



(11) **EP 3 319 728 B1**

(12) **FASCICULE DE BREVET EUROPEEN**

(45) Date de publication et mention
de la délivrance du brevet:
18.03.2020 Bulletin 2020/12

(51) Int Cl.:
B01L 3/00 (2006.01) B01L 3/02 (2006.01)

(21) Numéro de dépôt: **16741562.9**

(86) Numéro de dépôt international:
PCT/EP2016/066180

(22) Date de dépôt: **07.07.2016**

(87) Numéro de publication internationale:
WO 2017/005872 (12.01.2017 Gazette 2017/02)

(54) **PROCÉDÉ DE RÉCUPÉRATION DE GOUTTES ET SYSTÈME DE RÉCUPÉRATION DE GOUTTES ASSOCIÉ**

TRÖPFCHENRÜCKGEWINNUNGSVERFAHREN UND ZUGEHÖRIGES
TRÖPFCHENRÜCKGEWINNUNGSSYSTEM

DROPLET RECUPERATION METHOD AND ASSOCIATED DROPLET RECUPERATION SYSTEM

(84) Etats contractants désignés:
**AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB
GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO
PL PT RO RS SE SI SK SM TR**

(30) Priorité: **07.07.2015 FR 1556424**

(43) Date de publication de la demande:
16.05.2018 Bulletin 2018/20

(73) Titulaires:
• **Ecole Supérieure de Physique et de Chimie
Industrielles de la Ville de Paris
75005 Paris (FR)**
• **Centre National de la Recherche Scientifique
(CNRS)
75016 Paris (FR)**

(72) Inventeurs:
• **BOITARD, Laurent
95100 Argenteuil (FR)**
• **BREMOND, Nicolas
75005 Paris (FR)**
• **GARNICA RODRIGUEZ, Jaïro
91300 Massy (FR)**
• **BIBETTE, Jérôme
75005 Paris (FR)**

(74) Mandataire: **Lavoix
2, place d'Estienne d'Orves
75441 Paris Cedex 09 (FR)**

(56) Documents cités:
EP-A1- 2 436 444 US-A1- 2011 053 798

EP 3 319 728 B1

Il est rappelé que: Dans un délai de neuf mois à compter de la publication de la mention de la délivrance du brevet européen au Bulletin européen des brevets, toute personne peut faire opposition à ce brevet auprès de l'Office européen des brevets, conformément au règlement d'exécution. L'opposition n'est réputée formée qu'après le paiement de la taxe d'opposition. (Art. 99(1) Convention sur le brevet européen).

Description

[0001] La présente invention concerne un procédé de récupération de gouttes comprenant les étapes suivantes :

- fourniture d'une puce comportant un conduit de circulation de fluide définissant successivement dans un sens de circulation des fluides, une zone d'entrée, une zone d'espacement, une zone d'injection et une zone de séparation,
- injection d'une émulsion de gouttes d'un fluide interne dispersées dans un fluide externe, dans la zone d'entrée,
- injection d'au moins un fluide porteur miscible avec le fluide externe dans la zone d'espacement, pour former dans le conduit de circulation un fluide de travail comprenant du fluide porteur et des gouttes de l'émulsion espacées les unes des autres le long du conduit,
- convoyage du fluide de travail dans le conduit de circulation.

[0002] Le procédé selon l'invention permet, par exemple, de former une émulsion goutte à goutte avec un contenu déterminé ou de réinjecter une émulsion, puis d'espacer les gouttes de l'émulsion avant de les isoler une à une sur un support solide. Le support solide est par exemple une plaque à 96, 386 ou 1536 puits, ou une boîte de Pétri ou une plaque MALDI.

[0003] Une émulsion est un mélange hétérogène de deux liquides non miscibles, sous forme de gouttes du premier liquide dans le second.

[0004] La microfluidique de goutte est utilisée dans un grand nombre de laboratoires pour miniaturiser les réactions biologiques et biochimiques dans des bioréacteurs de quelques picolitres à quelques nanolitres. Les vitesses d'échantillonnages, au delà de 1000 gouttes analysées par seconde et la réduction du volume des échantillons rendent cette technologie très attractive pour le criblage de molécules et de cellules. Au cours des 10 dernières années, un grand nombre de modules ont été développés pour manipuler ces gouttes micrométriques : mélange et ajout de composés, fusion de gouttes, détection de marqueurs fluorescents, incubation et sélections de gouttes d'intérêt.

[0005] La publication "Fluorescence-activated droplets sorting (FADS): Efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity", de Baret et al. publiée en ligne le 23 avril 2009 dans la revue Lab on a Chip illustre ce principe.

[0006] Une émulsion de gouttes est injectée dans un dispositif de tri, les gouttes de l'émulsion sont espacées avec une injection d'huile fluorée sans tensio-actif. Les gouttes sont ensuite envoyées vers une interface de tri. Une mesure est effectuée, toutes les gouttes présentant un signal supérieur à un seuil de détection sont collectées dans un même tube. Un tel système permet la séparation

de l'émulsion en deux populations de gouttes et la récupération de chaque population.

[0007] Cependant, cette méthode ne permet pas de récupérer les gouttes individuellement.

5 **[0008]** Or, il est important dans certaines applications de pouvoir récupérer des gouttes isolées dans un support macroscopique.

[0009] Par exemple, dans le domaine du criblage haut débit de cellules, on souhaite tester de nombreuses cellules isolées à la fois, puis sélectionner et récupérer les cellules les plus intéressantes. L'isolement des cellules dans des gouttes distinctes facilite les tests, puis la remise en culture des cellules sélectionnées permet d'obtenir des clones générant des anticorps monoclonaux ou des enzymes industrielles.

10 **[0010]** Avec la méthode précédemment décrite, environ mille gouttes mélangées sont récupérées ensemble à la sortie du système, il faut donc réaliser de nombreuses étapes ultérieures pour isoler les cellules présentant les meilleures dispositions pour synthétiser le composé d'intérêt. En variante, la méthode précédemment décrite peut être utilisée pour récupérer seulement une goutte mais ceci est difficile à mettre en oeuvre du fait du faible volume de la goutte à manipuler et, en outre, dans ce cas, le reste des gouttes est perdu ou éliminé.

25 **[0011]** La publication « Interfacing picoliter droplet microfluidics with addressable microliter compartments using fluorescence activated cell sorting » de Bai et al., publiée en ligne le 28 décembre 2013 dans la revue Sensors and Actuators B : Chemical, propose une méthode qui permet d'isoler les gouttes une à une. Cette méthode consiste à gélifier les gouttes contenant les molécules ou cellules d'intérêt avant de les placer dans un cytomètre de flux à tri cellulaire activé par fluorescence (appelé FACS pour *Fluorescence Activated Cell Sorter*) qui va ensuite les distribuer dans une plaque.

30 **[0012]** Cependant, de nombreuses gouttes sont perdues. De plus, un inconvénient majeur de cette méthode est l'étape de gélification de la goutte qui impose des conditions de températures qui ne sont pas forcément compatibles avec toutes les réactions biochimiques ou biologiques. En effet, les auteurs placent leurs échantillons dans un bain de glace, ce qui va arrêter toute réaction.

45 **[0013]** La demande de brevet WO2012042060 décrit un système de production et de récupération de gouttes. Les gouttes sont générées à une fréquence compatible synchronisée avec la vitesse de déplacement de l'élément de récupération des gouttes.

50 **[0014]** Cependant, ce système ne permet pas de réinjecter une émulsion. En outre, la séparation des gouttes nécessite une quantité importante d'huile qui rend difficile leur manipulation. Enfin, ce système ne permet pas d'ajouter un réactif (liquide de lyse par exemple) une fois la goutte formée.

55 **[0015]** Le document US 2011/053798 A1 décrit un procédé d'analyse d'un échantillon par formation et coalescence d'émulsions multiples.

[0016] Un but de l'invention est de fournir un procédé de récupération de gouttes plus fiable et plus précis que les procédés existants, permettant un suivi individuel de chaque goutte et une récupération efficace de son contenu.

[0017] A cet effet, l'invention a pour objet un procédé selon la revendication 1.

[0018] Le procédé selon l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques des revendications 2 à 11 ou des caractéristiques suivantes, prise(s) isolément ou suivant toute combinaison techniquement possible :

- la formation des poches est effectuée à une fréquence comprise entre 1 poche par secondes et 1000 poches par secondes ;
- le diamètre de chaque goutte est inférieur ou égal à celui du conduit de circulation 46 ;
- le diamètre de chaque poche est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46 ;
- le diamètre de chaque séparateur est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46, le fluide séparateur étant de préférence un gaz.

[0019] L'invention a également pour objet un système de récupération de gouttes selon la revendication 12.

[0020] Le système de récupération de gouttes selon l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques des revendications 13 à 15, prise(s) isolément ou suivant toute combinaison techniquement possible.

[0021] L'invention a également pour objet un dispositif de distribution de poches comprenant :

- un tube d'évacuation, définissant une lumière interne débouchant sur une embouchure ouverte, le tube d'évacuation comprenant une paroi externe ;
- un dispositif de mise en circulation dans la lumière interne du tube d'évacuation d'une pluralité de poches successives comprenant un fluide porteur, chaque poche étant isolée de la poche suivante par un séparateur constitué d'un fluide séparateur, le fluide séparateur étant non miscible avec le fluide porteur ;
- un embout présentant un passage traversant, le tube d'évacuation étant placé dans le passage traversant de l'embout ;
- une unité de soufflage propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant de sorte à ce qu'une partie de l'air longe la paroi externe du tube d'évacuation, jusqu'à l'embouchure du tube d'évacuation.

[0022] L'invention a également pour objet un procédé de distribution de poches comprenant les étapes suivantes :

- fourniture d'un dispositif de distribution tel que précédemment décrit ;
- mise en circulation des poches successives dans la

lumière interne,

- injection d'air dans le passage traversant de l'embout, le débit d'air et le débit des poches étant ajustés pour que chaque poche se détache successivement de l'embouchure du tube d'évacuation.

[0023] L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description qui va suivre, donnée uniquement à titre d'exemple, et faite en se référant aux dessins annexés, sur lesquels :

- la figure 1 est une représentation schématique d'un premier système de récupération de gouttes selon l'invention,
- la figure 2 est une représentation schématique d'une émulsion avant l'injection dans le système de récupération des gouttes,
- la figure 3 est une représentation détaillée d'une partie d'un deuxième système de récupération de gouttes selon l'invention,
- la figure 4 est une représentation détaillée d'une partie d'un troisième système de récupération de gouttes ;
- la figure 5 est une représentation détaillée d'une partie d'un quatrième système de récupération ;
- la figure 6 est une représentation détaillée d'un dispositif de distribution de poche d'un cinquième système de récupération ;
- la figure 7 est une représentation détaillée du dispositif de distribution de poche de la figure 6, lors d'une étape suivante d'un procédé de distribution de poches ;
- la figure 8 est un résultat de distribution de poche obtenu après une distribution de poches par le dispositif de distribution de poche de la figure 6 ;
- la figure 9 est un autre résultat de distribution de poche obtenu après une distribution de poches par le dispositif de distribution de poche de la figure 6.

[0024] Dans la description qui va suivre, les termes « amont » et « aval » et les termes « entrée » et « sortie » sont utilisées en référence au sens normaux de circulation des fluides du système.

[0025] Le terme « longitudinal » est défini par rapport à la direction du conduit de circulation dans la puce. On appelle « plan transversal » les plans qui sont perpendiculaires à la direction longitudinale.

[0026] Le terme « diamètre » d'un élément désigne l'étendue maximale de l'élément considérée dans un plan transversal.

[0027] On appelle « fréquence des gouttes », le nombre de gouttes par seconde passant devant un point fixe du conduit de circulation.

[0028] Un premier système de récupération 1 de gouttes est représenté sur la figure 1.

[0029] Le premier système de récupération 1 de gouttes est prévu pour isoler et récupérer séparément les gouttes 4 d'une émulsion 6.

[0030] Une émulsion 6 de gouttes 4 est représentée sur la figure 2.

[0031] L'émulsion 6 est constituée d'une pluralité de gouttes 4 d'un fluide interne 8 dispersées dans un fluide externe 10.

[0032] L'émulsion 6 est sensiblement stable, cela signifie que pour un volume fixe de l'émulsion 6, le nombre et le volume des gouttes 4 varient de moins de 5 % lorsque le volume fixe de l'émulsion 6 est conservé entre -80 °C et 80 °C, à 1 bar pendant 48 h.

[0033] L'émulsion 6 est concentrée. Ceci signifie que la fraction volumique de gouttes 4 dans l'émulsion 6 est comprise entre 30 % et 40 %. Chaque goutte 4 constitue un compartiment fermé rempli de fluide interne 8.

[0034] Les gouttes 4 de l'émulsion 6 sont, de préférence, sensiblement monodisperses. Les gouttes 4 présentent, par exemple, un volume compris entre 2 pL et 2 µL.

[0035] Au moins certaines gouttes 4 de l'émulsion 6 sont différentes d'autres gouttes 4 de l'émulsion 6.

[0036] Chaque goutte 4 comprend un fluide interne 8 potentiellement différent d'une goutte 4 à l'autre.

[0037] Avantageusement, le fluide interne 8 de toutes les gouttes 4 comprend au moins une même base commune 12. Par exemple, la base commune 12 est une solution tampon adaptée à la survie de cellules comme une solution de tampon phosphate salin ou un milieu de culture.

[0038] Le fluide interne 8 de chaque goutte 4 est constitué d'éléments propres 14 à la goutte 4 et de la base commune 12. Les proportions des éléments propres 14 et de la base commune 12 et/ou les natures des éléments propres 14 varient d'une goutte 4 à l'autre.

[0039] Par exemple, les éléments propres 14 d'une goutte 4 sont une cellule et des éléments sécrétés par la cellule, comme des protéines.

[0040] Avantageusement, plus de 10 % du volume de la goutte 4 est constitué de la base commune 12.

[0041] Le fluide interne 8 de chaque goutte 4 est non miscible avec le fluide externe 10. On entend par non miscible que le coefficient de partage entre les deux fluides est inférieur à 10^{-3} . Les gouttes 4 sont bien définies dans l'émulsion 6 et les échanges entre deux gouttes 4 voisines dans l'émulsion 6 sont limités aux composés solubles ou légèrement solubles dans le fluide externe 10, c'est-à-dire avec un coefficient de partage supérieur ou égal à 10^{-3} et dans les cas où les compositions sont différentes entre gouttes 4 voisines.

[0042] Avantageusement, la base commune 12 est non miscible avec le fluide externe 8.

[0043] Dans l'exemple, le fluide interne 8 est une phase aqueuse et le fluide externe 10 est une phase organique notamment une phase huileuse.

[0044] Le fluide externe 10 comprend par exemple des hydrofluoroéthers comme FC-40 ou HFE-7500, formant une huile fluorée.

[0045] Le fluide externe 10 comprend, en outre, avantageusement un tensio-actif. Le tensio-actif est propre à stabiliser l'émulsion 6. Le tensio-actif est, par exemple,

un copolymère à bloc de polyéthylène glycol et de perfluoropolyéther (PEG-PFPE). Par exemple, la concentration de tensio-actif dans le fluide externe 10 est comprise entre 2 % et 5 %.

[0046] L'émulsion 6 est, par exemple, préparée au moyen d'un dispositif de préparation et conservée avant d'être utilisée dans le premier système de récupération 1.

[0047] Le premier système de récupération 1 est destiné à récupérer séparément les gouttes 4 de l'émulsion 6.

[0048] Le premier système de récupération de gouttes 1, représenté sur la figure 1, comprend une puce 20 de séparation, une unité de commande 21 et un dispositif 22 d'injection de l'émulsion 6 dans la puce 20. En outre, le premier système de récupération 1 comprend un dispositif 24 d'injection de fluide porteur 26 dans la puce 20 pour former un fluide de travail 28, un dispositif 32 d'injection d'un fluide séparateur 33 dans la puce 20 et un support de récupération 34.

[0049] Comme cela sera décrit par la suite, l'unité de commande 21 est propre à contrôler l'injection dans la puce 20 du fluide séparateur 33 par le dispositif 32 d'injection du fluide séparateur 33 pour séparer le fluide de travail 28 en une pluralité de poches 35 successives, susceptibles de contenir une goutte 4, comme illustré sur la figure 1.

[0050] En complément, le premier système de récupération 1 de gouttes comprend un capteur 36 propre à détecter le passage de gouttes 4 successives de l'émulsion 6 dans le fluide de travail 28. Le premier système de récupération 1 de gouttes comprend, en outre, un tube d'évacuation 38, un détecteur de sortie 40 et un dispositif de déplacement 42 relatif du support 34 par rapport à la puce 20.

[0051] La puce 20 comporte un conduit de circulation 46 de fluide définissant successivement dans le sens de circulation des fluides, une zone d'entrée 48, une zone d'espacement 50 des gouttes présentant avantageusement une région de mesure 52, une zone d'injection 54 de fluide séparateur 33 et une zone de séparation 56.

[0052] Le conduit de circulation 46 s'étend selon un axe longitudinal X.

[0053] La puce 20 est, dans l'exemple, un bloc rectangulaire étendu selon l'axe longitudinal X et un axe transversal Y perpendiculaire à l'axe longitudinal X. En outre, la puce présente une épaisseur selon un axe d'élévation Z perpendiculaire à l'axe longitudinal X et à l'axe transversal Y.

[0054] Dans la suite, les termes « inférieurs » et « supérieurs » s'entendent par rapport à l'axe d'élévation Z, perpendiculaire à l'axe longitudinal X. La direction de l'axe d'élévation Z est par exemple sensiblement verticale.

[0055] Par exemple, la section transversale, c'est-à-dire selon un plan comprenant l'axe transversal Y et l'axe d'élévation Z, du conduit de circulation 46 est rectangulaire. Le conduit de circulation 46 est délimité par quatre parois latérales.

[0056] En variante, la section transversale présente d'autres formes.

[0057] L'aire maximale de la section transversale du conduit 46 est inférieure à 1 mm².

[0058] La puce 20 est transparente au moins dans la région de mesure 52. Avantageusement la puce 20 est réalisée en matériau transparent, par exemple en polydiméthylsiloxane (PDMS).

[0059] Le matériau de la puce 20 est imperméable au fluide porteur 26. Dans une variante, le matériau de la puce 20 est, de plus, imperméable au fluide séparateur 33, par exemple lorsque le fluide séparateur 33 est un liquide.

[0060] La puce 20 comporte une première entrée 60 débouchant dans la zone d'entrée 48 du conduit de circulation 46, au moins une deuxième entrée 62 débouchant dans la zone d'espacement 50 du conduit de circulation 46 et au moins une troisième entrée 64 débouchant dans la zone d'injection 54 du conduit de circulation 46. La puce 20 comporte une sortie 66 par laquelle le conduit de circulation 46 débouche dans le tube d'évacuation 38.

[0061] La première entrée 60 est en communication fluide en amont avec le dispositif d'injection 22 de l'émulsion, comme illustré sur la figure 1.

[0062] La zone d'entrée 48 du conduit de circulation 46 s'étend de la première entrée 60 à la zone d'espacement 50.

[0063] La forme du conduit de circulation 46 dans la zone d'entrée 48 est adaptée pour permettre l'injection de l'émulsion 6 dans la zone d'entrée 48 et le passage d'une goutte 4 à la fois vers la zone d'espacement 48.

[0064] Dans l'exemple représenté sur la figure 1, le conduit de circulation 46 dans la zone d'entrée 48 présente une première portion 68 et une deuxième portion formant une pointe convergente 70.

[0065] La première portion 68 présente un diamètre constant le long de l'axe longitudinal X.

[0066] La deuxième portion 70 débouche dans la zone d'espacement du conduit de circulation. Elle permet le passage d'une goutte 4 à la fois vers la zone d'espacement 48.

[0067] La deuxième portion 70 présente une forme de pointe convergente dans le sens de circulation des fluides selon un plan comprenant l'axe longitudinal X et l'axe transversal Y.

[0068] L'angle de la pointe convergente 70 est adapté pour éviter que les gouttes 4 coalescent. Par exemple, les parois latérales opposées du conduit de circulation 46 au niveau de la pointe convergente 70 forment entre elles un angle compris entre 45 ° et 70 °.

[0069] Le diamètre de la première portion 68 est le diamètre maximal de la pointe convergente 70.

[0070] Par exemple, le diamètre minimal de la pointe convergente 70 est sensiblement égal au diamètre moyen des gouttes 4.

[0071] La deuxième entrée 62 est en communication fluide en amont avec le dispositif d'injection du fluide

porteur 26 comme illustré sur la figure 1.

[0072] La forme du conduit de circulation 46 dans la zone d'espacement 50 est adaptée pour permettre l'injection du fluide porteur 26 entre les gouttes 4 de l'émulsion 6.

[0073] Ainsi, le conduit de circulation 46 comporte dans la zone d'espacement 50, une jonction 72 avec la deuxième entrée 62.

[0074] Avantageusement, la jonction 72 comporte au moins un canal secondaire 74 avec un angle compris entre 45° et 90° par rapport à l'axe longitudinal X et débouchant dans le conduit de circulation 46.

[0075] Dans l'exemple représenté sur la figure 1, la jonction 72 comporte deux canaux secondaires 74 débouchant de part et d'autre du conduit de circulation 46.

[0076] Le conduit de circulation 46 présente dans la zone d'espacement 50 à l'écart de la jonction 72, une section transversale de diamètre inférieur à celle de la première portion du voisinage de l'entrée 60, par exemple, sensiblement égal à 400 % du diamètre de moyen des gouttes 4. Avantageusement, ce diamètre est égal au diamètre minimal de la pointe convergente 70.

[0077] La zone d'espacement 50 s'étend de la zone d'entrée 48 à la zone d'injection 54.

[0078] La zone d'espacement 50 présente, en outre, une région de mesure 52 dans laquelle les gouttes 4 sont détectées par le capteur 36, comme cela sera décrit par la suite. La dimension de cette région de mesure 52 est par exemple égale au diamètre d'une goutte 4. En variante, la région de mesure 52 s'étend selon un plan transversal sur une surface égale à la section du conduit de circulation 46.

[0079] La longueur de la zone d'espacement 50 est de préférence supérieure à 3 fois le diamètre du conduit de circulation 46.

[0080] La troisième entrée 64 est en communication fluide en amont avec le dispositif d'injection 32 de fluide séparateur 33 comme illustré sur la figure 1.

[0081] La forme du conduit de circulation 46 dans la zone d'injection 54 est adaptée pour permettre l'injection du fluide séparateur 33 entre les gouttes 4 du fluide de travail 28.

[0082] Ainsi, le conduit de circulation 46 comporte dans la zone d'injection 54, une jonction 76 avec la troisième entrée 64.

[0083] Le conduit de circulation 46 dans la zone de séparation 56 présente une forme évasée de sorte que la dimension du conduit de circulation atteigne le diamètre interne du tube d'évacuation 38.

[0084] Le diamètre du conduit de circulation 46 est plus important en sortie de la zone de séparation 56 que dans la zone d'espacement 50.

[0085] Le conduit de circulation 46 présente un diamètre maximal dans la zone de séparation compris entre 10 µm et 2 mm avantageusement supérieur au diamètre de la goutte 4.

[0086] L'unité de commande 21 est propre à piloter les débits des différents fluides 6, 26, 28, 33, à recevoir les

signaux du capteur 36 et du détecteur de sortie 40 et à enregistrer les caractéristiques des gouttes 4.

[0087] L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 22 d'une émulsion, le dispositif d'injection 24 du fluide porteur, le dispositif d'injection 32 du fluide séparateur.

[0088] Le dispositif d'injection 22 d'une émulsion est propre à injecter une émulsion 6 de gouttes 4 d'un fluide interne 8 dispersées dans un fluide externe 10 dans la zone d'entrée 48 par la première entrée 60.

[0089] L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6 pour qu'il injecte l'émulsion 6 dans la zone d'entrée 48 à un débit compris entre 1 $\mu\text{L/h}$ et 500 $\mu\text{L/h}$ et avantageusement à un débit de 80 $\mu\text{L/h}$.

[0090] Le dispositif d'injection 22 d'une émulsion comporte par exemple un récipient dans lequel est placé un volume de l'émulsion 6 compris entre 1 nL et 2 mL. Le dispositif d'injection 22 d'une émulsion comporte, en outre, un tuyau de connexion permettant de mettre en communication fluidique le récipient et la première entrée 60 et un moyen de mise en circulation de l'émulsion, comme illustré sur la figure 1.

[0091] Par exemple le dispositif d'injection 22 de l'émulsion comporte un pousse-seringue, une seringue remplie d'émulsion 6 et un tuyau de connexion.

[0092] Le dispositif d'injection 24 du fluide porteur est propre à injecter le fluide porteur 26 dans la zone d'espacement 50 par la deuxième entrée 62 pour former dans le conduit de circulation 46 un fluide de travail 28.

[0093] L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26 pour qu'il injecte du fluide porteur 26 dans la zone d'espacement 50 par la deuxième entrée 62 à un débit compris entre 5 $\mu\text{L/h}$ et 5 mL/h et avantageusement à un débit de 1 mL/h.

[0094] Le débit d'injection du fluide porteur 26 est par exemple ajusté de sorte que la fréquence des gouttes 4 dans la zone d'espacement 50 soit comprise par exemple entre 0,5 gouttes par secondes et 500 gouttes par secondes et avantageusement de 30 gouttes par secondes.

[0095] Le dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26 comporte par exemple un récipient dans lequel est placé un volume du fluide porteur 26 compris entre 10 μL et 10 mL. Le dispositif d'injection 24 comporte en outre un tuyau de connexion permettant de mettre en communication fluidique le récipient et la deuxième entrée 62 et un moyen de mise en circulation du fluide porteur 26.

[0096] De même, le dispositif d'injection 24 comporte par exemple un pousse-seringue, une seringue remplie de fluide porteur 26 et un tuyau de connexion.

[0097] Le fluide porteur 26 est miscible avec le fluide externe 10.

[0098] Par exemple, le fluide porteur 26 utilisé est le même que le fluide externe 10 c'est-à-dire de l'huile fluo-rée HFE avec le même tensio-actif avec une concentration comprise entre 0 % et 0,5 %.

[0099] Le fluide de travail 28 comprend du fluide por-

teur 26, du fluide externe 10 et des gouttes 4 de l'émulsion 6 espacées les unes des autres le long du conduit de circulation 48.

[0100] L'unité de commande 21 est propre à faire circuler le fluide de travail 28 dans le conduit de circulation 46 en aval de la zone d'espacement 50.

[0101] L'unité de commande 21 impose un débit fixe pour le fluide de travail 28 en contrôlant les débits du dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6 et du dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26. L'unité de commande 21 contrôle, de plus, le débit du dispositif d'injection 32 du fluide séparateur 33. Par exemple, l'unité de commande 21 est propre à faire varier le débit du dispositif d'injection 32 du fluide séparateur 33 selon la présence ou non d'une goutte 6 détectée par le capteur 36 dans la zone d'espacement.

[0102] Le capteur 36 est propre à détecter le passage de gouttes 4 successives de l'émulsion 6 dans la zone d'espacement 50. En outre, le capteur 36 est propre à effectuer une mesure au sein de la goutte 4. Par exemple, la mesure est une mesure optique, comme une mesure de fluorescence.

[0103] L'unité de commande 21 est propre à mémoriser les informations mesurées par le capteur goutte 4 par goutte 4.

[0104] La mesure dépend du fluide interne 8 présent dans la goutte 4. Avantageusement la mesure permet de déterminer la nature ou la concentration de l'élément propre 14 à chaque goutte 4.

[0105] L'unité de commande 21 est propre à déclencher l'injection de fluide séparateur en fonction de la mesure du capteur 36.

[0106] Le dispositif d'injection 32 du fluide séparateur 33 est propre à injecter le fluide séparateur 33 non miscible avec le fluide porteur 26 dans la zone d'injection 54 pour séparer le fluide de travail 28 en une pluralité de poches 35 successives comprenant du fluide porteur 26.

[0107] Chaque poche 35 est isolée de la poche 35 suivante par un séparateur 80 constitué de fluide séparateur 33.

[0108] Le fluide séparateur 33 est non miscible avec le fluide porteur 26.

[0109] Le fluide séparateur 33 est de préférence un gaz.

[0110] Dans l'exemple, le fluide séparateur 33 est de l'air. Le séparateur 80 est une bulle d'air.

[0111] Le diamètre de chaque poche 35 est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46.

[0112] Le volume de chaque séparateur 80 est supérieur à deux fois le volume d'une goutte 4. Le diamètre de chaque séparateur 80 est supérieur ou égal à celui du conduit de circulation 46. Le diamètre de chaque séparateur 80 est par exemple égal au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38.

[0113] L'unité de commande 21 est propre à faire circuler les poches 35 et les séparateurs 80, dans la zone de séparation, vers la sortie 66 de la puce 20.

[0114] Le support 34 comporte au moins un compar-

timent 82 propre à recevoir une poche 35. Par exemple, le support 34 est une boîte de Pétri.

[0115] Avantageusement, le support 34 comporte plusieurs compartiments 82 séparés les uns des autres.

[0116] Par exemple, le support 34 est une plaque à 96 puits, chaque puits étant un compartiment 82 séparé de récupération. En variante, le support 34 est une plaque à 24 puits ou à 384 puits ou autres.

[0117] Le tube d'évacuation 38 présente une entrée 84 et une sortie 86 et une lumière interne 87 débouchant par l'entrée 84 et la sortie 86. La lumière interne 87 s'étend dans le prolongement du conduit de circulation 46.

[0118] L'entrée 84 du tube d'évacuation 38 est connectée de manière étanche à la sortie 66 de la puce 20.

[0119] La sortie 86 du tube d'évacuation 38 est propre à être placée en regard du compartiment 82, pour la récupération d'au moins une poche 35 comprenant une goutte 4 dans le compartiment 82.

[0120] Le tube d'évacuation 38 est par exemple un capillaire en téflon présentant un diamètre interne avantageusement supérieur à 0,1 mm.

[0121] La dimension du tube d'évacuation 38 est adaptée à la dimension des poches 35 souhaitée.

[0122] Le volume des poches 35 est supérieur au volume d'une goutte de diamètre égal au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38, de façon à faciliter leur visualisation par le détecteur de sortie 40 et leur dépôt dans le support 34.

[0123] Le détecteur de sortie 40 est situé en aval de la zone de séparation 56. Avantageusement, le détecteur de sortie 40 est propre à détecter successivement chaque poche 35 dans le tube d'évacuation 38.

[0124] Selon la taille des gouttes, le détecteur de sortie 40 est en outre avantageusement propre à détecter les gouttes 4 dans le tube d'évacuation 38. L'unité de commande 21 est apte à commander le déplacement du support 34.

[0125] Dans l'exemple, le dispositif de déplacement 42 est une platine robotisée. Le dispositif de déplacement 42 est apte à déplacer le support 34 par rapport au tube d'évacuation 38 et à la puce 20. Par exemple, la platine est apte à déplacer le support 34 horizontalement à une vitesse comprise entre 0,5 mm.s⁻¹ et 45 mm.s⁻¹.

[0126] Avantageusement, l'unité de commande 21 est propre à commander le dispositif de déplacement 42 en fonction de chaque détection de gouttes 4 par le capteur 36, pour qu'une seule poche 35 comprenant une goutte 4 détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment 82 du support 34. En variante ou en complément, l'unité de commande 21 commande le dispositif de déplacement 42 en fonction des signaux détectés par le détecteur de sortie 40.

[0127] Par exemple, la détection des gouttes 4 ou poches 35 par le détecteur de sortie 40 permet de déclencher le mouvement du dispositif de déplacement 42 afin de mettre une goutte 4 par compartiments 82. Après chaque récupération, le dispositif de déplacement 42 est pro-

pre à placer la sortie 86 du tube d'évacuation 38 en regard d'un compartiment 82 différent après chaque déplacement du support 34 par rapport à la puce 20.

[0128] Un procédé de récupération des gouttes 4, selon l'invention, va maintenant être décrit.

[0129] Le premier système de récupération 1 de gouttes est fourni. Le dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6 est fourni avec une émulsion 6 telle que précédemment décrite.

[0130] L'émulsion 6 de gouttes 4 est injectée dans la zone d'entrée 48 de la puce 20 au moyen du dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6. L'émulsion 6 est mise en circulation par exemple à un débit de 80 µL/h.

[0131] Les gouttes 4 de l'émulsion 6 arrivent une à une dans la zone d'espacement 50 en raison de la pointe convergente 70 de la zone d'entrée 48.

[0132] Le fluide porteur 26 est injecté dans la zone d'espacement 50 au moyen du dispositif d'injection 24 du fluide porteur 26 pour former dans le conduit de circulation un fluide de travail. Le fluide porteur 26 est mis en circulation par exemple à un débit de 1mL/h.

[0133] Chaque goutte 4 est espacée des autres gouttes 4 par du fluide porteur 26.

[0134] La distance entre chaque goutte 4 est, par exemple, supérieure au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38. La distance entre chaque goutte 4 dans la zone d'espacement 50 est suffisante pour pouvoir injecter du fluide séparateur 33 entre les gouttes 4 sans perturber le fluide de travail 28.

[0135] Le fluide de travail 28 est convoyé dans le conduit de circulation 46.

[0136] Les gouttes 6 dans le fluide de travail 28 sont espacées et ordonnées le long du conduit de circulation 46.

[0137] Les gouttes 6 du fluide de travail 28 passent une à une dans la région de mesure 52.

[0138] Une étape de détection du passage de gouttes 6 successives dans la région de mesure 52 est mise en oeuvre par le capteur 36.

[0139] Le capteur 36 mesure une information relative à la goutte 6. Par exemple, la mesure est une mesure de fluorescence représentative de l'élément propre 14 de la goutte 6. Les informations recueillies sont par exemple une activité enzymatique, un nombre de cellules, une biomasse ou une quantité de protéine produites dans la goutte.

[0140] L'unité de commande 21 mémorise le numéro de la goutte 6 et les informations mesurées dans l'ordre.

[0141] Les gouttes 6 du fluide de travail 28 passent une à une dans la zone d'injection 54.

[0142] L'unité de commande 21 déclenche l'injection de fluide séparateur 33 en fonction de la mesure du capteur 36, de sorte qu'il y ait un séparateur 80 entre chaque goutte 4. Le fluide séparateur 33 est injecté dans la zone d'injection 54 au moyen du dispositif d'injection 32 de fluide séparateur. Le fluide séparateur 33 sépare le fluide de travail 28 en une pluralité de poches 35 successives. Le fluide séparateur 33 est injecté entre deux gouttes 4

successives 6 du fluide de travail 28. L'injection de fluide séparateur 33 permet la formation de poches 35 et des séparateurs 80.

[0143] Chaque séparateur 80 sépare deux poches 35 successives de fluide de travail 28. Il est immiscible avec la poche 35.

[0144] Les poches 35 sont des cavités de fluide de travail 28 séparées par le séparateur 80. Les poches 35 comprennent principalement du fluide porteur 26. Au moins une poche 35 de préférence, plus de 100 % des poches 35 contiennent de plus une goutte 4 de l'émulsion 6.

[0145] Le volume des poches 35 est supérieur au volume d'une goutte de diamètre égal au diamètre intérieur du tube d'évacuation 38.

[0146] Le débit d'injection du fluide séparateur 33 par le dispositif d'injection 32 de fluide séparateur 33 est ajusté par l'unité de commande 21 pour que chaque poche 35 contienne strictement moins de deux gouttes 4. Par exemple, l'ajustement est passif, le débit d'injection du fluide séparateur 33 est constant. Certaines poches 35 sont vides de gouttes 4 d'autres poches 35 comprennent une goutte 4 seulement.

[0147] Avantageusement, le débit d'injection du fluide séparateur 33 par le dispositif d'injection 32 de fluide séparateur 33 est ajusté en temps réel par l'unité de commande 21 pour que chaque poche 35 contienne exactement une goutte 4 de l'émulsion 6. Par exemple, la détection d'une goutte 4 par le capteur 36, entraîne la commande par l'unité de commande 21 de l'injection d'un volume déterminé de fluide séparateur 33 permettant la formation d'une poche 35. Ce mécanisme actif permet de s'assurer que chaque poche formée ne soit pas vide et contienne une goutte 4 seulement.

[0148] La fréquence de formation des poches 35 dépend de la taille des gouttes 4. Plus le volume des gouttes 4 est important, plus la fréquence de formation des poches 35 est lente. La formation des poches 35 est, par exemple, effectuée à une fréquence comprise entre 0,5 poches par secondes et 500 poches par secondes.

[0149] Les poches 35 sont ensuite convoyées dans le tube d'évacuation 38.

[0150] Les poches 35 et les séparateurs 80 sont convoyés dans la zone de séparation 56, vers la sortie 66 de la puce par l'unité de commande 21, le conduit de circulation 46 présentant un diamètre de plus en plus grand. Le débit des fluides est conservé lors de ce changement d'échelle mais la fréquence des gouttes 4 est modifiée. Ainsi la fréquence de circulation des poches 35 dans le tube d'évacuation 38 est inférieure à la fréquence de circulation des gouttes 4 en sortie 66 de la zone d'espacement 50. Cette diminution de fréquence est proportionnelle au carré du ratio du diamètre intérieur du tube d'évacuation 38 sur le diamètre du conduit de circulation 46.

[0151] Les poches 35 et les séparateurs 80 entrent successivement dans le tube d'évacuation 38.

[0152] Le changement d'échelle permet de modifier la

fréquence de circulation des gouttes 4. Par exemple, lorsqu'il y a une goutte 4 par poche 35, les gouttes 4 dans le tube d'évacuation 38 circulent à la fréquence de circulation des poches 35.

[0153] Par exemple, les dimensions sont adaptées pour que si les gouttes 4 circulent à 100 gouttes par secondes devant un point de la région de mesure 52, elles circulent à 6 gouttes par secondes dans le tube d'évacuation 38.

[0154] Avantageusement, la vitesse de circulation des poches 35 dans le tube d'évacuation 38 est inférieure à la vitesse maximale de déplacement du dispositif de déplacement 42.

[0155] Avantageusement, chaque poche 35 est détectée par le détecteur de sortie 40. En variante, les gouttes 4 dans les poches sont détectées par le détecteur de sortie 40.

[0156] Ensuite au moins une poche 35 comprenant une goutte 4 est récupérée dans un compartiment 82 du support 34. La poche 35 est récupérée dans le compartiment 82 placé sous la sortie 86 du tube d'évacuation 38.

[0157] L'unité de commande 21 déclenche le mouvement du dispositif de déplacement 42 en fonction de la mesure du détecteur de sortie 40 de sorte que chaque poche 35 ou goutte 4 soit récupérée dans un compartiment 82 différent du support 34.

[0158] Chaque goutte 4 est tracée par l'unité de commande 21. Par exemple les gouttes 4 sont détectées au niveau du capteur 36 et sont numérotées. Chaque goutte 4 de l'émulsion 6 est ainsi associée à la fois à une mesure et au compartiment 82 dans lequel elle a été récupérée.

[0159] En complément, le procédé comporte, après chaque étape de récupération, une étape de déplacement relatif du support 34 par rapport à la puce 20, la sortie 86 du tube d'évacuation 38 étant placée en regard d'un compartiment 82 différent après chaque déplacement du support 34.

[0160] Le déplacement du support 34 est commandé par l'unité de commande 21 en fonction de chaque détection de gouttes 4, pour qu'une seule poche 35 comprenant une goutte 4 détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment 82 du support 34.

[0161] Un deuxième système de récupération 100 va être présenté en regard de la figure 3. Le deuxième système de récupération diffère du premier système de récupération 1 en ce qu'il comprend un dispositif d'injection 102 d'une solution complémentaire 104 dans au moins une poche 35.

[0162] La solution complémentaire 104 est immiscible avec le fluide séparateur 33. De plus, la solution complémentaire 104 est avantageusement miscible avec le fluide interne 18 et immiscible avec le fluide porteur 26.

[0163] Par exemple, la solution complémentaire 104 ajoutée permet de diluer la goutte 4 de l'émulsion 6. En variante, la solution complémentaire 104 ajoutée comprend un marqueur facilitant la détection de la goutte 4 au sein de la poche 35 par le détecteur de sortie 40. En variante, la solution complémentaire 104 ajoutée est un

réactif de lyse cellulaire ou un réactif destiné à faciliter la cryoconservation du fluide interne la goutte 4.

[0164] L'unité de commande 21 est propre à contrôler le dispositif d'injection 102 de la solution complémentaire 104.

[0165] Le procédé de récupération des gouttes avec le deuxième système de récupération 100 diffère du procédé précédemment décrit en ce que le procédé comprend une étape d'ajout d'une solution complémentaire 104 dans au moins une poche 35. Par exemple, un même volume de solution complémentaire 104 est ajouté dans chaque poche 35 par le dispositif d'injection 102 d'une solution complémentaire 104.

[0166] Avantagusement, la poche 35 dans laquelle la solution complémentaire est ajoutée comprend une goutte d'émulsion 6 et le procédé comporte en complément une étape de fusion de ladite goutte d'émulsion 6 avec la solution complémentaire 104 ajoutée. La fusion est dite passive. La faible concentration de tensio-actif présent dans le fluide porteur 26 ne permet plus de stabiliser les gouttes 6 de la coalescence. La goutte d'émulsion et la goutte de fluide complémentaire étant confinées dans la poche 35 entre deux séparateurs 80, ont une forte probabilité de contact.

[0167] L'invention qui vient d'être décrite fournit un procédé de récupération de gouttes 4 plus fiable et plus précis que les procédés existants, permettant un suivi individuel de chaque goutte 4. En effet, chaque goutte 4 est récupérée individuellement dans un compartiment 82 du support 34.

[0168] Une fois les gouttes 4 récupérées dans le support 34 macroscopique, il est possible d'effectuer des étapes d'analyse, des réactions chimiques ou des réactions biologiques classiques sur le contenu des gouttes 4. Par exemple, si les gouttes 4 contiennent des cellules, le système de récupération 1, 100 permet de récupérer les gouttes 4 individuellement avant de cultiver séparément les cellules.

[0169] Le système de récupération 1, 100 permet de récupérer des gouttes 4 individuelles à partir d'une quantité faible de gouttes 4 d'une émulsion 6. Par exemple, en partant de 0,1 μ L d'émulsion 6 contenant 10 000 gouttes par μ L, le système de récupération 1, 100 permet de récupérer individuellement 1000 gouttes.

[0170] En outre, chaque goutte 4 est associée à un signal de mesure. Le système de récupération 1, 100 permet d'avoir un lien entre l'information individuelle de la goutte 4 et la goutte 4 isolée. Chaque goutte 4 analysée est récupérable.

[0171] La mesure effectuée dans la région de mesure 52 est précise car la surface de la région de mesure 52 est adaptée au volume de la goutte 4. Le passage dans une échelle macroscopique permet la récupération du contenu de la goutte 4 dans un support 34 plus facilement manipulable. Enfin le système 1, 100 est automatisable. En effet, la taille des poches 35 facilite la manipulation des gouttes 4 et permet l'emploi d'instruments variés pour la récupération et après la récupération.

[0172] Le placement d'une goutte 4 dans chaque poche 35 permet en particulier de manipuler un objet macroscopique de volume significativement plus important que celui d'une goutte 4 individuelle, ce qui facilite la manipulation et garantit l'intégrité de la goutte 4.

[0173] Dans une variante, la sortie 66 de la puce débouche directement en regard d'un compartiment 82 du support 34 et le dispositif de déplacement 42 est propre à placer la sortie 66 de la puce 20 en regard d'un compartiment 82 différent après chaque déplacement du support 34 par rapport à la puce 20.

[0174] En variante, le système de récupération de gouttes comporte un dispositif de préparation de l'émulsion 6 disposé en amont de la zone d'entrée 48 de la puce 20.

[0175] Les débits sont avantagusement réglés par l'unité de commande 21 en fonction de la vitesse maximale de déplacement du dispositif de déplacement 42.

[0176] Dans un exemple, le système de récupération 1, 100 comporte en outre une zone d'incubation. L'émulsion 6 comporte des gouttes 4 comprenant une cellule ou aucune cellule.

[0177] Le procédé comprend la mise en culture de chaque cellule récupérée. L'analyse des gouttes 4 avant la sélection permet par exemple de ne cultiver que les cellules susceptibles de générer un clone intéressant. En outre, il n'est pas nécessaire d'effectuer plusieurs repiquages de clones avant d'obtenir une culture monoclonale puisque la cellule est déjà isolée avant la mise en culture. Ceci évite de devoir effectuer des dilutions limites multiple.

[0178] Par exemple, dans le cas du criblage de bactéries synthétisant un composé d'intérêt, le système permet d'associer le signal mesuré pour chaque goutte 4 contenant une bactérie ou une colonie issue d'une cellule unique au compartiment 84 dans lequel la goutte 4 a été récupérée. Ainsi, la bactérie est cultivée dans un milieu de culture adapté en fonction des informations mesurées.

[0179] Un troisième système de récupération 110 va être présenté en regard de la figure 4. Le troisième système de récupération 110 diffère des systèmes de récupération 1, 100 précédemment décrits en ce que l'injection de l'émulsion 6 dans la puce 20 est prévue par une partie inférieure de la puce 20.

[0180] Telle que représentée sur la figure 4, la puce 20 comprend un bloc supérieur 112 et un bloc inférieur 114 définissant entre eux le conduit de circulation 46. La puce 20 comprend en outre, dans la zone d'entrée 48, un bloc de connexion d'entrée 116. Dans la zone d'entrée 48, le bloc inférieur 114 est pris en sandwich entre le bloc supérieur 112 et le bloc de connexion d'entrée 116 selon la direction d'élévation Z. Par exemple, le bloc supérieur 112 et le bloc de connexion 116 sont en PDMS et le bloc inférieur 114 est en verre.

[0181] Le bloc de connexion d'entrée 116 définit un conduit d'entrée 118 s'étendant selon la direction d'élévation Z.

[0182] Dans la zone d'entrée 48, le bloc inférieur 114 est percé d'un orifice d'entrée 120. L'orifice d'entrée 120 traverse toute l'épaisseur du bloc inférieur 114 et débouche par la face supérieure du bloc inférieur 114 dans le conduit de circulation 46 et par la face inférieure du bloc inférieur 114 dans le conduit d'entrée 118.

[0183] Le conduit d'entrée 118 est aligné avec l'orifice d'entrée 120. Par exemple, le conduit d'entrée 118 est centré par rapport à l'orifice d'entrée 120.

[0184] Le diamètre de l'orifice d'entrée 120 est supérieur au diamètre du conduit d'entrée 118. Par exemple, le diamètre du conduit d'entrée 118 mesure 750 micromètres (μm) et le diamètre de l'orifice d'entrée 120 mesure 1,4 mm.

[0185] Le conduit d'entrée 118 débouche en aval dans l'orifice d'entrée 120 et en amont par la première entrée 60 dans un tube d'injection 122 relié au dispositif d'injection 22 de l'émulsion.

[0186] Le procédé de récupération des gouttes 4 avec le troisième système de récupération 110 diffère des procédés de récupération précédemment décrit en ce que l'injection de l'émulsion 6 est facilitée.

[0187] En effet, le flux de gouttes 4 passe directement du tube de d'injection 122 au conduit d'entrée 118, puis par l'orifice d'entrée 120 avant d'arriver dans le conduit de circulation 46 sans rencontrer d'obstacle. La lumière apparente est continue et de diamètre croissant dans le sens de circulation de l'émulsion 6, du tube de d'injection 122 au conduit d'entrée 118 et du conduit d'entrée 118 à l'orifice d'entrée 120. Ceci prévient les blocages de gouttes 4 dans des angles morts de connexion.

[0188] Dans ce troisième système de récupération 110, lors du transfert de l'émulsion 6 dans la puce 20, les pertes de gouttes 4 sont limitées.

[0189] L'injection prévue dans le troisième système de récupération 110 est particulièrement avantageuse pour les émulsions 6 comprenant un fluide interne 8 moins dense que le fluide externe 10. En effet si la direction d'élévation Z est verticale, la poussée d'Archimède favorise la montée des gouttes 4 selon la direction d'élévation Z dans le conduit d'entrée 118.

[0190] Un quatrième système de récupération 130 va être présenté en regard de la figure 5. Le quatrième système de récupération 130 diffère des systèmes de récupération 1, 100, 110 précédemment décrits en ce que la sortie des poches 35 et des séparateurs 80 de la puce 20 est prévue sur une partie supérieure de la puce 20.

[0191] Telle que représentée sur la figure 5, la puce 20 comprend un bloc supérieur 132 et un bloc inférieur 134 définissant entre eux le conduit de circulation 46. La puce 20 comprend en outre, au niveau de la sortie 66 de la puce, un bloc de connexion de sortie 136. Au niveau de la sortie 66, le bloc supérieur 132 est pris en sandwich entre le bloc inférieur 134 et le bloc de connexion d'entrée 136 selon la direction d'élévation Z.

[0192] Le bloc supérieur 132 définit un conduit de sortie 138. Le conduit de sortie 138 s'étend selon la direction d'élévation Z, perpendiculairement au conduit de circu-

lation 46. Le conduit de sortie 138 débouche par la sortie 66 dans la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38. Le diamètre du conduit de sortie 138 est inférieur au diamètre interne du tube d'évacuation 38.

[0193] Le bloc de connexion 136 définit un orifice 140 de diamètre supérieur au diamètre du conduit de sortie 138. Le diamètre de l'orifice 140 est sensiblement égal au diamètre externe du tube d'évacuation 38.

[0194] Dans un exemple, le tube d'évacuation 38 présente un diamètre interne de 750 micromètres et un diamètre externe de 1,6 mm, le conduit de sortie 138 présente un diamètre de 500 micromètres et l'orifice 140 présente un diamètre de 1,6 mm.

[0195] Le tube d'évacuation 38 est introduit dans l'orifice 140 du bloc de connexion 136 de sorte que la lumière du conduit de sortie 138 et la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38 soient continues. L'extrémité amont 142 du tube d'évacuation 38 est en contact avec la face supérieure du bloc supérieur 132.

[0196] Le procédé de récupération des gouttes 4 avec le quatrième système de récupération 130 diffère des procédés précédemment décrit en ce que le transfert des poches 35 et séparateurs 80 de la puce 20 vers le tube d'évacuation 38 est facilitée.

[0197] En effet, le flux de poches 35 et de séparateur 80 passe directement du conduit de circulation 46 au conduit de sortie 138, puis dans la lumière 87 du tube d'évacuation 38 sans rencontrer d'obstacle. Les poches 35 en circulation circulent dans des conduits 138, 87 dont le diamètre augmente de la puce 20 vers le tube d'évacuation 38 dans le sens de circulation des gouttes 4 contenues dans les poches 35 et séparateur 80. En outre, du fait de la direction du conduit de sortie 138, les gouttes 4 ne sont pas coincées dans un angle mort au moment du changement d'échelle. Ceci permet de prévenir les blocages de gouttes ou séparateur dans des angles morts de connexion.

[0198] La sortie de la puce 20 prévue dans ce quatrième système de récupération 130 est particulièrement avantageuse lorsque le fluide porteur 26 est moins dense que le fluide séparateur 33. En effet si la direction d'élévation Z est verticale, la poussée d'Archimède favorise la montée des gouttes 4 selon la direction d'élévation Z dans le conduit de sortie 138 puis dans la lumière interne 87.

[0199] Un cinquième système de récupération 150 va être présenté en regard des figures 6 à 9. Le cinquième système de récupération 150 diffère des systèmes de récupération 1, 100, 110, 130, précédemment décrits en ce que le système 150 comprend un dispositif de distribution 152 de poches 35.

[0200] Le dispositif de distribution de poches 152 comprend le tube d'évacuation 38, un dispositif de mise en circulation 154 d'une pluralité de poches 35 successives, chaque poche 35 étant isolée de la poche 35 suivante par un séparateur 80 constitué de fluide séparateur 33, dans la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38.

[0201] Le dispositif de distribution 152 de poches 35

comprend en outre un embout 156 propre à recevoir le tube d'évacuation 38 et une unité de soufflage 158.

[0202] Le dispositif de mise en circulation 154 est propre à contrôler le débit des poches 35 dans la lumière interne 87 du tube d'évacuation 38. Par exemple le dispositif de mise en circulation 154 est piloté par l'unité de commande 121. Le dispositif de mise en circulation 154 contrôle le dispositif d'injection 22 de l'émulsion 6, le dispositif 24 d'injection de fluide porteur 26 et/ou le dispositif 32 d'injection du fluide séparateur 33 dans la puce 20 pour que les poches 35 circulent dans la lumière interne 87 à un débit compris entre 100 $\mu\text{L/h}$ et 5 mL/h et avantageusement à un débit de 2 mL/h.

[0203] Le tube d'évacuation 38 présente une portion principale 160 et une portion de sortie 162 reliée par une zone de rétrécissement 164.

[0204] La lumière interne 87 du tube d'évacuation 38 débouche sur une embouchure ouverte 166 dans la portion de sortie 162.

[0205] La portion principale 160 s'étend de l'extrémité amont 142 du tube d'évacuation 38, par exemple disposé à la sortie de la puce 66 à la zone de rétrécissement 164. La portion de sortie 162 s'étend de la zone de rétrécissement 164 à l'embouchure ouverte 166 située à l'extrémité aval du tube d'évacuation 38.

[0206] Le diamètre externe de la portion de sortie 162 du tube d'évacuation 38 est inférieur au diamètre extérieur de la portion principale 160 du tube d'évacuation 38. Par exemple, le diamètre externe de la portion de sortie 162 est sensiblement égal au diamètre interne de la portion principale 160.

[0207] Par exemple, la portion principale 160 présente un diamètre externe de 1,6 mm et un diamètre interne de 0,75 mm, et la portion de sortie 162 présente un diamètre externe de 0,75 mm et un diamètre interne de 0,3 mm.

[0208] En outre, le dispositif de récupération 152 comprend avantageusement un dispositif d'injection 168 de fluide séparateur 33 additionnel. Le dispositif d'injection 168 de fluide séparateur additionnel est propre à ajouter du fluide séparateur 33 dans au moins un séparateur 80 circulant dans la portion principale 160 du tube d'évacuation 38. Le dispositif d'injection 168 de fluide séparateur additionnel est propre à ajouter plus de 2 cm de fluide séparateur entre les poches 35.

[0209] L'embout 156 est par exemple un tube en verre. L'embout 156 est étendu selon la direction d'élévation Z. L'embout 156 présente un passage traversant 170 dans laquelle est disposée la portion de sortie 162 du tube d'évacuation 38.

[0210] L'embout 156 comprend une portion supérieure cylindrique 172 et une portion inférieure 174 creuse présentant une section tronconique ou incurvée. Le passage traversant 170 est étendu selon la direction d'élévation Z et débouche dans la portion inférieure 174 par un orifice délimité par un col 176.

[0211] Le diamètre de l'orifice délimité par le col 176 de l'embout 156 est légèrement supérieur au diamètre

externe de la portion de sortie 162 du tube 38. Le diamètre interne de la portion supérieure 172 est supérieur au diamètre externe de la portion de sortie 162 du tube d'évacuation 38.

[0212] La portion inférieure 174 de l'embout 156 présente avantageusement une forme biseautée à 45°.

[0213] Le tube d'évacuation 38 est placé dans le passage traversant 170 de l'embout 156 de telle sorte que le tube d'évacuation 38 fasse saillie hors de l'embout 156. L'embouchure 166 est hors de l'embout 156. Par exemple l'embouchure 166 du tube d'évacuation 38 est à une distance du col 176 de l'embout 156 comprise entre 1 mm et 10 mm.

[0214] La paroi externe 164 du tube d'évacuation 38 est en appui sur le col 176 de l'embout 156 à la sortie du passage traversant 170.

[0215] L'unité de soufflage 158 est propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant 170 de sorte à ce qu'une partie de l'air longe la paroi externe 164 du tube d'évacuation 38, jusqu'à l'embouchure 166 du tube d'évacuation 38. Par exemple, l'unité de soufflage 158 comporte un tube d'injection de 3 m de long et de diamètre interne 150 μm et la pression d'injection en entrée du tube d'injection est comprise entre 500 mBar et 1600 mBar.

[0216] Le dispositif de distribution de poches 152 comprend une unité de contrôle 180 propre à contrôler l'unité de soufflage 158 de sorte à ce qu'elle injecte de l'air dans le passage traversant 170 à un débit compris entre 1 $\mu\text{L/h}$ et 2 mL/h et avantageusement à un débit de 500 $\mu\text{L/h}$.

[0217] En outre, l'unité de contrôle 180 commande le dispositif de mise en circulation des poches 154.

[0218] Un procédé de distribution de poches va maintenant être décrit.

[0219] Un dispositif de distribution 152 tel que précédemment décrit est fourni. Des poches 35 et des séparateurs 80 sont mis en circulation dans la lumière interne 87 par le dispositif de mise en circulation 154.

[0220] Dans un exemple, du fluide séparateur additionnel est injectée dans les séparateurs 80 par le dispositif d'injection 168.

[0221] De l'air est injecté dans le passage traversant 170 de l'embout 156 par l'unité de soufflage 158. Le débit d'air et le débit des poches 35 sont ajustés par l'unité de contrôle 180 pour que chaque poche 35 se détache successivement de l'embouchure 166 du tube d'évacuation 38.

[0222] Ce dispositif améliore la distribution des gouttes.

[0223] La figure 7 représente l'éjection d'une poche 35. Une partie du fluide porteur 26 de la poche 26 adhère à la paroi externe 164 du tube d'évacuation 138 par capillarité. Le flux d'air longeant la paroi externe 164 du tube d'évacuation 38 permet de décrocher la poche 35.

[0224] L'injection d'air par l'unité de soufflage 158 à travers l'embout 156 permet d'éjecter la poche 35 du tube d'évacuation 38 avant l'arrivée de la poche 35 sui-

vante en évitant que la poche 35 reste fixée à l'embouchure 166

[0225] Les figures 8 et 9 présentent des résultats de distribution obtenus pour différentes conditions expérimentales. Le support de récupération 34 est une feuille de papier.

[0226] Ces résultats ont été obtenus avec un débit de poches dans le tube d'évacuation 38 maintenus à trois poches par seconde par l'unité de contrôle 180.

[0227] Dans l'exemple de la figure 8, les poches 35 ont été récupérées sur le support 34 dans des conditions de fragmentation.

[0228] Les poches 35 sont récupérées une à une sur le support 34. Chaque poche est éjectée de la sortie avant l'arrivée de la poche 35 suivante.

[0229] Cependant, certaines poches 35 se fragmentent lors de l'éjection. Un débit d'air supérieur à 1,6 bar aboutit à une fragmentation des poches 35 individuelles récupérées.

[0230] Chaque tâche 182 formée sur le support 34 provient seulement d'une poche 35. Une même poche 35 qui s'est fragmenté lors de l'éjection forme un groupe 186 de petites taches visibles sur le support 34. Certaines poches 35 ne se fragmentent pas et forment une tache 184 plus large.

[0231] Dans un deuxième exemple de distribution présenté sur la figure 9, les débits sont ajustés pour que les poches 35 conservent leur volume intègre lors de l'éjection. Les poches 35 individuelles sont distribuées sans fragmentation. Les taches 184 obtenues sur le support 34 présentent sensiblement le même diamètre.

[0232] Le réglage des paramètres permet de faciliter l'extraction et la localisation des poches 35 sur le support 34.

Revendications

1. Procédé de récupération de gouttes (4), comprenant les étapes suivantes :

- fourniture d'une puce (20) comportant un conduit de circulation (46) de fluide définissant successivement dans un sens de circulation des fluides, une zone d'entrée (48), une zone d'espacement (50), une zone d'injection (54) et une zone de séparation (56),
- injection d'une émulsion (6) de gouttes (4) d'un fluide interne (8) dispersées dans un fluide externe (10), dans la zone d'entrée (48),
- injection d'au moins un fluide porteur (26) miscible avec le fluide externe (10) dans la zone d'espacement (50), pour former dans le conduit de circulation (46) un fluide de travail (28) comprenant du fluide porteur (26) et des gouttes (4) de l'émulsion (6) espacées les unes des autres le long du conduit (46),
- convoyage du fluide de travail (28) dans le con-

duit de circulation (46), **caractérisé en ce que** le procédé comprend les étapes suivantes :

- injection d'un fluide séparateur (33) non miscible avec le fluide porteur (26) dans la zone d'injection, pour séparer le fluide de travail (28) en une pluralité de poches (35) successives comprenant du fluide porteur (26), chaque poche (35) étant isolée de la poche (35) suivante par un séparateur (80) constitué de fluide séparateur (33),
- convoyage des poches (35) et des séparateurs (80), dans la zone de séparation (56), vers une sortie (66) de la puce (20),
- récupération dans un compartiment (82) d'un support de récupération (34) d'au moins une poche (35) comprenant une goutte (4) récupérée après le convoyage, le procédé comportant une étape de détection du passage de gouttes (4) successives, la détection d'une goutte (4) commandant l'injection d'un volume de fluide séparateur (33) et la formation d'une poche (35).

2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel le conduit de circulation (46) est plus large dans la zone de séparation (56) que dans la zone d'espacement (50).

3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, dans lequel chaque poche (35) comprend du fluide porteur (26) et strictement moins de deux gouttes (4).

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la sortie (66) de la puce (20) débouche dans un tube d'évacuation (38) présentant une sortie (86).

5. Procédé selon la revendication 4, dans lequel le support (34) comporte plusieurs compartiments (82) séparés les uns des autres, et le procédé comporte, après chaque étape de récupération, une étape de déplacement relatif du support (34) par rapport à la puce (20), la sortie (86) du tube d'évacuation (38) étant placée en regard d'un compartiment (82) différent après chaque déplacement du support (34).

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une détection du passage des poches (35) successives.

7. Procédé selon la revendication 5 dans lequel, le déplacement du support (34) est commandé en fonction de chaque détection de gouttes (4), pour qu'une seule poche (35) comprenant une goutte (4) détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment (82) du support (34).

8. Procédé selon les revendications 5 et 6, prises ensembles, dans lequel le déplacement du support (34) est commandé en fonction de chaque détection de poche (35), pour qu'une seule poche (35) comprenant une goutte (4) détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment (82) du support (34). 5
9. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape de détection de poches (35) dans une zone de détection en aval de la zone de séparation (56). 10
10. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comprenant une étape d'ajout d'une solution complémentaire (104) dans au moins une poche (35). 15
11. Procédé selon la revendication 10, dans lequel la poche (35) dans laquelle la solution complémentaire (104) est ajoutée comprend une goutte (4) d'émulsion (6) et le procédé comporte une étape de fusion de ladite goutte (4) d'émulsion (6) avec la solution complémentaire (104) ajoutée. 20
12. Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150), comprenant : 25
- une puce (20) comportant un conduit de circulation (46) de fluide définissant successivement dans le sens de circulation des fluides, une zone d'entrée (48), une zone d'espacement (50), une zone d'injection (54) et une zone de séparation (56), 30
 - un dispositif (22) d'injection d'une émulsion (6) de gouttes (4) d'un fluide interne (8) dispersées dans un fluide externe (10), dans la zone d'entrée (48), 35
 - un dispositif (24) d'injection d'au moins un fluide porteur (26) miscible avec le fluide externe (10) dans la zone d'espacement (50), pour former dans le conduit de circulation (46) un fluide de travail (28) comprenant du fluide porteur (26) et des gouttes de l'émulsion (6) espacées les unes des autres le long du conduit (46), 40
 - un dispositif (32) d'injection d'un fluide séparateur (33) non miscible avec le fluide porteur (26) dans la zone d'injection (54), pour séparer le fluide de travail (28) en une pluralité de poches (35) successives comprenant du fluide porteur (26), chaque poche (35) étant isolée de la poche (35) suivante par un séparateur (80) constitué de fluide séparateur (33), et 45
 - une unité de commande (21) propre à faire circuler le fluide de travail (28) dans le conduit de circulation (46), et à convoyer les poches (35) et les séparateurs (80), dans la zone de séparation (56), vers une sortie (66) de la puce (20), 50
- un support de récupération (34), le support (34) comportant au moins un compartiment (82), pour la récupération d'au moins une poche (35) comprenant une goutte (4) dans le compartiment (82),
- un capteur (36) propre à détecter le passage de gouttes (4) successives de l'émulsion (6) dans le fluide de travail (28), la détection d'une goutte (4) par le capteur (36) entraînant la commande par l'unité de commande (21) de l'injection d'un volume déterminé de fluide séparateur (33) permettant la formation d'une poche (35).
13. Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150) selon la revendication 12, dans lequel la sortie (66) de la puce (20) débouche dans un tube d'évacuation (38) présentant une sortie (86), le support (34) comportant plusieurs compartiments (82) séparés les uns des autres, et le système comprend un dispositif de déplacement (42) relatif du support (34) par rapport à la puce (20), après chaque récupération, le dispositif de déplacement (42) étant propre à placer la sortie (86) du tube d'évacuation (38) en regard d'un compartiment (82) différent après chaque déplacement du support (34) par rapport à la puce (20).
14. Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150) selon la revendication 13, dans lequel le capteur (36) est propre à détecter le passage de gouttes (4) successives dans la zone d'espacement (50), le dispositif de déplacement (42) étant commandé en fonction de chaque détection de gouttes (4), pour qu'une seule poche (35) comprenant une goutte (4) détectée à l'étape de détection soit récupérée dans chaque compartiment (82) du support (34).
15. Système de récupération de gouttes (1, 100, 110, 130, 150) selon la revendication 12 à 14, dans lequel la sortie (66) de la puce (20) débouche dans un tube d'évacuation (38), le tube d'évacuation (38) définit une lumière interne (87) débouchant sur une embouchure ouverte (166), le tube d'évacuation (38) comprenant une paroi externe (164) et le système (1, 100, 110, 130, 150) comprend un embout (156) présentant un passage traversant (170), le tube d'évacuation (38) étant placé dans le passage traversant (170) et le système (1, 100, 110, 130, 150) comprend une unité de soufflage (158) propre à injecter un flux d'air dans le passage traversant (170) de sorte à ce qu'une partie de l'air longe la paroi externe (164) du tube d'évacuation (38), jusqu'à l'embouchure (166) du tube d'évacuation (38). 55

Patentansprüche

1. Verfahren zum Rückgewinnen von Tröpfchen (4), die folgenden Schritte umfassend:

- Bereitstellen eines Chips (20), der einen Fluidströmungskanal (46) aufweist, der aufeinanderfolgend in einer Richtung der Strömung der Fluide eine Eintrittszone (48), eine Abstandszone (50), eine Injektionszone (54) und eine Trennzone (56) begrenzt,
- Injizieren einer Emulsion (6) von Tröpfchen (4) eines internen Fluids (8), die in einem externen Fluid (10) verteilt sind, in die Eintrittszone (48),
- Injizieren mindestens eines Trägerfluids (26), das mit dem externen Fluid (10) mischbar ist, in die Abstandszone (50), um in dem Strömungskanal (46) ein Arbeitsfluid (28) zu bilden, das Trägerfluid (26) und Tröpfchen (4) der Emulsion (6) umfasst, die zueinander entlang des Kanals (46) beabstandet sind,
- Fördern des Arbeitsfluids (28) in dem Strömungskanal (46), **dadurch gekennzeichnet, dass** das Verfahren die folgenden Schritte umfasst:

- Injizieren eines Trennfluids (33), das nicht mit dem Trägerfluid (26) mischbar ist, in die Injektionszone, um das Arbeitsfluid (28) in eine Mehrzahl von aufeinanderfolgenden Taschen (35) zu trennen, die Trägerfluid (26) umfassen, wobei jede Tasche (35) von der folgenden Tasche (35) durch eine Trennelement (80) isoliert ist, das aus Trennfluid (33) besteht,
- Fördern der Taschen (35) und der Trennelemente (80) in der Trennzone (56) zu einem Ausgang (66) des Chips (20),
- Rückgewinnen in einer Kammer (82) eines Rückgewinnungshalters (34) mindestens einer Tasche (35), die eine nach der Förderung rückgewonnenes Tröpfchen (4) umfasst, wobei das Verfahren einen Schritt des Erfassens des Durchgangs von aufeinanderfolgenden Tröpfchen (4) aufweist und das Erfassen eines Tröpfchens (4) das Injizieren eines Volumens an Trennfluid (33) und das Bilden einer Tasche (35) steuert.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem der Strömungskanal (46) in der Trennzone (56) größer ist als in der Abstandszone (50).
3. Verfahren nach einem beliebigen der Ansprüche 1 oder 2, bei dem jede Tasche (35) Trägerfluid (26) und strengen weniger als 2 Tröpfchen (4) umfasst.
4. Verfahren nach einem beliebigen der vorhergehenden

den Ansprüche, bei dem der Ausgang (66) des Chips (20) in ein Auslassrohr (38) mündet, das einen Ausgang (86) aufweist.

5. Verfahren nach Anspruch 4, bei dem der Halter (34) mehrere voneinander getrennte Kammern (82) aufweist und das Verfahren nach jedem Rückgewinnungsschritt einen Schritt des relativen Verschiebens des Halters (34) in Bezug auf den Chip (20) aufweist, wobei der Ausgang (86) des Auslassrohrs (38) gegenüber einer Kammer (82) angeordnet wird, die nach jedem Verschieben des Halters (34) unterschiedlich ist.
6. Verfahren nach einem beliebigen der vorhergehenden Ansprüche, eine Erfassung des Durchgangs von aufeinanderfolgenden Taschen (35) umfassend.
7. Verfahren nach Anspruch 5, bei dem die Verschiebung des Halters (34) abhängig von jeder Erfassung von Tröpfchen (4) gesteuert wird, damit nur eine einzige Tasche (35), die ein bei dem Erfassungsschritt erfasstes Tröpfchen (4) umfasst, in jeder Kammer (82) des Halters (34) rückgewonnen wird.
8. Verfahren nach den Ansprüchen 5 und 6, zusammengefasst, bei dem die Verschiebung des Halters (34) abhängig von jeder Erfassung einer Tasche (35) gesteuert wird, damit nur eine einzige Tasche (35), die ein bei dem Erfassungsschritt erfasstes Tröpfchen (4) umfasst, in jeder Kammer (82) des Halters (34) rückgewonnen wird.
9. Verfahren nach einem beliebigen der vorhergehenden Ansprüche, einen Schritt des Erfassens von Taschen (35) in einer Erfassungszone umfassend, die stromabwärts zur Trennzone (56) liegt.
10. Verfahren nach einem beliebigen der vorhergehenden Ansprüche, einen Schritt des Hinzufügens einer komplementären Lösung (104) in mindestens eine Tasche (35) umfassend.
11. Verfahren nach Anspruch 10, bei dem die Tasche (35), in die die komplementäre Lösung (104) hinzugefügt wird, ein Tröpfchen (4) der Emulsion (6) umfasst und das Verfahren einen Schritt des Vereinigens des Tröpfchens (4) der Emulsion (6) mit der hinzugefügten komplementären Lösung (104) aufweist.
12. System zum Rückgewinnen von Tröpfchen (1, 100, 110, 130, 150), umfassend:
- einen Chip (20), der einen Fluidströmungskanal (46) aufweist, der aufeinanderfolgend in einer Richtung der Strömung der Fluide eine Ein-

trittszone (48), eine Abstandszone (50), eine Injektionszone (54) und eine Trennzone (56) begrenzt,

- eine Vorrichtung (22) zum Injizieren einer Emulsion (6) von Tröpfchen (4) eines internen Fluids (8), die in einem externen Fluid (10) verteilt sind, in die Eintrittszone (48),

- eine Vorrichtung (24) zum Injizieren mindestens eines Trägerfluids (26), das mit dem externen Fluid (10) mischbar ist, in die Abstandszone (50), um in dem Strömungskanal (46) ein Arbeitsfluid (28) zu bilden, das Trägerfluid (26) und Tröpfchen (4) der Emulsion (6) umfasst, die zueinander entlang des Kanals (46) beabstandet sind,

- eine Vorrichtung (32) zum Injizieren eines Trennfluids (33), das nicht mit dem Trägerfluid (26) mischbar ist, in die Injektionszone, um das Arbeitsfluid (28) in eine Mehrzahl von aufeinanderfolgenden Taschen (35) zu trennen, die Trägerfluid (26) umfassen, wobei jede Tasche (35) von der folgenden Tasche (35) durch eine Trennelement (80) isoliert ist, das aus Trennfluid (33) besteht, und

- eine Steuereinheit (21), die geeignet ist, das Arbeitsfluid (28) in dem Strömungskanal (46) strömen zu lassen und die Taschen (35) und die Trennelemente (80) in der Trennzone (56) zu einem Ausgang (66) des Chips (20) zu fördern,

- einen Rückgewinnungshalter (34), wobei der Halter (34) mindestens eine Kammer (82) für die Rückgewinnung mindestens einer ein Tröpfchen umfassenden Tasche (35) in der Kammer (82) aufweist,

- einen Sensor (36), der geeignet ist, den Durchgang von aufeinanderfolgenden Tröpfchen (4) der Emulsion (6) in dem Arbeitsfluid (28) zu erfassen, wobei die Erfassung eines Tröpfchens (4) durch den Sensor (36) die Steuerung des Injizierens eines bestimmten Volumens an Trennfluid (33), das das Bilden einer Tasche (35) ermöglicht, mit sich bringt.

13. System zum Rückgewinnen von Tröpfchen (1, 100, 110, 130, 150) nach Anspruch 12, bei dem der Ausgang (66) des Chips (20) in ein Auslassrohr (38) mündet, das einen Ausgang (86) aufweist, wobei der Halter (34) mehrere voneinander getrennte Kammern (82) aufweist und das System eine Vorrichtung (42) zum relativen Verschieben des Halters (34) in Bezug auf den Chip (20) nach jeder Rückgewinnung aufweist, wobei die Vorrichtung (42) zum Verschieben geeignet ist, den Ausgang (86) des Auslassrohrs (38) gegenüber einer Kammer (82) anzuordnen, die nach jedem Verschieben des Halters (34) unterschiedlich ist.

14. System zum Rückgewinnen von Tröpfchen (1, 100,

110, 130, 150) nach Anspruch 13, bei dem der Sensor (36) geeignet ist, den Durchgang von aufeinanderfolgenden Taschen (35) in der Abstandszone (50) zu erfassen, wobei die Vorrichtung (42) zum Verschieben abhängig von jeder Erfassung von Tröpfchen (4) gesteuert wird, damit nur eine einzige Tasche (35), die ein bei dem Erfassungsschritt erfasstes Tröpfchen (4) umfasst, in jeder Kammer (82) des Halters (34) rückgewonnen wird.

15. System zum Rückgewinnen von Tröpfchen (1, 100, 110, 130, 150) nach Anspruch 12 bis 14, bei dem der Ausgang (66) des Chips (20) in einem Auslassrohr (38) mündet, wobei das Auslassrohr (38) ein inneres Lumen (87) begrenzt, das an einer offenen Mündung (166) ausläuft, und das Auslassrohr (38) eine Innenwand (164) umfasst und das System (1, 100, 110, 130, 150) einen Stutzen (156) umfasst, der einen hindurchgehenden Durchgang (170) aufweist, wobei das Auslassrohr (38) in dem durchgehenden Durchgang (170) angeordnet ist, und das System (1, 100, 110, 130, 150) eine Gebläseeinheit (158) umfasst, die geeignet ist, einen Luftstrom in den durchgehenden Durchgang (170) zu injizieren, derart, dass ein Teil der Luft an der Außenwand (164) des Auslassrohrs (38) bis zur Mündung (166) des Auslassrohrs (38) entlang strömt.

Claims

1. Method for recuperating droplets (4), comprising the following steps:

- provision of a chip (20) having a fluid flow duct (46) defining successively in a fluid flow direction, an inlet zone (48), a spacing zone (50), an injection zone (54) and a separation zone (56),
- injection of an emulsion (6) of droplets (4) of an internal fluid (8) dispersed in an external fluid (10) into the inlet zone (48),
- injection of at least one carrier fluid (26) miscible with the external fluid (10) into the spacing zone (50) to form a working fluid (28) in the flow duct (46), comprising a carrier fluid (26) and droplets (4) of the emulsion (6) spaced apart from each other along the duct (46),
- conveyance of the working fluid (28) in the circulation duct (46),

characterized in that the method comprises the following steps:

- injection of a separating fluid (33) immiscible with the carrier fluid (26) into the injection zone to separate the working fluid (28) into a plurality of successive pockets (35) comprising the carrier fluid (26), wherein each pocket (35) is iso-

- lated from the next pocket (35) by a separator (80) consisting of separating fluid (33),
 - conveyance of the pockets (35) and separators (80) in the separation zone (56) to an outlet (66) of the chip (20),
 - recuperation in a compartment (82) of a recuperation support (34) of at least one pocket (35) comprising a droplet (4) recuperated after conveyance, the method comprising a step of detecting the passage of successive droplets (4), the detection of a droplet (4) controlling the injection of a volume of separating fluid (33) and the formation of a pocket (35).
2. Method according to claim 1, wherein the flow duct (46) is wider in the separation zone (56) than in the spacing zone (50).
 3. Method according to any one of claims 1 or 2, wherein each pocket (35) comprises the carrier fluid (26) and strictly less than two droplets (4).
 4. Method according to any one of the preceding claims, wherein the outlet (66) of the chip (20) opens into a discharge tube (38) having an outlet (86).
 5. Method according to claim 4, wherein the support (34) comprises several compartments (82) separated from each other, and the method comprises, after each recuperation step, a step of relative displacement of the support (34) with respect to the chip (20), the outlet (86) of the discharge tube (38) being placed opposite a different compartment (82) after each displacement of the support (34).
 6. Method according to any one of the preceding claims, comprising a detection of the passage of successive pockets (35).
 7. Method according to claim 5, wherein the displacement of the support (34) is controlled according to each detection of droplets (4), so that a single pocket (35) comprising a droplet (4) detected at the detection step is recuperated in each compartment (82) of the support (34).
 8. Method according to claims 5 and 6, taken together, wherein the displacement of the support (34) is controlled according to each pocket detection (35), so that a single pocket (35) comprising a droplet (4) detected at the detection step is recuperated in each compartment (82) of the support (34).
 9. Method of any of the preceding claims, comprising a pocket detection step (35) in a detection zone downstream of the separation zone (56).
 10. Method according to any one of the preceding claims, comprising a step of adding a complementary solution (104) in at least one pocket (35).
 11. Method according to claim 10, wherein the pocket (35) in which the complementary solution (104) is added comprises a droplet (4) of emulsion (6), while the method comprises a step of fusing the said droplet (4) of emulsion (6) with the added complementary solution (104).
 12. Droplet recuperation system (1, 100, 110, 130, 150), comprising:
 - a chip (20) comprising a fluid circulation duct (46) defining successively in the direction of circulation of the fluids, an inlet zone (48), a spacing zone (50), an injection zone (54) and a separation zone (56),
 - a device (22) for injecting an emulsion (6) of droplets (4) of an internal fluid (8) dispersed in an external fluid (10) into the inlet zone (48),
 - a device (24) for injecting at least one carrier fluid (26) that is miscible with the external fluid (10) into the spacing zone (50), in order to form in the circulation duct (46) a working fluid (28) comprising the carrier fluid (26) and droplets of the emulsion (6) spaced from each other along the duct (46),
 - a device (32) for injecting a separating fluid (33) immiscible with the carrier fluid (26) into the injection zone (54) to separate the working fluid (28) into a plurality of successive pockets (35) comprising carrier fluid (26), wherein each pocket (35) is isolated from the next pocket (35) by a separator (80) consisting of separating fluid (33), and
 - a control unit (21) capable of circulating the working fluid (28) in the circulation duct (46) and conveying the pockets (35) and the separators (80) in the separation zone (56) to an outlet (66) of the chip (20),
 - a recuperation support (34), wherein the support (34) comprises at least one compartment (82) for the recuperation of at least one pocket (35) comprising a droplet (4) in the compartment (82),
 - a sensor (36) capable of detecting the passage of successive droplets (4) of the emulsion (6) in the working fluid (28), the detection of a droplet (4) by the sensor (36) triggering control by the control unit (21) of the injection of a determined volume of separating fluid (33) for the formation of a pocket (35).
 13. Droplet recuperation system (1, 100, 110, 130, 150) according to claim 12, wherein the outlet (66) of the chip (20) opens into a discharge tube (38) having an outlet (86), wherein the support (34) comprises a plu-

ality of compartments (82) separated from each other, while the system comprises a relative displacement device (42) of the support (34) relative to the chip (20), after each recuperation, wherein the displacement device (42) is adapted to place the outlet (86) of the discharge tube (38) to face a different compartment (82) after each displacement of the support (34) with respect to the chip (20). 5

14. Droplet recuperation system (1, 100, 110, 130, 150) 10
according to claim 13, wherein the sensor (36) is capable of detecting the passage of successive droplets (4) in the spacing zone (50) wherein the displacement device (42) is controlled according to each detection of droplets (4), so that a single pocket (35) comprising a droplet (4) detected in the detection step is recuperated in each compartment (82) of the support (34). 15

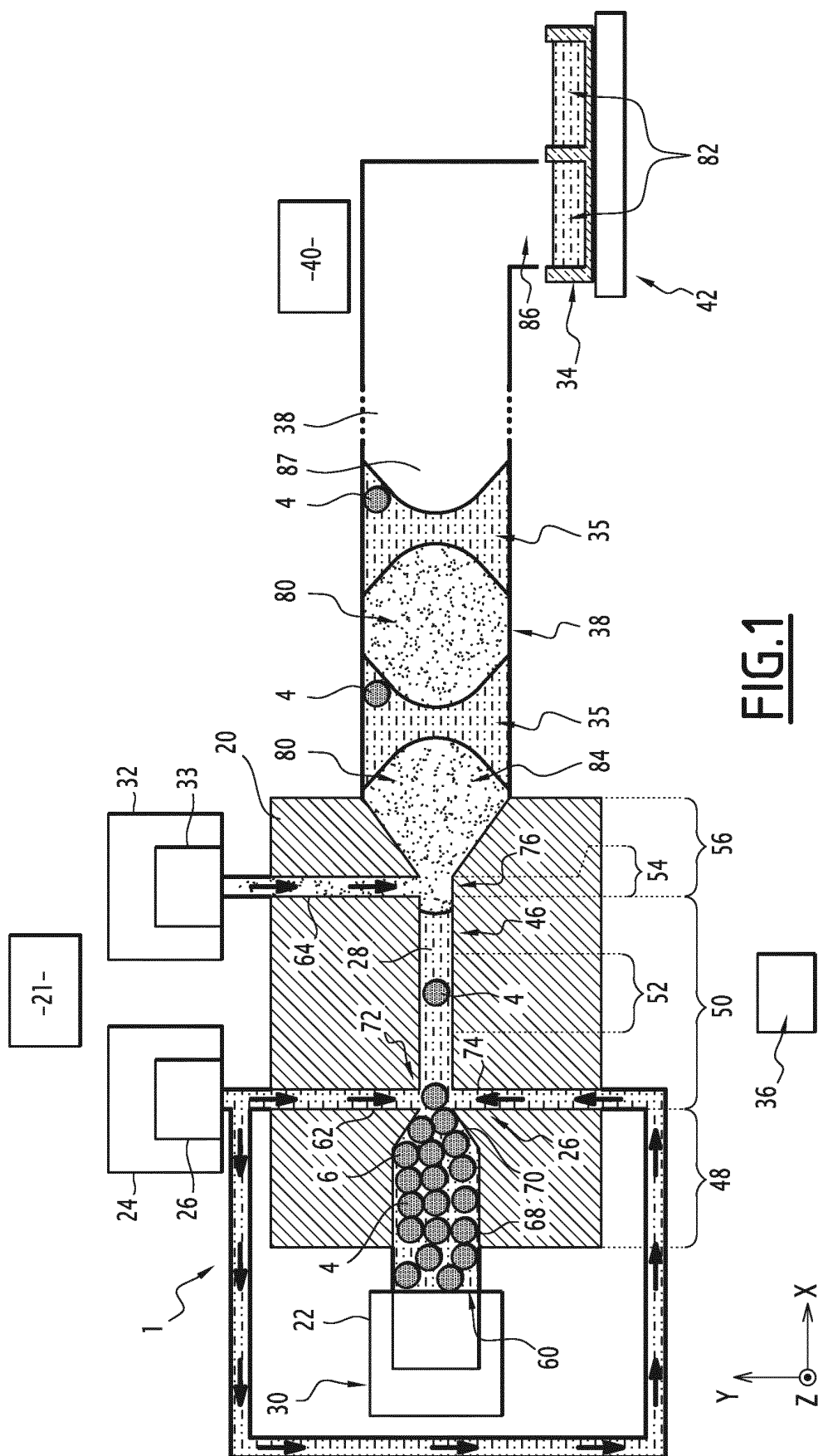
15. Droplet recuperation system (1, 100, 110, 130, 150) 20
according to claim 12 to 14, wherein the outlet (66) of the chip (20) opens into a discharge tube (38), wherein the discharge tube (38) defines an inner lumen (87) opening on an open mouth (166), wherein the discharge tube (38) comprises an outer wall (164) and the system (1, 100, 110, 130, 150) comprises a tip (156) having a through passage (170), wherein the discharge tube (38) is located in the through passage (170) and the system (1, 100, 110, 130, 150) comprises a blowing unit (158) for injecting a flow of air into the through-passage (170) so that a portion of the air runs along the outer wall (164) of the discharge tube (38) to the mouth (166) of the discharge tube (38). 25 30 35

40

45

50

55



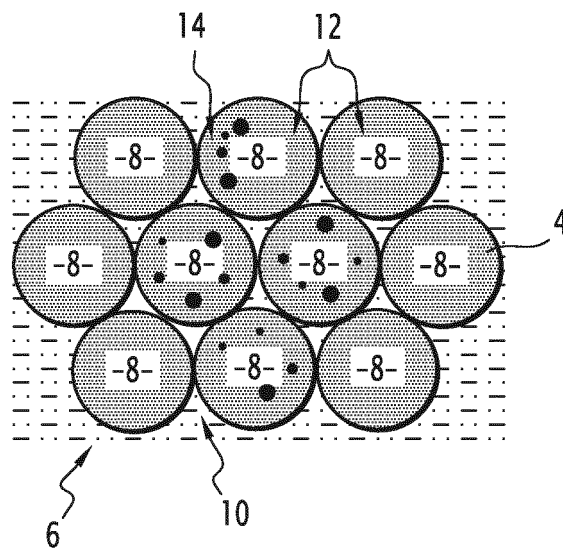


FIG. 2

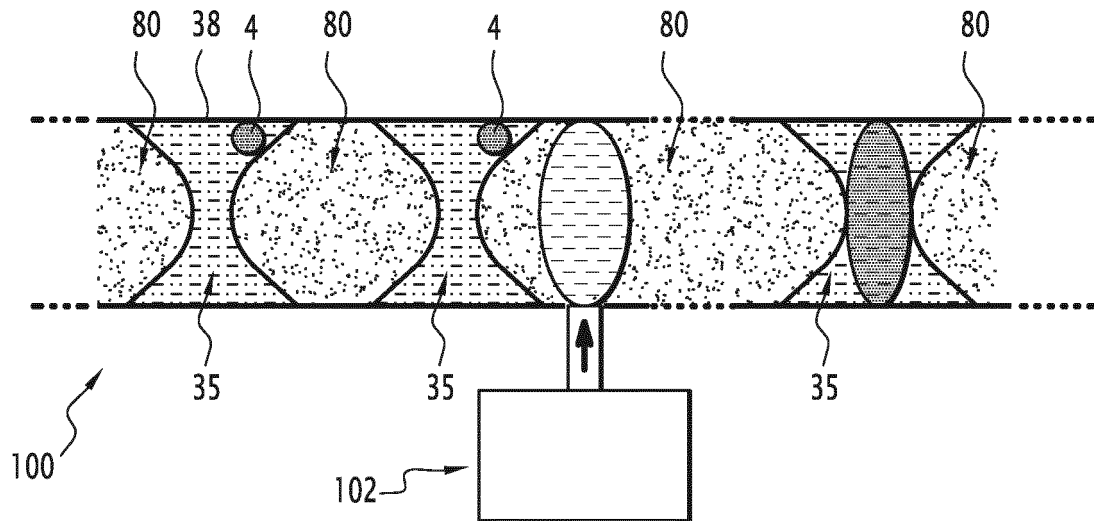


FIG. 3

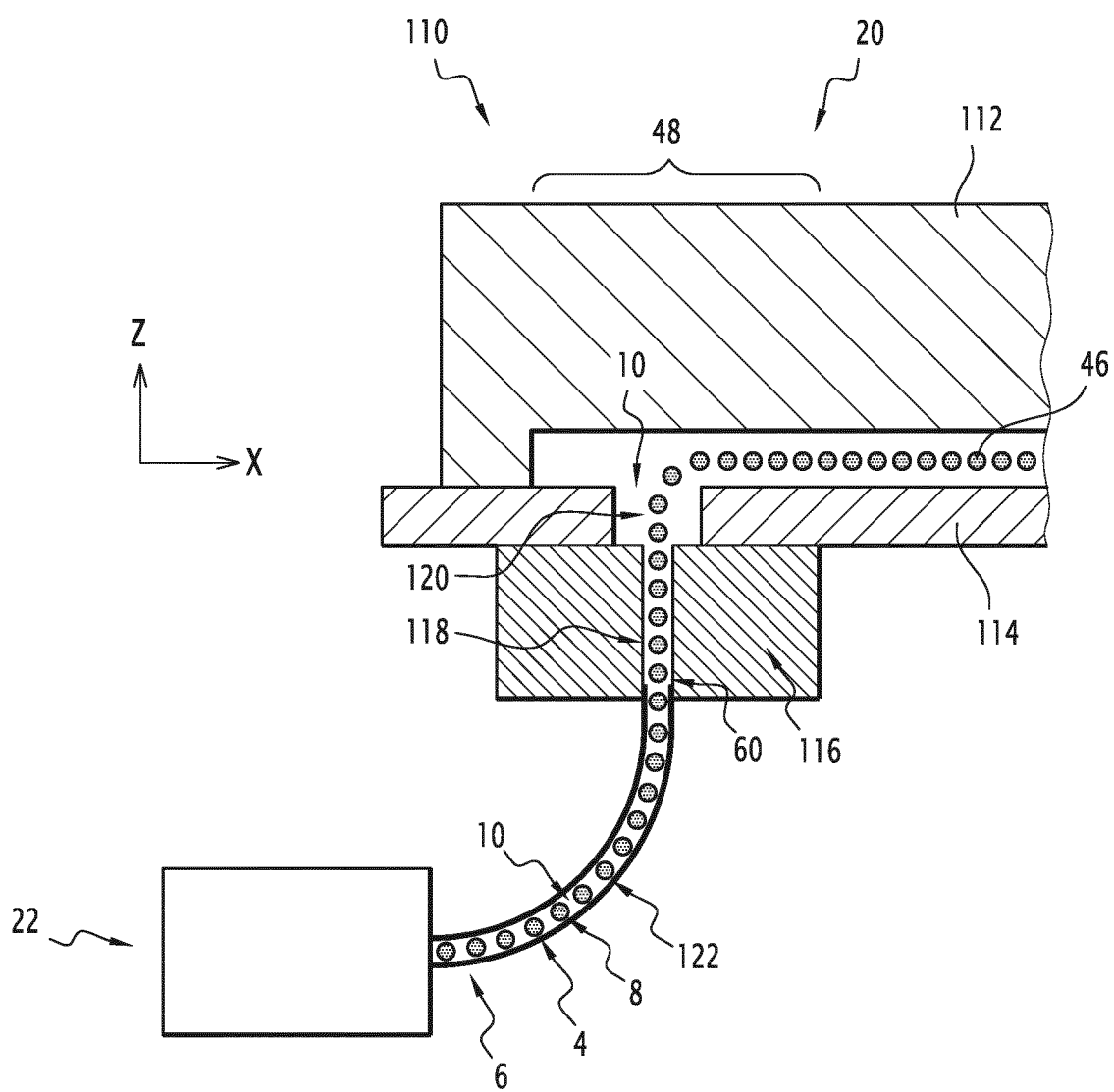


FIG.4

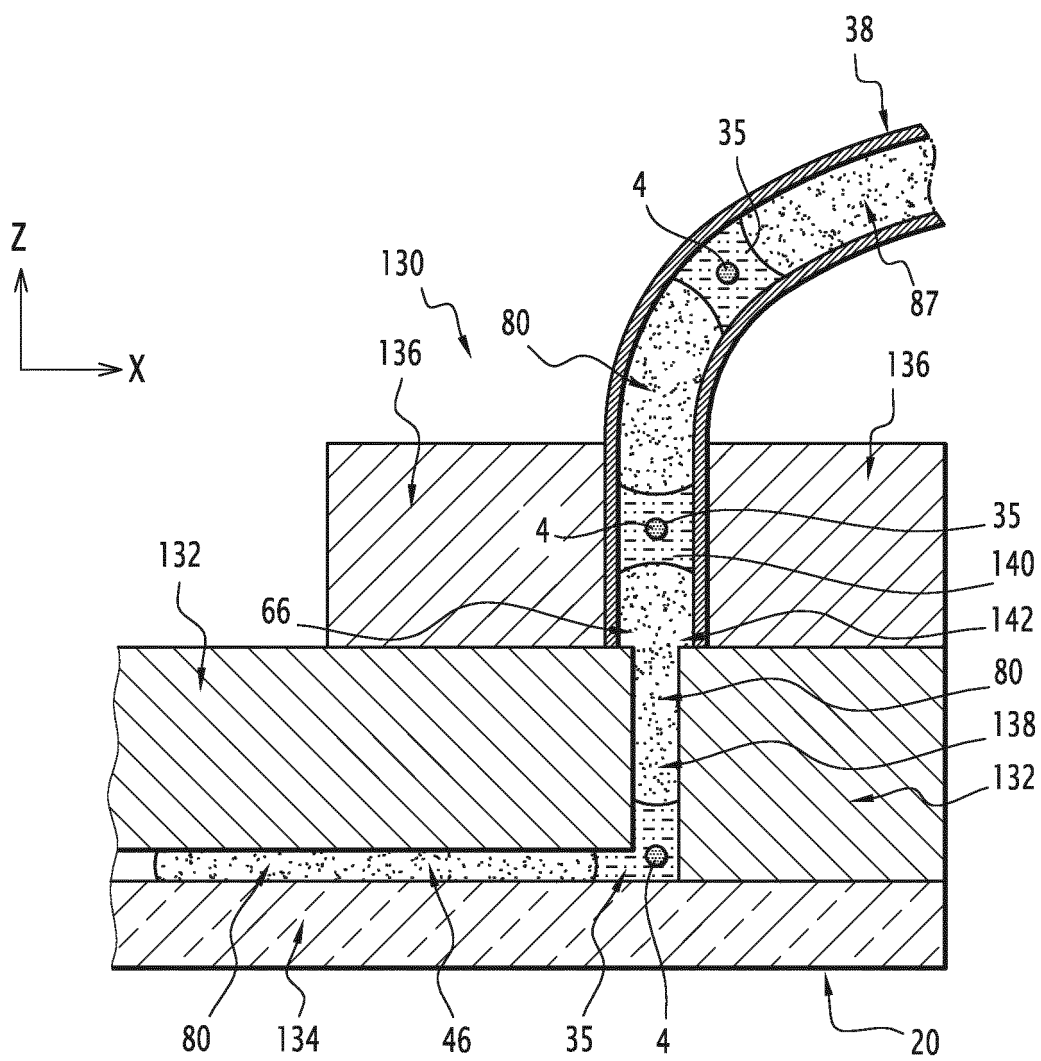


FIG.5

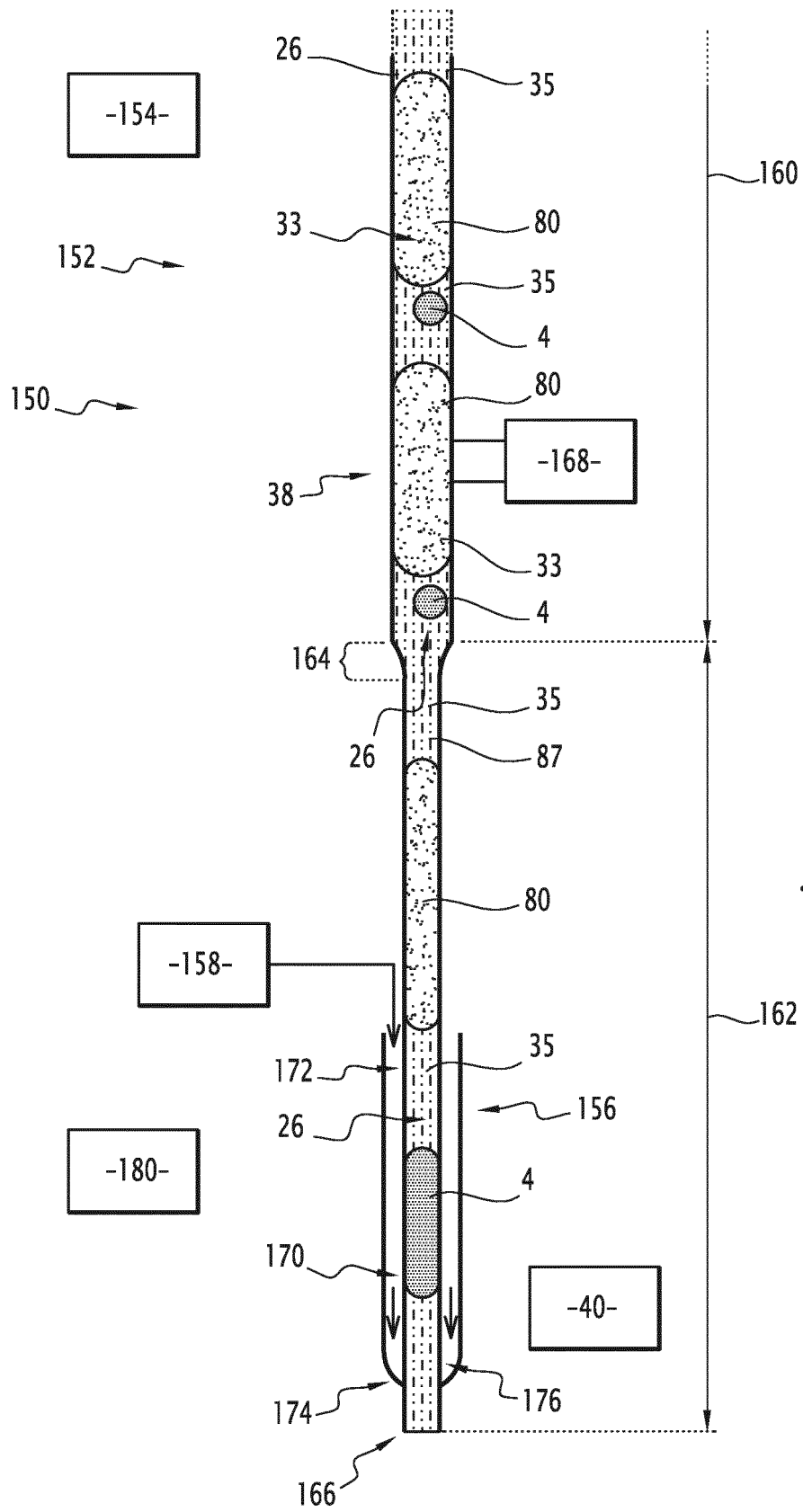


FIG.7

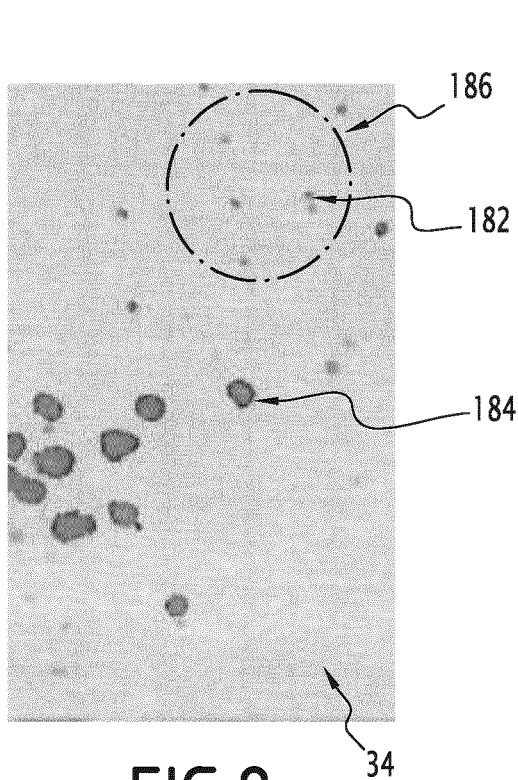
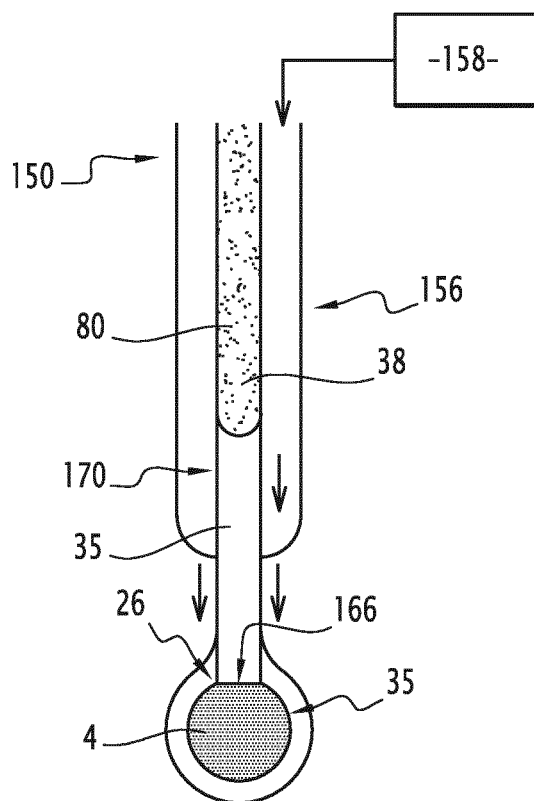


FIG.8

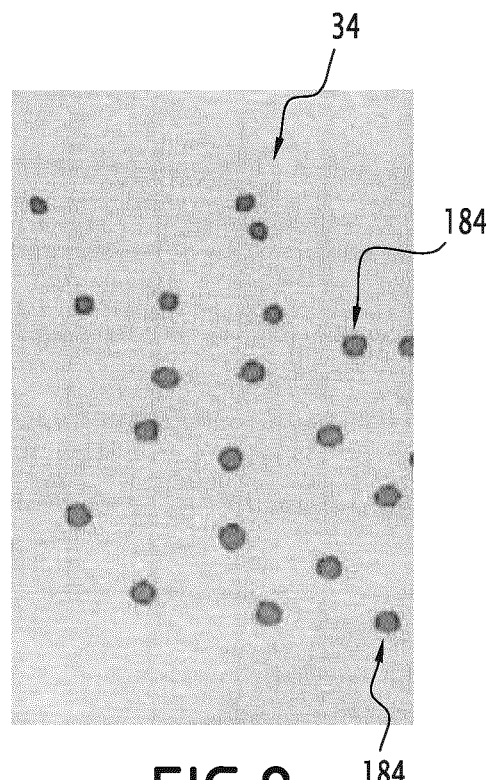


FIG.9

RÉFÉRENCES CITÉES DANS LA DESCRIPTION

Cette liste de références citées par le demandeur vise uniquement à aider le lecteur et ne fait pas partie du document de brevet européen. Même si le plus grand soin a été accordé à sa conception, des erreurs ou des omissions ne peuvent être exclues et l'OEB décline toute responsabilité à cet égard.

Documents brevets cités dans la description

- WO 2012042060 A [0013]
- US 2011053798 A1 [0015]

Littérature non-brevet citée dans la description

- **DE BARET et al.** *Fluorescence-activated droplets sorting (FADS): Efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity*, 23 Avril 2009 [0005]
- **DE BAI et al.** *Interfacing picoliter droplet microfluidics with addressable microliter compartments using fluorescence activated cell sorting*, 28 Décembre 2013 [0011]