
Projet thématique MOON

AYRINHAC Elisa¹, DROUIN Clément², and JOUCLARD Charly³

¹HEPIA, MT2, elisa.ayrinhac@hes-so.ch

²HEPIA, MT2, clement.drouin@hes-so.ch

³HEPIA, MT2, charly.jouclard@hes-so.ch

28 avril 2023

Introduction

Le projet thématique viens se placer dans le cadre des études de bachelor en microtechnique option Bio-ingénierie. Cette année notre cliente est une biologiste travaillant sur l'endométriose, une maladie encore peu connue touchant 1 femme sur 10. Cette pathologie se caractérise par le développement de tissu semblable à l'endomètre hors de l'utérus. Ces tissus peuvent proliférer dans les organes voisins comme les ovaires, l'intestins, la vessie ou même les poumons. Les symptômes varient énormément entre les femmes mais ont retiens, le plus souvent, celui de la douleur extrême provoquer par la croissance de ces tissus. Le but de notre projet est de créer un bio-chip qui permettrait d'étudier les tissus de l'endomètre soumis à différentes concentration d'hormones.

Table des matières

1 Etudes préliminaire	3
1.1 Biologie	3
1.2 Etat de l'art	3
1.3 Aperçu du projet	3
1.3.1 Besoins	3
1.3.2 Fonctions	4
1.4 Cahier des charges	5
1.5 Catalogue de solutions	6
1.5.1 Gestion des nutriments, déchets et de la concentration des hormones	6
1.5.2 Contrôler l'environnement extérieur	6
1.5.3 Cultiver les cellules	6
1.5.4 Circulation du fluide	6
1.5.5 Mélanger les fluides	7
1.5.6 Analyser les concentrations	7
1.5.7 Contrôler le système (microcontrôleur)	7
1.5.8 Alimentation	8
1.6 Schéma bloc du système	8
1.7 Déroulé du projet	9
1.8 Choix pour le projet	9
2 Conception mécanique	10
2.1 Mélangeur hydrostatique	10
2.1.1 Simulation fluidique	10
2.1.2 CAO du mélangeur	10
2.2 Zone de culture	10
2.3 Support des réservoirs	10
3 Conception électronique et programmation	11
3.1 Carte d'alimentation	11
3.2 Programmation	11
3.2.1 GitHub	11
3.2.2 Raspberry Pi	11
3.2.3 Préparation des données	11
4 Conclusion	13
5 Annexe	14

1 Etudes préliminaire

1.1 Biologie

Pour que l'expérience soit optimale, le client a besoin de suivre l'évolution d'un tissu d'endomètre sur la durée d'un cycle endométrial. Le système doit être compact et permettre l'observation des cellules en culture ainsi que la possibilité de collecter des cellules et du milieu de culture pour analyse. Afin mieux comprendre comment concevoir un appareil correspondant à la demande du client, une courte introduction biologique est nécessaire. L'endomètre est un épithélium qui compose une partie de l'appareil reproducteur féminin, il tapisse les parois de la cavité utérine et est composé de 3 couches : Le myomètre qui est la fondation de l'endomètre, la couche basale qui contient les glandes et les tissu conjonctifs et la couche fonctionnelle. Cette dernière couche est celle qui voit sa taille changer durant le cycle menstruel qui est réglé par 4 Hormones. L'hypothèse émise par la biologiste serait qu'il y a une influence du cycle hormonale sur l'apparition de l'endométriose. Il y a notamment deux hormones qui sont suspecter, l'estradiol et la progestérone. Nous allons donc devoir recréer les concentrations de ce cycle et les appliquer à des cellules in-vitro.

1.2 Etat de l'art

Actuellement la culture cellulaire est un procédé connu et maîtrisé par l'Homme qui consiste à placer des cellules dans un milieu de culture afin de les faire proliférer. Cette méthode permet d'avoir des colonies de cellule pouvant aller jusqu'à former des organoïdes. Organoïdes pouvant être utilisés à des fins de recherche sur l'organe miniaturisé. La méthode d'incubation consiste à placer dans un incubateur une colonie de cellules contenue dans un milieu nutritif. Pour maintenir de bonnes conditions on place ces échantillons dans l'enceinte d'un incubateur qui permet d'isoler les cellules du milieu extérieur tout en maintenant les constantes de températures, d'humidité et de CO₂ de façon optimale. Les incubateurs professionnels sont des machines de précision, asservis qui permettent de régler précisément toutes les conditions de leur enceinte, cela permet de chercher l'expression de certains phénotypes au sein des colonies. Ils sont aussi dotés de sécurité notamment en termes de ventilation afin de protéger les cellules et le biologiste. Toutefois cette précision rend le matériel cher. Il faut compter entre 5000 CHF et 15000 CHF pour un incubateur professionnel. L'incubateur fait maison est moins précis mais permet une personnalisation complète en termes de conditions de culture. Toutefois même si cela reste compliqué à construire dans sa totalité, il est assez simple de stabiliser la température et l'humidité. Ces machines permettent de créer une atmosphère apte à la reproduction cellulaire toutefois afin de contenir les cellules et leur milieu nutritif il faut des instruments de culture. L'écouvillon : Il s'agit de petit tube muni d'un couvercle étanche en plastique dans lequel on place un peu de liquide du fait de leur petite taille et de leur facilité de conception ils peuvent être alignés afin de faciliter la reproductivité toutefois il ne possède aucune capacité permettant de maintenir l'homéostasie de la cellule. La verrerie de chimie : On peut utiliser techniquement tout contenant biocompatible.

1.3 Aperçu du projet

1.3.1 Besoins

On peut voir avec la figure 1 que le système conçu va permettre au biologiste d'étudier l'influence des hormones sur du tissu endométrial.

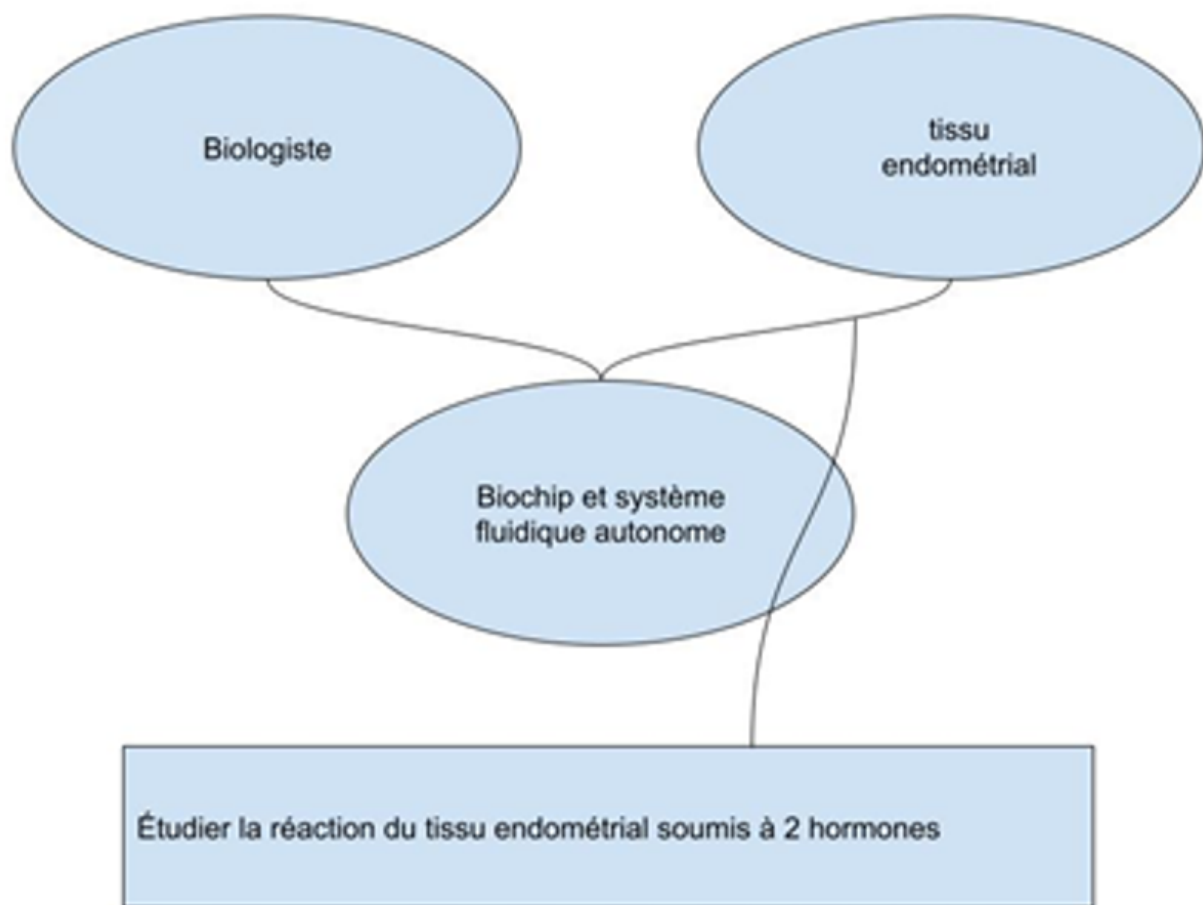


Figure 1: Bête à corne

1.3.2 Fonctions

N°	Fonction
FP1	Maintenir les cellules en vie
FP2	Intégrer des concentrations spécifiques d'hormone
FC3	Observer les cellules au microscope
FC4	Alimenter le système en énergie
FC5	Réaliser un système autonome
FC6	Résister au milieu imposé par les cellules
FC7	Utiliser un matériau biocompatible
FC8	Respecter le budget
FC9	Assurer un cycle de 28 jours

Table 1: Tableau des fonctions à assurer

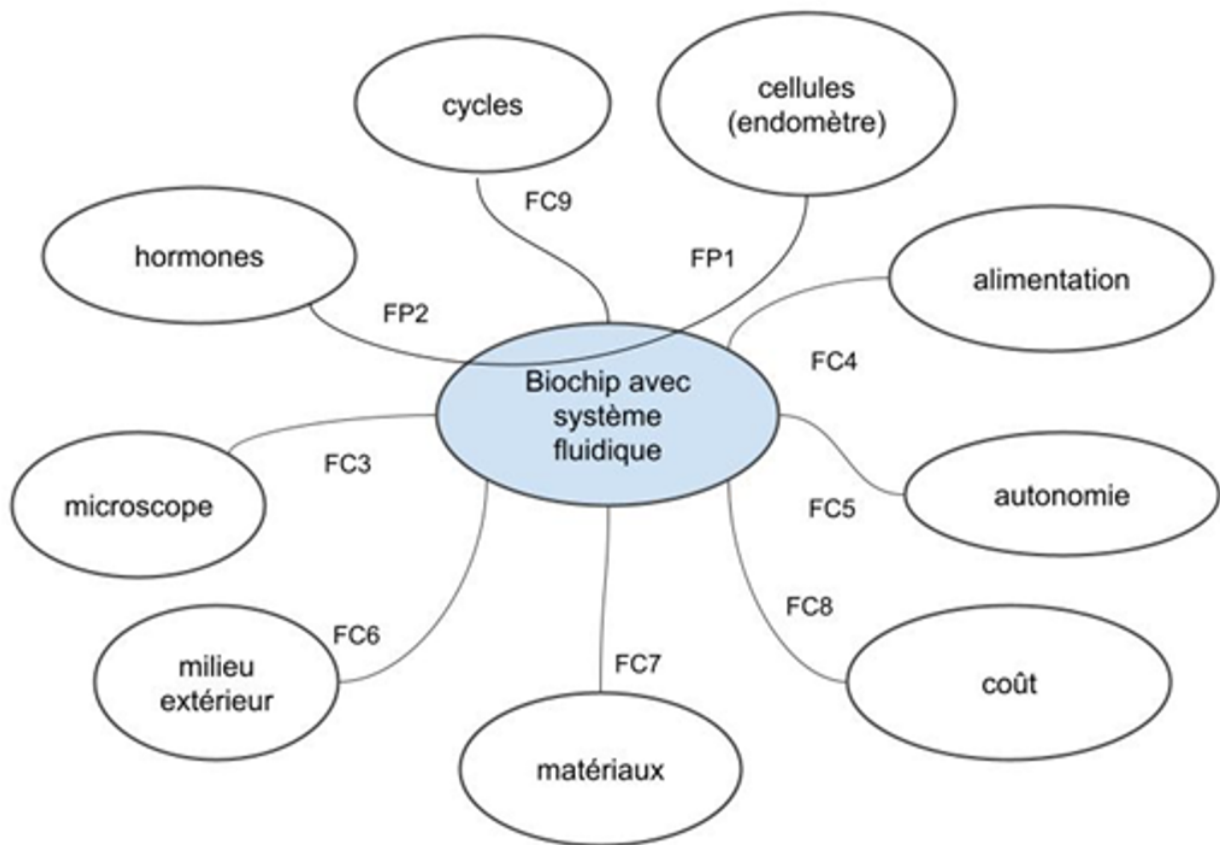


Figure 2: Diagramme pieuvre avec les fonctions associés

1.4 Cahier des charges

La première fonction à prendre en compte est la survie des cellules. Pour cela, notre système devra respecter les paramètres suivants :

- une température de 37 °C
- un pH de 7
- un renouvellement du milieu de culture de 1 ml par jours
- atténué toute variation de milieu
- la Biocompatibilité du milieu

Pour ce qui est du système fluide, il permet l'apport du milieu de culture à la cellule et donc nécessite de répondre aux points suivants :

- un système étanche
- un écoulement laminaire
- un système de purge
- un système d'injection d'hormones
- un mélangeur pour éviter des pics de concentration
- une pompe pour un système dynamique

Enfin, le système dans sa globalité devra assurer :

- une autonomie de 28 jours minimum
- une zone transparente permettant l'observation des cellules

1.5 Catalogue de solutions

1.5.1 Gestion des nutriments, déchets et de la concentration des hormones

Solution	Avantages	Inconvénients
Seringues auto-poussés	-Précis -Facile d'utilisation -Facilement programmable -Réponse linéaire	-Energie -Limité en quantité -Espace
Pompe péristaltiques[1]	-Déjà présent au labo	-Peu précis -Energie
Système de goutte à goutte	-Low-cost -Economique en énergie	-Précision -A pression atmosphérique -Complexité d'asservissement -Réponse chaotique

Table 2: Solutions pour la gestion des nutriments, déchets et des hormones

1.5.2 Contrôler l'environnement extérieur

Solution	Avantages	Inconvénients
Incubateur	-Constante externe stable -A disposition -Retour d'expérience	-Placé dans l'incubateur -Protéger l'électronique
Système autonome	-Pas de dépendance	-Complicé à réaliser -Energivore -Coût

Table 3: Solutions pour gérer l'environnement extérieur

1.5.3 Cultiver les cellules

Solution	Avantages	Inconvénients
Bio-chip en PMMA	-Usinage -Retour d'expérience -Sur mesure -Fluidique intégré	-Assemblage par couche -Long à fabriquer
Boîte de pétris	-Coût -Stérilité	-Pas de circulation de fluide

Table 4: Solutions pour le milieu de culture

1.5.4 Circulation du fluide

Solution	Avantages	Inconvénients
Pompe péristaltique	-Déjà présent au labo -Facile d'utilisation -Pas de contamination	-Débit limité -Energie
Gravité	-Pas besoin de matériel spécifique -Pas besoin d'alimentation	-Complicé à mettre en oeuvre

Table 5: Solutions pour injecter les différents fluides

1.5.5 Mélanger les fluides

Solution	Avantages	Inconvénients
Mélangeur hydrostatique "2D"	<ul style="list-style-type: none"> -Economique -Facilité d'intégration -Compact -Volume sur mesure -Modélisable 	<ul style="list-style-type: none"> -A créer -Perte de charge
Mélangeur hydrostatique "3D"	<ul style="list-style-type: none"> -Economique -Facilité d'intégration -Compact -Volume sur mesure -Modélisable 	<ul style="list-style-type: none"> -A créer -Perte de charge -Usinage
Mélangeur magnétique	<ul style="list-style-type: none"> -Déjà présent au labo -Facilement nettoyable -Gestion de la puissance 	<ul style="list-style-type: none"> -Espace -Biocompatibilité -Non modélisable -Non pilotable

Table 6: Solutions pour assurer l'homogénéité des liquides

1.5.6 Analyser les concentrations

Solution	Avantages	Inconvénients
Colorimètre externe	<ul style="list-style-type: none"> -Facilité d'intégration -Précis -Déjà présent au labo 	<ul style="list-style-type: none"> -Aucune donnée interne -Nécessite présence utilisateur
Colorimètre interne	<ul style="list-style-type: none"> -Retour en temps réel -Gain de précision de l'asservissement -Donnée interne au système 	<ul style="list-style-type: none"> -A créer -Précision

Table 7: Solutions pour contrôler les concentrations

1.5.7 Contrôler le système (microcontrôleur)

Solution	Avantages	Inconvénients
Arduino Uno	<ul style="list-style-type: none"> -Facilité d'utilisation -Flexible 	<ul style="list-style-type: none"> -Pas de stockage interne -Pas de contrôle à distance -Pas de possibilité d'utiliser python -14 pin
Raspberry Pi	<ul style="list-style-type: none"> -Retour en temps réel -Contrôlable à distance -Stockage interne -Utilisation possible de Python -40 pin 	<ul style="list-style-type: none"> -Faible disponibilité

Table 8: Solutions pour commander le système

1.5.8 Alimentation

Solution	Avantages	Inconvénients
Secteur	-Disponibilité	-Toujours branché
Batteries	-Portable	-Prix -Recharge compliqué

Table 9: Solutions pour alimenter le bio-chip

1.6 Schéma bloc du système

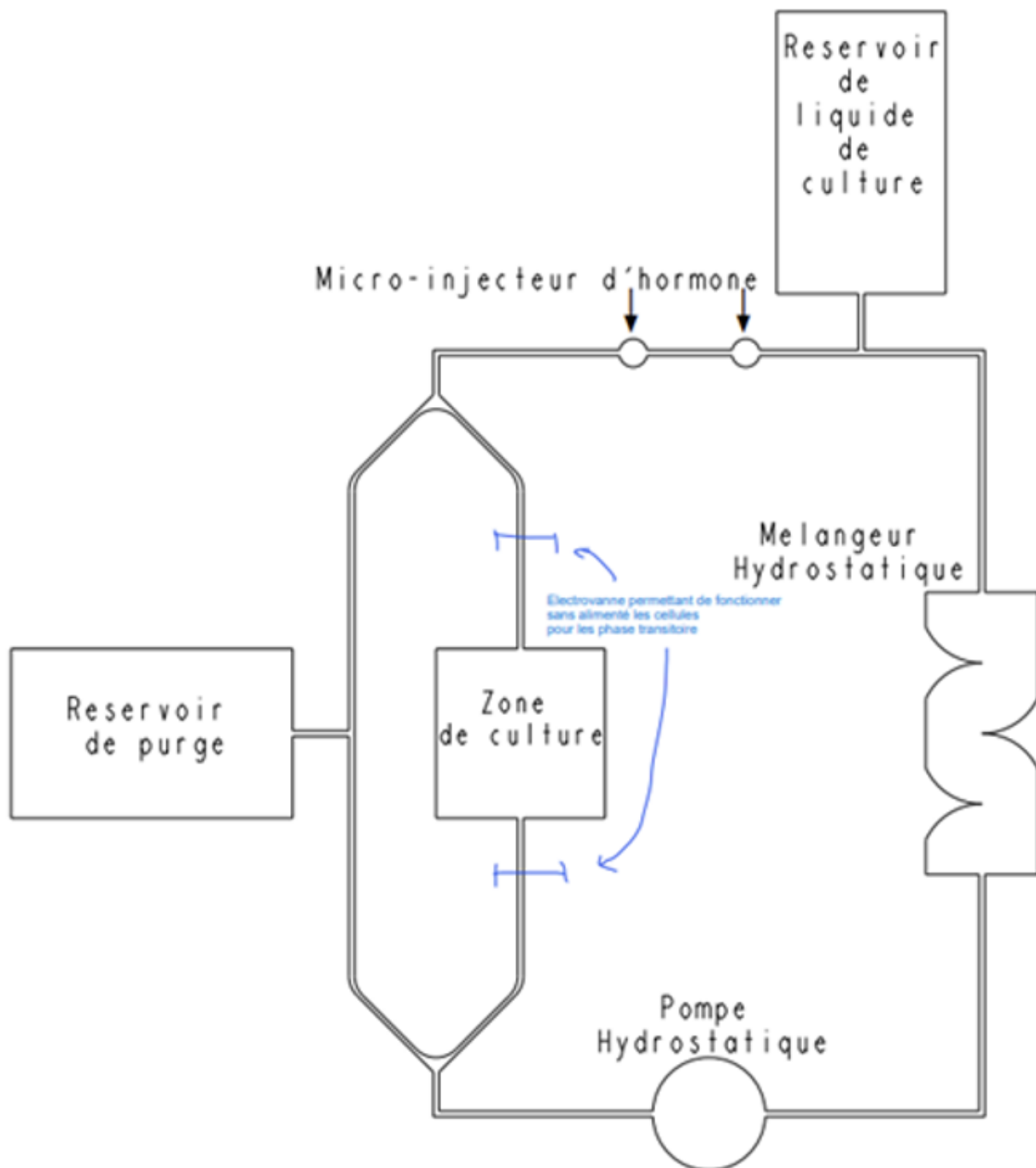


Figure 3: Schéma bloc du système

1.7 Déroulé du projet

insert diagramme de gant

1.8 Choix pour le projet

Nous estimons que pour réaliser la culture de cellule de l'endomètre, tout en respectant le cahier des charges, il faut concevoir notre propre bio-chip. Pour ce faire on va utiliser différents outils disponibles dans le laboratoire afin de diminuer les coûts. Certaines pièces devront être fabriqués afin de répondre à nos besoins comme le boîtier de notre bio-chip. Pour accueillir nos cellules nous utiliserons un boîtier en PMMA que nous fabriquerons sur place grâce à la découpe laser qui se trouve dans le campus. Pour la régulation de l'environnement on utilisera un incubateur présent dans le laboratoire car cela diminuera le cout de fabrication. Nous utiliserons un Raspberry pi pour contrôler notre bio-chip car il dispose de beaucoup plus d'avantage que l'Arduino UNO et il nous permettra de contrôler notre bio-chip à distance. Pour l'apport d'hormones et de nutriment on utilisera des pousses seringues qui sont disponible dans le laboratoire. Pour faire circuler le fluide dans notre boîtier on prendra des pompes péristaltiques qui sont fournis. L'ensemble du bio-chip sera alimenté par le secteur afin de limiter les coûts de fabrication et éviter de devoir développer un système avec une batterie

2 Conception mécanique

2.1 Mélangeur hydrostatique

2.1.1 Simulation fluidique

2.1.2 CAO du mélangeur

2.2 Zone de culture

2.3 Support des réservoirs

3 Conception électronique et programmation

3.1 Carte d'alimentation

L'alimentation de tous le biochip se fera via l'alimentation d'un Arduino de 60 W. Il arrive sur la carte d'alimentation via la connectique circulaire JAlim. U1 est un régulateur de tension à découpage de la marque TRACO, il permet de descendre la tension de 12V à 5V il sert à alimenter le Raspberry pi qui sera alimenter par ses pins GPIO. Les moteurs seront contrôlés par les mosfet M1, M2 et M3. Les moteurs seront branchés à la carte via des connecteurs circulaire afin que le système soit le plus flexible possible. Les diodes D1, D2 et D3 sont des diodes de roues libres.

3.2 Programmation

3.2.1 GitHub

On a mis en place un GitHub pour se partager les codes de programmation, le "repo" contient aussi une ébauche du guide d'utilisateur. Le guide d'utilisateur contient actuellement uniquement les requirements pour le Raspberry pi ainsi que les commandes à utiliser.

3.2.2 Raspberry Pi

On a configuré le Raspberry pi 4 pour qu'on puisse se connecter dessus à distance à l'aide du protocole SSH. On peut s'y connecter facilement dessus à partir du moment que l'on se trouve sur le même réseau wifi. On peut lui transmettre des fichiers ainsi que récupérer des fichiers qui sont stockées dessus.

3.2.3 Préparation des données

Ce code permet de préparer les datas afin de pouvoir être utiliser par le logiciel qui contrôle le biochip. Il a été conçu pour que l'utilisateur rentre un minimum de donner afin de gagner du temps. Il permet de convertir un fichier csv que l'utilisateur aura créée au préalable avec les différents jalons de concentration en un fichier qui contient toutes les concentrations de l'expérience sur 28 jours. Sur la figure 4 on peut voir une représentation des données rentrées par l'utilisateur et les données produites par le programme.

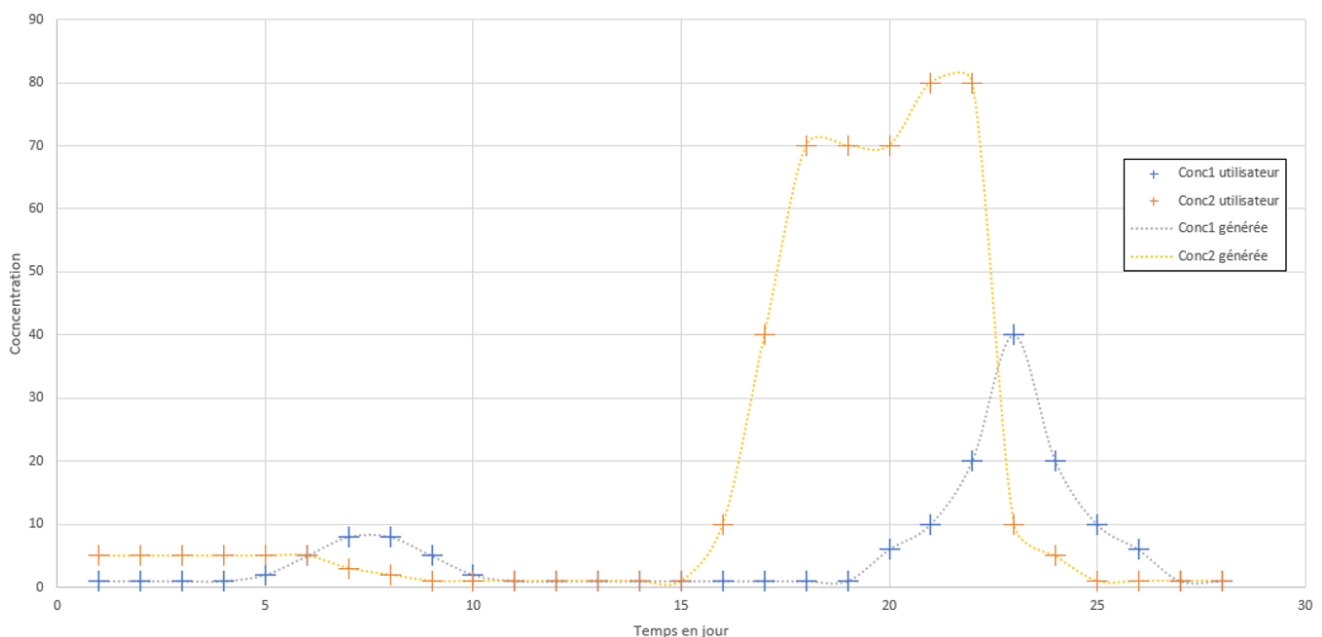


Figure 4: Données générées par le programme avec les données rentrées par l'utilisateur

On peut l'utiliser directement sur un ordinateur puis envoyer le fichier généré sur le Raspberry pi ou bien on peut envoyer le fichier csv sur le Raspberry pi puis le générer directement sur le Raspberry pi. Le fichier

génééré est un fichier de type ftr il n'est donc pas lisible directement ceci est fait afin de gagner en rapidité d'exécution et gagner du stockage. Si on utilisait un fichier csv équivalent il contiendrait tellement de données qu'il faudrait plusieurs secondes pour le génééré et il prendrait 10 fois plus de stockage. Le fichier à préparer doit être présenter sous la forme :

Time	Conc1	Conc2
0	1	1
2	6	8
10	2	1
15	4	2

4 Conclusion

5 Annexe

References

- [1] Welco. *WPM peristaltic pump selection guide*.