

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

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2024/256448 A1

(43) Date de la publication internationale
19 décembre 2024 (19.12.2024)

(51) Classification internationale des brevets :
G01N 27/447 (2006.01)

(72) Inventeur : **LECOMTE-NORRANT, Edith** ; Villa Eline,
24 Chemin de valtendre, 13600 CEYRESTE (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2024/066202

(74) Mandataire : **GROSSET-FOURNIER & DEMACHY** ;
54 rue Saint Lazare, 75009 PARIS (FR).

(22) Date de dépôt international :
12 juin 2024 (12.06.2024)

(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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH,

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

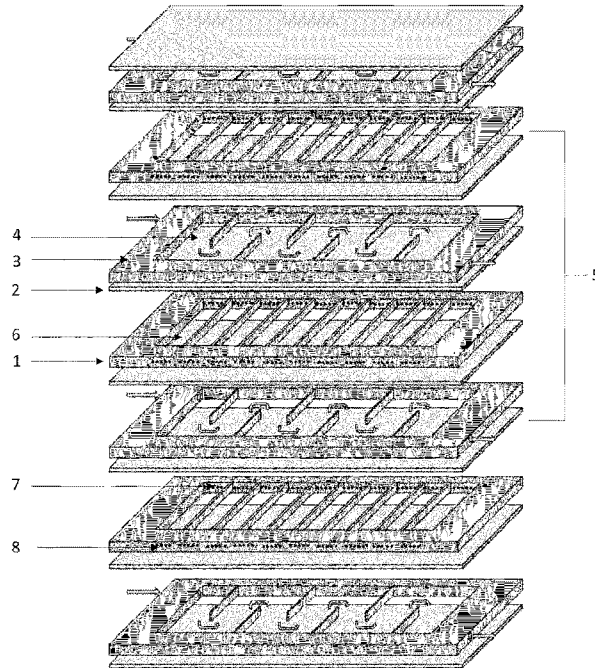
(30) Données relatives à la priorité :
FR2305928 12 juin 2023 (12.06.2023) FR

(71) Déposant : **IPSOMEL INNOVATION [FR/FR]** ; Pôle Performance Bat C2, 510 avenue de Jouques, 13400 AUBAGNE (FR).

(54) Title: FREE-FLOW ELECTROPHORESIS MICROCELL DEVICE AND USES THEREOF

(54) Titre : DISPOSITIF DE MICROCELLULES D'ÉLECTROPHORÈSE À FLUX LIBRE ET SES UTILISATIONS

Figure 1



(57) Abstract: The invention relates to a free-flow electrophoresis microcell device comprising a succession of electrophoresis plates X, sealing plates Y and cooling plates Z containing a heat-transfer system, the plates being stacked in a stage that comprises electrophoresis chambers, each electrophoresis chamber comprising a recessed portion with a height h, corresponding to the thickness of the electrophoresis plate X, of 25 μm to 200 μm , from 4 to 9 successive aligned inlets and from 4 to 12 successive aligned outlets, so that the inlets and outlets face each other, and supply and recovery channels connected to each of the inlets and outlets.

(57) Abrégé : L'invention concerne un dispositif de microcellules d'électrophorèse à flux libre comprenant une succession de plaques d'électrophorèse X, de plaques d'étanchéité Y et de plaques de refroidissement Z contenant un système caloporteur, lesdites plaques



WO 2024/256448 A1

TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS,
ZA, ZM, ZW.

- (84) **États désignés** (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- en noir et blanc ; la demande internationale telle que déposée était en couleur ou en échelle de gris et est disponible sur PATENTSCOPE pour téléchargement.

étant empilées en étage qui comprend des chambres d'électrophorèse, chaque chambre d'électrophorèse comprenant une partie évidée de hauteur h correspondant à l'épaisseur de la plaque d'électrophorèse X , de 25 μm à 200 mm, de 4 à 9 entrées successives alignées et de 4 à 12 sorties successives alignées, de façon à ce que les entrées et les sorties font face à face, et des canaux d'approvisionnement et de récupération reliés à chacune des entrées et des sorties.

DESCRIPTION**Dispositif de microcellules d'électrophorèse à flux libre et ses utilisations**

5 La présente invention concerne un dispositif de microcellules d'électrophorèse à flux libre et ses utilisations.

La chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) et l'électrophorèse de zones utilisant un support sont des techniques de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules, notamment de biomolécules, présentes dans un mélange. Toutefois la nécessité d'une phase stationnaire pour la chromatographie utilisée dans les procédés industriels pour la séparation et/ou purification induit des coûts importants, et celle du support pour l'électrophorèse sur zones limite son utilisation à l'échelle industrielle comme méthode préparative en termes de coût et de quantité.

15 Il existe donc un besoin de développer un dispositif adaptable, robuste et sans nécessité d'un entretien contraignant, fonctionnant en flux continu, conçu pour un fonctionnement facile et modulable à mettre en œuvre, afin de permettre une purification et/ou une séparation des produits attendus à des volumes et quantités à l'échelle industrielle.

20 L'un des buts de l'invention est de fournir un dispositif de purification et/ou séparation des molécules par électrophorèse à flux libre pouvant fonctionner en flux continu et à l'échelle industrielle.

Un autre but de l'invention est un procédé de purification et/ou séparation des molécules, notamment de biomolécules, adaptable à l'échelle industrielle.

Un autre but de l'invention est une méthode de mise en place d'un tel dispositif à l'échelle industrielle.

Un premier objet de la présente invention est un dispositif de microcellules d'électrophorèse à flux libre comprenant une succession verticale de plaques X, Y, Z dont les surfaces sont empilées selon la séquence $YZY(XYZY)_p$, dans laquelle

X représente une plaque d'électrophorèse (1) en matériau inerte,

Y représente une plaque étanche (2) en matériau inerte, isolant électrique et conducteur thermique, en saphir ou en alumine Al_2O_3 à 99% d' $\alpha-Al_2O_3$,

Z représente une plaque de refroidissement (3) comprenant un système caloporteur (4),
 p nombre entier de 1 à 100, représente à la fois le nombre d'étages dudit dispositif et
 5 le nombre de plaques X

chaque étage (5) étant défini :

- par la séquence suivante de plaques YZYXZY, dans laquelle :

- la plaque X est située entre deux plaques Y,

- chacune des deux plaques Z étant respectivement adjacentes à une plaque Y,

10 - et chacune des deux plaques Y situées aux extrémités de la séquence YZYXZY, recouvre respectivement une plaque Z de façon à ce que chaque plaque Z soit située entre deux plaques Y,

ledit dispositif comprenant en outre des moyens de serrage de toutes les plaques permettant l'étanchéité dudit dispositif,

15 ledit dispositif étant tel que chaque plaque X comprend :

un nombre i de chambre(s) d'électrophorèse (Fi) , i étant un entier de 1 à 100, en particulier 50, de préférence 10,

chaque chambre d'électrophorèse (6) comprenant :

○ une partie évidée

20 ▪ en forme de parallépipède rectangle de 4 faces latérales (a, b, c, d) et de 2 faces supérieure et inférieure (e, f),

 ▪ ladite partie évidée étant de longueur Loe et de largeur Lae,

 ▪ de hauteur h correspondant à l'épaisseur de la plaque d'électrophorèse X, de 25 μm à 20 mm, en particulier de 50 μm à 200 μm ou de 1,0 mm à 5,0 mm,

25 ▪ les faces latérales (a, b) étant parallèles entre elles, la face (a) étant délimitée par deux arêtes (A1, A2) de dimension Lae et la face (b) étant délimitée par deux arêtes (B1, B2) de dimension Lae,

 ▪ les faces latérales (c, d) étant parallèles entre elles, la face (c) étant délimitée par deux arêtes (C1, C2) de dimension Loe et la face (d) étant délimitée par
 30 deux arêtes (D1, D2) de dimension Loe,

○ n entrées successives E(1), E(2) à E(n-1), En, n étant un entier de 4 à 9, de préférence 5 ou 6, réparties sur la face (a) entre A1 et A2 et alignées selon une direction parallèle à A1 et A2,

- m sorties successive de S(1), S(2) à S(m-1), S(m), m étant un entier de 4 à 12 , de préférence 5 ou 7, réparties sur la face (b) entre B1 et B2 et alignées selon une direction parallèle à B1 et B2, de façon à ce que S(1) fasse face à E(1) et S(m) fasse face à E(n) selon une direction parallèle à C1 et D1,

5 lesdites plaques Y assurant l'étanchéité de la chambre d'électrophorèse, lesdites chambres (Fi) étant disposées de façon à ce que les arêtes C1 de chaque partie évidée soient parallèles entre elles,

ledit dispositif comprenant :

- 10 - des canaux d'approvisionnement configurés pour relier les entrées E(1) de chaque chambre électrophorèse à un circuit micro/ milli fluide d'approvisionnement d'une cathode liquide,
- des canaux d'approvisionnement configurés pour relier les entrées E(n) de chaque chambre électrophorèse à un circuit micro/ milli fluide d'approvisionnement d'une anode liquide,
- des canaux d'approvisionnement configurés pour relier au moins l'une des entrées E(2) à E(n-1)
- 15 - 1) de chaque chambre électrophorèse à un circuit micro/ milli fluide d'approvisionnement d'une solution initiale contenant un produit à purifier et/ou à séparer,
- des canaux d'approvisionnement configurés pour relier les autres entrées restantes de chaque chambre électrophorèse à des circuits micro/ milli fluidiques d'approvisionnement d'au moins une solution tampon,
- 20 - des canaux de récupération configurés pour relier chacune des sorties S(1) à S(m) de chaque chambre d'électrophorèse à des circuits micro/ milli fluidiques de récupération,

ledit dispositif étant configuré pour, en présence d'un champ électrique généré entre la cathode liquide et l'anode liquide parallèlement à A1 et perpendiculairement à C1, et en fonctionnement

- 25 - faire circuler la cathode liquide de l'entrée E(1) à la sortie S(1),
- faire circuler l'anode liquide de l'entrée E(n) à la sortie S(m),
- faire circuler dans la chambre d'électrophorèse (Fi), entre la cathode liquide et l'anode liquide, des entrées E(2) à E(n-1) aux sorties S(2) à S(m-1), la solution contenant le produit à séparer et/ou à purifier et au moins une solution tampon,
- 30 - récupérer à l'une des sorties S(2) à S(m-1) de chaque chambre d'électrophorèse dans un circuit de récupération le produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution initiale.

On entend par «électrophorèse à flux libre », une électrophorèse ne mettant pas en œuvre de phase stationnaire, c'est-à-dire sans utilisation d'une phase solide servant de support pour la migration des espèces lors de l'électrophorèse.

- 5 Par « plaque » on entend un élément rigide, généralement sous forme d'un parallélépipède rectangle, dans lequel au moins deux faces sont parallèles entre elles et ces dernières représentent principalement l'aire totale de cet élément, à savoir l'aire desdites deux faces parallèles entre elles représente plus de la moitié de cette aire totale. Ces deux faces sont appelées « surfaces » ou « surfaces inférieure ou supérieures » de la plaque.
- 10 La distance entre ces deux surfaces de la plaque définit l'épaisseur de la plaque.
Par « succession verticale de plaques » on entend un empilement des plaques, dans lequel les surfaces des différentes plaques sont en contact.
Par « plaque d'électrophorèse » on entend la plaque, nommée X, contenant les i chambres d'électrophorèse (F_i). La plaque X est en matériau inerte vis-à-vis de l'électrophorèse.
- 15 Par « chambre d'électrophorèse » on entend une partie de la plaque d'électrophorèse X comprenant :
- une partie évidée dans la plaque d'électrophorèse X, délimitée par des parois latérales, et
- les entrées et les sorties situées dans les parois latérales de ladite partie évidée.
La chambre d'électrophorèse est la partie de la plaque X dans laquelle s'opère l'électrophorèse à
20 flux libre.
La « cellule d'électrophorèse » est une unité constituante du dispositif. La cellule d'électrophorèse comprend une chambre d'électrophorèse, les parois des plaques Y fermant la chambre d'électrophorèse et les canaux d'approvisionnement et de récupération reliés aux entrées et aux sorties de ladite chambre d'électrophorèse. La cellule d'électrophorèse comprend la partie évidée
25 fermée par les parois latérales dans la plaque X et celles des plaques Y, les entrées et les sorties de la partie évidée et les canaux d'approvisionnement et de récupération.
Un dispositif constitué d'une cellule d'électrophorèse est appelé « puce d'électrophorèse ».
Par « plaque de refroidissement » on entend la plaque, nommée Z, contenant un système caloporteur. Le système caloporteur a pour fonction de transporter un fluide caloporteur afin de
30 permettre un contrôle de la température. Le système caloporteur est par exemple constitué d'un réseau de canaux formé par des évidements de la plaque Z.
Par « plaque étanche », nommée Y, on entend une plaque ayant pour but d'assurer l'étanchéité fluïdique du dispositif.

En effet chaque plaque X est située entre deux plaques Y, lesquelles assurent l'étanchéité des chambres d'électrophorèse de la plaque X.

De même chaque plaque Z est située entre deux plaques Y, lesquelles assurent l'étanchéité du système caloporteur de la plaque Z.

- 5 La plaque Y est en matériau inerte, isolant électrique et conducteur thermique afin d'assurer l'inertie chimique et électrique du dispositif nécessaires au procédé d'électrophorèse à flux libre et afin assurer la conductivité thermique entre les systèmes caloporteurs et les chambres d'électrophorèse pour permettre le contrôle de la température du dispositif.

La plaque Y est en saphir ou en alumine Al_2O_3 à 99% d' $\alpha-Al_2O_3$.

- 10 Dans le mode préféré de l'invention, les plaques Y sont en saphir.

Dans un autre mode de l'invention, les plaques Y sont en en alumine Al_2O_3 à 99% d' $\alpha-Al_2O_3$.

Par « saphir » on entend un matériau constitué de corindon soit une alumine Al_2O_3 comprenant 99% en poids de la phase $\alpha-Al_2O_3$.

- 15 Avantageusement la plaque Y présente une dureté de Mohs 9 (Coridon), une conductivité thermique de 30 W/m/K à 50 W/m/K. La plaque Y présente une haute résistance mécanique.

A titre d'exemple non limitatif, la plaque Y en saphir est fournie par Saint-Gobain (Luxium Solutions).

La plaque de saphir présente l'avantage d'être transparent.

- 20 Le dispositif est constitué d'une succession de plaques empilées et enserrées par des moyens de serrage, dans lequel les surfaces des plaques adjacentes sont en contact direct. Les plaques adjacentes sont des plaques contiguës. Chaque plaque dans le dispositif ne possède au maximum que deux plaques adjacentes, soit deux plaques voisines, disposées de part et d'autre de ladite plaque.

- 25 Un étage du présent dispositif est constitué d'une succession de plaques empilées selon la séquence suivante de plaques YZYXZY. Le nombre de plaques X définit le nombre d'étages du dispositif. Chaque étage comprend une plaque X entourée de deux plaques Z de refroidissement, chacune des plaques X et Z étant adjacentes à deux plaques Y afin d'assurer l'étanchéité des systèmes caloporteurs des plaques Z et des i chambres d'électrophorèse de la plaque X et la
- 30 conductivité thermique entre la plaque X et les plaques de refroidissement. Les plaques X et Z sont séparées par une plaque Y afin que le fluide du système caloporteur des plaques Z et les fluides circulant dans la chambre d'électrophorèse de la plaque X soient séparés et ne communiquent pas de façon fluïdique, les échanges s'opérant étant uniquement de nature thermique.

Dans un dispositif constitué de plusieurs étages, les plaques de séquence YZY situées entre deux plaques X sont communes à deux étages successifs.

Dans un dispositif à deux étages de séquence $YZYXYZYXYZY$, la séquence centrale YZY est commune aux deux étages.

- 5 Dans un dispositif à trois étages de séquence $YZYXYZYXYZYXYZY$, les deux séquences centrales YZY sont communes à deux étages successifs, respectivement au premier et deuxième étage et au deuxième et troisième étage.

10 Le dispositif comprend avantageusement de 1 à 100 chambres d'électrophorèse par plaques d'électrophorèse réparties dans les étages. Dans la plaque X de chaque étage, les chambres sont avantageusement organisées en rangées.

La gamme de « 1 à 100 » comprend les nombres entiers dans les gammes suivantes : de 1 à 10 ; de 10 à 20 ; de 20 à 30 ; de 30 à 40 ; de 40 à 50 ; de 50 à 60 ; de 60 à 70 ; de 70 à 80 ; de 80 à 90 ; de 90 à 100, en particulier les nombres suivants : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 15 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 et 100.

La chambre d'électrophorèse dans laquelle s'opère l'électrophorèse à flux libre, comprend une partie évidée d'une plaque X, fermée par les parois latérales dans la plaque X, ladite partie évidée étant en forme générale de parallélépipède rectangle.

- 20 On entend par « en forme de parallélépipède rectangle » que cette partie évidée s'inscrit en général dans un parallélépipède rectangle de longueur L_{oe} , de largeur L_{ae} et de hauteur h correspondant à l'épaisseur de la plaque X (figure 2). Il n'est pas tenu compte pour définir la forme générale de la partie évidée des moyens éventuellement présents dans la chambre d'électrophorèse tels que les moyens de canalisation présents aux entrées et aux sorties et les 25 protubérances.

Le parallélépipède rectangle comprend quatre faces latérales (a, b, c, d) et deux faces (e, f), respectivement inférieure et supérieure (figure 2).

Les faces latérales (a, b) sont parallèles entre elles et de mêmes dimensions.

La face (a) est délimitée par deux arêtes (A1, A2) de dimension L_{ae} , espacées de h .

- 30 La face (b) est délimitée par deux arêtes (B1, B2) de dimension L_{ae} , espacées de h .

Les faces latérales (c, d) sont parallèles entre elles et de mêmes dimensions.

La face (c) est délimitée par deux arêtes (C1, C2) de dimension L_{oe} , espacées de h .

La face (d) est délimitée par deux arêtes (D1, D2) de dimension L_{oe} , espacées de h .

Les faces supérieure (e) et inférieure (f) sont parallèles entre elles et de mêmes dimensions. Elles constituent les surfaces encadrant la partie évidée, creusée dans la plaque X.

La face (e) est délimitée par les arêtes (A1, B1, C1, D1) formant un rectangle de largeur L_{ae} et de longueur L_{oe} .

- 5 La face (f) est délimitée par les arêtes (A2, B2, C2, D2) formant un rectangle de largeur L_{af} et de longueur L_{of} .

La hauteur h correspond à l'épaisseur de la plaque X, et à la hauteur de la chambre d'électrophorèse et de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse.

- 10 La hauteur h est de 100 μm à 20 mm.

La gamme de 25 μm à 20 mm comprend les gammes suivantes : de 25 à 50 μm ; de 50 à 75 μm ; de 75 à 100 μm ; de 100 à 200 μm ; de 200 à 300 μm ; de 300 à 400 μm ; de 400 à 500 μm ; de 500 à 600 μm ; de 600 à 700 μm ; de 700 à 800 μm ; de 800 à 900 μm ; de 900 μm à 1,0 mm ; de 1,0 à 2,0 mm ; de 2,0 à 3,0 mm ; de 3,0 à 4,0 mm ; de 4,0 à 5,0 mm ; de 5,0 à 6,0 mm ; de 6,0 à 7,0 mm ; de 7,0 à 8,0 mm ; de 8,0 à 9,0 mm ; de 9,0 à 10,0 mm ; de 10,0 à 11,0 mm ; de 11,0 à 12,0 mm ; de 12,0 à 13,0 mm ; de 13,0 à 14,0 mm ; de 14,0 à 15,0 mm ; de 15,0 à 16,0 mm ; de 16,0 à 17,0 mm ; de 17,0 à 18,0 mm ; de 18,0 à 19,0 mm ; de 19,0 à 20,0 mm.

Avantageusement la hauteur h est de 25 à 200 μm .

Avantageusement la hauteur h est de 1,0 à 5,0 mm.

20

Par « entrée » on entend un passage permettant la circulation du flux d'un fluide liquide, de l'extérieur vers l'intérieur d'un système contenant une partie creuse close, configurée pour contenir ledit fluide, par exemple tel que la chambre d'électrophorèse ou le système caloporteur.

- 25 Par « sortie » on entend un passage permettant la circulation du flux d'un fluide liquide, de l'intérieur vers l'extérieur d'un système contenant une partie creuse close, configurée pour contenir ledit fluide, par exemple tel que la chambre d'électrophorèse ou le système caloporteur.

30 Sur la face (a), les n entrées dans la partie évidée de la chambre d'électrophorèse sont réparties successivement, respectivement référencées $E(1)$ à $E(n)$, soit $E(1)$, $E(2)$ à $E(n-1)$, $E(n)$. Le nombre d'entrée n varie de 4 à 9, soit 4, 5, 6, 7, 8 et 9, de préférence 5 ou 6.

Les entrées $E(1)$ à $E(n)$ sont situées entre les arêtes A1 et A2 et alignées selon une direction parallèle à A1 et A2, avantageusement à une distance sensiblement égale les unes par rapport aux autres.

Par « alignées » on entend que les entrées, respectivement les sorties, sont proches d'une même droite. Les entrées peuvent donc être positionnées légèrement en avant ou en arrière de la face (a) et/ou légèrement au-dessus ou en dessous l'une de l'autre. Le positionnement des entrées est configuré pour introduire les différents flux dans la chambre d'électrophorèse de façon à permettre leur circulation dans la chambre parallèlement à l'arête C1.

Sur la face (b), les m sorties sont réparties successivement, respectivement référencées S(1) à S(m), soit S(1), S(2) à S(m-1), S(m). Le nombre de sorties m varie de 4 à 12, soit 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12, de préférence 5 ou 7.

Les entrées S(1) à S(m) sont situées entre les arêtes B1 et B2 et alignées selon une direction parallèle à B1 et B2, avantageusement à une distance sensiblement égale les unes par rapport aux autres.

Les entrées E(1) et E(n) sont situées près des deux extrémités des arêtes A1 et A2, c'est-à-dire au plus près des faces (c) ou (d).

Les sorties S(1) et S(m) sont situées près des deux extrémités des arêtes B1 et B2, c'est-à-dire au plus près des faces (c) ou (d).

L'entrée E(1) est configurée pour l'introduction d'une cathode liquide. La sortie S(1) est configurée pour l'évacuation de la cathode liquide après circulation dans la chambre d'électrophorèse.

L'entrée E(n) est configurée pour l'introduction d'une anode liquide. La sortie S(m) est configurée pour l'évacuation de l'anode liquide après circulation dans la chambre d'électrophorèse.

Les entrées et les sorties d'une chambre sont configurées de façon à ce que E(1) fasse face à E(n) et S(1) fasse face à S(m) de façon à induire le champ électrique dans la chambre d'électrophorèse entre l'anode liquide et la cathode liquide lors de la circulation des fluides afin de permettre la mise en œuvre de l'électrophorèse.

L'anode liquide et la cathode liquide sont des solutions d'électrolyte, c'est-à-dire des solutions comprenant des ions.

Par « cathode liquide » on entend une solution d'électrolyte configurée pour jouer le rôle d'une cathode lors de l'électrophorèse.

Par « anode liquide » on entend une solution d'électrolyte configurée pour jouer le rôle d'une anode lors de l'électrophorèse

La présence de la cathode liquide et de l'anode liquide permet de générer un champ électrique dans la chambre d'électrophorèse lorsque les solutions électrolytiques sont chargées.

La cathode liquide et l'anode liquide sont des solutions électrolytiques, capables de générer un champ électrique, lequel peut être augmenté ou diminué par action du générateur qui charge l'anode liquide et la cathode liquide et/ou avec une augmentation de la concentration des ions.

5 L'une des entrées E(2) à E(n-1) est configurée pour l'introduction dans la chambre d'électrophorèse de la solution à purifier et/ou à séparer.

L'une des sorties S(2) à S(m-1) est configurée pour la récupération de la solution purifiée et/ou séparé après le procédé d'électrophorèse mis en œuvre dans la chambre d'électrophorèse.

10 Au moins une des entrées E(2) à E(n-1), distincte de l'entrée de la solution à purifier et/ou à séparer, est configurée pour l'introduction d'une solution tampon dans la chambre d'électrophorèse.

Les entrées et les sorties de la chambre d'électrophorèse sont reliées par des canaux à des circuits d'approvisionnement ou de récupération, configurés pour une circulation micro ou millifluidique des flux des fluides.

15 On entend par « circuit microfluidique » un ensemble de canaux de section de dimension de l'ordre du micromètre.

On entend par « circuit millifluidique » un ensemble de canaux de section de dimension de l'ordre du millimètre.

Les entrées E(1) à E(n) sont reliées par des canaux d'approvisionnement à des circuits d'approvisionnement.

20 Les sorties S(1) à S(m) sont reliées par des canaux de récupération à des circuits de récupération.

Le dispositif de la présente invention comprend des canaux reliant :

- les entrées E(1) de chaque chambre électrophorèse (Fi) à un circuit micro/ milli fluidique d'approvisionnement d'une cathode liquide,
- 25 - les entrées E(n) de chaque chambre électrophorèse (Fi) à un circuit micro/ milli fluidique d'approvisionnement d'une anode liquide,
- au moins l'une des entrées E(2) à E(n-1) de chaque chambre électrophorèse (Fi) à un circuit micro/ milli fluidique d'approvisionnement d'une solution initiale contenant un produit à purifier et/ou à séparer,
- 30 - les autres entrées restantes, de chaque chambre électrophorèse à des circuits micro/ milli fluidiques d'approvisionnement d'au moins une solution tampon,
- les sorties S(1) de chaque chambre électrophorèse (Fi) à un circuit micro/ milli fluidique de récupération de la cathode liquide, après circulation dans la chambre d'électrophorèse,

- les sorties S(m) de chaque chambre électrophorèse (Fi) à un circuit micro/ milli fluide de récupération de l'anode liquide, après circulation dans la chambre d'électrophorèse,
- au moins une des sorties S(2) à S(m-1) de chaque chambre d'électrophorèse (Fi) à un circuit micro/ milli fluide de récupération du produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution
5 initiale à purifier et/ou à séparer ;
- les autres sorties à au moins un circuit micro/ milli fluide de récupération.

Ainsi, le dispositif de la présente invention est configuré pour, en présence d'un champ électrique appliqué parallèlement à A1 et perpendiculairement à C1, et en fonctionnement pour chaque
10 chambre d'électrophorèse (Fi)

- faire circuler la cathode liquide de l'entrée E(1) à la sortie S(1), le long de la face (c)
- faire circuler l'anode liquide de l'entrée E(n) à la sortie S(m), le long de la face (d)
- faire circuler dans la chambre d'électrophorèse (Fi), entre la cathode liquide et l'anode liquide,
15 des entrées E(2) à E(n-1) aux sorties S(2) à S(m-1), la solution contenant le produit à séparer et/ou à purifier et au moins une solution tampon,
- récupérer à l'une des sorties S(2) à S(m-1) de chaque chambre d'électrophorèse dans un circuit de récupération le produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution initiale.

Les inventeurs ont de façon surprenante constaté que l'introduction d'un circuit de refroidissement avec l'utilisation de plaques de saphir ou d'alumine Al_2O_3 à 99% d' $\alpha-Al_2O_3$ comme moyen de
20 séparation entre le système caloporteur et les chambres d'électrophorèse induit un excellent contrôle de la température et son homogénéité de façon telle qu'elle permet :

- une épaisseur h des chambres d'électrophorèse constituant le dispositif pouvant varier du micromètre au millimètre et ainsi l'augmentation de la capacité de traitement des solutions à
25 purifier ou à séparer,
- une purification et/ou une séparation des molécules thermosensibles,
- une introduction d'un gradient de température dans les i chambres d'électrophorèse.

Dans la présente invention, la nature des matériaux des plaques Y qui sont en saphir ou en alumine Al_2O_3 à 99% d' $\alpha-Al_2O_3$, est une caractéristique essentielle du dispositif de l'invention. En
30 effet, le contrôle de la température est un paramètre critique dans le procédé d'électrophorèse en flux libre notamment pour maintenir un système de flux laminaires, outre l'aspect de dénaturation des protéines.

Dans l'art antérieur, l'utilisation de circuit de refroidissement à l'aide de plaques de séparation en verre, quartz, céramique ou en matériaux thermoplastiques dans les dispositifs décrits dans la

demande WO 2019/077134 A1 n'est pas assez performant pour atteindre des épaisseurs de chambres d'électrophorèse de l'ordre du millimètre, notamment du fait de la faible conductivité thermique des plaques. Par exemple, les plaques de verre ont une conductivité thermique de l'ordre de 1 W/(mK) qui est 40 fois inférieure à celle du saphir utilisé dans la présente invention.

5 Dans WO 2019/077134 A1, les plaques encadrant le circuit microfluidique ont pour fonction uniquement de protéger le film dans lequel le circuit microfluidique est gravé.

En outre l'utilisation de la plaque Y en saphir permet de disposer d'un dispositif robuste et étanche qui autorise le démontage et le remontage, en facilitant le lavage des pièces du dispositif et sa
10 maintenance. La modularité du dispositif permet une réutilisation des plaques Y et Z.

Avantageusement la tenue mécanique du saphir permet un système d'assemblage, permettant une pression importante des flux dans le dispositif tout en assurant une excellente étanchéité entre chaque étage, ce qui n'est pas le cas pour le verre qui se raye et se fissure très facilement sous légère pression ; en présence d'eau, la fissure dans le verre peut se propager à travers toute
15 la cellule et induire des problèmes importants d'étanchéités.

Ainsi, l'utilisation des plaques Y en saphir, comme plaques adjacentes fermant un circuit fluidique permet une robustesse et un contrôle de la température dans le dispositif grâce à la conductivité thermique du saphir. En conséquence, elle fournit un dispositif d'électrophorèse à flux libre permettant de traiter un volume plus important que celui du dispositif décrit dans WO 2019/077134
20 A1, du fait d'une hauteur des chambres d'électrophorèse de l'ordre du millimètre, pour une application à visée industrielle de la purification et/ou de la séparation des échantillons en continu par voie d'électrophorèse à flux libre.

Selon un mode de réalisation particulier, le nombre m de sorties est égal ou supérieur au nombre
25 d'entrée n afin d'induire une séparation plus fine du produit à séparer ou à purifier.

Avantageusement, le nombre m de sorties est supérieur au nombre n d'entrées. La multiplication des sorties affine les possibilités de récupération.

Selon un mode de réalisation particulier, n est égal à 5 et m est égal à 5.

Selon un mode de réalisation particulier, n est égal à 5 et m est égal à 7.

30 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, comprenant des canaux de récupération configurés pour relier :

- la sortie S(1) de chaque chambre d'électrophorèse à un circuit micro/millifluidique de récupération de la cathode liquide,
 - la sortie S(m) de chaque chambre d'électrophorèse à un circuit micro/millifluidique de récupération de l'anode liquide,
- 5 - l'une des sorties S(2) à S(m-1) de chaque chambre d'électrophorèse à un circuit micro/millifluidique de récupération du produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution initiale,
- les autres sorties restantes de chaque chambre d'électrophorèse à au moins un circuit micro/millifluidique de récupération de la au moins une solution tampon.
- 10 Les canaux de récupération du dispositif sont configurés pour récupérer après circulation dans les chambres d'électrophorèse, la cathode liquide, l'anode liquide, la (ou les) solution(s) tampon(s) et le produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution initiale. Ces récupérations ont lieu dans quatre circuits de récupération distincts, de façon à ce que, dans les chambres d'électrophorèse du dispositif, l'anode liquide et la cathode liquide ne soient pas en contact pour
- 15 maintenir le champ électrique avant ou pendant la récupération du produit purifié et/ou séparé en sortie. Ces canaux de récupération sont aussi configurés pour récupérer de façon séparée le produit purifié et/ou séparé et la au moins une solution tampon utilisée.
- Par « séparation », on entend la séparation de l'un de l'autre d'au moins deux produits présents dans la solution initiale pouvant être récupérés de façon séparée, lesdits deux produits pouvant
- 20 être récupérés chacun à des sorties différentes du dispositif de la présente invention.
- Par « purification », on entend la séparation d'un produit des autres espèces présentes dans la solution initiale.

25 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel p est égal à 1 et i est égal à 1, comprenant une plaque d'électrophorèse unique comportant une chambre d'électrophorèse unique, en particulier de hauteur h de 25 à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm.

Ce dispositif de l'invention dans lequel p est égal à 1 et i est égal à 1, est constitué de la séquence de plaques suivantes YZYXZY, comprenant une seule chambre d'électrophorèse,

30 avantageusement de hauteur h de 25 à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm.

Il constitue un outil de laboratoire. Il permet avantageusement de déterminer l'influence des différents paramètres tels que la nature du tampon, le champ électrique, la température, le nombre et la répartition des entrées et des sorties de la chambre d'électrophorèse, afin d'optimiser les conditions de purification et de séparation d'une solution à purifier ou à séparer.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel p est égal à 1 et i varie de 2 à 10, comprenant une plaque d'électrophorèse unique X comportant de 2 à 10 chambres d'électrophorèse, de préférence 10 chambres d'électrophorèse.

5

Ce dispositif selon l'invention dans lequel p est égal à 1 et i varie de 2 à 10, est constitué de la séquence de plaques suivantes $YZYXZY$, à savoir un seul étage comprenant au moins deux chambres d'électrophorèse, de préférence 10 chambres d'électrophorèse.

10 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel p varie de 2 à 10 et i varie de 2 à 10, comprenant de 2 à 10 plaques d'électrophorèse X et chaque plaque d'électrophorèse X comportant de 2 à 10 chambres d'électrophorèse, en particulier p est égal à 10 et i est égal à 10.

Avantageusement, la hauteur des chambres d'électrophorèse est de 1,0 à 20 mm, en particulier de 1,0 à 5,0 mm, de préférence de 1,0 à 2,0 mm.

15

Ce dispositif selon l'invention est un dispositif industriel d'électrophorèse à flux libre constitué de plusieurs étages et de plusieurs chambres d'électrophorèse par étage qui permet de séparer et/ou de purifier en continu une solution pouvant atteindre de 1 à 5 Litres par heure de solution à purifier ou à séparer, à savoir permettre une utilisation à l'échelle industrielle.

20

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel la hauteur h de la chambre d'électrophorèse est de 650 μm à 20 mm, en particulier de 650 μm à 10,0 mm, de préférence de 650 à 5,0 mm, préférentiellement de 650 μm à 2,0 mm.

25

La gamme de 650 μm à 2,0 mm comprend les gammes suivantes : de 650 à 700 μm ; de 700 à 750 μm ; de 750 à 800 μm ; de 800 à 850 μm ; de 850 à 900 μm ; de 900 à 950 μm ; de 950 μm à 1,0 mm ; de 1,0 à 1,1 mm ; de 1,1 à 1,2 mm ; de 1,2 à 1,3 mm ; de 1,3 à 1,4 mm ; de 1,4 à 1,5 mm ; de 1,5 à 1,6 mm ; de 1,6 à 1,7 mm ; de 1,7 à 1,8 mm ; de 1,8 à 1,9 mm ; de 1,9 à 2,0 mm.

30

La gamme de 650 μm à 5,0 mm comprend les gammes suivantes : de 650 à 2,0 mm ; de 2,0 à 2,1 mm ; de 2,1 à 2,2 mm ; de 2,2 à 2,3 mm ; de 2,3 à 2,4 mm ; de 2,4 à 2,5 mm ; de 2,5 à 2,6 mm ; de 2,6 à 2,7 mm ; de 2,7 à 2,8 mm ; de 2,8 à 2,9 mm ; de 2,9 à 3,0 mm ;

de 3,0 à 3,1 mm ; de 3,1 à 3,2 mm ; de 3,2 à 3,3 mm ; de 3,3 à 3,4 mm ; de 3,4 à 3,5 mm ; de 3,5 à 3,6 mm ; de 3,6 à 3,7 mm ; de 3,7 à 3,8 mm ; de 3,8 à 3,9 mm ; de 3,9 à 4,0 mm ; de 4,0 à 4,1 mm ; de 4,1 à 4,2 mm ; de 4,2 à 4,3 mm ; de 4,3 à 4,4 mm ; de 4,4 à 4,5 mm ; de 4,5 à 4,6 mm ; de 4,6 à 4,7 mm ; de 4,7 à 4,8 mm ; de 4,8 à 4,9 mm ; de 4,9 à 5,0 mm.

5

La gamme de 650 μm à 10,0 mm comprend les gammes suivantes : de 650 à 5,0 mm ; de 5,0 à 5,5 mm ; de 5,5 à 6,0 mm ; de 6,0 à 6,5 mm ; de 6,5 à 7,0 mm ; de 7,0 à 7,5 mm ; de 7,5 à 8,0 mm ; de 8,0 à 8,5 mm ; de 8,5 à 9,0 mm ; de 9,0 à 9,5 mm ; de 9,5 à 10,0 mm.

10 La gamme de 650 μm à 20,0 mm comprend les gammes suivantes : de 650 à 10,0 mm ; de 10,0 à 11,0 mm ; de 11,0 à 12,0 mm ; de 12,0 à 13,0 mm ; de 13,0 à 14,0 mm ; de 14,0 à 15,0 mm ; de 15,0 à 16,0 mm ; de 16,0 à 17,0 mm ; de 17,0 à 18,0 mm ; de 18,0 à 19,0 mm ; de 19,0 à 20,0 mm.

15 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel la hauteur h de la chambre d'électrophorèse est de 25 μm à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm.

La gamme de « 25 μm à 200 μm » comprend les gammes suivantes : de 25 à 50 μm ; de 50 à 75 μm ; de 75 à 100 μm ; de 100 à 125 μm ; de 125 à 150 μm ; de 150 à 175 μm ; de 175 à 200 μm .

20 La gamme de « 1,0 à 5,0 mm » comprend les gammes suivantes :

de 1,0 à 1,1 mm ; de 1,1 à 1,2 mm ; de 1,2 à 1,3 mm ; de 1,3 à 1,4 mm ; de 1,4 à 1,5 mm ; de 1,5 à 1,6 mm ; de 1,6 à 1,7 mm ; de 1,7 à 1,8 mm ; de 1,8 à 1,9 mm ; de 1,9 à 2,0 mm ; de 2,0 à 2,1 mm ; de 2,1 à 2,2 mm ; de 2,2 à 2,3 mm ; de 2,3 à 2,4 mm ; de 2,4 à 2,5 mm ; de 2,5 à 2,6 mm ; de 2,6 à 2,7 mm ; de 2,7 à 2,8 mm ; de 2,8 à 2,9 mm ; de 2,9 à 3,0 mm ;

25 de 3,0 à 3,1 mm ; de 3,1 à 3,2 mm ; de 3,2 à 3,3 mm ; de 3,3 à 3,4 mm ; de 3,4 à 3,5 mm ; de 3,5 à 3,6 mm ; de 3,6 à 3,7 mm ; de 3,7 à 3,8 mm ; de 3,8 à 3,9 mm ; de 3,9 à 4,0 mm ; de 4,0 à 4,1 mm ; de 4,1 à 4,2 mm ; de 4,2 à 4,3 mm ; de 4,3 à 4,4 mm ; de 4,4 à 4,5 mm ; de 4,5 à 4,6 mm ; de 4,6 à 4,7 mm ; de 4,7 à 4,8 mm ; de 4,8 à 4,9 mm ; de 4,9 à 5,0 mm.

30 L'utilisation d'un dispositif comprenant des chambres d'électrophorèse, notamment à un dispositif comprenant une seule chambre d'électrophorèse, possédant une hauteur de 25 μm à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm, est avantageuse pour réaliser des essais préliminaires permettant de déterminer l'influence des différents paramètres et d'optimiser les caractéristiques du dispositif.

La hauteur h de la chambre d'électrophorèse est constante dans tout le système. On entend par « une hauteur de 25 μm à 200 μm » une hauteur de valeur constante, ladite valeur étant choisie entre 25 μm et 200 μm . De même pour « une hauteur de 1,0 à 5,0 mm », on entend une hauteur constante choisie entre 1,0 et 5,0 mm.

5 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel la hauteur h de la chambre d'électrophorèse est de 1,0 mm à 5,0 mm, en particulier de 1,0 à 2,0 mm.

L'utilisation d'un dispositif possédant une hauteur de l'ordre du millimètres est avantageuse pour
10 atteindre des quantités industrielles pour la purification de produits. A titre d'exemple, un dispositif de 10 à 30 chambres de hauteurs de 2 mm permet d'obtenir de 100 à 300 kg/an de produit purifié.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini
15 ci-dessus, dans lequel la hauteur h de la chambre d'électrophorèse est de 650 μm à 20 mm, en particulier de 650 μm à 10,0 mm, de préférence de 650 à 5,0 mm, préférentiellement de 650 μm à 2,0 mm,

ou dans lequel la hauteur h de la chambre d'électrophorèse est de 25 μm à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm.

20 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les i chambres d'électrophorèse de chaque plaque X sont adjacentes les unes aux autres par les faces (c) ou (d) de chaque partie évidée.

Deux chambres d'électrophorèse adjacentes suivant les faces (c) et (d) présentent donc une paroi commune entre les deux chambres.

25 Les chambres, adjacentes suivant les faces (c) et (d), dans une même plaque d'électrophorèse X constituent une rangée de chambres d'électrophorèse. La configuration en rangée des chambres, optimise en termes de surface l'utilisation des plaques X et facilite leur fabrication et usinage. Elle permet aussi d'optimiser l'agencement des canaux de distribution et des systèmes de refroidissement, par exemple par une mise en commun de ces derniers.

30 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les entrées $E(1)$ pour deux chambres adjacentes sont alimentées par un même canal de distribution.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les entrées de deux chambres adjacentes sont symétriques. Elles sont symétriques par rapport à la paroi les séparant, à savoir la face (c) ou (d).

5 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel le ratio entre la longueur L_{oe} et la largeur L_{ae} de la partie évidée est de 2 à 15

Le ratio entre la longueur L_{oe} et la largeur L_{ae} de la partie évidée est choisi pour pouvoir permettre la migration du produit à purifier. Avantageusement, il est choisi indépendamment de la mobilité électrophorétique du produit à purifier ou à séparer de façon à ce que le dispositif puisse être
10 utilisé pour plusieurs types de produits.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel la largeur L_{ae} de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse est de
15 1,0 à 8,0 cm, de préférence de 1,0 à 5,0 cm

La gamme de « 1,0 à 8,0 cm » comprend les gammes : de 1,0 à 2,0 cm ; de 2,0 à 3,0 cm ; de 3,0 à 4,0 cm ; de 4,0 à 5,0 cm ; de 5,0 à 6,0 cm ; de 6,0 à 7,0 cm ; de 7,0 à 8,0 cm.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel la longueur L_{oe} de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse est de
20 5,0 à 20,0 cm, de préférence de 5,0 à 15,0 cm.

La gamme de « 5,0 à 20,0 cm » comprend les gammes : de 5,0 à 6,0 cm ; de 6,0 à 7,0 cm ; de 7,0 à 8,0 cm ; de 8,0 à 9,0 cm ; de 9,0 à 10,0 cm ; de 10,0 à 11,0 cm ; de 11,0 à 12,0 cm ; de 12,0 à 13,0 cm ; de 13,0 à 14,0 cm ; de 14,0 à 15,0 cm ; de 15,0 à 16,0 cm ; de 16,0 à 17,0 cm ; de 17,0
25 à 18,0 cm ; de 18,0 à 19,0 cm ; de 19,0 à 20,0 cm.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques d'électrophorèse X sont en matériau choisi parmi polytétrafluoroéthylène (PTFE), perfluoroalkoxy (PFA) et fluoroéthylène propylène (FEP), en
30 particulier des plaques de Téflon™, Téflon™-PFA et Téflon™-FEP.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel dans chaque plaque d'électrophorèse X une partie de ladite plaque est configurée pour laisser place à un circuit fluide de canaux d'approvisionnement et de récupération, lequel est partiellement ou totalement gravé, découpé ou percé dans la plaque X.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les i chambres d'électrophorèse de chaque plaque X sont adjacentes les unes aux autres par les faces (c) ou (d) de chaque partie évidée,

5 et/ou dans lequel la largeur L_{ae} de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse est de 1,0 à 8,0 cm, de préférence de 1,0 à 5,0 cm,

et/ou dans lequel la longueur L_{oe} de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse est de 5,0 à 20,0 cm, de préférence de 5,0 à 15,0 cm,

10 et/ou dans lequel les plaques d'électrophorèse X sont en matériau choisi parmi polytétrafluoroéthylène (PTFE), perfluoroalkoxy (PFA) et fluoroéthylène propylène (FEP), en particulier des plaques de TéflonTM, TéflonTM-PFA et TéflonTM-FEP,

et/ou dans lequel dans chaque plaque d'électrophorèse X une partie de ladite plaque est configurée pour laisser place à un circuit fluide de canaux d'approvisionnement et de récupération, lequel est partiellement ou totalement gravé, découpé ou percé dans la plaque X.

15 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques X, Y, Z présentent une dimension $L_a \times L_o$, dans laquelle L_a et L_o varient de 2,0 à 50,0 cm.

20 La gamme de « 2,0 à 50,0 cm » comprend les gammes : de 2,0 à 5,0 cm ; de 5,0 à 10,0 cm ; de 10,0 à 15,0 cm ; de 15,0 à 20,0 cm ; de 20,0 à 25,0 cm ; de 25,0 à 30,0 cm ; de 30,0 à 35,0 cm ; de 35,0 à 40,0 cm ; de 40,0 à 45,0 cm ; de 45,0 à 50,0 cm.

25 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques X, Y, Z présentent une dimension $L_a \times L_o$, dans laquelle L_a est de 6,0 à 30 cm et L_o est de 2,0 à 50,0 cm

La gamme de « 6,0 à 30,0 cm » comprend les gammes : de 6,0 à 10,0 cm ; de 10,0 à 15,0 cm ; de 15,0 à 20,0 cm ; de 20,0 à 25,0 cm ; de 25,0 à 30,0 cm.

30 Dans le cas d'un dispositif comprenant une seule chambre d'électrophorèse sur une plaque X, la largeur « L_a » de la plaque X est légèrement supérieure à la largeur « L_{ae} » de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse et la longueur « L_o » de la plaque X est légèrement supérieure à la longueur « L_{oe} » de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse.

Dans le cas d'un dispositif comprenant 10 chambres d'électrophorèse identiques adjacentes en une rangée sur une plaque X, la largeur « La » de la plaque X est sensiblement supérieure à la longueur « Loe » de la partie évidée d'une chambre d'électrophorèse et la longueur « Lo » de la plaque X est sensiblement supérieure à 10 fois la largeur « Lae » de la partie évidée d'une chambre d'électrophorèse.

Une valeur légèrement supérieure ou sensiblement supérieure est par exemple une valeur supérieure de 1 à 20 mm. Avantagement pour augmenter l'étanchéité d'une rangée de 10 cellules d'électrophorèse, on augmente la largeur des bordures de la plaque d'électrophorèse X en cadrant ladite rangée.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques Y présentent une épaisseur de 0,5 mm à 5,0 mm.

La gamme de « 0,5 à 5,0 mm » comprend les gammes suivantes : de 0,5 à 1,0 mm ; de 1,0 à 1,5 mm ; de 1,5 à 2,0 mm ; de 2,0 à 2,5 mm ; de 2,5 à 3,0 mm ; de 3,0 à 3,5 mm ; de 3,5 à 4,0 mm ; de 4,0 à 4,5 mm ; de 4,5 à 5,0 mm.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques Z sont en matériau choisi parmi le plexiglass, le PTFE ou les polyamines.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques de refroidissement Z présentent une épaisseur de 1,0 à 10,0 mm, en particulier de 1,0 à 5,0 mm.

La gamme de « 1,0 à 10,0 mm » comprend les gammes suivantes : de 1,0 à 2,0 mm ; de 2,0 à 3,0 mm ; de 3,0 à 4,0 mm ; de 4,0 à 5,0 mm ; de 5,0 à 6,0 mm ; de 6,0 à 7,0 mm ; de 7,0 à 8,0 mm ; de 8,0 à 9,0 mm ; de 9,0 à 10,0 mm.

La gamme de « 1,0 à 5,0 mm » comprend les gammes suivantes : de 1,0 à 1,5 mm ; de 1,5 à 2,0 mm ; de 2,0 à 2,5 mm ; de 2,5 à 3,0 mm ; de 3,0 à 3,5 mm ; de 3,5 à 4,0 mm ; de 4,0 à 4,5 mm ; de 4,5 à 5,0 mm.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques X, Y, Z présentent une dimension La x Lo, dans laquelle La et Lo varient de 2,0 à 50,0 cm,

et/ou dans lequel les plaques Y présentent une épaisseur de 0,5 mm à 5,0 mm,

et/ou dans lequel dans lequel les plaques de refroidissement Z présentent une épaisseur de 1,0 à 10,0 mm, en particulier de 1,0 à 5,0 mm.

5 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les chambres d'électrophorèse comprennent des moyens de canalisation débouchant sur les entrées et/ou sur les sorties, de préférence gravés dans la plaque d'électrophorèse X.

10 Ces moyens de canalisation sont configurés pour permettre l'orientation des flux dans la chambre d'électrophorèse au niveau de chacune des entrées et des sorties, afin de mieux répartir les flux dans le cas des entrées sur toutes la largeur de la partie évidée et pour mieux concentrer les flux dans le cas des sorties.

Avantageusement, ces moyens de canalisation sont une partie intégrante de la chambre d'électrophorèse, c'est-à-dire fusionnés avec les parois de la chambre d'électrophorèse et sont
15 constitués du même matériau que la plaque d'électrophorèse. Ces moyens de canalisation sont situés le long des faces (a) et (b) du parallélépipède rectangle dans lequel s'inscrit la partie évidée.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel chaque chambre d'électrophorèse est configurée pour contenir chacune
20 au moins une membrane de perméabilité sélective, de préférence sélective en tailles, positionnée de manière à être traversée par la solution contenant le produit à séparer ou à purifier lors du fonctionnement du dispositif.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel chaque chambre d'électrophorèse comprend au moins une membrane de
25 perméabilité sélective en tailles,

positionnée parallèlement à la face (c) et adjacente à une entrée d'une solution tampon, de manière à être traversée par la solution initiale contenant le produit à séparer ou à purifier lors du fonctionnement du dispositif et

30 de manière à ce que la partie de la solution initiale n'ayant pas traversé ladite membrane soit véhiculée vers l'une des sorties par ladite solution tampon provenant de ladite entrée adjacente à ladite membrane.

La présence de ces membranes permet en outre une sélectivité de tailles du produit à purifier et/ou à séparer.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini
5 ci-dessus, dans lequel la face supérieure et/ou la face inférieure de chacune des chambres d'électrophorèse comprend des protubérances configurées pour ne pas perturber, lors du fonctionnement du dispositif, la circulation dans la chambre du produit à purifier et/ou à séparer, et configurées pour améliorer le transfert de chaleur et pour maintenir les chambres d'électrophorèse à une température sélectionnée.

10 Les protubérances s'étendent des faces (e) et/ou (f) de la partie évidée vers l'intérieur de ladite partie évidée. Elles peuvent être situées uniquement sur l'une des faces ou sur les deux faces.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini
15 ci-dessus, dans lequel lesdites protubérances sont en matériaux conducteur thermique, de préférence en saphir ou en alumine $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ à 99%, préférentiellement dans le même matériau que celui de la plaque Y, afin d'assurer la conductivité thermique dans les chambres et de contrôler la température dans la cellule.

La présence de ces protubérances permet de favoriser les échanges thermiques entre les plaques de refroidissement le long du parcours et ainsi d'optimiser la séparation de la molécule désirée
20 tout en évitant une dénaturation des molécules, en conservant la température optimale.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini
25 ci-dessus, dans lequel lesdites protubérances possèdent une forme configurée pour ne pas perturber, lors du fonctionnement du dispositif, la circulation dans la chambre du produit à purifier et/ou à séparer.

La forme et la disposition des protubérances peuvent être calculées ou simulées afin d'éviter une perturbation des lignes de courant des écoulements en régime laminaire autour de la protubérance et dans la chambre d'électrophorèse, ladite forme et ladite disposition étant cependant efficaces pour le transfert thermique.

30 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel lesdites protubérances sont des picots de forme triangulaire, des piliers à base rectangulaire ou des plots ou de formes ovoïdes.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les plaques X et/ou Y sont gravées pour pouvoir accueillir lesdites protubérances.

- 5 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel chaque chambre d'électrophorèse est configurée pour contenir chacune au moins une membrane de perméabilité sélective, de préférence sélective en tailles, positionnée de manière à être traversée par la solution contenant le produit à séparer ou à purifier lors du fonctionnement du dispositif,
- 10 et/ou dans lequel la face supérieure et/ou la face inférieure de chacune des chambres d'électrophorèse comprend des protubérances configurées pour ne pas perturber, lors du fonctionnement du dispositif, la circulation dans la chambre du produit à purifier et/ou à séparer, et configurées pour améliorer le transfert de chaleur et pour maintenir les chambres d'électrophorèse à une température sélectionnée,
- 15 en particulier dans lequel lesdites protubérances sont en matériaux conducteur thermique, de préférence en saphir ou en alumine α -Al₂O₃ à 99%.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel le système caloporteur dans les plaques Z est un réseau de canalisation
20 configuré pour permettre la circulation d'un ou de plusieurs fluides caloporteurs, ledit réseau étant mis en contact direct avec une partie des plaques Y adjacentes à Z, la susdite partie étant reliée thermiquement aux chambres d'électrophorèse, afin de permettre le contrôle de la température dans lesdites chambres d'électrophorèse.

- 25 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel le réseau de canalisation du système caloporteur est formé par des évidements de la plaque Z.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini
30 ci-dessus, dans lequel ledit réseau de canalisation du système caloporteur est configuré pour générer un gradient de température dans chacune des chambres d'électrophorèse.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel ledit réseau de canalisation du système caloporteur comprend, pour chacune des chambres d'électrophorèse, des canaux parallèles à l'arête C1, lesdits canaux pouvant contenir des fluides caloporteurs de différentes températures afin de générer ledit gradient de températures.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel l'entrée du système caloporteur est située du côté de la face (a) de la chambre d'électrophorèse.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel ledit réseau de canalisation du système caloporteur est configuré pour générer un gradient de température dans chacune des chambres d'électrophorèse,

en particulier, ledit système caloporteur est un réseau de canalisation configuré pour permettre la circulation d'un ou de plusieurs fluides caloporteurs, ledit réseau étant mis en contact direct avec une partie des plaques Y adjacentes à Z, la susdite partie étant reliée thermiquement aux chambres d'électrophorèse, afin de permettre le contrôle de la température dans lesdites chambres d'électrophorèse,

de préférence dans lequel ledit réseau de canalisation du système caloporteur comprend, pour chacune des chambres d'électrophorèse, des canaux parallèles à l'arête C1, lesdits canaux pouvant contenir des fluides caloporteurs de différentes températures afin de générer ledit gradient de températures.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel ledit réseau de canalisation est configuré pour obtenir une température sélectionnée et contrôlée dans les chambres d'électrophorèse.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel le flux respectif d'entrée et de sortie du réseau de canalisation du système caloporteur est perpendiculaire à l'arête C1 de chaque chambre d'électrophorèse.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel l'entrée du système caloporteur est située du côté de la face (c) de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse.

5 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne un dispositif tel que défini ci-dessus, dans lequel les moyens de serrage pour assurer l'étanchéité dudit dispositif comprenant deux plaques de serrage externes enserrant ledit dispositif, lesdits moyens étant démontables, en particulier plaque par plaque.

10 Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation d'un dispositif de l'invention tel que défini ci-dessus, dans une méthode d'électrophorèse préparative pour la purification et/ou la séparation d'une molécule, en particulier une protéine, sous flux continu.
Le dispositif de l'invention permet avantageusement une utilisation en continu pour la purification et/ou la séparation d'un produit.

15 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne l'utilisation telle que définie ci-dessus, dans laquelle de 1 à 5 L/heure de solution à purifier ou à séparer sont traités, en particulier dans laquelle ledit dispositif comprend 100 chambres d'électrophorèse, de préférence comprenant 10 étages et 10 chambres d'électrophorèse par étage.

20 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne l'utilisation telle que définie ci-dessus, dans laquelle la productivité du produit purifié ou séparé est de 100 à 300 kg/an de produit purifié ou séparé, en particulier dans laquelle ledit dispositif comprend de 10 à 50 chambres d'électrophorèse.

25 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne l'utilisation telle que définie ci-dessus, ledit dispositif comprenant 100 chambres d'électrophorèse en fonctionnement pendant 300 jours/an.

30 Un autre objet de la présente invention concerne un procédé de purification et/ou de séparation par électrophorèse à flux libre, d'un produit contenu dans une solution comprenant les étapes suivantes :

- relier les canaux d'approvisionnement d'un dispositif selon l'invention tel que défini ci-dessus aux circuits d'approvisionnement de la cathode liquide, de l'anode liquide, d'une solution initiale

contenant un produit à purifier et/ou à séparer, et au moins une solution tampon, lesdits canaux et circuits étant contrôlés par une unité centrale (UC1)

- relier les systèmes de refroidissement à un circuit de refroidissement, contrôlé par une unité centrale (UC2)

5 - générer un champ électrique le long des arêtes A1, par l'intermédiaire de l'anode liquide et de la cathode liquide,

- générer une circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, par l'unité centrale (UC1), de façon à :

o faire circuler une cathode liquide de l'entrée E(1) à la sortie S(1),

10 o faire circuler une anode liquide de l'entrée E(n) à la sortie E(m),

o faire circuler dans la chambre d'électrophorèse, entre la cathode liquide et l'anode liquide, la solution initiale contenant le produit à purifier et/ou à séparer et ladite au moins une solution tampon, des entrées E(2) à E(n-1) aux sorties S(2) et S(m-1),

15 - sélectionner et récupérer dans l'une au moins des sorties S(2) à S(m-1), de chacune des chambres d'électrophorèse dudit dispositif, le produit séparé ou purifié.

Le contrôle de la circulation des fluides par l'unité central (UC1) est réalisé par exemple à l'aide de débitmètres et de pompes présentes dans les circuits d'approvisionnement et de récupération. Par exemple, chaque entrée de la chambre d'électrophorèse peut être connectée à un débitmètre.

20 Le champ électrique selon l'arête A1 dans la chambre d'électrophorèse peut être généré par la circulation de la cathode liquide de E(1) à S(1) et par la circulation de l'anode liquide de E(n) à S(m).

Avantageusement, la même unité centrale peut contrôler la circulation fluide dans les chambres d'électrophorèse et la circulation du fluide caloporteur dans le circuit de refroidissement.

25 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, mis en œuvre sous flux continu de la solution initiale contenant le produit à purifier et/ou à séparer,

30 en particulier à un débit de 1 à 5 L/heure, en particulier ledit dispositif comprenant 100 chambres d'électrophorèse,

de préférence en fonctionnement 300 jours/an.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel la cathode liquide et l'anode liquide sont des solutions électrolytiques de même composition.

Par « électrode liquide » on entend une cathode ou une anode liquide. Précisons qu'une électrode est un conducteur électronique, ou ionique captant ou libérant des électrons.

Dans ce mode de réalisation, la cathode et l'anode sont appelés des électrodes liquides. Ces électrodes liquides sont des solutions électrolytiques présentant une forte conductivité ionique. Par exemple l'électrode liquide qui est composé de Méthanol à 40%, HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%, Tween 20 à 0,1%, KCl 1,5M pH=7,5, a une conductivité ionique de 250 mS/cm.

L'électrode liquide peut comprendre des espèces sous forme d'ions telles que dans les solutions salines. Avantagement l'électrode liquide comprend des sels de chlorure ou de fluorure.

Dans un mode de réalisation, l'électrode liquide comprend de l'acide 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine éthanesulfonique (HEPES), ou du citrate, ou de l'acide 2-(N-morpholino) éthanesulfonique (MES), ou de l'acétate.

Dans un mode de réalisation, l'électrode liquide comprend en outre de l'hydroxypropyl méthyl cellulose (HPMC), Tween 20 (Polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate), du méthanol, éthanol et/ou KCl.

Avantageusement, l'électrode liquide présente la composition suivante : HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), méthanol à 40% et KCL de 0,5 à 1,5M et de l'eau.

Avantageusement le pH de l'électrode liquide est ajusté avec une solution NaOH.

Avantageusement la conductivité ionique de l'électrode liquide est de 0,01 à 250mS/cm.

Avantageusement l'électrode liquide est préalablement chargée avant l'introduction dans les chambres du dispositif, en particulier à l'aide d'une électrode en carbone introduite dans la solution électrolytique par exemple composé Méthanol à 40%, HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%, Tween 20 à 0,1%, KCl à 1,5M pH=7.5.

L'utilisation d'une cathode et d'une anode liquide implique la non-utilisation de métal dans le dispositif et permet d'éviter l'électrolyse de l'eau et donc la formation de bulles dans la (les) chambre(s) d'électrophorèse

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel la solution tampon présente un pH adapté pour la purification et/ou la séparation du produit à purifier et/ou à séparer contenu dans la solution initiale.

5 En générale, le pH de la solution tampon est compris entre 5,8 à 7,5 et dépend de la molécule à purifier dans son milieu.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ladite circulation fluidique de la cathode liquide dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

10 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ladite circulation fluidique de l'anode liquide dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

15 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ladite circulation fluidique de la solution à purifier et/ou à séparer dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 30 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

20 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ladite circulation fluidique de la solution tampon dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlé par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 50 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

25 La gamme de « 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$ » comprend les gammes suivantes : de 10 à 20 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 20 à 50 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 50 à 80 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 80 à 100 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 100 à 150 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 150 à 200 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 200 à 300 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 300 à 400 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 400 à 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 500 à 600 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 600 à 800 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 800 à 1 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 1 000 à 1500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 1 500 à 2 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 2 000 à 2 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 2 500 à 3 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 3 500 à 4 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 4 000 à 4 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 4 500 à 5 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 5 000 à 5 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 5 500 à 6 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 6 000 à 6 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 6 500 à 7 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 7 000 à 7500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 7 500 à 8 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 8 000 à 8 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 8 500 à 9 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 9 000 à 9 500 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 9 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ à 30 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

La gamme de « 10 à 20 000 $\mu\text{L}/\text{min}$ » comprend les gammes suivantes : de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 10 000 à 11 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 11 000 à 12 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 12 000 à 13 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 13 000 à 14 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 14 000 à 15 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 15 000 à 16 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 16 000 à 17 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 17 000 à 18 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 18 000 à 19 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 19 000 à 20 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

- 5 La gamme de « 10 à 50 000 $\mu\text{L}/\text{min}$ » comprend les gammes suivantes : de 10 à 20 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 20 000 à 25 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 25 000 à 30 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 30 000 à 35 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 35 000 à 40 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 40 000 à 45 000 $\mu\text{L}/\text{min}$; de 45 000 à 50 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ladite circulation fluidique de la cathode liquide dans chacune des
10 chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$,

et/ou dans lequel ladite circulation fluidique de l'anode liquide dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$,

15 et/ou dans lequel ladite circulation fluidique de la solution à purifier et/ou à séparer dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 30 000 $\mu\text{L}/\text{min}$,

et/ou dans lequel ladite circulation fluidique de la solution tampon dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlé par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 50 000
20 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ledit dispositif comprend au moins 100 chambres d'électrophorèse positionnées en parallèle.

On entend par « des cellules d'électrophorèse positionnées ou mises en parallèle », des cellules
25 d'électrophorèse dans lesquelles l'approvisionnement en fluide par les canaux des différentes entrées est réalisé en parallèle, c'est-à-dire de façon simultanée aux entrées avec des fluides introduits (électrodes liquides, solution tampon et la solution à purifier et/ou à séparer) issus de mêmes sources. La cellule 1 et la cellule 2 sont alimentées simultanément à l'entrée E(1) de chaque cellule par une électrode liquide issue d'un même récipient contenant l'électrode liquide,
30 par exemple.

Ainsi le circuit d'approvisionnement de la solution à purifier et/ou à séparer des chambres d'électrophorèse est un circuit parallèle.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, une variation de pH le long de l'arête A1 dans chaque chambre d'électrophorèse est générée, à l'aide d'au moins deux tampons de pH différent.

5 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ledit dispositif comprend dans chaque chambre d'électrophorèse au moins une membrane sélective en tailles, configurée pour séparer le produit à purifier et/ou à séparer de la solution initiale lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse.

10 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel chaque chambre d'électrophorèse comprend au moins une membrane sélective en tailles, positionnée parallèlement à l'arête C1 et adjacente à une entrée d'une solution tampon,

15 dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse la solution initiale contenant le produit à séparer et/ou à purifier traverse ladite membrane, la partie de la solution initiale n'ayant pas traversé ladite membrane étant véhiculée vers l'une des sorties S(2) à S(m-1) par ladite solution tampon provenant de ladite entrée adjacente à ladite membrane.

20 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, un gradient de température le long de l'arête A1 de la partie évidée est appliqué dans chaque chambre d'électrophorèse,

25 en particulier à travers les systèmes de refroidissement dudit dispositif comprenant un système caloporteur constitué d'un réseau de canalisations configuré pour permettre la circulation d'un ou de plusieurs fluides caloporteurs parallèlement à la face (c) de chacune des chambres d'électrophorèse.

30 Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel ledit dispositif comprend au moins 100 chambres d'électrophorèse positionnées en parallèle,

et/ou dans lequel ledit dispositif comprend dans chaque chambre d'électrophorèse au moins une membrane sélective en tailles, configurée pour séparer le produit à purifier et/ou à séparer de la solution initiale lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, et/ou dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, une variation de pH le long de l'arête A1 dans chaque chambre d'électrophorèse est générée, à l'aide d'au moins deux tampons de pH différent, et/ou dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, un gradient de température le long de l'arête A1 de la partie évidée est appliqué dans chaque chambre d'électrophorèse.

10

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, une température homogène, en particulier de 10°C à 40°C, est appliquée dans chacune des chambres d'électrophorèse.

15 La gamme de « 10°C à 40°C » comprend les gammes suivantes : de 10 à 15°C ; de 15 à 20°C ; de 20 à 25°C ; de 25 à 30°C ; de 30 à 35°C ; de 35 à 40°C, en particulier les valeurs de 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C et 40°C.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel, lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, le champ électrique généré est de 200V à 4 000 V.

La gamme de « 200 V à 4000 V » comprend les gammes suivantes : de 200 à 500 V ; de 500 à 1 000 V ; de 1 000 à 1 500 V ; de 1 500 à 2 000 V ; de 2 000 à 2 500 V ; de 2 500 à 3 000 V ; de 3 000 à 3 500 V ; de 3 500 à 4 000 V.

25

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, une température homogène, en particulier de 10°C à 40°C, est appliquée dans chacune des chambres d'électrophorèse,

30 et/ou dans lequel, lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, le champ électrique généré est de 200V à 4 000 V.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, mis en œuvre pour purifier et/ou séparer une protéine.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, mis en œuvre pour purifier et/ou séparer des isomères, en particulier des
5 énantiomères.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne le procédé tel que défini ci-dessus, mis en œuvre pour purifier et/ou séparer une protéine ou mis en œuvre pour purifier et/ou séparer des isomères, en particulier des énantiomères.

10 Un autre objet de la présente invention concerne une utilisation d'un dispositif selon l'invention tel que défini ci-dessus, comportant une seule chambre d'électrophorèse, en particulier dont la hauteur h de la partie évidée est de 25 à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm, pour déterminer et optimiser la circulation fluide du produit à purifier et/ou à séparer afin de mettre en place un dispositif industriel selon l'invention tel que défini ci-dessus comprenant de 10 à 100 chambres
15 d'électrophorèse

Un autre objet de la présente invention concerne une méthode de mise au point d'un dispositif industriel de purification et/ou de séparation d'une solution comprenant le produit à purifier et/ou à séparer par électrophorèse comprenant les étapes suivantes :

- 20 a) une première étape d'étude mettant en œuvre un dispositif selon l'invention tel que défini ci-dessus comprenant une seule chambre d'électrophorèse, en particulier dont la hauteur h de la partie évidée est de 25 à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm, pour déterminer et optimiser la circulation fluide du produit à purifier et/ou à séparer,
- b) une deuxième étape de mise en place dudit dispositif industriel comprenant de 10 à 100
25 chambres d'électrophorèse.

Figures et Exemples

30 La figure 1 représente un schéma en vue éclatée d'un dispositif de microcellules d'électrophorèse comportant 30 cellules d'électrophorèse réparties en rangées de 10 cellules sur 3 étages, sans représentation des moyens de serrage de toutes les plaques.

(1) représente une plaque d'électrophorèse comprenant une rangée de 10 chambres d'électrophorèse comportant chacune une partie évidée (6) en forme parallépipède rectangle,

chaque chambre comprenant des entrées ou sorties (7) et des canaux d'approvisionnement ou de récupération (8), deux parties évidées adjacentes sont séparées par une même paroi. (2) représente une plaque de saphir synthétique assurant la séparation des fluides entre deux plaques mais permettant des échanges thermiques. (3) représente une plaque de refroidissement
5 comprenant un système de refroidissement (4) qui comprend un évidement permettant la circulation d'un fluide caloporteur d'une entrée vers une sortie. (5) représente un étage constitué d'une succession des plaques YZYXYZY. Le dispositif comprend 3 étages et est constitué de la séquence suivante YZYXYZYXYZYXYZY dans laquelle les deux séquences centrales YZY sont communes à deux étages successifs, respectivement au premier et deuxième étage et au
10 deuxième et troisième étage.

La figure 2 représente la partie évidée (6) d'une chambre d'une plaque d'électrophorèse (1). La partie évidée s'inscrit dans un parallépipède rectangle de largeur L_{ae} , de longueur L_{oe} et de hauteur h , délimitée par les faces (a, b, c, d, e, f), les faces (a, b, c, d) forment les parois latérales
15 entre la partie évidée et la plaque X, les faces (a, b) étant parallèles entre elles et les faces (c, d) étant parallèles entre elles. La face (a) est délimitée par les arêtes (A1, A2) de dimension L_{ae} , la face (b) par les arêtes (B1, B2) de dimension L_{ae} . La face (c) est délimitée par les arêtes (C1, C2) de dimension L_{oe} , la face (d) par les arêtes (D1, D2) de dimension L_{oe} . Les arêtes (A1, B1, C1, D1) délimitent la face (e) et les arêtes (A2, B2, C2, D2) délimitent la face (f).

20 La figure 3 représente un schéma en vue éclaté d'un dispositif d'un étage comportant une seule chambre d'électrophorèse, sans représentation des moyens de serrage de toutes les plaques. (1) représente une plaque d'électrophorèse comprenant une seule chambre comportant une partie évidée (6) en forme parallépipède rectangle, comprenant des entrées ou sorties (7) et des canaux d'approvisionnement ou de récupération (8). (2) représente une plaque de saphir synthétique assurant la séparation des fluides entre deux plaques mais permettant des échanges thermiques. (3) représente une plaque de refroidissement comprenant un système de refroidissement (4) qui comprend un évidement permettant la circulation d'un fluide caloporteur d'une entrée vers une sortie, l'entrée du fluide caloporteur étant sur le même côté que celle des
25 entrées de la chambre d'électrophorèse. Le dispositif est constitué d'un seul étage (5) comportant une succession des plaques YZYXYZY.
30

La figure 4 représente en partie a) un dispositif d'un étage comportant une rangée de 10 chambres d'électrophorèse et en partie b) un dispositif de deux étages, chaque étage comportant une rangée de 10 chambres d'électrophorèse.

(1) représente une plaque d'électrophorèse comprenant une rangée de 10 chambres d'électrophorèse comportant chacune une partie évidée (6) en forme parallépipède rectangle, chaque chambre comprenant des entrées ou sorties (7) et des canaux d'approvisionnement ou de récupération (8), deux parties évidées adjacentes sont séparées par une même paroi. (2) représente une plaque de saphir synthétique assurant la séparation des fluides entre deux plaques mais permettant des échanges thermiques. (3) représente une plaque de refroidissement comprenant un système de refroidissement (4) qui comprend un évidement permettant la circulation d'un fluide caloporteur d'une entrée vers une sortie. (5) représente un étage constitué d'une succession des plaques YZYXZY.

Le dispositif en partie a) comprend 1 étage et est constitué de la séquence suivante YZYXZY.

Le dispositif en partie b) comprend 2 étages et est constitué de la séquence suivante YZYXZYXZY dans laquelle la séquence centrale YZY est commune aux deux étages.

La figure 5 représente un schéma d'une rangée de quatre chambres d'électrophorèses, dans laquelle les entrées de chaque chambre d'électrophorèse se succèdent de façon identique en partie a) ou les entrées des chambres adjacentes sont symétriques par rapport à la paroi les séparant (partie b). Les entrées et les sorties des chambres d'électrophorèse comprennent des moyens de canalisation (9).

La figure 6 représente en vue éclaté un dispositif avec un système de refroidissement permettant la mise en place d'un gradient de température, soit le long de la largeur de la chambre d'électrophorèse (partie a), soit le long de la longueur de la chambres (partie b). Dans le dispositif la plaque de refroidissement comprend un système de caloporteur comportant des évidements formant des canaux (10) qui sont parallèles aux flux de la chambre d'électrophorèse en partie a) ou qui sont perpendiculaires en partie b).

La figure 7 représente un dispositif comprenant des moyens de serrage. Dans ce mode de réalisation particulier, les moyens de serrages sont constitués de deux plaques (11) qui enserrant l'ensemble de la succession des plaques X, Y et Z, à l'aide de moyens d'attache (12) reliant les deux plaques (11) dont la distance peut être ajustée. Les moyens d'attache (12) sont par exemple des vis.

La figure 8 représente le schéma de la chambre d'électrophorèse des puces d'électrophorèse utilisé ; la partie a) représente celui de la puce KPLE-100-008 qui comporte 5 entrées et 7 sorties, lesdites sorties étant numérotées de haut en bas de 1 à 7, l'entrée centrale est destinée à l'échantillon, les entrées E(2) et E(4) à la solution tampon (TS) et les entrées E(1) et E(5) aux électrodes liquides ; la partie b) représente celui de la puce KPLE-100-009 qui comporte 5 entrées et 5 sorties, lesdites sorties étant numérotées de haut en bas de 1 à 5, l'entrée centrale est destinée à l'échantillon, les entrées E(2) et E(4) à la solution tampon (TS) et les entrées E(1) et E(5) aux électrodes liquides.

La partie évidée des chambres d'électrophorèse est de largeur L_{ae} et de longueur L_{oe} . La plaque d'électrophorèse X est de largeur L_a et de longueur L_o . Les chambres d'électrophorèse comprennent des moyens de canalisation (9) des flux d'entrée et de sortie. Les moyens de canalisation sont par exemple des éléments en forme de triangle (91) en forme de pointe biseautée (92) situés entre deux entrées ou deux sorties.

La figure 9 est une photographie prise du dispositif KPLE-100-008 comprenant une chambre d'électrophorèse d'épaisseur de 100 μm , lors de l'essai hydrodynamique. La visualisation des différents flux a été rendue possible par la coloration en jaune du flux de l'échantillon et des flux des électrodes.

La figure 10 présente une série de photographies prises d'un dispositif comprenant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 1 mm, lors des essais hydrodynamiques à des débits ($\mu\text{L}/\text{min}$) échantillon / solution tampon / électrode respectivement de 160 / 1600 / 1000 pour la partie a), de 320 / 3200 / 800 pour la partie b), de 400 / 4000 / 1000 pour la partie c) et de 400 / 2000 / 500 pour la partie d).

La figure 11 est une photographie prise d'un dispositif comprenant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur h de 2 mm, lors des essais hydrodynamiques à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 400 / 4000 / 1000.

La figure 12 est une photographie prise du dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 5 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'une séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G), réalisé à 1500 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 80 / 20.

La figure 13 représente les spectres HPLC des produits en sorties S(2), S(3) et S(4) d'un dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 5 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G), réalisé à 1500 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 80 / 20

La figure 14 est une photographie prise du dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G), réalisé à 2500 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 100 / 20.

La figure 15 représente les spectres HPLC des produits en sorties S(2), S(3), S(4), S(5) et S(6) d'un dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G), réalisé à 2500 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 100 / 20

La figure 16 représente des photographies prises du dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 1,0 mm, lors d'un essai de séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G), réalisé à 2000 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 600 / 20, la partie a) correspond à une photographie prise sans annotations, la partie b) représente la même photographie avec des annotations sur le chemin de parcours des composés colorés.

La figure 17 représente des photographies prises du dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 1,0 mm, lors d'un essai de séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G), réalisé à 3000 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 20 / 3000 / 50, la partie a) correspond à une photographie prise sans annotations, la partie b) représente la même photographie avec des annotations sur le chemin de parcours des composés colorés.

La figure 18 représente des photographies prises du dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 2,0 mm, lors d'un essai de séparation d'un mélange de trois composés colorés (fluorescéine, rhodamine B et rhodamine 6G),

réalisé à 3000 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 20 / 3000 / 50, la partie a) correspond à une photographie prise sans annotations, la partie b) représente la même photographie avec des annotations sur le chemin de parcours des composés colorés.

- 5 La figure 19 représente les spectres HPLC des produits en sorties S(1) à S(7) d'un dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange d'adénosine triphosphate (ATP) et d' adénosine monophosphate cyclique (AMP) réalisé à 0 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 100 / 25.
- 10 La figure 20 représente les spectres HPLC des produits en sorties S(1) à S(7) d'un dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange d'adénosine triphosphate (ATP) et d' adénosine monophosphate cyclique (AMP) réalisé à 1000 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 100 / 25.
- 15 La figure 21 représente les spectres HPLC des produits en sorties S(1) à S(7) d'un dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange d'adénosine triphosphate (ATP) et d' adénosine monophosphate cyclique (AMP) réalisé à 2 000 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 100 / 25.
- 20 La figure 22 représente un schéma de la migration des espèces d'un dispositif comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 5 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange de protéine et son linker, réalisé à 1500 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 80 / 20.
- La figure 23 représente les spectres HPLC des produits en sortie de S(3) d'un dispositif
25 comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 5 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange de protéine et son linker, réalisé à 1 500 V et à des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 80 / 20.
- La figure 24 représente les spectres HPLC des produits en sortie de S(4) d'un dispositif
30 comportant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 5 sorties, d'épaisseur de 100 μm , lors d'un essai de séparation d'un mélange de protéine et son linker, réalisé à 1 500 V et à

des débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 10 / 80 / 20.

Exemples

5 Exemple 1 : Matériel et méthode

Dispositif d'électrophorèse

Deux dispositifs, dits puces d'électrophorèse, comprenant une chambre d'électrophorèse présentant des caractéristiques différentes de dimensions de la partie évidée (dite chambre de séparation) et de la plaque X et un nombre distinct de sorties, ont été utilisées dans le cadre des
10 essais.

Les dimensions des deux puces sont reportées dans le tableau 1 ci-dessous.

Trois hauteur h ont été utilisée : 100 μm , 1 mm et 2 mm.

La puce KPLE-100-009 comporte une chambre d'électrophorèse de 5 entrées et 5 sorties. Les entrées et les sorties sont symétriques. Les entrées sont numérotées de haut en bas de 1 à 5,
15 soit respectivement E(1) à E(5).

La puce KPLE-100-008 comporte une chambre d'électrophorèse de 5 entrées et 7 sorties. La multiplication des sorties affine les possibilités de récupération. Ces sorties sont également numérotées de haut en bas de 1 à 7, respectivement S(1) à S(7), soit S1 à S7.

Chaque entrée a été reliée à un débitmètre contrôlant le flux introduit dans la puce
20 d'électrophorèse. Chaque débitmètre a été lui-même relié à un récipient de liquide indépendant d'approvisionnement, à savoir soit l'échantillon, soit une solution tampon, soit une électrode liquide. L'ensemble des paramètres, notamment le débit des entrées, la récupération des produits en sorties et leur analyse sont contrôlés par ordinateur et automatiquement enregistré.

	Partie évidée de la chambre d'électrophorèse Longueur Loe x largeur Lae	Plaque d'électrophorèse (plaque de séparation) Longueur Lo x largeur La
KPLE-100-008	6,4 cm x 3,0 cm	10,2 cm x 5,2 cm
KPLE-100-009	4,5 cm x 1,8 cm	7,5 cm x 5,0 cm

25 Tableau 1 : Dimensions des dispositifs

Exemple 2 : Etude de l'écoulement hydrodynamique dans le dispositif

Des études d'écoulement hydrodynamique ont été mises en place dans un dispositif d'électrophorèse à flux libre comprenant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties et présentant une épaisseur h de 100 μm , 1 mm et 2 mm .

Elles ont pour but d'analyser le mouvement du flux d'échantillon, des flux d'électrolyte (anode et cathode) et des flux de la solution tampon lorsque le dispositif est en fonctionnement. Aucun champ électrique n'a été appliqué lors de ces essais.

10 Essai 1 : Puce KPLE-100-008 d'épaisseur $h = 100 \mu\text{m}$.

La puce KPLE-100-008 a été connectée à des débitmètres à chaque entrée selon les conditions indiquées dans le tableau 2 suivant.

Entrées	Solution injectée	Composition	Débit ($\mu\text{L}/\text{min}$)
E(1)	Electrode liquide (cathode)	Eau/méthanol (60/40), HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), KCl 1,5M pH à 7,45 ajusté avec NaOH Colorant jaune	20
E(2)	Solution tampon	Eau HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) pH à 7,45	80
E(3)	Echantillon	Colorant jaune	10
E(4)	Solution tampon	Eau HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) pH à 7,45	80
E(5)	Electrode liquide (anode)	Eau/méthanol (60/40), HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), KCl 1,5M pH à 7,45 ajusté avec NaOH Colorant jaune	20

Tableau 2 : Conditions opératoires de l'essai 1.

La figure 9 est une photographie prise du dispositif KPLE-100-008 comprenant une chambre d'électrophorèse d'épaisseur de 100 µm, lors de l'essai hydrodynamique. La visualisation des différents flux a été rendue possible par la coloration en jaune du flux de l'échantillon et des flux des électrodes.

Il a été observé, sans application d'un champ électrique, un chemin du flux d'échantillon de l'entrée E(3) vers la sortie S(4), sortie faisant face à E(3).

Une zone colorée en jaune sous forme de bande a été observée de E(1) à S(1). Une autre zone colorée en jaune sous forme de bande a été observée de E(1) à S(6) et S(7). Ces deux bandes représentent les chemins respectivement des deux flux des électrodes liquides.

Essais 2 à 5 : Puce 5 entrées et 7 sorties d'épaisseur h = 1 mm.

Une puce comprenant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées, 7 sorties et d'une épaisseur h de 1 mm été connectée à des débitmètres à chaque entrée selon les conditions indiquées dans le tableau 3 suivant.

Entrées	Solution injectée	Composition	Essai 2 Débit (µL/min)	Essai 3 Débit (µL/min)	Essai 4 Débit (µL/min)	Essai 5 Débit (µL/min)
E(1)	Electrode liquide (cathode)	Eau/méthanol (60/40), HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), KCL 1,5M pH à 7,45 ajusté avec NaOH Colorant jaune	1 000	800	1 000	500
E(2)	Solution tampon	Eau HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) pH à 7,45 colorant bleu	1 600	3 200	4 000	2 000
E(3)	Echantillon	Eau	160	320	400	400

E(4)	Solution tampon	Eau HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) pH à 7,45 colorant bleu	1 600	3 200	4 000	2 000
E(5)	Electrode liquide (anode)	Eau/méthanol (60/40), HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), KCL 1,5M pH à 7,45 ajusté avec NaOH Colorant jaune	1 000	800	1 000	500

Tableau 3 : Conditions opératoires de l'essai 2

La figure 10 est une photographie prise du dispositif comprenant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur de 1 mm, lors des essais hydrodynamiques à des débits ($\mu\text{L}/\text{min}$) échantillon / solution tampon / électrode de 160 / 1600 / 100 pour la partie a), de 320 / 3200 / 800 pour la partie b), de 400 / 4000 / 1000 pour la partie c) et de 400 / 2000 / 500 pour la partie d).

La visualisation du chemin de parcours des différents flux a été rendue possible par la coloration en bleu de la solution tampon et la coloration en jaune des flux des électrodes.

Il a été mis en évidence, sans application d'un champ électrique, un chemin de parcours du flux d'échantillon en quasi ligne droite de l'entrée E(3) vers la sortie S(4), sortie faisant face à E(3), du fait de la coloration bleue des solutions de tampon qui contraste avec une absence de coloration de la solution de l'échantillon. En effet, le flux de l'échantillon a été bordé de part et d'autre par deux bandes plus sombres représentant les chemins de parcours des solutions tampons injectées de l'entrée E(2) aux sorties S(2) à S(4) et de l'entrée E(4) aux sorties S(5) à S(6).

Une zone colorée en jaune sous forme de bande de E(1) à S(1) et une autre zone colorée en jaune sous forme de bande de E(1) à S(7) ont été observées. Ces deux bandes représentent les chemins de parcours respectivement des deux flux des électrodes liquides.

Essai 6 : Puce 5 entrées et 7 sorties d'épaisseur $h = 2$ mm.

Une puce comprenant une chambre d'électrophorèse, comportant 5 entrées, 7 sorties, d'une épaisseur h de 2 mm, a été connectée à des débitmètres à chaque entrée selon les conditions indiquées dans le tableau 4 suivant.

5

Entrées	Solution injectée	Composition	Essai 6 Débit ($\mu\text{L}/\text{min}$)
E(1)	Electrode liquide (cathode)	Eau/méthanol (60/40), HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), KCL 1,5M pH à 7,45 ajusté avec NaOH Colorant jaune	1 000
E(2)	Solution tampon	Eau HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) pH à 7,45 colorant bleu	4 000
E(3)	Echantillon	Eau	400
E(4)	Tampon	Eau HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) pH à 7,45 colorant bleu	4 000
E(5)	Electrode liquide (anode)	Eau/méthanol (60/40), HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), KCL 1,5M pH à 7,45 ajusté avec NaOH Colorant jaune	1 000

Tableau 4 : Conditions opératoires de l'essai 3

La figure 11 est une photographie prise du dispositif comprenant une chambre d'électrophorèse comportant 5 entrées et 7 sorties, d'épaisseur h de 2 mm, lors des essais hydrodynamiques à des

débits en $\mu\text{L}/\text{min}$ des solutions respectivement de l'échantillon / solution tampon / électrode de 400 / 4000 / 1000.

La visualisation du chemin de parcours des différents flux est rendue possible par la coloration en bleu de la solution tampon et en jaune des flux des électrodes.

- 5 Il a été mis en évidence, sans application d'un champ électrique, un chemin de parcours du flux d'échantillon de l'entrée E(3) aux sorties S(4) et S(5). Le chemin de parcours de l'échantillon a été rendu visible par la coloration bleue des solutions de tampon.

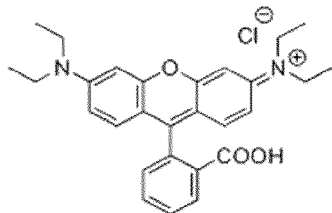
Une zone colorée en jaune sous forme de bande a été observée de E(1) aux sorties S(1) et S(2), une autre zone colorée en jaune sous forme de bande a été observée de E(5) aux sorties S(6) et
10 S(7). Ces deux bandes représentent les chemins de parcours respectivement des deux flux des électrodes liquides.

En conclusion, les essais hydrodynamiques 1 à 6 confirment des écoulements en régime laminaire des solutions injectées à différents débits dans la chambre, ce qui permet la mise en
15 œuvre du procédé d'électrophorèse à flux libre.

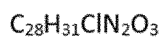
Exemple 3 : Séparation d'un mélange de Fluorescéine, Rhodamine B et Rhodamine 6G

Les essais 7 à 11 dans un dispositif d'électrophorèse à flux libre ont été mis en place pour la
20 séparation d'un mélange de trois molécules : la fluorescéine, la rhodamine B et la rhodamine 6G, présentant une fluorescence. Les structures chimiques des trois molécules sont présentées ci-dessous.

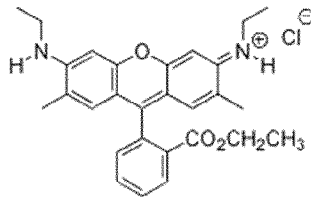
Rhodamine B



Mm = 479.01 g/mol (Violet)



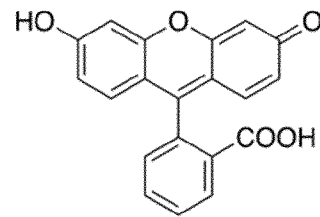
Rhodamine 6G



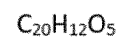
Mm = 479.01 g/mol (Rouge)



Fluorescéine



Mm = 332.3 g/mol (Jaune)



Ces 3 composés ont une taille similaire inférieure au nanomètre et des charges significativement différentes.

- 5 Le potentiel zêta de chaque composé a été mesuré au préalable et reporté dans le tableau 5.

La fluorescéine à pH 7,49 a présenté un potentiel zêta de -23,5 mV, la rhodamine B -0,3 mV et la rhodamine 6G +36,2 mV.

Composé	Potentiel Zêta à pH 7,49
Fluorescéine	-23,5 mV
Rhodamine B	-0,3 mV
Rhodamine 6G	+36,2 mV

Tableau 5 : Potentiel Zêta mesuré à pH 7,49

10

Essai 7 - Chambre de 5 entrées et 5 sorties – h = 100 µm - V=1500 V

Les caractéristiques principales de l'essai 7 sont les suivantes :

- Chambre de 5 entrées et 5 sorties

- h = 100 µm,

15 - V = 1500 V

- Débit (µl/min) : Echantillon / Buffer / Electrode : 10 / 80 / 20

Lors de cet essai, la puce KPLE-100-009, soit comportant 5 entrées et 5 sorties, avec une hauteur de la chambre d'électrophorèse h de 100 μm , a été connectée à des débitmètres à chaque entrée.

5 Les entrées E(1) et E(5) ont été alimentées chacune par une solution électrolytique respectivement pour l'anode et la cathode. Les deux solutions électrolytiques respectivement de la cathode et de l'anode sont de même composition. La solution électrolytique liquide, a la composition suivante : HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), méthanol à 40% et KCL 1,5M. Le débit a été fixé à **20 $\mu\text{L}/\text{min}$** . Ces solutions électrolytiques ont présenté un pH = 7,49 (qui a été
10 ajusté par une solution de NaOH) et une conductivité = 92,33 mS/cm. Le champ électrique est généré par les solutions électrolytiques dans la chambre d'électrophorèse, issues de solutions contenant respectivement les électrodes en carbone, anode et cathode.

L'entrée centrale E(3) a été alimentée par l'échantillon à purifier, à savoir par un mélange des 3 colorants : la fluorescéine, la rhodamine B et la rhodamine 6G. L'échantillon à purifier était
15 composé de 0,175 g/L de fluorescéine, 0,176g/L de Rhodamine 6G et de 0,185 g/L de Rhodamine B. Le débit fixé pour l'échantillon a été de **10 $\mu\text{L}/\text{min}$** tout au long de la purification.

Les deux dernières entrées E(2) et E(4) ont été alimentées par une solution tampon composée de HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) dans l'eau, à un débit fixé à **80 $\mu\text{L}/\text{min}$** . La solution tampon, dit buffer, a présenté un pH = 7,5 (ajusté par une solution de NaOH)
20 et une conductivité = 600 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Le champ électrique, variable de 0 V à 3000 V, a été fixé dans ces essais à **1500 V**. Après stabilisation des écoulements, les produits en sortie de la chambre d'électrophorèse ont été récupérés dans des tubes et analysés par HPLC afin de déterminer le pourcentage de chaque composé à chaque sortie.

25 La figure 12 est une photographie prise du dispositif lors de l'électrophorèse rendu possible par l'utilisation de plaques de saphir transparentes et des produits à séparer colorés.

Les suivis hydrodynamiques ont été réalisés permettant de montrer qu'il n'y avait aucune migration vers les électrodes liquides, d'un quelconque composé de l'échantillon. Ainsi seules les sorties de la chambre d'électrophorèse S(2), S(3) et S(4) ont fait l'objet d'une analyse par HPLC.

30

Résultats

La figure 12 montre une migration électrophorétique de la fluorescéine, en jaune, vers la cathode liquide, arrivant en sortie S(2). La rhodamine B, de faible charge, n'est pas influencée lors de l'électrophorèse et sort en sortie S(3). La rhodamine 6G (PZ = +36,2 mV) migre vers l'anode liquide et sort en sortie S(4).

Les spectres HPLC des produits sortant aux sorties S(2), S(3) et S(4) sont présentés à la figure 13.

Les résultats de l'analyse par HPLC pour cet essai réalisé à 1500 V confirme la présence de fluorescéine en sortie S(2), celle principalement de la rhodamine B en sortie S(3) et celle de la rhodamine 6G en sortie S(4).

Le pourcentage calculé de fluorescéine migrée est estimé à 92,98% vers la sortie S(2), tandis que la Rhodamine 6G migre à 62,75% vers la sortie S(4).

Essai 8

Les caractéristiques principales de l'essai 8 sont les suivantes :

- Chambre de 5 entrées et 7 sorties
- $h = 100 \mu\text{m}$,
- $V = 2\ 500\ \text{V}$
- Débit ($\mu\text{L}/\text{min}$) : Echantillon / Buffer / Electrode : 10 / 100 / 20

Un essai de séparation a été mis en place avec un deuxième dispositif qui comporte 5 entrées et 7 sorties, la puce KPLE-100-008, présentant une hauteur de la chambre d'électrophorèse h de $100 \mu\text{m}$.

La mise en place des solutions en entrée a été identique à celle de l'essai 7, mais le procédé de séparation de cet essai se distingue par le débit de l'échantillon, de la solution tampon et des électrodes, respectivement en $\mu\text{L}/\text{min}$ de **10 / 100 / 20** et par la tension du champ électrique appliquée, fixée à 2 500 V dans l'essai 8.

Ainsi lors de cet essai, la puce KPLE-100-008 a été connectée à des débitmètres. Les entrées E(1) et E(5) ont été alimentée chacune par une solution électrolytique respectivement pour l'anode et la cathode. Les deux solutions électrolytiques respectivement de la cathode et de l'anode sont de même composition. La solution électrolytique liquide, a la composition suivante :

HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), méthanol à 40% et KCL 1,5M. Le débit a été fixé à **20 $\mu\text{L}/\text{min}$** . Ces solutions électrolytiques ont présenté un pH = 7,49 (qui a été ajusté par une solution de NaOH) et une conductivité = 92,33 mS/cm. Le champ électrique est généré par les solutions électrolytiques dans la chambre d'électrophorèse, issues de solutions contenant respectivement les électrodes en carbone, anode et cathode.

L'entrée centrale E(3) a été alimentée par l'échantillon à purifier, composé de 0,175 g/L de fluorescéine, 0,176g/L de Rhodamine 6G et de 0,185 g/L de Rhodamine B. Le débit fixé pour l'échantillon a été de **10 $\mu\text{L}/\text{min}$** tout au long de la purification.

Les deux dernières entrées E(2) et E(4) ont été alimentées par une solution tampon composée de HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) dans l'eau, à un débit fixé à **100 $\mu\text{L}/\text{min}$** . La solution tampon, dit buffer, a présenté un pH = 7,5 (ajusté par une solution de NaOH) et une conductivité = 600 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Le champ électrique a été fixé dans cet essai à **2 500 V**. Après stabilisation des écoulements, les produits en sortie de la chambre d'électrophorèse ont été récupérés dans des tubes et analysés par HPLC afin de déterminer le pourcentage de chaque composé à chaque sortie.

La figure 14 est une photographie prise du dispositif lors de l'électrophorèse rendue possible par l'utilisation de plaques de saphir transparentes et des produits à séparer colorés.

Les suivis hydrodynamiques ont été réalisés permettant de montrer qu'il n'y avait aucune migration vers les électrodes liquides, d'un quelconque composé de l'échantillon. Ainsi seules les sorties de la chambre d'électrophorèse S(2) à S(6) ont fait l'objet d'une analyse par HPLC.

Résultats

La figure 14 montre une migration électrophorétique de la fluorescéine, en jaune, vers la cathode liquide, arrivant en sortie S(2). La rhodamine B n'a pas été influencée par la présence du champ électrique lors de l'électrophorèse et est sortie en S(4), sortie faisant face à l'entrée E(3). La rhodamine 6G a migré vers l'anode liquide, avec un déplacement moins important que celui de la fluorescéine, et est sortie en S(5).

Les spectres HPLC des produits sortant aux sorties S(2) à S(6) sont présentés à la figure 15.

Les résultats de l'analyse par HPLC pour l'essai 8 à 2 500 V confirme la présence de fluorescéine en sortie S(2) et S(3), principalement en sortie S(2), sans signal des rhodamines B et 6G. Le

spectre du produit issu de S(4) indique principalement de la rhodamine B. Le spectre du produit issu de S(5) indique principalement de la rhodamine 6G, sans rhodamine B, dans le produit.

A 2500 V, La fluorescéine a été purifiée à 100% et a été récupérée vers la sortie S(2) et S(3). La rhodamine B n'a montré aucune migration tandis que la rhodamine 6G a montré une migration partielle de l'ordre de 83,49% vers la sortie S(5).

Essai 9.

Les caractéristiques principales de l'essai 9 sont les suivantes :

- Chambre de 5 entrées et 7 sorties
- 10 - h = 1 mm
- V= 2000 V
- Débit ($\mu\text{L}/\text{min}$) : Echantillon / Buffer / Electrode : 10 / 600 / 10

L'essai 9 de séparation a été mis en place avec un troisième dispositif comprenant **5 entrées et 7 sorties**, avec notamment une hauteur de la chambre d'électrophorèse h de **1 mm**.

La mise en place des solutions des entrées a été identique à celle des essais 7 et 8, mais le procédé de séparation de l'essai 9 se distingue par le volume de la chambre d'électrophorèse présentant une hauteur de 1 mm et par le débit de l'échantillon, de la solution tampon et des électrodes, respectivement en $\mu\text{L}/\text{min}$ de **10 / 600 / 10** et par la tension du champ électrique appliquée, fixée à **2 000 V**.

La figure 16 est une photographie prise du dispositif lors de l'électrophorèse.

La figure 16 montre **dans une chambre d'électrophorèse de 1 mm de hauteur, une migration électrophorétique des espèces chargées**, la fluorescéine, en jaune, migrant vers la cathode et la rhodamine 6G migrant vers l'anode.

25 La rhodamine B n'a pas été influencée par la présence du champ électrique lors de l'électrophorèse et est sortie en S(4), à savoir la sortie faisant face à l'entrée E(3).

Dans les conditions mises en place dans cet essai, les migrations électrophorétiques de la fluorescéine et de la rhodamine 6G ont été moins importantes par rapport aux essais précédents, de sorte que la fluorescéine arrive entre les sorties S(3) et S(4) et la rhodamine 6G entre les 30 sorties S(4) et S(5).

Essai 10

Les caractéristiques de l'essai 10 sont les suivantes :

- chambre de 5 entrées et 7 sorties
- 5 - h = 1mm
- V= 3 000 V
- Débit ($\mu\text{L}/\text{min}$) : Echantillon / Buffer / Electrode : 20 / 3000 / 50

L'essai 10 de séparation a été mis en place avec un autre dispositif comprenant **5 entrées et 7 sorties**, avec une hauteur de la chambre d'électrophorèse h de **1 mm**.

- 10 La mise en place des solutions des entrées a été identique à celle de l'essai 9, mais le procédé de séparation de cet essai 10 se distingue par le débit de l'échantillon, de la solution tampon et des électrodes, respectivement en $\mu\text{L}/\text{min}$ de **20 / 3 000 / 50** et par la tension du champ électrique appliquée, fixé à **3 000 V**.

La figure 17 est une photographie prise du dispositif lors de l'électrophorèse.

- 15 La figure 17 **confirme une migration électrophorétique des espèces chargées dans un dispositif comprenant une chambre d'électrophorèse de 1 mm de hauteur**.

- Dans les conditions mises en place dans cet essai 10, en augmentant la tension du champ électrique et les débits par rapport à l'essai 9, les migrations électrophorétiques de la fluorescéine et de la rhodamine 6G ont été plus importantes que celles observées dans l'essai 9, de sorte que
- 20 la fluorescéine arrive à la sortie S(3) et le flux principal de la rhodamine 6G arrive à la sortie S(5).

Il a été ainsi possible de faire varier les conditions expérimentales afin d'optimiser la séparation des produits.

Essai 11

- 25 Les caractéristiques principales de l'essai 11 sont les suivantes :

- chambre de 5 entrées et 7 sorties
- h = 2 mm
- V= 2000 V
- Débit ($\mu\text{L}/\text{min}$) : Echantillon / Buffer / Electrode : 20 / 3000 / 50

30

Un dispositif, semblable à celui utilisé dans l'essai 9, mais présentant une hauteur de **2 mm** pour la chambre d'électrophorèse a été utilisé.

La mise en place des solutions des entrées a été identique à celle de l'essai 9, mais le procédé de séparation de cet essai 11 se distingue par le débit de l'échantillon, de la solution tampon et des électrodes, respectivement en $\mu\text{L}/\text{min}$ de **20 / 3 000 / 50** et par la tension du champ électrique appliquée, fixé à **3 000 V**, conditions identiques à l'essai 11.

La figure 18 est une photographie prise du dispositif lors de l'électrophorèse.

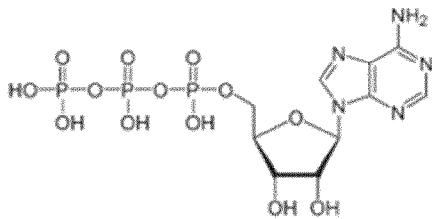
La figure 18 montre une séparation des flux des produits et confirme **une migration électrophorétique** des espèces chargées dans un dispositif comprenant **une chambre d'électrophorèse de 2 mm de hauteur**.

Exemple 4 : Séparation d'un mélange ATP/AMP

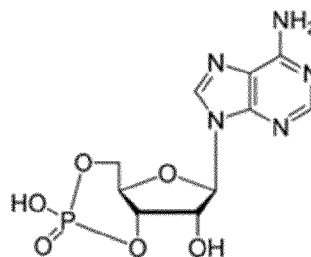
Des essais de séparation d'un mélange d'adénosine triphosphate (ATP) et d' adénosine monophosphate cyclique (AMP) ont été réalisées.

Les structures de l'adénosine triphosphate (ATP) et de l' adénosine monophosphate cyclique (AMP) sont reportées ci-dessous.

Adénosine triphosphate



Adénosine monophosphate cyclique



Les essais 12 à 14 ont été mis en œuvre avec une puce d'électrophorèse KPLE-100-008, comportant 5 entrées et 7 sorties, et une épaisseur de la chambre d'électrophorèse de 100 μm .

Le tableau 6 ci-dessous reporte les compositions des électrodes liquides et des solutions tampons de séparation et de l'échantillon à séparer qui ont été utilisées.

Composés	Electrode liquide	Tampon de séparation	Echantillon
HEPES	10 mM	10 mM	/
HPMC	0,2 %	0,2 %	/
Tween 20	0,1 %	0,1 %	/
KCl	1,5 M	/	/
Solvant	60 % eau / 40 % méthanol	100 % eau	100 % eau
ATP	/	/	0.804 g/L
AMP	/	/	0.792 g/L

Tableau 6 : Détails des conditions opératoires des expériences

Le tableau 7 ci-dessous reporte les natures solutions introduites aux entrées du dispositif et les débits respectifs qui ont été appliqués.

5

Entrées	Composition	Débits
1	Electrode liquide	25 μ L/min
2	Tampon de séparation	100 μ L/min
3	Echantillon	10 μ L/min
4	Tampon de séparation	100 μ L/min
5	Electrode liquide	25 μ L/min

Tableau 7 : composition et débits des différentes entrées de la puce

Les débits d'électrode liquide aux entrée E(1) et E(5) ont été de 25 μ L/min, le débit d'échantillon en entrée E(3) a été de 10 μ L/min et les débits des tampons en entrée E(2) et E(4) ont été de 100 μ L/min.

10

Lors des essais, la puce d'électrophorèse a fonctionné en continu durant l'intégralité des expérimentations après stabilisation du système.

15

Trois différents essais 12, 13 et 14 ont été réalisés. Dans ces essais les débits aux entrées sont restés inchangés pour l'ensemble des essais. Seule la valeur du champ électrique appliqué a été augmentée de 0 à 3000 V.

Les essais ont été réalisés à 0V (essai 12), à savoir sans champ électrique appliqué, à 1000 V (essai 13) et à 2 000 V (essai 14).

Les produits récupérés aux sorties S(1) à S(7) ont été lors des essais analysés par HPLC.

20

Les spectres HPLC des sorties S(1) à S(7) à 0V de l'essai 12 sont reportés dans la figure 19, ceux de l'essai 13 à 1000 V à la figure 20 et ceux de l'essai 14 à 2 000V à la figure 21.

Résultats

A 0 V, l'intégralité de l'échantillon est visible en S(4) correspondant à la sortie centrale de la puce, à savoir celle faisant face à l'entrée de l'échantillon E(3). Le système est donc stable.

5 A 1000 V, l'intégralité de l'échantillon est toujours visible en S(4), le voltage n'a pas été suffisant pour permettre une migration de l'un des composés. L'intensité du champ électrique a été donc augmentée.

A 2000 V, une migration partielle de l'ATP (premier pic) vers la S(3), tandis que l'AMP ne montre aucune migration vers les différentes sorties. Environ 40% de l'ATP est dévié vers la sortie S(3).

10 La séparation des biomolécules ATP/AMP a donc été vérifiée par ces essais, démontrant la preuve du concept.

Afin d'augmenter cette proportion de migration, le champ électrique dans la puce peut être augmenté. Toutefois une optimisation de la séparation est possible par modulation des paramètres, tels que la composition du tampon de séparation (pH, concentration et viscosité),
15 ainsi que le champ électrique optimal, et la position de l'entrée de l'échantillon et la préparation de l'échantillon.

Exemple 5 : Purification protéine / linker

20 Lors de ces essais 15, la puce KPLE-100-009 a été connectée à des débitmètres. Les entrées de la chambre d'électrophorèse E(1) et E(5) ont été alimentées par des électrodes liquides. L'anode liquide et la cathode liquide ont été de même composition. Les solutions des électrodes liquides ont été composée de HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v), méthanol à 40% et KCL 1,5M, et ont été introduites à un débit fixé à 20 μ L/min. Le champ électrique a été
25 généré dans le récipient des électrodes liquides grâce à une électrode de carbone. Ces électrodes liquides utilisées ont présenté un pH = 7,5 (ajusté par une solution de NaOH) et une conductivité = 86,66 mS/cm.

L'entrée centrale E(3) a été alimentée par l'échantillon à purifier, soit un mélange réactionnel issu de la réaction d'une protéine et d'un linker. Le débit en E(3) pour l'échantillon a été fixé à 10
30 μ L/min tout au long de la purification.

Pour les deux dernières entrées E(2) et E(4), une solution tampon (TS), composée de HEPES à 10mM, HPMC à 0,2%(m/v), Tween 20 à 0,1%(m/v) dans l'eau, a été introduite à un débit fixé à 80 µL/min. Le tampon de séparation a présenté un pH égal à 7,5 (ajusté par une solution de NaOH).

5 Le champ électrique appliqué a été de 1500 V.

Après stabilisation des écoulements, les produits en sortie de puce d'électrophorèse ont été récupérés dans des tubes afin de les analyser par HPLC et de déterminer le pourcentage de chaque composé à chaque sortie.

10 Les suivis hydrodynamiques réalisés permettent de montrer qu'il n'y a aucune migration vers les électrodes liquides d'un quelconque élément du système.

Seules les sorties de la chambre d'électrophorèse, soient les sorties S(2) à S(4) ont fait l'objet d'une analyse.

Le schéma de la figure 22 représente la migration des espèces selon l'analyse HPLC.

15 Les spectres HPLC des produits en sortie S(3) et S(4) sont représentés respectivement aux figures 23 et 24.

Les analyses montrent que 80% du linker sont déviés vers une autre sortie que la majorité de la protéine, seulement 10,43 % de la protéine est déviée vers la même sortie que le linker.

REVENDEICATIONS

1. Dispositif de microcellules d'électrophorèse à flux libre comprenant une succession verticale de plaques X, Y, Z dont les surfaces sont empilées selon la séquence $YZY(XYZY)_p$,

dans laquelle

- 5 X représente une plaque d'électrophorèse (1) en matériau inerte,
 Y représente une plaque étanche (2) en saphir ou en alumine Al_2O_3 à 99% d' α - Al_2O_3 ,
 Z représente une plaque de refroidissement (3) comprenant un système caloporteur (4),
 p nombre entier de 1 à 100, représente à la fois le nombre d'étages dudit dispositif et le nombre de plaques X

10 chaque étage (5) étant défini :

- par la séquence suivante de plaques $YZYXYZY$, dans laquelle :
- la plaque X est située entre deux plaques Y,
- chacune des deux plaques Z étant respectivement adjacentes à une plaque Y,
- et chacune des deux plaques Y situées aux extrémités de la séquence $YZYXYZY$, recouvre respectivement une plaque Z de façon à ce que chaque plaque Z soit située entre deux plaques Y,

15 ledit dispositif comprenant en outre des moyens de serrage de toutes les plaques permettant l'étanchéité dudit dispositif,

ledit dispositif étant tel que chaque plaque X comprend :

20 un nombre i de chambre(s) d'électrophorèse (F_i), i étant un entier de 1 à 100, en particulier 50, de préférence 10,

chaque chambre d'électrophorèse (6) comprenant :

- o une partie évidée
 - 25 ▪ en forme de parallélépipède rectangle de 4 faces latérales (a, b, c, d) et de 2 faces supérieure et inférieure (e, f),
 - ladite partie évidée étant de longueur Loe et de largeur Lae,
 - de hauteur h correspondant à l'épaisseur de la plaque d'électrophorèse X, de 25 μm à 20 mm, en particulier de 50 μm à 200 μm ou de 1,0 mm à 5,0 mm,
 - les faces latérales (a, b) étant parallèles entre elles, la face (a) étant délimitée par deux arêtes (A1, A2) de dimension Lae et la face (b) étant délimitée par deux arêtes (B1, B2) de dimension Lae,
 - 30 ▪ les faces latérales (c, d) étant parallèles entre elles, la face (c) étant délimitée par deux arêtes (C1, C2) de dimension Loe et la face (d) étant délimitée par deux arêtes (D1, D2) de dimension Loe,

- n entrées successives E(1), E(2) à E(n-1), En, n étant un entier de 4 à 9, de préférence 5 ou 6, réparties sur la face (a) entre A1 et A2 et alignées selon une direction parallèle à A1 et A2,
- 5 ○ m sorties successive de S(1), S(2) à S(m-1), S(m), m étant un entier de 4 à 12 , de préférence 5 ou 7, réparties sur la face (b) entre B1 et B2 et alignées selon une direction parallèle à B1 et B2, de façon à ce que S(1) fasse face à E(1) et S(m) fasse face à E(n) selon une direction parallèle à C1 et D1,

lesdites plaques Y assurant l'étanchéité de la chambre d'électrophorèse,

- 10 lesdites chambres (Fi) étant disposées de façon à ce que les arêtes C1 de chaque partie évidée soient parallèles entre elles,

ledit dispositif comprenant :

- des canaux d'approvisionnement configurés pour relier les entrées E(1) de chaque chambre électrophorèse à un circuit micro/ milli fluide d'approvisionnement d'une cathode liquide,
- 15 - des canaux d'approvisionnement configurés pour relier les entrées E(n) de chaque chambre électrophorèse à un circuit micro/ milli fluide d'approvisionnement d'une anode liquide,
- des canaux d'approvisionnement configurés pour relier au moins l'une des entrées E(2) à E(n-1) de chaque chambre électrophorèse à un circuit micro/ milli fluide d'approvisionnement
- 20 d'une solution initiale contenant un produit à purifier et/ou à séparer,
- des canaux d'approvisionnement configurés pour relier les autres entrées restantes de chaque chambre électrophorèse à des circuits micro/ milli fluidiques d'approvisionnement d'au moins une solution tampon,
- des canaux de récupération configurés pour relier chacune des sorties S(1) à S(m) de chaque
- 25 chambre d'électrophorèse à des circuits micro/ milli fluidiques de récupération,

ledit dispositif étant configuré pour, en présence d'un champ électrique généré entre la cathode liquide et l'anode liquide parallèlement à A1 et perpendiculairement à C1, et en fonctionnement

- faire circuler la cathode liquide de l'entrée E(1) à la sortie S(1),
- 30 - faire circuler l'anode liquide de l'entrée E(n) à la sortie S(m),
- faire circuler dans la chambre d'électrophorèse (Fi), entre la cathode liquide et l'anode liquide, des entrées E(2) à E(n-1) aux sorties S(2) à S(m-1), la solution contenant le produit à séparer et/ou à purifier et au moins une solution tampon,

- récupérer à l'une des sorties S(2) à S(m-1) de chaque chambre d'électrophorèse dans un circuit de récupération le produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution initiale.
2. Dispositif selon la revendication 1, comprenant des canaux de récupération configurés pour
- 5 relier :
- la sortie S(1) de chaque chambre d'électrophorèse à un circuit micro/millifluidique de récupération de la cathode liquide,
 - la sortie S(m) de chaque chambre d'électrophorèse à un circuit micro/millifluidique de
- 10 récupération de l'anode liquide,
- l'une des sorties S(2) à S(m-1) de chaque chambre d'électrophorèse à un circuit micro/millifluidique de récupération du produit purifié et/ou séparé contenu dans ladite solution initiale
 - les autres sorties restantes de chaque chambre d'électrophorèse à au moins un circuit micro/millifluidique de récupération de la au moins une solution tampon.
- 15
3. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 2, dans lequel p est égal à 1 et i est égal à 1, comprenant une plaque d'électrophorèse unique comportant une chambre d'électrophorèse unique, en particulier de hauteur h de 25 à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm.
- 20
4. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 2, dans lequel p est égal à 1 et i varie de 2 à 10, comprenant une plaque d'électrophorèse unique X comportant de 2 à 10 chambres d'électrophorèse, de préférence 10 chambres d'électrophorèse.
5. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 2, dans lequel p varie de 2 à 10 et i varie de 2 à
- 25 10, comprenant de 2 à 10 plaques d'électrophorèse X et chaque plaque d'électrophorèse X comportant de 2 à 10 chambres d'électrophorèse, en particulier p est égal à 10 et i est égal à 10.
6. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 5, dans lequel la hauteur h de la chambre
- 30 d'électrophorèse est de 650 μm à 20 mm, en particulier de 650 μm à 10,0 mm, de préférence de 650 à 5,0 mm, préférentiellement de 650 μm à 2,0 mm, ou dans lequel la hauteur h de la chambre d'électrophorèse est de 25 μm à 200 μm ou de 1,0 à 5,0 mm.

7. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 6, dans lequel les i chambres d'électrophorèse de chaque plaque X sont adjacentes les unes aux autres par les faces (c) ou (d) de chaque partie évidée
et/ou dans lequel la largeur L_{ae} de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse est de 1,0 à 8,0 cm, de préférence de 1,0 à 5,0 cm,
5 et/ou dans lequel la longueur L_{oe} de la partie évidée de la chambre d'électrophorèse est de 5,0 à 20,0 cm, de préférence de 5,0 à 15,0 cm.
8. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 7, dans lequel les plaques d'électrophorèse X
10 sont en matériau choisi parmi polytétrafluoroéthylène (PTFE), perfluoroalkoxy (PFA) et fluoroéthylène propylène (FEP), en particulier des plaques de TéflonTM, TéflonTM-PFA et TéflonTM-FEP.
9. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 8, dans lequel dans chaque plaque
15 d'électrophorèse X une partie de ladite plaque est configurée pour laisser place à un circuit fluide de canaux d'approvisionnement et de récupération, lequel est partiellement ou totalement gravé, découpé ou percé dans la plaque X.
10. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 9, dans lequel les plaques X, Y, Z sont des
20 parallélépipèdes rectangles et présentent une largeur L_a et une longueur L_o , dans laquelle L_a et L_o varient de 2,0 à 50,0 cm,
et dans lequel les plaques Y présentent une épaisseur de 0,5 mm à 5,0 mm,
et dans lequel les plaques de refroidissement Z présentent une épaisseur de 1,0 à 10,0 mm,
en particulier de 1,0 à 5,0 mm.
25
11. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 10, dans lequel les chambres d'électrophorèse comprennent des moyens de canalisation débouchant sur les entrées et/ou sur les sorties, de préférence gravés dans la plaque d'électrophorèse X.
- 30 12. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 11, dans lequel chaque chambre d'électrophorèse est configurée pour contenir chacune au moins une membrane de perméabilité sélective, de préférence sélective en tailles, positionnée de manière à être traversée par la solution contenant le produit à séparer ou à purifier lors du fonctionnement du dispositif,

- et/ou dans lequel la face supérieure et/ou la face inférieure de chacune des chambres d'électrophorèse comprend des protubérances configurées pour ne pas perturber, lors du fonctionnement du dispositif, la circulation dans la chambre du produit à purifier et/ou à séparer, et configurées pour améliorer le transfert de chaleur et pour maintenir les chambres d'électrophorèse à une température sélectionnée,
- 5 en particulier dans lequel lesdites protubérances sont en matériaux conducteur thermique, de préférence en saphir ou en alumine $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ à 99%.
13. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 12, dans lequel ledit système caloporteur (4) est un réseau de canalisation configuré pour permettre la circulation d'un ou de plusieurs fluides caloporteurs, ledit réseau étant mis en contact direct avec une partie des plaques Y adjacentes à Z, la susdite partie étant reliée thermiquement aux chambres d'électrophorèse, afin de permettre le contrôle de la température dans lesdites chambres d'électrophorèse,
- 10 en particulier dans lequel ledit réseau de canalisation du système caloporteur est configuré pour générer un gradient de température dans chacune des chambres d'électrophorèse, de préférence dans lequel ledit réseau de canalisation du système caloporteur comprend, pour chacune des chambres d'électrophorèse, des canaux parallèles à l'arête C1, lesdits canaux pouvant contenir des fluides caloporteurs de différentes températures afin de générer ledit gradient de températures.
- 15
- 20
14. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 13, dans lequel les moyens de serrage pour assurer l'étanchéité dudit dispositif comprenant deux plaques de serrages externes enserrant ledit dispositif, lesdits moyens étant démontables, en particulier plaque par plaque.
- 25
15. Procédé de purification et/ou de séparation par électrophorèse à flux libre, d'un produit contenu dans une solution par mise en œuvre d'un dispositif de microcellules d'électrophorèse selon l'une des revendications 1 à 14, et comprenant les étapes suivantes :
- 30
- relier les canaux d'approvisionnement dudit dispositif aux circuits d'approvisionnement de la cathode liquide, de l'anode liquide, d'une solution initiale contenant un produit à purifier et/ou à séparer, et au moins une solution tampon, lesdits canaux et circuits étant contrôlés par une unité centrale (UC1)
 - relier les systèmes de refroidissement à un circuit de refroidissement, contrôlé par une unité centrale (UC2)

- générer un champ électrique le long des arêtes A1, par l'intermédiaire de l'anode liquide et de la cathode liquide,
 - générer une circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, par l'unité centrale (UC1), de façon à :
 - 5 o faire circuler une cathode liquide de l'entrée E(1) à la sortie S(1),
 - o faire circuler une anode liquide de l'entrée E(n) à la sortie E(m),
 - o faire circuler dans la chambre d'électrophorèse, entre la cathode liquide et l'anode liquide, la solution initiale contenant le produit à purifier et/ou à séparer et ladite au moins une solution tampon, des entrées E(2) à E(n-1) aux sorties S(2) et S(m-1),
 - 10 - sélectionner et récupérer dans l'une au moins des sorties S(2) à S(m-1), de chacune des chambres d'électrophorèse dudit dispositif, le produit séparé ou purifié.
16. Procédé selon la revendication 15, dans lequel ledit procédé est mis en œuvre sous flux continu de la solution initiale contenant le produit à purifier et/ou à séparer,
- 15 en particulier à un débit de 1 à 5 L/heure, en particulier ledit dispositif comprenant 100 chambres d'électrophorèse, de préférence en fonctionnement 300 jours/an.
17. Procédé selon l'une des revendications 15 à 16, dans lequel la cathode liquide et l'anode
- 20 liquide sont des solutions électrolytiques de même composition.
18. Procédé selon l'une des revendications 15 à 17, dans lequel ladite circulation fluide de la cathode liquide dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$,
- 25 et/ou dans lequel ladite circulation fluide de l'anode liquide dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 10 000 $\mu\text{L}/\text{min}$,
- et/ou dans lequel ladite circulation fluide de la solution à purifier et/ou à séparer dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en
- 30 œuvre à un débit de 10 à 30 000 $\mu\text{L}/\text{min}$,
- et/ou dans lequel ladite circulation fluide de la solution tampon dans chacune des chambres d'électrophorèse, contrôlée par l'unité centrale (UC1), est mise en œuvre à un débit de 10 à 50 000 $\mu\text{L}/\text{min}$.
- 35 19. Procédé selon l'une des revendications 15 à 17,

- dans lequel ledit dispositif comprend au moins 100 chambres d'électrophorèse positionnées en parallèle,
et/ou dans lequel ledit dispositif comprend dans chaque chambre d'électrophorèse au moins une membrane sélective en tailles, configurée pour séparer le produit à purifier et/ou à séparer
5 de la solution initiale lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse,
et/ou dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, une variation de pH le long de l'arête A1 dans chaque chambre d'électrophorèse est générée, à l'aide d'au moins deux tampons de pH différent,
10 et/ou dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, un gradient de température le long de l'arête A1 de la partie évidée est appliqué dans chaque chambre d'électrophorèse.
20. Procédé selon l'une des revendications 15 à 19, dans lequel lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, une température homogène, en particulier de 10°C à 40°C, est appliquée dans chacune des chambres d'électrophorèse,
15 et/ou dans lequel, lors de la circulation fluide dans chacune des chambres d'électrophorèse, le champ électrique généré est de 200V à 4 000 V.
- 20 21. Procédé selon l'une des revendications 15 à 20, mis en œuvre pour purifier et/ou séparer une protéine ou mis en œuvre pour purifier et/ou séparer des isomères, en particulier des énantiomères.
22. Méthode de mise au point d'un dispositif industriel de purification et/ou de séparation d'une
25 solution comprenant le produit à purifier et/ou à séparer par électrophorèse comprenant les étapes suivantes :
- a) une première étape d'étude mettant en œuvre un dispositif selon la revendication 3 comprenant une seule chambre d'électrophorèse, en particulier dont la hauteur h de la partie évidée est de 25 à 200 μm ou de 1,0 à 2,0 mm, pour déterminer et optimiser la
30 circulation fluide du produit à purifier et/ou à séparer,
- b) une deuxième étape de mise en place dudit dispositif industriel selon l'une des revendications 4 ou 5 comprenant de 10 à 100 chambres d'électrophorèse.

Figure 1

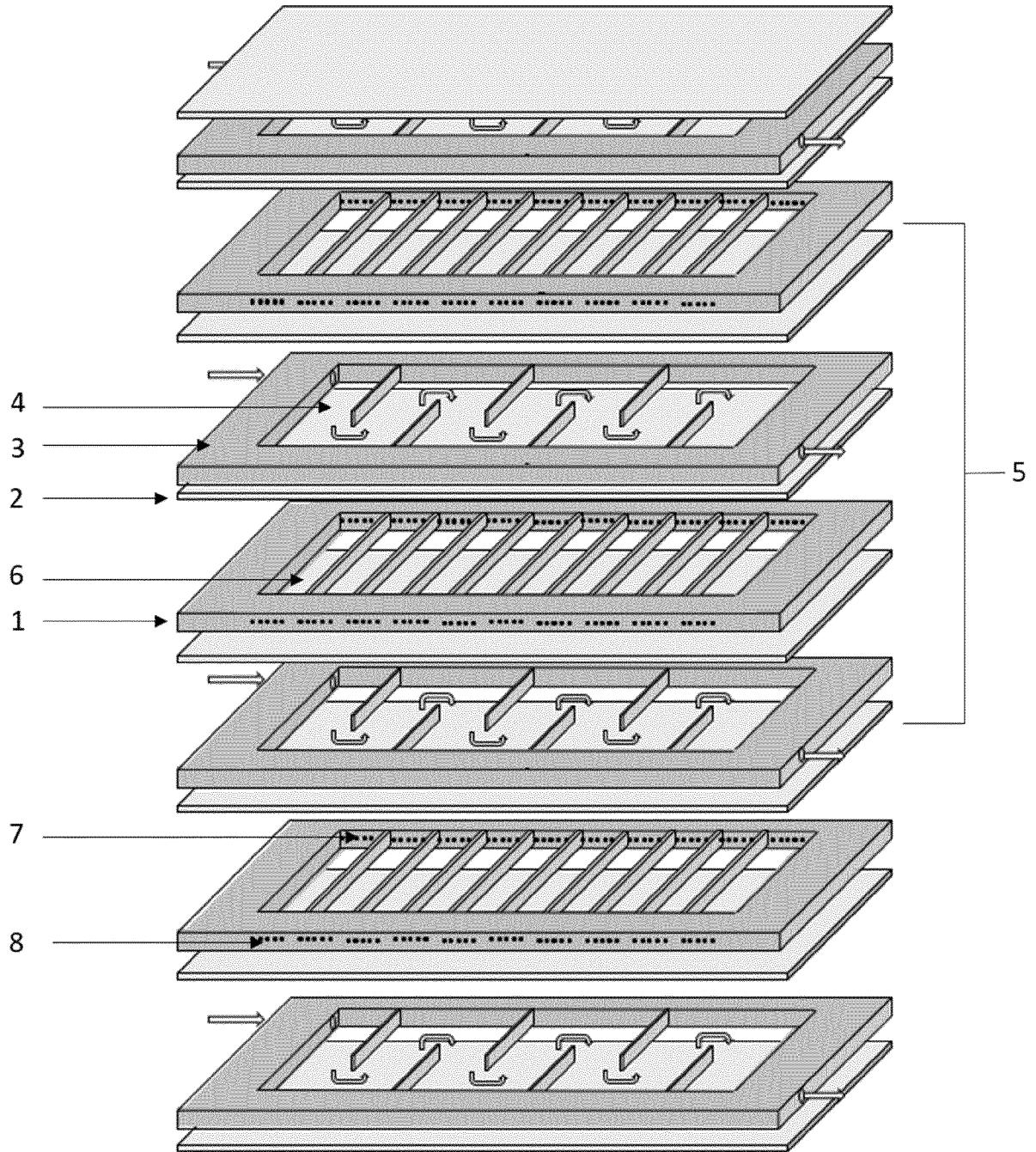


Figure 2

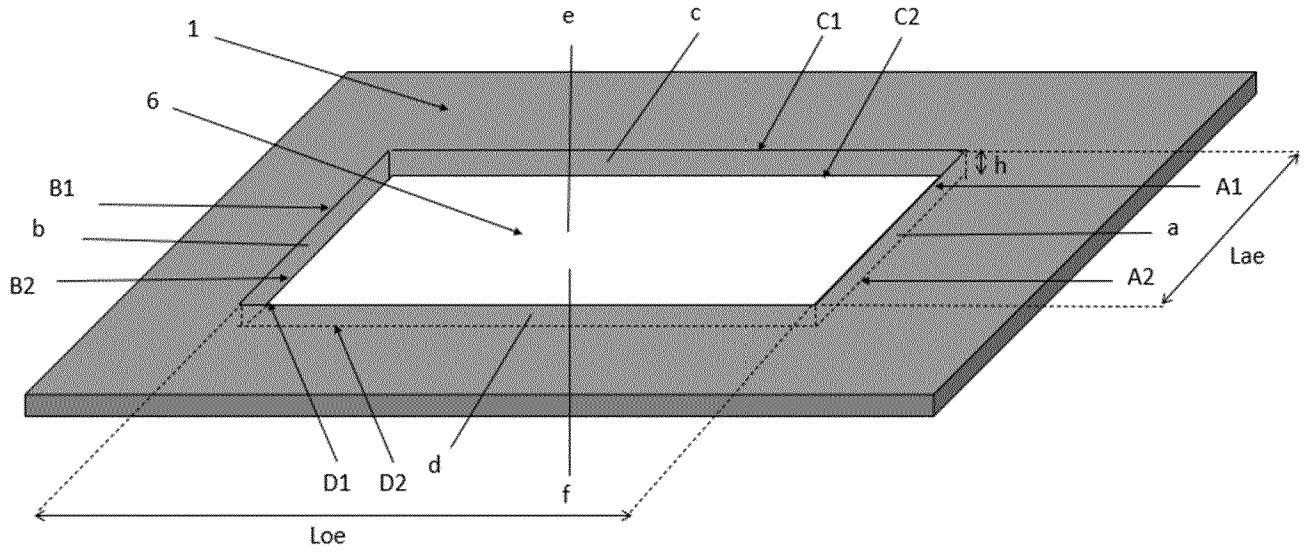


Figure 3

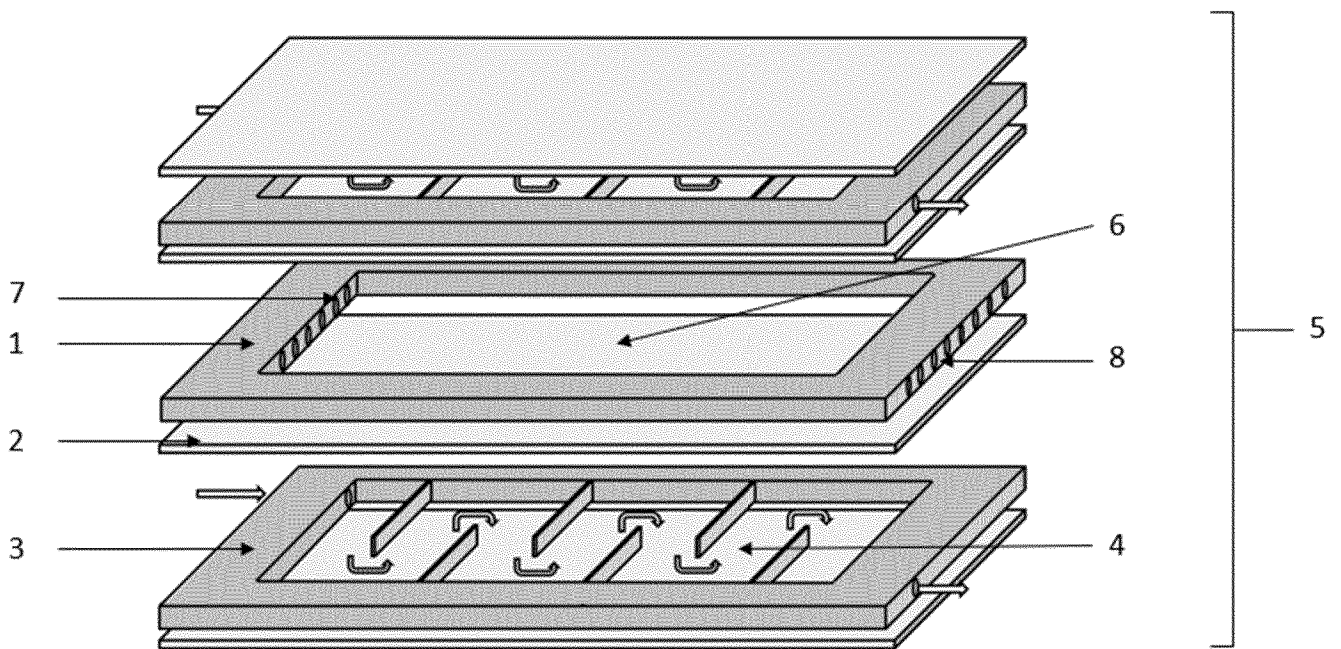


Figure 4

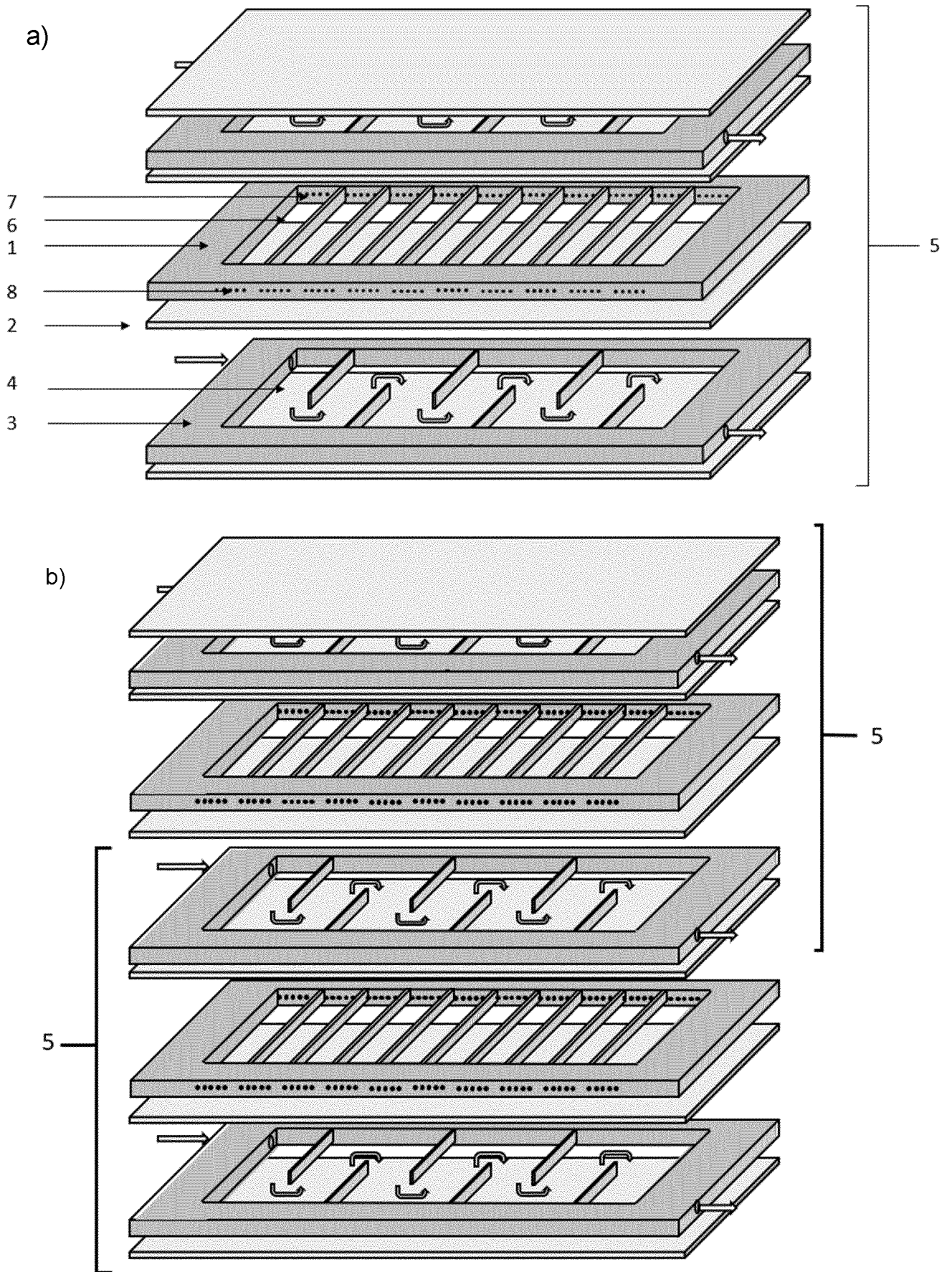
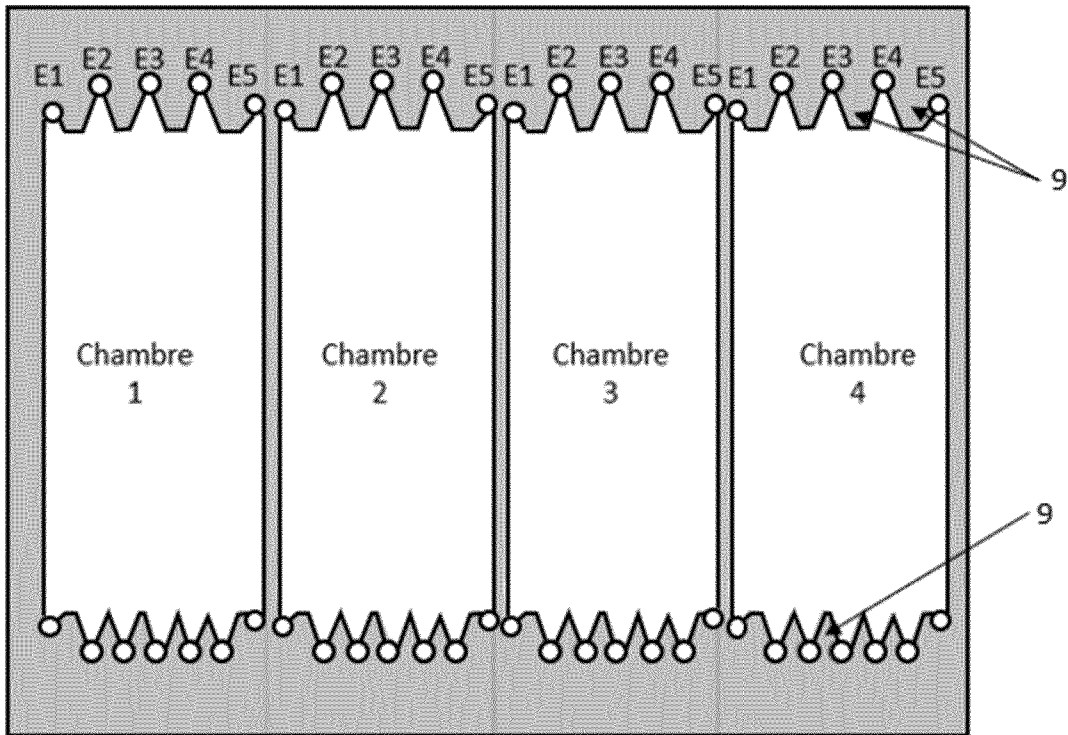


Figure 5

(a)



(b)

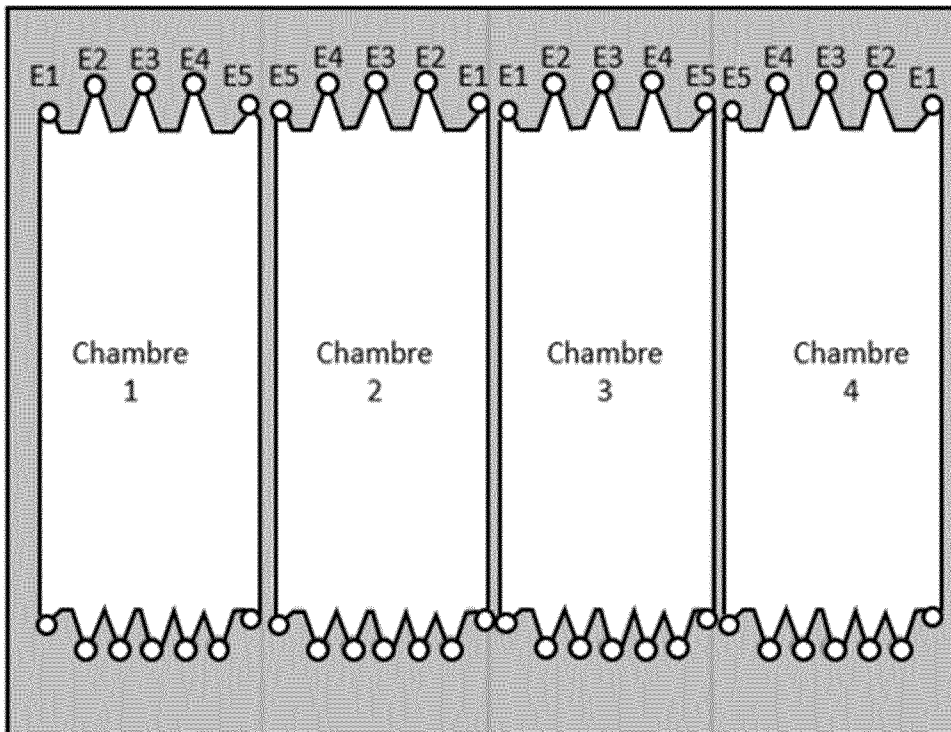
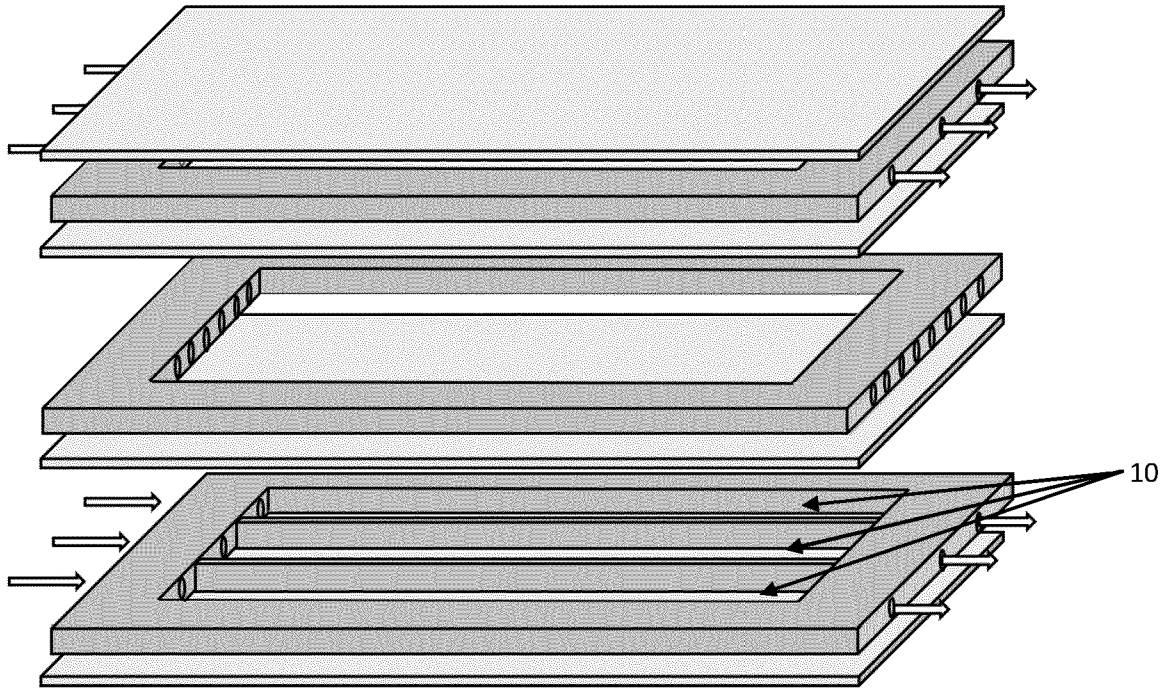


Figure 6

a)



b)

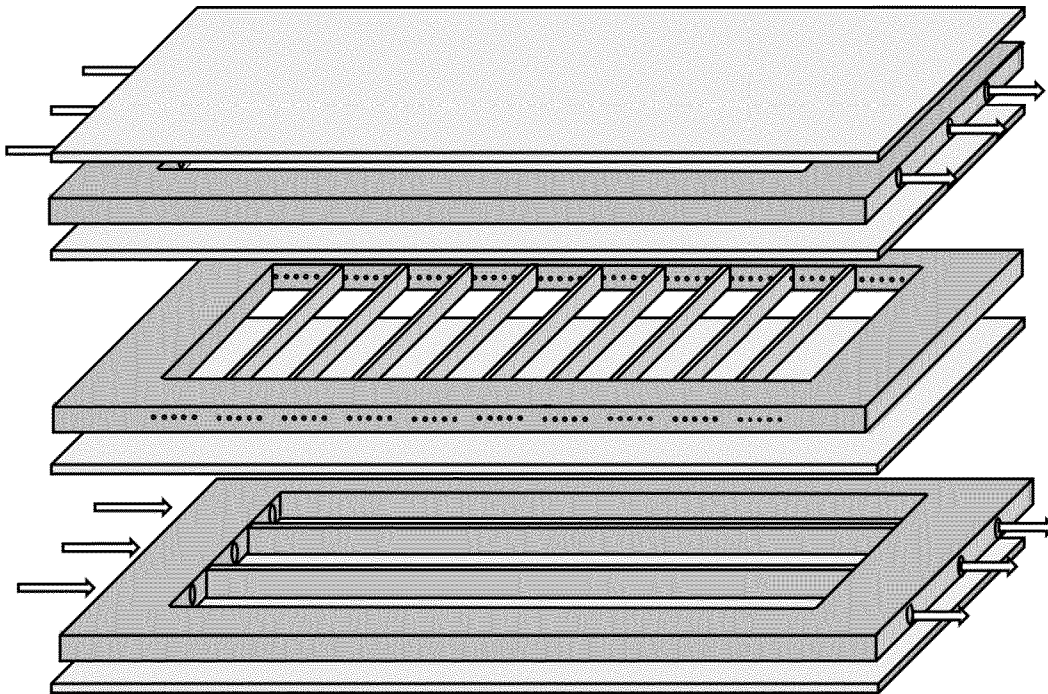


Figure 7

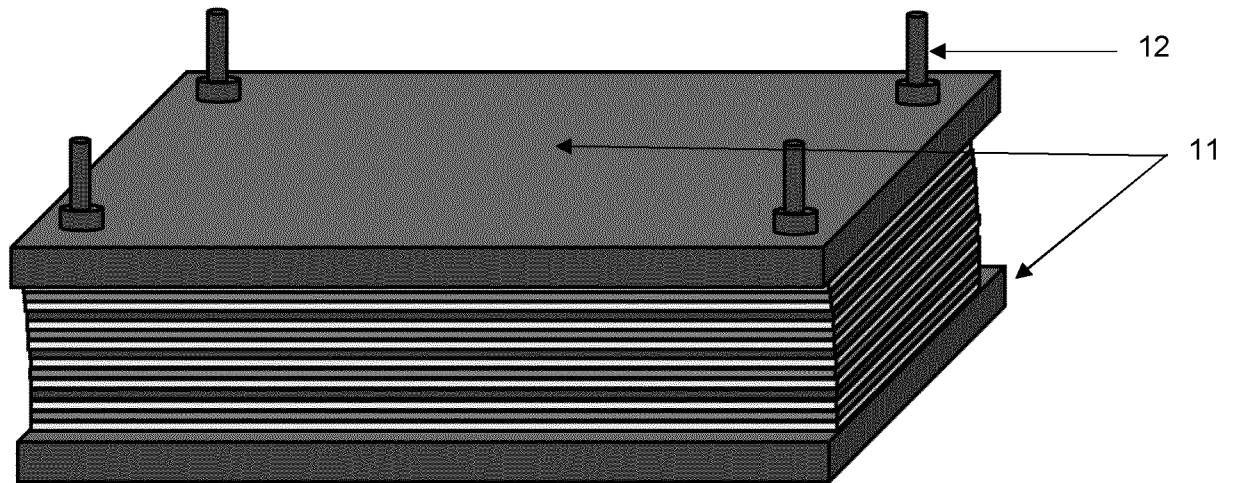
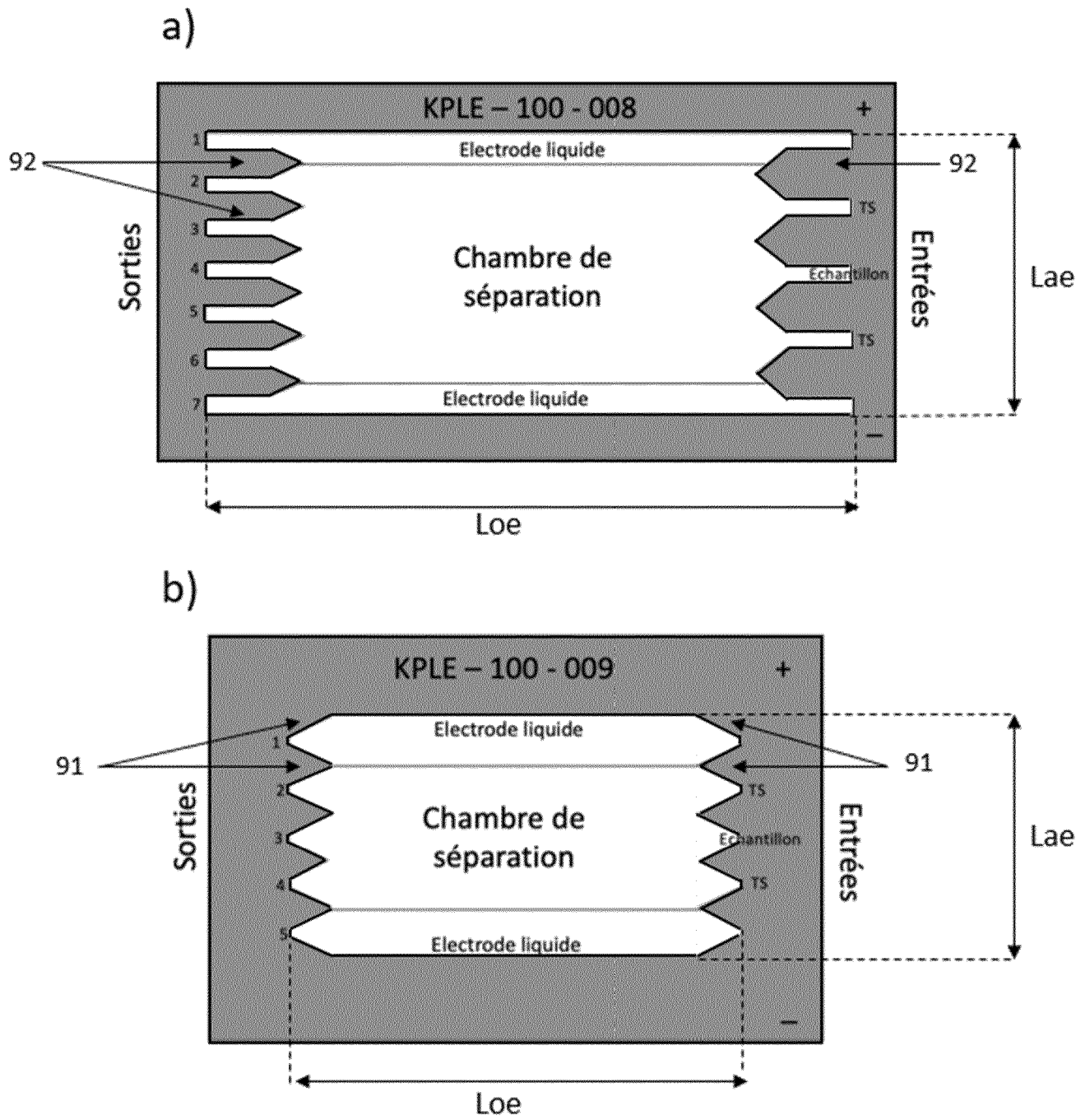
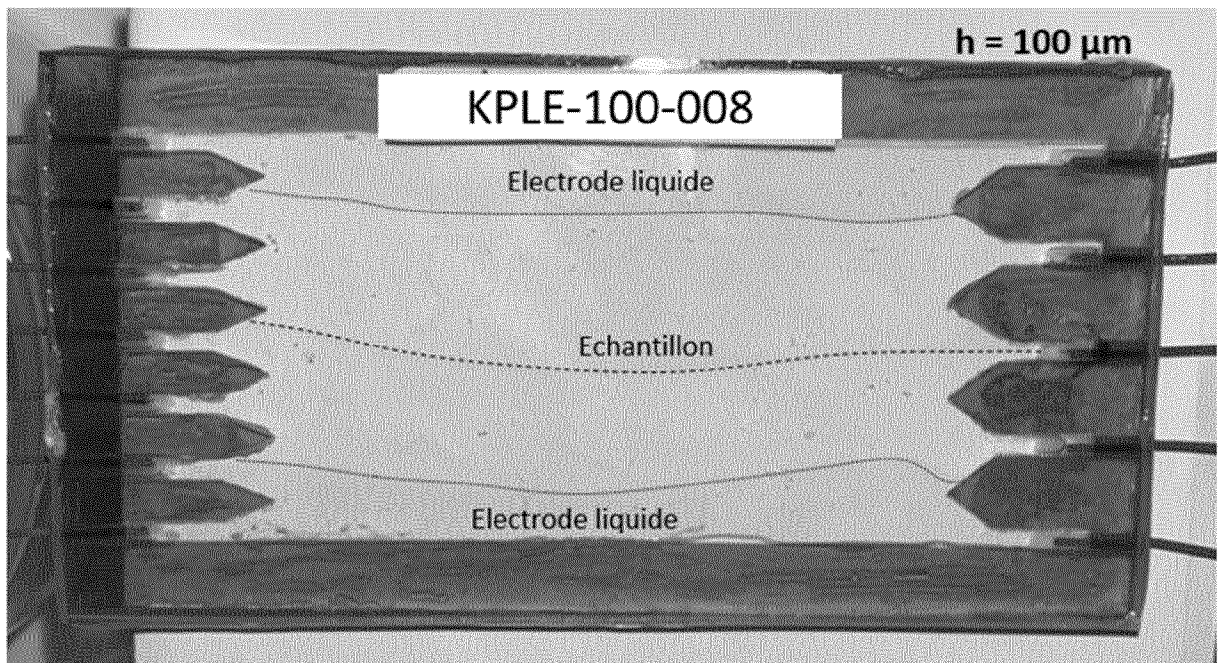


Figure 8



8/20

Figure 9



9/20

Figure10

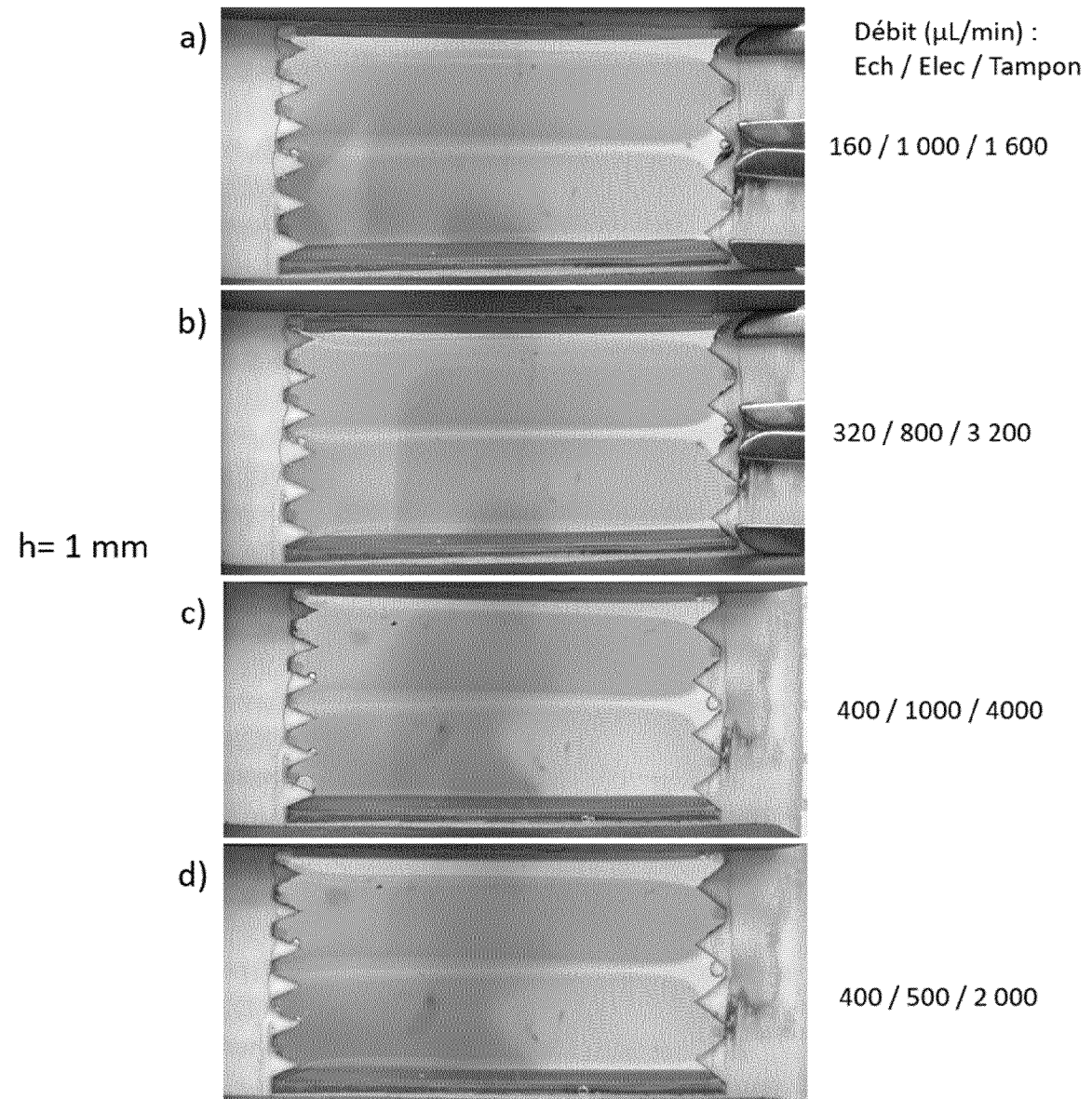


Figure 11

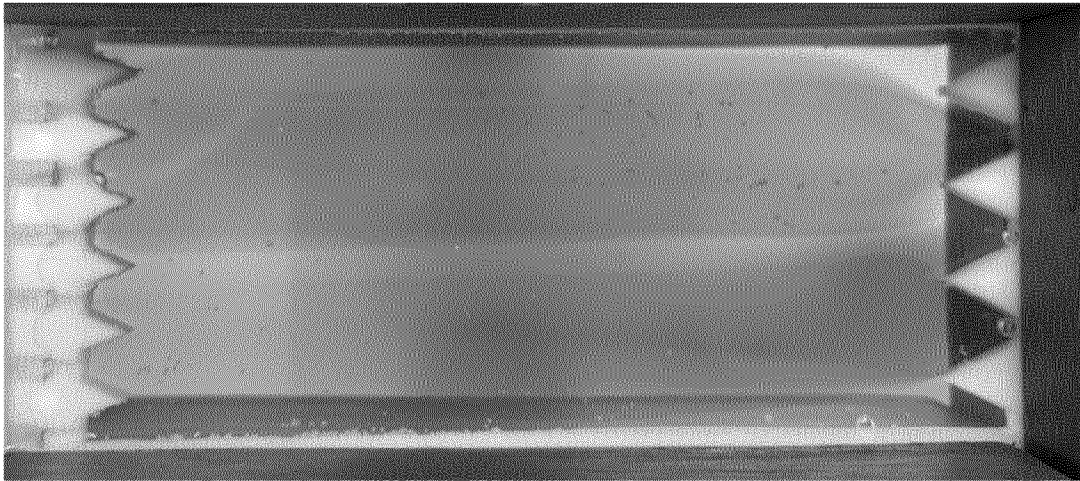


Figure 12

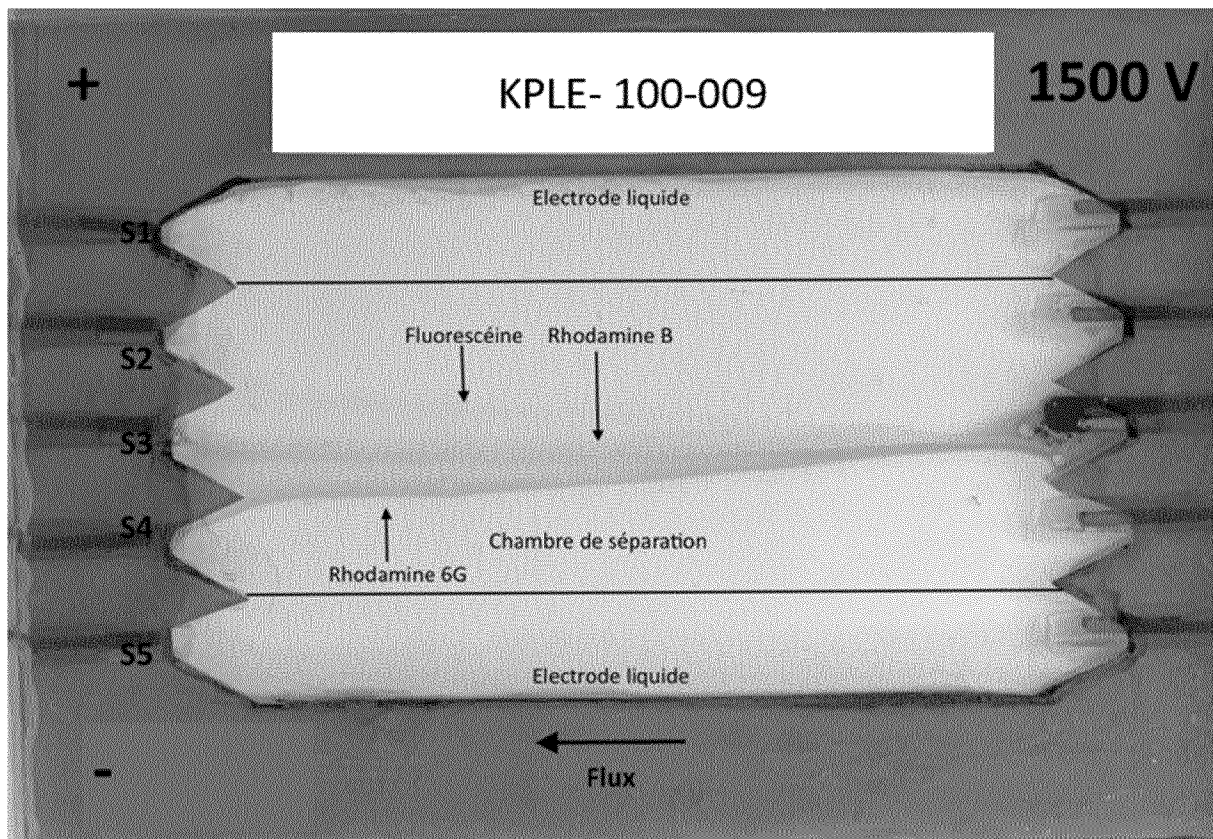


Figure 13

Spectres HPLC des sorties S(2), S(3) et S(4)

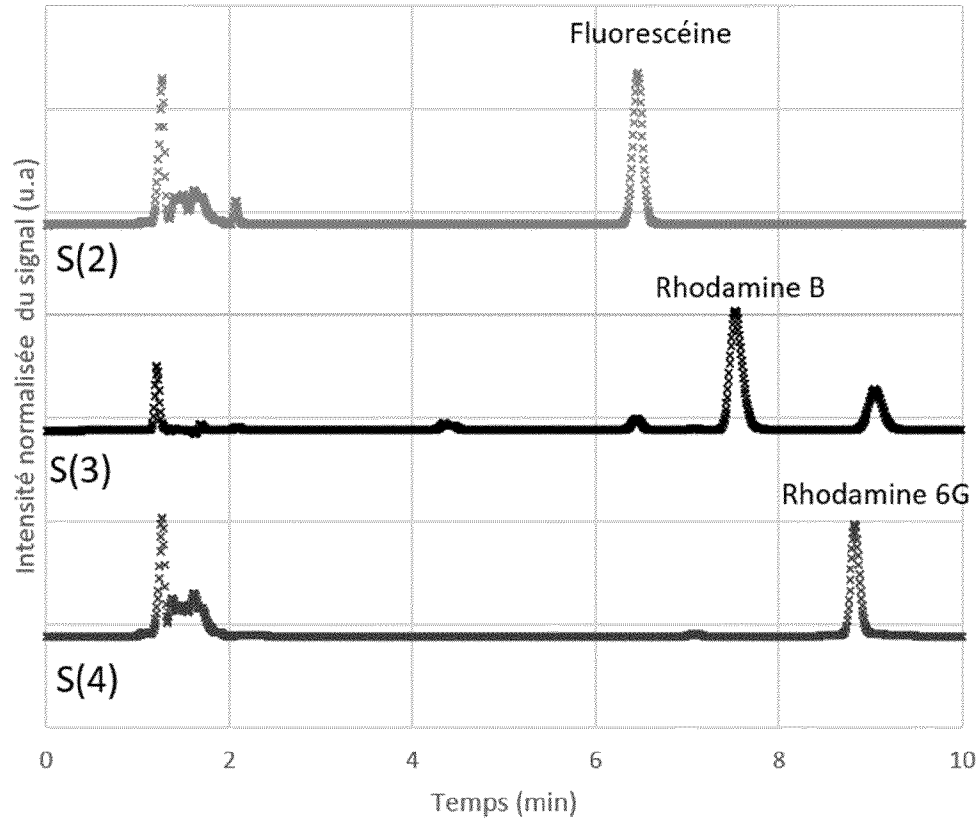
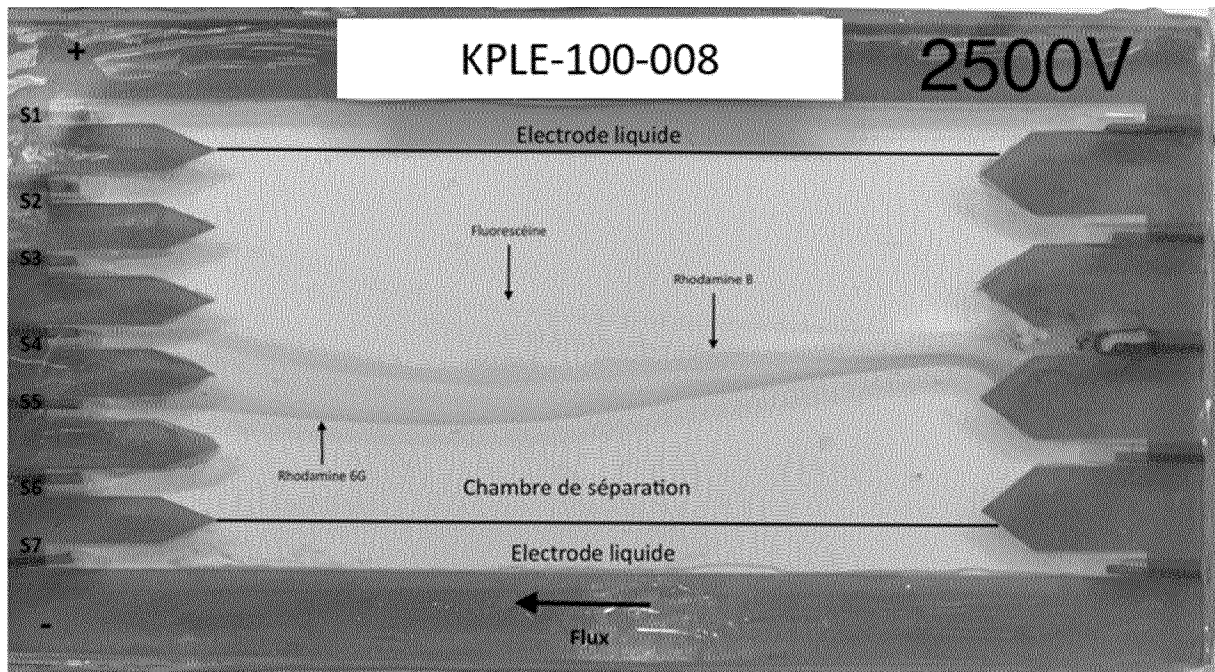


Figure 14



13/20

Figure 15

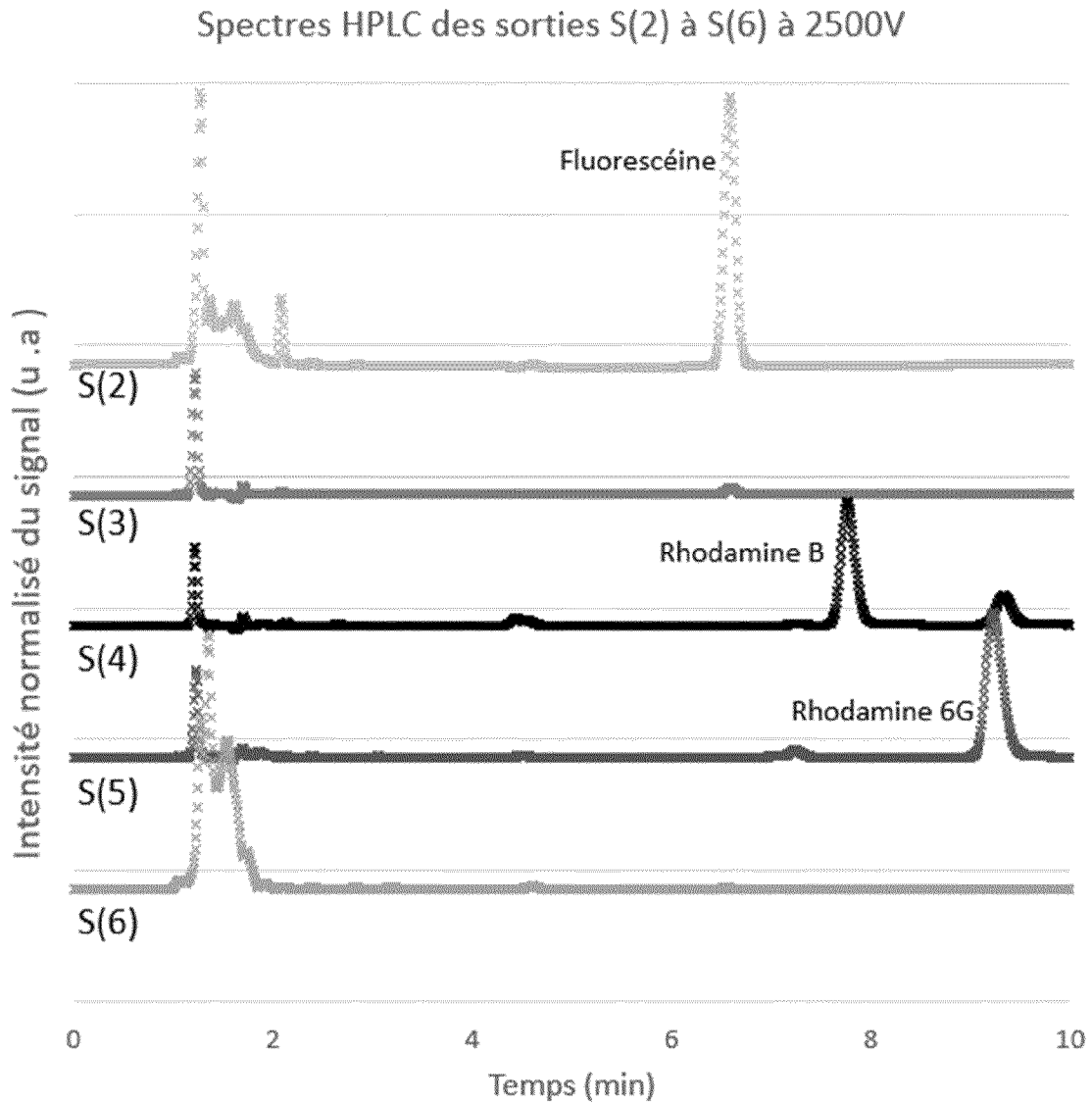
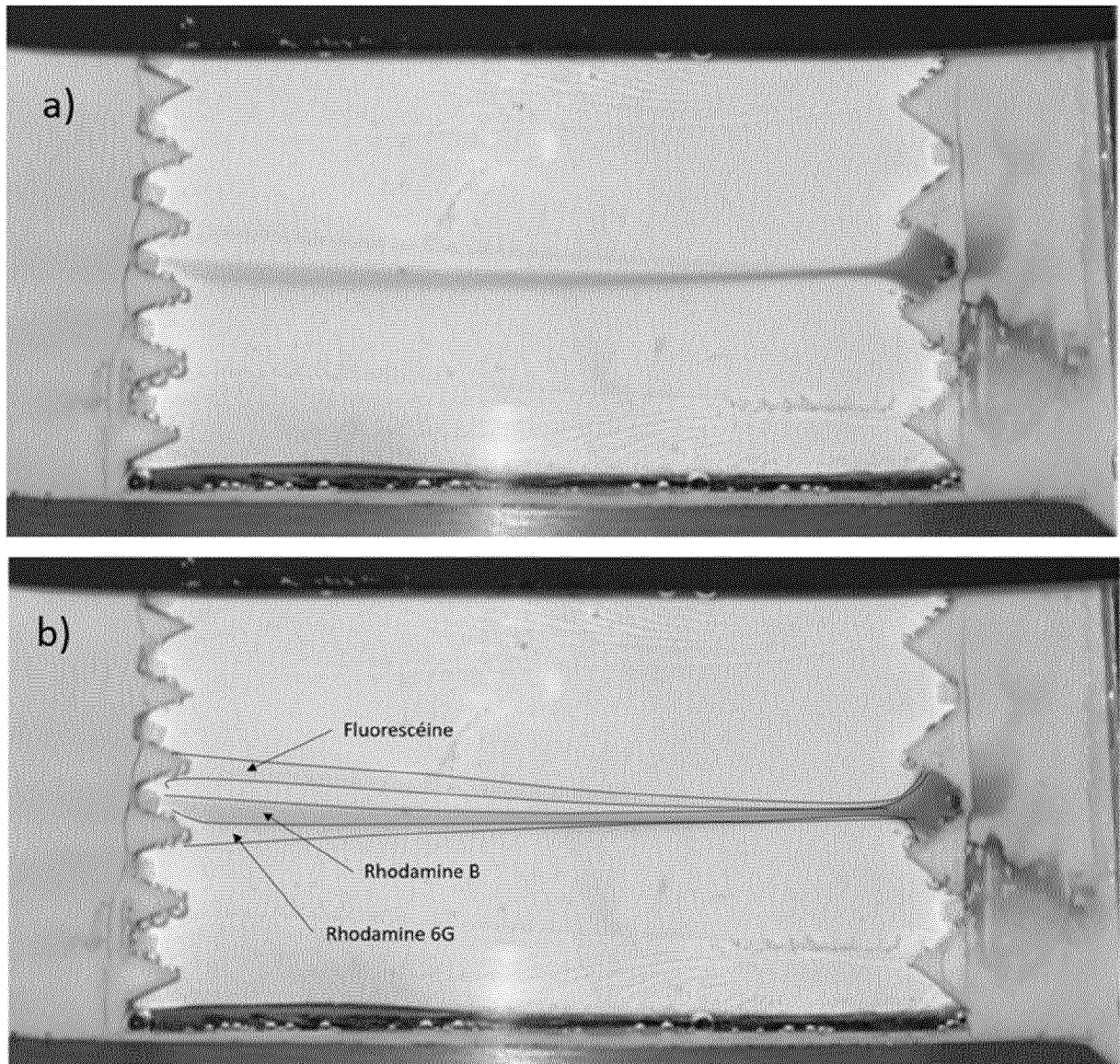


Figure 16



5

10

Figure 17

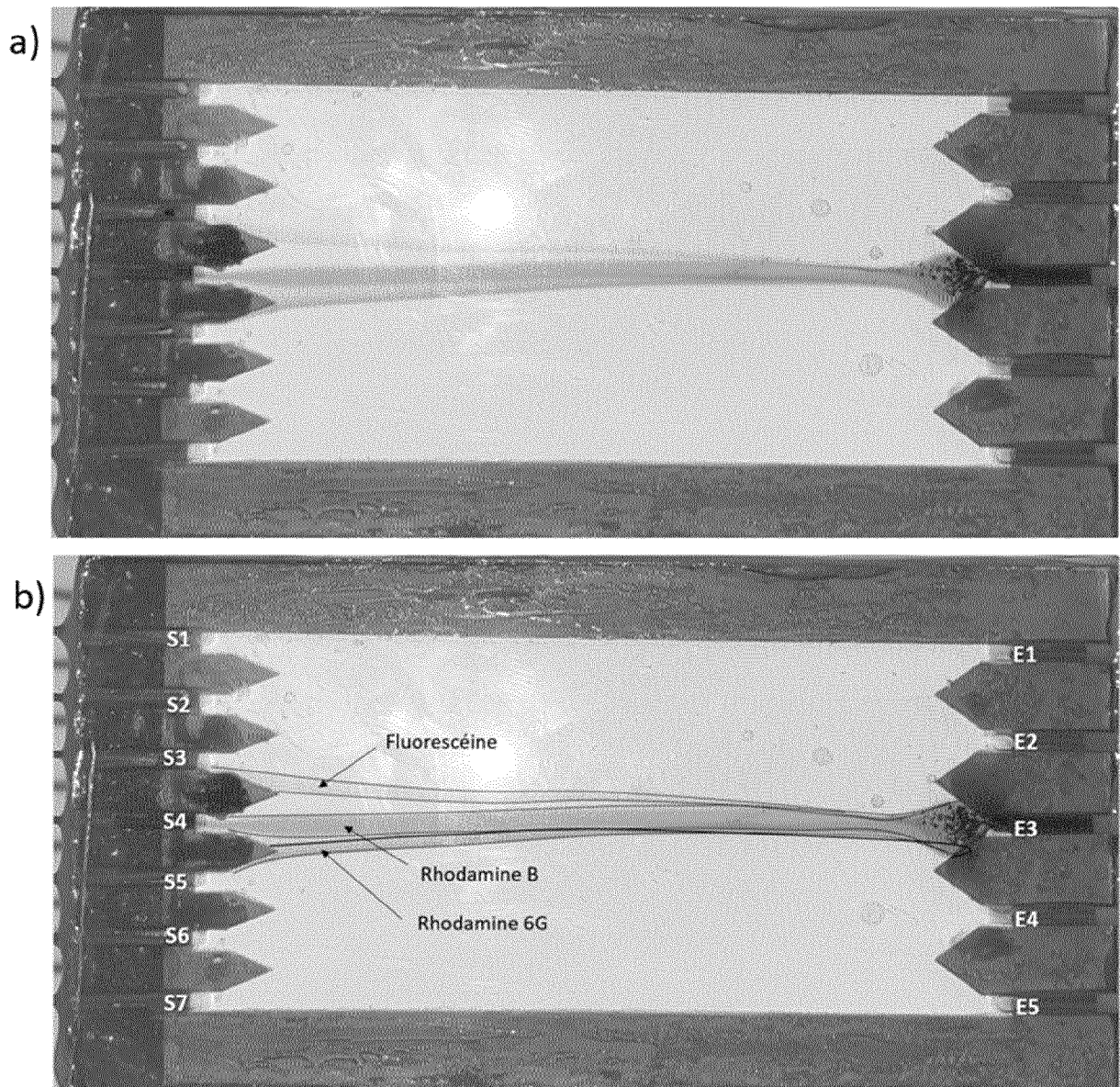
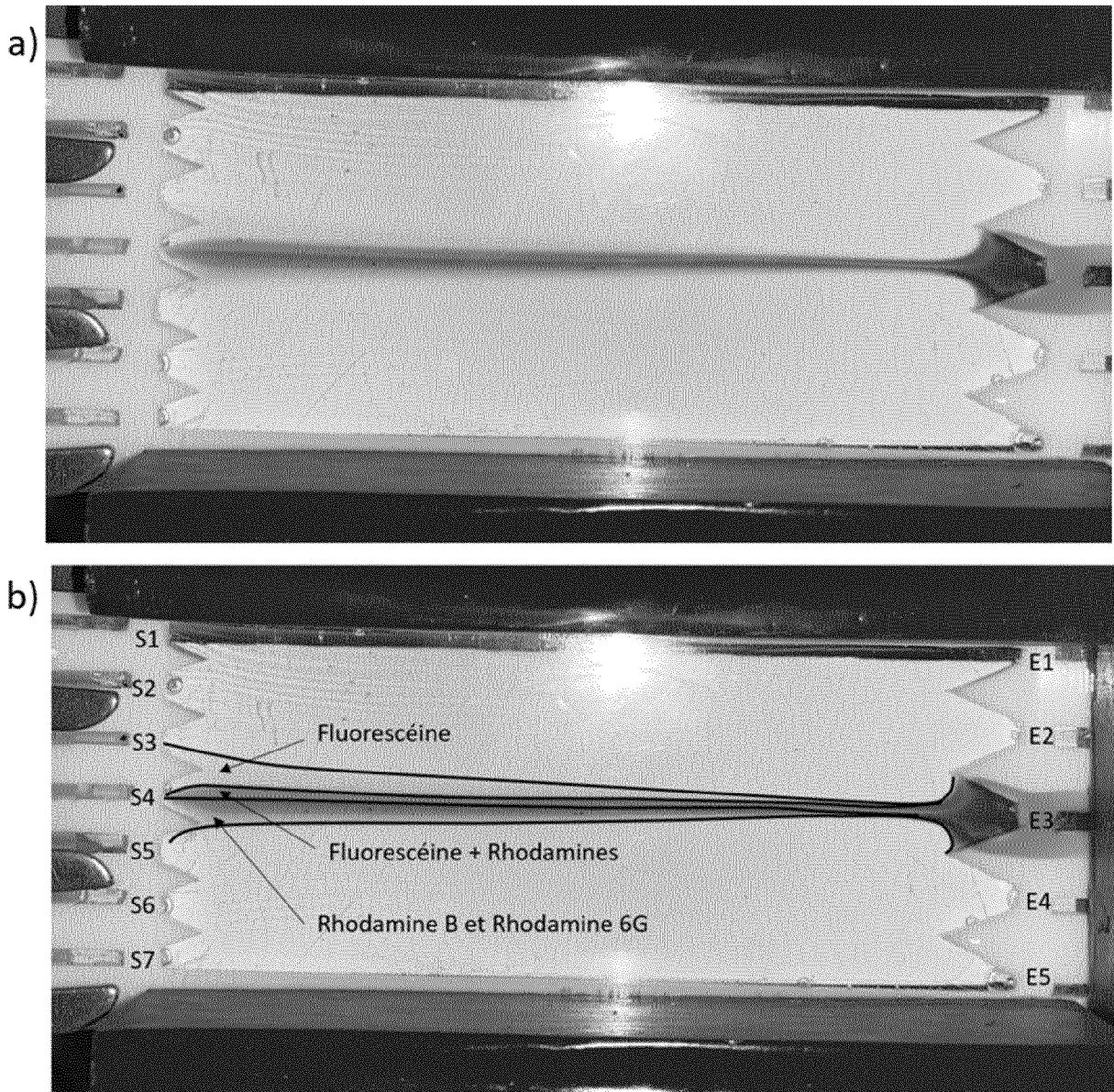


Figure 18



5

10

17/20

Figure 19

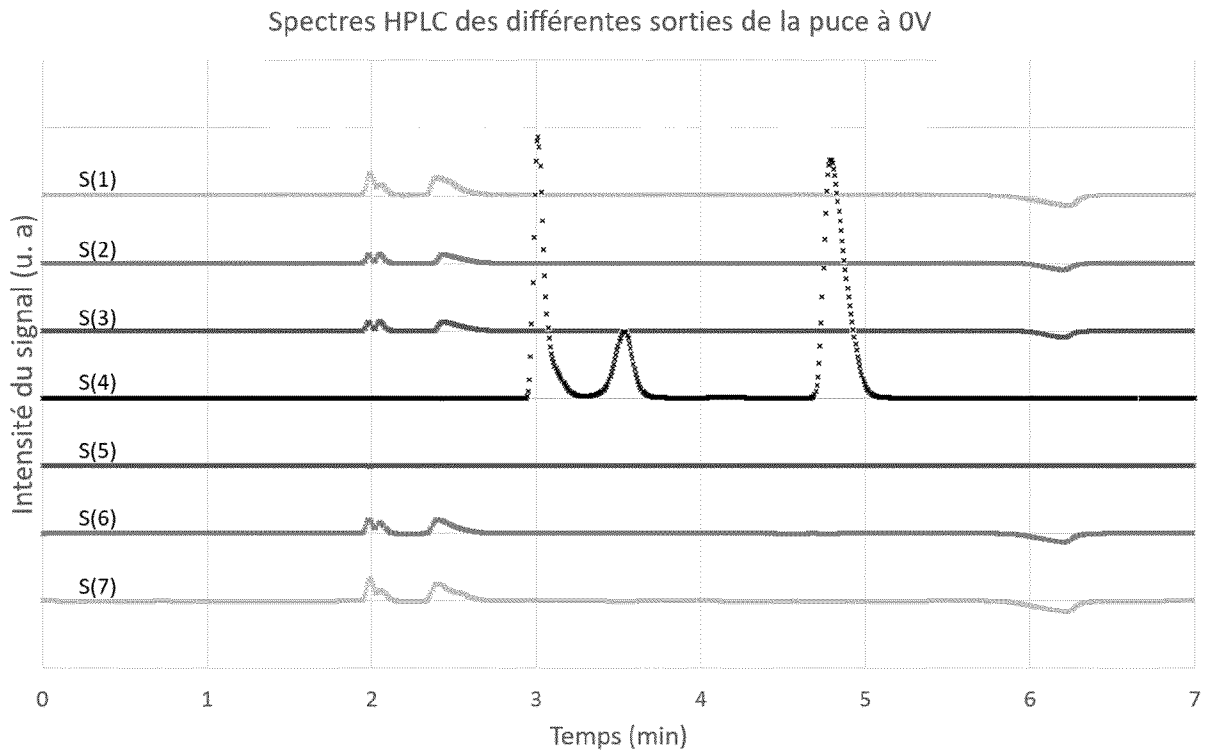


Figure 20

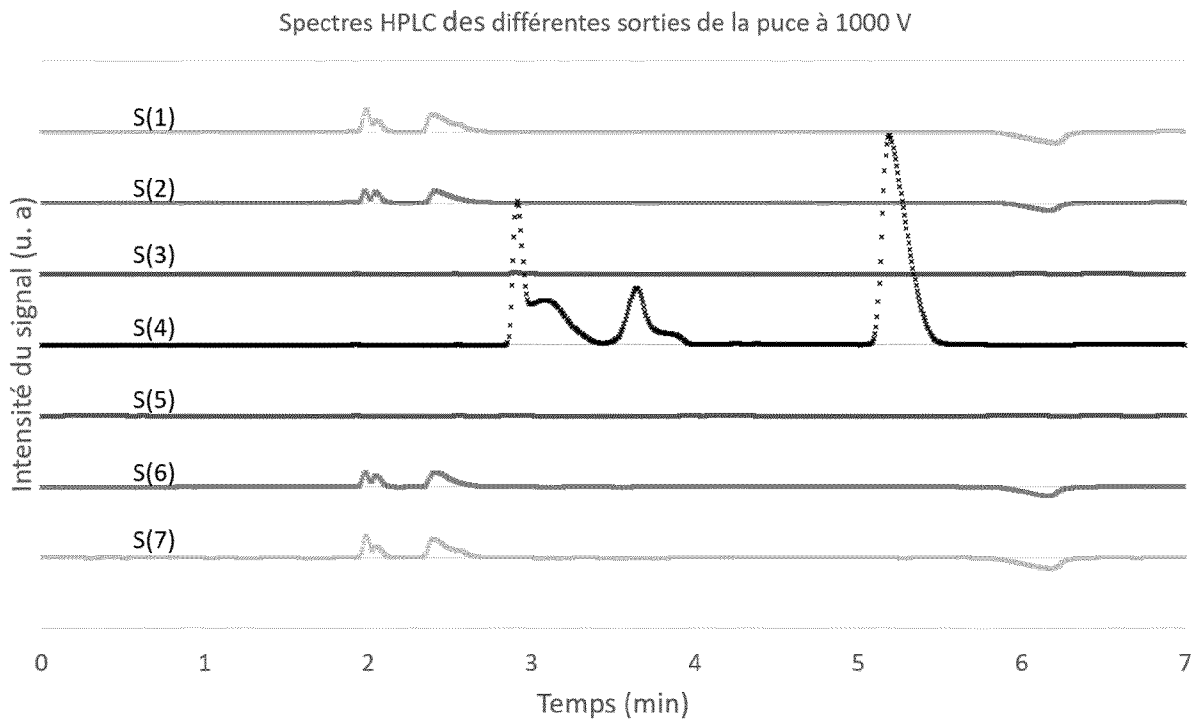


Figure 21

Spectres HPLC des différentes sorties de la puce à 2000 V

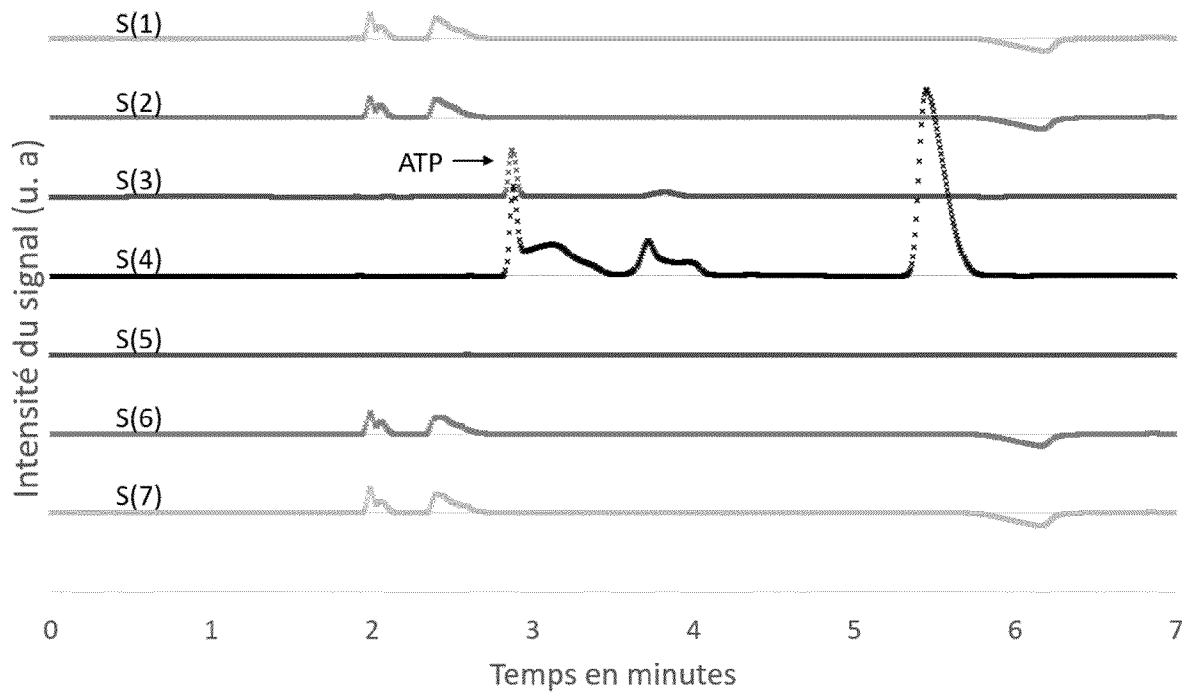


Figure 22

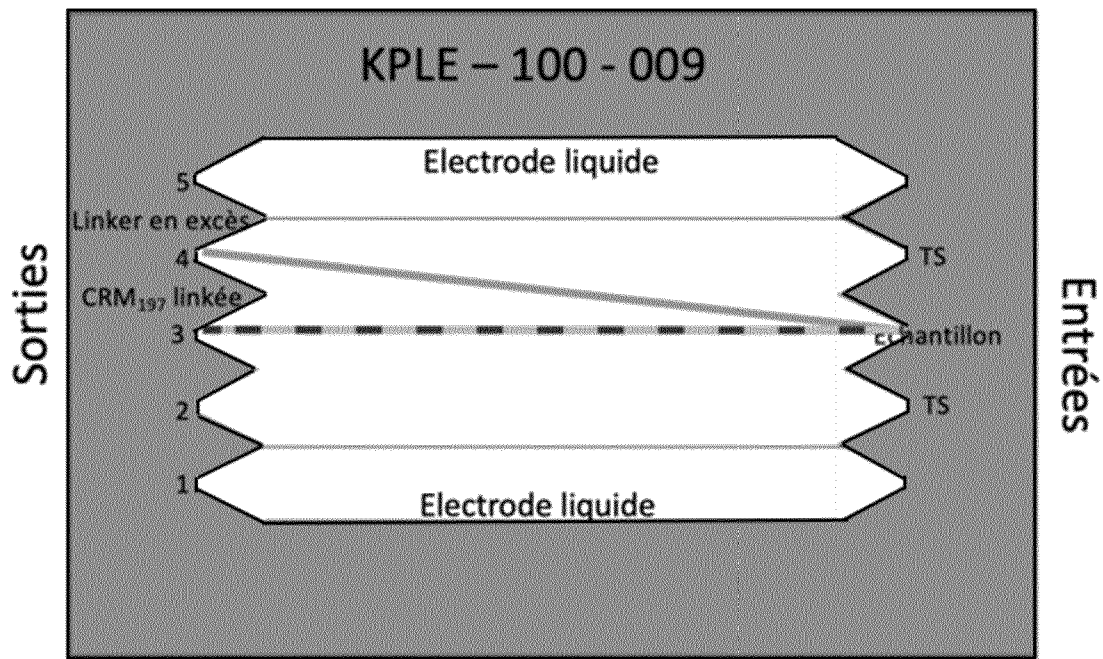


Figure 23

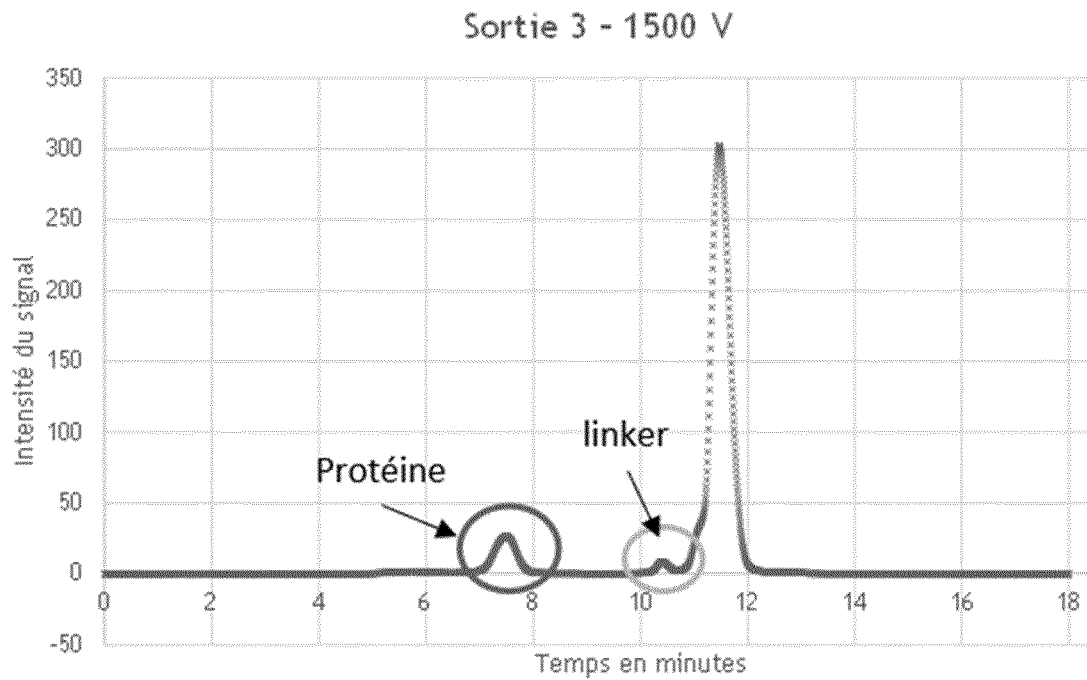
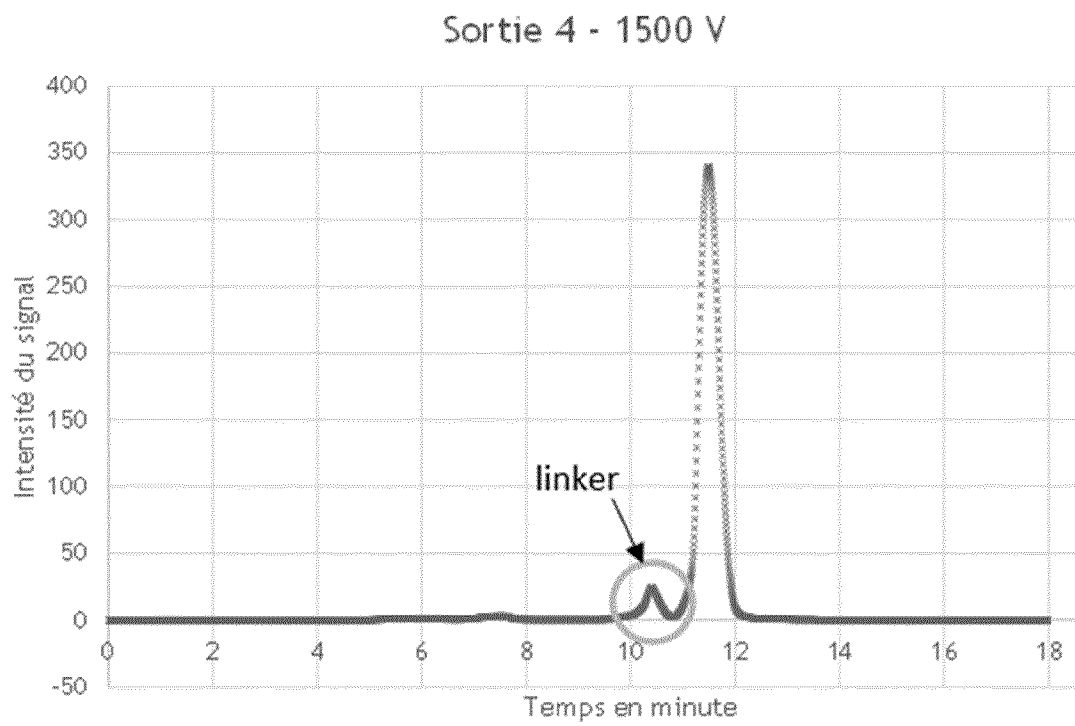


Figure 24



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2024/066202

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N 27/447 (2006.01)i		
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) 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 practicable, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020240951 A1 (DELMARCELLE MICHAËL [BE] ET AL) 30 July 2020 (2020-07-30) paragraphs [0005] - [0007], [0010], [0013], [0016] - [0022], [0134] - [0136], [0154] - [0162], [0167], [0170] - [0174]; figures 1-3B	1-22
A	US 4715942 A (TEZUKA SIGERU [JP] ET AL) 29 December 1987 (1987-12-29) figure 1	1-22
A	US 2002043465 A1 (VIGH GYULA [US] ET AL) 18 April 2002 (2002-04-18) figure 3	1-22
A	EP 0359619 B1 (BERTIN & CIE [FR]) 20 April 1994 (1994-04-20) figure 4	1-22
A	WO 2022165553 A1 (AEGROS PTY LTD [AU]) 11 August 2022 (2022-08-11) figure 3b	1-22
<input 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 application or patent 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 31 July 2024		Date of mailing of the international search report 09 August 2024
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands (Kingdom of the) Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer Schneiderbauer, K Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/EP2024/066202

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2020240951	A1	30 July 2020	CA	3078747	A1	25 April 2019
				EP	3474006	A1	24 April 2019
				EP	3698130	A1	26 August 2020
				US	2020240951	A1	30 July 2020
				WO	2019077134	A1	25 April 2019

US	4715942	A	29 December 1987	DE	3703687	A1	13 August 1987
				JP	H0375822	B2	03 December 1991
				JP	S62184343	A	12 August 1987
				US	4715942	A	29 December 1987

US	2002043465	A1	18 April 2002	CN	1460034	A	03 December 2003
				EP	1333910	A1	13 August 2003
				JP	2004508574	A	18 March 2004
				US	2002043465	A1	18 April 2002
				US	2005167270	A1	04 August 2005
				WO	0224314	A1	28 March 2002

EP	0359619	B1	20 April 1994	AT	E104770	T1	15 May 1994
				AU	631568	B2	03 December 1992
				BR	8907078	A	08 January 1991
				CA	1335441	C	02 May 1995
				DE	68914758	T2	28 July 1994
				EP	0359619	A1	21 March 1990
				ES	2055802	T3	01 September 1994
				FR	2636140	A1	09 March 1990
				JP	H03502137	A	16 May 1991
				KR	900701378	A	01 December 1990
				WO	9002942	A1	22 March 1990

WO	2022165553	A1	11 August 2022	AU	2022216343	A1	17 August 2023
				EP	4288187	A1	13 December 2023
				US	2024100483	A1	28 March 2024
				WO	2022165553	A1	11 August 2022

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. G01N27/447 ADD.		
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) 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		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 2020/240951 A1 (DELMARCELLE MICHAËL [BE] ET AL) 30 juillet 2020 (2020-07-30) alinéas [0005] - [0007], [0010], [0013], [0016] - [0022], [0134] - [0136], [0154] - [0162], [0167], [0170] - [0174]; figures 1-3B -----	1-22
A	US 4 715 942 A (TEZUKA SIGERU [JP] ET AL) 29 décembre 1987 (1987-12-29) figure 1 -----	1-22
A	US 2002/043465 A1 (VIGH GYULA [US] ET AL) 18 avril 2002 (2002-04-18) figure 3 -----	1-22
A	EP 0 359 619 B1 (BERTIN & CIE [FR]) 20 avril 1994 (1994-04-20) figure 4 -----	1-22
	- / - -	
<input checked="" type="checkbox"/>	Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/>
	* 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
31 juillet 2024		09/08/2024
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Schneiderbauer, K

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2024/066202

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	WO 2022/165553 A1 (AEGROS PTY LTD [AU]) 11 août 2022 (2022-08-11) figure 3b -----	1-22

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2024/066202

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2020240951 A1	30-07-2020	CA 3078747 A1	25-04-2019
		EP 3474006 A1	24-04-2019
		EP 3698130 A1	26-08-2020
		US 2020240951 A1	30-07-2020
		WO 2019077134 A1	25-04-2019

US 4715942 A	29-12-1987	DE 3703687 A1	13-08-1987
		JP H0375822 B2	03-12-1991
		JP S62184343 A	12-08-1987
		US 4715942 A	29-12-1987

US 2002043465 A1	18-04-2002	CN 1460034 A	03-12-2003
		EP 1333910 A1	13-08-2003
		JP 2004508574 A	18-03-2004
		US 2002043465 A1	18-04-2002
		US 2005167270 A1	04-08-2005
		WO 0224314 A1	28-03-2002

EP 0359619 B1	20-04-1994	AT E104770 T1	15-05-1994
		AU 631568 B2	03-12-1992
		BR 8907078 A	08-01-1991
		CA 1335441 C	02-05-1995
		DE 68914758 T2	28-07-1994
		EP 0359619 A1	21-03-1990
		ES 2055802 T3	01-09-1994
		FR 2636140 A1	09-03-1990
		JP H03502137 A	16-05-1991
		KR 900701378 A	01-12-1990
		WO 9002942 A1	22-03-1990

WO 2022165553 A1	11-08-2022	AU 2022216343 A1	17-08-2023
		EP 4288187 A1	13-12-2023
		US 2024100483 A1	28-03-2024
		WO 2022165553 A1	11-08-2022
