

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-506191
(P2005-506191A)

(43) 公表日 平成17年3月3日(2005.3.3)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
B 0 1 D 57/02	B O 1 D 57/02	4 B O 2 9
B 0 3 C 5/00	B O 3 C 5/00	Z 4 B O 6 3
C 1 2 M 1/34	C 1 2 M 1/34	A 4 D O 5 4
// C 1 2 Q 1/04	C 1 2 Q 1/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁)

(21) 出願番号 特願2003-537819 (P2003-537819)	(71) 出願人 502205846 サントル ナショナル ドゥ ラ ルシェ ルシュ シアンティフィック フランス国 エフ-75016 パリ リ ュ ミシェル-アンジュ 3
(86) (22) 出願日 平成14年10月21日 (2002.10.21)	(74) 代理人 100065248 弁理士 野河 信太郎
(85) 翻訳文提出日 平成16年4月21日 (2004.4.21)	(72) 発明者 フレネア, マリー フランス、エフ-35000 レネ、ブレ イス ド ブレターニュ、3
(86) 国際出願番号 PCT/FR2002/003595	(72) 発明者 ル ピオフル, ブルーノ フランス、エフ-75014 パリ、リュ ドゥ モリン ヴェル、88
(87) 国際公開番号 W02003/035264	
(87) 国際公開日 平成15年5月1日 (2003.5.1)	
(31) 優先権主張番号 01/13600	
(32) 優先日 平成13年10月22日 (2001.10.22)	
(33) 優先権主張国 フランス (FR)	

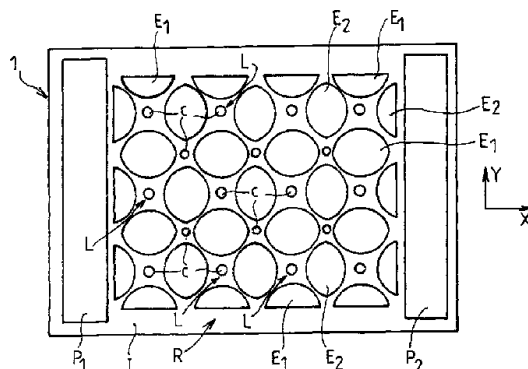
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 誘電泳動により誘電体粒子、特に生物細胞を取り扱うシステム

(57) 【要約】

本発明は、媒質に懸濁され、交流電界の作用に付される誘電体粒子、特に生物細胞を取り扱う誘電泳動システムに関する。該電界の分配は、局部域(L)を区画し得る、電極(E₁、E₂)の規則的なネットワーク(R)を用いて不均一にされており、ここで、負の誘電泳動力の作用の結果として該局部域(L)に粒子を集中させるために、電界は最小限である。本発明のシステムは、電極(E₁、E₂)の配列(R)が多層基板(1)の表面に形成されていることを特徴とする。さらに、該システムは、配列(R)の同極性の電極(E₁、E₂)が、電極のネットワーク(R)の下に位置して中間レベルに形成された条導体(C₁、C₂)の2つのネットワーク(R₁、R₂)を介して共通電源接点(P₁、P₂)に接続されている。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項1】

局部域(L)の区画に適切な電極(E_1 、 E_2)の規則的配列(R)により不均一にされており、負の誘電泳動力の作用により粒子を該局部域(L)に集中させるのに最小限である交流電界の分配の作用に付される、媒質中の懸濁液中の誘電体粒子、特に生物細胞を操作する誘電泳動を用いるためのシステムであって、

電極(E_1 、 E_2)の配列(R)が多層基板(1)の表面に形成され、かつ該配列(R)の同極性の電極(E_1 、 E_2)が、電極の配列(R)の下に位置して中間レベルに形成された導体トラック(C_1 、 C_2)の2つの配列(R_1 、 R_2)を介してそれぞれの共通電源パッド(P_1 、 P_2)に接続されていることを特徴とするシステム。

10

【請求項2】

多層基板(1)が、少なくとも1つのベース基板(2)、該ベース基板(2)上に堆積されて導体トラック(C_1 、 C_2)の2つの配列(R_1 、 R_2)を形成する導体層(5)、および電極(E_1 、 E_2)の配列(R)を形成するための、該導体層(5)上に堆積された絶縁層(1)を含むことを特徴とする、請求項1に記載のシステム。

【請求項3】

電極の配列(R)が、絶縁層(1)を通り抜ける孔(9)を介して導体トラック(C_1 、 C_2)の配列(R_1 、 R_2)に接続されることを特徴とする、請求項2に記載のシステム。

【請求項4】

導体トラック(C_1 、 C_2)の2つの配列(R_1 、 R_2)が、交互嵌合していることを特徴とする、請求項2または請求項3に記載のシステム。

20

【請求項5】

電極(E_1 、 E_2)がX軸に平行な複数の列で規則正しい間隔をあけて離れており、いずれの1つの列の電極が同じ極性を有し、そして2つの近接した列の電極が反対の極性であることを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

【請求項6】

粒子の集中のための局部域(L)が、X軸に平行な複数の列に沿って、規則正しい間隔をあけて離れていることを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

【請求項7】

電極(E_1 、 E_2)が、実質的に円形の形状であることを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

30

【請求項8】

電極(E_1 、 E_2)が、4つの角を有する実質的に四角形の形状であり、電極の各々の角は局部域(L)の中心に向いていることを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

【請求項9】

電極(E_1 、 E_2)が、少なくとも4つの角を有する実質的に対称性の形状であり、電極の各々の角は局部域(L)の中心に向いていることを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

【請求項10】

基板(1)の上に形成され、懸濁液中の粒子を収容するチャンバー(25)も含むことを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

40

【請求項11】

チャンバー(25)が、電極(E_1 、 E_2)の配列(R)を少なくとも囲むシーリングガスケット(20)、および該ガスケット(20)に適合するプレート(22)により区画され、そしてシステムが2つのパッド(P_1 、 P_2)に電力を供給するための交流電圧源(30)も含むことを特徴とする、請求項10に記載のシステム。

【請求項12】

多層基板(1)が、1 cmの面をもつ支持物について約1000~50000程度の多くの局部域を区画するために適切な電極の配列(R)を支持することを特徴とする、先の請求項のいずれかに記載のシステム。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、誘電体粒子、特に生物細胞を操作する誘電泳動を用いるためのシステムに関する。

【背景技術】

【0002】

一般に、1951年にPohlにより発見されたように、誘電泳動は、必ずしも電荷により与えられるのではないが、不均一交流電界によって分極可能な粒子に及ぼされる力を表す。

【0003】

誘電泳動の主要な用途の1つは、媒質中の懸濁液中の粒子の分離に関する。粒子が、それが懸濁されている媒質よりも、より分極可能である場合、誘電泳動力が正であり、粒子は局部電界が最大の領域に向けられ、反対の状況下では、粒子は局部電界が最小限の領域に向けられる。一般に、電界の分配は電極の形状に依存し、誘電泳動力の大きさは、媒質の誘電特性および粒子の関数として周波数とともに変化する。

10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明の目的は、電極の配置、およびそれらが電力を供給される方式についての特別の設計を含む、多数の粒子を操作可能にするために高い密度または高度の集積化を有するシステムを考案することである。

20

【課題を解決するための手段】

【0005】

このために、本発明は、局部域(L)の区画に適切な電極(E_1 、 E_2)の規則的配列(R)により不均一にされており、負の誘電泳動力の作用により粒子を該局部域(L)に集中させるのに最小限である交流電界の分配の作用に付される、媒質中の懸濁液中の誘電体粒子、特に生物細胞を操作する誘電泳動を用いるためのシステムであって、電極(E_1 、 E_2)の配列(R)が多層基板(1)の表面に形成され、かつ該配列(R)の同極性の電極(E_1 、 E_2)が、電極の配列(R)の下に位置して中間レベルに形成された導体トラック(C_1 、 C_2)の2つの配列(R_1 、 R_2)を介してそれぞれの共通電源パッド(P_1 、 P_2)に接続されていることを特徴とするシステムを提供する。

30

【0006】

実施形態においては、多層基板が、少なくとも1つのベース基板、ベース基板上に堆積されて導体トラックの2つの配列を形成する導体層、および電極の配列を形成するための、導体層上に堆積された絶縁層を含み、電極の配列は、絶縁層を通り抜ける孔を介して導体トラックの配列に接続される。

【0007】

実施形態においては、電極はX軸に平行な複数の列で規則正しい間隔をあけて離れており、いずれの1つの列の電極は同じ極性を有し、2つの近接した列の電極が反対の極性を有し、そして局部粒子 - 集中域は、X軸に平行な複数の列で、規則正しい間隔をあけて離れて

40

【0008】

一般に、システムは、電極の2つの接続パッドに供給するための交流電圧源とともに、基板の上に形成されている、懸濁液中の粒子を収容するためのチャンバーも含み、該チャンバーは、例えば少なくとも電極の配列を囲むシーリングガスケット、および該ガスケットに適合するプレートにより区画される。

【0009】

例として、多層基板は、1 cmの面をもつ基板について約1000～50000程度の多くの局部域を区画するための電極の配列を支持することができる。

【0010】

50

本発明のその他の利点、特徴および詳細は、純粹に例示として与えられる添付の図を参照する、次の説明のための記載から明らかであり、ここで：

- ・ 図1は、多層基板の上部絶縁層の表面に形成され、誘電泳動による誘電体粒子の操作に使用するのに適切な電極の配列の例の概略の平面図であり；
- ・ 図2は、図1の電極の配列に供給する導体トラックの2つの配列の平面図であり；
- ・ 図3は、図1に示す電極の配列に関連する、図2に示す導体トラックの配列の位置を示す、図2のIII-IIIラインでの断面図であり；
- ・ 図4および5は、図1に示す電極の配列の、2つの他の可能な実施形態を示す図であり；
- ・ 図6aおよび6bは、電極の2つの他の形状を示し；
- ・ 図7は、図1、4または5の電極配列と接触する、媒質中の懸濁液中の誘電体粒子を操作する誘電泳動を用いるためのシステムの実施形態の概略図である。

10

【0011】

図1~3に示す例において、電極 E_1 および E_2 の規則的配列 R は、多層基板1の上部絶縁層1の表面上に形成され、導体トラック C_1 および C_2 の2つの配列 R_1 および R_2 を介して、2つの電源パッド P_1 ならびに P_2 に接続されている。電極 E_1 および E_2 の配列 R は、不均一な様式で2つの電源パッド P_1 および P_2 から適用される交流電界を分配するように、そして規則正しく間隔をあけて離れており、電界が最小限である局部域 L を絶縁層1の表面上に区画するように設計される。

【0012】

一般に、局部域 L は、少なくとも2対の電極の個別の組により区画され、これは図1に示す例に相当する。電極 E_1 および E_2 は、 X 軸に平行な複数の列で規則正しい間隔をあけて離れており、いずれの1つの列の電極が同じ極性を有し、そして2つの近接した列の電極が反対の極性であることが理解される。言い換えると、電極 E_2 の列は、電極 E_1 の複数の列の間にあるか、またはその逆である。

20

【0013】

よって、最小限の電界の各々の局部域 L は、共通の列の、2つの近接した電極 E_1 または E_2 の間に、該列に近接する2つの列にそれぞれ位置する、2つの面する電極 E_1 または E_2 により区画される。したがって、この例においては、与えられた電極 E_1 または E_2 は、4つの局部域 L を区画するのに用いられ、2つの近接した列の電極は、互い違いの構成に配置される。

【0014】

図2および3は、電極 E_1 および E_2 がどのように電源パッド P_1 ならびに P_2 に接続されるかを示す。この接続は、同様に X 軸に沿って伸びる平行の導体トラック C_1 および C_2 の2つの配列 R_1 ならびに R_2 により与えられる。これらの2つの配列 R_1 および R_2 は、電極 E_1 および E_2 の配列 R の反対側にある2つの電源パッド P_1 および P_2 にそれぞれ接続され、該パッドは X 軸に垂直な Y 軸に沿って伸びている。各電源パッド P_1 または P_2 は、導体トラックのその連結している配列 R_1 または R_2 とともに、櫛を形成し、2つの櫛は、互いに噛み合っている(図2)。2つの配列 R_1 および R_2 は、絶縁層1に收容されており、すなわち電極 E_1 および E_2 は、それらが位置するのは異なるレベルを介して接続されており(図3)、したがってそれにより電極が接続される原理は、用いられる電極の数には依存しない。

30

【0015】

電極の配列 R 、ならびに電源パッド P_1 および P_2 への接続配列 R_1 および R_2 がどのように組み立てられて得るかの例を図3に示し、配列 R 、 R_1 および R_2 をつくるために少しドーブされた単一結晶シリコンのウェーハにより構成されるベース基板2から始まる。

40

【0016】

第一の工程において、電界線が基板1を介して通り抜けるのを防ぐように、酸化を用いて、約50ナノメートル(nm)の厚さを超えて基板1の表面を被覆する酸化ケイ素の層3を形成する。

第二の工程において、層3が、蒸発により堆積されて約300 nmの厚さを有する、例えばアルミニウムの導体層5に被覆され、そして導体トラック C_1 および C_2 の配列 R_1 ならびに R_2 が、電源パッド P_1 および P_2 とともに、フォトリソグラフィおよびアルミニウムのウェットエ

50

ツチングにより、その中に形成される。

第三の工程においては、常圧化学蒸着 (APCVD) 技術または例えばスパッタリングのような、いずれのその他の技術を用いて堆積された酸化シリコンの基板1が、組立品の上に重なり、マスク、および SF_6 を用いる酸化物層のプラズマエッチングとともにフォトリソグラフィにより、導体トラック C_1 および C_2 に沿って規則正しい間隔をあけて離れている小さい開口部9が、電源パッド P_1 および P_2 のレジスタ中の2つの大きい開口部11とともにつくられる。

第四の工程においては、アルミニウムの新しい導体層13が、組立品の上に、より下の層1の厚さより約100 nm厚い厚さに蒸発され、そして導体トラック C_1 および C_2 の配列 R_1 ならびに R_2 との接続が提供されるように、開口部9および11が埋められる。

最後に、フォトリソグラフィおよびアルミニウムのエッチングの第五の工程において、電極 E_1 および E_2 の配列Rの形状が決定される。

【0017】

この実施形態の変形において、ベース基板2は、ガラスの板であることが可能であり、電極の配列Rは、配列 R_1 および R_2 とともに、選択された金属に二次加工技術を適用することにより、アルミニウム以外の材料、例えば金またはクロムでつくることができる。本発明において重要であるのは、電極 E_1 および E_2 の配列R、ならびに2つの配列 R_1 および R_2 を介しての電源パッド P_1 および P_2 へのその接続が、異なるレベルに位置するべきであり、すなわち基板1は多層タイプのものであるべきであることである。

【0018】

この特徴は、高度に集積化された装置の製作を可能にする。限定しない例として、1000~50000の局部域Lをもつ1センチメートル (cm) の面を有する装置を製作することが可能である。図1~3は、少数の電極 E_1 、 E_2 および局部域Lしか示していないが、これは、純粋に図の明確化の理由による。

【0019】

図4および5は、電極 E_1 および E_2 の配列Rの2つの他の可能な形態を示す図であり、電極 E_1 および E_2 は、図2の例に示したのと同様の様式で、導体トラック C_1 および C_2 の2つの配列 R_1 ならびに R_2 を介して、電源パッド P_1 および P_2 に接続されていることが理解される。各々の局部域Lは、図4においては3対の電極 E_1 および E_2 により、図5においては4対の電極 E_1 および E_2 により区画される。これらの例から、局部域Lは、少なくとも2対の電極 E_1 および E_2 から区画されることがわかり、電極の対の数はそれ自体が偶数または奇数であり得ることが理解される。

【0020】

図1の例においては、電極 E_1 および E_2 は、通常、長円形の形状または花びら形であり、4つの電極が、やや四つ葉のクローバーのような形を占めることにより局部域Lを区画し、図4および5の例においては電極 E_1 および E_2 は円形状であるが、その他の形状が考えられ、例えば、電極の各々の角は局部域Lの中心に向いている、四角形の形状(図6a)、または対称性であり、少なくとも4つの角を有する(図6b)実質的に四角形の形状(図6b)であることも可能であることが理解される。

【0021】

誘電体粒子を操作するためのシステムの電気装置を、図7に概略図として示す。システムは、電極 E_1 および E_2 のその配列R、配列Rを囲むシリコンのシーリングガスカート20、ならびに例えば媒質中の懸濁液中にあり、例えばピペットによりチャンバー25内に導入された生物細胞を収容するチャンバー25を区画するための、ガスカート20に適合するガラスプレート22とともに、上記で定義したように基板1を含む。2つのパッド P_1 および P_2 は、交流電圧源30に接続されている。もちろん、チャンバー25はある他の方式で作られていることが可能である。

【0022】

一般に、システムは、チャンバー25内の懸濁液中の細胞に負の誘電泳動力を適用するために、より具体的に設計される。

10

20

30

40

50

このために、電界の周波数に作用を及ぼし、そして操作される粒子よりも、媒質がより分極可能であることを確実にするのに好適な導電率を選択することにより、負の誘電泳動力の作用により局部域Lの中心部分に粒子を向け、それによりマトリックス配列内でそれらを集中させることを可能にする。

【0023】

電界パラメータに作用を及ぼすことにより、基板1の絶縁層Iの表面にわたって規則正しく分配される様式で粒子を集中することを促進するような様式で、有利に局部域Lの中心点に粒子を向けることが可能である。

【0024】

この結果を示すために、図1において、局部域Lの中心部分に存在し、基板1の表面にわたって規則正しく分配される粒子の集中 c を示す。

10

【0025】

例として、2つのパッド P_1 および P_2 に、約5ボルト(V)~10Vのピーク・ツー・ピークの振幅をもつ正弦波の交流電圧を印加し、周波数を約10キロヘルツ(kHz)~10メガヘルツ(MHz)の範囲にわたって変化させた。ある具体的な例においては、センチメートル当たり300マイクロシーメンス($\mu S \cdot cm^{-1}$)の導電率をもつ媒質について、約100 kHzの周波数および約5Vのピーク・ツー・ピークの正弦波の電圧を用いながら、直径3マイクロメートル(μm)をもつラテックスビーズをひとまとめにしたが、電界および媒質の導電率のパラメータは、操作される粒子の関数として調節される必要があることが理解される。

【0026】

20

一旦、細胞が基板の表面にわたって分配されると、意図する使用に基づいて、それらのエレクトロポレーションまたはリシスを進めることが可能である。一般に、本発明のシステムは、薬理学上の物質の高度に広いスクリーニング、細胞内への遺伝子の移入・・・、および溶液中の2種の細胞の分離 - 1種は電極の間で区画される局部域の中心に向けられ、一方、他の種は電極に向けられる - に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】図1は、多層基板の上部絶縁層の表面に形成され、誘電泳動による誘電体粒子の操作に使用するのに適切な電極の配列の例の概略の平面図である。

【図2】図2は、図1の電極の配列に供給する導体トラックの2つの配列の平面図である。

30

【図3】図1に示す電極の配列に関連する、図2に示す導体トラックの配列の位置を示す、図2のIII-IIIラインでの断面図である。

【図4】図4は、図1に示す電極の配列の、2つの他の可能な実施形態を示す図である。

【図5】図5は、図1に示す電極の配列の2つのほかに可能な実施形態を示す図である。

【図6a】図6aは、電極の他の形状を示す。

【図6b】図6bは、電極の他の形状を示す。

【図7】図1、4または5の電極配列と接触する、媒質中の懸濁液中の誘電体粒子を操作する誘電泳動を用いるためのシステムの実施形態の概略図である。

【符号の説明】

【0028】

40

- 1 多層基板
- 2 ベース基板
- 3 酸化ケイ素の層
- 5 導体層
- 9、11 開口部
- 13 導体層
- 20 シーリングガスケット
- 22 プレート
- 25 チャンバー
- 30 交流電圧源

50

I 絶縁層

E_1 、 E_2 電極

C_1 、 C_2 導体トラック

R_1 、 R_2 、 R 配列

P_1 、 P_2 電源パッド

L 局領域

c 粒子の集中

【国際公開パンフレット】

(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
1 mai 2003 (01.05.2003)

PCT

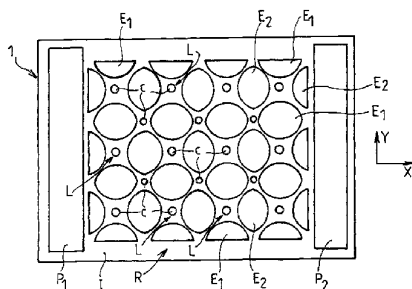
(10) Numéro de publication internationale
WO 03/035264 A1

- (51) Classification internationale des brevets⁷ : B03C 5/02
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR).
- (21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR02/03595
- (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : FRENEA, Marie [FR/FR]; 3, place de Bretagne, F-35000 Rennes (FR); LE PIOUFLE, Bruno [FR/FR]; 88, rue du Moulin Vert, F-75014 Paris (FR); LHERMITE, Hervé [FR/FR]; 46D, cours de la Vilaine, F-35510 Cesson-Sévigne (FR).
- (22) Date de dépôt international : 21 octobre 2002 (21.10.2002)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité : 01/13600 22 octobre 2001 (22.10.2001) FR
- (74) Mandataires : ORES, Béatrice etc.; Cabinet Ores, 36, rue de Saint-Petersbourg, F-75008 Paris (FR).
- (81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CL, CN, CO, CR, CU, CZ,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: SYSTEM OF HANDLING DIELECTRIC PARTICLES, PARTICULARLY BIOLOGICAL CELLS, BY MEANS OF DIELECTROPHORESIS

(54) Titre : SYSTEME POUR MANIPULER PAR DIELECTROPHORESE DES PARTICULES DIELECTRIQUES, EN PARTICULIER DES CELLULES BIOLOGIQUES



(57) Abstract: The invention relates to a dielectrophoresis system of handling dielectric particles, particularly biological cells, which are suspended in a medium and subjected to the action of an alternating electrical field. The distribution of said field is made non-uniform using a regular network (R) of electrodes (E₁, E₂) which can define local areas (L) where the electrical field is minimum in order to concentrate particles in said local zones (L) as a result of the action of the negative dielectrophoresis forces. The inventive system is characterised in that the network (R) of electrodes (E₁, E₂) is formed on the surface of a multi-layered support (1). Moreover, said system is characterised in that the electrodes (E₁, E₂) in the network (R) having the same polarity are linked to a common power supply contact (P₁, P₂) via two networks (R₁, R₂) of strip conductors (C₁, C₂) which are formed at an intermediary level located below the network (R) of electrodes.

[Suite sur la page suivante]



WO 03/035264 A1

WO 03/035264 A1 

DI, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, NO, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications. sera republiée si des modifications sont reçues

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW); brevet européen (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM); brevet OAPI (BH, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).

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.

(57) **Abstrégé :** Système pour manipuler par diélectrophorèse des particules diélectriques, en particulier des cellules biologiques, qui sont en suspension dans un milieu et soumises à l'action d'un champ électrique alternatif dont la répartition est rendue non uniforme au moyen d'un réseau régulier (R) d'électrodes (E_1 , E_2) apte à définir des zones locales (L) où le champ électrique est minimum pour concentrer des particules dans ces zones locales (L) par suite de l'action de forces de diélectrophorèse négatives, caractérisé en ce que le réseau (R) d'électrodes (E_1 , E_2) est formé à la surface d'un support multi-couche (1), et en ce que les électrodes (E_1 , E_2) de même polarité du réseau (R) sont reliées à un plot d'alimentation commun (P_1 , P_2) au travers de deux réseaux (R_1 , R_2) de pistes conductrices (C_1 , C_2) qui sont formées à un niveau intermédiaire situé en dessous du réseau (R) d'électrodes.

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

I

**SYSTEME POUR MANIPULER PAR DIELECTROPHORESE DES
PARTICULES DIELECTRIQUES, EN PARTICULIER DES CELLULES
BIOLOGIQUES.**

5 L'invention concerne un système pour manipuler par diélectrophorèse des particules diélectriques, en particulier des cellules biologiques.

D'une manière générale, la diélectrophorèse découverte en 1951 par POHL désigne la force exercée par un champ électrique alternatif non uniforme sur une particule polarisable, mais non nécessairement pourvue
10 d'une charge électrique.

L'une des applications importantes de la diélectrophorèse concerne la séparation de particules en suspension dans un milieu. Si une particule est davantage polarisable que son milieu de suspension, la force de diélectrophorèse sera positive et la particule sera dirigée vers une région où le champ électrique local est maximum et, dans le cas contraire, la particule
15 sera dirigée vers une région où le champ électrique local est minimum. D'une manière générale, la distribution du champ électrique dépend de la géométrie des électrodes, et la force de diélectrophorèse varie avec la fréquence en
20 fonction des propriétés diélectriques du milieu et des particules.

Un but de l'invention est de concevoir un système à haute densité ou à fort degré d'intégration pour pouvoir manipuler un grand nombre de particules, ce qui implique une conception particulière pour la disposition des électrodes et leur alimentation.

25 A cet effet, l'invention propose un système pour manipuler par diélectrophorèse de particules diélectriques, en particulier des cellules biologiques, qui sont en suspension dans un milieu et soumises à l'action d'un champ électrique alternatif dont la répartition est rendue non uniforme au moyen d'un réseau régulier d'électrodes apte à définir ces zones locales où le
30 champ électrique est minimum pour concentrer des particules dans ces zones locales par suite de l'action de forces de diélectrophorèse négatives, système qui est caractérisé en ce que le réseau d'électrodes est formé à la surface

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

2

d'un support multi-couche, et en ce que les électrodes de même polarité du réseau sont reliées à un plot d'alimentation commun au travers de deux réseaux de pistes conductrices qui sont formées à un niveau intermédiaire situé en dessous du réseau d'électrodes.

5 Selon un mode de réalisation, le support multi-couche comprend au moins un support de base, une couche conductrice déposée sur le support de base pour former les deux réseaux de pistes conductrices, et une couche isolante déposée sur la couche conductrice pour former le réseau d'électrodes, le réseau d'électrodes étant connecté aux réseaux de pistes
10 conductrices au travers de trous traversant la couche isolante.

Selon un mode de réalisation, les électrodes sont régulièrement espacées suivant plusieurs lignes parallèles à un axe X, les électrodes d'une ligne ont la même polarité, les électrodes de deux lignes adjacentes ont des polarités opposées, et les zones locales de concentration
15 de particules sont régulièrement espacées suivant plusieurs lignes parallèles à l'axe X.

D'une manière générale, le système comprend également une chambre formée au-dessus du support pour recevoir des particules en suspension, cette chambre étant délimitée par exemple par un joint
20 d'étanchéité qui entoure au moins le réseau d'électrodes et par une plaque rapportée sur le joint, ainsi qu'une source de tension alternative pour alimenter les deux plots de connexion aux électrodes.

A titre d'exemple, le support multi-couche peut supporter un réseau d'électrodes apte à définir un nombre de zones locales de l'ordre de
25 1000 à 50 000 pour un support ayant un centimètre de côté.

D'autres avantages, caractéristiques et détails de l'invention ressortiront de la description explicative qui va suivre en référence à des dessins annexés, donnés uniquement à titre d'exemple et dans lesquels :

- la figure 1 est une vue schématique de dessus d'un
30 exemple de réseau d'électrodes formé à la surface d'une couche isolante supérieure d'un support multicouche et qui peut être utilisé pour manipuler par diélectrophorèse des particules diélectriques,

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

3

- la figure 2 est une vue de dessus de deux réseaux de pistes conductrices qui alimentent le réseau d'électrodes de la figure 1,
- la figure 3 est une vue en coupe suivant la ligne III-III de la figure 1 pour illustrer la position des réseaux de pistes conductrices de la figure 2 par rapport au réseau d'électrodes de la figure 1,
- les figures 4 et 5 illustrent de façon schématique deux autres formes de réalisation possibles pour le réseau d'électrodes de la figure 1,
- les figures 6a et 6b illustrent deux autres formes d'électrodes, et
- la figure 7 est une vue schématique d'un mode de réalisation d'un système pour manipuler par diélectrophorèse des particules diélectriques en suspension dans un milieu en contact avec le réseau d'électrodes des figures 1, 4 ou 5.

Selon l'exemple illustré aux figures 1 à 3, un réseau régulier R d'électrodes E_1 et E_2 est formé à la surface de la couche supérieure isolante I d'un support multicouche 1, et connecté à deux plots d'alimentation P_1 et P_2 par deux réseaux R_1 et R_2 de pistes conductrices C_1 et C_2 . Le réseau R d'électrodes E_1 et E_2 est conçu pour répartir de manière non uniforme un champ électrique alternatif appliqué à partir des deux plots d'alimentation P_1 et P_2 , et pour délimiter à la surface de la couche isolante I des zones locales L régulièrement espacées où le champ électrique sera minimum.

D'une manière générale, une zone locale L est délimitée par un groupement élémentaire d'au moins deux paires d'électrodes, ce qui correspond à l'exemple illustré sur la figure 1. Les électrodes E_1 et E_2 sont régulièrement espacées suivant plusieurs lignes parallèles à un axe X, sachant que les électrodes d'une ligne ont la même polarité, et que les électrodes de deux lignes adjacentes ont des polarités opposées. Autrement dit, des lignes d'électrodes E_2 sont intercalées entre des lignes d'électrodes E_1 , ou inversement.

Chaque zone locale L à champ électrique minimum est ainsi délimitée entre deux électrodes adjacentes E_1 ou E_2 d'une même ligne, et

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

4

deux électrodes E_2 ou E_1 en vis-à-vis et respectivement situées sur les deux lignes adjacentes à ladite ligne. Dans cet exemple, une même électrode E_1 ou E_2 peut être ainsi utilisée pour définir quatre zones locales L , et les électrodes de deux lignes adjacentes sont disposées en quinconce.

5 Les figures 2 et 3 illustrent la connexion des électrodes E_1 et E_2 aux deux plots d'alimentation P_1 et P_2 . Cette connexion est assurée par les deux réseaux R_1 et R_2 de pistes conductrices C_1 et C_2 parallèles et qui s'étendent également suivant l'axe X . Ces deux réseaux R_1 et R_2 sont respectivement reliés aux deux plots d'alimentation P_1 et P_2 qui bordent le
10 réseau R d'électrodes E_1 et E_2 en s'étendant suivant un axe Y perpendiculaire à l'axe X . Chaque plot d'alimentation P_1 et P_2 forme un peigne avec son réseau associé R_1 ou R_2 de pistes conductrices, et les deux peignes sont imbriqués l'un dans l'autre (figure 2). Les deux réseaux R_1 et R_2 sont logés dans la couche isolante I , c'est-à-dire que la connexion des électrodes E_1 et
15 E_2 s'effectue à un niveau différent de celui où elles sont situées (figure 3), de manière à ce que le principe de connexion des électrodes reste indépendant du nombre des électrodes adopté.

Un exemple de fabrication du réseau R d'électrodes et des réseaux R_1 et R_2 de connexion aux plots d'alimentation P_1 et P_2 , est illustré
20 sur la figure 3 en partant d'un support de base 2 constitué d'une tranche de silicium monocristallin faiblement dopé pour réaliser les réseaux R , R_1 et R_2 .

Dans une première étape, on forme par oxydation une couche d'oxyde de silicium 3 qui recouvre la surface du substrat 1 sur une épaisseur de l'ordre de 500nm pour éviter le passage des lignes de champ
25 électrique via le substrat 1. Dans une deuxième étape, on recouvre la couche 3 par une couche conductrice 5 en aluminium par exemple qui est déposée par évaporation sur une épaisseur de l'ordre de 300nm, et on forme les réseaux R_1 et R_2 de pistes conductrices C_1 et C_2 , ainsi que les plots d'alimentation P_1 et P_2 , par photolithographie et gravure humide de
30 l'aluminium. Dans une troisième étape, la couche isolante I en oxyde de silicium déposée suivant la technique APCVD ("Atmospheric Pressure Chemical Vapor Deposition" en langue anglaise) ou une autre technique par

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

5

pulvérisation (« sputtering » en langue anglaise) par exemple, vient recouvrir l'ensemble et, au moyen d'un masque et par photolithographie et une gravure plasma de la couche d'oxyde au SF₆, on réalise de petites ouvertures 9 régulièrement espacées le long des pistes conductrices C₁ et C₂ ainsi que deux grandes ouvertures 11 au niveau des plots d'alimentation P₁ et P₂. Dans une quatrième étape, on évapore sur l'ensemble une nouvelle couche conductrice 13 en aluminium sur une épaisseur supérieure de l'ordre de 100nm à celle de la couche inférieure 1 et qui vient combler les ouvertures 9 et 11 pour assurer la connexion avec les réseaux R₁ et R₂ de pistes conductrices C₁ et C₂. Enfin, dans une cinquième étape par photolithographie et gravure de l'aluminium, on dessine la forme du réseau R d'électrodes E₁ et E₂.

En variante de ce mode de réalisation, le support de base 2 peut être une lame de verre et, on peut envisager de réaliser le réseau R d'électrodes ainsi que les réseaux R₁ et R₂ en un autre matériau que l'aluminium, l'or ou le chrome par exemple, en adaptant la technique de fabrication au métal choisi. En effet, selon l'invention, il est important que le réseau R d'électrodes E₁ et E₂ et sa connexion aux plots d'alimentation P₁ et P₂ par les deux réseaux R₁ et R₂, soient situés à des niveaux différents, c'est-à-dire que le support 1 est de type multi-couche.

Cette caractéristique donne la possibilité de fabriquer un dispositif à haut degré d'intégration. A titre d'exemple non limitatif, on peut fabriquer un dispositif de 1 cm de côté avec de 1 000 à 50 000 zones locales L. Si les figures 1 à 3 n'illustrent qu'un nombre réduit d'électrodes E₁, E₂ et de zones locales L, ce n'est uniquement que pour des raisons de clarté des dessins.

Sur les figures 4 et 5, on a schématiquement illustré deux autres formes possibles pour le réseau R d'électrodes E₁ et E₂, sachant que les électrodes E₁ et E₂ sont reliées aux plots d'alimentation P₁ et P₂ par deux réseaux R₁ et R₂ de pistes conductrices C₁ et C₂ d'une manière similaire à l'exemple illustré sur la figure 2. Chaque zone locale L est délimitée par trois paires d'électrodes E₁ et E₂ selon la figure 4, et par quatre paires d'électrodes

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

6

E_1 et E_2 selon la figure 5. Il ressort de ces exemples, qu'une zone locale L est définie à partir d'au moins deux paires d'électrodes E_1 et E_2 , sachant que le nombre de paires d'électrodes peut être pair ou impair.

Selon l'exemple de la figure 1, les électrodes E_1 et E_2 ont globalement une forme ovoïde ou en pétale de fleur, et quatre électrodes qui délimitent une zone locale L forment globalement une trèfle à quatre feuilles, et une forme ronde dans l'exemple des figures 4 et 5, sachant que l'on peut envisager d'autres formes, comme par exemple une forme carrée (figure 6a) ou une forme sensiblement carrée (figure 6b), symétrique avec au moins quatre coins (figure 6b), chaque coin d'une électrode pointant vers le centre d'une zone locale L.

Un mode de réalisation d'un système pour manipuler des particules diélectriques est schématiquement illustré sur la figure 5. Le système comprend un substrat 1 tel que défini précédemment et avec son réseau R d'électrodes E_1 et E_2 , un joint d'étanchéité 20 en silicone qui entoure le réseau R et une plaque de verre 22 rapportée sur le joint 20 pour délimiter une chambre 25 destinée à recevoir des cellules biologiques par exemple en suspension dans un milieu et introduites dans la chambre 25 au moyen d'une pipette par exemple. Les deux plots P_1 et P_2 sont connectés à une source 30 de tension alternative. Bien entendu, la chambre 25 pourrait être réalisée différemment.

D'une manière générale, ce système est plus particulièrement conçu pour appliquer aux cellules en suspension dans la chambre 25 des forces de diélectrophorèse négatives.

A cet effet, on joue sur la fréquence du champ électrique et on choisit une conductivité électrique appropriée pour faire en sorte que le milieu soit plus polarisable que les particules à manipuler, et pouvoir ainsi diriger les particules vers la partie centrale des zones locales L par suite de l'action de forces de diélectrophorèse négatives pour les concentrer suivant un réseau matriciel.

En jouant sur les paramètres du champ électrique, on peut avantageusement diriger les particules au point central des zones locales L

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

7

de manière à favoriser des concentrations de particules régulièrement réparties à la surface de la couche isolante 1 du support 1.

Pour matérialiser ce résultat, on a illustré sur la figure 1 des concentrations de particules c qui sont présentes dans la partie centrale des zones locales L et régulièrement réparties à la surface du substrat 1.

A titre d'exemple, on alimente les deux plots P_1 et P_2 avec une tension alternative sinusoïdale d'environ 5 à 10 volts crête-à-crête, et on fait varier la fréquence dans une gamme de l'ordre de 10kHz à 10MHz. Selon un exemple particulier, pour un milieu de conductivité $300\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, une fréquence de 100kHz environ et une tension sinusoïdale d'environ 5 volts crête-à-crête, on parvient à regrouper des billes en latex d'un diamètre de $3\mu\text{m}$, sachant que les paramètres du champ électrique et la conductivité du milieu doivent être ajustés en fonction de la particule à manipuler.

Une fois que les cellules ont été réparties à la surface du substrat, il est possible de procéder à leur électroporation ou à leur lyse selon les applications envisagées. D'une manière générale, le système selon l'invention peut être utilisé pour effectuer un criblage à haut débit de produits pharmacologiques, un transfert de gènes dans des cellules, ..., et pour séparer deux espèces de cellules en solution, une espèce étant orientée vers le centre des zones locales délimitées entre les électrodes, alors que l'autre espèce sera orientée vers les électrodes.

REVENDEICATIONS

1. Système pour manipuler par diélectrophorèse de particules diélectriques, en particulier des cellules biologiques, qui sont en suspension dans un milieu et soumises à l'action d'un champ électrique alternatif dont la répartition est rendue non uniforme au moyen d'un réseau régulier (R) d'électrodes (E_1, E_2) apte à définir des zones locales (L) où le champ électrique est minimum pour concentrer des particules dans ces zones locales (L) par suite de l'action de forces de diélectrophorèse négatives, caractérisé en ce que le réseau (R) d'électrodes (E_1, E_2) est formé à la surface d'un support multi-couche (1), et en ce que les électrodes (E_1, E_2) de même polarité du réseau (R) sont reliées à un plot d'alimentation commun (P_1, P_2) au travers de deux réseaux (R_1, R_2) de pistes conductrices (C_1, C_2) qui sont formées à un niveau intermédiaire situé en dessous du réseau (R) d'électrodes.
2. Système selon la revendication 1, caractérisé en ce que le support multi-couche (1) comprend au moins un support de base (2), une couche conductrice (5) déposée sur le support de base (2) pour former les deux réseaux (R_1, R_2) de pistes conductrices (C_1, C_2), et une couche isolante (I) déposée sur la couche conductrice (5) pour former le réseau (R) d'électrodes (E_1, E_2).
3. Système selon la revendication 2, caractérisé en ce que le réseau (R) d'électrodes est connecté aux réseaux (R_1, R_2) de pistes conductrices (C_1, C_2) au travers de trous (9) traversant la couche isolante (I).
4. Système selon la revendication 2 ou 3, caractérisé en ce que les deux réseaux (R_1, R_2) de pistes conductrices (C_1, C_2) sont interdigités.
5. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les électrodes (E_1, E_2) sont régulièrement espacées suivant plusieurs lignes parallèles à un axe X, en ce que les électrodes d'une ligne ont la même polarité, et en ce que les électrodes de deux lignes adjacentes ont des polarités opposées.

WO 03/035264

PCT/FR02/03595

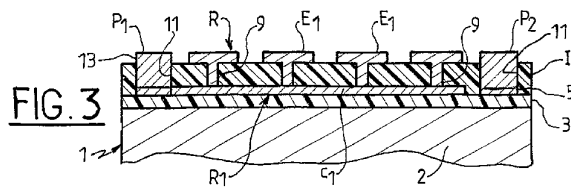
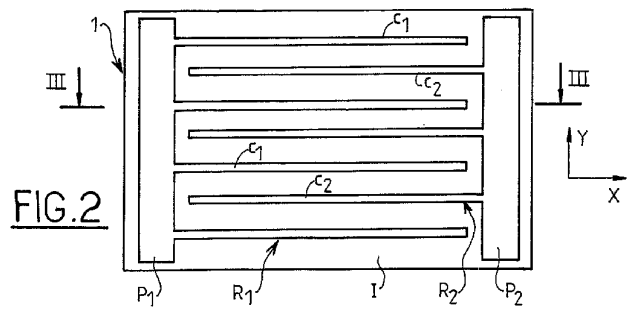
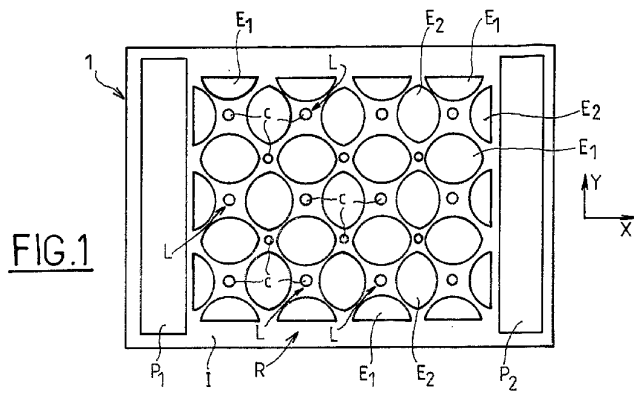
9

6. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les zones locales (L) de concentration de particules sont régulièrement espacées suivant plusieurs lignes parallèles à l'axe X.
- 5 7. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que les électrodes (E_1, E_2) ont une forme sensiblement circulaire.
8. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les électrodes (E_1, E_2) ont une forme sensiblement carrée avec quatre coins, chaque coin d'une électrode pointant vers le centre d'une zone locale (L).
- 10 9. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les électrodes (E_1, E_2) présentent une forme symétrique avec au moins quatre coins, chaque coin d'une électrode pointant vers le centre d'une zone locale (L).
- 15 10. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend également une chambre (25) formée au-dessus du support (1) pour recevoir des particules en suspension.
11. Système selon la revendication 10, caractérisé en ce que la chambre (25) est délimitée par un joint d'étanchéité (20) qui entoure au moins le réseau (R) d'électrodes (E_1, E_2) et par une plaque (22) rapportée sur le joint (20), et en ce qu'il comprend également une source de tension alternative (30) pour alimenter les deux plots (P_1, P_2).
- 20 12. Système selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le support multi-couche (1) supporte un réseau (R) d'électrodes apte à définir un nombre de zones locales de l'ordre de 1000 à 50 000 pour un support ayant un centimètre de côté.
- 25

WO 03/035264

1/3

PCT/FR02/03595



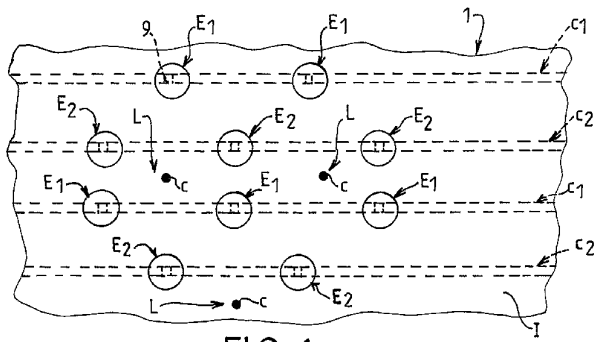


FIG. 4

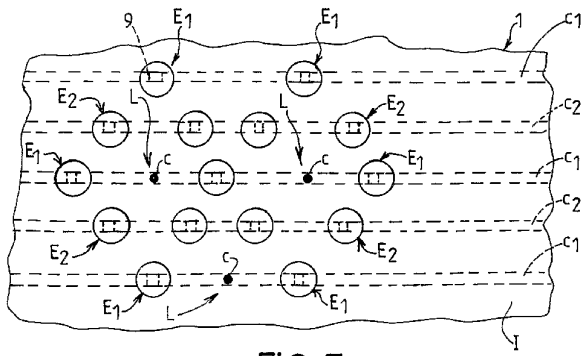


FIG. 5

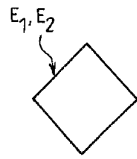


FIG. 6a

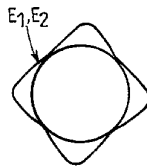


FIG. 6b

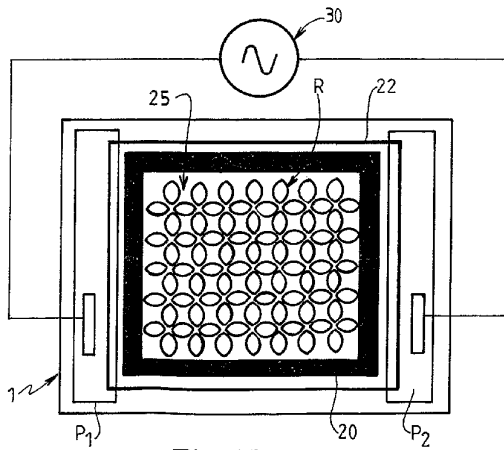


FIG. 7

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/FR 02/03595
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 B03C5/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 B03C		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 38612 A (NANOGEN INC) 5 August 1999 (1999-08-05) page 9, line 4 -page 10, line 11; claims 1, 8, 9; figures 1-3 page 13, line 11 - line 13 ---	1-3, 6, 7, 10
A	FIEDLER S ET AL: "ELECTROCASTING - FORMATION AND STRUCTURING OF SUSPENDED MICROBODIES USING A.C. GENERATED FIELD CAGES" MICROSYSTEM TECHNOLOGIES, BERLIN, DE, 1 December 1995 (1995-12-01), pages 1-7, XPO00199394 ISSN: 0946-7076 page 2, column 1, paragraph 4 -column 2, paragraph 2; figure 1 page 5, column 2, paragraph 2 - paragraph 5 --- -/-	1, 4-6, 9
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of box C.	<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
<p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*B* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 13 February 2003		Date of mailing of the international search report 21/02/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentstrasse 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 900-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Decanniere, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/FR 02/03595

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 196 53 659 C (FUHR GUENTER PROF DR) 20 May 1998 (1998-05-20) column 3, line 26 -column 4, line 16 column 6, line 34 - line 47; claim 1; figures 1-3,5	1,9,10

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/FR 02/03595

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date			
WO 9938612	A	05-08-1999	US 6071394 A 06-06-2000			
			AU 743074 B2 17-01-2002			
			AU 2344599 A 16-08-1999			
			BR 9908349 A 05-12-2000			
			CA 2319705 A1 05-08-1999			
			CN 1291913 T 18-04-2001			
			EP 1053055 A1 22-11-2000			
			JF 2002502047 T 22-01-2002			
			NZ 505858 A 27-09-2002			
			NO 9938612 A1 05-08-1999			
			US 2002155586 A1 24-10-2002			
			US 6403367 B1 11-06-2002			
			US 6280590 B1 28-08-2001			
			US 2001045359 A1 29-11-2001			
			DE 19653659	C	20-05-1998	DE 19653659 C1 20-05-1998
						AT 218613 T 15-06-2002
DE 59707448 D1 11-07-2002						
WO 9828405 A1 02-07-1998						
EP 0946709 A1 06-10-1999						
JP 2001507125 T 29-05-2001						

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

		Dem. internationale No PCT/FR 02/03595
A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 B03C5/02		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 B03C		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 99 38612 A (NANOGEN INC) 5 août 1999 (1999-08-05) page 9, ligne 4 -page 10, ligne 11; revendications 1,8,9; figures 1-3 page 13, ligne 11 - ligne 13	1-3,6,7, 10
A	FIEDLER S ET AL: "ELECTROCASTING - FORMATION AND STRUCTURING OF SUSPENDED MICROBODIES USING A.C. GENERATED FIELD CAGES" MICROSYSTEM TECHNOLOGIES, BERLIN, DE, 1 décembre 1995 (1995-12-01), pages 1-7, XP000199394 ISSN: 0946-7076 page 2, colonne 1, alinéa 4 -colonne 2, alinéa 2; figure 1 page 5, colonne 2, alinéa 2 - alinéa 5 -/-	1,4-6,9
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
A document admettant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent		*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
E document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date		*X* document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
L document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)		*Y* document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
O document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens		*G* document qui fait partie de la même famille de brevets
P document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
13 février 2003	21/02/2003	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.O. 5518 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 545-2040, TX: 51 651 epo nl, Fax: (+31-70) 545-3318	Fonctionnaire autorisé Decanniere, L	

Formulaire PCT/ISA/210 (première édition) (juillet 1992)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE		Dem. internationale No PCT/FR 02/03595
C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	DE 196 53 659 C (FUHR GUENTER PROF DR) 20 mai 1998 (1998-05-20) colonne 3, ligne 26 - colonne 4, ligne 16 colonne 6, ligne 34 - ligne 47; revendication 1; figures 1-3,5	1,9,10

Formulaire PCT/ISA/210 (suite de la deuxième feuille) (juillet 1999)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE				No. Internationale No				
Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets				PCT/FR 02/03595				
Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets(a)		Date de publication			
WO 9938612	A	05-08-1999	US 6071394 A		06-06-2000			
			AU 743074 B2		17-01-2002			
			AU 2344599 A		16-08-1999			
			BR 9908349 A		05-12-2000			
			CA 2319705 A1		05-08-1999			
			CN 1291913 T		18-04-2001			
			EP 1053055 A1		22-11-2000			
			JP 2002502047 T		22-01-2002			
			NZ 505858 A		27-09-2002			
			WO 9938612 A1		05-08-1999			
			US 2002155586 A1		24-10-2002			
			US 6403367 B1		11-06-2002			
			US 6280590 B1		28-08-2001			
			US 2001045359 A1		29-11-2001			
			DE 19653659	C	20-05-1998	DE 19653659 C1		20-05-1998
						AT 218613 T		15-06-2002
DE 59707448 D1		11-07-2002						
WO 9828405 A1		02-07-1998						
EP 0946709 A1		06-10-1999						
JP 2001507125 T		29-05-2001						

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 レルミテ, ハーヴ

フランス、エフ - 3 5 5 1 0 セッソン - セヴィーニュ、クール ド ラ ヴィレン、4 6 ディー
F ターム(参考) 4B029 AA07 FA11
4B063 QA06 QQ08 QR77 QS39 QX04
4D054 FA08 FB20