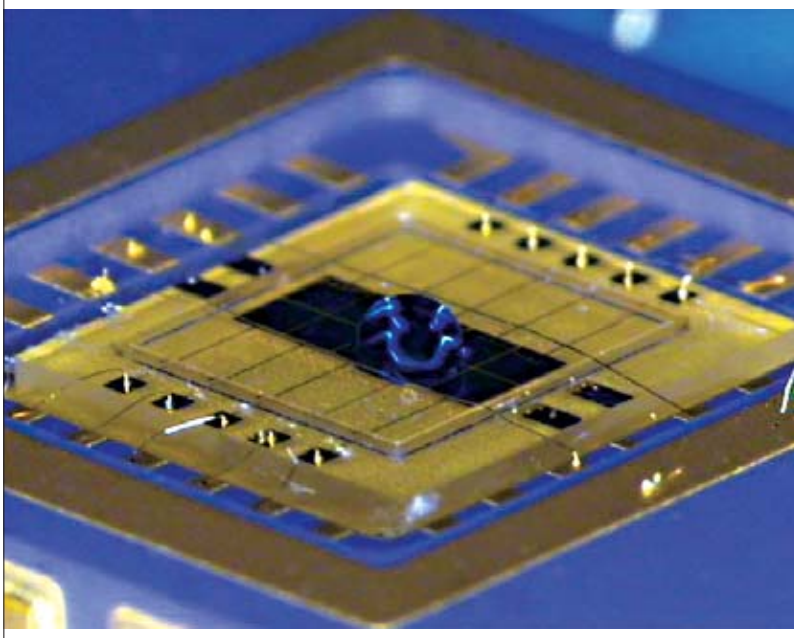
Les **micro-** et **nano-technologies** pour **le vivant**



CEA

Puce EWOD, microsystème permettant la manipulation de gouttes de 100 nanolitres par électromouillage. Grâce aux électrodes mises une à une sous tension, la goutte d'échantillon se déplace.

Au cours des dernières décennies, notre compréhension des bases de la gestion de l'information dans le monde du vivant a progressé à grands bonds, avec la découverte de la structure en double hélice de la molécule d'ADN puis son séquençage et l'analyse fonctionnelle des gènes. Durant le même laps de temps, les sciences et technologies de l'information ont réalisé des prouesses époustouflantes. Du rapprochement de ces deux domaines émergent des nouveaux champs interdisciplinaires pour la recherche scientifique avec des applications au bénéfice de la société et de ses citoyens.

Vers des microsystèmes d'analyse interfacés avec le vivant

Identifier une pathologie, choisir la thérapie appropriée et suivre ses effets, dépister chez un individu sain des prédispositions génétiques à certaines maladies, effectuer des analyses biomédicales dans de véritables laboratoires miniaturisés en n'utilisant qu'une goutte de sang, permettant ainsi de réduire le volume des prélèvements, la consommation de réactifs, le temps et les coûts, analyser et manipuler à grande échelle et de façon individualisée la cellule vivante, telles sont les applications prometteuses en cours de développement des nanotechnologies.

Aujourd'hui, les chercheurs disposent d'outils qui ne se limitent plus aux équipements et réactifs de laboratoire. Ils utilisent des instruments issus des hautes technologies et des programmes informatiques puissants pour découvrir les principes de base et les comportements qui gouvernent les mécanismes du vivant aux niveaux moléculaire, cellulaire, des organismes et à l'échelle des populations.
Les avancées technologiques renforceront l'importance du diagnostic à toutes les étapes de suivi du patient : identification de la maladie, localisation, choix des traitements et observation des effets de la thérapie sur la maladie et sur le patient. Le développement de la pharmacogénétique[1] prépare la prochaine avancée majeure, le dépistage chez des sujets sains de prédispositions **génétiques** à certains cancers, à des maladies cardiovasculaires ou encore à d'autres affections héréditaires. Des tests similaires seront employés pour identifier les patients dont le profil génétique peut conduire à des effets secondaires adverses en réaction à un médicament ou à une classe de médicaments. Avec les nouveaux tests, les hôpitaux et laboratoires d'analyse médicale s'équiperont d'instruments et de systèmes d'information en partie inspirés des technologies aujourd'hui développées et utilisées à des fins scientifiques, comme par exemple la **spectrométrie de masse** et les **biopuces**.
Dans les années 1990, les biopuces ont été mises au point pour l'exploitation parallèle et à haut débit des

(1) Pharmacogénétique : étude de la variabilité des réponses pharmacologiques en fonction du profil génétique des individus, par analyse des expressions phénotypiques (caractères apparents d'une cellule, voire d'un organisme, résultant de l'expression de ses gènes, *via* la synthèse de protéines), en particulier des différences dans l'équipement enzymatique et ses conséquences sur le métabolisme.

données et corrélats de la nouvelle biologie, celle du **génome** puis celle du **protéome**. Les premières puces à **ADN** ont été rapidement commercialisées avec des succès retentissants tant sur le plan scientifique que financier. La masse d'informations collectées et le débit des puces ont été sans précédent et ont révolutionné la recherche en biologie. Une nouvelle voie est ouverte pour les approches analytiques à haut débit et de nombreuses équipes se lancent dans la recherche et le développement de microsystèmes d'analyse pour la biologie. À l'heure actuelle, l'éventail des analyses miniaturisées couvre les domaines de la biologie moléculaire, structurale et cellulaire avec des applications allant du diagnostic médical à la surveillance de l'environnement. À la base de ces développements, deux approches répondent à l'adage *smaller, faster, cheaper* (plus petit, plus rapide, moins cher) : les *microarrays*, d'une part, constituées de milliers de *spots* **micrométriques** de **molécules** biologiques (ADN ou **protéines**) arrangés en matrice sur une lame de verre ou de **silicium** dans un ordre prédéterminé et la *microfluidique*, d'autre part, ou l'art de manipuler des volumes d'échantillons et de réactifs inférieurs au microlitre (10^{-6} litre). À l'intersection de ces deux disciplines, les *labopuces* de demain seront des systèmes intégrant toutes les étapes, du traitement de l'échantillon au rendu du résultat. Ces labopuces auront absorbé au passage des composants microélectroniques, optiques et logiciels et seront fabriqués avec des techniques mises au point pour la microélectronique.

Dans cette course à la miniaturisation et à l'intégration, les cellules trouvent naturellement leur place, et aujourd'hui de nombreux développements visent à créer des microsystèmes d'analyse interfacés avec le vivant. Ces *cell-on-chips* permettront des analyses phénotypiques, électriques et optiques, à la fois à grande échelle et à l'échelle de la cellule unique. Héberger le vivant n'est pas une mince affaire et préserver les fonctions fragiles de la microélectronique des pollutions biologiques en est une autre.

Irrésistiblement, les biopuces subiront l'évolution de leurs cousins **microprocesseurs** vers l'extrême miniaturisation. Nanosciences et nanotechnologies seront mises à contribution pour réaliser les capteurs **biomimétiques**, c'est-à-dire qui s'inspirent des mécanismes de reconnaissance moléculaire et de transduction des signaux rencontrés dans le monde vivant. Ces "nez électroniques" présenteront des sensibilités et sélectivités proches de celles du règne animal, un milliard de fois plus performantes que pour la meilleure technologie disponible actuellement.

P. Chagnon/BSIP-CEA

Grâce au dispositif MeDICS, faire léviter, déplacer dans toutes les directions, analyser et récupérer une cellule unique sont devenus un jeu d'enfant.

Les *microarrays*, la force brute

Les *microarrays* ouvrent le bal en 1991 avec la publication par Stephen P. A. Fodor, dans la revue *Science*(2), d'une méthode de fabrication de puces à oligonucléotides(3) par synthèse chimique *in situ*, **base** par base, utilisant la photolithographie (encadré E, ***La lithographie, clé de la miniaturisation***, p. 37), l'une des techniques fondamentales de la microélectronique. La société américaine Affymetrix, leader mondial des biopuces, met au point le procédé qui permet d'atteindre une densité de 1 million de **sondes** par cm^2. Les premières puces sont commercialisées dès 1995.

Alors que les puces d'Affymetrix sont limitées à de petits oligonucléotides de 25 bases au maximum, d'autres mettent en œuvre des produits **PCR** (***Polymerase Chain Reaction***), des plasmides(4), de l'ADN génomique ou des oligonucléotides longs, de 50 à 70 bases. Les puces sont élaborées par différentes méthodes, incluant la simple impression des sondes sur une lame de microscope.

Les *microarrays* servent essentiellement à mesurer le niveau d'expression de centaines, voire de milliers de **gènes**. L'**ARN messager** (**ARNm**) est extrait des cellules d'un même type, converti en ADN complémentaire (ADNc) puis amplifié et marqué à l'aide d'une substance **fluorescente**. Une molécule d'ADNc, complémentaire de l'une des sondes de la puce, va coller par **hybridation** sur le *spot* correspondant et être détectée à l'aide d'un *scanner* de puces. L'intensité de la lumière émise dépend du nombre de copies d'un ARNm spécifique présent, et donc de l'activité ou du niveau d'expression du gène. En un sens, ces *microarrays* sont une représentation, ou un profil, des gènes actifs ou inactifs à un moment donné dans un type cellulaire particulier. Les premiers résultats sont parus en 1995 dans la revue *Science* et le premier génome complet d'eucaryote(5) (la levure(6) *Saccharomyces cerevisiae*) obtenu sur une puce a été

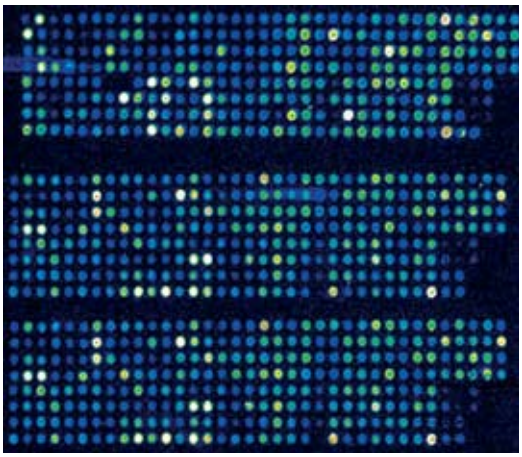
(2) *Science*, 251, pp. 767-773.

(3) Oligonucléotide : court fragment d'ADN composé de deux à quelques dizaines de nucléotides. Les nucléotides sont constitués d'une base (purique ou pyrimidique), d'un sucre et d'un groupement phosphate.

(4) Plasmide : macromolécule circulaire d'ADN présente chez les bactéries, capable de se répliquer de façon autonome.

(5) Eucaryote : organisme vivant composé d'une ou de plusieurs cellules possédant un noyau et un cytoplasme distincts.

(6) Levure : champignon microscopique unicellulaire se reproduisant principalement de façon asexuée.



CEA

Image obtenue par *scanner* de fluorescence d'une puce à ADN.

publié dès 1997. Aujourd'hui, plusieurs sociétés (Agilent, Affymetrix) proposent des *microarrays* couvrant l'intégralité du génome humain.
Les puces à ADN permettent également de détecter les variations génétiques d'un individu à l'autre ou entre populations. Grâce aux fortes densités de sondes, il est possible de réaliser des tests génétiques sur un éventail important d'éventuelles altérations du génome. Ces approches sont susceptibles d'être utilisées dans de nombreuses situations pathologiques. Dans le cas d'infections, elles donneront les moyens d'identifier rapidement l'agent responsable, **bactérie** ou **virus**, de le typer génétiquement et de choisir le traitement le plus efficace. Pour le cancer, il sera possible de rechercher les facteurs génétiques liés à un risque important d'apparition de la maladie. Le patient pourra alors adapter ses habitudes de vie, suivre un traitement préventif et sa maladie sera détectée à un stade très précoce, avant l'apparition des symptômes. La tendance s'infléchit donc vers des puces "ciblées" sur une condition, un symptôme, un trait génétique particulier. La priorité sera donnée au prix de revient, à la robustesse, à la sensibilité et à la sélectivité des puces de basse et moyenne densités destinées au diagnostic médical.
Mais, l'ADN ce n'est pas les protéines ! Le génome seul ne permet pas de décrire la fonction des protéines pour lesquelles il code(7), ni les mécanismes qui régulent leur concentration dans les cellules. De plus, les protéines actives sont souvent le résultat de modifications post-traductionnelles(8) qui s'opèrent dans les divers **compartiments** cellulaires. De fait, le nombre de protéines différentes est estimé à environ 500 000, alors que le génome humain ne contient que 30 000 gènes. Là encore, les *microarrays* peuvent aider à identifier et à quantifier les protéines présentes dans un échantillon cellulaire, en remplaçant l'ADN des puces décrites ci-dessus par une matrice de protéines capables de s'attacher spécifiquement à une autre protéine. Ainsi, il est possible de remonter directement à la composition protéique d'un mélange complexe. Les premières puces de ce type sont maintenant commercialisées par la société californienne Zyomyx Inc.
Ces dispositifs, qui permettent en un temps record de réaliser un très grand nombre d'analyses, sont toujours plus diversifiés avec des développements récents de puces à petites molécules, puces à sucres ou puces à **enzymes**. Parallèlement, leur champ d'applications s'est considérablement élargi. Dans le domaine agroalimentaire, par exemple, ils apportent une solution aux problèmes de traçabilité de la viande ou de détection des OGM (Organismes génétiquement modifiés).
Le développement industriel des *microarrays* doit maintenant se faire en complète intégration avec celui de la microfluidique, pour aboutir à des dispositifs complets capables de fournir le résultat recherché à partir d'un échantillon brut.

(7) Code d'une protéine : séquence d'ADN ou encore gène qui permet à la cellule de synthétiser une protéine donnée.

(8) Modification post-traductionnelle : dans le cycle cellulaire, modification enzymatique postérieure à la phase de synthèse polypeptidique des protéines.

La microfluidique, de la précision dans l'art de faire du café

Depuis plusieurs décennies, les biochimistes tentent de réduire les volumes de réactions utilisant des quantités de produits toujours plus faibles, soit parce qu'ils ne disposent pas d'un échantillon suffisant, soit pour réduire le coût des réactifs, soit encore parce que l'objet de l'analyse, par exemple la cellule, est si petit qu'il doit être manipulé dans un volume réduit. Ainsi, le criblage haut débit employé par l'industrie pharmaceutique pour rechercher des candidats médicaments au sein de banques de milliers de composés chimiques est passé de 96 à 384 puis à 1 536 expériences simultanées. Le volume par réaction a décru dans le même temps de 300 microlitres à moins de 5 microlitres.
Les **MEMS** (*Micro Electro Mechanical Systems* ou Systèmes micro-électro-mécaniques) sont des dispositifs de taille comprise entre 1 et 300 **microns** capables de détecter ou de générer des forces mécaniques, électromécaniques, thermiques ou acoustiques. Apparus dans les années 1980, ils sont à l'origine d'importants succès industriels et commerciaux comme, par exemple, les capteurs de choc des airbags ou les têtes d'injection des imprimantes à jet d'encre. On compterait aujourd'hui plus de 1,6 MEMS par habitant aux États-Unis. Depuis le début des années 1990, ces dispositifs sont

P. Stroppa/CEA

Projet Capucine. La puce consiste en une succession de plusieurs centaines de molécules biologiques, ADN, peptides ou protéines, fixées sur la paroi interne d'un tube en verre de la taille d'un cheveu, chaque élément occupant une section cylindrique bien définie. Grâce à ce nouveau format, il est possible d'analyser un échantillon biologique de quelques centièmes de microlitre seulement. Le capillaire peut être relié, par une connexion microfluidique, à un labopuce, à un système d'électrophorèse capillaire ou à un spectromètre de masse.

développés pour la chimie et la biologie avec de multiples applications dans le domaine biomédical et l'analyse chimique. Pour cela, il faut pouvoir déplacer, fractionner, mélanger ou séparer des liquides dans des dimensions pour le moins inhabituelles. Réduire la taille des tuyaux et associer les composants qui permettent de contrôler le transport des réactifs sont à l'origine d'un nouveau domaine multidisciplinaire, incluant physique, technologie, chimie et biologie : la microfluidique[9].

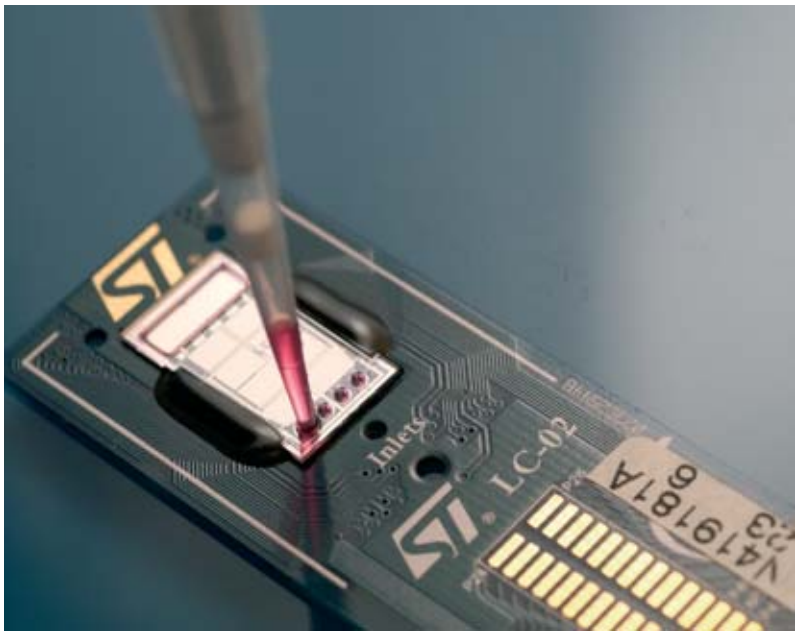
Dans les microsystèmes, les interactions entre les liquides et les parois jouent un rôle prépondérant. Dans une microtasse de quelques nanolitres (10^{-9} litre) de café (à ne pas confondre avec les microTAS détaillés plus loin), mélanger le lait par agitation devient une tâche dantesque. En fait, contraint dans un récipient de dimensions micrométriques, le café se comporte comme un liquide très visqueux, du miel par exemple. Il est donc plus difficile de le faire tourbillonner. Ce phénomène résulte des forces de surface qui deviennent très importantes, rendant les approches conventionnelles telles qu'appliquer une pression ou agiter mécaniquement presque obsolètes pour les systèmes miniaturisés. Il a ainsi fallu développer de nouveaux microcomposants, vannes, tubes, pompes, réacteurs, capables de manipuler des fluides dans ces microinstallations. Ces travaux débouchent sur une variété de dispositifs comme des séparateurs **électrophorétiques**, des pompes **électro-osmotiques**, des micromélangeurs, des systèmes d'amplification de l'ADN, des microcytomètres[10], des réacteurs chimiques, pour n'en citer que quelques-uns (voir *La microfluidique ou l'art de manipuler des petits volumes de liquides*).

Hors des sentiers battus de la microfluidique, la technique EWOD (*ElectroWetting On Dielectric* ou microfluidique digitale) permet de manipuler des gouttes à l'aide d'un réseau d'**électrodes**. Le principe est simple. Quand une électrode est activée électriquement, elle devient plus attractive pour le liquide que le biochimiste cherche à déplacer. Une goutte présente sur l'une des électrodes adjacentes va sauter naturellement sur celle qui est active. Il est alors possible de remettre cette dernière dans son état neutre avant de procéder au déplacement suivant. De proche en proche une goutte de quelques dizaines de nanolitres est transportée d'une extrémité à l'autre du centimètre carré de la puce. Au Laboratoire d'électronique et de technologie de l'information à Grenoble (CEA-Leti), les chercheurs ont réussi à utiliser ce principe pour générer des gouttes à partir d'un réservoir, les séparer, les trier et les fusionner, le tout entièrement piloté par un programme informatique. Comme dans le cas de la microplomberie, l'objectif est d'intégrer l'ensemble des étapes de la préparation de l'échantillon et de l'analyse sur une puce.

Les labopuces, l'intégration fonctionnelle

Au fil des progrès et des nouvelles réalisations, plus étonnantes les unes que les autres dans le domaine des biopuces, l'horizon des possibilités s'agrandit. L'objectif des microTAS (*Micro Total Analysis Systems* ou Microsystèmes d'analyse totale) est bel et bien de faire cohabiter sur un même dispositif tous les éléments nécessaires à l'analyse, à savoir les systèmes de connexion avec le monde macroscopique, la microfluidique et la détection. À l'image des MEMS, les microTAS seront pilotés par programmes informatiques et les signaux détectés seront convertis en signaux numériques interprétables automatiquement. Les biopuces "tout électronique" ont les mêmes vertus que les MEMS : fabrication en parallèle, potentiel pour la miniaturisation, économie de volume. Cette constatation n'a pas échappé à l'industrie de la microélectronique et Motorola, Samsung ou Intel se sont lancés dans la course.

Si **STMicroelectronics** réussit son pari, elle sera la première société à commercialiser un microlaboratoire capable de réaliser un test génétique complet incluant l'extraction d'ADN, l'amplification et le marquage des gènes par PCR suivi d'une hybridation sur une *microarray*. Aujourd'hui, PCR et *microarray* tiennent sur une puce de silicium de 2 cm^2 qui est chargée avec l'échantillon à analyser et insérée directement dans un tiroir semblable à un lecteur de CD dans l'ordinateur qui pilote les opérations. En s'inspirant des têtes d'injection des imprimantes à jet d'encre, la puce comporte des microcanaux et des éléments chauffants microfabriqués. À terme, l'entreprise prévoit de déployer ses systèmes dans les cabinets des médecins.



P. Stroppa/CEA

Puce développée dans le cadre d'un contrat de R&D CEA/STMicroelectronics dédiée au diagnostic génétique. Ce dispositif intègre la préparation de l'échantillon d'ADN par amplification enzymatique (PCR) et son analyse par hybridation sur des sondes oligonucléotidiques.

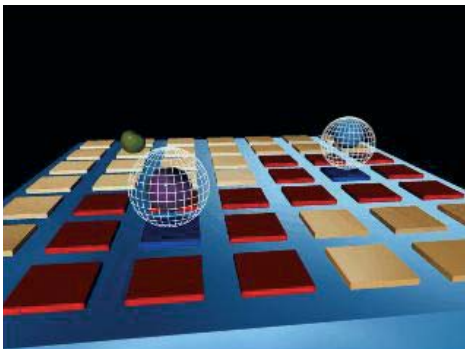
Cell-on-chips, les cellules entrent dans la danse

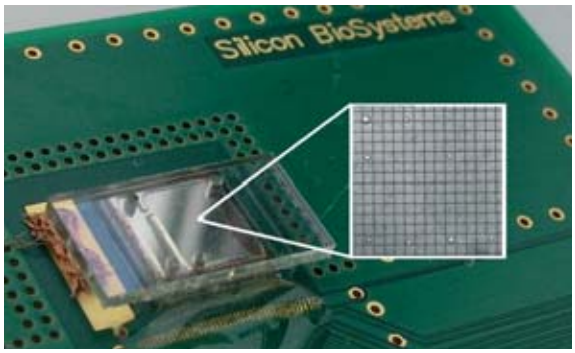
Dans la course à l'intégration, la cellule mène la danse. Qui donc mieux que la cellule intègre l'information du génome, la régulation du **transcriptome**, l'activité du protéome et la complexité du **métabolome** ? Interfacer le vivant et les microsystèmes apparaît ainsi comme le meilleur pari pour accéder à cette connaissance, disséquer des événements uniques, identifier des nouveaux acteurs, autant de marqueurs ou de cibles potentiels dans le domaine du diagnostic et de la thérapeutique.

Les développements de *cell-on-chips* sont en plein essor. Certains chercheurs s'attachent à manipuler des

(9) Patrick Tabeling, *Introduction à la microfluidique*, Collection Échelles, Belin, 2003.

(10) Microcytomètre : dispositif miniaturisé pour analyser des cellules, voire les trier.





CEA

À gauche, une section du réseau d'électrodes (la taille d'une électrode est de 20 µm) dans laquelle des cages de potentiel ont été générées pour piéger des particules. À droite, la puce MeDICS avec, en insert, une organisation de cellules dans les pièges. En manipulant chaque cellule indépendamment, il devient possible de trier des populations de cellules rares, comme, par exemple, lors de l'analyse de biopsies ou de l'isolement de cellules souches à visée thérapeutique.

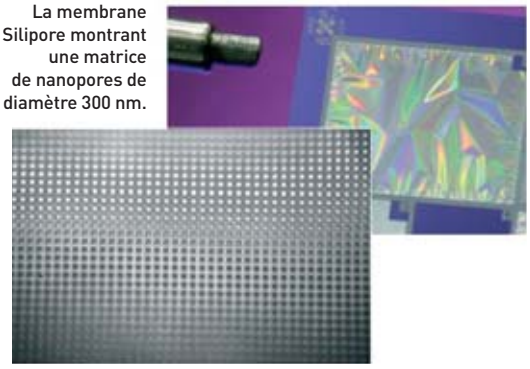
cellules uniques par des champs électriques, optiques, voire même holographiques ou acoustiques. D'autres, comme Peter Fromherz au *Max Planck Institute of Biochemistry* à Munich en Allemagne, interfacent des neurones avec des **transistors** électroniques et réalisent des premières connexions cellulo-électroniques. D'autres encore cultivent des cellules en matrice de microgouttes dans un format *microarray*. Chaque microgoutte devient alors un puits virtuel et le substrat permet de cribler à haute densité des drogues, des ARNsi (ARN inhibiteur de gène) ou des nouveaux gènes (Projet Phénopuces au CEA).

Les principaux défis sont de garantir la viabilité cellulaire et de minimiser l'impact de la méthode d'analyse ou de manipulation sur son fonctionnement (le **principe d'incertitude d'Heisenberg** s'applique déjà au niveau d'une cellule). À l'inverse, il faut également protéger la microélectronique des pollutions organiques du vivant.

Silicon BioSystems, une jeune pousse italienne issue du Département de microélectronique de l'université de Bologne, en collaboration avec le CEA (Laboratoire Biopuces) et l'**Inserm** (Laboratoire d'immunochimie du Département réponse et dynamique cellulaires), a imaginé une application surprenante de la technologie **CMOS** (technologie standard pour la fabrication des microprocesseurs et autres écrans plats). Un réseau de plus de 100 000 électrodes multiplexées, c'est-à-dire contrôlables une à une, est utilisé pour manipuler individuellement chacune des cellules présentes dans une petite population. Au-dessus des électrodes, les cellules s'auto-organisent au sein de cages de potentiel électrique ajustées pour ne contenir qu'une seule cellule. Les cellules sont repérées grâce aux capteurs optiques ou électroniques intégrés dans la puce. L'opérateur a les moyens de sélectionner une ou plusieurs cellules d'intérêt qui sont déplacées vers une petite chambre où elles peuvent être récupérées individuellement. Les déplacements et le chemin parcouru par les cellules sont effectués sans mouvement de fluide et sont entièrement gérés par un programme qui peut être paramétré en fonction de l'application. Cette technologie révolutionnaire ouvre des voies inexplorées, en particulier dans des marchés à très fort potentiel, comme le diagnostic prénatal non invasif, l'isolement de **cellules souches** et la manipulation de cellules thérapeutiques.

(11) Métaux lourds : métaux dont la densité est supérieure à 4,5 g/cm³. Figurent parmi eux le zinc (7,14), le cadmium (8,6), le plomb (11,35)…

La membrane Silipore montrant une matrice de nanopores de diamètre 300 nm.



CEA

Un exemple de convergence entre nanotechnologie et biologie

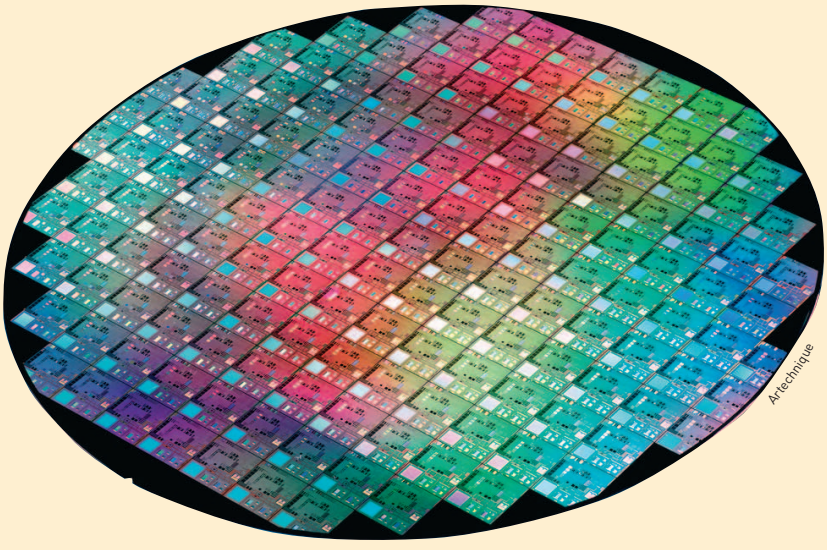
Les récepteurs biologiques présents à la surface des cellules exhibent une sensibilité et une spécificité pour leurs **ligands** bien au-delà des performances des meilleurs capteurs physiques connus aujourd'hui. Un défi important dans la recherche et le développement de biocapteurs consiste à trouver le moyen d'exploiter ces aptitudes en mimant ces récepteurs naturels et leur environnement. Une solution consiste à modifier par bio-ingénierie les récepteurs de ligands spécifiques, par exemple des drogues, des herbicides, des insecticides, des métaux lourds[11], et de leur offrir un environnement biomimétique où leur activité pourra être enregistrée et quantifiée. Le projet Silipore, une collaboration entre le Laboratoire Biopuces, le Leti et les laboratoires de Biophysique moléculaire et cellulaire (BMC) et Enzymes, membranes biologiques et biomimétiques (EMBB) du **CNRS**, a été monté pour répondre à ce défi. Silipore est une membrane en silicium de dimension submicronique dotée de pores calibrés qui permettent d'héberger et de stabiliser une bicouche **lipidique** et ces récepteurs "bio-ingénieriés". Lorsqu'un ligand se fixe sur un récepteur, le canal **ionique** couplé à ce récepteur s'ouvre et laisse donc passer un courant ionique mesurable par le courant électrique qu'il engendre.

> **François Châtelain** et **Alexandra Fuchs**
Direction des sciences du vivant
CEA centre de Grenoble

A Du monde macroscopique au nanomonde, ou l'inverse...

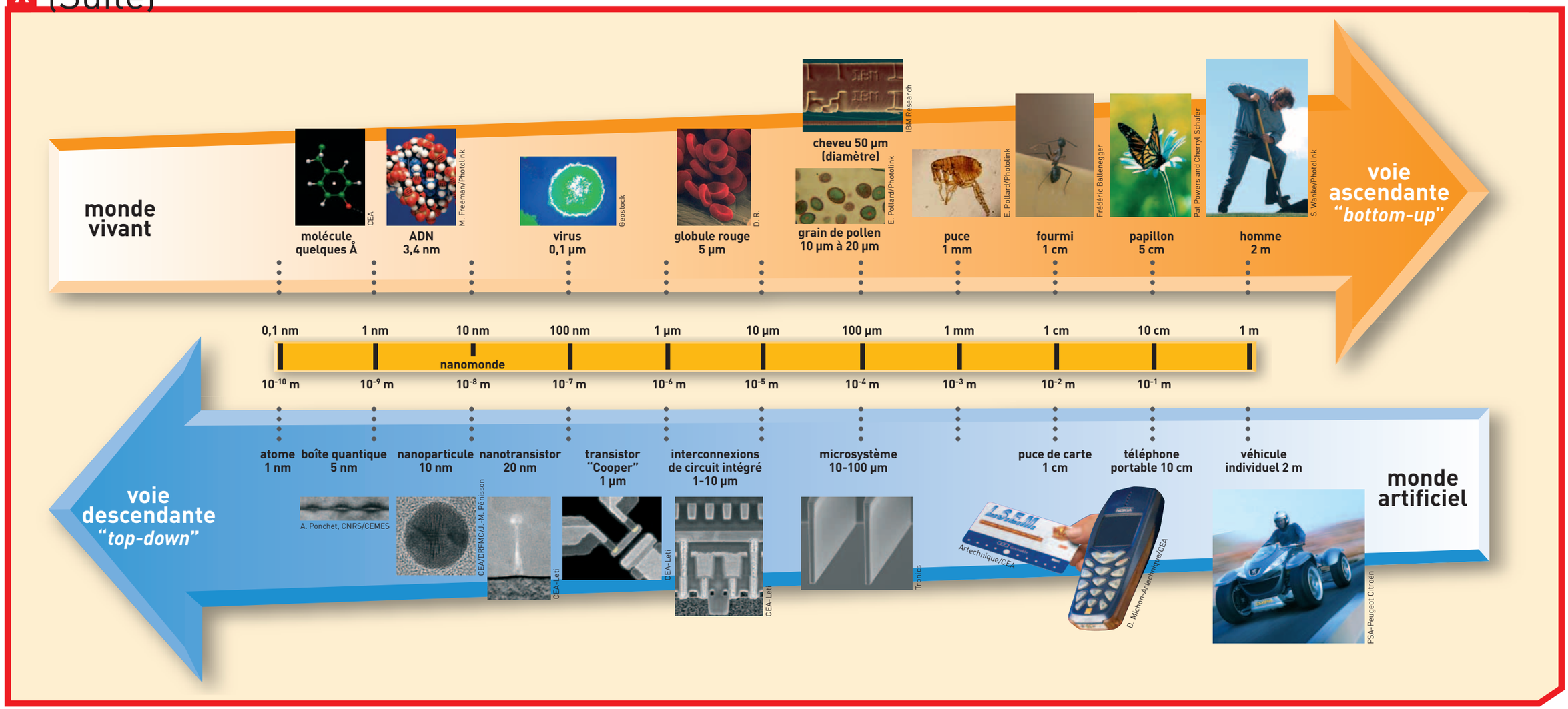
Afin de se représenter plus aisément les dimensions des objets micro et nanoscopiques*, il est pratique de procéder à des comparaisons et courant de faire correspondre différentes échelles, par exemple celle du monde du vivant, de la molécule à l'homme, et celle des objets manipulés ou fabriqués par lui (figure). Cette correspondance entre "artificiel" et "naturel" permet, par exemple, de voir que des **nanoparticules** fabriquées artificiellement sont plus petites que des globules rouges.
Un autre mérite de cette juxtaposition est d'illustrer les deux grandes façons d'élaborer des objets ou des systèmes nanométriques : la voie descendante (***top-down***) et la voie ascendante (***bottom-up***). Deux chemins mènent en effet au nanomonde : la fabrication moléculaire, qui passe par la manipulation d'**atomes** individuels et la construction à partir de la base, et l'ultraminiaturisation, qui produit des systèmes de plus en plus petits.
La voie descendante est celle du monde artificiel, qui part de matériaux macroscopiques, ciselés par la main de l'homme puis par ses instruments : c'est elle qu'a empruntée l'électronique depuis plusieurs dizaines d'années, principalement avec le **silicium** comme substrat, et ses "tranches" (*wafers*) comme entités manipulables. C'est d'ailleurs la microélectronique qui a largement contribué à donner à cette voie le nom anglais sous laquelle elle est connue. Mais il ne s'agit plus seulement d'adapter la miniaturisation de la filière silicium actuelle, mais aussi de prendre en compte, pour s'en prémunir ou les utiliser, les phénomènes physiques, **quantiques** en particulier, qui apparaissent aux faibles dimensions.
La voie ascendante peut permettre de passer outre ces limites physiques et aussi de réduire les coûts de fabrication, en utilisant notamment l'**auto-assemblage** des composants. C'est elle que suit la vie en pratiquant l'assemblage de molécules pour créer des **protéines**, enchaînement d'acides aminés que des super-molécules, les **acides nucléiques** (**ADN, ARN**), savent faire produire au sein de cellules pour former des organismes, les faire fonctionner et se reproduire tout en se complexifiant. Cette voie, dite *"bottom-up"*, vise à organiser la matière à partir de "briques de base", dont les atomes eux-mêmes sont les plus petits constituants, à l'instar du monde vivant. La nanoélectronique du futur cherche à emprunter cette voie d'assemblage pour aboutir à moindre coût à la fabrication d'éléments fonctionnels.
Les **nanosciences** peuvent ainsi être définies comme l'ensemble des recherches visant à la compréhension des propriétés (physiques, chimiques et biologiques) des nano-objets ainsi qu'à leur fabrication et à leur assemblage par auto-organisation.
Les **nanotechnologies** regroupent l'ensemble des savoir-faire qui permettent de travailler à l'échelle moléculaire pour organiser la matière afin de réaliser ces objets et matériaux, éventuellement jusqu'à l'échelle macroscopique.

*Du grec *nano* qui signifie "tout petit" et est utilisé comme préfixe pour désigner le milliardième (10^{-9}) d'une unité. En l'occurrence, le **nanomètre** (1 nm = 10^{-9} m, soit un milliardième de mètre) est l'unité reine du monde des nanosciences et des nanotechnologies.



Tranche de silicium de 300 mm réalisée par l'Alliance Crolles2, illustration de la démarche *top-down* actuelle de la microélectronique.

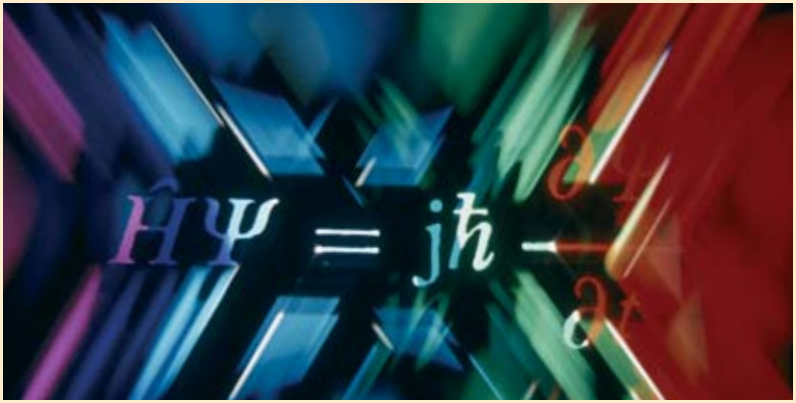
A (Suite)


monde vivant
molécule quelques Å
CEA
ADN 3,4 nm
M. Freeman/Photolink
virus 0,1 µm
Geostock
globule rouge 5 µm
D. R.
cheveu 50 µm (diamètre)
IBM Research
grain de pollen 10 µm à 20 µm
E. Pollard/Photolink
puce 1 mm
E. Pollard/Photolink
fourmi 1 cm
Frédéric Ballenegger
papillon 5 cm
Pat Powers and Cherryl Schafer
homme 2 m
S. Wanke/Photolink
voie ascendante "bottom-up"
0,1 nm
1 nm
10 nm
100 nm
1 µm
10 µm
100 µm
1 mm
1 cm
10 cm
1 m
nanomonde
10^{-10} m
10^{-9} m
10^{-8} m
10^{-7} m
10^{-6} m
10^{-5} m
10^{-4} m
10^{-3} m
10^{-2} m
10^{-1} m
voie descendante "top-down"
atome 1 nm
boîte quantique 5 nm
nanoparticule 10 nm
nanotransistor 20 nm
transistor "Cooper" 1 µm
interconnexions de circuit intégré 1-10 µm
microsystème 10-100 µm
puce de carte 1 cm
téléphone portable 10 cm
véhicule individuel 2 m
monde artificiel
A. Ponchet, CNRS/CEMES
CEA/DRFMC/J.-M. Pénisson
CEA-Leti
CEA-Leti
CEA-Leti
Tronics
Artechnique/CEA
D. Michon-Artechnique/CEA
PSA-Peugeot Citroën

B Quelques repères de physique quantique

La physique quantique (historiquement dénommée mécanique quantique) est l'ensemble des lois physiques qui s'appliquent à l'échelle microscopique. Fondamentalement différentes de la plupart de celles qui semblent s'appliquer à notre propre échelle, elles n'en constituent pas moins le socle global de la physique à toutes ses échelles. Mais à l'échelle macroscopique, ses manifestations ne nous apparaissent pas étranges, à l'exception d'un certain nombre de phénomènes *a priori* curieux, comme la supraconductivité ou la superfluidité, qui justement ne s'expliquent que par les lois de la physique quantique. Au demeurant, le passage du domaine de validité des lois paradoxales de cette physique à celui des lois, plus simples à imaginer, de la physique classique peut s'expliquer d'une façon très générale, comme cela sera évoqué plus loin.

La physique quantique tire son nom d'une caractéristique essentielle des objets quantiques : des caractéristiques comme le moment angulaire (spin) des particules sont des quantités discrètes ou discontinues appelées quanta, qui ne peuvent prendre que des valeurs multiples d'un *quantum* élémentaire. Il existe de même un quantum d'action (produit d'une énergie par une durée) appelé constante de Planck (h), dont la valeur est de $6{,}626 \cdot 10^{-34}$ joule·seconde. Alors que la physique classique distingue *ondes* et *corpuscules*, la physique quantique englobe en quelque sorte ces deux concepts dans un troisième, qui dépasse la simple dualité onde-corpuscule entrevue par Louis de Broglie, et qui, quand nous tentons de l'appréhender, semble tantôt proche du premier et tantôt du deuxième. L'objet quantique constitue une entité inséparable de ses conditions d'observation, sans attribut propre. Et cela, qu'il s'agisse d'une particule – en aucun cas assimilable à une bille minuscule qui suivrait une quelconque trajectoire – de lumière (photon) ou de matière (électron, proton, neutron, atome...).



D. Sarraute/CEA

"Vue d'artiste" de l'équation de Schrödinger.

Cette caractéristique donne toute sa force au principe d'incertitude d'Heisenberg, autre base de la physique quantique. Selon ce principe (d'*indétermination* plutôt que d'*incertitude*), il est impossible de définir avec précision à un instant donné *à la fois* la position d'une particule et sa vitesse. La mesure, qui reste possible, n'aura jamais une précision meilleure que *h*, la constante de Planck. Ces grandeurs n'ayant pas de réalité intrinsèque en dehors du processus d'observation, cette détermination simultanée de la position et de la vitesse est simplement impossible.

B (Suite)

C'est qu'à tout instant l'objet quantique présente la caractéristique de *superposer* plusieurs états, comme une onde peut être le résultat de l'*addition* de plusieurs autres. Dans le domaine quantique, la hauteur d'une onde (assimilable à celle d'une vague par exemple) a pour équivalent une **amplitude de probabilité** (ou onde de probabilité), nombre complexe associé à chacun des états possibles d'un système qualifié ainsi de quantique. Mathématiquement, un état physique d'un tel système est représenté par un **vecteur d'état**, fonction qui, en vertu du principe de superposition, peut s'ajouter à d'autres. Autrement dit, la somme de deux vecteurs d'état possibles d'un système est *aussi* un vecteur d'état possible du système. De plus, le produit de deux espaces vectoriels est aussi la somme de produits de vecteurs, ce qui traduit l'**intrication** : un vecteur d'état étant généralement étalé dans l'espace, l'idée de localité des objets ne va plus de soi. Dans une paire de particules intriquées, c'est-à-dire créées ensemble ou ayant déjà interagi l'une sur l'autre, décrite par le *produit* et non par la *somme* de deux vecteurs d'état individuels, le destin de chacune est lié à celui de l'autre, quelle que soit la distance qui pourra les séparer. Cette caractéristique, également appelée *l'enchevêtrement quantique d'états*, a des implications vertigineuses, sans parler des applications imaginables, de la cryptographie quantique à – pourquoi ne pas rêver ? – la téléportation.

Dès lors, la possibilité de prévoir le comportement d'un système quantique n'est qu'une prédictibilité probabiliste et statistique. L'objet quantique est en quelque sorte une "juxtaposition de possibles". Tant que la mesure sur lui n'est pas faite, la grandeur censée quantifier la propriété physique recherchée n'est pas strictement définie. Mais dès que cette mesure est engagée, elle détruit la **superposition quantique**, par *réduction du paquet d'ondes*, comme Werner Heisenberg l'énonçait en 1927.

Toutes les propriétés d'un système quantique peuvent être déduites à partir de l'équation proposée l'année précédente par Erwin Schrödinger. La résolution de cette **équation de Schrödinger** permet de déterminer l'énergie du système ainsi que la **fonction d'onde**, notion qui a donc tendance à être remplacée par celle d'amplitude de probabilité.

Selon un autre grand principe de la physique quantique, le **principe (d'exclusion) de Pauli**, deux particules identiques de spin ½ (c'est-à-dire des **fermions**, en particulier les électrons) ne peuvent avoir à la fois la même position, le même spin et la même vitesse (dans les limites posées par le principe d'incertitude), c'est-à-dire se trouver dans le même *état quantique*. Les **bosons** (en particulier les photons), ne suivent pas ce principe et peuvent se trouver dans le même état quantique.

La coexistence des **états superposés** donne sa **cohérence** au système quantique. Dès lors, la théorie de la **décohérence quantique** peut expliquer pourquoi les objets macroscopiques ont un comportement "classique" tandis que les objets microscopiques, atomes et autres particules, ont un comportement quantique. Plus sûrement encore qu'un dispositif de mesure pointu, "l'environnement" (l'air, le rayonnement ambiant, etc.) exerce son influence, éliminant radicalement toutes les *superpositions d'état* à cette échelle. Plus le système considéré est gros, plus il est en effet couplé à un grand nombre de degrés de liberté de cet environnement. Et donc moins il a de "chances" – pour rester dans la logique probabiliste – de sauvegarder une quelconque cohérence quantique.

POUR EN SAVOIR PLUS

Étienne Klein, *Petit voyage dans le monde des quanta*, Champs, Flammarion, 2004.

C L'épitaxie par jets moléculaires

La fabrication des puits quantiques utilise la technique d'épitaxie (du grec *taxi* (ordre) et *epi* (dessus) par jets moléculaires (en anglais MBE, pour *Molecular Beam Epitaxy*). Le principe de cette technique de dépôt physique, développée initialement pour la croissance cristalline des semi-conducteurs de la famille III-V, est fondé sur l'évaporation des différents constituants purs du matériau à élaborer dans une enceinte où est maintenu un vide poussé (pression pouvant être de l'ordre de $5 \cdot 10^{-11}$ mbar) afin d'éviter toute pollution de la surface. Un ou des jets thermiques d'atomes ou de molécules réagissent sur la surface propre d'un substrat monocristallin, placé sur un support maintenu à haute température (quelques centaines de °C), qui sert de trame pour former un film dit épitaxique. Il est ainsi possible de fabriquer des empilements de couches aussi fines que le millionième de millimètre, c'est-à-dire composées de seulement quelques plans d'atomes.

Les éléments sont évaporés ou sublimés à partir d'une source de haute pureté, placée dans une cellule à effusion (chambre dans laquelle un flux moléculaire passe d'une région où règne une pression donnée à une région de plus basse pression) chauffée par effet Joule.

La croissance du film peut être suivie *in situ* et en temps réel en utilisant diverses sondes structurales et analytiques, en particulier des techniques d'étude de la qualité des surfaces et de leurs transitions de phase par diffraction électronique en incidence rasante, LEED (pour *Low energy electron diffraction*) ou RHEED (pour *Reflection high-energy electron diffraction)* et diverses méthodes spectroscopiques (spectroscopie d'électrons Auger, SIMS (spectrométrie de masse d'ions secondaires), spectrométrie de photoélectrons XPS par rayons X et UPS (*Ultraviolet photoelectron spectroscopy*).

La technique d'épitaxie par jets moléculaires s'est étendue à d'autres semi-conducteurs que les III-V, à des métaux et à des isolants, se développant avec les progrès des techniques d'*ultravide*. Le vide régnant dans la chambre de croissance, dont la conception varie en fonction de la nature du matériau à déposer, doit en effet être meilleure que 10^{-11} mbar pour permettre la croissance d'un film de haute pureté et d'excellente qualité cristalline à des températures de substrat relativement basses. Il s'agit de qualité de vide lorsque le bâti est au repos. Pour la croissance d'arséniures, par exemple, le vide résiduel est de l'ordre de 10^{-8} mbar dès que la cellule d'arsenic est portée à sa température de consigne pour la croissance.

Le pompage pour atteindre ces performances fait appel à plusieurs techniques (pompage ionique, cryopompage, sublimation de titane, pompes à diffusion ou turbomoléculaires). Les principales impuretés (H_2, H_2O, CO et CO_2) peuvent présenter des pressions partielles inférieures à 10^{-13} mbar.

D Le transistor, composant de base des circuits intégrés

En décembre 1947, John Bardeen et Walter H. Brattain réalisaient le premier **transistor** en germanium. Avec William B. Shockley, aux Bell Laboratories, ils développaient l'année suivante le transistor à jonction et la théorie associée. Au milieu des années 1950, les transistors seront réalisés en **silicium** (Si), qui reste aujourd'hui le **semi-conducteur** généralement utilisé, vu la qualité inégalée de l'interface créée par le silicium et l'oxyde de silicium (SiO_2), qui sert d'isolant.

En 1958, Jack Kilby invente le **circuit intégré** en fabriquant cinq composants sur le même substrat. Les années 1970 verront le premier microprocesseur d'Intel (2250 transistors) et les premières mémoires. La complexité des circuits intégrés ne cessera de croître exponentiellement depuis (doublement tous les deux-trois ans, selon la "loi de Moore") grâce à la miniaturisation des transistors.

Le transistor (de l'anglais *transfer resistor*, résistance de transfert), composant de base des **circuits intégrés** microélectroniques, le restera *mutatis mutandis* à l'échelle de la nanoélectronique : adapté également à l'amplification, entre autres fonctions, il assume en effet une fonction basique essentielle : laisser passer un courant ou l'interrompre à la demande, à la manière d'un commutateur (figure). Son principe de base s'applique donc directement au traitement du langage binaire (0, le courant ne passe pas ; 1, il passe) dans des circuits logiques (inverseurs, portes, additionneurs, cellules mémoire).

Le transistor, fondé sur le transport des électrons dans un solide et non plus dans le vide comme dans les tubes électroniques des anciennes **triodes**, est composé de trois **électrodes** *(anode, cathode et grille)* dont deux servent de réservoirs à **électrons** : la **source**, équivalent du filament *émetteur* du tube électronique, le **drain**, équivalent de la plaque *collectrice*, et la **grille**, le "contrôleur". Ces éléments ne fonctionnent pas de la même manière dans les deux principaux types de transistors utilisés aujourd'hui, les *transistors bipolaires à jonction*, qui ont été les premiers à être utilisés, et les *transistors à effet de champ* (en anglais FET, *Field Effect Transistor*). Les transistors bipolaires mettent en œuvre les deux types de porteurs de charge, les électrons (charges négatives) et les **trous** (charges positives), et se composent de deux parties de substrat semi-conducteur identiquement

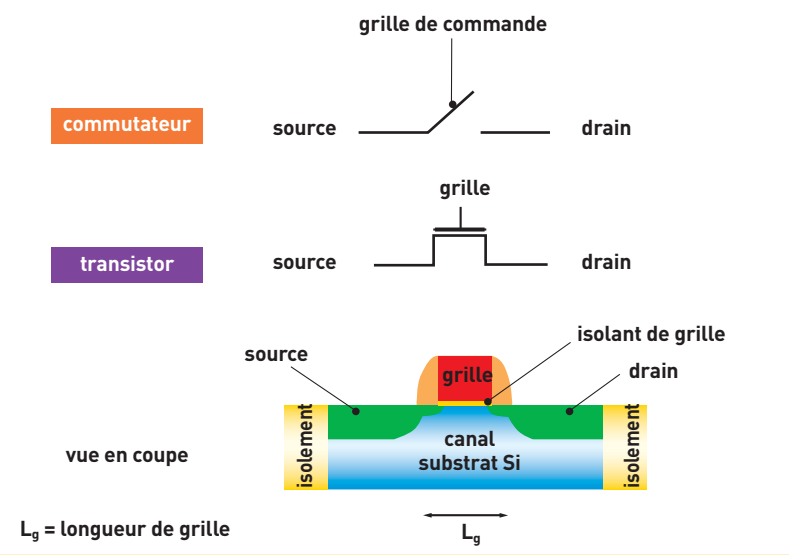


Figure.
Un transistor MOS est un commutateur qui permet de commander le passage d'un courant électrique de la source (S) vers le drain (D) à l'aide d'une grille (G) isolée électriquement du canal de conduction. Le substrat en silicium est noté B (pour *Bulk*).

D (Suite)

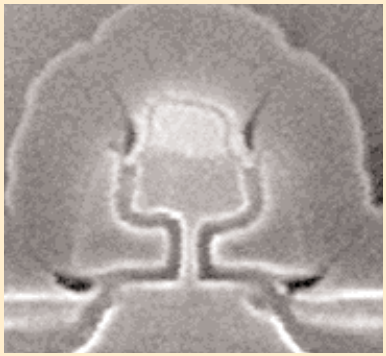
dopées (p ou n), séparées par une mince couche de semi-conducteur inversement dopée. L'assemblage de deux semi-conducteurs de types opposés (jonction p-n) permet de ne faire passer le courant que dans un sens. Qu'ils soient de type n-p-n ou p-n-p, les transistors bipolaires sont fondamentalement des amplificateurs de courant, commandés par un courant de grille[1] : ainsi dans un transistor n-p-n, la tension appliquée à la partie p contrôle le passage du courant entre les deux régions n. Les circuits logiques utilisant des transistors bipolaires, appelés TTL *(Transistor Transistor Logic)*, sont plus consommateurs de courant que les transistors à effet de champ, qui présentent un courant de grille nul en régime statique et sont commandés par l'application d'une tension.

Ce sont ces derniers, sous la forme **MOS** (Métal oxyde semi-conducteur), qui composent aujourd'hui la plupart des circuits logiques du type CMOS (C pour complémentaire)[2]. Sur un cristal de silicium de type p, deux régions de type n sont créées par dopage de la surface. Appelées là aussi **source** et **drain**, ces deux régions ne sont donc séparées que par un petit espace de type p, le **canal**. Sous l'effet d'une tension positive sur une électrode de commande placée au-dessus du semi-conducteur et qui porte tout naturellement le nom de **grille**, les trous sont repoussés de sa surface où viennent s'accumuler les quelques électrons du semi-conducteur. Un petit canal de conduction peut ainsi se former entre la source et le drain (figure). Lorsqu'une tension négative est appliquée sur la grille, isolée électriquement par une couche d'oxyde, les électrons sont repoussés hors du canal. Plus la tension positive est élevée, plus la résistance du canal diminue et plus ce dernier laisse passer de courant.

Dans un circuit intégré, les transistors et les autres composants (diodes, condensateurs, résistances) sont d'origine incorporés au sein d'une "puce" aux fonctions plus ou moins complexes. Le circuit est constitué d'un empilement de couches de matériaux conducteurs ou isolants délimitées par **lithographie** (encadré E, *La lithographie clé de la miniaturisation*, p. 37). L'exemple le plus emblématique est le microprocesseur placé au cœur des ordinateurs et qui regroupe plusieurs centaines de millions de transistors (dont la taille a été réduite par 10 000 depuis les années 1960) et bientôt un milliard, ce qui amène les industriels à fractionner le cœur des processeurs en plusieurs sous-unités travaillant en parallèle !

Lucent Technologies Inc./Bell Labs

Le tout premier transistor.



STMicroelectronics

Transistor 8 nanomètres développé par l'Alliance Crolles2 réunissant STMicroelectrronics, Philips et Freescale Semiconductor.

(1) Figurent dans cette catégorie les **transistors de type Schottky** ou **à barrière Schottky** qui sont des transistors à effet de champ comportant une grille de commande de type métal/semi-conducteur qui améliore la mobilité des porteurs de charge et le temps de réponse au prix d'une plus grande complexité.

(2) On parle alors de transistor **MOSFET** *(Metal-Oxide Semiconductor Field Effect Transistor)*.

E La lithographie, clé de la miniaturisation

La lithographie optique (ou photolithographie), application majeure de l'interaction particules/matière, est le procédé traditionnel de fabrication des circuits intégrés. Étape clé de la définition des motifs de ces circuits, elle reste le verrou de leur développement. La résolution étant en première approximation directement proportionnelle à la longueur d'onde, la finesse des motifs a d'abord progressé avec la diminution, qui s'est effectuée par sauts, de la longueur d'onde λ du rayonnement utilisé.

Artechnique

Zone de photolithographie en salle blanche dans l'usine STMicroelectronics de Crolles (Isère).

L'opération consiste en l'*exposition via* une optique réductrice d'une résine photosensible à des particules énergétiques, depuis les photons ultraviolet (UV) actuellement utilisés jusqu'aux électrons en passant par les photons X et les ions, au travers d'un masque représentant le dessin d'un circuit. Le but ? Transférer cette image sur l'empilement de couches isolantes ou conductrices qui le constitueront, déposées précédemment (phase de *couchage*) sur une plaquette (*wafer*) de matériau semi-conducteur, en général de silicium. Ce processus est suivi de la dissolution de la résine exposée à la lumière (*développement*). Les parties exposées de la couche initiale peuvent être alors gravées sélectivement, puis la résine est retirée chimiquement avant le dépôt de la couche suivante. Cette étape de lithographie peut intervenir plus d'une vingtaine de fois au cours de la fabrication d'un circuit intégré (figure).

Dans les années 1980, l'industrie de la microélectronique utilisait des lampes à mercure délivrant dans l'UV proche (raies g, h, i), à travers des optiques en quartz, un rayonnement d'une longueur d'onde de 436 nanomètres (nm). Elle gravait ainsi des structures d'une largeur de trait de 3 microns (µm). Employées jusqu'au milieu des années 1990, ces lampes ont été remplacées par des lasers à excimères émettant dans l'UV lointain (krypton-fluor KrF à 248 nm, puis argon-fluor ArF à 193 nm, les photons créés ayant une énergie de quelques électronvolts), permettant d'atteindre des résolutions de 110 nm, et même inférieures à 90 nm avec de nouveaux procédés.

Le Laboratoire d'électronique et de technologie de l'information (Leti) du CEA a été un des pionniers, dans les années 1980, dans l'utilisation des lasers en lithographie et dans la réalisation des circuits intégrés par les lasers à excimères, qui constituent aujourd'hui les sources employées pour la production des circuits intégrés les plus avancés.

Pour l'industrie, l'étape suivante devait être le laser F_2 (λ = 157 nm), mais cette lithographie a été quasiment abandonnée face à la difficulté de réaliser des optiques en CaF_2, matériau transparent à cette longueur d'onde.

Si la diminution de la longueur d'onde des outils d'exposition a été le premier facteur à permettre le gain en résolution considérable déjà obtenu, deux autres ont été déterminants. Le premier a été la mise au point de résines photosensibles basées sur des matrices de polymères peu absorbantes aux longueurs d'onde utilisées et mettant en œuvre des mécanismes de propagation de l'énergie reçue toujours plus innovants. Le second a consisté en l'amélioration des optiques avec une diminution des phénomènes parasites liés à la diffraction (meilleure qualité de surface, augmentation de l'ouverture numérique).

Au fil des années, la complexité accrue des systèmes optiques a ainsi permis d'obtenir des résolutions *inférieures* à la longueur d'onde de la source. Cette évolution ne pourra se poursuivre sans une rupture technologique majeure, un saut important en longueur d'onde. Pour les générations des circuits intégrés dont la résolution minimale est comprise entre 80 et 50 nm (le prochain "nœud" se situant à 65 nm), différentes voies basées sur la projection de particules à la longueur d'onde de plus en plus courte ont été mises en concurrence. Elles mettent respectivement en œuvre des rayons X "mous", en extrême ultraviolet (dans la gamme des 10 nm), des rayons X "durs" (à la longueur d'onde inférieure à 1 nm), des ions ou des électrons.

L'étape consistant à atteindre des résolutions inférieures à 50 nm conduira à s'orienter plutôt vers la nanolithographie à l'aide d'électrons de basse énergie (10 eV) et d'outils plus adaptés comme le microscope à effet tunnel ou l'épitaxie par jets moléculaires (encadré C) pour la réalisation de "super-réseaux".

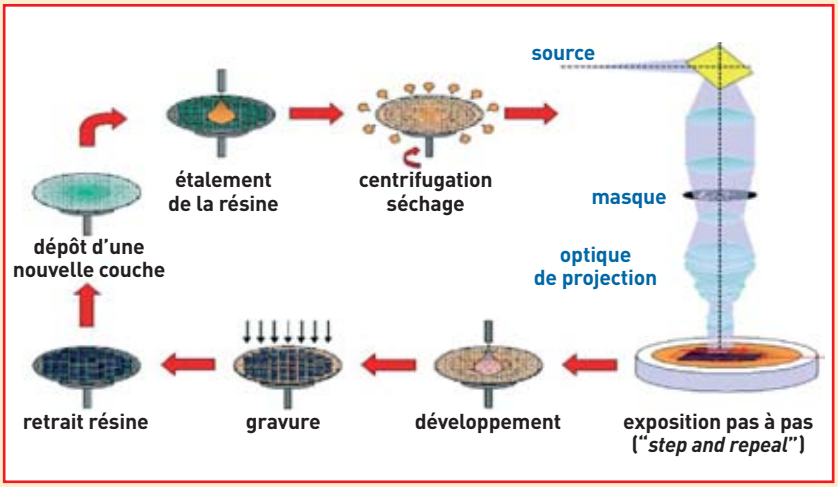


Figure. Les différentes phases du processus de lithographie dont le but est de délimiter les couches de matériaux conducteurs ou isolants qui constituent un circuit intégré. Cette opération est l'enchaînement d'un étalement de résine photosensible, de la projection du dessin d'un masque par une optique réductrice, suivis de la dissolution de la résine exposée à la lumière (développement). Les parties exposées de la couche initiale peuvent être alors gravées sélectivement, puis la résine est retirée avant le dépôt de la couche suivante.