



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) **EP 1 121 199 B1**

(12) **FASCICULE DE BREVET EUROPEEN**

(45) Date de publication et mention
de la délivrance du brevet:
17.12.2003 Bulletin 2003/51

(51) Int Cl.7: **B01L 7/00**, B01L 3/00,
C12Q 1/68

(21) Numéro de dépôt: **99947579.1**

(86) Numéro de dépôt international:
PCT/FR99/02499

(22) Date de dépôt: **14.10.1999**

(87) Numéro de publication internationale:
WO 00/023190 (27.04.2000 Gazette 2000/17)

(54) **DISPOSITIF D'ANALYSE CHIMIQUE ET/OU BIOCHIMIQUE AVEC UN SUPPORT D'ANALYSE**
TESTTRÄGER ZUR CHEMISCHEN UND/ODER BIOCHEMISCHEN ANALYSE
DEVICE FOR CHEMICAL AND/OR BIOLOGICAL ANALYSIS WITH ANALYSIS SUPPORT

(84) Etats contractants désignés:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE

(74) Mandataire: **Weber, Etienne Nicolas et al**
c/o Brevatome,
3, rue du Docteur Lancereaux
75008 Paris (FR)

(30) Priorité: **16.10.1998 FR 9813012**

(43) Date de publication de la demande:
08.08.2001 Bulletin 2001/32

(56) Documents cités:
WO-A-94/21372 WO-A-96/15269
WO-A-97/02357 WO-A-97/04297
WO-A-98/32535 DE-A- 3 926 466
DE-C- 19 519 015 US-A- 5 589 136
US-A- 5 716 825

(73) Titulaire: **COMMISSARIAT A L'ENERGIE**
ATOMIQUE
75752 Paris Cédex 15 (FR)

• **KOPP ET AL.: "chemical**
amplification:continuous flow PCR on a chip"
SCIENCE, vol. 280, 15 mai 1998 (1998-05-15),
pages 1046-1048, XP002107956 us cité dans la
demande

(72) Inventeurs:
• **FOUILLET, Yves**
F-38340 Voreppe (FR)
• **CLERC, Jean-Frédéric**
F-38120 Le Fontanil (FR)
• **THERME, Jean**
F-38320 Herbays (FR)

Il est rappelé que: Dans un délai de neuf mois à compter de la date de publication de la mention de la délivrance du brevet européen, toute personne peut faire opposition au brevet européen délivré, auprès de l'Office européen des brevets. L'opposition doit être formée par écrit et motivée. Elle n'est réputée formée qu'après paiement de la taxe d'opposition. (Art. 99(1) Convention sur le brevet européen).

EP 1 121 199 B1

Description

Domaine technique

[0001] La présente invention concerne un dispositif d'analyse chimique et/ou biologique, équipé d'un support d'analyse pouvant être du type à usage unique.

[0002] L'invention trouve des applications dans les domaines de la chimie et de la biologie. En particulier, le dispositif peut être mis à profit dans des procédés d'amplification chimique ou de réaction de polymérase de type PCR (Polymerase Chain Reaction) pour l'analyse de matériau génétique (ADN).

Etat de la technique antérieure

[0003] On connaît actuellement des systèmes macroscopiques d'analyse chimique ou biologique utilisant des plaques de titrage. Ces plaques comportent des cuvettes dans lesquelles on mélange des échantillons et des réactifs par pipetage (à la pipette). Pour permettre les réactions chimiques ou biologiques, les plaques sont successivement chauffées à des températures de consigne par des étuvages successifs, puis sont refroidies.

[0004] Avec de tels systèmes, l'apport des réactifs est une opération longue et complexe, notamment en raison d'un apport successif de chaque réactif. De plus, l'inertie thermique de chauffage et de refroidissement des plaques de titrage s'avère trop importante et allonge le temps d'analyse.

[0005] On connaît par ailleurs, des équipements d'analyse chimique et/ou biochimique qui se présentent sous forme de structures complètes incorporant les moyens de chauffage nécessaires à l'analyse. Des systèmes de connexion par tuyauterie permettent d'amener les échantillons et les réactifs dans la structure.

[0006] L'utilisation de ces équipements implique cependant des opérations complexes et fastidieuses de connexion pour l'amenée des fluides, analytes et réactifs, ainsi que des opérations de connexion électrique pour l'alimentation en énergie des moyens de chauffage. En raison de la spécificité des analyses, il est nécessaire de renouveler les opérations de connexion lors de chaque nouvelle utilisation de l'équipement.

[0007] Les équipements présentent en outre un coût de fabrication élevé.

[0008] Une illustration plus complète des techniques et équipements dans le domaine de l'analyse biochimique est donnée par les documents (1) et (2) dont les références sont précisées à la fin de la présente description.

Exposé de l'invention

[0009] L'invention a pour but de proposer un dispositif d'analyse biologique et/ou chimique ne présentant pas les limitations évoquées ci-dessus.

[0010] Un autre but est de réduire les temps de chauffage, de refroidissement et de permettre un contrôle en température précis et sélectif des composants à analyser au cours des différentes phases de réaction.

[0011] Un but de l'invention est encore de proposer un tel dispositif pouvant être adapté rapidement à différents types de produits à analyser et ne nécessitant pas d'opérations de connexion complexes.

[0012] L'invention a aussi pour but de proposer un dispositif avec un support d'analyse, de très faible coût, pouvant être à usage unique, qui peut être jeté et remplacé après chaque utilisation, ou après un nombre limité d'utilisations. On envisage par exemple d'effectuer un millier d'analyses séquentielles avec un dispositif avant de le jeter.

[0013] Pour atteindre ces buts, l'invention a plus précisément pour objet un dispositif d'analyse chimique et/ou biologique comprenant un support d'analyse avec au moins une cuvette d'entrée pour recueillir un échantillon, au moins une cuvette de sortie pour délivrer ledit échantillon, au moins un canal interne traversant le support pour relier la cuvette d'entrée à la cuvette de sortie, et au moins un réservoir à réactif, relié à chaque canal respectivement entre une cuvette d'entrée et une cuvette de sortie, dans lequel la cuvette d'entrée, la cuvette de sortie et le réservoir débouchent sur une première face du support d'analyse.

[0014] Le dispositif peut en particulier comporter une pluralité de cuvettes d'entrée et une pluralité correspondante de cuvettes de sortie, chaque cuvette d'entrée étant respectivement reliée à une cuvette de sortie associée, au moyen d'un canal.

[0015] La mise en place des liquides à analyser dans les cuvettes d'entrée et/ou des réactifs dans les réservoirs correspondants peut avoir lieu par micropipetage (à la micropipette).

[0016] Selon un autre mode d'utilisation, la mise en place des liquides à analyser dans les cuvettes d'entrée et/ou des réactifs dans les réservoirs correspondants peut avoir lieu par des moyens étanches d'amenée de fluides tels qu'un bouchon déposé sur le réservoir ou la cuvette et relié à une seringue ou à une citerne sous pression.

[0017] La mise en place des liquides et/ou des réactifs peut être obtenue par une combinaison des deux modes décrits précédemment.

[0018] Pour des supports avec un grand nombre de cuvettes et/ou de réservoirs, l'apport des liquides à analyser et/ou des réactifs peut être automatisé au moyen d'un robot de distribution (dispense) à haute résolution. Par ailleurs, les analyses séquentielles supposant le remplacement dans le temps d'au moins un réactif par un autre peuvent être automatisées par l'introduction séquentielle dans le réservoir correspondant de plusieurs réactifs distincts. Entre deux réactifs distincts un liquide tampon neutre peut, ou non, être introduit dans le réservoir.

[0019] Selon un aspect particulier de l'invention, le ou

les canaux internes peu(ven)t être prévu(s) pour s'étendre à proximité d'au moins une deuxième face du support d'analyse de façon à n'être séparé de ladite deuxième face que par une paroi mince. Dans une réalisation particulière la paroi mince peut présenter une épaisseur inférieure à 100 µm.

[0020] De façon plus précise, la paroi est choisie suffisamment mince pour permettre un échange thermique avec des sources thermiques externes au support d'analyse.

[0021] En particulier, la paroi séparant les canaux de la deuxième face peut être choisie plus mince qu'une paroi séparant les canaux entre eux ou des cuvettes.

[0022] Selon un autre aspect de l'invention, la face des canaux opposée à la paroi mince peut présenter une barrière thermique, celle-ci pouvant être réalisée par une couche de matériau peu conducteur thermique et/ou une structuration du substrat permettant de localiser sur les canaux une cavité remplie d'air ou d'un gaz peu caloporteur.

[0023] Cette barrière thermique permet d'uniformiser la température dans les canaux.

[0024] Selon un autre aspect de l'invention, le dispositif peut comporter en outre un support thermique indépendant du support d'analyse, le support thermique présentant une face d'échange thermique avec au moins une source thermique, et ledit support thermique pouvant être rapporté de façon amovible sur le support d'analyse afin de mettre en contact la face d'échange thermique avec la deuxième face du support d'analyse.

[0025] Le caractère séparé du support d'analyse et du support thermique permet de concevoir des supports d'analyse sans propres moyens de chauffage ou de refroidissement. Cette caractéristique permet de réduire par conséquent dans des proportions importantes le coût du support d'analyse. Ainsi, ce support peut être du type à utilisation unique ou à plusieurs utilisations, c'est-à-dire être jeté après une ou plusieurs utilisations. On entend par utilisation la réalisation séquentielle d'un nombre d'analyses voisin par exemple de 1000.

[0026] La face d'échange thermique peut comporter une ou plusieurs zones thermostatées équipées chacune d'au moins une source thermique. Les zones thermostatées coïncident avec au moins une zone du support d'analyse située en aval d'un raccord entre un réservoir à réactif et un canal.

[0027] En associant une zone thermostatée du support thermique avec une zone correspondante du support d'analyse située respectivement au voisinage, par exemple en aval, de chaque réservoir à réactif, il est possible de contrôler et d'adapter sélectivement la température du liquide à analyser en fonction de chaque réactif utilisé.

[0028] Le terme aval utilisé ici s'entend par rapport à une direction d'écoulement des liquides à analyser depuis les cuvettes d'entrée jusqu'aux cuvettes de sortie.

[0029] Les sources thermiques peuvent comporter une ou plusieurs résistances électriques chauffantes

thermostatées.

[0030] A titre alternatif ou complémentaire les sources thermiques peuvent comporter également un ou plusieurs canaux traversés par un fluide caloporteur. Ce fluide peut être utilisé pour chauffer ou refroidir localement le support d'analyse.

[0031] Dans une réalisation particulière du support d'analyse, celui-ci peut comporter un premier substrat présentant des ouvertures traversantes qui forment respectivement les cuvettes et réservoirs, et un deuxième substrat, collé au premier substrat, le deuxième substrat présentant des rainures, recouvertes par le premier substrat pour former des canaux, et coïncidant respectivement avec les ouvertures traversantes.

[0032] Cette structure particulièrement simple permet de réduire les coûts de fabrication des supports d'analyse.

[0033] La fabrication du support peut avoir lieu, conformément à l'invention, selon un procédé comprenant les étapes successives suivantes :

- formation, dans un premier substrat, d'ouvertures traversantes, lesdites ouvertures correspondant respectivement à des cuvettes d'entrée ou de sortie, ou à des réservoirs de réactif,
- formation dans un deuxième substrat de rainures selon un motif permettant de relier entre elles au moins deux ouvertures du premier substrat,
- collage du premier substrat sur le deuxième substrat de façon à recouvrir les rainures,
- amincissement du deuxième substrat, après le collage, en préservant une épaisseur de substrat supérieure à une profondeur maximale des rainures.

[0034] Selon un mode de réalisation particulier, le premier substrat peut présenter deux couches thermiquement peu conductrices, épaisses par exemple de quelques microns.

[0035] Selon un second mode particulier de réalisation, le premier substrat peut présenter au moins une ouverture non traversante de façon à créer au moins une cavité d'isolation thermique.

[0036] L'invention concerne également un procédé de mise en oeuvre d'un dispositif d'analyse tel que décrit ci-dessus, selon lequel on met en contact le support d'analyse avec le support thermique pendant une phase d'analyse de durée déterminée, au moins un échantillon à analyser et au moins un réactif étant introduits dans le support d'analyse préalablement à la phase d'analyse ou pendant la phase d'analyse, puis, après la phase d'analyse, on retire le support d'analyse du support thermique.

[0037] Au terme de l'analyse, le support d'analyse peut être réutilisé.

[0038] D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention ressortiront mieux de la description qui va suivre, en référence aux figures des dessins annexés. Cette description est donnée à titre purement il-

lustratif et non limitatif.

Brève description des figures

[0039]

- La figure 1A est une coupe schématique simplifiée d'un support d'analyse conforme à l'invention.
- La figure 1B montre le support d'analyse de la figure 1A équipé de moyens de remplissage de réservoirs à réactifs.
- La figure 2 est un éclaté en perspective montrant de façon plus précise la structure du support d'analyse.
- La figure 3 est une vue en perspective simplifiée d'un support d'analyse conforme à la figure 2 et d'un support thermique.
- La figure 4 est une coupe longitudinale schématique du support d'analyse mis en place sur le support thermique.
- La figure 5 est une vue en plan d'une partie d'un support d'analyse conforme à l'invention, constituant une variante par rapport aux figures 1 à 4.
- La figure 6 est une coupe transversale simplifiée d'un support d'analyse incluant une partie conforme à la figure 5.
- La figure 7 est une coupe transversale simplifiée d'un support d'analyse incluant une partie conforme à la figure 5 et constituant une variante par rapport à la figure 6.
- Les figures 8, 9, 10 et 11 sont des coupes longitudinales schématiques de substrats lors d'étapes successives de fabrication d'un support d'analyse conforme à l'invention.
- La figure 12 est une coupe transversale d'un support d'analyse et d'un support thermique conforme à l'invention et illustrant une réalisation particulière du support thermique.

Description détaillée de modes de mise en oeuvre de l'invention

[0040] Dans la description qui suit, des parties identiques, similaires ou équivalentes des figures sont repérées avec les mêmes références numériques afin d'en faciliter la lecture.

[0041] La figure 1 est une coupe d'un support d'analyse 100 conforme à l'invention.

[0042] Sur cette figure, est représentée une cuvette d'entrée 102 formée pour l'essentiel par une ouverture traversante pratiquée dans un substrat 100a du support, au voisinage de l'une de ses extrémités. De la même façon, une cuvette de sortie 104 est pratiquée au voisinage d'une deuxième extrémité. Les cuvettes 102, 104 débouchent en une première face 106 du support 100. Un canal interne 108 relie les cuvettes d'entrée et de sortie.

[0043] Le canal 108 se présente sous la forme d'une

rainure gravée dans un second substrat 100b collé au premier substrat de sorte que ce dernier recouvre la rainure.

[0044] On observe que la profondeur de la rainure est pratiquement égale à l'épaisseur du deuxième substrat 100b, de sorte que seul une mince paroi 110 sépare le canal 108 d'une deuxième face 112 du support d'analyse 100.

[0045] Dans l'exemple illustré, le support 100 est de forme générale parallélépipédique et les première et deuxième faces sont les faces principales opposées et parallèles.

[0046] La figure représente également en coupe des réservoirs de réactif 120a, 120b, 120c agencés entre les cuvettes d'entrée 102 et de sortie 104. Les réservoirs débouchent également sur la première face 106 du support d'analyse 100. Des raccords ou passages 122a sont prévus pour relier chacun des réservoirs au canal 108.

[0047] Pour des raisons de simplification, les passages 122a sont représentés dans le plan de la figure, de sorte que les réservoirs ne se distinguent pas des cuvettes d'entrée et de sortie sur la figure 1.

[0048] Le liquide à analyser peut être introduit dans les cuvettes d'entrée au moyen d'une pipette.

[0049] Les réservoirs des réactifs peuvent être remplis de la même façon.

[0050] Dans le cas de l'analyse séquentielle mettant en oeuvre de façon successive des réactifs différents, dans le cas également où les réactifs doivent être conservés à une température bien contrôlée avant usage, il est préférable d'utiliser des réservoirs de petits volumes alimentés par un système de type pousse-seringue tel que représenté à la figure 1B.

[0051] La figure 1B montre un support d'analyse conforme à la figure 1A dont les réservoirs 120a, 120b et 120c sont respectivement associés à des moyens d'amenée de fluide 150a, 150b et 150c.

[0052] Ces moyens comportent des bouchons, ou capuchons d'alimentation 152a, 152b, 152c appliqués de façon étanche au-dessus des réservoirs et reliés à des pousse-séringes 154a, 154b et 154c qui contiennent des réactifs. Les capuchons peuvent être collés à la surface du support d'analyse ou serrés contre la surface, en utilisant un joint d'étanchéité.

[0053] Les références 156a, 156b et 156c désignent respectivement des capteurs de pressions ménagés sur des conduites reliant les pousse-séringes aux capuchons 152a, 152b et 152c, de façon à contrôler la pression et/ou le débit des réactifs.

[0054] Bien que non représenté, un système d'alimentation semblable peut également équiper les cuvettes d'entrée.

[0055] Comme le montrent les figures 1A et 1B, les cuvettes d'entrée et les réservoirs sont soumis à la pression atmosphérique, ou à une pression fixée par le système d'alimentation, tandis qu'une ligne à vide 124 est appliquée aux cuvettes de sortie.

[0056] Un premier remplissage spontané du support d'analyse peut être effectué avec un solvant polaire (tel que de l'alcool) suivi d'un solvant nominal afin d'éviter la formation de bulles. Ce remplissage met à profit un effet de capillarité dans les canaux.

[0057] Après ce premier remplissage, les analytes et réactifs sont ajoutés.

[0058] Le produit d'analyse arrivant aux cuvettes de sortie peut y être prélevé également au moyen de pipettes.

[0059] La figure 2 montre de façon plus précise et de façon séparée les deux substrats 100a et 100b qui forment le support d'analyse.

[0060] On observe que le support d'analyse comporte une pluralité de cuvettes d'entrée 102 et une pluralité de cuvettes de sortie 104.

[0061] Les cuvettes ont la forme d'ouvertures traversantes pratiquées dans le premier substrat 100a. Ces ouvertures présentent une forme évasée en V, formant un entonnoir.

[0062] Par ailleurs, dans l'exemple de la figure 2, chaque cuvette d'entrée 102 est individuellement reliée à une cuvette de sortie 104 par un canal 108.

[0063] Le support d'analyse comprend trois réservoirs à réactif 120a, 120b, 120c.

[0064] Dans cet exemple, chaque réservoir est commun à plusieurs canaux 108 auxquels il est relié au moyen de raccords 122a, 122b. La référence 122a désigne plus précisément des perçages du premier substrat 110a reliant un réservoir à des embranchements 122b correspondants, pratiqués dans le deuxième substrat 110b et connectés respectivement aux canaux. (Bien entendu, des réservoirs peuvent également être individualisés pour les différents canaux).

[0065] Les quantités de liquides (liquides à analyser, et réactifs) qui se mélangent au croisement des embranchements 122b et des canaux 108 dépendent de la taille respective de ces embranchements et des canaux 108.

[0066] La figure 3 montre un support d'analyse 100, conforme à celui de la figure 2, dont les substrats 100a et 100b sont définitivement collés.

[0067] Le support d'analyse est représenté au-dessus d'un support thermique 200 correspondant.

[0068] Le support thermique 200 présente une face d'échange thermique 212 tournée vers la deuxième face 112 du support d'analyse 100, au voisinage de laquelle se trouvent les canaux. La face d'échange thermique 212 du support thermique 200 et la deuxième face 112 du support d'analyse sont destinées à être mises en contact.

[0069] La face d'échange thermique 212 présente trois zones thermostatées 220a, 220b, 220c équipées chacune d'une ou de plusieurs sources thermiques (non représentées).

[0070] Les trois zones thermostatées 220a, 220b, 220c sont disposées de façon à coïncider avec des portions de canaux du support d'analyse situés au voisinage respectivement des réservoirs 120a, 120b, 120c, ou

plus précisément des embranchements apportant les réactifs.

[0071] Le fluide dans le canal 122b peut traverser une seule fois chaque zone thermique ou plusieurs fois grâce à des motifs de canal adaptés comme représenté figure 5 décrite ultérieurement.

[0072] La figure 4 est une coupe schématique du support d'analyse reporté sur le support thermique permettant de représenter de façon plus détaillée les zones thermostatées.

[0073] Pour des raisons de clarté de la figure, le support d'analyse et le support thermique sont représentés avec un léger espacement. Ces supports sont cependant en contact.

[0074] Comme indiqué ci-dessus, les zones thermostatées peuvent comporter plusieurs sources thermiques. Ceci est le cas de la zone thermostatée 220a. Celle-ci comporte une première source thermique 230 formée de résistances électriques, telles que par exemple des microrésistances en platine. Elle comporte également deux sources 232 et 234 sous la forme de canaux traversés par des fluides caloporteurs.

[0075] Dans le cas d'une analyse de type PCR, les résistances électriques de la première source 230 peuvent être portées à une température de 94°C, le fluide caloporteur de la deuxième source thermique 232 à une température de 55°C et le fluide caloporteur de la troisième source thermique 234 à une température de 72°C.

[0076] Ces températures correspondent respectivement à des étapes de dénaturation, d'hybridation et d'élongation d'ADN (cf. document (1)).

[0077] Les sources thermiques peuvent être miniaturisées de sorte que le support thermique présente une résolution thermique submillimétrique (inférieure au millimètre).

[0078] La figure 5 est une vue de dessus d'une partie d'un premier substrat 100a d'un support d'analyse et montre une variante de réalisation d'un canal 108.

[0079] Le canal 108 est replié selon un motif géométrique répété.

[0080] Sur la figure, on a représenté également en trait discontinu la position de sources thermiques d'une zone thermostatée 220, d'un support thermique pouvant être associé au support d'analyse. on observe que, grâce au motif géométrique du canal, un liquide à analyser peut, en parcourant différents tronçons du motif, être mis en contact thermique de façon séquentielle avec différentes sources thermiques de la zone thermostatée.

[0081] Les figure 6 et 7 présentent deux variantes de réalisation du dispositif permettant d'améliorer l'uniformité de la température dans les canaux en isolant leur face supérieure, c'est-à-dire la face opposée à ladite deuxième face 112 du support d'analyse. Une première solution représentée à la figure 6 consiste à réaliser dans la partie supérieure 100a du support d'hybridation une cavité 160 (débouchante ou non). Cette cavité coïncide avec au moins une partie de canal 108. Une se-

conde solution, représentée à la figure 7, consiste à mettre en place entre les parties supérieure et inférieure 100a, 100b du support d'analyse une couche 100c de matériau faiblement conducteur de la chaleur. Il est possible également d'utiliser un substrat supérieur équipé d'une couche 100c d'un matériau isolant thermique.

[0082] Les figures 8 à 11, décrites ci-après, donnent un exemple de procédé de réalisation d'un support d'analyse tel que décrit précédemment.

[0083] Dans une première plaque de substrat 100a, par exemple en silicium, on pratique, comme le montre la figure 8, des ouvertures traversantes. Ces ouvertures constituent les cuvettes ou les réservoirs 102, 104, 120a, 120b, 120c. Les ouvertures gravées par voie chimique sont réalisées avec des flancs inclinés par gravure chimique anisotrope par exemple (KOH) de façon à leur conférer une forme évasée. L'emplacement des ouvertures est défini par un masque de gravure (non représenté) en coïncidence avec le motif des rainures. Le perçage de la couche 100c de matériau isolant thermique, par exemple SiO_2 dans le cas de la variante proposée figure 7, peut être effectué, par exemple, par gravure CHF_3 par voie sèche, la dimension de la perforation étant définie par un masque de gravure ou en utilisant les parois du trou créé par voie chimique comme masque.

[0084] La figure 9 montre la gravure de rainures, formant les canaux 108, dans un deuxième substrat 100b par exemple de silicium. La gravure est effectuée à travers un masque de gravure (non représenté) présentant un motif correspondant aux canaux souhaités. Il s'agit, par exemple, d'une gravure chimique (KOH). La profondeur des rainures est par exemple de l'ordre de 100 μm pour un substrat 100b d'une épaisseur de 250 à 450 μm .

[0085] Il peut s'agir aussi d'une gravure sèche SG6 permettant de réaliser des rainures plus profondes que larges par exemple 100 $\mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$.

[0086] Une troisième étape représentée à la figure 10 comprend le scellement des premier et deuxième substrats 100a et 100b, de manière à mettre en communication les cuvettes ou réservoirs 102, 104, 120a, 120b, 120c, avec les canaux (rainures) 108 correspondants. Le scellement a lieu, par exemple, par collage direct (moléculaire) des deux substrats.

[0087] Lors de cette opération, les rainures 108 du deuxième substrat 100b sont recouvertes par le premier substrat 100a pour former les canaux.

[0088] Une dernière étape, représentée à la figure 11, comprend l'aminçissement du deuxième substrat 100b de façon à ne préserver entre le canal 108 et la surface extérieure 112 qu'une mince paroi 110.

[0089] Cette paroi 110 présente une épaisseur de l'ordre de 10 μm de façon à favoriser les échanges thermiques.

[0090] L'aminçissement est réalisé par gravure et/ou par polissage mécano-chimique.

[0091] Une pluralité de supports d'analyse conformes à l'invention peuvent être fabriqués simultanément et

collectivement selon le procédé ci-dessus dans deux tranches de silicium (correspondant aux premier et deuxième substrats).

[0092] Dans ce cas, le procédé est complété par un découpage des tranches à la scie pour individualiser les supports d'analyse.

[0093] La figure 12 montre une réalisation particulière du support thermique 200 d'un dispositif d'analyse conforme à l'invention.

[0094] Le support thermique 200 comprend pour l'essentiel un socle 202 sur lequel sont disposés un ou plusieurs barreaux thermostatés. Dans l'exemple de la figure, le support thermique comprend trois barreaux thermostatés 320a, 320b, 320c qui forment respectivement trois zones thermostatées.

[0095] Tout ou partie des barreaux peuvent être noyés dans un matériau isolant thermique. Dans l'exemple de la figure deux barreaux 320b et 320c sont entourés par un matériau isolant thermique solide, tandis que le premier barreau 320a est laissé en contact libre avec l'air ambiant sur ses faces latérales.

[0096] Chaque barreau est équipé de moyens de chauffage et/ou de refroidissement.

[0097] Le premier barreau 320a est équipé d'un canal 322a qui le parcourt et qui permet de le thermostatier par circulation d'un fluide caloporteur.

[0098] Les autres barreaux 320b et 320c sont également équipés de tels canaux 322b et 322c. Les canaux sont respectivement reliés à des bains thermostatés avec des systèmes de pompage (non représentés) pour faire circuler le fluide caloporteur.

[0099] La liaison entre les bains et les barreaux peut avoir lieu au moyen de connexion hydrauliques non représentées.

[0100] Les canaux peuvent être du type circulaire, comme le montrent les figures, mais peuvent également être pourvus de systèmes d'ailettes pour optimiser les échanges thermiques.

[0101] Des éléments chauffants complémentaires peuvent être intégrés dans les barreaux. A titre d'illustration, le troisième barreau 320c est équipé d'une résistance électrique 330. La résistance électrique est utilisée ici comme "source chaude" tandis que le fluide caloporteur est utilisé comme "source froide".

[0102] Le deuxième barreau 320b comporte un élément 340 de mesure de la température, tel qu'une résistance, utilisé pour asservir, par exemple, la température du bain thermostaté associé.

[0103] La référence 100 désigne de façon générale un support d'analyse amovible disposé sur le support thermique de façon à être en contact avec les barreaux thermostatés. La description détaillée d'un tel support n'est pas répétée ici. On peut se reporter à ce sujet aux explications données en référence aux figures précédentes. Le support d'analyse 100 peut être simplement posé sur le support thermique 200. Il peut également être pressé contre le support thermique au moyen d'une bride ou d'un système d'aspiration non représentés.

[0104] Comme les moyens destinés au contrôle de température, c'est-à-dire en particulier les bains thermostatés et les barreaux thermostatés, sont solidaires du support thermique ou en connexion fluide avec le support thermique, et comme le support d'analyse est amovible, il est possible de réaliser ce dernier de façon simple et peu coûteuse.

DOCUMENTS CITES

[0105]

(1) Martin U. Kopp, et al., "Chemical Amplification : continuous-Flow PCR on a chip", Science, vol. 280, 15 May 1998, pages 1046-1048

(2) "Chip advance but cost constraints remain" dans Nature Biotechnology, vol. 16, juin 1998, page 509.

Revendications

1. Dispositif d'analyse chimique et/ou biologique comprenant :

- un support d'analyse (100) avec au moins une cuvette d'entrée (102) pour recueillir un échantillon, au moins une cuvette de sortie (104) pour délivrer ledit échantillon, au moins un canal interne (108) traversant le support pour relier la cuvette d'entrée et la cuvette de sortie, et au moins un réservoir à réactif (120a, 120b, 120c) relié à chaque canal (108) entre la cuvette d'entrée et la cuvette de sortie, dans lequel la cuvette d'entrée, la cuvette de sortie et le réservoir débouchent sur une première face (106) du support d'analyse, dans lequel le canal interne (100) s'étend à proximité d'au moins une deuxième face (112) du support d'analyse de façon à être séparé de ladite deuxième face par une paroi mince (110), et
- un support thermique (200) indépendant du support d'analyse (100), le support thermique présentant une face d'échange thermique (212) avec au moins une zone thermostatée (220a, 220b, 220c) équipé d'au moins une source thermique ;

le support d'analyse (100) pouvant être rapporté de façon amovible sur le support thermique (200) afin de mettre en contact la face d'échange thermique (212) du support thermique avec la deuxième face (112) du support d'analyse (100).

2. Dispositif selon la revendication 1, **caractérisé en ce qu'une** barrière thermique est disposée sur un côté des canaux opposé à une deuxième face du support.

3. Dispositif selon la revendication 2, dans lequel la barrière thermique comporte une couche (100c) d'isolation thermique au-dessus des canaux.

5 4. Dispositif selon la revendication 2, dans lequel la barrière thermique comporte une cavité d'isolation thermique (160) au-dessus des canaux.

10 5. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la paroi mince (110) présente une épaisseur inférieure à 100 µm.

15 6. Dispositif d'analyse selon la revendication 1, dans lequel la zone thermostatée coïncide avec au moins une zone du support d'analyse (100) située au voisinage d'un raccord (122b), entre un réservoir à réactif et un canal, lorsque le support d'analyse est reporté sur le support thermique.

20 7. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel le support thermique comprend des moyens de refroidissement et/ou des moyens de chauffage.

25 8. Dispositif selon la revendication 7, dans lequel les moyens de chauffage comportent au moins une résistance électrique (230).

30 9. Dispositif selon la revendication 7, dans lequel les moyens de refroidissement et/ou les moyens de chauffage comportent au moins un canal à fluide caloporteur.

35 10. Dispositif selon la revendication 1, comprenant une pluralité de cuvettes d'entrée (102) et une pluralité correspondante de cuvettes de sortie (104), chaque cuvette d'entrée étant respectivement reliée à une cuvette de sortie associée au moyen d'un canal (108).

40 11. Dispositif selon la revendication 10, comportant une pluralité de réservoirs à réactif (120a, 120b, 120c), chaque réservoir étant relié à chacun des canaux (108).

45 12. Dispositif selon la revendication 11, avec des moyens externes (150a, 150b, 150c) de remplissage des réservoirs, comportant au moins un pousse-seringue (154a, 154b, 154c) avec ou sans mélangeur de réactifs, connecté de façon étanche à au moins un réservoir.

50 13. Dispositif selon la revendication 12, dans lequel les moyens de remplissage comportent des capuchons d'alimentation (152a, 152b, 152c) recouvrant de façon étanche les réservoirs, et équipés chacun d'au moins une conduite reliée respectivement à au moins un pousse-seringue.

14. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel le support d'analyse (100) comprend un premier substrat (100a) présentant des ouvertures traversantes qui forment respectivement les cuvettes et réservoirs, et un deuxième substrat (100b), collé au premier substrat, le deuxième substrat présentant des rainures (108), recouvertes par le premier substrat pour former des canaux, et coïncidant avec les ouvertures traversantes.

15. Procédé de fabrication d'un support d'analyse selon la revendication 1, comprenant les étapes suivantes :

- formation dans un premier substrat (100a), des ouvertures traversantes, lesdites ouvertures correspondant respectivement à des cuvettes d'entrée ou de sortie, ou à des réservoirs de réactif,
- formation dans un deuxième substrat (100b) de rainures selon un motif permettant de relier entre elles au moins deux ouvertures du premier substrat,
- collage du premier substrat sur le deuxième substrat de façon à recouvrir les rainures,
- amincissement du deuxième substrat, après le collage, en préservant une épaisseur de substrat supérieure à une profondeur maximale des rainures.

16. Procédé de mise en oeuvre d'un dispositif d'analyse selon la revendication 1, selon lequel on met en contact le support d'analyse avec le support thermique pendant une phase d'analyse de durée déterminée, au moins un échantillon à analyser et au moins un réactif étant introduits dans le support d'analyse préalablement à la phase d'analyse ou pendant la phase d'analyse, puis, après la phase d'analyse, on retire le support d'analyse du support thermique.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur chemischen und/oder biologischen Analyse, umfassend:

- einen Analyseträger (100) mit wenigstens einer Eingangsschale (102) zum Aufnehmen eines Musters, wenigstens einer Ausgangsschale (104) zum Liefern des genannten Musters, wenigstens einem internen Kanal (108), der den Träger durchquert, um die Eingangsschale mit der Ausgangsschale zu verbinden, und wenigstens einem mit jedem Kanal (108) verbundenen Reagenzspeicher (120a, 120b, 120c) zwischen der Eingangsschale und der Ausgangsschale, bei dem die Eingangsschale, die Aus-

gangsschale und der Speicher in einer ersten Fläche (106) des Analyseträgers münden, bei dem der interne Kanal (108) sich in der Nähe von wenigstens einer zweiten Fläche (112) des Analyseträgers derartig erstreckt, dass er von der zweiten Fläche durch eine dünne Wand (110) getrennt ist, und

- einen Thermoträger (200), unabhängig von dem Analyseträger (100), wobei der Thermoträger eine Wärmeaustauschfläche (212) mit wenigstens einer thermostabilisierten Zone (220a, 220b, 220c) aufweist, ausgestattet mit wenigstens einer Wärmequelle;

wobei der Analyseträger (100) auf abnehmbare Weise auf dem Thermoträger (200) angebracht werden kann, um die Wärmeaustauschfläche (212) des Thermoträgers mit der zweiten Fläche (112) des Analyseträgers (100) in Kontakt zu bringen.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** eine Wärmebarriere auf einer Seite der Kanäle vorgesehen ist, die einer zweiten Fläche des Trägers entgegengesetzt ist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, bei der die Wärmebarriere eine Wärmeisolationsschicht (100c) über den Kanälen umfasst.

4. Vorrichtung nach Anspruch 2, bei der die Wärmebarriere einen Wärmeisolationshohlraum (160) über den Kanälen umfasst.

5. Vorrichtung nach Anspruch 1, bei der die dünne Wand (110) eine Dicke unter 100 µm aufweist.

6. Analysevorrichtung nach Anspruch 1, bei der die thermostabilisierte Zone mit wenigstens einer Zone des Analyseträgers (100) zusammenfällt, die sich in der Nähe bzw. Umgebung einer Verbindung (122b) zwischen einem Reagenzspeicher und einem Kanal befindet, wenn der Analyseträger auf dem Thermosupport angebracht ist.

7. Vorrichtung nach Anspruch 1, bei der der Thermosupport Kühleinrichtungen und/oder Heizeinrichtungen umfasst.

8. Vorrichtung nach Anspruch 7, bei der die Heizeinrichtungen wenigstens einen elektrischen Widerstand (230) umfassen.

9. Vorrichtung nach Anspruch 7, bei der die Kühleinrichtungen und/oder die Heizeinrichtungen wenigstens einen Kanal für flüssiges Kühlmittel umfassen.

10. Vorrichtung nach Anspruch 1, eine Vielzahl von Ein-

gangsschalen (102) und eine Vielzahl von entsprechenden Ausgangsschalen (104) umfassend, wobei jede Eingangsschale jeweils mit einer mit wenigstens einem Kanal (108) verbundenen Ausgangsschale verbunden ist.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10 mit einer Vielzahl von Reagensspeichern (120a, 120b, 120c), wobei jeder Speicher mit jedem der Kanäle (108) verbunden ist.

12. Vorrichtung nach Anspruch 11 mit externen Einrichtungen (150a, 150b, 150c) zum Befüllen der Speicher, wenigstens eine Schiebespritze (154a, 154b, 154c) mit oder ohne Reagensmischer umfassend, die auf dichte Weise mit wenigstens einem Speicher verbunden ist.

13. Vorrichtung nach Anspruch 12, bei der die Befüllungseinrichtungen Versorgungskappen (152a, 152b, 152c) umfassen, die die Speicher auf dichte Weise verschließen und von denen jede mit wenigstens einer Leitung ausgestattet ist, die jeweils mit wenigstens einer Schiebespritze verbunden ist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 1, bei der der Analyseträger (100) ein erstes Substrat (100a), das Durchgangsöffnungen aufweist, die jeweils die Schalen und Speicher bilden, und ein auf das erste Substrat geklebtes zweites Substrat (100b) umfasst, wobei das zweite Substrat Rillen (108) aufweist, die durch das erste Substrat abgedeckt werden, um Kanäle zu bilden, und die mit den Durchgangsöffnungen zusammentreffen.

15. Verfahren zur Herstellung eines Analyseträgers nach Anspruch 1, das die folgenden Schritte umfasst:

- Ausbilden der Durchgangsöffnungen in einem ersten Substrat (110a), wobei die genannten Öffnungen jeweils Eingangs- oder Ausgangsschalen oder Reagensspeichern entsprechen,
- Ausbilden - in einem zweiten Substrat (100b) - von Rillen nach einem Muster, das ermöglicht, wenigstens zwei Öffnungen des ersten Substrats miteinander zu verbinden,
- Festkleben des ersten Substrats auf dem zweiten Substrat, so dass die Rillen überdeckt sind,
- Dünnermachen des zweiten Substrats nach dem Festkleben, indem eine Dicke des Substrats beibehalten wird, die größer ist als eine maximale Tiefe der Rillen.

16. Verfahren zur Anwendung einer Analysevorrichtung nach Anspruch 1, gemäß dem man den Analyseträger während einer Analysephase von bestimmter Dauer mit dem Thermoträger in Kontakt

bringt, wobei man vor der Analysephase oder während der Analysephase wenigstens ein zu analysierendes Muster und wenigstens ein Reagens in den Analyseträger eingibt, und dann, nach der Analysephase, den Analyseträger von dem Thermoträger abnimmt.

Claims

1. Chemical and/or biological analysis device comprising:

- an analysis support (100) with at least one input bowl (102) to collect a sample, at least one output bowl (104) to output the said sample, at least one internal duct (108) passing through the support to connect the input bowl and the output bowl, and at least one reagent reservoir (120a, 120b, 120c) connected to each duct (108) between the input bowl and the output bowl, in which the input bowl, the output bowl and the reservoir open up onto a first face (106) of the analysis support, in which the internal duct (100) extends close to at least one second face (112) of the analysis support so that it is separated from the said second face by a thin wall (110) and
- a thermal support (200) independent of the analysis support (100), the thermal support having one heat exchange face (212) with at least one thermostat controlled area (220a, 220b, 220c), provided with at least one thermal source;

the analysis support (100) possibly being added removably onto the thermal support (200) to put the heat exchange face (212) of the thermal support into contact with the second face (112) of the analysis support (100).

2. Device according to claim 1, **characterized in that** a thermal barrier is placed on one side of the ducts opposite a second face of the support.

3. Device according to claim 2, in which the thermal barrier comprises a thermal insulation layer-(100c) above the ducts.

4. Device according to claim 2, in which the thermal barrier comprises a thermal insulation cavity (160) above the ducts.

5. Device according to claim 1, in which the thin wall (110) is less than 100 µm thick.

6. Analysis device according to claim 1, in which the thermostat controlled area coincides with at least

one analysis support area (100) located close to a connector (122b) between a reagent reservoir and a duct, when the analysis support is transferred on to the thermal support.

7. Device according to claim 1, in which the thermal support comprises cooling means and/or heating means.
8. Device according to claim 7, in which the heating means comprise at least one electrical resistance (230).
9. Device according to claim 7, in which the cooling means and/or the heating means comprise at least one heat transporting fluid duct.
10. Device according to claim 1, comprising several input bowls (102) and several corresponding output bowls (104), each input bowl being connected to a corresponding output bowl through a duct (108).
11. Device according to claim 10, comprising several reagent reservoirs (120a, 120b, 120c), each reservoir being connected to each of the ducts (108).
12. Device according to claim 11, with external means (150a, 150b, 150c) of filling the reservoirs, comprising at least one push syringe (154a, 154b, 154c) with or without a reagent mixer, connected in a leak tight manner to at least one reservoir.
13. Device according to claim 12, in which the filling means comprise feed caps (152a, 152b, 152c) covering the reservoirs in a leak tight manner and each equipped with at least one duct connected to a corresponding push-syringe.
14. Device according to claim 1, in which the analysis support (100) comprises a first substrate (100a) with through openings that form bowls and reservoirs respectively, and a second substrate (100b) glued to the first substrate, the second substrate having grooves (108) covered by the first substrate to form ducts and coinciding with through openings.
15. Process for manufacturing an analysis support according to claim 1, comprising the following steps:
 - formation of through openings in a first substrate (100a), each of the said openings corresponding to an input or output bowl, or a reagent reservoir,
 - formation of grooves in a second substrate (100b), according to a pattern that joins at least two openings in the first substrate to each other,
 - gluing of the first substrate to the second substrate in order to cover the grooves,

- thinning of the second substrate after gluing, in which the thickness of the substrate is greater than the maximum depth of the grooves.

- 5 16. Process for use of an analysis device according to claim 1, in which the analysis support is put into contact with the thermal support for a determined analysis time, at least one sample to be analysed and at least one reagent being added into the analysis support before the analysis phase starts, or during the analysis phase, and then the analysis support is removed from the thermal support after the analysis phase.

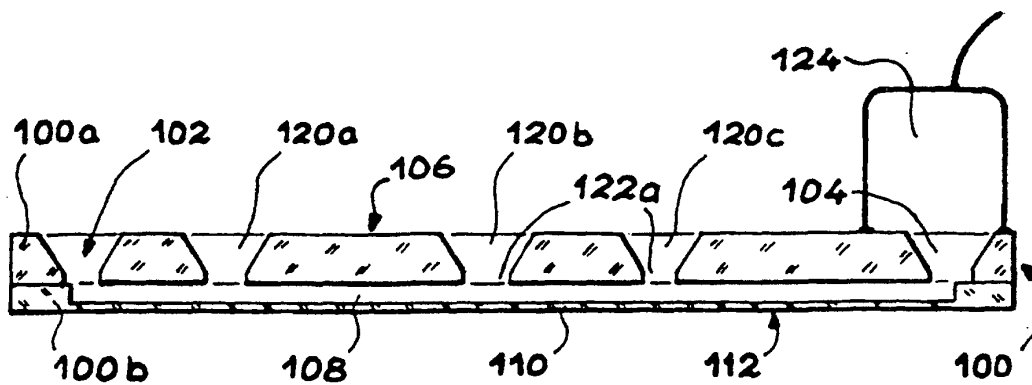


FIG. 1A

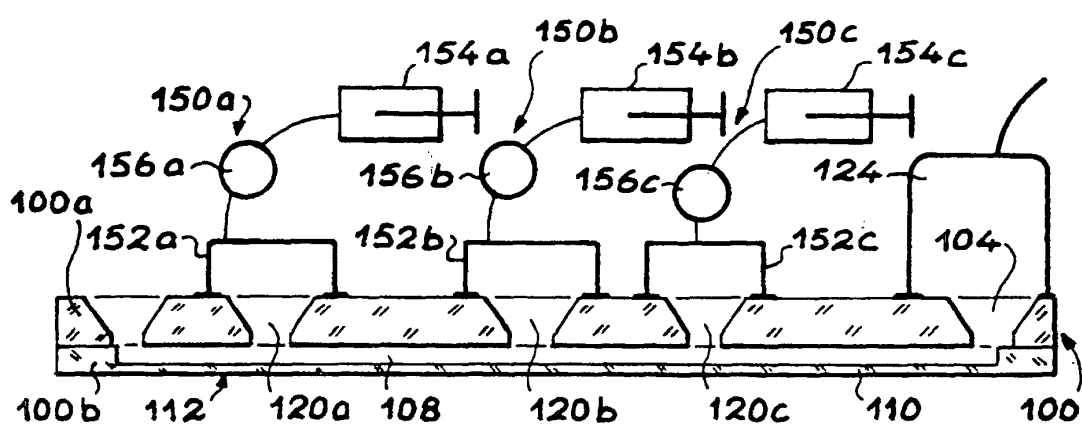


FIG. 1B

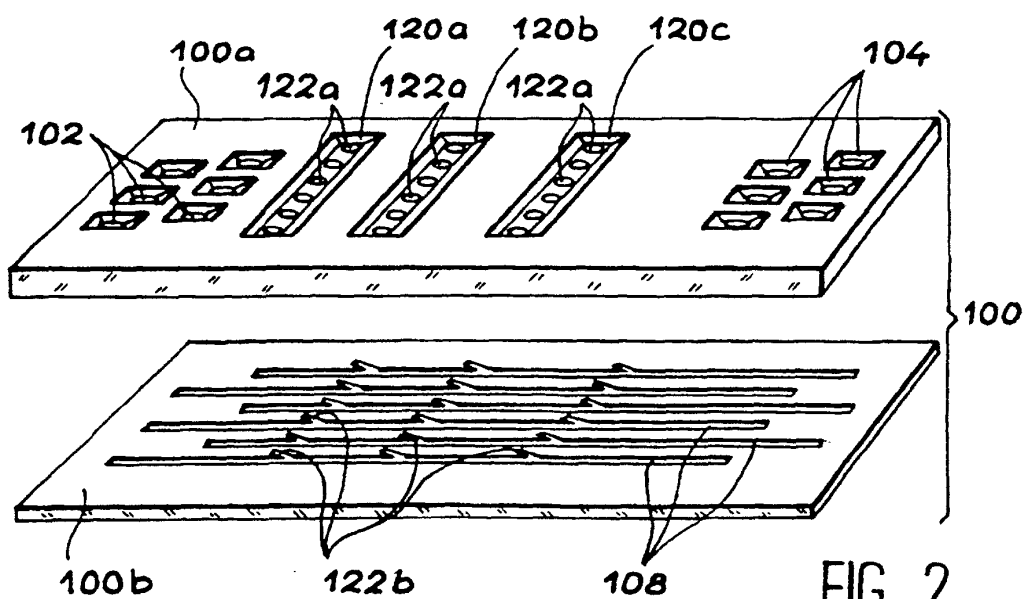


FIG. 2

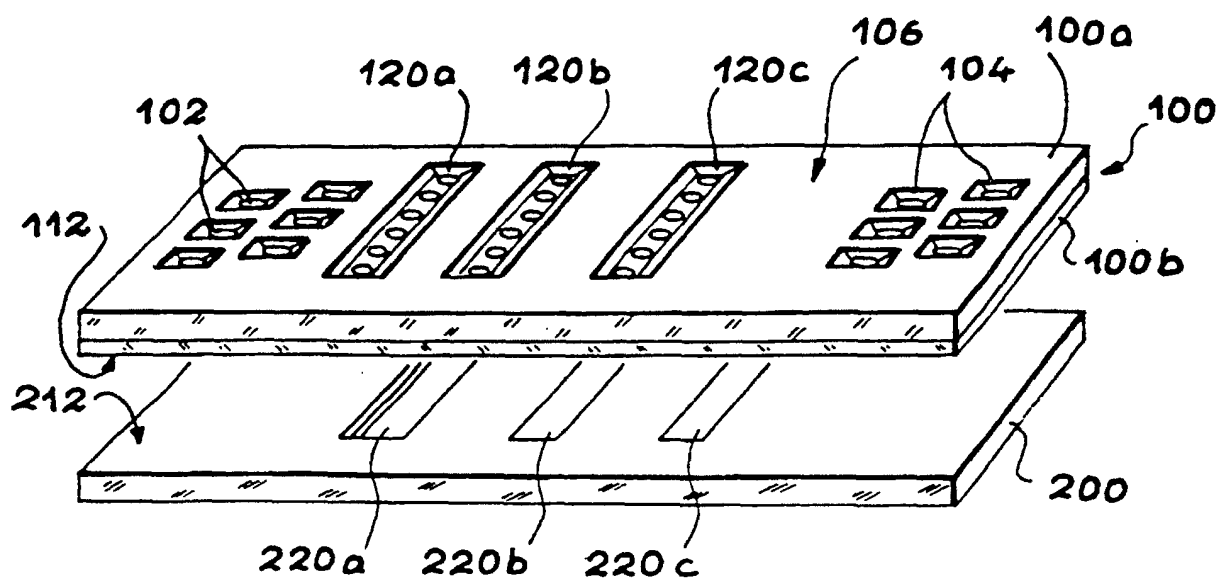


FIG. 3

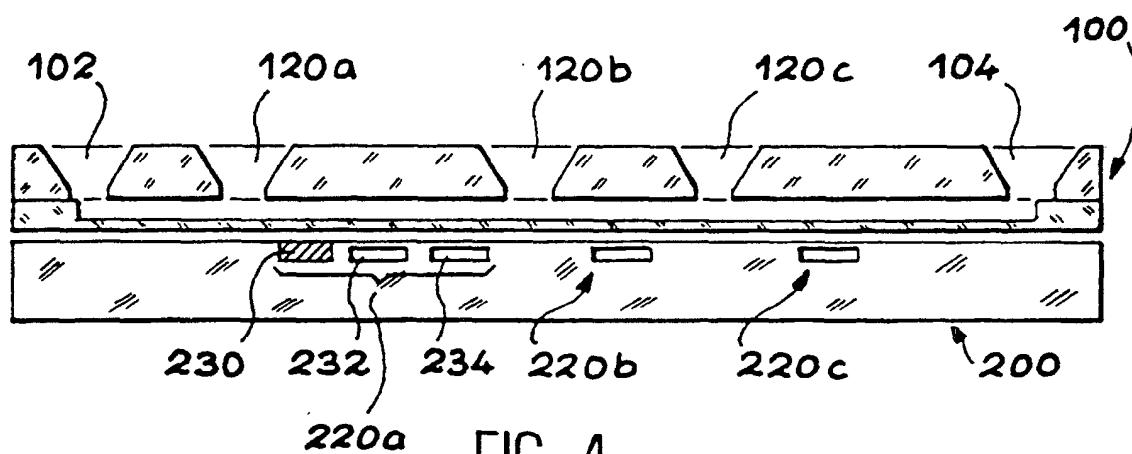
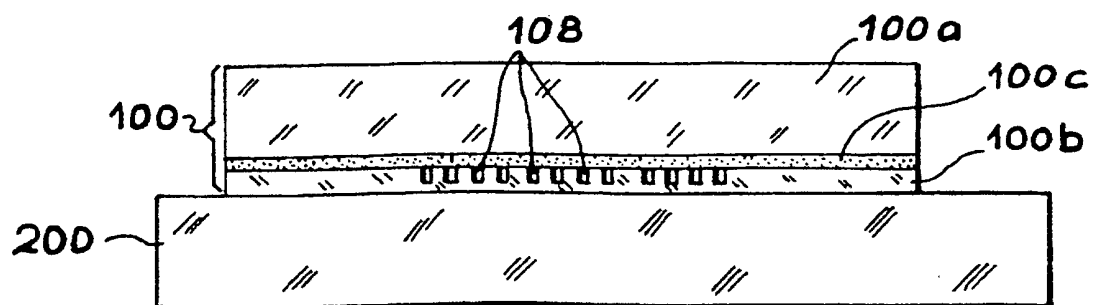
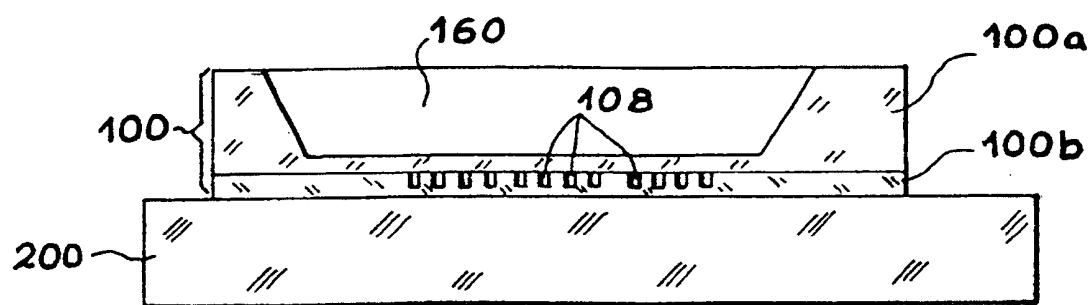
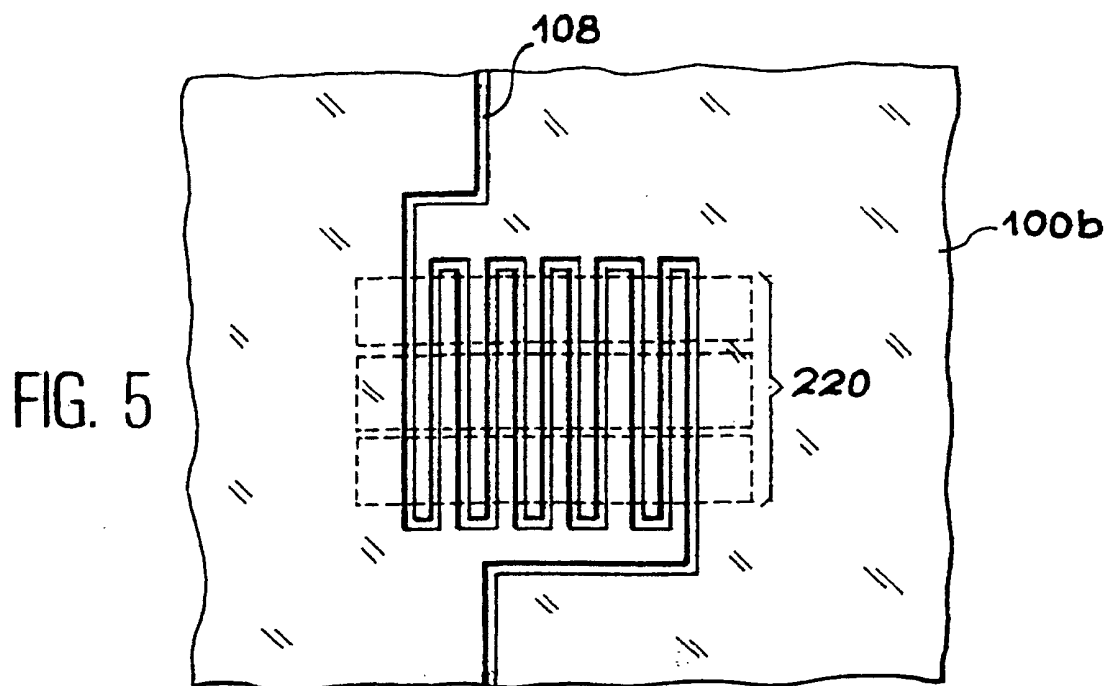


FIG. 4



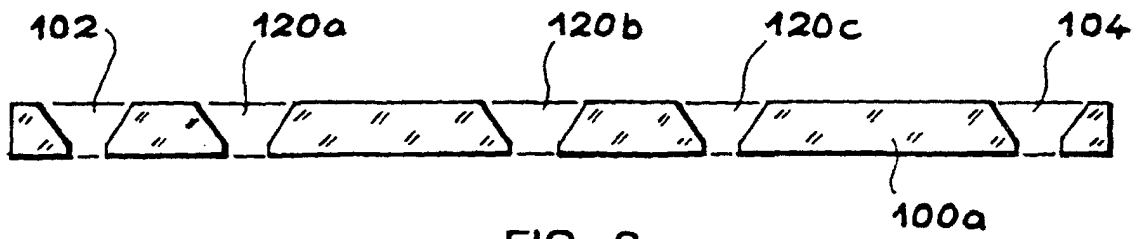


FIG. 8

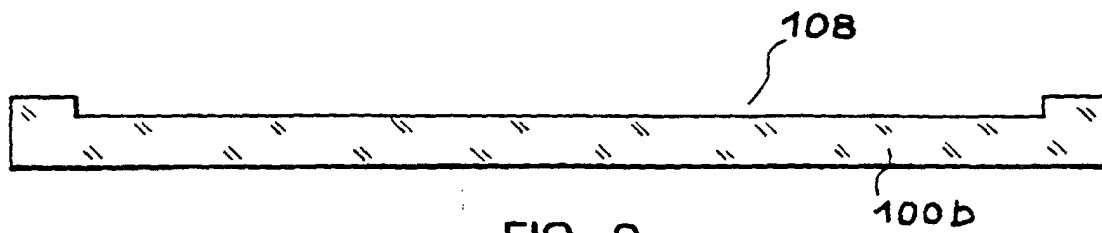


FIG. 9

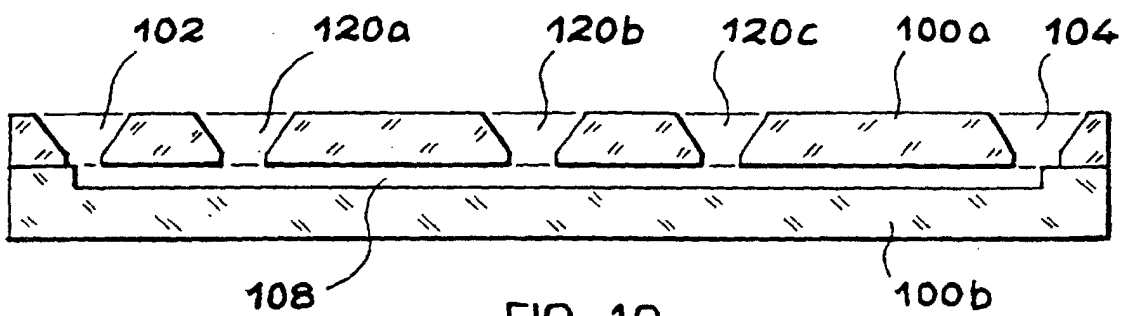


FIG. 10

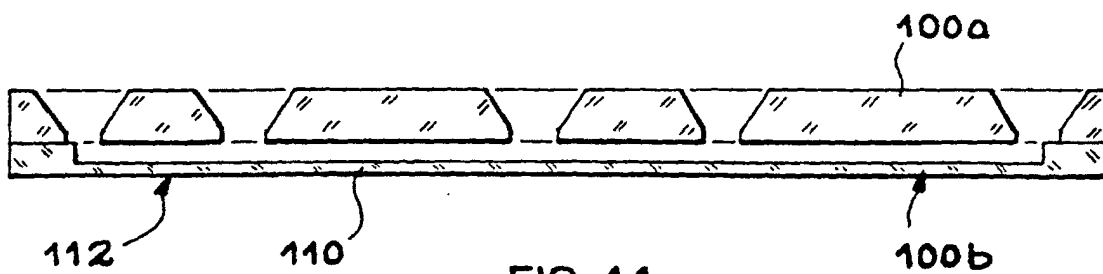


FIG. 11

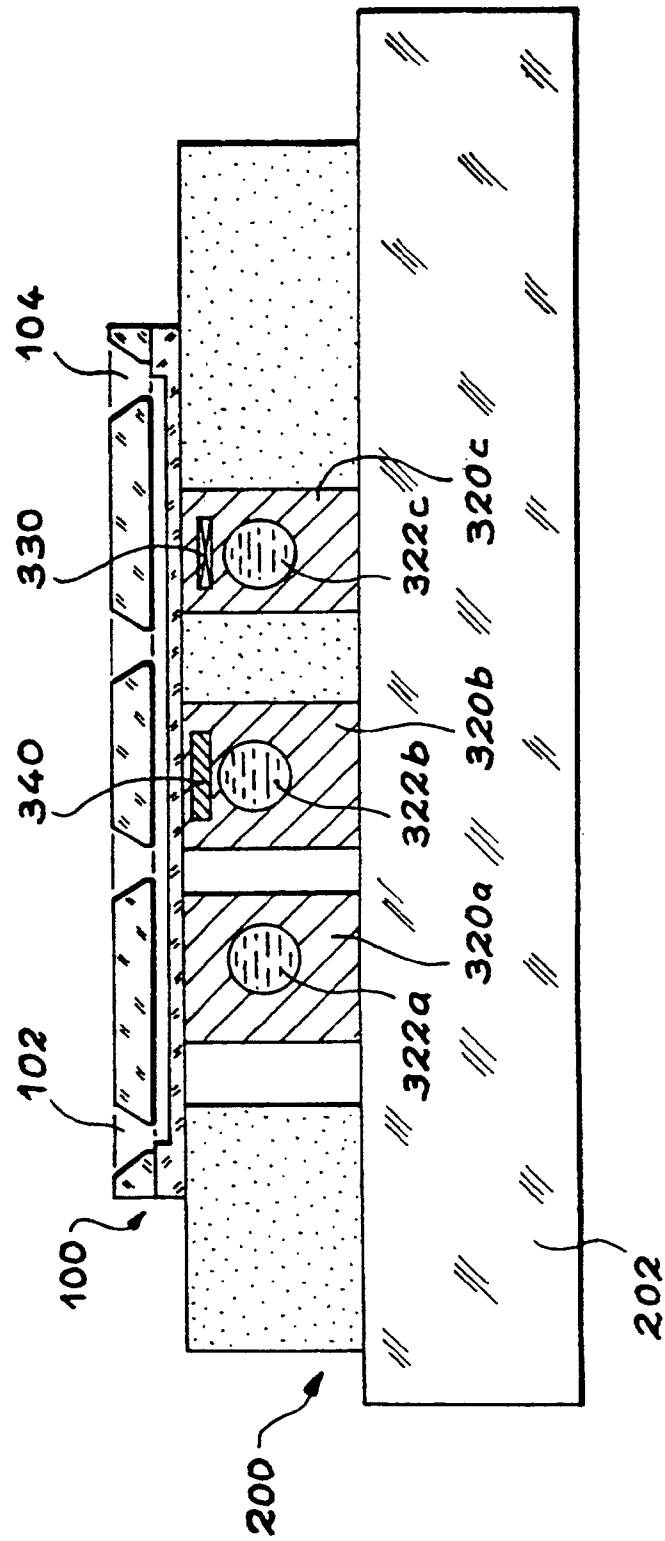


FIG. 12