

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11)

EP 1 273 346 A1

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(43) Date de publication:
08.01.2003 Bulletin 2003/02

(51) Int Cl. 7: B01L 3/02

(21) Numéro de dépôt: 01810661.7

(22) Date de dépôt: 05.07.2001

(84) Etats contractants désignés:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE TR
Etats d'extension désignés:
AL LT LV MK RO SI

- Kuoni, Andreas
2503 Biel (CH)
- Papen, Roeland
Pittsburgh, PA 15238 (US)
- De Rooij, Nico
2014 Bôle (US)

(71) Demandeur: Seyonic SA
2000 Neuchâtel (CH)

(74) Mandataire: Gresset, Jean
GLN
Gresset & Laesser Neuchâtel
Puits-Godet 8A
2000 Neuchâtel (CH)

(72) Inventeurs:

- Boillat, Marc
2012 Auvernier (CH)
- Van der Schoot, Bart
2000 Neuchatel (CH)

(54) Dispensateur de fluide multi-canal

(57) La présente invention concerne un dispensateur de fluide multi-canal permettant de prélever du liquide (14) dans une pluralité de cavités (12) ménagées sur un plateau réservoir (10) et de le projeter sur un plateau récepteur (16), caractérisé en ce qu'il comporte:

- une pluralité de canaux souples (26) disposés en un faisceau convergent, dont les premières extrémités sont destinées à être plongées dans lesdites

cavités et dont les deuxièmes extrémités sont assemblées en un réseau miniaturisé,

- des moyens de remplissage desdits canaux, à partir de leurs premières extrémités, par le liquide contenu dans les cavités, et
- des moyens d'expulsion d'une goutte de liquide de la deuxième extrémité de chaque canal en direction du plateau récepteur.

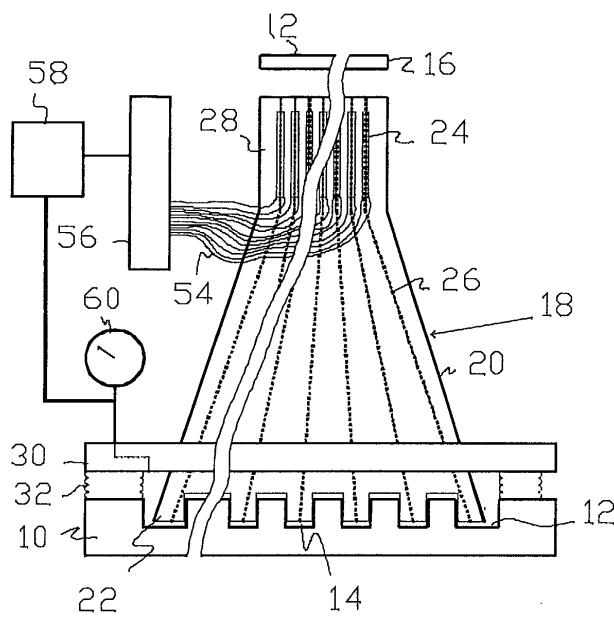


Figure 1

Description

[0001] La présente invention se rapporte à la réalisation de réseaux miniaturisés à haute densité d'échantillons de substances biologiques (oligonucléotides, DNA,...), souvent désignés "biochips", en vue de leur traitement.

[0002] De tels réseaux sont des outils particulièrement utiles dans le domaine de la biologie moléculaire, ainsi que l'attestent, notamment, les publications "High-density oligonucleotides arrays" (A. P. Blanchard et Al. - Biosensors & Bioelectronics, Vol. 11, N° 6/7, pp. 686-690, 1996) et "Array of hope" (E. S. Lander - Nature Genetics Supplement, Vol. 21, January 1999).

[0003] L'invention concerne, plus particulièrement, un dispensateur de fluide multi-canal permettant de prélever du liquide dans une pluralité de cavités ménagées sur un plateau réservoir puis d'en déposer un réseau de micro-gouttes sur un plateau récepteur de manière à constituer un "biochip".

[0004] Le dispensateur selon l'invention est conçu pour répondre de façon optimale aux principales exigences suivantes:

- homogénéité du trajet du liquide entre les deux plateaux et volume mort minimum;
- possibilité d'utiliser des plateaux réservoirs et des plateaux récepteurs de différentes dimensions;
- absence de contamination du liquide traversant les canaux;
- homogénéité en volume des micro-gouttes.

[0005] Pour atteindre cet objectif, le dispensateur selon l'invention comporte:

- une pluralité de canaux souples disposés en un faisceau convergent, dont les premières extrémités sont destinées à être plongées dans les cavités du plateau réservoir et dont les deuxièmes extrémités sont assemblées en un réseau miniaturisé,
- des moyens de remplissage des canaux, à partir de leurs premières extrémités, par le liquide contenu dans les cavités, et
- des moyens d'expulsion d'une goutte de liquide de la deuxième extrémité de chaque canal en direction du plateau récepteur.

[0006] De façon avantageuse, dispensateur selon l'invention présente encore caractéristiques suivantes:

- les canaux sont formés dans une pluralité de plaques souples de manière à converger de leurs premières extrémités vers leurs deuxièmes extrémités;
- les différentes plaques sont liées ensemble par leur partie qui comporte les deuxièmes extrémités des canaux;
- chaque plaque est formée de deux feuilles polymériques scellées ensemble, dont l'une, au moins, est

dotée d'un réseau de rainures convergentes formant les canaux;

- le plateau réservoir est fermé, de façon étanche, par un couvercle que traversent les canaux et les moyens de remplissage sont agencés de manière à établir une surpression dans l'espace compris entre le couvercle et les cavités;
- les moyens de remplissage comportent un soufflet réunissant le couvercle et son plateau par leur périphérie;
- chaque canal comporte un premier rétrécissement situé à proximité de sa deuxième extrémité et un deuxième rétrécissement situé à cette extrémité et les moyens d'expulsion comportent un actionneur piézo-électrique disposé sur une paroi extérieure du canal, entre ses deux rétrécissements, et ayant pour rôle de la déformer à cet endroit de façon à réduire l'épaisseur du canal;
- les moyens d'expulsion comportent un deuxième actionneur piézo-électrique identique au premier et disposé en face de lui sur l'autre paroi extérieure du canal;
- l'actionneur piézo-électrique est formé d'un empilement qui comporte, en partant de la paroi extérieure du canal, une électrode métallique inférieure, une couche d'isolation, une couche de matériau piézo-électrique, une nouvelle couche d'isolation et une électrode métallique supérieure;
- chaque actionneur est commandé individuellement.

[0007] D'autres caractéristiques de l'invention ressortiront de la description qui va suivre, faite en regard du dessin annexé, sur lequel:

- les figures 1 et 2 représentent, respectivement vu de face et de côté, un dispensateur selon l'invention,
- la figure 3 montre, disposés côté à côté, en respectant le rapport de leurs dimensions, un plateau réservoir et un plateau récepteur;
- la figure 4 est une vue en coupe d'un canal, et
- la figure 5 montre, en coupe, la structure de l'actionneur associé à chaque canal.

[0008] Les figures 1 et 2 montrent en 10 un plateau réservoir, en verre ou plastique rigide, doté d'une pluralité de cavités 12, disposées en matrice, dans chacune desquelles est disposé un liquide biologique 14 dont des échantillons doivent être déposés, sous forme de micro-gouttes, sur un plateau récepteur miniaturisé 16, également en verre ou plastique rigide (nylon).

[0009] On notera immédiatement, en se référant à la figure 3 car, pour d'évidentes raisons, cela n'apparaît pas sur les figures 1 et 2, que les deux plateaux ont des dimensions très différentes. Typiquement, le plateau réservoir 10 a une surface d'environ 100 cm² (12.5 cm x 8.5 cm) et possède 384 cavités 12, ayant un volume

d'environ 10 μl , disposées en une matrice de 16 colonnes de 24 rangées et distantes les unes des autres, centre à centre, d'environ 4.5 mm. Par contre, le plateau récepteur 16 ne possède pas de cavités et a une surface d'environ seulement 1 cm^2 (1.2 cm x 0.8 cm).

[0010] Pour prélever du liquide contenu dans les cavités 12 et en projeter un réseau de micro-gouttes sur le plateau récepteur 16, le dispositif selon l'invention comporte une pluralité de plaques de transfert souples 18 assemblées entre elles. Ces plaques sont réalisées en polyimide, par exemple et ont une épaisseur de l'ordre de 50 à 150 μm .

[0011] Chaque plaque 18 comporte une partie inférieure en forme de trapèze isocèle 20, formant une interface fluidique, dont la grande base a sensiblement la même longueur que la largeur l_1 du plateau réservoir 10 et est crénelée de manière à se terminer par autant de portions d'extrémités 22 que le plateau réservoir comporte de colonnes de cavités 12, soit 16 dans l'exemple décrit. Les créneaux sont dimensionnés de manière à ce que les portions 22 puissent pénétrer dans les cavités 12.

[0012] L'interface fluidique 20 en forme de trapèze est prolongée, à partir de sa petite base, par une partie rectangulaire 24 dont la longueur correspond sensiblement à la largeur l_2 du plateau récepteur 16.

[0013] Chaque plaque souple 18 est dotée d'un faisceau de canaux 26 qui prennent naissance dans chacune de ses portions d'extrémités 22 et se terminent, parallèlement les uns aux autres, dans la partie supérieure 24. Typiquement, dans l'exemple de réalisation décrit, les canaux 26 sont alors distants, les uns des autres, centre à centre, de 0.5 mm.

[0014] Le dispositif selon l'invention comporte autant de plaques identiques 18 que le plateau réservoir 10 comporte de rangées, soit 24 dans l'exemple décrit, les portions d'extrémités 22 de chaque plaque étant destinées à prendre place dans l'une des colonnes du plateau.

[0015] Les plaques souples 18 sont rassemblées, à leur partie supérieure, parallèlement les unes aux autres, dans un cadre 28, pour former une tête d'impression dont la longueur correspond sensiblement à la longueur L_2 du plateau récepteur 16 et dont la largeur, comme déjà mentionné, correspond sensiblement à sa largeur l_2 .

[0016] Il va de soi que les plaques pourraient aussi avoir une base de longueur correspondant à la longueur L_1 du plateau réservoir 10.

[0017] Ainsi que le montrent les figures 1 et 2, le plateau réservoir 10 est fermé, de manière étanche, par un couvercle 30 traversé, également de manière étanche, par les plaques souples 18. L'étanchéité sur la périphérie est assurée par un soufflet 32 dont le rôle apparaîtra plus loin.

[0018] On se référera maintenant à la figure 4 qui montre, à plus grande échelle, la façon dont sont réalisées les plaques souples 18 et leurs canaux 26. Il ap-

paraît que ces plaques sont formées de deux minces feuilles de plastique 34 et 36 dont l'une, la feuille supérieure 34 sur la figure, a été préalablement gravée, par tout procédé bien connu de l'homme de métier, pour dessiner le contour des canaux 26 et qui sont ensuite assemblées l'une à l'autre par un procédé de laminage, également bien connu de l'homme de métier.

[0019] Typiquement, les feuilles 34 et 36 ont une épaisseur de 25 à 50 μm , alors que les canaux 26 ont une profondeur de 70 à 50 μm et une largeur de 30 à 1000 μm . Le volume total d'un canal est d'environ 0.5 à 3 μL .

[0020] Dans leur partie rectangulaire 24, les plaques 18 comportent, fixé sur leur feuille supérieure 34, en face de chaque canal 26, un actionneur piézo-électrique 38 ayant pour rôle de déformer la feuille à cet endroit afin de réduire l'épaisseur du canal.

[0021] Au-dessus de l'actionneur 38, le canal 26 débouche à l'extérieur de la feuille par un rétrécissement 40 ayant pour rôle de déformer la feuille à cet endroit afin de réduire l'épaisseur du canal.

[0022] La figure 5 montre que l'actionneur 38 est formé d'un empilement qui comporte, en partant de la feuille 34, une électrode métallique inférieure 44, une couche d'isolation 46, une couche de matériau piézo-électrique 48, une nouvelle couche d'isolation 50 et une électrode métallique supérieure 52. Les deux électrodes sont associées à des conducteurs électriques 54 permettant la commande de l'actionneur.

[0023] Les électrodes 44 et 52 sont déposées par évaporation, tandis que les couches d'isolation 46 et 50 sont déposées par plasma et la couche piézo-électrique 48 est déposée par vaporisation à l'aide d'un magnétron.

[0024] Comme représenté sur la figure 1, les conducteurs électriques d'alimentation des différents actionneurs 38 aboutissent à un circuit de commande 56 qui, sous les ordres d'un ordinateur 58, assure leur excitation.

[0025] En fonctionnement, l'ensemble formé par les plaques de transfert 18 assemblées est placé au-dessus du plateau réservoir 10 dont les cavités 12 contiennent les liquides 14 à transférer sur le plateau récepteur 16. L'alignement est réalisé de manière à ce qu'après avoir traversé le couvercle 30, chacune des portions d'extrémités 22 des plaques de transfert 18 se trouve à la verticale d'une cavité 12. Lorsque les extrémités des plaques sont immergées dans le liquide, celui-ci est aspiré dans les différents canaux 26 par capillarité.

[0026] Il est nécessaire ensuite d'appuyer sur le couvercle 30 pour comprimer le soufflet 32 afin d'établir dans l'enceinte une surpression de quelques millibars, dont la valeur est lue sur un manomètre 60. Du fait de cette surpression, le liquide continue sa montée dans

les canaux 26, traverse les rétrécissements 42 et se trouve stoppé au niveau des becs 40 par l'effet de tension de surface.

[0027] Pour éjecter le liquide en direction du plateau récepteur 16, il suffit alors de donner l'ordre à l'ordinateur 58 d'appliquer aux bornes des électrodes 44 et 52 de chaque actionneur 38 une impulsion électrique qui provoque un rétrécissement du canal 26 correspondant. Une partie du liquide qui s'y trouve, empêchée de revenir en arrière par le rétrécissement 42, est ainsi éjectée par le bec 40 et projetée sur le plateau récepteur 16, à un endroit bien déterminé.

[0028] Le plateau récepteur 16 peut ainsi recevoir un réseau de micro-gouttes de liquide formé du même nombre de rangées et de colonnes que le plateau réservoir mais, comme déjà mentionné, à une échelle fortement réduite. Typiquement, dans l'exemple décrit, les micro-gouttes peuvent avoir un volume de 20 pL à 1 nL.

[0029] Les plaques 18 contenant un volume de liquide largement supérieur à celui des micro-gouttes éjectées, plusieurs plateaux récepteurs 16 peuvent être ensuite utilisés à la suite les uns des autres.

[0030] Dans une variante de réalisation non représentée, les canaux 26 pourraient être soumis à l'effet de deux actionneurs identiques 38 disposés face à face à l'extérieur de chacune des feuilles formant les plaques souples. Une telle disposition permet de mieux maîtriser la direction d'éjection des gouttes.

[0031] La présente description a été faite en se référant à une plaque souple formée de deux feuilles scellées ensemble. En variante, la plaque pourrait être formée de trois feuilles, dont la feuille centrale serait percée d'ouvertures traversantes formant les canaux.

[0032] Ainsi est réalisé un dispensateur de liquide qui présente les principaux avantages suivants:

- du fait que la tête d'impression 24 et l'interface fluide 20 sont réunies une seule pièce, les plaques 18, le trajet du liquide est parfaitement homogène et il ne subsiste qu'un volume mort minimum ;
- du fait que les plaques 18 sont souples, l'adaptation à des plateaux réservoirs 10 et des plateaux récepteurs 16 de différentes dimensions est facilitée ;
- du fait que les plaques souple 18 sont formées de deux feuilles polymériques assemblées par lamination et non collées, toute contamination par la colle des liquides traversant les canaux est éliminée ;
- du fait que chaque canal 26 peut être commandé individuellement par une impulsion qui éjecte une seule micro-goutte, l'homogénéité en volume des micro-gouttes peut être assurée.

Revendications

1. Dispensateur de fluide multi-canal permettant de prélever du liquide (14) dans une pluralité de cavités (12) ménagées sur un plateau réservoir (10) et

de le projeter sur un plateau récepteur (16), **caractérisé en ce qu'il comporte:**

- une pluralité de canaux souples (26) disposés en un faisceau convergent, dont les premières extrémités sont destinées à être plongées dans lesdites cavités et dont les deuxièmes extrémités sont assemblées en un réseau miniaturisé,
 - des moyens de remplissage desdits canaux, à partir de leurs premières extrémités, par le liquide contenu dans les cavités, et
 - des moyens d'expulsion d'une goutte de liquide de la deuxième extrémité de chaque canal en direction du plateau récepteur.
2. Dispensateur selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** lesdits canaux sont formés dans une pluralité de plaques souples (18) de façon à converger de leurs premières extrémités vers leurs deuxièmes extrémités.
 3. Dispensateur selon la revendication 2, **caractérisé en ce que** les plaques souples (18) sont liées ensemble par leur partie (24) qui comporte les deuxièmes extrémités des canaux.
 4. Dispensateur selon la revendication 2, **caractérisé en ce que** chaque plaque souple (18) est formée de deux feuilles polymériques (34, 36) scellées ensemble et dont l'une, au moins, est dotée d'un réseau de rainures convergentes formant lesdits canaux.
 5. Dispensateur selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** le plateau réservoir (10) est fermé, de manière étanche, par un couvercle (30) qui traversent les canaux et **en ce que** lesdits moyens de remplissage sont agencés pour établir une surpression dans l'espace compris entre le couvercle et les cavités.
 6. Dispensateur selon la revendication 5, **caractérisé en ce que** lesdits moyens de remplissage comportent un soufflet (32) réunissant le couvercle et son plateau par leur périphérie.
 7. Dispensateur selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** chaque canal (26) comporte un premier rétrécissement (42) situé à proximité de sa deuxième extrémité et un deuxième rétrécissement (40) situé à ladite extrémité et **en ce que** lesdits moyens d'expulsion comportent un actionneur piézo-électrique (38) disposé sur une paroi extérieure du canal, entre ses deux rétrécissements, et ayant pour rôle de la déformer à cet endroit afin de réduire l'épaisseur du canal.
 8. Dispensateur selon la revendication 7, **caractérisé**

en ce que lesdits moyens d'expulsion comportent un deuxième actionneur piézo-électrique (38) identique au premier et disposé en face de lui sur l'autre paroi extérieure du canal.

5

9. Dispensateur selon l'une des revendication 7 et 8, **caractérisé en ce que** ledit actionneur est formé d'un empilement qui comporte, en partant de la paroi extérieure du canal, une électrode métallique inférieure (44), une couche d'isolation (46), une pastille de matériau piézo-électrique (48), une nouvelle couche d'isolation (50) et une électrode métallique supérieure (52). 10
10. Dispensateur selon l'une des revendications 7 à 9, **caractérisé en ce que** chaque actionneur (38) est commandé individuellement. 15

20

25

30

35

40

45

50

55

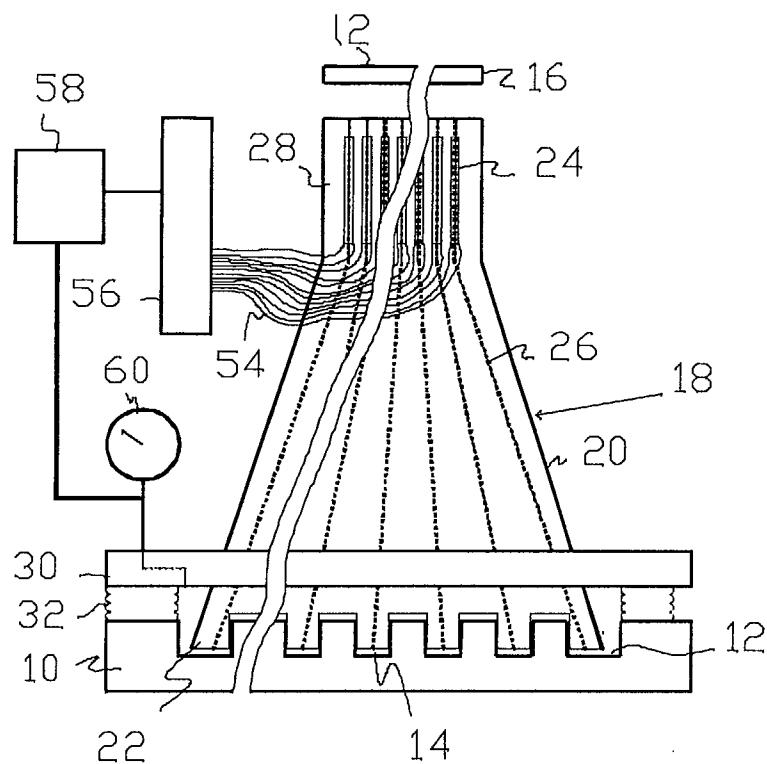


Figure 1

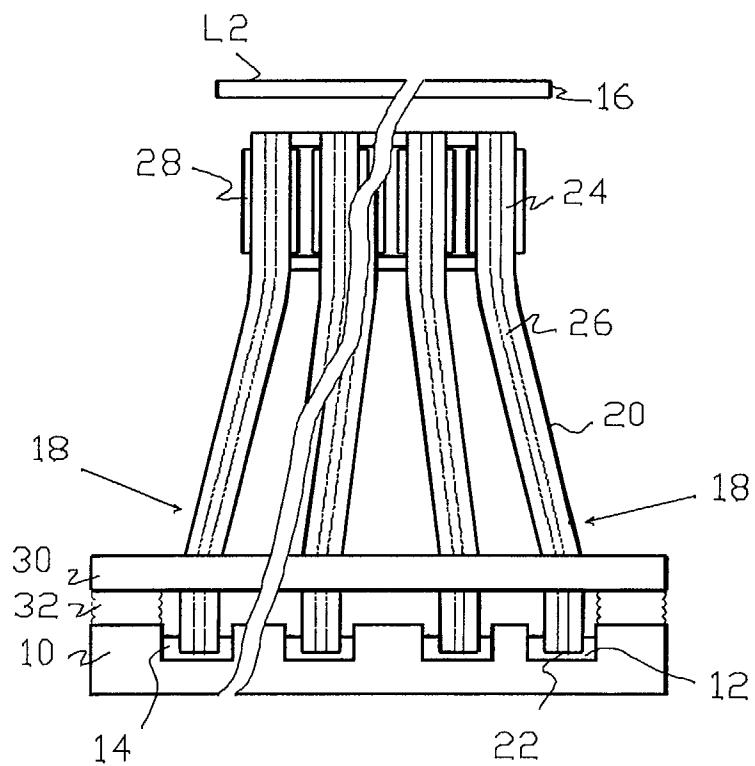


Figure 2

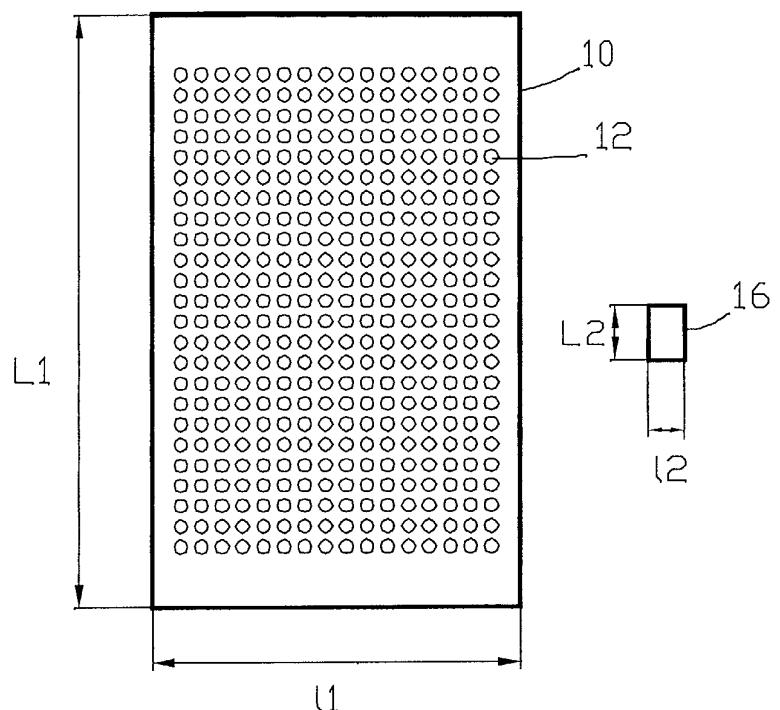


Figure 3

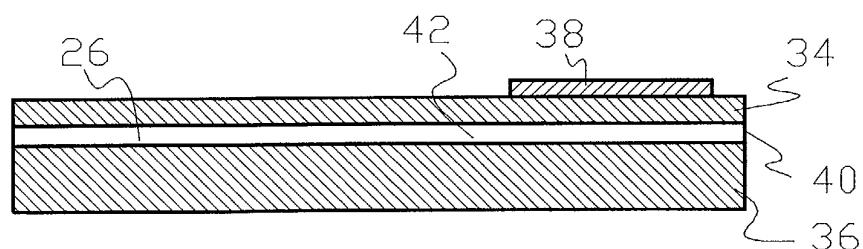


Figure 4

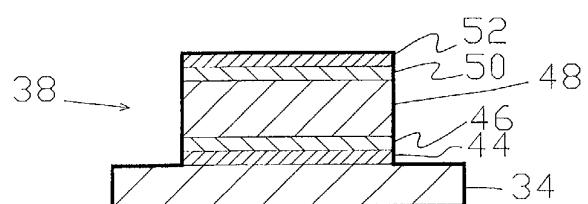


Figure 5



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande
EP 01 81 0661

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.7)
X	WO 98 29736 A (GENOMETRIX INC) 9 juillet 1998 (1998-07-09)	1,5-10	B01L3/02
Y	* page 21, ligne 1 - page 28, ligne 27; figures 2,4,4A,4B *	2-4	
X	US 4 621 665 A (WEBB LESLIE) 11 novembre 1986 (1986-11-11) * figure 1 *	1	
X	US 4 058 146 A (CITRIN PAUL STUART) 15 novembre 1977 (1977-11-15) * figures 3,4 *	1	
Y	EP 0 955 084 A (CORNING INC) 10 novembre 1999 (1999-11-10) * colonne 9, ligne 20-47; figures 1,11,12,22-24 *	2-4	
DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.7)			
B01L B01J			
<p>Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications</p>			
Lieu de la recherche	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur	
MUNICH	29 novembre 2001	Persichini, C	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET EUROPEEN NO.**

EP 01 81 0661

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche européenne visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

29-11-2001

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9829736	A	09-07-1998	AU EP JP US WO US	6646398 A 0990142 A1 2001510339 T 6083763 A 9829736 A1 6312960 B1	31-07-1998 05-04-2000 31-07-2001 04-07-2000 09-07-1998 06-11-2001
US 4621665	A	11-11-1986	DE EP	3410508 A1 0158852 A1	26-09-1985 23-10-1985
US 4058146	A	15-11-1977	AU AU BR CA CA DE FR GB GB JP US	499000 B2 1574376 A 7604452 A 1072429 A1 1067792 A2 2630543 A1 2317634 A1 1556674 A 1556673 A 52010914 A 4342407 A	29-03-1979 12-01-1978 26-07-1977 26-02-1980 11-12-1979 27-01-1977 04-02-1977 28-11-1979 28-11-1979 27-01-1977 03-08-1982
EP 0955084	A	10-11-1999	EP AU AU CN EP WO WO	0955084 A1 3552499 A 3760499 A 1311717 T 1075327 A1 9955460 A1 9955461 A1	10-11-1999 16-11-1999 16-11-1999 05-09-2001 14-02-2001 04-11-1999 04-11-1999