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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
22 décembre 2005 (22.12.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/120620 A2

(51) Classification internationale des brevets[7] : A61M 25/00

(21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR2005/001162

(22) Date de dépôt international : 10 mai 2005 (10.05.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0405192 13 mai 2004 (13.05.2004) FR

(71) Déposants *(pour tous les États désignés sauf US)* : **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE** [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75016 PARIS (FR). **ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE CACHAN** [FR/FR]; 61, avenue du Président Wilson, F-94235 CACHAN (FR). **ASSOCIATION POUR LES TRANSFERTS DE TECHNOLOGIE DU MANS** [FR/FR]; 20, rue Thalès de Milet, F-72000 LE MANS (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **GRISCOM, Laurent** [FR/FR]; 50, rue de Paris, F-35000 RENNES (FR). **LE PIOUFLE, Bruno** [FR/FR]; 11, allée du Docteur Nouaille, F-35000 RENNES (FR). **LEGEAY, Gilbert** [FR/FR]; 12, rue de l'Eglise, F-72650 SAINT SATURNIN (FR).

(74) Mandataires : **GOULARD, Sophie** etc.; CABINET ORES, 36, rue de St Pétersbourg, F-75008 PARIS (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— *sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

WO 2005/120620 A2

(54) **Title:** DURABLE HYDROPHILIC MOULDABLE POLYMER COMPOSITION, AQUEOUS FLUID CHANNELS BASED ON SAID COMPOSITION, MICROFLUIDIC SYSTEM INCORPORATING SAID CHANNELS AND METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF

(54) **Titre :** COMPOSITION DE POLYMERES MOULABLES A CARACTERE HYDROPHILE DURABLE, CANAUX POUR FLUIDES AQUEUX A BASE DE CETTE COMPOSITION, SYSTEME MICROFLUIDIQUE INCORPORANT CES CANAUX ET SON PROCEDE DE FABRICATION

(57) **Abstract:** The invention relates to a durable hydrophilic non-porous surface-modified polymer composition, to aqueous fluid channels based on said composition, to a microfluidic system comprising said channels, to a method for the production thereof and to a microfluidic chip or cells incorporating said composition.

(57) **Abrégé :** La présente Invention concerne une composition non poreuse de polymère modifiée en surface à caractère hydrophile durable, des canaux pour fluides aqueux à base de cette composition, un système microfluidique comportant ces canaux, son procédé de fabrication et une puce microfluidique ou à cellules l'incorporant.

COMPOSITION DE POLYMERES MOULABLES A CARACTERE HYDROPHILE DURABLE, CANAUX POUR FLUIDES AQUEUX À BASE DE CETTE COMPOSITION, SYSTEME MICROFLUIDIQUE INCORPORANT CES CANAUX ET SON PROCEDE DE FABRICATION

La présente Invention concerne une composition de polymères moulables modifiée en surface à caractère hydrophile durable, des canaux pour fluides aqueux à base de cette composition, un système microfluidique tel qu'une puce microfluidique comportant ces canaux, son procédé de fabrication et une puce microfluidique incorporant ledit système.

Les systèmes microfluidiques tels que les puces microfluidiques sont constitués de manière connue de substrats inertes et biocompatibles (i.e. utilisables comme support de culture cellulaire) sur lesquels sont formés des réseaux de canaux, et ils sont notamment adaptés pour localiser d'une manière ordonnée sur ces substrats le dépôt de protéines provenant de solutions aqueuses. Ces systèmes microfluidiques sont d'une importance majeure dans des domaines d'activité tels que le biomédical, la génétique, la pharmacologie et la chimie analytique, de synthèse ou combinatoire, du fait qu'ils permettent de réduire les durées de mesure, de validation et les volumes de réactifs nécessaires à des analyses.

Ces systèmes microfluidiques sont usuellement constitués d'un matériau polymérique souple, tel qu'une composition de caoutchouc réticulée à base d'un caoutchouc silicone. Avantageusement, on choisit un polydiméthylsiloxane (PDMS) à titre de caoutchouc silicone, essentiellement du fait qu'il s'agit d'un élastomère largement répandu, perméable aux gaz, inerte et biocompatible et qu'il est aisément moulable en permettant, à un coût réduit, une reproduction satisfaisante dans un micro-moule des microstructures destinées à former des canaux fluidiques à l'échelle du micromètre et même du nanomètre. En outre, la transparence à la lumière visible et l'absence de phénomène d'auto-fluorescence qui caractérise les PDMS autorisent divers modes d'observation microscopique des cellules à l'intérieur de ces microstructures.

Cependant, un inconvénient des PDMS est qu'ils présentent un caractère très hydrophobe, ce qui signifie que les parois des canaux des systèmes microfluidiques en PDMS ne sont pas mouillables par les liquides aqueux. C'est la raison pour laquelle on a cherché à développer des méthodes pour rendre les PDMS hydrophiles en surface. On sait de longue date que des traitements de surface par plasma permettent de conférer aux PDMS un état hydrophile satisfaisant. Néanmoins, il s'avère que cet état hydrophile n'est que momentané, du fait qu'il cesse à l'air libre au bout de quelques heures.

L'article de Papra A. *et al.*, (Microfluidic Networks Made of Poly(dimethylsiloxane), Si, and Au Coated with Polyethylene Glycol for Patterning Proteins onto Surfaces, American Chemical Society, Langmuir, 2001, **17**, 4090-4095) présente un procédé prévu pour conférer un caractère hydrophile plus durable à un système microfluidique qui est par exemple à base d'un PDMS, ce procédé consistant essentiellement (cf. page 4091) :

- à soumettre pendant dix secondes la surface du système microfluidique à un traitement d'oxydation par plasma d'oxygène, puis
- à immerger pendant deux heures à température ambiante le système ainsi traité dans une solution d'acide chlorhydrique en milieu aqueux comprenant un poly(éthylène glycol) di(triéthoxysilane) de masse moléculaire moyenne en poids (Mw) égale à 3400 g/mol (Si-PEG-Si ci-après), puis
- à laver le système obtenu, à le soumettre à des traitements de sonification, puis à le sécher et à le nettoyer,
- à soumettre pendant 10 minutes le système ainsi traité à une oxydation par une solution à base d'eau oxygénée et d'acide sulfurique,
- à laver à nouveau le système ainsi oxydé puis à le soumettre à de nouveaux traitements de sonification et de séchage,
- à immerger à nouveau pendant 18 heures à température ambiante le système obtenu dans ledit Si-PEG-Si en solution dans du toluène et en présence d'acide chlorhydrique pour obtenir, par réaction de greffage du Si-PEG-Si, un revêtement qui adhère au PDMS, puis

- à laver puis à soumettre à un traitement de sonification le système obtenu, afin d'éliminer les résidus non greffés.

Cet article indique que la surface du PDMS ainsi modifiée par greffage conserve un caractère hydrophile pendant environ trois semaines.

On notera que l'adhésion entre le Si-PEG-Si et le PDMS qui est obtenue par la mise en œuvre de ces étapes d'oxydation et de greffage est réalisée grâce à la formation de liaisons covalentes de type siloxane.

Un inconvénient majeur de ce procédé réside dans sa complexité et dans la durée de sa mise en œuvre relativement longue, notamment dues à l'utilisation de solvants, ainsi que dans la difficulté de se procurer dans le commerce le polymère précité Si-PEG-Si, le seul préconisé pour le greffage. Il en résulte un coût de fabrication relativement élevé pour ce système microfluidique, ce qui pénalise fortement ses possibilités d'industrialisation. Il est nécessaire de disposer de procédés simples, rapides et peu onéreux à mettre en œuvre, afin de conserver un faible coût de fabrication, qui est constitué principalement par la production par moulage de systèmes microfluidiques avec des polymères thermoplastiques ou des élastomères hydrophobes.

Un but de la présente Invention est de remédier à ces inconvénients, et ce but est atteint en ce que les Demanderesses viennent de découvrir d'une manière surprenante que si, dans une composition de polymère non poreuse à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe, on modifie ce dernier en surface par au moins un polymère hydrophile spécifiquement lié audit polymère moulable hydrophobe par des liaisons hydrogène, alors cette composition de polymère présente en surface un caractère hydrophile qui est beaucoup plus durable que dans l'art antérieur, pouvant perdurer pendant plusieurs mois au contact de l'air ambiant.

Il en résulte que les compositions de polymères modifiées en surface selon l'Invention, telles que des compositions pour canaux de systèmes microfluidiques, présentent une mouillabilité par les fluides aqueux qui est à la fois satisfaisante et beaucoup plus durable que dans l'art

antérieur, notamment en comparaison de la durée de trois semaines mentionnée dans l'article précité.

Selon une autre caractéristique de l'Invention, lesdites liaisons hydrogène lient des atomes d'hydrogène dudit polymère hydrophile à des groupes oxygénés présents le long de la chaîne dudit polymère moulable hydrophobe.

Ces groupes oxygénés sont susceptibles d'être obtenus en soumettant la composition non poreuse de polymère moulable à un traitement de surface par plasma, de préférence par un plasma froid d'oxygène ou d'argon. Ce traitement de surface est mis en œuvre dans un réacteur à plasma contenant un gaz capable d'activer la surface du polymère moulable en rompant des liaisons silicium-carbone ou silicium-oxygène, de manière à former, à la surface dudit polymère, des radicaux libres instables. Dans le cas d'un plasma d'argon, on notera que ce gaz permet de rompre des liaisons chimiques du polymère qui se recombinent ensuite soit dans le réacteur, soit lors de la remise à l'air ambiant avec des atomes d'oxygène de l'air qui captent très facilement ces radicaux libres.

Ce traitement par plasma peut être mis en oeuvre dans le domaine des radiofréquences (typiquement à 13,56 MHz) ou des micro-ondes (typiquement à 233 GHz). De préférence, cette étape de traitement par plasma est mise en œuvre dans le domaine des radiofréquences.

On notera que ces liaisons hydrogène sont de faible énergie (environ 4,5 kcal/mol) mais sont présentes en nombre beaucoup plus élevé que les liaisons covalentes de plus haute énergie (entre 80 et 120 kcal/mol) caractérisant le procédé précité dudit article pour rendre des compositions de caoutchouc hydrophiles, ce qui procure une adhésion satisfaisante dudit polymère hydrophile audit polymère moulable. De plus, cette adhésion s'effectue spontanément, ce qui signifie que le polymère hydrophile ainsi lié ne subit aucune modification de sa structure chimique, contrairement aux modifications structurelles impliquées par le greffage en présence d'un solvant qui sont inhérentes à l'établissement des liaisons covalentes dans le procédé dudit article.

D'une manière similaire, les Demanderesses ont découvert que si l'on soumet les interfaces paroi-fluide de canaux pour fluides aqueux, canaux tels que ceux d'un système microfluidique et délimités par des parois souples biocompatibles comportant au moins une couche non poreuse de polymère à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe, à un traitement pour la formation de groupes oxygénés le long de la chaîne dudit polymère, puis si l'on dépose sur la couche de polymère ainsi traitée une pellicule à base d'au moins un polymère hydrophile qui adhère à cette couche par des liaisons hydrogène, alors on obtient des canaux dont les interfaces paroi-fluide sont beaucoup plus durablement hydrophiles que dans l'art antérieur.

Selon une caractéristique préférentielle de l'Invention relative à un système microfluidique, lesdits canaux peuvent avoir une section circulaire, ovale ou polygonale et présentent chacun une dimension interne allant de 2 µm à 500 µm. On notera que la mouillabilité précitée peut se traduire qualitativement par la capacité d'un fluide aqueux, tel que de l'eau, à circuler dans ces micro-canaux sans formation de bulle d'air (les bulles d'air étant représentatives de zones de mouillabilité insuffisantes).

Selon l'Invention, les canaux des systèmes microfluidiques peuvent être constitués d'une ou plusieurs matières différentes choisies notamment parmi le silicone, le verre, les matériaux thermoplastiques, le silicium, etc... à condition bien entendu que les interfaces paroi-fluide de ces canaux comportent au moins une couche non poreuse de polymère à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe tel que défini précédemment.

L'Invention propose également un procédé de fabrication d'un système microfluidique tel que défini précédemment, comprenant les étapes suivantes :

(i) la formation d'un réseau de canaux dans une ébauche dudit système microfluidique qui est constituée d'une composition non poreuse de polymère à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe, par exemple en réticulant cette composition dans un micro-moule lorsque ledit polymère est réticulable, puis

(ii) un traitement de surface, par exemple un traitement de surface par plasma, des parois respectives des canaux obtenus en (i) pour l'obtention d'une couche non poreuse de polymère dans laquelle ledit polymère moulable comporte des groupes oxygénés le long de la chaîne, puis

(iii) le dépôt d'une pellicule à base d'au moins un polymère hydrophile sur la couche non poreuse de polymère moulable obtenue en (ii), en formant spontanément des liaisons hydrogène entre des atomes d'hydrogène dudit polymère hydrophile et des atomes d'oxygène présents le long de la chaîne dudit polymère moulable.

On notera que ce procédé selon l'Invention est caractérisé par une simplicité accrue de mise en œuvre par rapport au procédé objet dudit article et, par conséquent, par un coût de fabrication des systèmes microfluidiques qui est réduit d'une manière significative par rapport à celui de l'art antérieur. En particulier, il convient de noter que ce procédé selon l'Invention est applicable à tous types de polymères synthétiques ou naturels qui présentent un caractère au moins moyennement hydrophile et qui sont capables d'interagir spontanément par contact avec des polymères moulables hydrophobes oxydés, par exemple suite au traitement par plasma.

Il permet par ailleurs d'obtenir des systèmes microfluidiques dans lesquels les interfaces paroi-fluide de parois des canaux sont durablement hydrophiles.

Par couche non poreuse de polymère moulable, on entend d'une manière générale dans la présente description, une couche constituée d'une composition de polymère moulable, ladite composition ayant éventuellement été le siège d'une réticulation, par l'intermédiaire d'un système de réticulation que comprend alors cette composition.

Le ou chaque polymère moulable utilisable dans la composition selon l'Invention est avantageusement choisi parmi les élastomères, les élastomères siliconés tels que par exemple les polyorganosiloxanes (de préférence de grade biomédical) comme le polydiméthylsiloxane (PDMS), et les polymères thermoplastiques tels que le

polypropylène, le polyéthylène, les copolymères acrylonitrile - butadiène - styrène (ABS), le polyétherimide, etc....

Parmi ces polymères moulables, les polymères réticulables tels que les élastomères et les élastomères siliconés, sont préférés.

Les polymères de type polyorganosiloxane utilisables selon l'Invention sont de préférence préparés par réticulation à partir d'un système à deux composants qui comprend :

- des oligomères siloxaniques, tels que des diméthylsiloxanes, comportant des groupes vinyle à leurs extrémités de chaîne, et
- un système de réticulation organométallique à base d'un siloxane, tel qu'un méthylhydrosiloxane, et d'un complexe catalytique de platine.

De préférence, le rapport massique (système de réticulation/ polyorganosiloxane) varie de 5 à 15.

On notera que les élastomères siliconés, tel que les PDMS, sont avantageusement associés dans cette composition de type bicomposants à une charge inorganique, telle que des silices fonctionnalisées, ce qui confère à la couche d'élastomère une transparence à la lumière visible et une absence de phénomène d'auto-fluorescence, ce qui est particulièrement recherché dans les systèmes microfluidiques tels que les puces microfluidiques.

La composition de polymère moulable peut comprendre en outre d'autres additifs, pourvu qu'ils soient biocompatibles.

L'étape de dépôt, sur la couche non poreuse de polymère moulable ainsi traitée, d'une pellicule à base d'au moins un polymère hydrophile adhérant à ladite couche par des liaisons hydrogène, est de préférence mise en œuvre sensiblement dans un délai d'une heure après la fin du traitement par plasma et, à titre encore plus préférentiel, quelques secondes après la fin de ce traitement, du fait de la durabilité des radicaux libres précités qui est typiquement de quelques heures, en particulier pour les élastomère siliconés.

Cette pellicule est susceptible d'être obtenue par dépôt d'une solution aqueuse du polymère hydrophile sur les parois des canaux préalablement traités, pour la formation desdits groupes oxygénés. En d'autres termes, le polymère hydrophile est susceptible d'être lié au polymère moulable par mise en contact d'une solution aqueuse dudit polymère hydrophile avec ledit polymère moulable.

Dans le cas d'une puce microfluidique, on obtient de préférence cette pellicule, en particulier dans le cas de micro-trous et micro-canaux de 50 à 500 µm de dimension interne, par dépôt de gouttes de la solution aqueuse qui s'étalent par effet de capillarité et, dans le cas de canaux fermés de 2 µm à 200 µm de largeur et de 2 µm à 200 µm de hauteur, on injecte cette solution aqueuse à l'aide d'un pousse-seringue.

Après un laps de temps qui est par exemple compris entre 1 et 5 minutes environ et qui est nécessaire à l'étalement de la solution aqueuse le long des parois respectives des trous ou des canaux, on rince à l'eau le microsystème ainsi obtenu puis on le sèche, par exemple par un jet d'azote ou en étuve à une température comprise entre 40 et 50° C environ.

Selon une caractéristique préférentielle de l'Invention, cette solution aqueuse présente une viscosité, mesurée à 25° C selon la technique Brookfield au moyen d'un viscosimètre de type "DIN" équipé d'une aiguille de type "DIN 30D" et pour une vitesse de rotation de 300 à 500 tours / minute, qui est comprise entre 1 et 10 centipoises.

Selon une caractéristique préférentielle de l'Invention relative à des canaux de systèmes microfluidiques, et en particulier de puce microfluidique de dimension interne allant de 2 µm à 500 µm, ladite pellicule présente une épaisseur inférieure à 1 µm et, à titre encore plus préférentiel, une épaisseur allant de 50 nm à 500 nm.

On notera que cette épaisseur réduite de la pellicule permet de ne pas boucher les micro-canaux et les micro-capillaires des systèmes microfluidiques, et qu'une pellicule plus épaisse (par exemple de l'ordre de plusieurs µm) serait susceptible d'être le siège de craquelures indésirables.

D'une manière générale, on utilise à titre de polymère(s) hydrophile(s) pour la pellicule des canaux selon l'Invention des polymères synthétiques ou naturels de masse moléculaire moyenne en nombre Mn de préférence supérieure à 5 000 g/mol et, à titre encore plus préférentiel, comprise entre 10 000 g/mol et 500 000 g/mol.

Selon un mode de réalisation préférentiel de l'Invention, ledit polymère hydrophile est choisi dans le groupe constitué par les polyvinylpyrrolidones, les alcools polyvinyliques, les polyoxyéthylènes, les polyéthylène glycols, les polypropylène glycols, les copolymères d'acétate de vinyle, les polymères d'acrylamide, les polyacrylates et les polyméthacrylates.

Encore plus préférentiellement, ledit polymère est un homopolymère de vinylpyrrolidone (PVP) qui est présent dans ladite solution aqueuse selon une fraction massique comprise entre 0,5 % et 3 %. On peut par exemple utiliser des PVP commercialisés par la société BASF sous la dénomination "Kollidon K 30" ou bien "Kollidon K 90".

A titre de d'alcool polyvinylique (PVA), on peut par exemple utiliser un PVA commercialisé par la société Hoechst (Clariant) sous la dénomination "Mowiol" et, à titre de polyéthylène glycol, de polypropylène glycol, d'homopolymère et de copolymères d'acrylamide, on peut par exemple utiliser ceux commercialisés par la société Sigma.

A titre de polyacrylates et de polyméthacrylates, on peut par exemple utiliser ceux commercialisés par la société Degussa (Degalan).

Selon un autre mode de réalisation de l'Invention, ledit polymère hydrophile est choisi dans le groupe constitué par les dérivés cellulosiques, les alginates et les polyholosides.

Selon un autre aspect de la présente Invention, un système microfluidique selon l'Invention comporte un réseau de canaux dont l'un au moins ou chacun d'entre eux est tel que défini ci-dessus, i.e. délimité par une paroi souple comportant une couche non poreuse de polymère, à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe à groupes oxygénés le long de la chaîne, susceptibles d'être obtenus par un traitement de surface dudit polymère moulable hydrophobe par plasma, et une pellicule à base d'au

moins un polymère hydrophile qui recouvre ladite couche à une interface paroi-fluide du canal et qui adhère à ladite couche par lesdites liaisons hydrogène, de telle sorte que les parois de ces canaux soient durablement hydrophiles.

Ainsi, les systèmes microfluidiques conformes à l'Invention sont des dispositifs miniaturisés incorporant des systèmes de canaux durablement hydrophiles et de dimensions micrométriques qui peuvent notamment se présenter sous la forme :

- de puces microfluidiques utilisables en particulier pour des applications biologiques, médicales pharmacologiques, cosmétiques, génomiques, etc... ;

- de puces à cellules et en particulier de puces à cellules vivantes.

Les caractéristiques précitées de la présente Invention, ainsi que d'autres, seront mieux comprises à la lecture de la description suivante de plusieurs exemples de réalisation de l'Invention, donnés à titre illustratif et non limitatif, ladite description étant réalisée en relation avec les dessins joints, parmi lesquels :

La figure 1 est un graphique illustrant l'évolution de la mouillabilité par l'eau d'échantillons lisses "témoin" et selon l'Invention, en fonction de la durée de leur exposition à l'air ambiant,

La figure 2 est un graphique illustrant l'évolution de la mouillabilité par l'eau d'échantillons lisses "témoin" et selon l'Invention, en fonction de la durée de leur trempage antérieur dans de l'eau,

La figure 3 est un graphique illustrant l'évolution de la mouillabilité par l'eau des échantillons utilisés pour la figure 2, en fonction de la température caractérisant leur séjour en chaleur sèche, et

La figure 4 est un graphique illustrant l'évolution de la mouillabilité par l'eau des échantillons utilisés pour les figures 2 et 3, en fonction du nombre de cycles caractérisant leur séjour en chaleur humide.

Dans les exemples qui suivent, on a procédé à des mesures de mouillage de parois par la méthode dite de la goutte d'eau, bien connue de

l'homme du métier. Cette méthode consiste essentiellement à déposer une goutte d'eau sur la surface de la paroi à tester au moyen d'une micro-seringue et avec une caméra de prise de vue, à mesurer à l'aide d'un goniomètre automatique l'angle de contact entre la base de la goutte sur la surface et la tangente extérieure à cette surface. De manière connue, une surface est considérée comme hydrophobe si l'angle de contact mesuré est supérieur à 90°, et hydrophile si cet angle de contact est inférieur à 90°.

EXEMPLE 1 : Essais de mouillabilité par l'eau d'échantillons lisses

On a utilisé pour l'ensemble de ces essais, des échantillons constitués d'une composition non poreuse d'élastomère réticulé de type à deux composants, comprenant un PDMS de grade biomédical associé à un système de réticulation organométallique, selon un rapport massique de mélangeage (système de réticulation/ PDMS) égal à 10.

Chacun des échantillons présente une épaisseur allant de 1 à 3 mm et une surface lisse de superficie S environ égale à 2 cm^2.

1) Première série d'essais "témoin" et selon l'Invention :

On a utilisé des échantillons initialement constitués d'une composition de PDMS commercialisée par Dow Corning sous la dénomination Sylgard RTV 184, et l'on a soumis à des tests de mouillage selon la méthode précitée de mesure d'angle de contact d'une goutte d'eau :

- une paire d'échantillons "témoin" T0 non traités (i.e. dont l'interface avec l'eau est constituée de la composition de PDMS initiale),
- quatre paires d'échantillons "témoin" T1 à T4 traités par un plasma d'argon ou d'oxygène dans un réacteur de 20 litres de capacité et à émetteur de type capacitif émettant à 13,56 MHz, à une même puissance de radiofréquences de 50 W et pendant des durées de 5 et 10 min. pour chacun des deux plasmas (argon ou oxygène), et
- quatre paires d'échantillons selon l'Invention I1 à I4 respectivement obtenus par trempage pendant quelques secondes dans une solution aqueuse à 1 % d'un PVP (commercialisé par BASF sous la dénomination "Kollidon K 90") des échantillons T1 à T4 quelques instants

après leur obtention, puis par séchage à l'étuve à 45° C des échantillons ainsi revêtus d'une pellicule à base de PVP, laquelle présente une épaisseur de 100 nm environ.

Le tableau I ci-après expose les résultats d'angles de contact moyens obtenus à un instant t_0 immédiatement consécutif à l'obtention des échantillons, à un instant t_1 correspondant à une exposition des échantillons pendant 2 heures à l'air ambiant et à un instant t_2 correspondant à une exposition des échantillons pendant 4 jours à l'air ambiant.

Tableau I :

Echantillons	Traitement plasma (50 W)	Trempage solution aqueuse PVP	Angles de contact moyens (degrés) des gouttes d'eau		
			t_0= 0	t_1 = 2 h	t_2 = 4 j
T0	néant	néant	113	113	113
T1	Argon 5 min.	néant	30,4	46,8	97
T2	Argon 10 min.	néant	41,1	51,2	101
T3	Oxygène 5 min.	néant	22,7	35	86
T4	Oxygène 10 min.	néant	27,3	45,2	92
I1	Argon 5 min.	oui	24,9	37	48
I2	Argon 10 min.	oui	37,8	44,5	51,8
I3	Oxygène 5 min.	oui	27,3	25,9	23,1
I4	Oxygène 10 min.	oui	23,7	23,8	22,4

Ce tableau I montre que les traitements par plasma d'argon ou d'oxygène ne confèrent aux échantillons "témoin" T1 à T4 qu'un état hydrophile momentané qui diminue sensiblement au bout de 2 heures (voir par exemple les angles de contact de 46,8° et 51,2 obtenus pour les paires d'échantillons T1 et T2 respectivement, uniquement soumis à un traitement de

surface par plasma d'argon pendant 5 ou 10 minutes) et cesse pratiquement au bout de 4 jours, comme cela est illustré par les angles de contact moyen de 97 et 101° qui caractérisent respectivement la mouillabilité à l'eau de la paire d'échantillons T1 et T2 après 4 jours, et qui sont très proches de la valeur de 113° représentative du caractère hydrophobe de la paire d'échantillons T0 à base de PDMS non traité.

Ce tableau I montre au contraire que le dépôt d'une pellicule hydrophile consécutivement à l'un ou l'autre des traitements de surface par plasma d'argon ou d'oxygène confère aux échantillons selon l'Invention I1 à I4 un caractère hydrophile durable, qui est très bien conservé au terme de 4 jours (voir les angles de contact très inférieurs à 90° obtenus pour les échantillons I1 à I4 conformes à l'Invention).

2) Seconde série d'essais "témoin" et selon l'Invention :

Le but de ces essais a été de quantifier la durabilité du dépôt de la pellicule selon l'Invention, qui traduit la solidité des liaisons hydrogène entre les atomes d'hydrogène du PVP (choisi à titre de polymère hydrophile) et les atomes d'oxygène du PDMS ayant des groupes oxygénés le long de la chaîne, suite à son traitement par plasma.

A cet effet, on a utilisé des échantillons initialement constitués d'une composition de PDMS réticulée commercialisée par la société Dow Corning sous la dénomination Sylgard RTV 184., et l'on a soumis à des tests de mouillage selon la méthode précitée de mesure de l'angle de contact d'une goutte d'eau :

- un échantillon "témoin" T0' non traité (i.e. dont l'interface avec l'eau est constituée de la composition de caoutchouc initiale),

- un échantillon "témoin" T1' traité par un plasma d'oxygène dans un réacteur cylindrique "Branson IPC" d'environ 20 litres, pourvu d'un émetteur capacitif émettant à 13,56 MHz à une puissance de radiofréquences comprise entre 20 et 50 W et pendant une durée comprise entre 2 et 10 min., étant précisé qu'après mise sous vide à un niveau primaire compris entre 1 et 10 Pa, le plasma de traitement à base d'oxygène est émis pour l'obtention d'un niveau de vide compris entre 3 et 15 Pa, et

- un échantillon selon l'Invention I1' obtenu par trempage pendant quelques secondes de l'échantillon "témoin" T1', quelques instants après son obtention, dans une solution aqueuse à 1 % du PVP de dénomination "Kollidon K 90", puis par séchage à l'étuve à 45°C de l'échantillon revêtu de cette pellicule à base de PVP.

a) Evolution de la mouillabilité à l'air ambiant :

La figure 1 illustre en échelle semi-logarithmique l'évolution de l'angle de contact α (en degrés) de gouttes d'eau en contact avec les surfaces lisses des échantillons T0', T1' et I1', en fonction de la durée d'exposition t (en heures) à l'air ambiant de ces échantillons.

Cette figure 1 montre que, au vu des interpolations logarithmiques visibles en pointillés, le caractère hydrophile de l'échantillon selon l'Invention I1' est beaucoup plus durable que celui de l'échantillon T1' traité uniquement par plasma, qui est seulement momentané et cesse au bout d'un jour (angle de contact supérieur à 90° pour T1' au bout de 24 heures). En effet, il apparaît que le caractère hydrophile de l'échantillon I1' est non seulement sensiblement intact après 8 jours d'exposition à l'air ambiant mais, par extrapolation, peut être considéré comme toujours présent après 10 000 heures d'une telle exposition (soit plus d'un an) avec un angle de contact de 66° et même après 100 000 heures (soit plus de 11 ans) avec un angle de contact de 72°, angles qui sont nettement inférieurs à la limite d'hydrophobie reconnue de 90°.

On notera que cette augmentation extrêmement lente de l'angle de contact avec le temps qui caractérise l'échantillon I1' selon l'Invention témoigne d'une diminution également très lente de l'énergie de surface de cet échantillon (inversement proportionnelle à l'angle de contact) et, par conséquent, de la stabilité de l'adhésion de la pellicule de PVP à la couche à base de PDMS, par l'intermédiaire des liaisons hydrogène reliant le PVP au PDMS oxydé.

b) Evolution de la mouillabilité après trempage dans de l'eau :

La figure 2 illustre en échelle semi-logarithmique l'évolution de l'angle de contact α (en degrés) de gouttes d'eau en contact avec les surfaces

lisses des échantillons T0', T1' et I1', en fonction de la durée t (en heures) de trempage de ces échantillons dans de l'eau distillée.

Cette figure 2 montre que le caractère hydrophile de l'échantillon selon l'Invention I1' est également durable suite à un trempage dans de l'eau pendant plusieurs jours (voir les valeurs d'angle de contact pour I1' inférieures à 60° après 100 heures de trempage, soit plus de 4 jours), et que ce caractère hydrophile de l'échantillon I1' diminue moins rapidement dans le temps suite à un trempage pendant ces 100 heures que celui de l'échantillon T1' traité uniquement par plasma.

c) Evolution de la mouillabilité après séjour en chaleur sèche :

La figure 3 illustre l'évolution de l'angle de contact α (en degrés) de gouttes d'eau en contact avec les surfaces lisses des échantillons T0', T1' et I1', en fonction de la température T (en ° C) de conservation de ces échantillons régnant dans un four à chaleur sèche et à air circulant. On a soumis les échantillons à une pluralité de cycles de chauffage-refroidissement, en augmentant progressivement la température de chauffage du four de 20° C à 200° C puis, pour chaque température de chauffage considérée, en mesurant l'angle de contact d'une goutte d'eau à la température ambiante après avoir extrait l'échantillon du four pour le refroidir.

Cette figure 3 montre notamment que le caractère hydrophile de l'échantillon selon l'Invention I1' diminue moins rapidement avec l'augmentation de la température de chauffage que celui de l'échantillon T1' traité uniquement par plasma, celui-ci étant pratiquement conservé même après un séjour à une température de 120° C (correspondant à un angle de contact nettement inférieur à la limite de 90°) contrairement à l'échantillon T1' qui devient hydrophobe à une température d'environ 80° C.

d) Evolution de la mouillabilité en chaleur humide :

La figure 4 illustre l'évolution de l'angle de contact α (en degrés) de gouttes d'eau en contact avec les surfaces lisses des échantillons T0', T1' et I1', en fonction d'un nombre de cycles de mise en chaleur humide en autoclave à 120° C pour la mesure des angles de contact à la température ambiante.

Cette figure 4 montre également que le caractère hydrophile de l'échantillon selon l'Invention I1' diminue moins rapidement avec le nombre de cycles en autoclave que celui de l'échantillon T1' traité par plasma.

e) Conclusion :

L'adhésion de la pellicule hydrophile selon l'Invention à la couche à base de caoutchouc silicone oxydé est suffisamment forte du fait des liaisons hydrogène précitées, pour conférer à une paroi de canal à base de ce caoutchouc silicone et de cette pellicule une mouillabilité satisfaisante et durable vis-à-vis de fluides aqueux, à une température inférieure ou égale à 120° C. Il en résulte que le procédé selon l'Invention pour rendre une paroi de canal hydrophile est bien adapté pour la fabrication de systèmes microfluidiques, en particulier de puces microfluidiques.

EXEMPLE 2 : Fabrication d'un système microfluidique selon l'Invention et caractère durablement hydrophile obtenu

1) Fabrication d'un système microfluidique

Dans un premier temps, on a réticulé dans un micro-moule tridimensionnel à base d'une résine commercialisée par la société Microchem sous la dénomination "SU-8", la composition à base de PDMS commercialisée par la société Dow Corning sous la dénomination "Sylgard RTV 184", pour obtenir par cuisson à 70° C une ébauche réticulée du système microfluidique comportant un réseau de micro-canaux. Après 2 heures, on a découpé le PDMS et on l'a enlevé du moule pour le stocker sur une lame de verre.

Dans un second temps, on a soumis les canaux de cette ébauche à un traitement d'activation par plasma de la surface du PDMS, pour la formation de groupes oxygénés le long de la chaîne du PDMS et le collage ultérieur de la zone "microstructurée" de l'ébauche (i.e. où est formé le réseau de canaux) sur un substrat de type silice, verre ou PDMS.

Le réacteur à plasma utilisé (d'un volume d'environ 60 litres) est commercialisé par la société VAS sous la dénomination "RIE 300", et il comporte un émetteur de type capacitif à 13,56 MHz. On a placé l'ébauche du microsystème dans le bâti du réacteur de telle manière que la zone

"microstructurée" ainsi que le substrat soient tournés vers le haut. Après la réalisation d'un vide secondaire de 2.10^{-6} mbar, on a émis les gaz réactifs (plasmas d'oxygène ou d'argon, au choix) pour l'obtention d'une pression de traitement de 0,2 mbar. La puissance des radio-fréquences émises est comprise entre 30 et 40 W pour une durée de traitement de 20 à 30 secondes.

Après la remise à l'air ambiant, on a mis en contact l'une sur l'autre ladite zone "microstructurée" de l'ébauche traitée et la face du substrat exposée au plasma, et on les a maintenues ainsi pendant quelques secondes, pour l'obtention du collage de cette zone de l'ébauche sur le substrat.

Dans un troisième temps, on a procédé au dépôt de la pellicule hydrophile sur l'ébauche ainsi traitée, dans l'heure qui a suivi ce traitement par plasma. On a injecté à cet effet dans les canaux des gouttes de la solution aqueuse à 0,2 % du PVP vendu sous la dénomination commerciale Kollidon® K 90, de la manière suivante :

- pour des micro-trous et des micro-canaux de 50 µm à 500 µm de dimension interne, on a déposé sur la zone "microstructurée" des gouttes de cette solution aqueuse qui s'étalent par effet de capillarité. Après 1 à 5 minutes, on a rincé à l'eau distillée le microsystème obtenu puis on l'a séché soit par un jet d'azote, soit à 50° C en étuve ;

- pour des canaux fermés de 2 µm à 200 µm de largeur et de 2 µm à 200 µm de hauteur, on a injecté cette solution aqueuse à l'aide d'un pousse-seringue de type "Harvard Instruments". On a programmé à cet effet le débit de 10 à 30 µl/min. pour un total de 50 à 100 µl de solution. On a ensuite rincé à l'eau distillée le microsystème obtenu, puis on l'a séché à 50°C en étuve.

2) Essais de mouillabilité à l'eau réalisés sur ce système

On a pu vérifier que lorsque l'on dépose de l'eau sur ce microsystème pour son aspiration par capillarité dans les canaux, on observe dans ces derniers un ménisque de forme concave et une absence de bulle d'air, ce qui témoigne du caractère très hydrophile des parois des canaux, et

que cette caractéristique est avantageusement conservée plusieurs mois après la fabrication de ce microsystème.

REVENDICATIONS

1. Composition de polymère non poreuse à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe, modifié en surface par au moins un polymère hydrophile, caractérisée en ce que ledit polymère hydrophile est lié audit polymère moulable hydrophobe par des liaisons hydrogène, de telle sorte que ladite composition de polymère soit durablement hydrophile en surface.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit polymère hydrophile est susceptible d'être lié audit polymère moulable hydrophobe par mise en contact d'une solution aqueuse dudit polymère hydrophile avec ledit polymère moulable.

3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que ledit polymère hydrophile présente une masse moléculaire moyenne en nombre Mn supérieure à 5 000 g/mol.

4. Composition selon la revendication 3, caractérisée en ce que ledit polymère hydrophile présente une masse moléculaire moyenne en nombre Mn comprise entre 10 000 g/mol et 500 000 g/mol.

5. Composition selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ledit polymère est choisi dans le groupe constitué par les polyvinylpyrrolidones, les polymères d'alcool vinylique, les polyoxyéthylènes, les polyéthylèneglycols, les polypropylèneglycols, les copolymères d'acétate de vinyle, les polymères d'acrylamide, les polyacrylates et les polyméthacrylates.

6. Composition de caoutchouc selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ledit polymère hydrophile est choisi dans le groupe constitué par les dérivés cellulosiques, les alginates et les polyholosides.

7. Composition selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que lesdites liaisons hydrogène lient des atomes d'hydrogène dudit polymère hydrophile à des groupes oxygénés présents le long de la chaîne dudit polymère moulable hydrophobe.

8. Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que lesdits groupes oxygénés sont susceptibles d'être obtenus par un traitement de surface par plasma dudit polymère moulable.

9. Composition selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère moulable hydrophobe est choisi parmi les élastomères, les élastomères siliconés et les polymères thermoplastiques.

10. Composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que ledit polymère moulable hydrophobe est choisi parmi les polyorganosiloxanes, le polypropylène, le polyéthylène, les copolymères acrylonitrile – butadiène – styrène, et le polyétherimide.

11. Canal pour fluides aqueux délimité par une paroi souple comportant une couche non poreuse de polymère, à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe ayant des groupes oxygénés le long de la chaîne, et une pellicule à base d'au moins un polymère hydrophile qui recouvre ladite couche à une interface paroi-fluide dudit canal, caractérisé en ce que ladite pellicule adhère à ladite couche non poreuse par des liaisons hydrogène, de telle sorte que ladite interface soit durablement hydrophile.

12. Canal selon la revendication 11, caractérisé en ce que ladite pellicule est susceptible d'être obtenue par dépôt d'une solution aqueuse dudit polymère hydrophile.

13. Canal selon la revendication 11 ou 12, caractérisé en ce que ledit polymère hydrophile présente une masse moléculaire moyenne en nombre Mn supérieure à 5 000 g/mol.

14. Canal selon la revendication 13, caractérisé en ce que ledit polymère hydrophile présente une masse moléculaire moyenne en nombre Mn comprise entre 10 000 g/mol et 500 000 g/mol.

15. Canal selon l'une des revendications 11 à 14, caractérisé en ce que ledit polymère hydrophile est choisi dans le groupe constitué par les polyvinylpyrrolidones, les polymères d'alcool vinylique, les polyoxyéthylènes, les polyéthylèneglycols, les polypropylèneglycols, les copolymères d'acétate de vinyle, les polymères d'acrylamide, les polyacrylates et les polyméthacrylates.

16. Canal selon l'une des revendications 11 à 14, caractérisé en ce que ledit polymère hydrophile est choisi dans le groupe constitué par les dérivés cellulosiques, les alginates et les polyholosides.

17. Canal selon l'une des revendications 11 à 16, caractérisé en ce qu'il présente une dimension interne allant de 2 µm à 500 µm, ledit canal étant utilisable dans un système microfluidique.

18. Canal selon la revendication 17, caractérisé en ce que ladite pellicule présente une épaisseur inférieure à 1 µm.

19. Canal selon l'une des revendications 11 à 18, caractérisé en ce que lesdites liaisons hydrogène lient des atomes d'hydrogène dudit polymère hydrophile à des groupes oxygénés présents le long de la chaîne dudit polymère moulable hydrophobe.

20. Canal selon la revendication 19, caractérisé en ce que lesdits groupes oxygénés sont susceptibles d'être obtenus par un traitement de surface par plasma dudit polymère moulable.

21. Canal selon l'une des revendications 11 à 20, caractérisé en ce que ledit polymère moulable hydrophobe est choisi parmi les élastomères, les élastomères siliconés et les polymères thermoplastiques.

22. Canal selon la revendication 21, caractérisé en ce que ledit polymère moulable hydrophobe est choisi parmi les polyorganosiloxanes, le polypropylène, le polyéthylène, les copolymères acrylonitrile – butadiène – styrène, et le polyétherimide.

23. Système microfluidique, caractérisé en ce qu'il comporte un réseau de canaux biocompatibles dont l'un au moins ou chacun d'entre eux est tel que défini à l'une quelconque des revendications 11 à 22.

24. Système microfluidique selon la revendication 23, caractérisé en ce qu'il se présente sous la forme d'une puce microfluidique ou d'une puce à cellules.

25. Procédé de fabrication d'un système microfluidique tel que défini à la revendication 23, comprenant les étapes suivantes :

(i) la formation d'un réseau de canaux dans une ébauche dudit système microfluidique qui est constituée d'une composition de

polymère non poreuse à base d'au moins un polymère moulable hydrophobe, puis

(ii) un traitement de surface des parois respectives des canaux obtenus en (i) pour l'obtention d'une couche non poreuse de polymère dans laquelle ledit polymère moulable comporte des groupes oxygénés le long de la chaîne, puis

caractérisé en ce qu'il comprend en outre l'étape suivante :

(iii) le dépôt d'une pellicule à base d'au moins un polymère hydrophile sur la couche non poreuse de polymère moulable obtenue en (ii), en formant spontanément des liaisons hydrogène entre des atomes d'hydrogène dudit polymère hydrophile et des atomes d'oxygène présents le long de la chaîne dudit polymère moulable.

26. Procédé de fabrication selon la revendication 25, caractérisé en ce que l'étape (iii) est mise en œuvre par mise en contact d'une solution aqueuse dudit polymère hydrophile sur les parois obtenues en (ii).

27. Procédé de fabrication selon la revendication 25 ou 26, caractérisé en ce que l'étape (ii) est mise en œuvre par un traitement par plasma.

1/2

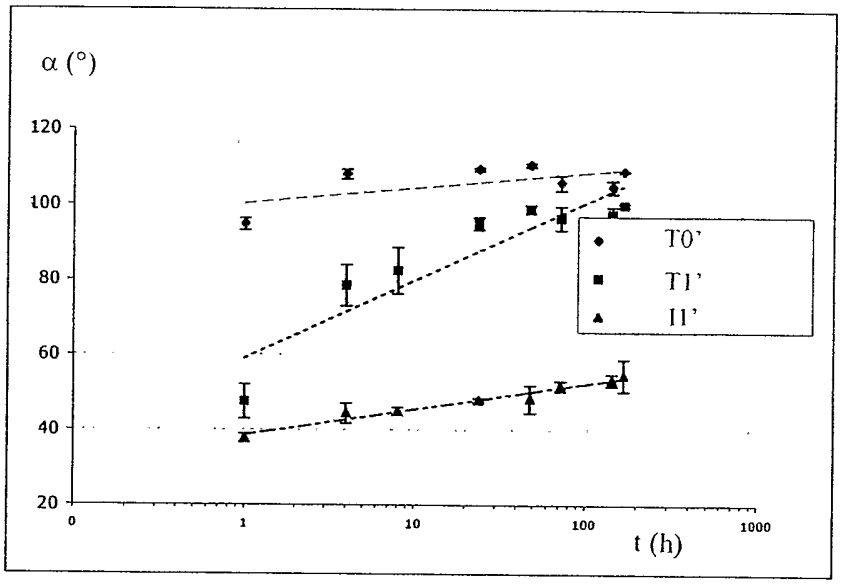

α (°)
120
100
80
60
40
20
0
1
10
100
1000
t (h)
T0'
T1'
I1'

Fig. 1

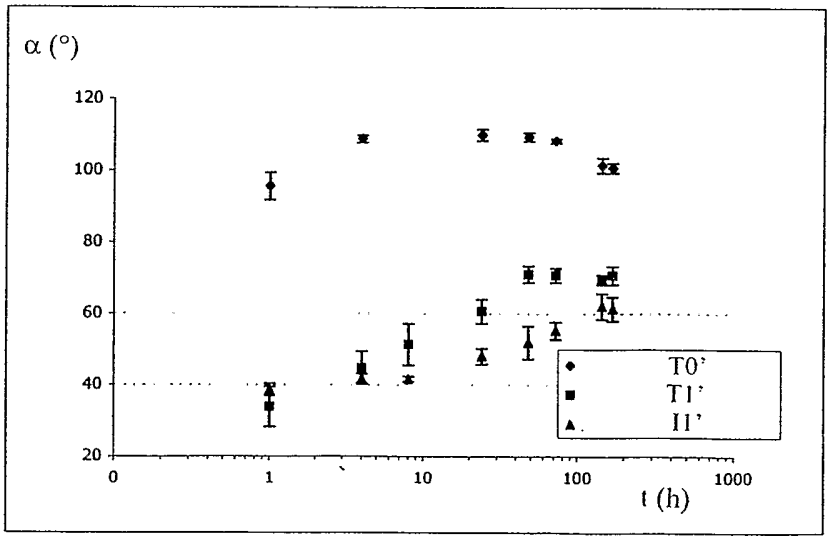

α (°)
120
100
80
60
40
20
0
1
10
100
1000
t (h)
T0'
T1'
I1'

Fig. 2

2/2

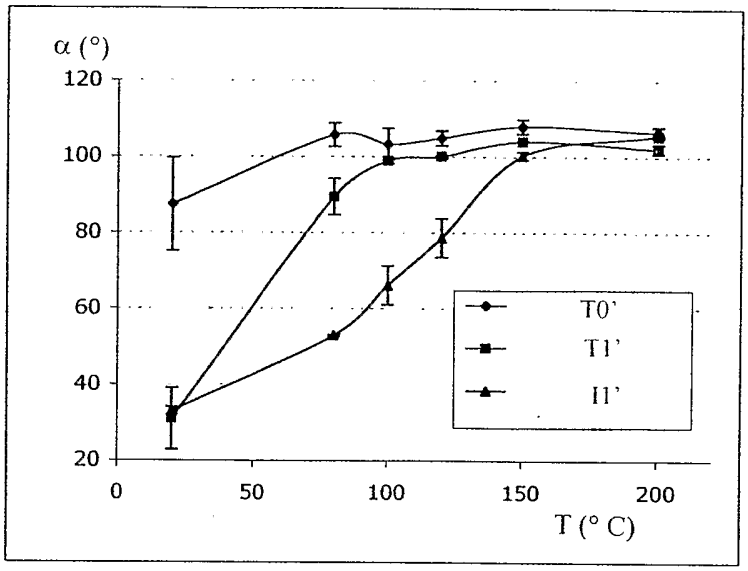

α (°)
120
100
80
60
40
20
0
50
100
150
200
T (° C)
T0'
T1'
I1'

Fig. 3

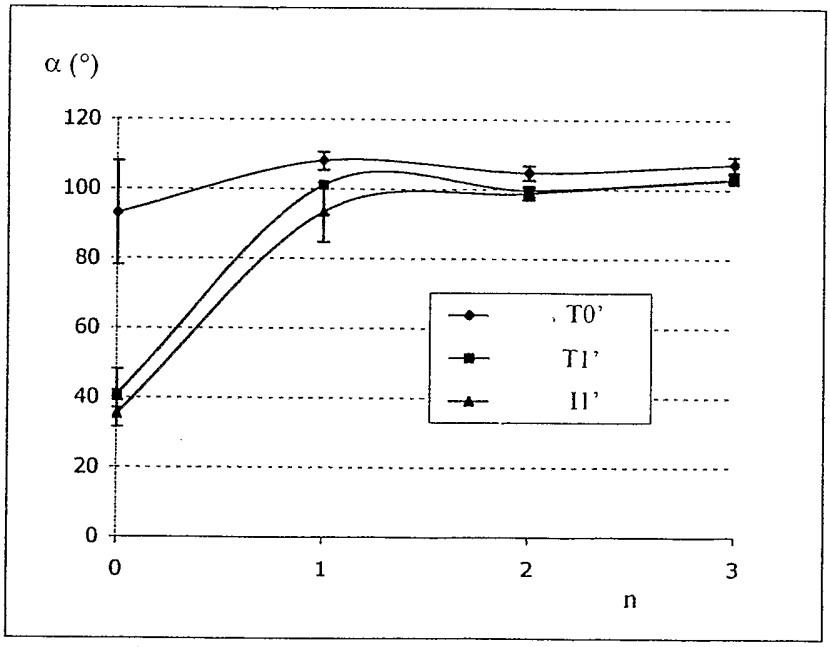

α (°)
120
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
n
T0'
T1'
I1'

Fig. 4