

(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
13 septembre 2001 (13.09.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/67112 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
G01N 35/00

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/00714

(22) Date de dépôt international : 9 mars 2001 (09.03.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
00/03137 9 mars 2000 (09.03.2000) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **GENOMIC S.A.** [FR/FR]; 441, route de la Combe, F-74165 Collonges-sous-Salève Cedex (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : **GAZEAU, Michel** [FR/FR]; 23, rue Hector-Berlioz, F-74160 Saint-Julien-en-Genevois (FR).

(74) Mandataire : **BREESE-MAJEROWICZ**; 3, avenue de l'Opéra, F-75001 Paris (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, 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, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, 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.

(54) Title: AUTOMATON FOR BIOLOGICAL ANALYSIS

A2 (54) Titre : AUTOMATE POUR L'ANALYSE BIOLOGIQUE

(57) Abstract: The invention concerns an automaton for biological analysis characterised in that it consists of a rotor supporting at least a reactor including a stirrer consisting of a thin blade which can either be supported on the lower part of the biochip forming a solid angle retaining a small volume of water, or from said position be urged to be pressed on the biochip spreading on its surface the retained volume of liquid without air bubble, or completely penetrate the body of the reactor to enable the biochip holder to slide.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un automate pour l'analyse biologique caractérisé en ce qu'il est constitué par un rotor supportant au moins un réacteur comportant un agitateur composé d'une lamelle qui peut soit prendre appui sur la partie inférieure de la biopuce formant un angle solide qui retient un faible volume de liquide, soit à partir de cette position venir s'appliquer sur la biopuce "étalant" sur sa surface et sans bulle d'air le volume de liquide retenu, soit entrer complètement dans le corps du réacteur pour permettre le coulisement du porte biopuces.



WO 01/67112 A2

AUTOMATE POUR L'ANALYSE BIOLOGIQUE

Les biopuces permettent d'analyser en parallèle un très grand nombre de molécules. Il s'agit essentiellement d'acides nucléiques et de protéines.

Le principe de base est la reconnaissance et l'appariement de deux molécules, qui présentent des affinités.

L'une des collections de molécules est fixée, sous forme de mini ou micro-dépôts, sur un support solide, tissu, lame de verre, puce de silicium ... L'autre molécule, qui est marquée, en général en solution, est mise en contact avec les échantillons déposés sur le support solide. Après un temps d'incubation, l'excès de molécule marquée est éliminé et le support est soigneusement lavé. Il s'agit alors de détecter et quantifier le signal émis par les molécules retenues sur les dépôts. Dans certains cas, la molécule retenue peut être « décrochée » des dépôts et une nouvelle molécule peut être testée avec le même support solide.

D'une façon générale, pour traiter les biopuces, il faut mettre les dépôts en contact avec différents réactifs puis les laver soigneusement. Il faut adapter la température des réactifs et des biopuces. Les marqueurs sont le plus souvent fluorescents, mais d'autres techniques de marquage peuvent être utilisées.

La molécule marquée est un élément rare et/ou coûteux. Il convient de minimiser le volume nécessaire. Les autres réactifs, et en particulier les produits de lavage, sont peu onéreux et la réduction des volumes utilisés est beaucoup moins importante.

L'invention

Il s'agit d'un automate capable de réaliser sans intervention humaine le traitement des biopuces et l'acquisition des signaux en vue de leur analyse. Outre des

économies de réactifs, l'automate permet de traiter un grand nombre de biopuces. Sa simplicité en fait un équipement relativement peu coûteux.

5 Le cœur de l'appareil est une centrifugeuse basse vitesse dont la position angulaire du rotor peut être fixée de façon précise, grâce à un codeur par exemple.

Le rotor, amovible ou non, est constitué d'un moyeu sur lequel sont fixés des rayons. Chaque rayon porte à son extrémité un réacteur qui sera décrit plus loin.

10 Le couvercle de la centrifugeuse comporte différents éléments :

Un nombre de buses fixes régulièrement espacées, égales au nombre de réacteurs du rotor et situées sur une circonférence dont le rayon est égal à celui du centre des réacteurs, de façon à dispenser du liquide dans ces derniers. Ces buses sont reliées par des cathéters calibrés au couvercle d'une enceinte hermétique qui comporte un nombre de tubes contenant les molécules marquées. Cette enceinte peut être mise sous une pression, donnée pendant un temps donné, grâce à une bombonne de gaz, par exemple, ce qui a pour effet de refouler par les cathéters vers les réacteurs un même volume des liquides contenus dans les tubes. Cette enceinte peut être refroidie par un procédé quelconque pour assurer une bonne conservation des molécules marquées.

15

20

25

Un nombre de buses fixées sur le couvercle entre les précédentes, reliées à des flacons sous pression, ou en dépression, ou à des pompes, permet de distribuer successivement dans chaque réacteur les réactifs communs, en grand volume (quelques millilitres). Certaines de ces buses peuvent projeter des liquides pour le nettoyage et la décontamination de l'appareil.

30

Un dispositif mécanique de translation sur un rayon permet de tirer à la périphérie, puis de ramener à sa position initiale une pièce coulissante porte biopuces de

35

chaque réacteur ou dans d'autres cas les réacteurs eux-mêmes, successivement. Ce dispositif peut être constitué d'une crémaillère guidée, entraînée par un pignon solidaire d'un arbre de moteur électrique fixe. Un doigt placé à la
5 partie située le plus près du centre de l'élément mobile peut descendre dans la centrifugeuse et remonter grâce à une came, par exemple. Ce doigt permet au dispositif de translation d'accrocher la pièce coulissante ou le réacteur.

10 L'enveloppe de la centrifugeuse comporte une fente qui peut être obturée par une pièce solidaire du dispositif mécanique de translation et qui laisse passer la pièce coulissante porte biopuces ou le réacteur. Ces derniers sont ainsi placés dans le champ du système
15 d'acquisition du signal.

L'enveloppe de la centrifugeuse peut être dotée d'une ou plusieurs buses horizontales télescopiques permettant soit d'injecter du réactif dans chaque réacteur, soit d'aspirer les réactifs qu'il contient.

20 La forme du fonds de l'enceinte de la centrifugeuse est étudiée pour permettre l'évacuation complète des réactifs utilisés.

La température à l'intérieur de la centrifugeuse est régulée. La rotation à très faible
25 vitesse des réacteurs améliore l'uniformisation de la température. Le cas échéant, l'hygrométrie de l'air dans l'enceinte peut être contrôlée.

Le fonds de la centrifugeuse et/ou l'intérieur du couvercle peuvent être dotés d'un élément circulaire de
30 forme adaptée pour provoquer des mouvements de parties de réacteurs.

On comprendra mieux l'invention à l'aide de la description, faite ci-après à titre purement explicatif, d'un mode de réalisation de l'invention, en référence aux
35 figures annexées :

- les figures 1, 2 et 3 illustrent respectivement une vue de face, une vue de côté et une vue de dessus du réacteur ;

- la figure 4 illustre une vue de dessus de la centrifugeuse ;

- les figures 5 et 6 illustrent respectivement une vue de côté et une vue de face du dispositif porteur à valve centripète ;

- les figures 7, 8 et 9 illustrent respectivement une vue de côté, une vue de face et une vue de dessus du dispositif porteur à drainage centrifuge ;

- les figures 10 et 11 illustrent respectivement une vue de côté et une vue de face du dispositif porteur capillaire.

Les réacteurs (1) illustrés figures 1 à 3, fixés à l'extrémité des rayons (7) du rotor (8) de la centrifugeuse (9) illustrée figure 4 sont inclinés par rapport à la verticale passant par le rayon, dans un plan passant par ce rayon.

Ils sont constitués de trois éléments :

Le corps (3) du réacteur qui est traversé par le rayon (7) du rotor (8). Il comporte sur l'une de ses deux grandes faces un guidage. Il peut, à la partie inférieure de la face extérieure, comporter un orifice obturé par un bouchon pesant appliqué à l'aide d'un ressort et qui grâce à la force centripète s'écarte de la surface et libère l'orifice. Il peut aussi sur la même face comporter un autre orifice obturé par un bouchon de l'intérieur, maintenu en appui par un ressort. En appliquant une buse télescopique sur cet orifice, il est possible d'injecter un liquide sous pression dans le réacteur.

Une pièce coulissante (4) porte biopuces (2) qui lorsqu'elle est munie de la biopuce et engagée à fonds dans son guidage, obture l'une des deux grandes faces du

réacteur. Le porte biopuces peut être déplacé d'un ou deux millimètres dans son guidage, sans nuire à l'étanchéité du réacteur, pour améliorer le contact des dépôts avec les réactifs. Il peut être éloigné de sa position d'origine
5 vers l'extérieur de six ou sept millimètres pour ouvrir le réacteur et permettre l'écoulement de son contenu. Il peut enfin être éloigné de sa position d'origine de quelques centimètres pour sortir de l'enceinte de la centrifugeuse et se placer dans le champ du système d'acquisition du
10 signal. C'est le dispositif mécanique de translation évoqué plus haut qui actionne les porte biopuces ou dans d'autres cas les réacteurs.

Un agitateur (5) composé d'une lamelle (6) qui peut soit prendre appui sur la partie inférieure de la biopuce (2) formant un angle solide qui retient un faible
15 volume de liquide, soit à partir de cette position venir s'appliquer sur la biopuce « étalant » sur sa surface et sans bulle d'air le volume de liquide retenu, soit entrer complètement dans le corps du réacteur pour permettre le
20 coulissement du porte biopuces.

Le passage continu entre ces trois positions provoque la projection du liquide de lavage sur la surface active de la biopuce.

La rotation des réacteurs (1) à faible vitesse provoque l'accumulation du liquide contenu vers
25 l'extérieur. L'arrêt de cette rotation annule cette accumulation et crée un reflux du liquide vers le rotor (8). La succession de mises en rotation et d'arrêts agite le liquide et accélère le lavage des biopuces.

D'autres types de réacteurs peuvent être conçus, comme par exemple les trois versions de dispositifs porteurs (10) présentés dans les figures 5 et 6, 7 à 9 et
30 10 et 11. Ils sont plus simples et moins coûteux à réaliser, mais ne permettent pas d'approcher la surface active de la biopuce de très près pour l'acquisition du
35

signal. Dans ce cas, c'est le réacteur tout entier qui est poussé à l'extérieur de l'enceinte de la centrifugeuse.

REVENDEICATIONS

1 - Automate pour l'analyse biologique caractérisé en ce qu'il est constitué par un rotor (8) supportant au moins un réacteur (1) comportant un agitateur (5) composé d'une lamelle (6) qui peut soit prendre appui sur la partie inférieure de la biopuce (2) formant un angle solide qui retient un faible volume de liquide, soit à partir de cette position venir s'appliquer sur la biopuce (2) « étalant » sur sa surface et sans bulle d'air le volume de liquide retenu, soit entrer complètement dans le corps du réacteur (1) pour permettre le coulisement du porte biopuces.

2 - Automate pour l'analyse biologique selon la revendication 1 caractérisé en ce que les réacteurs sont fixés à l'extrémité des rayons (7) du rotor (8) de la centrifugeuse (9) et sont inclinés par rapport à la verticale passant par le rayon, dans un plan passant par ce rayon.

3 - Automate pour l'analyse biologique selon la revendication 1 caractérisé en ce que les réacteurs sont comportent un corps (3) présentant sur l'une de ses deux grandes faces un guidage, et à sa partie inférieure de la face extérieure, un orifice obturé par un bouchon pesant appliqué à l'aide d'un ressort et qui grâce à la force centripète s'écarte de la surface et libère l'orifice.

3 - Automate pour l'analyse biologique selon la revendication 2 caractérisé en ce que la face munie dudit bouchon comporte un autre orifice obturé par un bouchon de l'intérieur, maintenu en appui par un ressort pour

permettre d'injecter un liquide sous pression dans le réacteur.

5 4 - Automate pour l'analyse biologique selon la revendication 1 caractérisé en ce que le réacteur présente une pièce coulissante (4) porte biopuces (2) qui, lorsqu'elle est munie de la biopuce et engagée à fonds dans son guidage, obture l'une des deux grandes faces du réacteur.

10

5 - Automate pour l'analyse biologique selon la revendication 1 ou 2 caractérisé en ce que le réacteur comporte un agitateur (5) composé d'une lamelle (6) qui peut soit prendre appui sur la partie inférieure de la biopuce (2) formant un angle solide qui retient un faible volume de liquide, soit à partir de cette position venir s'appliquer sur la biopuce « étalant » sur sa surface et sans bulle d'air le volume de liquide retenu, soit entrer complètement dans le corps du réacteur pour permettre le coulisement du porte biopuces.

20

6 - Automate pour l'analyse biologique selon la revendication 1 caractérisé en ce que le rotor est entraîné selon des cycles alternant la mise en rotation et d'arrêt pour créer un reflux du liquide vers le rotor (8).

25

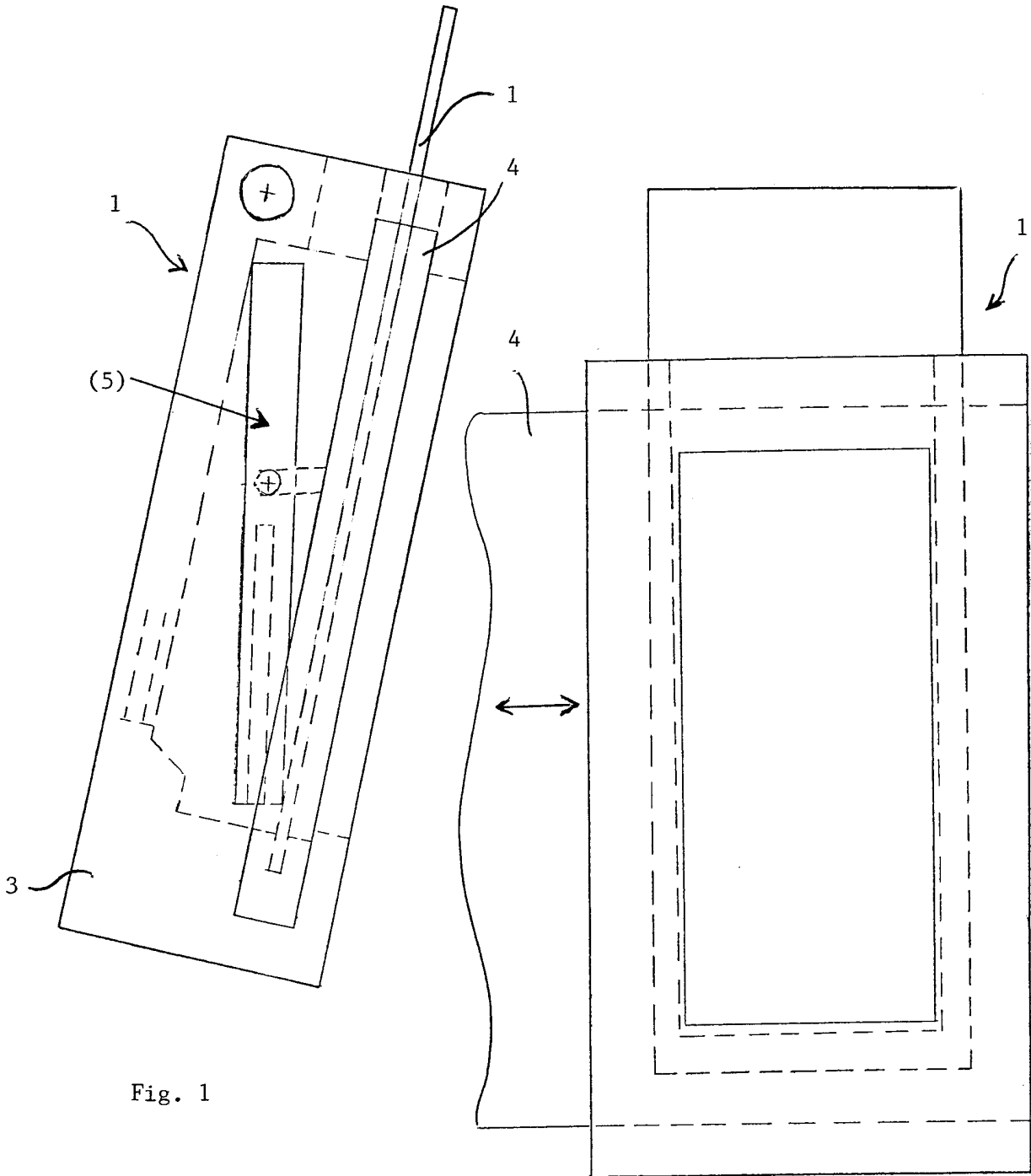


Fig. 1

Fig. 2

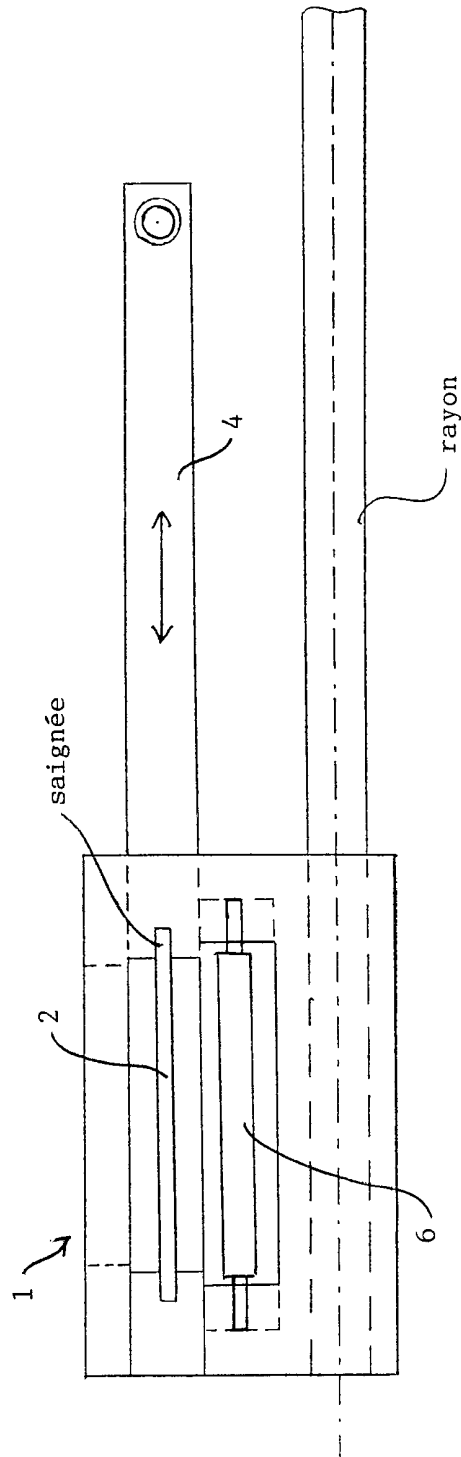


Fig. 3

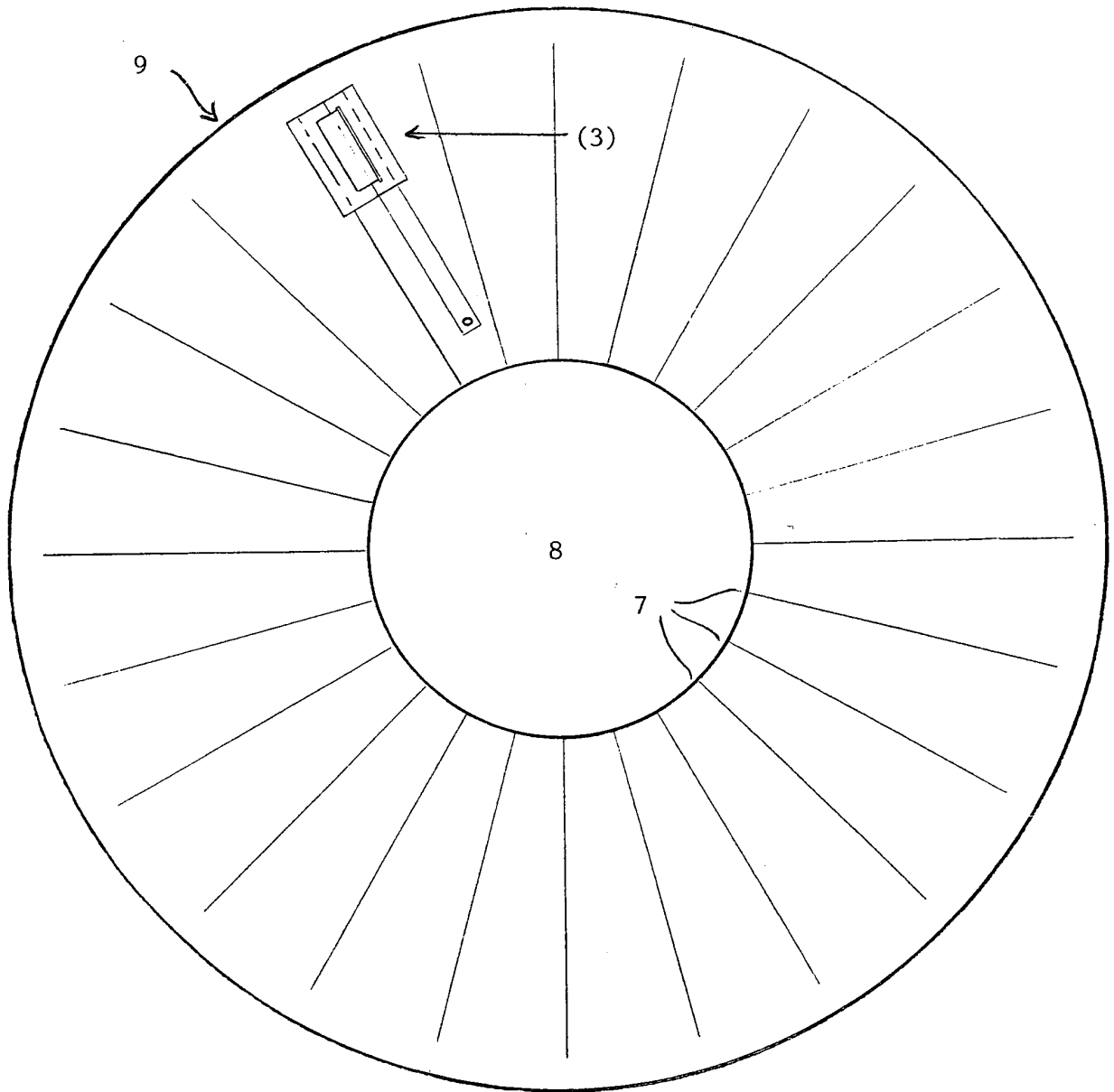


Fig. 4

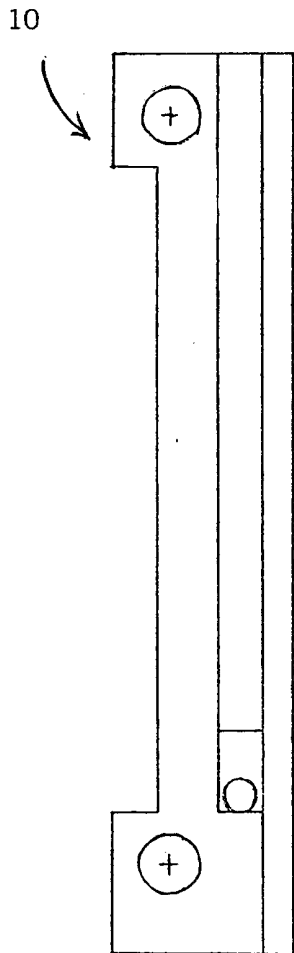


Fig. 5

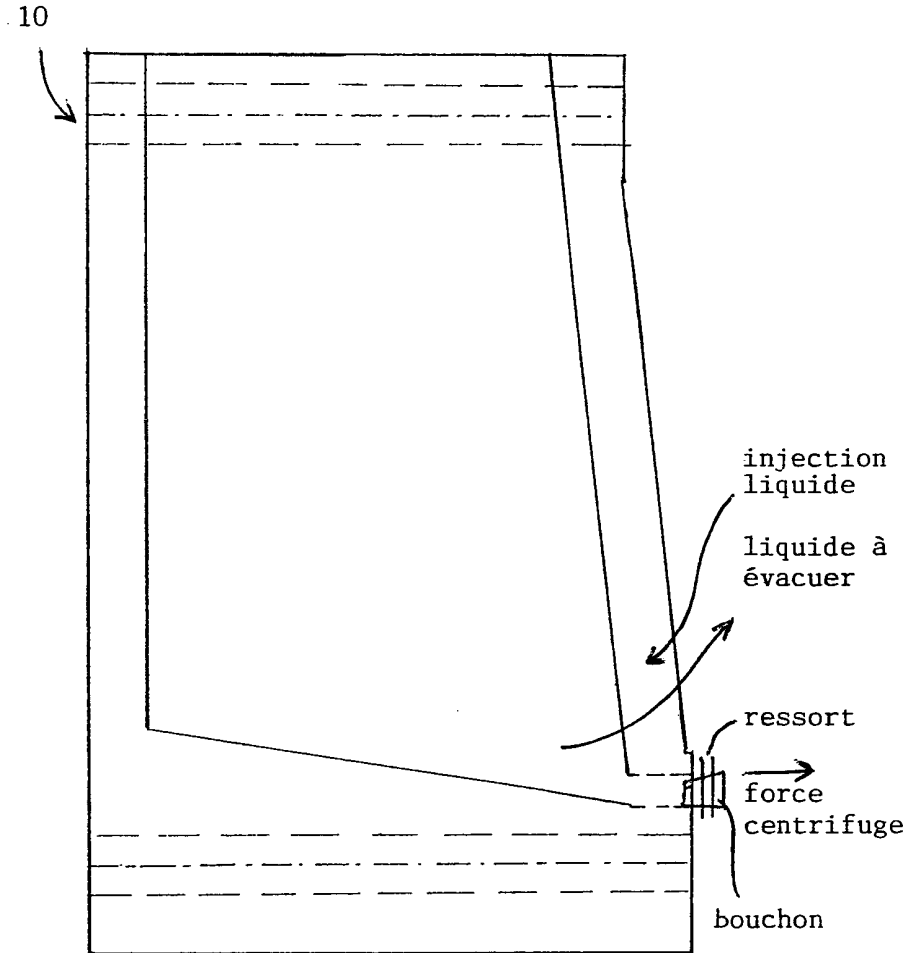


Fig. 6

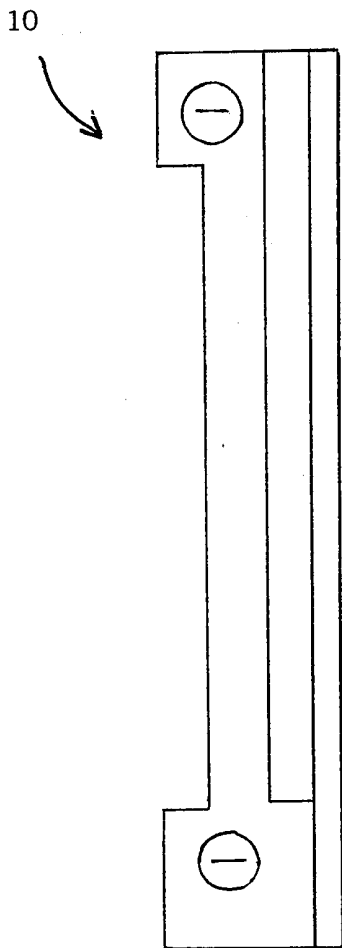


Fig. 7

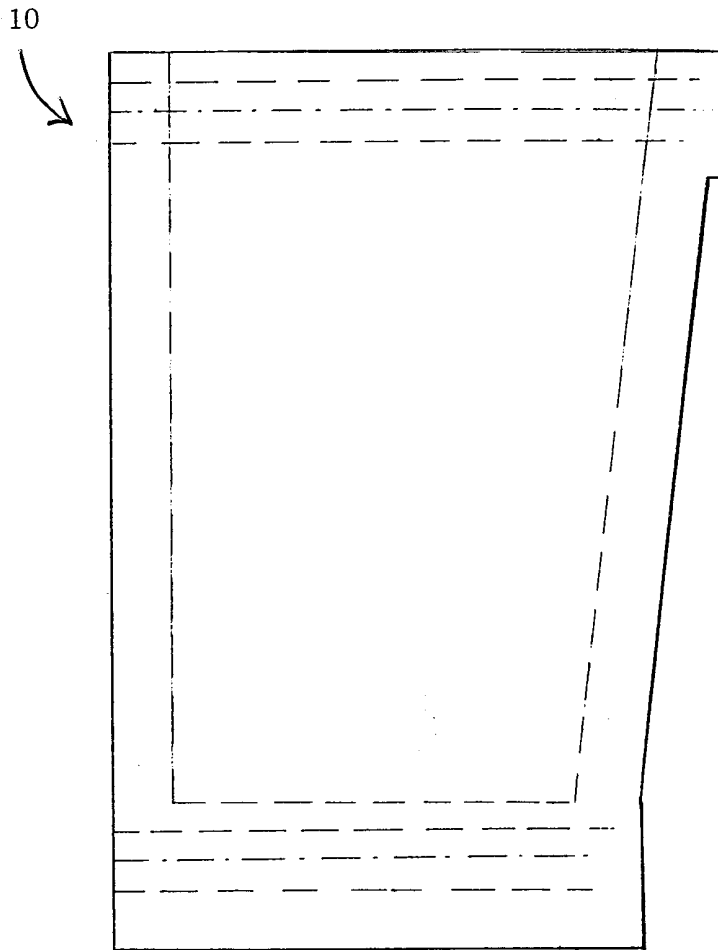


Fig. 8

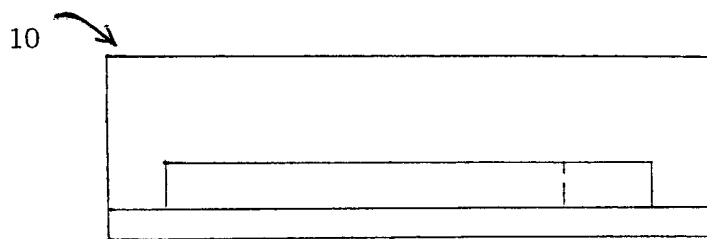


Fig. 9

