



⑫ **FASCICULE DE BREVET EUROPEEN**

④⑤ Date de publication du fascicule du brevet :
04.03.92 Bulletin 92/10

⑤① Int. Cl.⁵ : **A61D 19/02**

②① Numéro de dépôt : **88401903.5**

②② Date de dépôt : **22.07.88**

⑤④ **Paillette pour le stockage de petites quantités de substances, notamment biologiques et son utilisation dans un procédé de fécondation.**

③⑩ Priorité : **13.11.87 FR 8715741**
22.07.87 FR 8710359

④③ Date de publication de la demande :
22.02.89 Bulletin 89/08

④⑤ Mention de la délivrance du brevet :
04.03.92 Bulletin 92/10

⑧④ Etats contractants désignés :
DE ES FR GB IT NL

⑤⑥ Documents cités :
EP-A- 0 148 473
CH-A- 533 542
DE-A- 2 506 108
FR-A- 995 878
FR-A- 1 224 918
FR-A- 2 194 453
GB-A- 2 033 230

⑦③ Titulaire : **Cassou, Robert**
"Les Camus" Sainte Montaine
F-18700 Aubigny-sur-Nère (FR)
Titulaire : **Cassou, Maurice**
10, rue Georges Clémenceau
F-61300 L'Aigle (FR)
Titulaire : **Cassou, Bertrand**
10, rue Georges Clémenceau
F-61300 L'Aigle (FR)

⑦② Inventeur : **Cassou, Robert**
"LES CAMUS" Sainte Montaine
F-18700 Aubigny-sur-Nère (FR)
Inventeur : **Henny, Joseph**
Rue du Beaujolais
F-54500 Vandoeuvre Les Nancy (FR)
Inventeur : **Cassou, Maurice**
10, rue Georges Clémenceau
F-61300 L'Aigle (FR)

⑦④ Mandataire : **CABINET BONNET-THIRION**
95 Boulevard Beaumarchais
F-75003 Paris (FR)

EP 0 304 358 B1

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

Description

"paillette pour le stockage de petites quantités de substances notamment biologiques et son utilisation dans un procédé de fécondation."

La présente invention concerne une paillette du genre de celles utilisées pour le stockage de petites quantités de substances, notamment biologiques, se composant d'un segment de tube dont les deux extrémités définissent respectivement une première et une seconde zone terminale, la première zone terminale étant équipée d'un moyen de bouchage correspondant, dit premier.

Telles que décrite pour la première fois dans le brevet FR-995878 (CASSOU), une telle paillette se présente sous la forme d'un tube fin allongé équipé, dans une desdites zones terminales, d'un bouchon tripartite comportant deux tampons d'une matière fibreuse perméable aux gaz et qui enserrant une poudre initialement perméable elle aussi aux gaz et susceptible de se transformer au contact d'un liquide aqueux en une pâte ou gel imperméable en créant un bouchon étanche qui peut néanmoins coulisser dans le tube.

L'autre zone terminale du segment de tube demeure normalement ouverte pour l'introduction du liquide à conserver, généralement par aspiration exercée à travers le bouchon tripartite.

Pour mettre le liquide chargé dans le tube à l'abri de toute contamination et réciproquement, s'il s'agit d'un liquide partiellement dangereux pour l'environnement, pour éviter sa diffusion hors de la paillette, la seconde zone terminale dit naturellement être obturée et l'on disposait jusqu'à maintenant de diverses possibilités :

- obturation par bouchage,
- soudage, par exemple aux ultrasons,

application de la technique décrite au brevet précité consistant à tremper l'extrémité à obturer dans une poudre semblable à celle utilisée dans le bouchon tripartite.

La demande de brevet DE-A-2 506 108 (POPOVIC) décrit une paillette bouchée à l'une de ses deux zones terminales par un autre bouchon tripartite initialement imperméable au gaz mais pouvant former un piston étanche.

Ce bouchon tripartite comporte à la place des tampons en une matière fibreuse perméable en gaz du bouchon CASSOU, des tampons en une mousse de polystyrène imperméable au gaz, enserrant une poudre analogue à celle du bouchon CASSOU les liquides sont introduits dans cette paillette par translation du bouchon tripartite d'une extrémité vers l'autre.

Comme dans le brevet français ci-dessus, après remplissage il convient d'obturer la seconde zone terminale de la paillette.

Lesdits tampons de mousse de polystyrène ont le

grave inconvénient de diminuer considérablement de volume à la température de l'azote liquide et de se transformer en une couche de matériau n'obturant plus le tube. Seul le gel issu de la poudre assure alors la séparation de l'intérieur de la paillette avec l'extérieur.

En raison des besoins de plus en plus fréquents de manipulations et de stockages d'échantillons biologiques particulièrement dangereux, le besoin est apparu d'un renforcement de la protection contre tout risque de contamination des opérateurs et de l'environnement.

La présente invention concerne la création d'une paillette offrant une haute protection contre tout risque de contamination tout en se prêtant à une manipulation simple, commode et sûre.

La présente invention a ainsi pour objet une paillette pour le stockage et la manipulation de petites quantités de substances biologiques, composée d'un segment rectiligne de tube en matériau polymère transparent comportant à ses deux extrémités des zones terminales première et seconde équipées de moyens de bouchage étanches respectifs, caractérisée en ce que ces moyens de bouchage sont constitués chacun d'un bouchon en élastomère compact autoscellant dit ECA apte à adhérer de façon étanche à la paroi interne du tube et à se laisser traverser par une aiguille creuse, l'étanchéité étant maintenue tant autour de l'aiguille en place que dans le bouchon après retrait de celle-ci.

Ainsi la paillette selon l'invention, lorsqu'elle est vide de toute substance, comporte déjà à ces extrémités un premier et un second moyens de bouchage constitué par les deux bouchons en élastomère autoscellant. Pour introduire une substance à l'intérieur de cette paillette il convient de percer ledit bouchon autoscellant, qui sera dit par la suite ECA avec une aiguille creuse dont le conduit permet le passage de la substance choisie, celle-ci devant être suffisamment fluide pour ne pas provoquer l'obstruction dudit conduit. Le retrait de l'aiguille provoque le rebouchage, grâce à l'élasticité de l'élastomère, du canal créé par l'aiguille dans le bouchon. Les deux bouchons autoscellants permettent d'injecter et de retirer un quelconque fluide par l'une ou l'autre des extrémités, en insérant une aiguille dans chacun des bouchons.

Ainsi une telle paillette, peut être manipulée d'une manière automatisée et l'opération délicate du bouchage final, lorsque la paillette contient un produit dangereux est évité.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation d'une paillette, où le premier comme le second moyen de bouchage est constitué par un bouchon ECA, dans un procédé de fécondation in-vitro d'au moins un gamète femelle par un gamète mâle issu d'un groupe de gamètes mâles, les gamètes étant de provenance humaine ou animale.

Ce procédé consiste à former dans le segment de tube une pluralité de segments liquides jointifs respectivement adaptés à constituer de part et d'autre d'une zone intermédiaire de liaison,, une zone de chargement de gamètes mâles à proximité d'une des dites zones terminales et une zone de chargement de gamètes femelles à proximité de l'autre zone terminale.

Ce procédé a l'avantage d'être biomimétique, dans la mesure où les spermatozoïdes doivent parcourir une certaine distance dans un tube de faible diamètre avant d'attendre les ovocytes pour en assurer la fécondation. Les ovocytes sont atteints en premier par les spermatozoïdes les plus mobiles et les plus vigoureux.

Cette fécondation in-vitro est naturellement effectuée à une température appropriée variable selon les espèces concernées.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention ressortiront d'ailleurs de la description qui va suivre, à titre d'exemples, en référence aux dessins annexés sur lesquels ;

la figure 1 représente en coupe axiale partielle une paillette de l'art antérieur décrite dans le brevet FR-995 878 ;

la figure 2 représente en coupe axiale partielle une paillette de l'art antérieur décrite dans la demande de brevet DE-A-2 506 108 ;

les figures 3 à 6 représentent chaque fois en coupe axiale partielle des modes de réalisation d'une paillette selon la présente invention ;

la figure 7 représente une vue schématique d'un appareil destiné à la fabrication des paillettes représentées aux figures 4 à 6.

La paillette de la figure 1 se compose d'un segment de tube 1 cylindrique ouvert à ses deux extrémités 2, 3. Celles-ci définissent respectivement une première et une seconde zone terminale.

La première zone terminale contient, à l'intérieur du tube 1, un bouchon tripartite 4.

Ce bouchon 4 est constitué par un segment 5 d'une poudre spéciale entre deux tampons 6, 7 d'une substance fibreuse perméable au fluide qui se présente ici sous la forme d'une mèche tressée. La poudre spéciale du segment 5 initialement poreuse aux gaz a la propriété de se transformer rapidement au contact d'un liquide aqueux en une pâte ou gel imperméable adhérant à la paroi du tube et durcissant au contact de l'air, formant ainsi un bouchon hermétique aux fluides. Le tube de l'art antérieur ne présente ainsi qu'un seul bouchon. Le remplissage du segment 8 du tube 1 par un liquide aqueux ne peut avoir lieu que par l'extrémité ouverte 3 à cause de la fonction même du bouchon tripartite.

La paillette de la figure 2 comporte elle aussi un bouchon tripartite 104 dans une première zone terminale. Un segment 5 de poudre spéciale est inséré entre deux tampons 106, 107 en mousse de polysty-

rène. La qualité de mousse confère à ce bouchon tripartite 104 une fonction différente de celle du bouchon tripartite 4 de la figure 1.

En effet à température ambiante ce bouchon 104 est étanche au gaz et sert essentiellement de piston mobile à l'intérieur de la paillette.

A la température de l'azote liquide, les alvéoles s'effondrent sur elles-mêmes avec une réduction de volume importante des tampons 106 et 107, seule la poudre du segment 5 plus ou moins prise en masse s'interpose alors entre le contenu de la paillette et l'extérieur. Il faut remarquer de plus que le polystyrène n'est pas un élastomère.

La figure 3 représente une paillette selon l'invention qui par rapport à la paillette de l'art antérieur comporte en plus vers le bord des première et seconde extrémités 2 et 3 du tube 1, à l'intérieur, des bouchons 9 en élastomère compact. Ce bouchon a une longueur limitée à une faible fraction de la longueur totale du tube par exemple d'un vingtième de celle-ci.

Ce bouchon 9, dit bouchon ECA, est constitué d'un élastomère compact qui adhère à la paroi intérieure du tube et qui a la propriété de se laisser traverser de part en part par une aiguille creuse d'injection en créant une sorte de canal qui enserre le corps de l'aiguille d'une manière étanche. Ce perçage momentané permet de faire communiquer l'intérieur du tube 1 avec l'extérieur via le bouchon 9 en élastomère compact, et donc d'opérer des transferts de matière via le conduit de l'aiguille entre l'intérieur du tube et l'extérieur. Lorsque ces transferts sont terminés l'aiguille creuse est retirée et l'élastomère compact est suffisamment élastique pour que le canal de passage de l'aiguille se referme hermétiquement. Avantagusement l'élastomère compact aura une dureté finale Shore A comprise entre 20 et 50.

Par élastomère compact, on entend un élastomère sans alvéole, de façon à éviter l'effondrement et le rapetissement du bouchon aux températures de cryoconservation.

L'élastomère compact peut être un caoutchouc thermoplastique choisi parmi les cariflex TR (marque déposée de la Société Shell) le Solprene (marque déposée de la Société Phillips). L'Europrene Sol T (marque déposée de la Société Anic) ou un élastomère à un ou deux composants, vulcanisable à température ambiante comme le mastic silicone translucide Rhodorsil (marque déposée de la Société Rhône-Poulenc), le Silopren (marque déposée de la Société Bayer), le Silicone Coulable (marque déposée de la Société Rezolin) ou le Silbione RTV (Rhône-Poulenc) à bi-composant.

Les élastomères sont choisis non-cytotoxiques et sans propriété de relargage ni d'absorption à l'égard du milieu biologique introduit dans le tube.

Le bouchon 9 en élastomère compact peut être mis en place à l'intérieur du tube par bouchage clas-

sique, à l'aide d'un bouchon préformé, par enfoncement à force à l'intérieur du tube 1. Le tube est maintenu pendant cette opération dans un canon de soutien qui l'enserme étroitement pour éviter toute déformation ou flambage.

Un autre procédé préféré consiste à injecter à l'intérieur du tube vers son extrémité 3 une quantité dosée d'un élastomère thermoplastique ou se vulcanisant à froid.

A la différence des paillettes qui comportent un bouchon tripartite, il est possible de remplir cette paillette d'un ou plusieurs liquides par l'une ou l'autre de ses extrémités 2 ou 3.

La figure 4 représente une paillette où le premier moyen de bouchage comporte un bouchon tripartite 4, et où a été installée, par perforation du deuxième bouchon ECA 9, à la fabrication en usine, une aiguille creuse classique 18. Un bicone "double mâle Luer" permet de relier cette aiguille creuse classique à une autre aiguille creuse classique. La pointe biseautée de l'aiguille 18 dépasse à l'intérieur du tube le bouchon d'une certaine longueur. Ce dépassement est prévu en cas d'injection de liquide par l'aiguille 18 pour obtenir la création d'une bulle de gaz dont la longueur sera d'autant plus importante que la pointe de l'aiguille 18 s'avance à l'intérieur du tube. En effet, lors d'un chargement du tube par un liquide, l'aspiration par l'extrémité 2 du tube crée une sorte de piston de liquide qui va en grossissant et qui se déplace vers le bouchon tripartite jusqu'à atteindre la poudre du segment 5, ce qui arrête par colmatage l'aspiration. Il reste ainsi une bulle de gaz située entre la pointe biseautée de l'aiguille et le bouchon 9. Le gaz est normalement de l'air, mais peut être un autre gaz inerte si le tube a été rempli d'un autre gaz.

La figure 5 représente une paillette où le premier moyen de bouchage comporte un bouchon ECA 19 ainsi qu'un bouchon tripartite 4 et le second moyen de bouchage un bouchon ECA 9 équipé d'une aiguille 15 à embout mâle, adapté à se raccorder à un cône Luer femelle d'une aiguille d'injection classique. Le bouchon tripartite 4 a été déplacé à la fabrication vers l'intérieur du tube pour laisser la place au bouchon 19. Un espace 21 rempli de gaz notamment d'air existe entre le bouchon 19 et le bouchon tripartite 4. Cet espace est ménagé pour permettre d'y faire déboucher la pointe biseautée d'une aiguille ayant traversé de part en part le bouchon 19. Cet espace 21 n'est pas cependant en général indispensable.

La figure 6 représente une forme de réalisation de la paillette de la figure 5 où ont été installées en usine une aiguille classique 22 qui traverse le bouchon 19 et une aiguille 23 à embout mâle en tronc de cône sans garde qui traverse le bouchon 9.

La figure 7 représente d'une manière schématique un appareil destiné à la mise en place automatique de l'aiguille creuse à embout mâle 15 ou 23 dans une paillette selon l'invention avec guidage selon

l'axe du tube 1.

L'appareil se compose d'une partie 24 qui maintient dans une gouttière le tube 1 et d'une partie 25 qui maintient l'aiguille 15 selon l'axe du tube. Une translation de 25 se rapprochant de 24 a enfoncé l'aiguille 15 dans la position désirée.

Toutes ces paillettes précédentes sont placées pour la vente dans des conditions stériles sous emballages individuels étanches en atmosphère stérile.

Une paillette équipée comme à la figure 5 d'un bouchon élastomère 19 non équipé d'une aiguille et d'un bouchon ECA 9 non équipé d'une aiguille comme à la figure 3 permet la fabrication en usine d'une paillette qui contient entre ses deux bouchons ECA 9, 19 une atmosphère inerte que l'on peut choisir notamment parmi l'air, le gaz carbonique, l'azote, les gaz rares, ou même un milieu de culture confiné entre deux bulles de gaz.

Le fonctionnement général des paillettes selon l'invention sera maintenant décrit.

La paillette comme celle de la figure 3 ne comporte pas de bouchon tripartite 4 ou 104, il est possible d'injecter ou de retirer un quelconque fluide par l'une ou l'autre des extrémités 2, 3 du tube 1 à condition que les deux bouchons ECA 9 soient percés chacun par une aiguille creuse.

L'arrachement des aiguilles de leur bouchon ECA recrée une étanchéité. Les aiguilles sont d'un emploi unique et jetées après utilisation dans des conditions définies d'après les risques de contamination et de toxicité.

Ainsi les paillettes selon l'invention permettent le stockage en paillette de doses de toute substance non agressives chimiquement pour les composants du tube, sous forme initialement liquide, gazeuse, ou particulaire. Les particules doivent être suffisamment fines pour pouvoir s'écouler à travers le canal d'une aiguille.

Ces paillettes conviennent parfaitement au stockage et conservation par cryogénie de liquides biologiques, cellules, gamètes animaux ou végétaux, microbes, virus.

Comme dans les paillettes de l'art antérieur il est possible de recueillir le contenu de la paillette en coupant le tube par un outil tranchant d'une manière perpendiculaire à l'axe dans une zone du tube voisine, mais non en vis-à-vis du bouchon obturant l'extrémité 3 du tube. Mais pour les produits toxiques ou dangereux il est préférable de couper le tube et le bouchon ECA 9 en élastomère simultanément de façon à laisser un reste de bouchon sous forme d'un opercule plus ou moins mince.

Ces nouvelles paillettes permettent la manipulation et la conservation de petites doses de produits chimiquement ou biologiquement dangereux dans des conditions de protection très améliorées.

D'une manière réciproque ces nouvelles paillet-

tes permettent la manipulation et la conservation de substances diverses, notamment biologiques dans des conditions d'asepsies améliorées.

Comme les paillettes de l'art antérieur les paillettes selon l'invention supportent de brutales transitions dans les deux sens entre -196°C et environ 34°C. Tous les composants de la paillette sont par ailleurs choisis pour pouvoir supporter la stérilisation notamment par irradiation.

Les paillettes étant avantageusement réalisées, de manière déjà connue, dans un matériau de qualité cristal d'épaisseur de paroi d'environ 10/100 mm, leur transparence, optique est telle qu'il est possible de regarder avec une loupe binoculaire ce qui se passe à l'intérieur de la paillette, en particulier dans le cas de gamètes, d'observer les premiers stades de développement d'embryons.

Exemple de fécondation de gamètes humains à l'aide de la paillette de la figure 3 :

On prend une paillette, en butadiène styrène ou en méthacrylate de méthyle de qualité cristal, d'une longueur de 133 mm et d'un diamètre interne de 2 mm, obturée à ses deux extrémités par des bouchons ECA, et qui a été au préalable stérilisée par irradiation aux rayons gamma.

Un des bouchons, soit A, est percé par une aiguille creuse biseautée qui sert d'orifice d'échappement, la pointe de l'aiguille sortant à peine du bouchon.

L'autre bouchon, soit B, est percé par une aiguille montée en bout d'une seringue et remplie sans air d'un liquide milieu de culture, comme par exemple le milieu B₂ de Menezo.

On remplit alors tout l'intérieur du tube du liquide rose de Menezo, sans présence d'une phase gazeuse, car la pointe de l'aiguille d'injection de ce milieu sort à peine du bouchon B.

L'aiguille d'injection est retirée du bouchon B.

A l'aide d'une autre aiguille en bout d'une autre seringue remplie sans air d'un milieu dilueur par exemple milieu F₁ ou Tris contenant des spermatozoïdes, on pique de nouveau le bouchon B en faisant dépasser cette fois l'aiguille d'environ 15 mm, et on injecte un segment du milieu dilueur d'environ 10 mm de longueur ; ceci provoque la sortie par l'aiguille d'échappement du bouchon A d'un volume correspondant du milieu de Menezo.

Toutes les aiguilles sont enlevées.

On reperce alors le bouchon B à l'aide d'une aiguille creuse biseautée dont la pointe dépasse à peine le bouchon.

Avec une aiguille et une seringue de petite capacité, on injecte par le bouchon A quelques gouttes d'un dilueur contenant un ou plusieurs ovocytes. L'excès de liquide s'échappe par l'aiguille creuse du bouchon B. Cette introduction d'ovocyte(s) dans le

tube peut être contrôlée par examen à la loupe binoculaire.

Toutes les aiguilles sont enlevées.

Le tube ainsi rempli est maintenu horizontal à une température voisine de 37°C, et le clivage des ovocytes est contrôlé par examen visuel. Lorsque les embryons atteignent le stade de division 4 ou 8, on les recueille dans une boîte de Petri en coupant le tube par un outil tranchant d'une manière perpendiculaire à l'axe du tube, soit dans une zone située en dehors du bouchon voisin des embryons, soit dans une zone en regard du bouchon.

Chaque embryon recueilli peut être directement implanté chez une femme receveuse, ou congelé pour conservation dans une paillette française dans un milieu contenant un cryoprotecteur, comme le glycérol, l'éthylène glycol ou le propylène glycol. Pour ce faire l'embryon peut être transféré dans une paillette, selon la présente invention, à l'aide d'aiguilles creuses amovibles. On place l'embryon dans son milieu nourricier contenant le cryoprotecteur et l'on s'arrange, par des injections successives, pour que l'embryon se retrouve à l'intérieur du tube dans son milieu sous la forme d'un segment de liquide entouré de chaque côté d'une bulle d'air. Les bulles d'air jouent le rôle d'amortisseurs lors des changements de volumes entraînés par les transitions de phase liquide-solide et solide-liquide lors de la congélation et de la décongélation. De plus ces bulles d'air servent de séparateur entre différents segments de liquide différents que l'on ne désire pas mélanger au départ.

Il est ainsi possible de prévoir à côté du milieu nourricier contenant l'embryon et le cryoprotecteur, un autre milieu liquide dit de décongélation, ces deux milieux étant dans le tube séparés par une bulle d'air. La paillette est ensuite congelée pour conservation. A la décongélation, les différents milieux repassant à l'état liquide peuvent être mélangés en secouant la paillette de façon à ramener les bulles d'air à une extrémité de la paillette, le milieu de décongélation produisant son effet sur l'embryon avant le transfert de celui-ci.

Revendications

1. Paillettes pour le stockage et la manipulation de petites quantités de substances biologiques, composée d'un segment (8) rectiligne de tube (1) en matériau polymère transparent comportant à ses deux extrémités (2,3) des zones terminales première et seconde équipées de moyens de bouchage étanches respectifs (9, 19), caractérisée en ce que ces moyens de bouchage sont constitués chacun d'un bouchon en élastomère compact autoscellant du type ECA apte à adhérer de façon étanche à la paroi interne du tube (1) et à se laisser traverser par une aiguille creuse, l'étanchéité étant maintenue tant

autour de l'aiguille en place que dans le bouchon après retrait de celle-ci.

2. Paillette selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'élastomère autoscellant est choisi parmi les caoutchoucs thermoplastiques, et les élastomères silicone vulcanisables à température ambiante.

3. Paillette selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que l'élastomère autoscellant présente une dureté Shore comprise entre 20 et 50.

4. Utilisation d'une paillette selon une quelconque des revendications 1 à 3, dans un procédé de fécondation biomimétique dans lequel on forme dans le segment (8) de tube une pluralité de segments liquides jointifs aptes à constituer, de part et d'autre d'une zone intermédiaire de liaison une zone de chargement de gamètes mâles à proximité de ladite première zone terminale et une zone de chargement de gamètes femelles à proximité de la seconde zone terminale.

5. Utilisation suivant la revendication 4, caractérisée en ce que la zone de chargement de gamètes mâles est séparée du premier bouchon par un segment de liquide de même nature que la zone de liaison, tandis que la zone de chargement de gamètes femelles est contiguë au second bouchon.

Patentansprüche

1. Röhrchen zur Aufbewahrung und Handhabung von kleinen Mengen biologischer Substanzen bestehend aus einem geradlinigen Abschnitt (8) eines Röhrchens (1) aus durchsichtigem Polymerisatmaterial, das an seinen zwei Enden (2, 3) eine erste und zweite Endzone aufweist, die mit jeweiligen dichten Verschließvorrichtungen (9, 10) ausgerüstet sind, **dadurch gekennzeichnet**, daß diese Verschließvorrichtungen jede aus einem Stopfen aus einem kompakten selbstabdichtenden Elastomer vom Typ ECA bestehen, das dicht an der Innenwand des Röhrchens (1) haften kann und durch welches eine Hohlnadel hindurchgeschoben werden kann, wobei die Abdichtung sowohl um die eingeschobene Nadel wie nach deren Zurückziehung im Stopfen erhalten bleibt.

2. Röhrchen nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das selbstabdichtende Elastomer ausgewählt ist aus den thermoplastischen Kautschuken und den bei Raumtemperatur vulkanisierbaren Silikonelastomeren.

3. Röhrchen nach einem der Ansprüche 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß das selbstabdichtende Elastomer eine Shore-Härte zwischen 20 und 50 aufweist.

4. Verwendung eines Röhrchens nach einem der Ansprüche 1 bis 3 in einem Verfahren zur biomimetischen Befruchtung, wobei man im Abschnitt (8) des Röhrchens eine Mehrzahl von aneinanderstoßenden Flüssigkeitssegmenten bildet, welche auf der einen

und anderen Seite einer dazwischenliegenden Verbindungszone eine Füllzone von männlichen Gameten in der Nähe der ersten Endzone und eine Füllzone von weiblichen Gameten in der Nähe der zweiten Endzone bilden können.

5. Verwendung nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Füllzone der männlichen Gameten vom ersten Stopfen durch ein Flüssigkeitssegment von gleicher Art wie die Verbindungszone getrennt ist, während die Füllzone der weiblichen Gameten an den zweiten Stopfen anstößt.

Claims

1. A storage tube for the storage and handling of small quantities of biological substances, which is composed of a rectilinear segment (8) of tube (1) of transparent polymer material comprising at its two ends (2, 3) first and second terminal regions provided with respective sealing plugging means (9, 19), characterised in that said plugging means are each formed by a plug of self-sealing compact elastomer of type ECA which is capable of sealingly adhering to the internal wall of the tube (1) and allowing a hollow needle to pass therethrough, the sealing effect being maintained both around the needle when in position and in the plug after withdrawal of the needle.

2. A storage tube according to claim 1 characterised in that the self-sealing elastomer is selected from thermoplastic rubbers and silicone elastomers which are vulcanisable at ambient temperature.

3. A storage tube according to one of claims 1 and 2 characterised in that the self-sealing elastomer has a Shore hardness of between 20 and 50.

4. Use of a storage tube according to any one of claims 1 to 3 in a biomimetic fertilisation process wherein formed in the tube segment (8) is a plurality of contiguous liquid segments which are capable of forming on respective sides of an intermediate connecting region a charging region of male gametes in the proximity of said first terminal region and a charging region of female gametes in the proximity of the second terminal region.

5. Use according to claim 4 characterised in that the charging region of male gametes is separated from the first plug by a segment of liquid of the same nature as the connecting region while the charging region of female gametes is contiguous with the second plug.

