

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle

Bureau international



(43) Date de la publication internationale
14 janvier 2010 (14.01.2010)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2010/004014 A1

- (51) Classification internationale des brevets :
B01L 3/00 (2006.01) G01N 1/40 (2006.01)
F04B 19/00 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2009/058777
- (22) Date de dépôt international :
9 juillet 2009 (09.07.2009)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
0854745 11 juillet 2008 (11.07.2008) FR
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 25, rue Leblanc, Bâtiment "Le Ponant D", F-75015 Paris (FR).
- (72) Inventeurs; et
- (75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : FUCHS, Olivier [FR/FR]; 13 rue Charles Péguy, F-38000 Grenoble (FR). SAUTER-STARACE, Fabien [FR/FR]; 22 rue de Sisteron, F-38170 Seyssinet-Pariset (FR).
- (74) Mandataires : AUGARDE, Eric et al.; Brevaux, 56 boulevard de l'Embouchure, B.P. 27519, F-31075 Toulouse Cedex 2 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Publiée :
— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : METHOD AND DEVICE FOR MANIPULATING AND OBSERVING LIQUID DROPLETS

(54) Titre : PROCEDE ET DISPOSITIF DE MANIPULATION ET D'OBSERVATION DE GOUTTES DE LIQUIDE

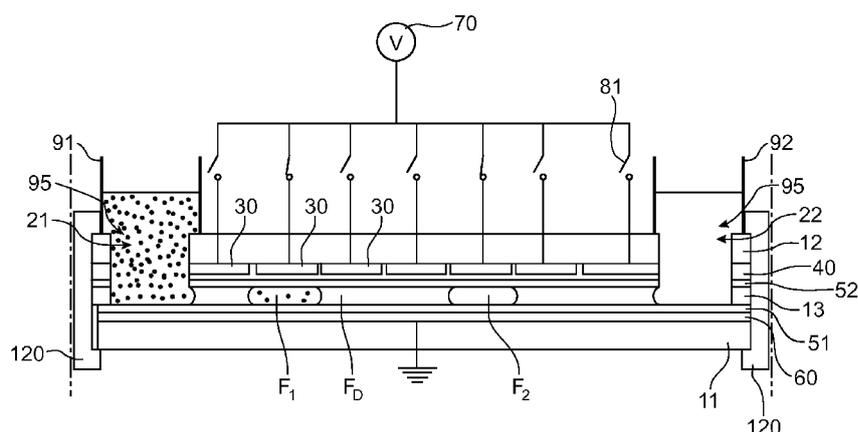


FIG. 4

(57) Abstract : The invention relates to a device and a method for manipulating and observing particles suspended in a liquid. The device comprises: a first substrate (12) having at least a first orifice (21) forming a site for the entry of said liquid; an observation site (100), for observing the suspended particles; and means for displacing the liquid from said entry site (21) to said observation site (100). According to the invention, since the first substrate (12) includes a first hydrophobic layer (52) and the liquid is electrically conducting, said means for displacing the liquid are capable of displacing said liquid in the form of a droplet (F₁) by electrowetting, said droplet (F₁) being in contact with said hydrophobic layer (52).

(57) Abrégé : L'invention concerne un dispositif et un procédé de manipulation et d'observation de particules en suspension dans un liquide. Le dispositif comporte: -un premier substrat

[Suite sur la page suivante]

WO 2010/004014 A1

(12) comportant au moins un premier orifice (21) formant site d'entrée dudit liquide, -un site d'observation (100) pour observer les particules en suspension, et -des moyens de déplacement du liquide dudit site d'entrée (21) audit site d'observation (100). Selon l'invention, le premier substrat (12) comportant une première couche hydrophobe (52), le liquide étant électriquement conducteur, lesdits moyens de déplacement du liquide sont adaptés à déplacer ledit liquide sous forme de goutte (F₁) par électromouillage, ladite goutte (F₁) étant en contact avec ladite couche hydrophobe (52).

**PROCEDE ET DISPOSITIF DE MANIPULATION ET D'OBSERVATION
DE GOUTTES DE LIQUIDE**

5

DESCRIPTION

DOMAINE TECHNIQUE

La présente invention se rapporte au domaine général de la microfluidique et concerne un procédé et un dispositif de manipulation et d'observation en parallèle de particules en suspension contenues dans des gouttes de liquide pour les analyser.

ETAT DE LA TECHNIQUE ANTERIEURE

Dans le domaine pharmacologique, il est nécessaire d'analyser l'effet d'un nombre très important de composés chimiques et biologiques sur des cibles biologiques. Par exemple, il peut s'agir d'étudier l'action de différentes drogues ou toxines sur un type de cellule.

La technique d'analyse par criblage à haut débit est habituellement utilisée puisqu'elle permet de conduire quelques milliers voire millions de tests en un temps relativement court dans le but de sélectionner les réactifs produisant les effets recherchés.

Pour cela, il est courant d'utiliser des plaques à puits, comportant par exemple 96, 384 ou 1536 puits. Ces plaques permettent de mettre en contact dans chaque puits, par exemple, un réactif différent avec un type de cellule déterminée.

L'observation peut ensuite être réalisée par microscopie confocale qui permet d'observer par fluorescence la réponse des cellules au stimulus provoqué par le réactif testé.

5 Cependant, le temps de balayage du microscope pour repérer les cellules à observer est directement lié au volume des puits et peut être, selon la concentration des cellules, relativement long, ce qui est contraire à l'exigence de rapidité du criblage à haut débit.

10 De plus, le volume des puits conduit à utiliser une quantité importante de réactif par plaque. Par exemple, une plaque comportant 1536 puits dont le volume est de l'ordre de quelques microlitres conduit à utiliser quelques millilitres de réactif. Le coût engendré est
15 alors particulièrement important du fait du grand nombre de tests à effectuer.

Récemment, des améliorations ont été entreprises pour manipuler et observer des faibles volumes de réactifs.

20 Ainsi, le document US-A1-2007/0243523 décrit un dispositif de manipulation et d'observation de particules en suspension dans le but de les analyser. Les figures 1A et 1B représentent schématiquement le dispositif selon l'art antérieur suivant une coupe
25 longitudinale (figure 1A) et en vue de dessus (figure 1B).

Comme le montre la figure 1A, le dispositif microfluidique comprend un substrat A10 dans lequel est formé un microcanal A15.

30 Une plaque à puits A90 repose sur une face externe du substrat A10, et comprend au moins un puits d'entrée

A91 et un puits de sortie A94, chacun présentant une ouverture A95 au fond du puits. Les puits d'entrée A91 et de sortie A94 sont reliés l'un à l'autre par le microcanal A15 du substrat A10.

5 Le puits d'entrée A91 forme un réservoir A91 pouvant contenir des particules en suspension, par exemple des cellules en solution dans une toxine liquide. Le puits de sortie A94 peut être un réservoir d'évacuation.

10 Un capot amovible A130 de mise en pression est disposé sur les puits d'entrée A91 et de sortie A94 pour contrôler le débit de l'écoulement dans le microcanal A15. Pour cela, une pression positive ou négative est appliquée à l'interface liquide/air dans
15 les puits d'entrée A91 et de sortie A94. Un gradient de pression est alors créé à l'intérieur du microcanal A15 qui provoque la mise en mouvement du liquide, et ainsi des particules en suspension. Le capot A130 est relié par des flexibles A131 à une source de pression (non
20 représentée).

La source de pression est commandée par ordinateur pour contrôler la valeur du gradient de pression généré et donc l'intensité du débit dans le microcanal A15. Le liquide peut alors être mis en mouvement, arrêté, ou
25 déplacé selon un débit déterminé.

Enfin, une partie du microcanal A15 forme un site d'observation A100 au travers duquel passent les particules à observer. Un dispositif d'observation (non représenté) disposé en regard du site d'observation
30 A100 permet de réaliser une séquence d'images. Ce dispositif d'observation peut être un microscope

optique, à fluorescence, à contraste de phase ou encore confocal.

Le fonctionnement du dispositif selon l'art antérieur est le suivant.

5 Par l'application d'un gradient de pression dans le microcanal A15, un écoulement est généré qui fait circuler les particules en suspension du puits d'entrée A91 vers le puits de sortie A95. Lorsque les particules sont présentes dans le site d'observation A100,
10 l'écoulement est arrêté pour permettre la réalisation d'une séquence d'images par le dispositif d'observation. Puis l'écoulement est repris et d'autres particules en suspension sont introduites dans le site d'observation A100 pour réaliser la séquence d'images
15 suivante.

La géométrie et la taille du microcanal A15 et donc du site d'observation A100 permettent de réduire le temps de balayage du microscope utilisé.

20 Le dispositif microfluidique selon l'art antérieur présente cependant un certain nombre d'inconvénients liés au mode de déplacement du liquide contenant les particules en suspension.

D'une part, le volume de liquide mis en mouvement reste élevé. Il est de l'ordre de la contenance du
25 puits d'entrée A91, soit quelques microlitres. En effet, la création du gradient de pression dans le microcanal A15 provoque le déplacement de l'ensemble du liquide contenu dans le puits d'entrée A91.

30 En outre, il n'est pas possible de mettre en mouvement une quantité déterminée de liquide,

inférieure au volume initial du liquide dans le puits d'entrée A91.

D'autre part, le fait que les particules en suspension soient déplacées dans un microcanal A15 ne permet pas de contrôler le déplacement de manière localisée des particules en suspension. En effet, par conservation du débit, le déplacement du liquide en aval influe nécessairement sur le liquide situé en amont, ainsi que sur le liquide situé dans des canaux affluents.

En outre, il n'est pas possible de réaliser un réseau fluide complexe de microcanaux, c'est-à-dire comportant un grand nombre de microcanaux principaux et d'affluents. La gestion des gradients de pression appliqués est particulièrement compliquée. Aussi, le dispositif selon l'art antérieur est limité à un microcanal principal sans affluent, voire avec peu d'affluents.

Par ailleurs, le microcanal A15 peut comporter des zones de recirculation A16 dans lesquelles les particules peuvent être piégées. Il s'agit notamment des zones où les parois du microcanal forment une arête concave. Les particules peuvent s'y accumuler et ainsi perturber l'écoulement.

25

EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'invention concerne d'abord un procédé de manipulation et d'observation de particules en suspension dans un liquide.

Selon l'invention, le procédé comporte les étapes suivantes :

- la mise en contact d'un premier liquide avec une surface hydrophobe,

- la formation d'une première goutte à partir du premier liquide puis le déplacement de ladite goutte
5 par électromouillage afin de l'amener sur un site d'observation, ladite première goutte étant en contact avec ladite surface hydrophobe,

- l'observation des particules contenues dans ladite première goutte.

10 Le procédé peut comporter en outre, avant ladite étape d'observation des particules, une étape de mélange de ladite première goutte avec une seconde goutte d'un second liquide.

La goutte est, de préférence, confinée lors de son
15 déplacement entre ladite surface hydrophobe et un substrat disposé en regard de la surface hydrophobe.

Avantageusement, la goutte est formée à partir d'un orifice traversant ladite surface hydrophobe ou ledit substrat, ledit orifice communiquant avec un puits
20 d'une plaque à puits.

Le volume de la goutte peut être compris entre 0,1nl et 10 μ l.

Ladite première goutte de liquide comprend, de préférence, des cellules de types différents, ou au
25 moins un type de cellules et un type de toxine.

La concentration en particules de ladite première goutte peut être comprise entre 50 et 5000 particules par microlitre.

L'invention concerne également un dispositif de
30 manipulation et d'observation de particules en suspension dans un liquide comportant :

- un premier substrat comportant au moins un premier orifice formant site d'entrée dudit liquide,
 - un site d'observation pour observer les particules en suspension, et
- 5 - des moyens de déplacement du liquide dudit site d'entrée audit site d'observation.

Selon l'invention, le premier substrat comportant une première couche hydrophobe, le liquide étant électriquement conducteur, lesdits moyens de déplacement du liquide sont adaptés à déplacer ledit
10 liquide sous forme de goutte par électromouillage, ladite goutte étant en contact avec ladite première couche hydrophobe.

De préférence, le premier orifice traverse ledit
15 premier substrat de manière sensiblement orthogonal.

Selon un mode de réalisation, les moyens pour déplacer ladite goutte, par électromouillage, comportent :

- une pluralité d'électrodes entre ladite première
20 couche hydrophobe et ledit premier substrat,
- une couche diélectrique entre ladite première couche hydrophobe et ladite pluralité d'électrodes,
- au moins une contre-électrode en contact
25 électrique avec la goutte de liquide, et
- un générateur de tension pour appliquer une différence de potentiel entre les électrodes et ladite contre-électrode.

De préférence, le dispositif comprend un second
30 substrat disposé en regard du premier substrat.

Le second substrat peut être recouvert d'une seconde couche hydrophobe en regard de ladite première couche hydrophobe, ladite contre-électrode étant située entre ladite seconde couche hydrophobe et ledit second substrat.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, le dispositif comprend un second substrat disposé en regard du premier substrat et recouvert d'une seconde couche hydrophobe en regard de ladite première couche hydrophobe.

Les moyens pour déplacer ladite goutte, par électromouillage, comportent avantageusement :

- une pluralité d'électrodes entre ladite seconde couche hydrophobe et ledit second substrat,
- une couche diélectrique entre ladite seconde couche hydrophobe et ladite pluralité d'électrodes,
- au moins une contre-électrode en contact électrique avec la goutte de liquide,
- un générateur de tension pour appliquer une différence de potentiel entre les électrodes et ladite contre-électrode.

Ladite contre-électrode est, de préférence, située entre ladite première couche hydrophobe et ledit premier substrat.

Avantageusement, ledit premier orifice communique avec un premier puits disposé sur une face externe dudit premier substrat opposée à ladite première couche hydrophobe.

Avantageusement, ledit premier substrat comporte au moins un second orifice formant site d'entrée ou de

sortie de liquide, ledit second orifice communiquant avec un second puits disposé sur une face externe dudit premier substrat opposée à ladite première couche hydrophobe.

5 De préférence, ledit puits est un puits d'une plaque à puits.

De préférence, les moyens de déplacement par électromouillage comprennent des moyens pour former une goutte de liquide à partir dudit réservoir.

10 Avantageusement, le premier substrat et/ou le second substrat sont réalisés dans un matériau transparent.

Avantageusement, les électrodes sont réalisées dans un matériau transparent.

15 De préférence, le dispositif comprend un dispositif d'observation pour observer les particules en suspension contenues dans ladite goutte située dans le site d'observation.

Ledit dispositif d'observation peut comprendre un
20 microscope confocal.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront dans la description détaillée non limitative ci-dessous.

25 **BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS**

On décrira à présent, à titre d'exemples non limitatifs, des modes de réalisation de l'invention, en se référant aux dessins annexés, dans lesquels :

Les figures 1A et 1B sont des représentations
30 schématiques en coupe longitudinale (figure 1A) ou en vue de dessus (figure 1B) d'un dispositif de

manipulation et d'observation de particules en suspension dans un liquide selon l'art antérieur ;

Les figures 2A à 2C représentent le principe de fonctionnement de déplacement de gouttes par électromouillage, dans une configuration ouverte ;

La figure 3 représente le principe de fonctionnement de déplacement de liquide par électromouillage, dans un dispositif de type fermé ou confiné pouvant être mis en œuvre dans le cadre de l'invention ;

La figure 4 est une représentation schématique en coupe longitudinale d'un dispositif selon le mode de réalisation préféré de l'invention ;

La figure 5 est une vue de dessus du dispositif représenté dans la figure 4 ;

Les figures 6A à 6C représentent le principe de formation d'une goutte à partir de liquide contenu dans le site d'entrée du dispositif selon l'invention ;

Les figures 7 et 8 sont des représentations schématiques en vue de dessus de variante de réalisation de l'invention ;

La figure 9 est une vue en coupe du dispositif selon la variante de réalisation représentée dans la figure 8 muni d'un dispositif d'observation des particules en suspension.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ D'UN MODE DE RÉALISATION PRÉFÉRÉ

Un dispositif selon l'invention met en œuvre un dispositif de déplacement de liquide, par électromouillage, ou plus précisément par électromouillage sur diélectrique.

Dans la description qui va suivre, les verbes « recouvrir », « être situé sur » et « être disposé sur » n'impliquent pas ici nécessairement de contact direct. Ainsi, un matériau ou un liquide peut être
5 disposé sur une paroi sans qu'il y ait de contact direct entre le matériau et la paroi. Un matériau intermédiaire peut ainsi être présent. Le contact direct est réalisé lorsque le qualificatif « directement » est utilisé avec les verbes
10 précédemment cités.

Le principe de l'électromouillage sur diélectrique mis en œuvre dans le cadre de l'invention peut être illustré à l'aide des figures 2A - 2C, dans le cadre d'un dispositif de type ouvert.

15 Une goutte d'un liquide électriquement conducteur F_1 repose sur un réseau d'électrodes 30, dont elle est isolée par une couche diélectrique 40 et une couche hydrophobe 50 (figure 2A). On a donc un empilement hydrophobe et isolant.

20 Le caractère hydrophobe de cette couche signifie que la goutte a un angle de contact, sur cette couche, supérieur à 90° .

Elle est entourée d'un fluide diélectrique F_D , et forme avec ce fluide une interface I_1 .

25 Les électrodes 30 sont elles-mêmes formées en surface d'un substrat 11.

Une contre-électrode 60, ici sous forme d'un fil caténaire, permet de maintenir un contact électrique avec la goutte F_1 . Cette contre-électrode peut
30 également être un fil enterré ou une électrode planaire dans le capot d'un système confiné.

Les électrodes 30 et la contre-électrode 60 sont connectées à une source de tension 70 permettant d'appliquer une tension U entre les électrodes.

Lorsque l'électrode 30(1) située à proximité de la goutte F_1 est activée, à l'aide de moyens 81 de commutation dont la fermeture établit un contact entre cette électrode et la source de tension 80 via un conducteur commun 82, l'ensemble goutte sous tension F_1 , couche diélectrique 40 et électrode activée 30(1) agit comme une capacité.

Comme le décrit l'article de Berge intitulé « Electrocapillarité et mouillage de films isolants par l'eau », C.R. Acad. Sci., 317, série 2, 1993, 157-163, l'angle de contact de l'interface de la goutte F_1 en regard de l'électrode activée 30(1) diminue alors suivant la relation :

$$\cos\theta_1^{(U)} = \cos\theta_1^{(0)} + \frac{1}{2} \frac{\epsilon_r}{e\sigma} U^2$$

où e est l'épaisseur de la couche diélectrique 40, ϵ_r la permittivité de cette couche et σ la tension de surface de l'interface de la goutte.

Dans le cas d'une tension alternative, la valeur de la fréquence est choisie de manière à excéder le temps de réponse hydrodynamique de la goutte F_1 . La réponse de la goutte F_1 dépend alors de la valeur efficace de la tension, puisque l'angle de contact dépend de la tension en U^2 .

Selon l'article de Bavière et al. intitulé « Dynamics of droplet transport induced by electrowetting actuation », Microfluid Nanofluid, 4, 2008, 287-294, il apparaît une pression électrostatique agissant sur l'interface I_1 , à proximité de la ligne de

contact. Si cette pression électrostatique est appliquée de manière asymétrique, la goutte F_1 peut alors être déplacée. Dans la figure 2A, l'activation de l'électrode 30(1) met la goutte en mouvement suivant la direction X.

La goutte peut ainsi être éventuellement déplacée de proche en proche (figures 2B et 2C), sur la surface hydrophobe 50, par activation successive des électrodes 30(1), 30(2), etc., le long de la caténaire 60.

Il est donc possible de déplacer des liquides, mais aussi de les mélanger (en faisant s'approcher des gouttes de liquides différents), et de réaliser des protocoles complexes.

Bien entendu, le raisonnement est identique pour assurer le déplacement de la goutte dans la direction (-X).

La manipulation de la goutte se situe dans un plan, les électrodes pouvant en effet être disposées de manière linéaire, mais aussi en deux dimensions, définissant ainsi un plan de déplacement pour la goutte.

La figure 3 illustre le phénomène de déplacement d'un liquide par électromouillage dans un dispositif de type fermé ou confiné pouvant être mis en œuvre dans le cadre de l'invention.

Des exemples de dispositifs mettant en œuvre ce principe sont décrits dans l'article de Pollack *et al.* intitulé « Electro-wetting-based actuation of droplets for integrated microfluidics », *Lab Chip*, 2002, 2, 96-101.

Sur cette figure, les références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C désignent les mêmes éléments.

Une goutte de liquide conducteur F_1 est confinée
5 entre un substrat inférieur 11 contenant la pluralité d'électrodes 30 de contrôle, et un substrat supérieur 12 disposé en regard du substrat inférieur 11.

La goutte F_1 comporte une interface amont $I_{1,R}$ et une interface aval $I_{1,A}$.

10 Une couche hydrophobe 52 recouvre de préférence le substrat supérieur 12.

La contre-électrode 60 est ici une électrode planaire disposée entre la couche hydrophobe 52 et le substrat supérieur 12. Elle peut être un fil caténaire
15 comme dans les figures 2A à 2C, ou un fil enterré.

Le principe de fonctionnement dans ce type de dispositif est similaire à ce qui a été décrit précédemment. La ligne triple des interfaces amont $I_{1,R}$ et aval $I_{1,A}$ est mise en mouvement par l'activation
20 successive des électrodes de contrôle 30, provoquant un mouvement d'ensemble de la goutte dans la direction X, ou (-X).

Il est à noter que le fluide F_D ne subit pas de mouvement d'ensemble dans le sens de déplacement de la
25 goutte. En d'autres termes, le fluide F_D n'est pas « poussé » par la goutte F_1 , comme ce serait le cas dans un microcanal, mais contourne la goutte qui se déplace.

Il est à noter également que les électrodes 30 et
30 la couche diélectrique 40 peuvent, de manière alternative, être situées entre la couche hydrophobe 52

et le substrat supérieur 12, la contre-électrode 60 étant alors située sous la couche hydrophobe 51 du substrat inférieur 11.

5 Le mode de réalisation préféré de l'invention est représenté sur les figures 4 et 5 qui montrent, en coupe longitudinale (figure 4) et en vue de dessus (figure 5), un dispositif microfluidique de manipulation et d'observation de particules en
10 suspension dans une goutte de liquide.

La coupe de la figure 4 est effectuée suivant le plan A-A représenté sur la figure 5.

Sur ces figures, les références numériques identiques à celles de la figure 3 désignent les mêmes
15 éléments.

En référence à la figure 4, le dispositif comporte un substrat inférieur 11 et un substrat supérieur 12, disposés en regard l'un de l'autre.

Les deux substrats 11 et 12 sont montés l'un à
20 l'autre par l'intermédiaire d'une cale d'espacement 13 qui permet de maintenir constant l'écartement entre les substrats 11, 12. La cale 13 s'étend le long de la périphérie de chaque substrat 11, 12.

Le substrat supérieur 12 comporte avantageusement
25 une pluralité d'orifices 21, 22, 23 et 24 (figure 5) formant sites d'entrée ou de sortie de liquide, traversant le substrat 12 de manière sensiblement perpendiculaire (figure 4).

Par exemple, le substrat 12 comporte au moins un
30 orifice 21 formant site d'entrée et de stockage de liquide contenant des particules à observer, au moins

un orifice 22 formant site d'entrée d'agent actif. On utilise le terme « agent actif » pour désigner par exemple une toxine ou une drogue. Le substrat 12 peut comporter également au moins un orifice 23 formant site d'entrée de liquide tampon pour contrôler la concentration de particules dans les gouttes, et par exemple un orifice 24 formant site de sortie ou d'évacuation.

Les orifices 21, 22, 23 et 24 peuvent communiquer avec des puits qui contiennent les liquides correspondants, respectivement 91, 92, 93 et 94 (figure 5), situés contre la face externe du substrat supérieur 12 opposée à la couche hydrophobe 52. La communication fluïdique est assurée par l'intermédiaire d'une ouverture 95 disposée au fond du puits. Les orifices 21, 22, 23, 24 peuvent former ainsi des réservoirs.

Les puits 91, 92, 93 et 94 sont avantageusement des puits d'une plaque à puits (8, 96, 384, 1586 puits) et peuvent être intégrés au dispositif selon l'invention. Les substrats 11 et 12 peuvent être fixés au niveau de leur périphérie au mur périphérique 120 de la plaque à puits qui s'étend de manière perpendiculaire au plan des substrats, pour assurer un montage solidaire entre les orifices et les puits.

Avantageusement, un même puits peut communiquer avec plusieurs orifices. Dans ce cas, le puits présente alors un volume et une géométrie adaptée. Il comporte une pluralité d'ouvertures 95, chacune étant disposée en regard de l'orifice correspondant.

Dans ce mode de réalisation, la pluralité d'électrodes de contrôle 30 et la couche diélectrique

40 sont situées entre la couche hydrophobe 52 et le substrat supérieur 12. Plus précisément, la pluralité d'électrodes 30 est en contact avec le substrat supérieur 12 et la couche diélectrique 40 recouvre ces 5 électrodes.

Comme le montre la figure 5, les électrodes 30 sont disposées de manière à former un réseau bidimensionnel. Ce réseau d'électrodes 30 permet de déplacer des gouttes de liquide, de proche en proche, sur un plan, 10 de les mélanger, et de les amener sur un site d'observation 100 pour observer les particules qu'elles contiennent.

La figure 4 montre la contre-électrode 60 incorporée sous la couche hydrophobe 51 du substrat 15 inférieur 11. Elle peut avoir une structure bidimensionnelle de manière à assurer un contact électrique avec les gouttes en déplacement. Elle peut également être formée par un ensemble bidimensionnel de fils caténaux.

La source de tension 70, de préférence alternative, 20 est connectée aux électrodes 30 et à la contre-électrode 60. La fréquence est avantageusement comprise entre 100Hz et 10kHz, de préférence de l'ordre de 1kHz, de manière à excéder le temps de réponse hydrodynamique 25 des gouttes de liquide. Les ions éventuellement contenus dans le liquide n'ont alors pas le temps de migrer et de s'accumuler, selon leur charge, à proximité de l'électrode 30 activée.

Ainsi, la réponse des gouttes dépend de la moyenne 30 temporelle de la tension appliquée, ou plus précisément de la valeur efficace de celle-ci puisque l'angle de

contact dépend de la tension en U^2 , selon la relation donnée précédemment. La valeur efficace peut varier entre 0V et quelques centaines de volt, par exemple 200V. De préférence, elle est de l'ordre de quelques dizaines de volt.

Des moyens permettent de commander ou d'activer les électrodes 30, par exemple un ordinateur type PC et un système de relais connectés au dispositif ou à la puce, tels les relais 81 de la figure 1A, ces relais étant pilotés par les moyens de type PC.

Selon une variante de réalisation, la couche diélectrique 40 et les électrodes 30 peuvent être disposées sous la couche hydrophobe 51 du substrat inférieur 11, comme expliqué précédemment, la contre-électrode 60 pouvant alors être située entre la couche hydrophobe 52 et le substrat supérieur 12.

Dans toute la description, on dira que la goutte formée peut être déplacée « sur » le plan de déplacement formé par le réseau d'électrodes 30, que les électrodes soient situées au niveau du substrat inférieur 11 ou supérieur 12.

La figure 4 montre une goutte de liquide F_1 contenant des particules à observer à proximité d'un orifice 21 et une deuxième goutte de liquide F_2 à proximité d'un second orifice 22. La deuxième goutte contient alors un agent actif.

Les particules à observer sont de préférence des cellules biologiques. La concentration en particules peut être comprise entre 50 et 5000 particules par microlitre, et est de préférence de 500 particules par microlitre environ.

Les gouttes sont entourées d'un fluide F_D diélectrique, non miscible avec les liquides des gouttes F_1 et F_2 . Le fluide F_D peut être de l'air, une huile minérale ou silicone, un solvant perfluoré, comme du FC-40 ou du FC-70, ou encore un alcane comme de l'undécane.

Chaque goutte peut avoir un volume compris entre 0.1 et 100 nanolitres, et est de préférence de 0.2, 2, 8 ou 64nl.

Les gouttes peuvent donc être déplacées sur le réseau bidimensionnel d'électrodes 30 jusqu'à un site d'observation 100. Une pluralité de sites d'observation 100 peut être prévue dans le réseau d'électrodes 30.

Le site d'observation 100 est une zone du dispositif selon l'invention par lequel il est possible d'observer le contenu de la goutte qui y est située.

L'observation peut être effectuée au travers du substrat inférieur 11. Pour cela, les matériaux du substrat inférieur 11, de la couche hydrophobe 51 et de la contre-électrode 60 sont de préférence transparents.

Elle peut alternativement être effectuée au travers du substrat supérieur 12. Pour cela, les matériaux du substrat supérieur 12, de la couche hydrophobe 52 et de l'électrode 30 située dans le site d'observation sont de préférence transparents.

Il est avantageux que les matériaux de l'ensemble des composants qui viennent d'être cités soient transparents, pour permettre une observation au travers du substrat supérieur 12 ou inférieur 11, selon le choix de l'utilisateur ou les contraintes de l'environnement.

Le dispositif d'observation peut comprendre un microscope optique du type à lumière directe, à contraste de phase ou à fluorescence, ou encore à champ proche. Il peut également être un microscope confocal
5 ou à tomographie numérique, ou un dispositif de microscopie holographique digitale.

Il peut comprendre également une unité de gestion des prises de vues et de stockage de données, du type PC, pour ensuite post-traiter et analyser les séquences
10 d'images réalisées.

Comme il vient d'être dit, les substrats 11 et 12 sont réalisés de préférence en matériau transparent, par exemple en verre ou en polycarbonate.

La cale d'espacement 13 peut préférentiellement être réalisée en film sec photo-imageable de type Ordyl, ce qui permet de contrôler précisément l'écartement entre les substrats inférieur 11 et supérieur 12. L'espacement entre le substrat inférieur 11 et le substrat supérieur 12 est typiquement compris
15 entre 10 μ m et 500 μ m, et de préférence entre 50 μ m et 100 μ m.

Les orifices 21, 22, 23 et 24 présentent un diamètre de quelques micromètres, compris par exemple entre 50 μ m et quelques millimètres. Ces orifices sont
25 par exemple réalisés par lithographie et gravure sélective. En fonction des diamètres et des profondeurs à graver, on pourra utiliser la gravure sèche (attaque par gaz, par exemple SF₆, dans un plasma). La gravure peut être également humide. Pour le verre
30 (majoritairement SiO₂) ou des nitrures de silicium, on peut utiliser les gravures à l'acide fluorhydrique ou

phosphorique (ces gravures sont sélectives mais isotropes). La gravure peut être effectuée par ablation laser ou encore par ultrasons. Le micro-usinage peut également être utilisé, en particulier pour du polycarbonate.

Ces orifices peuvent être en communication fluïdique avec les puits de la plaque à puits, dont la contenance de chaque puits peut être comprise entre 1 μ l et 1ml.

Les électrodes 30 et contre-électrode 60 sont réalisées par dépôt d'un matériau transparent, par exemple de l'ITO, sur le substrat. Cette couche conductrice peut être pulvérisée ou réalisée en procédé sol-gel. Elle est ensuite gravée suivant un motif approprié, par exemple par gravure humide.

L'épaisseur des électrodes est comprise entre 10nm et 1 μ m, de préférence 300nm. Les électrodes 30 sont de préférence carrées avec un côté dont la longueur est comprise entre quelques micromètres à quelques millimètres, de préférence entre 50 μ m et 1mm. La surface des électrodes 30 dépend de la taille des gouttes à transporter. L'espacement entre électrodes voisines peut être compris entre 1 μ m et 10 μ m.

La couche diélectrique 40 est réalisée par dépôt d'une couche de nitrure de silicium Si₃N₄, d'épaisseur, de manière générale comprise entre 100nm et 1 μ m, de préférence de 300nm. Un procédé de dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma (PECVD) est préféré au procédé de dépôt en phase vapeur à basse pression (LPCVD) pour des raisons thermiques. En effet, la température du substrat n'est portée qu'entre 150°C et

350°C (selon les propriétés recherchées) contre 750°C environ pour le dépôt LPCVD.

Les couches hydrophobes 51 et 52 sont obtenues par dépôt par évaporation sous vide d'une couche de Téflon ou de SiOC, ou de parylène, sur les substrats inférieur 5
11 et supérieur 12. Cette couche permet notamment de diminuer voire d'éviter les effets d'hystérésis de l'angle de mouillage. Son épaisseur, d'une manière générale comprise entre 100nm et 5µm, est de préférence 10
de 1µm.

Les figures 6A à 6C représentent comment peut être formée une goutte à partir d'un puits 91, 92, 93 ou 94, ici à partir du puits 91.

Le dispositif selon l'invention est représenté ici 15
de manière très schématique. Certains composants n'apparaissent pas, de manière à simplifier les figures.

Un liquide à dispenser est introduit dans l'orifice 21 formant site d'entrée à partir du puits 91 (figure 20
6A). Chaque orifice forme alors un réservoir.

Les substrats inférieur et supérieur, représentés de manière schématique sur les figures 6A à 6C, sont par exemple similaires à la structure de la figure 4.

Trois électrodes 31(1), 31(2), 31(3), similaires 25
aux électrodes 30 de déplacement de gouttes de liquide, sont représentées sur les figures 6A à 6C.

L'activation simultanée de cette série d'électrodes 31(1), 31(2), 31(3) conduit à l'étalement du liquide à partir du site d'entrée 21, et donc à un segment 30
liquide L_1 comme illustré sur la figure 6B.

Puis, on coupe ce segment liquide en désactivant l'électrode 31(2). On obtient ainsi une goutte F_1 , comme illustré sur la figure 6C.

On utilise donc une série d'électrodes 31(1),
5 31(2), 31(3) pour étirer du liquide du puits 91 au travers du site d'entrée 21 en un segment liquide L_1 (figures 6A et 6B) puis pour couper ce segment liquide L_1 (figure 6C) et former une goutte F_1 qui va pouvoir être déplacée sur le plan de déplacement, comme décrit
10 ci-dessus.

Le fonctionnement du dispositif selon l'invention est le suivant, en référence aux figures 4 et 5.

Une goutte F_1 contenant des particules en
15 suspension est formée à partir du puits 91. Par activation successive des électrodes 30, elle est déplacée sur le réseau bidimensionnel d'électrodes 30.

Une ou plusieurs gouttes F_2 contenant un agent actif peuvent être formées et déplacées jusqu'à la
20 goutte F_1 , dans un site de mélange, de manière à mettre en contact les particules en suspension avec l'agent actif voulu.

Les gouttes F_2 peuvent également contenir du liquide tampon, pour contrôler la concentration en
25 particules de la goutte F_1 .

La goutte F_1 est ensuite déplacée jusqu'au site d'observation 100 pour effectuer des séquences d'images des particules. On peut ainsi observer la réponse des particules au stimulus provoqué par l'agent actif.

30 Puis la goutte F_1 est déplacée jusqu'au site de sortie 24 et évacuée dans le puits d'évacuation 94.

Il est à noter que plusieurs gouttes F_1 peuvent être formées à partir d'un unique puits 91 débouchant sur plusieurs orifices et déplacées simultanément sur le réseau bidimensionnel sans que le déplacement de l'une influe le déplacement des autres.

Il est alors avantageux qu'une pluralité de sites d'observation 100 soit prévue pour permettre l'observation des différentes gouttes F_1 , comme le montre la figure 5. Le dispositif d'observation est alors mobile dans le référentiel lié aux substrats de manière à venir en regard de chaque site d'observation 100 lorsqu'une goutte F_1 y est située.

La figure 7 montre une variante de réalisation dans laquelle est prévu un site unique d'observation. Le réseau d'électrodes 30 est alors conçu pour que les gouttes F_1 , une fois observées, puissent continuer leur déplacement dans la même direction. Un train de gouttes F_1 peut alors être formé et déplacé sur un même trajet. Le dispositif d'observation est alors fixé au dispositif, en regard du site d'observation.

Selon une autre variante de réalisation de l'invention représentée dans les figures 8 et 9, une pluralité de dispositifs selon l'invention peut être montée sur une unique plaque à puits. Chaque dispositif selon l'invention est indépendant des dispositifs voisins (figure 8). Le dispositif d'observation 130 se déplace alors pour se placer en regard des différents sites d'observation 100 des différents dispositifs selon l'invention (figure 9).

30

L'invention offre de multiples avantages.

Elle permet d'abord l'utilisation de volumes de gouttes de liquide extrêmement réduits, de l'ordre du nanolitre (par exemple entre 0,1nl et 100nl, de préférence 2nl, 8nl ou 64nl), sans volume mort, et
5 permet le contrôle des concentrations.

L'invention permet une dispense unique, à partir d'un réservoir, des drogues et des cellules, ou de tout agent actif, au lieu d'une dispense puits par puits comme dans le dispositif de l'art antérieur
10 précédemment décrit.

Le coût lié à l'utilisation des cellules et des réactifs est alors particulièrement réduit par rapport à celui du dispositif selon l'art antérieur.

De plus, le temps de balayage par le microscope
15 pour repérer les particules contenues dans la goutte est également réduit de manière importante. Le dispositif selon l'invention répond aux exigences de rapidité du criblage à haut débit.

En outre il n'y a pas d'évaporation qui risquerait
20 d'influencer la viabilité des cellules.

La concentration peut être contrôlée par dilutions successives à partir d'un réservoir de concentration connue.

Il est alors possible d'étudier les actions
25 combinées des mélanges de toxines, afin de vérifier si leurs actions sont, ou pas, compatibles et/ou synergiques.

Il est possible également de contrôler localement le déplacement des gouttes, indépendamment des gouttes
30 situées en amont et en aval. Un réseau complexe de

chemin de parcours de goutte est donc facilement réalisable.

Il n'y a aucune zone de recirculation qui peut piéger les particules en suspension. En effet, celles-
5 ci restent contenues dans la goutte en déplacement.

REVENDICATIONS

1. Procédé de manipulation et d'observation de
5 particules en suspension dans un liquide, caractérisé
en ce qu'il comporte les étapes suivantes :

- la mise en contact d'un premier liquide avec une
surface hydrophobe (52),

- la formation d'une première goutte (F_1) à partir
10 du premier liquide puis le déplacement de ladite goutte
(F_1) par électromouillage afin de l'amener sur un site
d'observation (100), ladite première goutte étant en
contact avec ladite surface hydrophobe (52),

- l'observation des particules contenues dans
15 ladite première goutte (F_1),

ladite goutte (F_1) étant confinée lors de son
déplacement entre ladite surface hydrophobe et un
substrat (11) disposé en regard de la surface
hydrophobe (52), et formée à partir d'un orifice (21)
20 traversant ladite surface hydrophobe (52) ou ledit
substrat (11), ledit orifice communiquant avec un puits
(91, 92, 93) d'une plaque à puits.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en
25 ce qu'il comporte en outre, avant ladite étape
d'observation des particules, une étape de mélange de
ladite première goutte (F_1) avec une seconde goutte (F_2)
d'un second liquide.

3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que la goutte (F_1, F_2) a un volume compris entre 0,1nl et 10 μ l.

5 4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ladite première goutte (F_1) de liquide comprend des cellules de types différents, ou au moins un type de cellule et un type de toxine.

10

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la concentration en particules est comprise entre 50 et 5000 particules par microlitre.

15

6. Dispositif de manipulation et d'observation de particules en suspension dans un liquide comportant :

- un premier substrat (12) comportant au moins un premier orifice (21) formant site d'entrée dudit liquide,
- un site d'observation (100) pour observer les particules en suspension, et
- des moyens de déplacement du liquide dudit site d'entrée audit site d'observation,

25

caractérisé en ce que, le premier substrat (12) comportant une première couche hydrophobe (52), le liquide étant électriquement conducteur, lesdits moyens de déplacement du liquide sont adaptés à déplacer ledit liquide sous forme de goutte (F_1) par électromouillage, ladite goutte (F_1) étant en contact avec ladite première couche hydrophobe (52), et en ce que ledit

30

premier orifice (21) communique avec un premier puits (91) disposé sur une face externe dudit premier substrat (12) opposée à ladite première couche hydrophobe (52), ledit premier puits (91) est un puits
5 d'une plaque à puits.

7. Dispositif selon la revendication 6, caractérisé en ce que les moyens pour déplacer ladite goutte, par électromouillage, comportent :

- 10 - une pluralité d'électrodes (30) entre ladite première couche hydrophobe (52) et ledit premier substrat (12),
- une couche diélectrique (40) entre ladite première
15 couche hydrophobe (52) et ladite pluralité d'électrodes (30),
- au moins une contre-électrode (60) en contact électrique avec la goutte de liquide (F_1), et
- un générateur de tension (70) pour appliquer une
20 différence de potentiel entre les électrodes (30) et ladite contre-électrode (30).

8. Dispositif selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un second substrat (11) disposé en regard du premier substrat (12).

25

9. Dispositif selon la revendication 8, caractérisé en ce que le second substrat (11) est recouvert d'une seconde couche hydrophobe (51) en regard de ladite première couche hydrophobe (52), ladite contre-
30 électrode (60) étant située entre ladite seconde couche hydrophobe (51) et ledit second substrat (11).

10. Dispositif selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il comprend en outre un second substrat (11) disposé en regard du premier substrat (12) et recouvert d'une seconde couche hydrophobe (51) en regard de ladite première couche hydrophobe (52).

11. Dispositif selon la revendication 10, caractérisé en ce que les moyens pour déplacer ladite goutte, par électromouillage, comportent :

- une pluralité d'électrodes entre ladite seconde couche hydrophobe (51) et ledit second substrat (11),
- une couche diélectrique (40) entre ladite seconde couche hydrophobe (51) et ladite pluralité d'électrodes (30),
- au moins une contre-électrode (60) en contact électrique avec la goutte de liquide (F_1), et
- un générateur de tension (70) pour appliquer une différence de potentiel entre les électrodes (30) et ladite contre-électrode (60).

12. Dispositif selon la revendication 11, caractérisé en ce que ladite contre-électrode (60) est située entre ladite première couche hydrophobe (52) et ledit premier substrat (12).

13. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 8 à 12, caractérisé en ce que ledit premier substrat (12) comporte au moins un second orifice (22, 23, 24) formant site d'entrée ou de sortie

de liquide, ledit second orifice (22, 23, 24) communiquant avec un second puits (92, 93, 94) disposé sur une face externe dudit premier substrat (12) opposée à ladite première couche hydrophobe (52).

5

14. Dispositif selon la revendication 13, caractérisé en ce que ledit second puits (92, 93, 94) est un puits d'une plaque à puits.

10

15. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 8 à 14, caractérisé en ce que les moyens de déplacement par électromouillage comprennent des moyens (31(1), 31(2), 31(3)) pour former une goutte de liquide à partir dudit orifice (21, 22, 23, 24).

15

16. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 8 à 15, caractérisé en ce que le premier substrat (12) et/ou le second substrat (11) sont réalisés dans un matériau transparent.

20

17. Dispositif selon la revendication 16, caractérisé en ce que les électrodes (30) sont réalisées dans un matériau transparent.

25

18. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 6 à 17, caractérisé en ce qu'il comprend un dispositif d'observation (130) pour observer les particules en suspension contenues dans ladite goutte (F_1) située dans le site d'observation (100).

30

19. Dispositif selon la revendication 18, caractérisé en ce que le dispositif d'observation (130) comprend un microscope confocal.

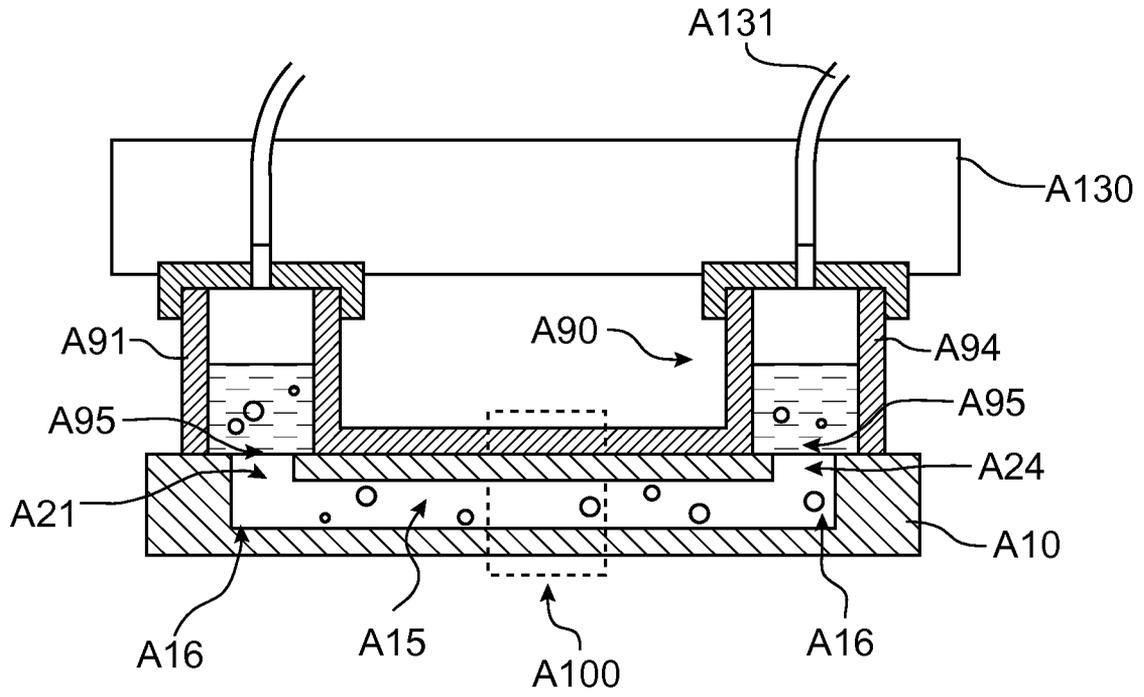


FIG.1A

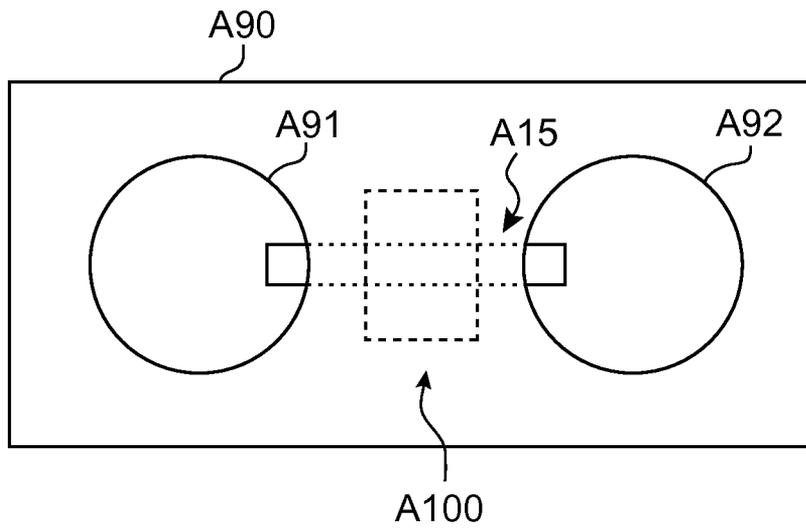


FIG.1B

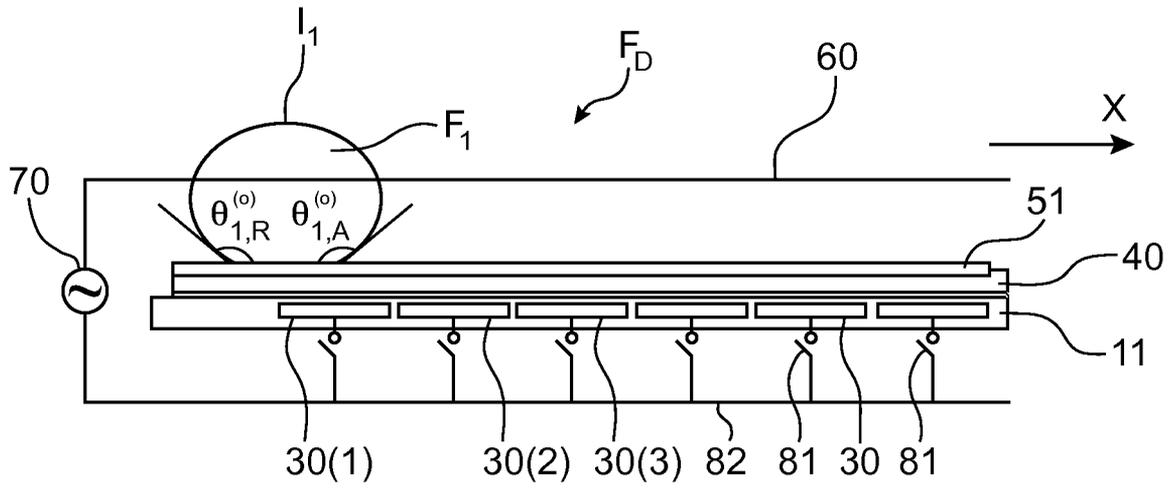


FIG.2A

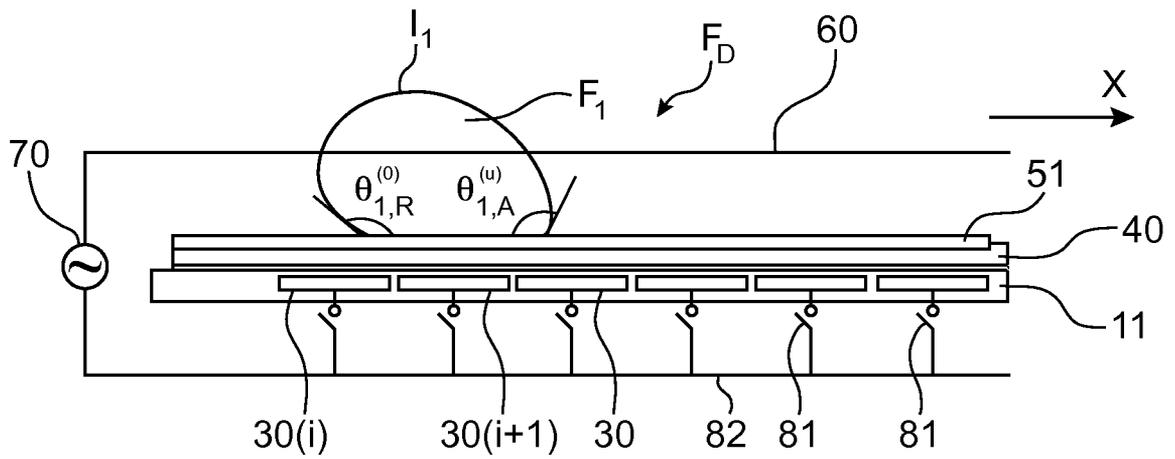


FIG.2B

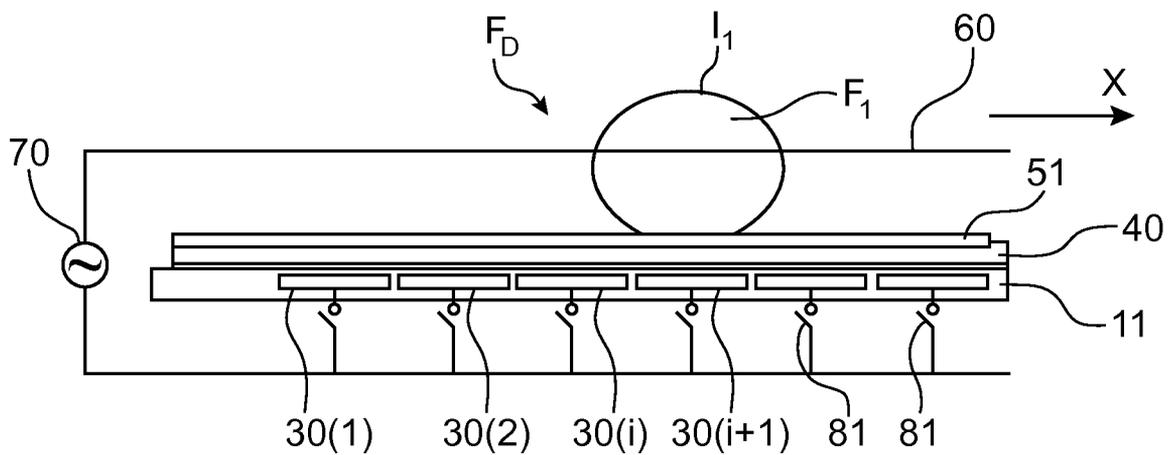


FIG.2C

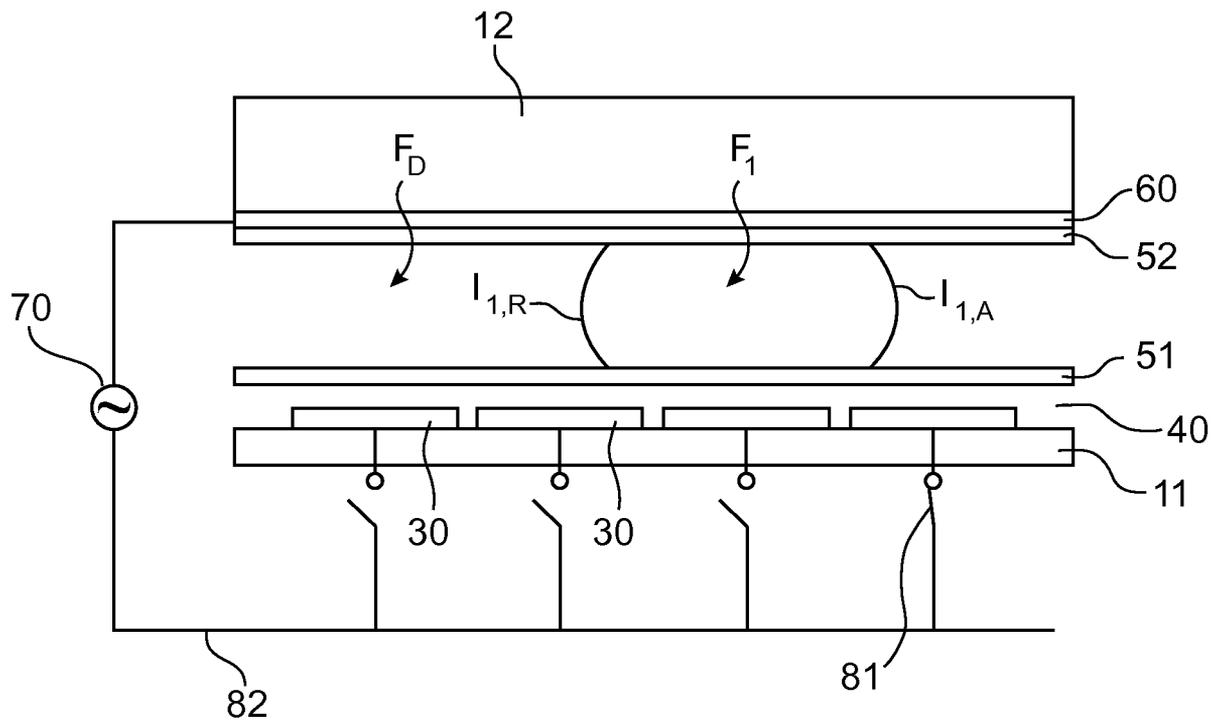


FIG.3

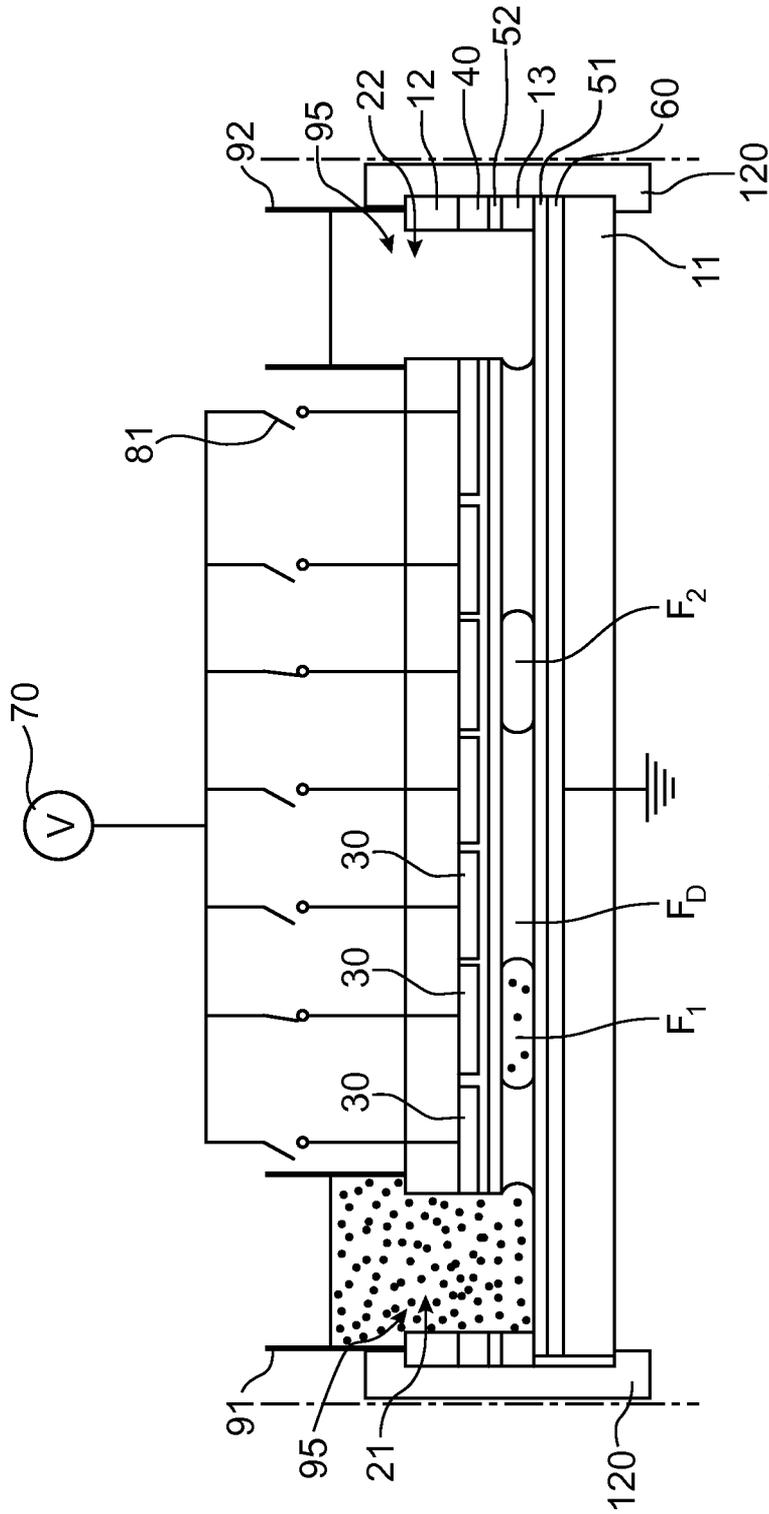


FIG.4

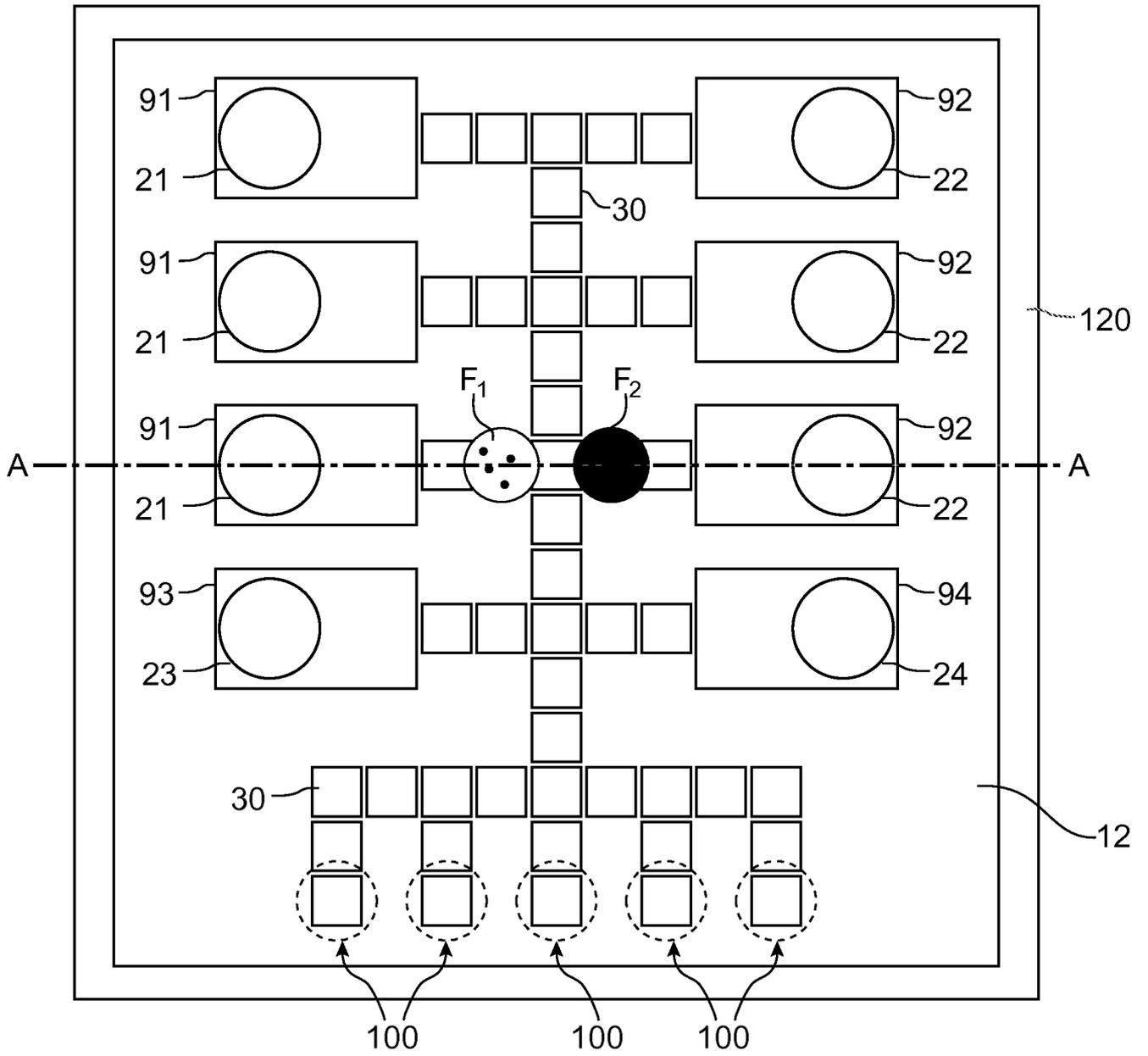


FIG.5

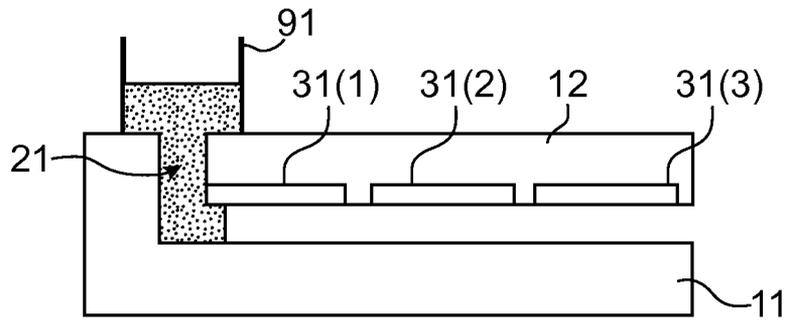


FIG.6A

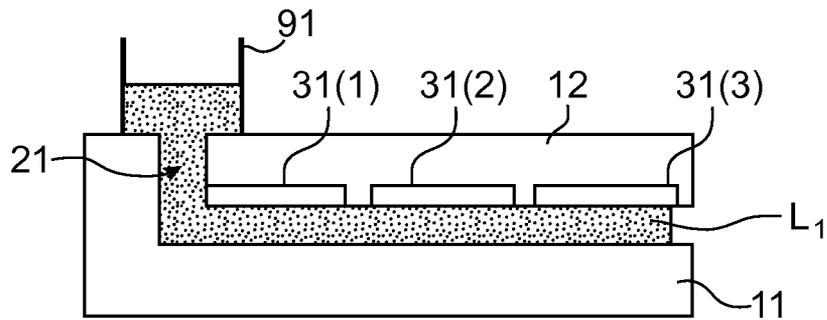


FIG.6B

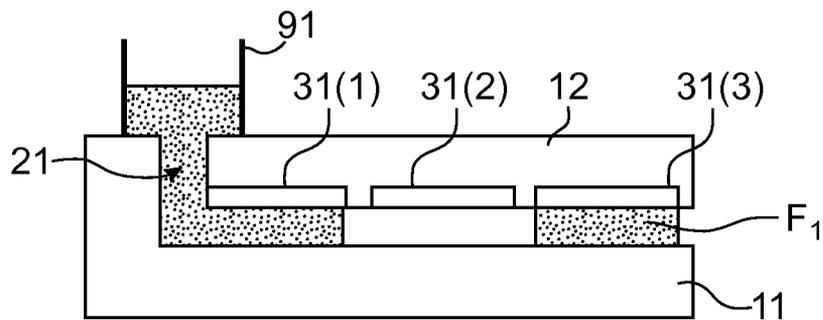


FIG.6C

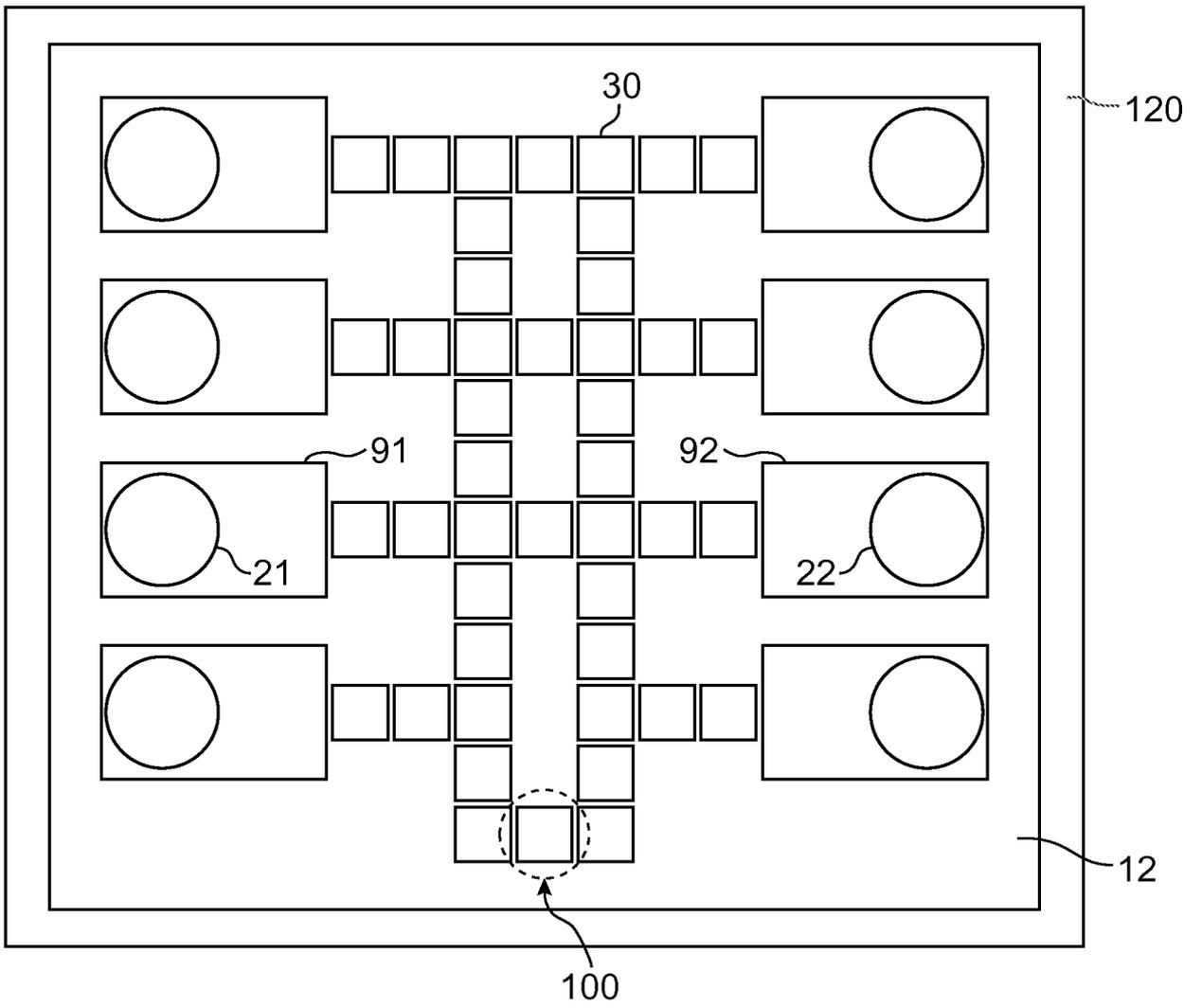


FIG.7

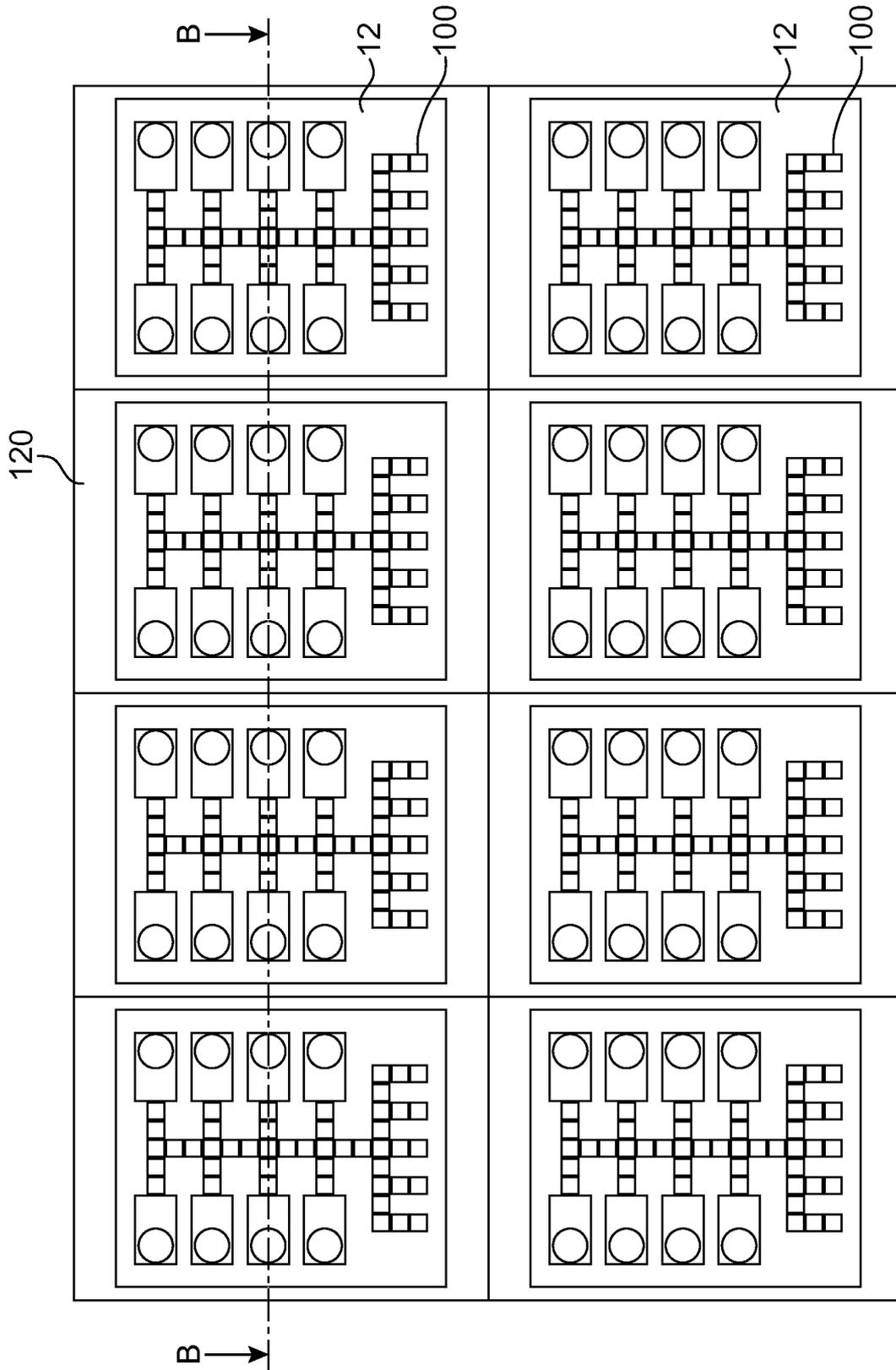


FIG.8

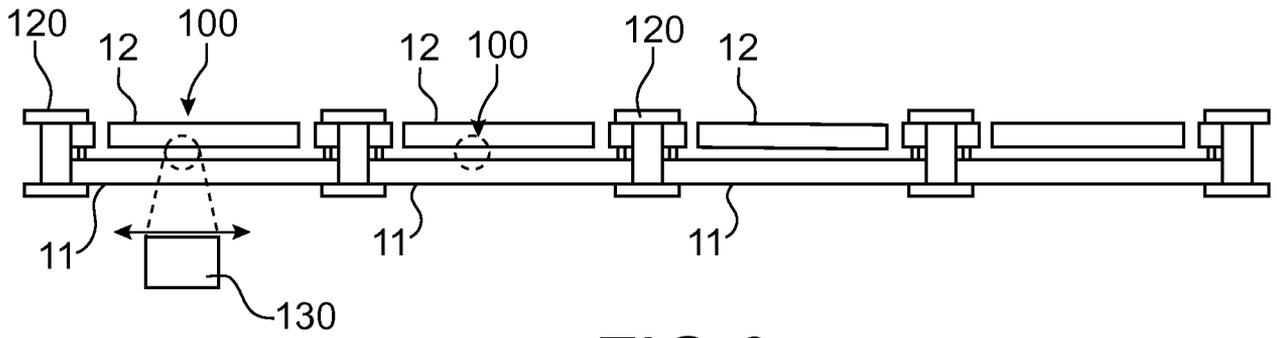


FIG.9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/058777

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. B01L3/00 F04B19/00 G01N1/40		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) B01L F04B G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 887 705 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 29 December 2006 (2006-12-29) figures 5A,B,13A-D -----	1-19
A	WO 99/54730 A (WALLAC OY [FI]; LEHTO ARI [FI]; KOJOLA HANNU [FI]; LOEVGREN TIMO [FI];) 28 October 1999 (1999-10-28) claims 1,24; figures 4,16 -----	1-19
A	FR 2 872 438 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 6 January 2006 (2006-01-06) the whole document -----	1-19
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
9 septembre 2009	16/09/2009	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Skowronski, Maik	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2009/058777

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>SUNG KWON CHO ET AL: "Particle separation and concentration control for digital microfluidic systems" PROCEEDINGS OF THE IEEE 16TH. ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE ON MICRO ELECTRO MECHANICAL SYSTEMS. MEMS 2003. KYOTO, JAPAN, AN. 19 - 23, 2003; [IEEE INTERNATIONAL MICRO ELECTRO MECHANICAL SYSTEMS CONFERENCE], NEW YORK, NY : IEEE, US, vol. CONF. 16, 19 January 2003 (2003-01-19), pages 686-689, XP010637065 ISBN: 978-0-7803-7744-8 the whole document</p>	1-19
A	<p>US 2004/055891 A1 (PAMULA VAMSEE K [US] ET AL) 25 March 2004 (2004-03-25) the whole document</p>	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/EP2009/058777
--

Patent document cited in search report	A	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2887705	A	29-12-2006	NONE	
WO 9954730	A	28-10-1999	AU 3423499 A FI 980874 A	08-11-1999 21-10-1999
FR 2872438	A	06-01-2006	EP 1773497 A1 WO 2006013303 A1 JP 2008504124 T US 2008302431 A1	18-04-2007 09-02-2006 14-02-2008 11-12-2008
US 2004055891	A1	25-03-2004	AU 2003269816 A1 EP 1554568 A2 JP 4298656 B2 JP 2006500596 T JP 2009115826 A KR 20050071505 A WO 2004030820 A2 US 2006054503 A1 US 2008247920 A1 US 2008264797 A1	23-04-2004 20-07-2005 22-07-2009 05-01-2006 28-05-2009 07-07-2005 15-04-2004 16-03-2006 09-10-2008 30-10-2008

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/EP2009/058777

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. B01L3/00 F04B19/00 G01N1/40		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) B01L F04B G01N		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, PAJ, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR 2 887 705 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 29 décembre 2006 (2006-12-29) figures 5A,B,13A-D -----	1-19
A	WO 99/54730 A (WALLAC OY [FI]; LEHTO ARI [FI]; KOJOLA HANNU [FI]; LOEVGREN TIMO [FI];) 28 octobre 1999 (1999-10-28) revendications 1,24; figures 4,16 -----	1-19
A	FR 2 872 438 A (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]) 6 janvier 2006 (2006-01-06) le document en entier ----- -----	1-19
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *&* document qui fait partie de la même famille de brevets	
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
9 septembre 2009	16/09/2009	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé	
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Skowronski, Maik	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2009/058777

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>SUNG KWON CHO ET AL: "Particle separation and concentration control for digital microfluidic systems" PROCEEDINGS OF THE IEEE 16TH. ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE ON MICRO ELECTRO MECHANICAL SYSTEMS. MEMS 2003. KYOTO, JAPAN, AN. 19 - 23, 2003; [IEEE INTERNATIONAL MICRO ELECTRO MECHANICAL SYSTEMS CONFERENCE], NEW YORK, NY : IEEE, US, vol. CONF. 16, 19 janvier 2003 (2003-01-19), pages 686-689, XP010637065 ISBN: 978-0-7803-7744-8 le document en entier</p>	1-19
A	<p>US 2004/055891 A1 (PAMULA VAMSEE K [US] ET AL) 25 mars 2004 (2004-03-25) le document en entier</p>	1-19

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2009/058777

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
FR 2887705	A	29-12-2006	AUCUN		
WO 9954730	A	28-10-1999	AU	3423499 A	08-11-1999
			FI	980874 A	21-10-1999
FR 2872438	A	06-01-2006	EP	1773497 A1	18-04-2007
			WO	2006013303 A1	09-02-2006
			JP	2008504124 T	14-02-2008
			US	2008302431 A1	11-12-2008
US 2004055891	A1	25-03-2004	AU	2003269816 A1	23-04-2004
			EP	1554568 A2	20-07-2005
			JP	4298656 B2	22-07-2009
			JP	2006500596 T	05-01-2006
			JP	2009115826 A	28-05-2009
			KR	20050071505 A	07-07-2005
			WO	2004030820 A2	15-04-2004
			US	2006054503 A1	16-03-2006
			US	2008247920 A1	09-10-2008
			US	2008264797 A1	30-10-2008