integrated into microfluidic chips. The objectives of this thesis are to

design a diagnostic tool *in vitro* based on giant magnetoresistance sensors and to test its performance. Its development was carried out using a murine myeloma cell line. The cells are specifically labeled by magnetic particles functionalized by antibodies directed against one of their antigens and flown in the microfluidic channel above the sensors. This dynamic detection method allows magnetic objects to be counted one by one. The challenge is to distinguish the signals coming from the labeled cells from those of the free beads remaining in solution. In order to address this problem, two labs on chips are developed in this thesis. In a first device, an inner layer of separation of a few micrometers separates the sensors from the channel which allows to suppress the signals of the isolated beads. The second device has sensors both above and below the microfluidic channel and can measure the number of beads corresponding to each doubly detected object which can thus be identified (aggregates or biological objects).

