

(19)



(11)

**EP 1 773 497 B1**

(12)

**FASCICULE DE BREVET EUROPEEN**

(45) Date de publication et mention  
de la délivrance du brevet:  
**02.11.2011 Bulletin 2011/44**

(51) Int Cl.:  
**B01L 3/00** (2006.01) **F04B 19/00** (2006.01)  
**B01L 7/00** (2006.01)

(21) Numéro de dépôt: **05782022.7**

(86) Numéro de dépôt international:  
**PCT/FR2005/050527**

(22) Date de dépôt: **30.06.2005**

(87) Numéro de publication internationale:  
**WO 2006/013303 (09.02.2006 Gazette 2006/06)**

(54) **DISPOSITIF DE DEPLACEMENT ET DE TRAITEMENT DE VOLUMES DE LIQUIDE**

VORRICHTUNG ZUR BEWEGUNG UND BEHANDLUNG VON FLÜSSIGKEITSVOLUMINA

DEVICE FOR MOVING AND TREATING VOLUMES OF LIQUID

(84) Etats contractants désignés:  
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR  
HU IE IS IT LI LT LU MC NL PL PT RO SE SI SK TR**

• **FOUILLET, Yves**  
**F-38340 VOREPPE (FR)**  
• **CLEMENTZ, Philippe**  
**F-68400 RIEDISHEIM (FR)**

(30) Priorité: **01.07.2004 FR 0451400**

(43) Date de publication de la demande:  
**18.04.2007 Bulletin 2007/16**

(74) Mandataire: **Poulin, Gérard et al**  
**BREVALEX**  
**95 rue d'Amsterdam**  
**75378 Paris Cedex 8 (FR)**

(73) Titulaire: **Commissariat à l'Énergie Atomique  
et aux Énergies Alternatives**  
**75015 Paris (FR)**

(56) Documents cités:  
**WO-A-99/54730 US-A- 4 636 785**  
**US-A1- 2001 055 529 US-A1- 2004 007 377**  
**US-A1- 2004 055 891 US-B1- 6 565 727**

(72) Inventeurs:  
• **MARCHAND, Gilles**  
**F-38119 PIERRE CHATEL (FR)**

**EP 1 773 497 B1**

Il est rappelé que: Dans un délai de neuf mois à compter de la publication de la mention de la délivrance du brevet européen au Bulletin européen des brevets, toute personne peut faire opposition à ce brevet auprès de l'Office européen des brevets, conformément au règlement d'exécution. L'opposition n'est réputée formée qu'après le paiement de la taxe d'opposition. (Art. 99(1) Convention sur le brevet européen).

## Description

### DOMAINE TECHNIQUE ET ART ANTERIEUR

**[0001]** L'invention concerne un dispositif et un procédé de déplacement de petits volumes de liquide, mettant en oeuvre des forces électrostatiques pour obtenir ce déplacement.

**[0002]** L'invention concerne notamment un dispositif de manipulation microfluidique discrète, ou microfluidique en goutte, en vue d'applications chimiques ou biologiques.

**[0003]** Un des modes de déplacements ou de manipulation les plus utilisés repose sur le principe de l'électromouillage sur un diélectrique, comme décrit dans l'article de M.G. Pollack, A.D. Shendorov, R.B. Fair, intitulé « Electro-wetting-based actuation of droplets for integrated microfluidics », Lab Chip 2 (1) (2002) 96-101.

**[0004]** Les forces utilisées pour le déplacement sont des forces électrostatiques.

**[0005]** Le document FR 2 841 063 décrit un dispositif mettant en oeuvre un caténaire en regard des électrodes activées pour le déplacement.

**[0006]** Le principe de ce type de déplacement est synthétisé sur les figures 1A - 1C.

**[0007]** Une goutte 2 repose sur un réseau 4 d'électrodes, dont elle est isolée par une couche diélectrique 6 et une couche hydrophobe 8 (figure 1A).

**[0008]** Lorsque l'électrode 4-1 située à proximité de la goutte 2 est activée, la couche diélectrique 6 et la couche hydrophobe 8, entre cette électrode activée et la goutte polarisée par une électrode 10, agissent comme une capacité. Les effets de charge électrostatique induisent le déplacement de la goutte sur cette électrode. L'électrode 10 peut être un caténaire, il maintient alors un contact électrique avec la goutte pendant son déplacement comme décrit dans le document FR - 2 841 063 (figure 2A).

**[0009]** La goutte peut ainsi être déplacée de proche en proche (figure 1C), sur la surface hydrophobe 8, par activation successive des électrodes 4-1, 4-2, ... etc. et par guidage le long du caténaire 10.

**[0010]** Il est donc possible de déplacer des liquides, mais aussi de les mélanger (en faisant s'approcher des gouttes de liquides différents), et de réaliser des protocoles complexes.

**[0011]** Les documents cités ci-dessus donnent des exemples de mises en oeuvre de séries d'électrodes adjacentes pour la manipulation d'une goutte dans un plan.

**[0012]** Ce type de déplacements est de plus en plus utilisé dans des dispositifs, en vue d'analyses biochimiques, chimique ou biologiques, que ce soit dans le domaine médical, ou dans la surveillance environnementale, ou dans le domaine du contrôle de qualité.

**[0013]** Dans certains cas, il se pose le problème d'effectuer un déplacement et une détection d'une caractéristique d'un volume de liquide déplacé ou à déplacer.

**[0014]** Il se pose alors souvent le problème du nombre de contacts sur la puce sur laquelle le déplacement a

lieu, ainsi que le problème de la manière d'amener la goutte à analyser vers une zone de détection.

**[0015]** C'est notamment le cas, mais pas seulement, lorsque déplacement de goutte et détection, par exemple d'un produit solubilisé dans cette goutte, sont parfaitement dissociés.

**[0016]** Il se pose donc le problème de trouver un nouveau dispositif permettant plus aisément de déplacer et d'analyser ou de traiter des gouttes ou des micro-gouttes de petits volumes de liquide.

### EXPOSE DE L'INVENTION

**[0017]** L'invention concerne un dispositif de déplacement d'un petit volume de liquide sous l'effet d'une commande électrique, comportant un premier substrat à surface hydrophobe muni de premiers moyens électriquement conducteurs, des deuxièmes moyens électriquement conducteurs disposés en vis-à-vis des premiers moyens conducteurs, ou en correspondance de ces premiers moyens, ou en vis-à-vis de la portion de la surface hydrophobe qui recouvre les premiers moyens électriquement conducteurs, **caractérisé en ce qu'il** comporte des troisièmes moyens conducteurs, formant avec les deuxièmes moyens conducteurs des moyens d'analyse ou pour induire une réaction ou des moyens de chauffage d'un volume de liquide.

**[0018]** L'un des deuxième et troisième moyens électriquement conducteurs peut être utilisé dans la phase de déplacement des gouttes de liquides d'intérêt afin d'amener la goutte sur la zone souhaitée des premiers moyens électriquement conducteurs, les deuxièmes moyens électriquement conducteurs étant associés aux troisièmes moyens en un couple, par exemple un couple d'électrodes en contact électrique avec la goutte ou le liquide, de manière à réaliser, par exemple, une détection électrochimique d'une espèce rédox présente dans la ou les gouttes (détection à deux électrodes), ou un système électrophorétique, ou un système de chauffage ou d'autres réactions.

**[0019]** Ainsi, l'un des deuxièmes et troisièmes moyens électriquement conducteurs joue deux fonctions.

**[0020]** D'abord, seul et en combinaison avec les électrodes sous-jacentes, une fonction de déplacement est assurée par la mise sous tension de la goutte pour l'électromouillage.

**[0021]** Puis, couplés aux autres moyens parmi les deuxièmes et troisièmes moyens électriquement conducteurs, une deuxième fonction est assurée, qui est une fonction de détection, par exemple électrochimique.

**[0022]** Les deuxièmes moyens électriquement conducteurs seront alors soit une électrode de travail, soit une contre-électrode.

**[0023]** Ces deuxièmes moyens feront office à la fois d'électrode de référence et de contre-électrode, le rôle de la seconde électrode étant fonction de celui de la première.

**[0024]** Selon un mode de réalisation, les deuxièmes

moyens conducteurs comportent un caténaire ou un fil, sensiblement parallèle à la surface hydrophobe.

**[0025]** Le caténaire ou le fil peut être non enterré dans le premier substrat, à une distance non nulle de la surface hydrophobe, par exemple comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$

**[0026]** Les troisièmes moyens conducteurs peuvent comporter également un caténaire ou un fil, qui peut être non enterré dans le premier substrat, à une distance non nulle de la surface hydrophobe, par exemple comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

**[0027]** Les deux caténaires ou fils peuvent être parallèles entre eux et à la surface hydrophobe.

**[0028]** Les deux caténaires ou fils peuvent ne pas être parallèles entre eux, mais rester parallèles à la surface hydrophobe.

**[0029]** L'un des caténaires peut être enterré sous la surface hydrophobe.

**[0030]** Les caténaires peuvent être dirigés de manière sensiblement parallèle entre eux.

**[0031]** Les troisièmes moyens conducteurs peuvent comporter un conducteur plan enterré sous la surface hydrophobe.

**[0032]** Les deuxièmes moyens conducteurs peuvent comporter un caténaire ou un fil enterré sous la surface hydrophobe.

**[0033]** Les troisièmes moyens conducteurs peuvent alors comporter également un caténaire ou un fil enterré, les deux caténaires enterrés étant dirigés de manière sensiblement parallèle entre eux.

**[0034]** Les troisièmes moyens conducteurs peuvent comporter une électrode plane enterrée sous la surface hydrophobe.

**[0035]** Les deuxièmes moyens conducteurs peuvent comporter une électrode plane enterrée.

**[0036]** Les troisièmes moyens conducteurs peuvent alors comporter un conducteur enterré, de forme plane ou filaire.

**[0037]** Les troisièmes moyens conducteurs peuvent comporter un caténaire ou un fil dirigée perpendiculairement au caténaire ou fil des deuxièmes moyens électriquement conducteurs.

**[0038]** Un dispositif tel que décrit ci-dessus peut comporter en outre un deuxième substrat à surface hydrophobe, ce deuxième substrat conférant à l'ensemble une structure confinée.

**[0039]** Il peut aussi comporter en outre un deuxième substrat à surface hydrophobe, ce deuxième substrat conférant à l'ensemble une structure confinée, le troisième conducteur étant enterré dans le deuxième substrat, sous sa surface hydrophobe.

**[0040]** Le troisième conducteur peut alors être sous forme de caténaire ou de fil enterré, ou bien sous forme d'un conducteur plan enterré.

**[0041]** Dans un tel dispositif, la surface du deuxième substrat peut être localement ajourée pour former une zone de contact entre une goutte de liquide positionnée entre les deux substrats et le troisième conducteur.

**[0042]** Le deuxième substrat peut aussi être disposé à une distance du premier substrat comprise entre 10  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

**[0043]** Un dispositif tel que décrit ci-dessus peut comporter en outre un deuxième substrat à surface hydrophobe, ce deuxième substrat conférant à l'ensemble une structure confinée, le deuxième et le troisième conducteurs étant enterrés dans le deuxième substrat, sous sa surface hydrophobe.

**[0044]** Les deuxième et troisième conducteurs peuvent alors être chacun sous forme de caténaire ou de fil.

**[0045]** L'invention concerne également un procédé de traitement d'une goutte de liquide, par exemple par réaction ou détection électrochimique ou par électrophorèse ou par effet Joule, ou de traitement d'une cellule par lyse cellulaire ou par électroporation, comportant :

- la mise en contact d'une goutte de liquide avec les électrodes d'un dispositif tel que décrit ci-dessus,
- l'application d'une différence de potentiel entre les deuxième et troisième moyens conducteurs.

**[0046]** Les deuxièmes moyens électriquement conducteurs, ou les deux électrodes, peuvent donc par exemple assurer une séparation électrophorétique et/ou une fonction de chauffage.

**[0047]** Dans un dispositif selon l'invention, le basculement d'une configuration de déplacement à une configuration de réaction ou de lecture ou chauffage peut être rapide, permettant de traiter plusieurs gouttes les unes après les autres, dans un protocole de dosage en flux continu, par exemple, ou pour des analyses à haut débits.

## BREVE DESCRIPTION DES FIGURES

**[0048]**

- Les figures 1A - 1C illustrent le principe du déplacement d'une goutte sur une matrice d'électrodes par électromouillage,
- les figures 2A à 2C illustrent un mode de réalisation de l'invention,
- les figures 3A - 9B illustrent d'autres variantes et d'autres modes de réalisation de l'invention,
- les figures 10A et 10B illustrent des variantes en deux dimensions de l'invention,
- la figure 11 illustre la détection entre deux caténaires du couple  $\text{Fe}^{\text{II/III}}$ .
- la figure 12 illustre la détection électrochimique d'une espèce générée par une enzyme.
- les figures 13a et 13b sont des représentations schématiques d'un exemple de mise en oeuvre d'un dispositif selon la présente invention permettant le calibrage d'une goutte de liquide lors de différentes étapes de calibration;

## DESCRIPTION DETAILLEE DE MODES DE REALISATION DE L'INVENTION

**[0049]** Un premier exemple de réalisation de l'invention est illustré sur les figures 2A et 2B.

**[0050]** Un dispositif, ou composant microfluidique, selon l'invention comporte un substrat inférieur 20, muni d'une matrice 24 d'électrodes indépendantes.

**[0051]** Chacune de ces électrodes 24 est connectée électriquement à un conducteur 26.

**[0052]** Les électrodes 24 sont recouvertes d'une couche isolante 28 et d'une couche hydrophobe 29.

**[0053]** Le caractère hydrophobe de cette couche signifie qu'une goutte 22 a un angle de contact, sur cette couche, supérieur à 90°.

**[0054]** Une couche unique peut combiner ces deux fonctions, par exemple une couche en téflon.

**[0055]** Ce dispositif comporte un premier caténaire 30, permettant l'électromouillage, et un deuxième caténaire 32 formant un couple d'électrode avec le premier caténaire 30.

**[0056]** Le premier caténaire se situe en vis-à-vis des électrodes 24, ou de la portion de la surface hydrophobe 29 située au-dessus des électrodes 24.

**[0057]** Des moyens d'alimentation 34 relient ces diverses électrodes entre elles.

**[0058]** Sur les figures 2A - 2B, ces moyens d'alimentation peuvent être commutés de deux façons, à l'aide de moyens de commutation 33.

**[0059]** Tout d'abord, pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que le caténaire 30 cette configuration est illustrée en figure 2A ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0060]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée à chacun des caténaires 30 et 32, générant une différence de potentiel non nulle entre ces deux caténaires, ce qui peut induire une réaction électrochimique dans la goutte 22, et/ou un chauffage de cette goutte, et/ou une détection ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire dans cette goutte s'il y a la présence d'une cellule dans la goutte.

**[0061]** Cette configuration est illustrée en figure 2B.

**[0062]** Eventuellement, avec des moyens de commutation, ou à l'aide de deuxièmes moyens générateurs de tension, non représentés sur les figures 2A - 2B, une tension peut être appliquée à une ou plusieurs des électrodes 24, simultanément à la tension appliquée entre les caténaires 30 et 32, ce qui permet d'occasionner, en même temps que la réaction ci-dessus, un déplacement de la goutte 22.

**[0063]** L'utilisation de deux électrodes 30, 32 en forme de caténaires, parallèles entre eux et à l'alignement des électrodes 24, permet de réaliser la réaction souhaitée dans la goutte à tout endroit voulu de cet alignement. Il est possible d'amener la goutte au-dessus de l'une quelconque des électrodes 24 et d'y produire la réaction sou-

haitée par activation d'une différence de potentielle non nulle entre les deux caténaires 30 et 32.

**[0064]** L'un des deux caténaires est donc bifonctionnel et peut être utilisé pour un déplacement sur la surface hydrophobe 29 ou pour toute réaction électrochimique ou toute autre réaction pour laquelle il y a le besoin de deux électrodes (par exemple : électrophorèse, électroporation, lyse cellulaire).

**[0065]** Selon une variante, représentée sur la figure 2C, le deuxième conducteur peut être disposé selon une direction différente du premier conducteur. Par exemple, le caténaire 30 est maintenu parallèle à l'alignement des électrodes 24, tandis que le deuxième caténaire est dirigé sensiblement perpendiculairement au premier caténaire, mais parallèlement au plan de la couche 29 et du substrat 20, ou bien (figure 2C) est dirigé sensiblement perpendiculairement au plan de la couche 29 et du substrat 20.

**[0066]** Le déplacement de la goutte 22 de liquide a lieu de la même manière que ci-dessus, tandis qu'une réaction ou un chauffage est induit par établissement d'une différence de potentiel non nulle entre les électrodes 30 et 32.

**[0067]** Une variante du dispositif décrit ci-dessus est représentée en figures 3A et 3B, sur lesquelles des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires.

**[0068]** Un des caténaires est encore situé au-dessus du substrat (ici le caténaire 30, mais ce pourrait être le caténaire 32). Une autre électrode 40, ici un caténaire, est enterrée dans le substrat 20, par exemple sous la couche hydrophobe 29. Cette électrode enterrée peut être plane, au lieu d'être un caténaire.

**[0069]** Pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que, par exemple, le caténaire 30. Ce pourrait être aussi l'électrode 40 qui soit sous tension à la place du caténaire 30 ; cette configuration est illustrée en figure 3A ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0070]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée entre les caténaires 30 et 40, générant une différence de potentiel entre ces deux caténaires, ce qui peut induire une réaction/détection électrochimique dans la goutte 22, et/ou un chauffage de cette goutte, et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire de cellules présentes dans la goutte.

**[0071]** Cette configuration est illustrée en figure 3B.

**[0072]** Là encore, déplacement et réaction ou chauffage peuvent être simultanés, à l'aide de moyens de commutation adéquats ou de deuxièmes moyens générateurs de tension.

**[0073]** Encore une autre variante de ce dispositif est représentée en figures 4A et 4B, sur lesquelles des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires.

**[0074]** Aucun des caténaires n'est plus situé au-dessus du substrat. Par contre, deux caténaires 50 et 52

sont enterrés dans le substrat 20, par exemple sous la couche hydrophobe 29.

**[0075]** La figure 4A représente une vue longitudinale du dispositif, sur laquelle un seul des deux caténaires enterrés est visible, cachant le deuxième, tandis que la figure 4B représente une vue en coupe AA' du dispositif, sur laquelle les deux caténaires enterrés 50, 52 sont visibles, au-dessus d'une électrode 24-1 qui cache les autres électrodes du réseau 24. Sur cette figure 4B sont également représentés les moyens 34 générateurs de tension ainsi que les moyens 33 de commutation.

**[0076]** Pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que, par exemple, le caténaire 52 ; cette configuration est illustrée en figures 4A et 4B ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0077]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée à chacun des caténaires 50 et 52 à l'aide des moyens 34 et 33 (situation non représentée sur les figures), générant une différence de potentiel non nulle entre ces deux caténaires, ce qui peut induire un chauffage de cette goutte, et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire de cette goutte.

**[0078]** L'invention concerne également d'autres modes de réalisation, notamment du type confiné, avec un substrat supérieur.

**[0079]** Ainsi, selon un autre mode de réalisation, il est possible de réaliser un dispositif en système dit fermé, avec un substrat supérieur qui confine la goutte.

**[0080]** Un tel mode de réalisation est illustré en figure 5, sur laquelle des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2B y désignent des éléments identiques ou similaires.

**[0081]** Un substrat supérieur 120 comporte une couche hydrophobe 129, par exemple en téflon. Comme la couche 29, elle est en contact avec la goutte 22.

**[0082]** Les deux conducteurs 30, 32, sont situés dans cet exemple entre les deux substrats 20, 120 et sont tous deux en contact direct, mécanique et électrique, avec la goutte 22.

**[0083]** Le fonctionnement de ce type de dispositif est le même que celui exposé ci-dessus en liaison avec les figures 2A et 2B, la seule différence résidant dans le confinement de la goutte.

**[0084]** Sur la figure 5, le dispositif est représenté en position de déplacement de la goutte, une réaction ou un chauffage étant induit par commutation des moyens 33 de commutation. Là encore, déplacement et réaction ou chauffage peuvent être induits simultanément, par des moyens de commutation appropriés ou à l'aide d'une deuxième source de tension.

**[0085]** Selon une variante de ce mode de réalisation, l'un des deux conducteurs permettant d'induire une réaction dans la goutte peut être enterré dans le substrat inférieur 20.

**[0086]** Par exemple, sur la figure 6, sur laquelle des références numériques identiques à celles des figures

2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires, un des caténaires est encore situé au-dessus du substrat (ici le caténaire 30, mais ce pourrait être le caténaire 32). Une autre électrode 60, par exemple un caténaire, est enterrée dans le substrat 20, par exemple sous la couche hydrophobe 29, laissant seul le conducteur 30 au contact mécanique et électrique de la goutte.

**[0087]** Ce mode de réalisation permet un déplacement de la goutte à l'aide des conducteurs 24 et du conducteur 30, et l'induction d'une réaction avec l'application d'une différence de tensions entre les conducteurs 60 et 30 (ce qui est représenté sur la figure 6).

**[0088]** L'électrode enterrée 60 peut avoir la forme soit d'un conducteur linéaire ou d'un caténaire, soit la forme d'un conducteur plan.

**[0089]** Lorsqu'elle a la forme d'un conducteur linéaire, elle peut être orientée selon une direction non nécessairement parallèle à la direction du caténaire 30, comme illustré sur la figure 6, sur laquelle les deux caténaires sont sensiblement perpendiculaires ; et l'avantage de cette structure est alors qu'une seule goutte à la fois est en contact électrique avec les deux électrodes. Ou bien les deux électrodes 30, 60 peuvent être parallèles entre elles (par exemple comme illustré sur les figures 3A et 3B), ce qui permet de réaliser la réaction souhaitée à tout endroit au-dessus des électrodes 24. Le même avantage est offert lorsque l'électrode enterrée 60 a la forme d'un conducteur plan.

**[0090]** Pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que le caténaire 30 ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0091]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée à chacun des caténaires 30 et 60, générant une différence de potentiel entre ces deux caténaires, ce qui peut induire une réaction électrochimique dans la goutte 22, et/ou un chauffage de cette goutte, et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire de cette goutte. Cette configuration est illustrée en figure 6

**[0092]** Selon encore une autre variante de ce mode de réalisation, l'un des deux conducteurs permettant d'induire une réaction dans la goutte peut être enterré dans le substrat supérieur 120.

**[0093]** Par exemple, sur la figure 7, sur laquelle des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires, un des caténaires est encore situé au-dessus du substrat (ici le caténaire 30, mais ce pourrait être le caténaire 32).

**[0094]** Une autre électrode 70, par exemple un caténaire, est enterrée dans le substrat 120, par exemple sous la couche hydrophobe 129, laissant seul le conducteur 30 au contact mécanique et électrique de la goutte.

**[0095]** Ce mode de réalisation permet un déplacement de la goutte à l'aide des conducteurs 24 et du conducteur 30, et l'induction d'une réaction avec l'application d'une

différence de tensions entre les conducteurs 70 et 30.

**[0096]** L'électrode enterrée 70 peut avoir la forme soit d'un conducteur linéaire ou d'un caténaire, soit la forme d'un conducteur plan.

**[0097]** Lorsqu'elle a la forme d'un conducteur linéaire, elle peut être orientée selon une direction non nécessairement parallèle à la direction du caténaire 30 (comme illustré sur la figure 7, sur laquelle les deux caténaires sont sensiblement perpendiculaires), ou bien les deux conducteurs peuvent être parallèles entre eux (par exemple comme illustré sur les figures 3A et 3B), ce qui permet de réaliser la réaction souhaitée à tout endroit au-dessus des électrodes 24. Le même avantage est offert lorsque l'électrode enterrée 70 a la forme d'un conducteur plan.

**[0098]** Pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que le caténaire 30 ; cette configuration est illustrée en figure 7 ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0099]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée à chacune des électrodes 30 et 70, générant une différence de potentiel non nulle entre elles, ce qui peut induire une réaction électrochimique dans la goutte 22, et/ou un chauffage de cette goutte, et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire dans cette goutte.

**[0100]** Selon encore une autre variante, chacun des deux conducteurs permettant d'induire une réaction dans la goutte est enterré dans l'un des substrats.

**[0101]** Ainsi, sur la figure 8A, sur laquelle des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires, un des caténaires est enterré dans le substrat 20, par exemple sous la couche hydrophobe 29.

**[0102]** L'autre électrode 130, par exemple un caténaire, est enterrée dans le substrat 120, par exemple par-dessus la couche hydrophobe 129.

**[0103]** Aucun des conducteurs n'est en contact mécanique avec la goutte.

**[0104]** Ce mode de réalisation permet un déplacement de la goutte à l'aide des conducteurs 24 et du conducteur 50 et l'induction d'une réaction avec l'application d'une différence de tensions entre les conducteurs 130 et 50.

**[0105]** Chacune des électrodes enterrées 50, 130 peut avoir la forme soit d'un conducteur linéaire ou d'un caténaire, soit la forme d'un conducteur plan.

**[0106]** Lorsqu'elles ont toutes deux la forme d'un conducteur linéaire, elles peuvent être orientées selon des directions non nécessairement parallèles entre elles (comme illustré sur la figure 7, sur laquelle les deux caténaires sont sensiblement perpendiculaires), ou bien les deux conducteurs peuvent être parallèles entre eux (par exemple comme illustré sur la figure 8A) ce qui permet de réaliser la réaction ou la détection souhaitée à tout endroit au-dessus des électrodes 24. Le même avantage est offert lorsque l'une des deux électrodes enterrées a la forme d'un conducteur plan (notamment celle du sub-

strat 120) tandis que l'autre a la forme d'un conducteur linéaire aligné au-dessus des électrodes 24, ou lorsque les deux électrodes ont chacune la forme d'un conducteur plan.

**[0107]** Pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que l'électrode 50 ; cette configuration est illustrée en figure 8A ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0108]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée à chacune des électrodes 130 et 50, générant une différence de potentiel non nulle entre elles, ce qui peut induire un chauffage dans la goutte 22, et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire dans cette goutte s'il y a des cellules dans la goutte.

**[0109]** Selon une variante de ce mode de réalisation, illustrée sur la figure 8B, sur laquelle des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires, l'un des conducteurs enterrés, par exemple le conducteur 130 du substrat supérieur 120, est localement en contact physique avec la goutte 22 du fait d'une ouverture 127 pratiquée dans la couche hydrophobe 129, par exemple par lithographie puis gravure de cette couche 129.

**[0110]** Dans ce cas, pour des mesures, une tension est appliquée à chacune des électrodes 130 et 50, générant une différence de potentiel entre ces deux électrodes, ce qui peut induire :

- une réaction électrochimique dans la goutte 22 lorsqu'elle est en contact direct avec l'électrode 130 par l'ouverture 127,
- et/ou, quelle que soit la position de la goutte par rapport à l'ouverture 127, un chauffage de cette goutte et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire dans cette goutte s'il y a des cellules dans cette goutte.

**[0111]** On peut avoir une variante dans laquelle l'ouverture est pratiquée dans la couche 29 du substrat inférieur, en vue d'un contact entre la goutte 22 et le conducteur 50.

**[0112]** Selon encore une autre variante de ce dispositif, les deux électrodes sont toutes deux situées, soit dans le substrat inférieur, soit dans le substrat supérieur. Aucune des électrodes n'est plus située en contact mécanique avec la goutte.

**[0113]** Le cas de deux électrodes enterrées dans le substrat inférieur est similaire au cas exposé ci-dessus en liaison avec les figures 4A - 4B, auquel un substrat supérieur 120 tel que celui de la figure 6 serait ajouté pour confiner la goutte 22.

**[0114]** Le cas de deux électrodes enterrées dans le substrat supérieur est illustré sur les figures 9A - 9B, sur lesquelles des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires.

**[0115]** Deux caténaires 130 et 132 sont enterrés dans le substrat 120, par exemple sous la couche hydrophobe 129.

**[0116]** La figure 9A représente une vue longitudinale du dispositif, sur laquelle un seul des deux caténaires enterrés est visible, cachant le deuxième.

**[0117]** La figure 9B représente une vue en coupe BB' du dispositif, sur laquelle les deux caténaires enterrés 130, 132 sont visibles, au-dessus d'une électrode 24-1 qui cache les autres électrodes du réseau 24.

**[0118]** Pour un déplacement d'une goutte 22, une ou plusieurs des électrodes 24 est/sont sous tension, ainsi que, par exemple, le caténaire 130 ; comme déjà expliqué ci-dessus, l'activation d'une des électrodes 24 va induire un déplacement de la goutte 22.

**[0119]** Puis, pour des mesures, une tension est appliquée à chacun des caténaires 130 et 132, générant une différence de potentiel entre ces deux caténaires, ce qui peut induire un chauffage de cette goutte, et/ou une réaction d'électroporation et/ou une réaction de type lyse cellulaire dans cette goutte (cette configuration est illustrée en figures 9A et 9B).

**[0120]** L'invention peut être mise en oeuvre avec une rangée d'électrodes 24, donc un arrangement linéaire de ces électrodes.

**[0121]** Ces électrodes peuvent cependant, dans le cadre de l'invention, être disposées selon tout schéma, et en particulier en 2 dimensions.

**[0122]** Un autre aspect de l'invention est donc représenté par les figures 10A et 10B sur lesquelles des références numériques identiques à celles des figures 2A - 2C y désignent des éléments identiques ou similaires.

**[0123]** Sur la figure 10A, le substrat 20 supporte une matrice d'électrodes 24, réparties en lignes et en colonnes, recouvertes d'une couche isolante 28 et d'une couche hydrophobe 29.

**[0124]** Plusieurs couples de micro-caténaires 30,32 sont mis en parallèles suivant les lignes d'électrodes.

**[0125]** Ces micro-caténaires peuvent être positionnées à une distance donnée de la surface du substrat grâce à des espaceurs 70.

**[0126]** De cette manière, il est possible de travailler en parallèle sur plusieurs lignes d'électrodes, et de déplacer plusieurs gouttes par des méthodes précédemment décrites.

**[0127]** La technique des espaceurs peut aussi être utilisée en liaison avec les autres modes de réalisation afin de maintenir un caténaire à une distance prédéterminée de la couche hydrophobe 29.

**[0128]** Un autre aspect de l'invention est représenté sur la figure 10B.

**[0129]** Le substrat 20 supporte une matrice d'électrodes 24, réparties en lignes et en colonnes, recouvertes d'une fine couche isolante 28 et d'une couche hydrophobe 29.

**[0130]** Une première série de micro-caténaires 30,32 est mise en parallèle suivant les lignes d'électrodes.

**[0131]** Ces micro-caténaires sont positionnées à une

distance donnée de la surface du substrat grâce à des espaceurs 70.

**[0132]** Une deuxième série de micro-caténaires 130, 132 est mise en parallèle mais placée perpendiculairement à la série de micro-caténaires 30, 32, c'est-à-dire suivant la direction des colonnes d'électrodes 24.

**[0133]** Ces micro-caténaires sont positionnées à une distance donnée de la surface du substrat grâce à des espaceurs 72.

**[0134]** Les espaceurs 70. et 72 peuvent être de hauteurs différentes. Ainsi, il est possible de déplacer des gouttes suivant deux directions perpendiculaires.

**[0135]** Pour ce qui concerne la réaction ou le chauffage à induire dans une goutte de liquide, ces modes de réalisation 2D fonctionnent de la même manière que ce qui a été décrit ci-dessus en liaison avec les figures 2A-9B : l'activation de deux électrodes voisines 30,32 ou 130,132 induit une différence de potentiel entre ces deux électrodes et une réaction ou un chauffage dans le liquide de la goutte.

**[0136]** Les électrodes de ces modes de réalisation 2D sont reliées à des moyens de commutation, non représentés sur les figures 10A et 10B mais de manière analogue à ce qui a été décrit ci-dessus en liaison avec les figures précédentes.

**[0137]** Ces modes de réalisations 2D peuvent également mettre en oeuvre les caractéristiques suivantes, prises seules ou en combinaison :

- une ou deux électrodes enterrées pour une ou plusieurs lignes et/ou colonnes d'électrodes 24,
- un deuxième substrat de confinement, muni d'une surface hydrophobe, avec éventuellement, là encore, une ou deux électrodes enterrées pour une ou plusieurs lignes et/ou colonnes d'électrodes 24. La surface hydrophobe de ce deuxième substrat peut être munie d'ouvertures de contact telle que l'ouverture 127 de la figure 8B.

**[0138]** D'une manière générale, dans les modes de réalisation mettant en oeuvre un ou des conducteur(s) enterré(s), l'économie est faite d'une étape de câblage filaire ; en outre (la surface mouillée est seulement localisée sur les surfaces hydrophobes 29 et 129) sont alors utilisées au mieux les propriétés de mouillage de la couche 29, 129 correspondante.

**[0139]** Typiquement, la distance entre les conducteurs 30, 32 (figures 2A - 3B, 5 - 7) d'une part et la surface hydrophobe 29 est par exemple comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

**[0140]** Les caténaires 30, 32 se présentent par exemple sous la forme de fils de diamètre compris entre 10  $\mu\text{m}$  et quelques centaines de  $\mu\text{m}$ , par exemple 200  $\mu\text{m}$ . Ces fils peuvent être des fils d'or ou d'aluminium ou de tungstène ou d'autres matériaux conducteurs.

**[0141]** L'électrode enterrée est obtenue par dépôt, puis gravure d'une fine couche d'un métal choisi parmi Au, Al, Ito, Pt, Cu, Cr, ... grâce aux technologies classiques

de microtechnologies. L'épaisseur est de quelques dizaines de nm à quelques  $\mu\text{m}$ . La largeur du motif est de quelques  $\mu\text{m}$  à quelques nm (électrodes planes).

**[0142]** Lorsque deux substrats 20, 120 sont utilisés (figures 5 - 9B), ils sont distants d'une distance comprise entre, par exemple, 10  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

**[0143]** Quel que soit le mode de réalisation considéré, une goutte de liquide 22 aura un volume compris entre, par exemple, 1 nanolitre et quelques microlitres, par exemple entre 1 nl et 5  $\mu\text{l}$  ou 10  $\mu\text{l}$ .

**[0144]** En outre chacune des électrodes 24 aura par exemple une surface de l'ordre de quelques dizaines de  $\mu\text{m}^2$  (par exemple 10  $\mu\text{m}^2$ ) jusqu'à 1  $\text{mm}^2$ , selon la taille des gouttes à transporter, l'espacement entre électrodes voisines étant par exemple compris entre 1  $\mu\text{m}$  et 10  $\mu\text{m}$ .

**[0145]** La structuration des électrodes 24 peut être obtenue par des méthodes classiques des microtechnologies, par exemple par photolithographie. Les électrodes 24 sont réalisées par dépôt d'une couche métallique (Au, Al, ITO, Pt, Cr, Cu, ...) par photolithographie.

**[0146]** Le substrat est ensuite recouvert d'une couche diélectrique en  $\text{Si}_3\text{N}_4$ ,  $\text{SiO}_2$ , ... Enfin, un dépôt d'une couche hydrophobe est effectué, comme par exemple un dépôt de Téflon réalisé à la tournette.

**[0147]** Des procédés de réalisation de puces incorporant un dispositif selon l'invention peuvent être directement dérivés des procédés décrits dans le document FR - 2 841 063 : au lieu de réaliser un caténaire par rangée d'électrodes, on en réalise deux, ou bien on réalise un conducteur plan enterré et un caténaire.

**[0148]** Des conducteurs, et notamment des caténaires, enterrés peuvent être réalisés par dépôt d'une couche conductrice et gravure de cette couche suivant le motif approprié de conducteurs, avant dépôt de la couche hydrophobe.

**[0149]** Un exemple de détection électrochimique d'une espèce rédox va être donné. Cette détection est réalisée en utilisant un dispositif selon l'invention, par exemple le dispositif des figures 2A - 2B.

**[0150]** Une goutte de 1  $\mu\text{l}$  d'une solution de ferri/ferrocyanure de potassium ( $10^{-2}\text{M}$ ) est déposée sur la surface hydrophobe 29.

**[0151]** Cette goutte est en contact avec les deux caténaires 30, 32.

**[0152]** Lors de la mesure, le caténaire 30 ayant servi au déplacement joue le rôle d'électrode de travail alors que la seconde électrode 32 joue le rôle de contre-électrode et d'électrode de référence.

**[0153]** Une mesure électrochimique est alors réalisée en voltampérométrie cyclique par balayage en potentiels entre -400mV et +300mV par rapport à l'électrode de référence;

**[0154]** Comme le montre la figure 11, un système rédox classique du couple  $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$  est obtenu.

**[0155]** Plus généralement, l'électrochimie permet de décrire les phénomènes chimiques couplés à des échanges réciproques d'énergie électrique.

**[0156]** La réaction électrochimique qui se produit à la

surface d'une électrode est le résultat du transfert de charge électrique à travers l'interface entre celle-ci et une espèce électroactive (dans un sens ou dans l'autre).

**[0157]** En général, deux électrodes (électrode de travail et contre-électrode) sont immergées dans une solution électrolytique contenant une espèce électroactive.

**[0158]** Une troisième électrode (électrode de référence) sert à référencer le potentiel de l'électrode de travail.

**[0159]** Ainsi, lorsque deux électrodes sont connectées par un circuit de résistance non infinie (l'électrolyte est conducteur), le courant non nul circule dans la cellule électrochimique. Cette circulation implique trois mécanismes différents :

- dans les électrodes, le courant circule par déplacement des électrons (porteurs de charges),
- aux interfaces électrode/liquide, le courant circule par le biais de réactions rédox qui s'y déroulent (transfert d'électrons entre électrode et solution ou espèce rédox),
- dans la solution, le courant circule par déplacement des ions (porteurs de charges).

**[0160]** Il est également possible de réaliser cette mesure électrochimique entre deux électrodes, par exemple les électrodes de l'un des dispositifs tels que décrit ci-dessus en relation avec les figures 2A - 2B, 3A - 3B, 5 - 7, 8B, 10A - 10B :

- l'une des électrodes du dispositif joue le rôle d'électrode de travail,
- l'autre, la seconde électrode, joue à la fois le rôle de contre-électrode et d'électrode de référence.

**[0161]** L'électrophorèse est un procédé connu permettant la séparation d'espèces chargées. En effet des molécules chargées présentent dans un champ électrique se mettent à migrer vers l'électrode de charge opposée. La vitesse de migration dépendra du ratio charge/masse de la molécule, ce qui permet de séparer efficacement des espèces moléculaires de charges/masse différentes.

**[0162]** Les électrodes d'un dispositif selon l'invention, notamment tel que décrit ci-dessus en liaison avec les figures 2A - 10B, peuvent servir à induire une telle réaction d'électrophorèse dans une goutte de liquide.

**[0163]** Les électrodes d'un dispositif selon l'invention, notamment tel que décrit ci-dessus en liaison avec les figures 2A - 10B, peuvent également servir en tant que résistance chauffante :

- soit par contact, les électrodes chauffant et transférant la chaleur au liquide de la goutte 22,
- soit en faisant passer un courant entre les deux électrodes, en utilisant le liquide de la goutte comme une résistance qui s'échauffe par effet Joule. Dans ce cas, il n'est pas nécessaire qu'un contact direct, mécanique, soit établi entre le liquide de la goutte et au



moins une des électrodes Ce type de chauffage peut être induit par exemple dans la configuration des figures 9A et 9B.

**[0164]** L'invention permet de mettre en oeuvre des détections ou réactions électrochimiques, lorsqu'une au moins des deux électrodes est en contact physique avec la goutte.

**[0165]** Elle permet également de mettre en oeuvre des réactions d'électrophorèse, ou un chauffage du liquide de la goutte 22.

**[0166]** L'invention peut également s'appliquer à des procédés d'électroporation, qui permettent d'ouvrir ou de modifier la membrane d'une cellule (qui est alors la goutte 22) et de faire ainsi rentrer dans la cellule d'autres produits chimiques, amenés par transport à l'aide des électrodes de la manière décrite ci-dessus, ou bien amenés manuellement, par exemple à l'aide d'une pipette.

**[0167]** Elle peut également s'appliquer à des procédés de lyse cellulaire, qui permettent d'éclater la membrane d'une cellule, par exemple avec une différence de tensions, appliquées aux deux électrodes 30, 32, d'environ quelques Volts, par exemple environ 100 V/mm.

**[0168]** Un premier exemple de détection électrochimique d'une espèce redox a été donné en liaison avec la figure 11.

**[0169]** Un deuxième exemple concerne la détection électrochimique d'une espèce générée par une enzyme.

**[0170]** Un premier mélange réactionnel est préparé comme suit : tampon phosphate-citrate 50 mM, pH 6,5 (10 ml), o-phénylène diamine (OPD, 20 mg) et eau oxygénée (4  $\mu$ l).

**[0171]** Un second mélange est préparé comme suit : eau MilliQ (9  $\mu$ l) et « horse radish » peroxydase (1  $\mu$ l à 20  $\mu$ M). Une goutte de 0.5  $\mu$ l du premier mélange est mise à converger sur la puce vers une goutte de 0.5  $\mu$ l du second mélange en appliquant une tension de 50V. Lors de ce déplacement seul le caténaire 30 intervient. Après 5 minutes de réaction à température ambiante et à l'abri de la lumière, le produit de la réaction enzymatique est détecté par voltampérométrie pulsée différentielle en utilisant comme couple d'électrodes les caténaires 30 et 32, le caténaire 30 servant d'électrode de travail et le caténaire 32 servant à la fois de contre-électrode et d'électrode de référence. Ainsi, un pic d'oxydoréduction est obtenu à -480mV correspondant à la réduction du produit enzymatique généré (voir figure 12).

**[0172]** Un deuxième exemple concerne le déplacement d'une goutte suivi d'une variation localisée de pH électrocommandée.

**[0173]** Pour certaines applications, on déplace une goutte d'un milieu réactionnel et ensuite on fait varier le pH pour arrêter ou bien commencer une réaction. Ici on fait varier ce pH électrochimiquement en utilisant l'invention.

**[0174]** Une goutte de solution tamponnée (PBS pH 7.4) contenant un indicateur coloré, le rouge de crésol à 1mM, est déposée sur la puce puis déplacée sur celle-

ci en appliquant une tension de 50V. Un potentiel de -1,4V pendant 10 s est ensuite appliqué entre les deux caténaires, 30 et 32, provoquant ainsi l'hydrolyse de l'eau et la génération d'ions OH<sup>-</sup>. Ces ions OH<sup>-</sup> rendent basique la solution, d'où l'apparition d'une coloration rouge indicatrice d'un pH supérieur à 8.8. Lorsque la tension est coupée, le tampon compense alors le pH et la coloration rouge disparaît.

**[0175]** Sur les figures 13a et 13b, on peut voir un dispositif selon la présente invention, utilisant les deux caténaires 30, 32, et permettant un contrôle de la taille des gouttes. Ces deux caténaires sont disposés à des hauteurs différentes par rapport au substrat.

**[0176]** La deuxième caténaire 32 permet un échauffement d'une goutte de liquide ou petit volume de liquide 22 par contact ou effet Joule. Le chauffage par transfert de chaleur est préféré car la circulation du courant dans la goutte peut être trop dépendante de son contenu, par exemple de sa concentration en sel. On entend par chauffage par transfert, le chauffage par contact, les électrodes chauffent du fait de leur résistance interne, en transférant la chaleur au liquide de la goutte.

**[0177]** En outre, la circulation du courant peut également dénaturer les substances en solution, ce qui pourrait fausser les analyses ultérieures éventuelles.

**[0178]** Cependant, la circulation de courant entre les caténaires 30, 32 peut permettre avantageusement de déterminer un ordre de grandeur de la taille de la goutte, permettant de contrôler encore d'avantage l'évaporation. Lorsqu'une goutte est présente et est en contact avec les deux caténaires 30, 32, un faible courant circule entre les deux caténaires. La détection de ce courant informe de la présence d'une goutte 22 de taille suffisante pour venir en contact, dans l'exemple représenté, avec la deuxième caténaire 32. Cette détection permet de déterminer une taille approximative de la goutte.

**[0179]** Dans l'exemple représenté, la deuxième caténaire est disposée sensiblement parallèlement au substrat à une distance d. La goutte a une hauteur h. Lorsque h est au moins égale à d, un courant circule entre les caténaires 30 et 32, ce qui permet de déduire que la hauteur h est au moins supérieure d. Au contraire, dans le cas où aucun courant ne circule entre les caténaires 30 et 32, on sait que h est inférieure à d.

**[0180]** Sur la figure 13a, dans un premier temps la goutte 22 a une hauteur h supérieure à d et met les deux caténaires 30, 32 en contact électrique.

**[0181]** Après évaporation partielle de la goutte 22, h est inférieure à d, il n'y a plus de contact électrique entre ces caténaires.

**[0182]** Ce système à deux caténaires a pour avantage de permettre à la fois de chauffer pour accélérer l'évaporation et de permettre un calibrage des gouttes. En effet, il est possible de relier la détection du courant aux électrodes 4 de déplacement. Ainsi, on peut déplacer la goutte sur un chemin d'évaporation dans un sens et dans l'autre jusqu'à ce qu'aucun courant ne soit plus détecté entre les deux caténaires. On saura alors que la taille de

la goutte est inférieure à une valeur donnée. Le déplacement favorise quant à lui l'évaporation, donc accélère le processus. Il est également possible de laisser la goutte en place, et de laisser le liquide s'évaporer jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de contact entre la goutte 22 et le caténaire 32.

**[0183]** On peut également prévoir des troisième, quatrième ... caténaires disposées à des distances du substrat de plus en plus faibles. Cette pluralité de caténaires peut permettre une utilisation du dispositif microfluidique pour des gouttes de différentes tailles; un contrôle de la taille de la goutte sur tout un chemin d'évaporation en détectant une diminution continue du volume de la goutte, ou une détermination très fine de la taille des gouttes.

**[0184]** Ces caténaires peuvent également être disposées parallèlement, à la même hauteur que la caténaire de déplacement mais sur le côté et à des distances différentes.

**[0185]** On peut également envisager des secondes caténaires disposées transversalement à la première caténaire (comme sur la figure 10B par exemple) de manière discrète et à des distances de plus en plus faibles du substrat. Le contrôle de taille s'effectue alors de manière ponctuelle, lorsque la goutte rencontre une seconde caténaire. La détection d'un courant peut alors générer une commande destinée à prolonger l'évaporation de la goutte pour réduire le volume de la goutte.

## Revendications

1. Dispositif de déplacement d'un petit volume de liquide sous l'effet d'une commande électrique, comportant un premier substrat à surface hydrophobe (29) muni de moyens (24), électriquement conducteurs, des deuxièmes moyens électriquement conducteurs (30, 50, 130) disposés en vis-à-vis des premiers moyens conducteurs, **caractérisé en ce qu'il** comporte des troisièmes moyens conducteurs (32, 40, 60, 70, 130, 132), formant avec les deuxièmes moyens conducteurs des moyens d'analyse ou pour induire une réaction ou des moyens de chauffage d'un volume de liquide, les premiers moyens électriquement conducteurs permettant, avec les deuxièmes moyens électriquement conducteurs, le déplacement du volume de liquide par électromouillage.
2. Dispositif selon la revendication 1, les deuxièmes moyens conducteurs comportant un caténaire ou un fil (30, 50, 130), sensiblement parallèle à la surface hydrophobe.
3. Dispositif selon la revendication 2, le caténaire ou le fil étant non enterré dans le premier substrat, à une distance non nulle de la surface hydrophobe.
4. Dispositif selon la revendication 3, la distance étant

comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

5. Dispositif selon la revendication 2, 3 ou 4, les troisièmes moyens conducteurs (32, 40, 60, 70, 130, 132), comportant également un caténaire ou un fil conducteur.
6. Dispositif selon la revendication 5, le caténaire ou le fil étant non enterré dans le premier substrat, à une distance non nulle de la surface hydrophobe.
7. Dispositif selon la revendication 6, la distance étant comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .
8. Dispositif selon la revendication 5, 6 ou 7, les deux caténaires ou fils étant parallèles entre eux et à la surface hydrophobe (29).
9. Dispositif selon l'une des revendications 5 à 7, les deux caténaires ou fils n'étant pas parallèles entre eux, mais étant parallèles à la surface hydrophobe (29).
10. Dispositif selon l'une des revendications 2 à 5, l'un des caténaires (40, 50) étant enterré sous la surface hydrophobe (29).
11. Dispositif selon la revendication 10, les, caténaires étant dirigés de manière sensiblement parallèle entre eux.
12. Dispositif selon la revendication 2, 3 ou 4, les troisièmes moyens conducteurs comportant un conducteur plan enterré sous la surface hydrophobe (29).
13. Dispositif selon la revendication 1 ou 2, les deuxièmes moyens conducteurs comportant un caténaire ou un fil enterré (50) sous la surface hydrophobe (29).
14. Dispositif selon la revendication 13, les troisièmes moyens conducteurs (52) comportant également un caténaire ou un fil enterré, les deux caténaires enterrés étant dirigés de manière sensiblement parallèle entre eux.
15. Dispositif selon l'une des revendications 1 à 4, les troisièmes moyens conducteurs comportant une électrode plane enterrée sous la surface hydrophobe (29).
16. Dispositif selon la revendication 1, les deuxièmes moyens conducteurs comportant une électrode plane enterrée.
17. Dispositif selon la revendication 16, les troisièmes moyens conducteurs comportant un conducteur enterré, de forme plane ou filaire.

- 18.** Dispositif selon l'une des revendications 1 à 4, les troisièmes moyens conducteurs comportant un caténaire ou un fil dirigée perpendiculairement au caténaire ou fil des deuxièmes moyens électriquement conducteurs. 5
- 19.** Dispositif selon l'une des revendications 1 à 18, comportant en outre un deuxième substrat (120) à surface hydrophobe (129), ce deuxième substrat conférant à l'ensemble une structure confinée. 10
- 20.** Dispositif selon l'une des revendications 1 à 4 ou 13 ou 16, comportant en outre un deuxième substrat à surface hydrophobe (129), ce deuxième substrat conférant à l'ensemble une structure confinée, le troisième conducteur (70, 130) étant enterré dans le deuxième substrat, sous sa surface hydrophobe (129). 15
- 21.** Dispositif selon la revendication 20, le troisième conducteur étant sous forme de caténaire ou de fil enterré, ou bien sous forme d'un conducteur plan enterré. 20
- 22.** Dispositif selon la revendication 20 ou 21, la surface du deuxième substrat étant localement ajourée pour former une zone de contact (127) entre une goutte de liquide positionnée entre les deux substrats et le troisième conducteur. 25
- 23.** Dispositif selon l'une des revendications 19 à 22, le deuxième substrat étant disposé à une distance du premier substrat comprise entre 10  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ . 30
- 24.** Dispositif selon la revendication 1, comportant en outre un deuxième substrat à surface hydrophobe (129), ce deuxième substrat conférant à l'ensemble une structure confinée, le deuxième et le troisième conducteurs (130, 132) étant enterrés dans le deuxième substrat, sous sa surface hydrophobe (129). 35
- 25.** Dispositif selon la revendication 24, les deuxième et troisième conducteurs étant chacun sous forme de caténaire ou de fil. 40
- 26.** Dispositif selon l'une des revendications 1 à 25, la surface hydrophobe du premier substrat et/ou celle du deuxième substrat étant en téflon. 45
- 27.** Procédé de traitement d'une goutte (22) de liquide par réaction électrochimique comportant : 50
- la mise en contact d'une goutte (22) de liquide avec les électrodes d'un dispositif selon l'une des revendications 1 à 13, ou 16 à 21,
  - l'application d'une différence de potentiel entre
- les entre les deuxièmes et les troisièmes moyens conducteurs.
- 28.** Procédé de traitement d'une goutte (22) de liquide par électrophorèse comportant : 5
- la mise en contact d'une goutte (22) de liquide avec les électrodes d'un dispositif selon l'une des revendications 1 à 26,
  - l'application d'une différence de potentiel entre les deuxième et les troisièmes moyens conducteurs.
- 29.** Procédé de traitement d'une cellule par lyse cellulaire comportant : 15
- la mise en contact d'une cellule avec les électrodes d'un dispositif selon l'une des revendications 1 à 26,
  - l'application d'une différence de potentiel entre les deuxième et troisièmes moyens conducteurs.
- 30.** Procédé de chauffage d'une goutte (22) de liquide conducteur par effet joule comportant : 20
- la mise en contact d'une goutte de liquide avec les moyens électriquement conducteurs d'un dispositif selon l'une des revendications 1 à 26,
  - l'application d'une différence de potentiel entre les deuxième et les troisièmes moyens conducteurs.
- 31.** Procédé de contrôle ou de calibration de la taille d'une goutte (22), comportant : 25
- la mise en contact d'une goutte de liquide avec les deuxième et troisièmes moyens électriquement conducteurs (30, 32) d'un dispositif selon l'une des revendications 1 à 26,
  - la circulation d'un courant entre les deuxième et troisièmes moyens électriquement conducteurs,
  - l'évaporation de la goutte jusqu'à ce que ledit courant ne circule plus entre les deuxième et troisièmes moyens électriquement conducteurs.
- 32.** Procédé selon la revendication 31, comportant en outre un déplacement de la goutte par électromouillage lors de l'évaporation. 30
- 33.** Procédé de traitement d'une cellule par électroporation comportant : 35
- la mise en contact d'une cellule avec les électrodes d'un dispositif selon l'une des revendications 1 à 26,
  - l'application d'une différence de potentiel entre les entre les deuxièmes et les troisièmes moyens

conducteurs.

34. Dispositif de calibrage d'une goutte de liquide comportant un dispositif selon l'une des revendications 1 à 26, et des moyens de contrôle d'un courant circulant entre les deuxième et troisième moyens électriquement conducteurs. 5
35. Dispositif selon la revendication 34, les deuxième et troisième moyens électriquement conducteurs comportant chacun un caténaire, les deux caténaires étant disposés à des hauteurs différentes par rapport à la surface hydrophobe. 10
36. Dispositif selon la revendication 35, comportant en outre au moins un caténaire additionnel, disposé à une distance de la surface hydrophobe différente de la distance entre cette surface et les deux caténaires précédents. 15 20

#### Claims

1. A device for displacing a small volume of liquid under the effect of an electric control, including a first substrate with a hydrophobic surface (29) provided with electrically conducting means (24), second electrically conducting means (30, 50, 130) positioned facing the first conducting means, **characterized in that** it includes third conducting means (32, 40, 60, 70, 130, 132), forming with the second conducting means, analysis means or means for inducing a reaction or means for heating a volume of liquid, the first electrically conducting means and the second electrically conducting means activating displacement of the volumes of liquid by electrowetting. 25 30
2. The device according to claim 1, the second conducting means including a catenary or a wire (30, 50, 130), substantially parallel to the hydrophobic surface. 40
3. The device according to claim 2, the catenary or the wire being non-buried in the first substrate, at a non-zero distance from the hydrophobic surface. 45
4. The device according to claim 3, the distance being between 1  $\mu\text{m}$  and 100  $\mu\text{m}$  or 500  $\mu\text{m}$ .
5. The device according to claim 2, 3 or 4, the third conducting means (32, 40, 60, 70, 130, 132) also including a catenary or a conducting wire. 50
6. The device according to claim 5, the catenary or the wire being non-buried in the first substrate, at a non-zero distance from the hydrophobic surface. 55
7. The device according to claim 6, the distance being

between 1  $\mu\text{m}$  and 100  $\mu\text{m}$  or 500  $\mu\text{m}$ .

8. The device according to claim 5, 6 or 7, both catenaries or wires being parallel to each other and to the hydrophobic surface (29).
9. The device according to any of claims 5 to 7, both catenaries or wires not being parallel to each other, but being parallel to the hydrophobic surface (29).
10. The device according to any of claims 2 to 5, one of the catenaries (40, 50) being buried under the hydrophobic surface (29).
11. The device according to claim 10, the catenaries being directed substantially parallel to each other.
12. The device according to claim 2, 3 or 4, the third conducting means including a planar conductor buried under the hydrophobic surface (29).
13. The device according to claim 1 or 2, the second conducting means including a catenary or a buried wire (50) under the hydrophobic surface (29).
14. The device according to claim 13, the third conducting means (52) also including a catenary or a buried wire, both buried catenaries being directed substantially parallel to each other.
15. The device according to any of claims 1 to 4, the third conducting means including a planar electrode buried under the hydrophobia surface (29).
16. The device according to claim 1, the second conducting means including a buried planar electrode.
17. The device according to claim 16, the third conducting means including a buried conductor with a planar or wire shape.
18. The device according to any of claims 1 to 4, the third conducting means including a catenary or a wire directed perpendicularly to the catenary or wire of the second electrically conducting means.
19. The device according to any of claims 1 to 18, further including a second substrate (120) with a hydrophobic surface (129), this second substrate giving a confined structure to the whole.
20. The device according to any of claims 1 to 4 or 13 or 16, further including a second substrate with a hydrophobic surface (129), this second substrate giving a confined structure to the whole, the third conductor (70, 130) being buried in the second substrate, under its hydrophobic surface (129).

21. The device according to claim 20, the third conductor either being in the form of a catenary or a buried wire, or in the form of a buried planar conductor.
22. The device according to claim 20 or 21, the surface of the second substrate being vocally apertured in order to form a contact area (127) between a drop of liquid positioned between both substrates and the third conductor.
23. The device according to any of claims 19 to 22, the second substrate being positioned at a distance from the first substrate, between 10  $\mu\text{m}$  and 100  $\mu\text{m}$  or 500  $\mu\text{m}$ .
24. The device according to claim 1, further including a second substrate with a hydrophobic surface (129), this second substrate giving a confined structure to the whole, the second and third conductors (130, 132.) being buried in the second substrate, under its hydrophobic surface (129).
25. The device according to claim 24, the second and third conductors each being in the form of a catenary or wire.
26. The device according to any of claims 1 to 25, the hydrophobic surface of the first substrate and/or that of the second substrate being in Teflon.
27. A method for treating a drop (22) of liquid by an electrochemical redaction including:
- putting a drop (22) of liquid into contact with the electrode of a device according to any of claims 1 to 13, or 16 to 21,
  - applying a potential difference between the second and third conducting means.
28. A method for treating a drop (22) of liquid by electrophoresis including:
- putting a drop (22) of liquid into contact with the electrodes of a device according to any of claims 1 to 26,
  - applying a potential difference between the second and third conducting means.
29. A method for treating a cell by cell lysis including:
- putting a cell into contact with the electrode of the device according to any of claims 1 to 26,
  - applying a potential difference between the second and third conducting means.
30. A method for heating a drop (22) of conducting liquid by the Joule effect including:
- putting a drop of liquid into contact with the electrically conducting means of a device according to any of claims 1 to 26,
  - applying a potential difference between the second and third conducting means,
31. A method for controlling or calibrating the size of a drop (22), including:
- putting a drop of liquid into contact with the second and third electrically conducting means (30, 32) of a device according to any of claims 1 to 26,
  - having a current flow between the second and third electrically conducting means,
  - evaporating the drop until said current no longer flows between the second and the third electrically conducting means.
32. The method according to claim 31, further including displacement of the drop by electrowetting during evaporation.
33. A method for treating a cell by electroporation including:
- putting a cell into contact with the electrode of a device according to any of claims 1 to 26,
  - applying a potential difference between the second and third conducting means.
34. A device for calibrating a drop of liquid including a device according to any of claims 1 to 26, and means for controlling a current flowing between the second and the third electrically conducting means.
35. The device according to claim 34, the second and the third electrically conducting means each including a catenary, both catenaries being positioned at different heights relatively to the hydrophobic surface.
36. The device according to claim 35, further including at least an additional catenary, positioned at a distance from the hydrophobic surface, different from the distance between this surface and the two previous catenaries.

#### Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Verlagerung eines kleinen Flüssigkeitsvolumens unter der Einwirkung einer elektrischen Steuerung, umfassend ein erstes Substrat mit einer hydrophoben Oberfläche (29), das mit elektrisch leitenden Mitteln (24) ausgestattet ist, wobei zweite elektrisch leitende Mittel (30, 50, 130) den ersten leitenden Mitteln gegenüberliegend angeord-

- net sind, **dadurch gekennzeichnet, dass** sie dritte leitende Mittel (32, 40, 60, 70, 130, 132) umfasst, die zusammen mit den zweiten leitenden Mitteln Mittel zur Analyse oder zum Induzieren einer Reaktion oder Mitte zum Heizen eines Flüssigkeitsvolumens bilden, wobei die ersten elektrisch leitenden Mittel zusammen mit den zweiten elektrisch leitenden Mitteln die Verlagerung des Flüssigkeitsvolumens durch Elektrobenetzung ermöglichen.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die zweiten leitenden Mittel eine Kettenleitung oder einen Draht (30, 50, 130) im Wesentlichen parallel zur hydrophoben Oberfläche umfassen.
  3. Vorrichtung nach Anspruch 2, wobei die Kettenleitung oder der Draht in einem Abstand ungleich 0 von der hydrophoben Oberfläche nicht im ersten Substrat vergraben ist.
  4. Vorrichtung nach Anspruch 3, wobei der Abstand zwischen 1  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$  oder 500  $\mu\text{m}$  enthalten ist.
  5. Vorrichtung nach Anspruch 2, 3 oder 4, wobei auch die dritten leitenden Mittel (32, 40, 60, 70, 130, 132) eine Kettenleitung oder einen leitenden Draht umfassen.
  6. Vorrichtung nach Anspruch 5, wobei die Kettenleitung oder der Draht in einem Abstand ungleich Null von der hydrophoben Oberfläche nicht im ersten Substrat vergraben ist.
  7. Vorrichtung nach Anspruch 6, wobei der Abstand zwischen 1  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$  oder 500  $\mu\text{m}$  enthalten ist.
  8. Vorrichtung nach Anspruch 5, 6 oder 7, wobei die zwei Kettenleitungen oder Drähte zueinander sowie zur hydrophoben Oberfläche (29) parallel sind.
  9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 5 bis 7, wobei die zwei Kettenleitungen oder Drähte zueinander nicht parallel sind, jedoch parallel zur hydrophoben Oberfläche (29) sind.
  10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 2 bis 5, wobei eine der Kettenleitungen (40, 50) unter der hydrophoben Oberfläche (29) vergraben ist.
  11. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei die Kettenleitungen in im Wesentlichen paralleler Weise zueinander geführt sind.
  12. Vorrichtung nach Anspruch 2, 3 oder 4, wobei die dritten leitenden Mittel einen ebenen Leiter umfassen, der unter der hydrophoben Oberfläche (29) ver-
- graben ist.
13. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei die zweiten leitenden Mittel eine Kettenleitung oder einen Draht umfassen, die/der unter der hydrophoben Oberfläche (29) vergraben ist (50).
  14. Vorrichtung nach Anspruch 13, wobei auch die dritten leitenden Mittel (52) eine(n) vergrabene(n) Kettenleitung oder Draht umfassen, wobei die zwei vergrabenen Kettenleitungen in im Wesentlichen zueinander paralleler Weise geführt sind.
  15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die dritten leitenden Mittel eine ebene Elektrode umfassen, die unter der hydrophoben Oberfläche (29) vergraben ist.
  16. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die zweiten leitenden Mittel eine vergrabene ebene Elektrode umfassen.
  17. Vorrichtung nach Anspruch 16, wobei die dritten leitenden Mittel einen vergrabenen Leiter mit ebener oder drahtförmige Gestalt umfassen,
  18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die dritten leitenden Mittel eine Kettenleitung oder einen Draht umfassen, die/der orthogonal zur Kettenleitung oder zum Draht der zweiten elektrisch leitenden Mittel geführt ist.
  19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, ferner umfassend ein zweites Substrat (120) mit einer hydrophoben Oberfläche (129), wobei dieses zweite Substrat der Gesamtanordnung eine begrenzte Struktur verleiht.
  20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder 13 oder 16, ferner umfassend ein zweites Substrat mit einer hydrophoben Oberfläche (129), wobei dieses zweite Substrat der Gesamtanordnung eine begrenzte Struktur verleiht, wobei der dritte Leiter (70, 130) in dem zweiten Substrat unter der hydrophoben Oberfläche (129) vergraben ist.
  21. Vorrichtung nach Anspruch 20, wobei der dritte Leiter die Form einer vergrabenen Kettenleitung oder eines vergrabenen Drahts aufweist, oder auch die Form eines vergrabenen ebenen Leiters.
  22. Vorrichtung nach Anspruch 20 oder 21, wobei die Oberfläche des zweiten Substrats lokal durchbrochen ist, um eine Kontaktzone (127) zwischen einem Flüssigkeitstropfen, der zwischen den zwei Substraten positioniert ist, und dem dritten Leiter zu bilden.
  23. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 19 bis 22,

wobei das zweite Substrat in einem Abstand vom ersten Substrat angeordnet ist, der zwischen 10  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$  oder 500  $\mu\text{m}$  enthalten ist.

- 24.** Vorrichtung nach Anspruch 1, ferner umfassend ein zweites Substrat mit einer hydrophoben Oberfläche (129), wobei dieses zweite Substrat der Gesamtanordnung eine begrenzte Struktur verleiht, wobei der zweite und der dritte Leiter (130, 132) in dem zweiten Substrat unter seiner hydrophoben Oberfläche (129) vergraben sind. 5 10
- 25.** Vorrichtung nach Anspruch 24, wobei der zweite und der dritte Leiter jeweils die Form einer Kettenleitung oder eines Drahts haben. 15
- 26.** Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 25, wobei die hydrophobe Oberfläche des ersten Substrats und/oder jene des zweiten Substrats aus Teflon ist/sind. 20
- 27.** Verfahren zur Behandlung eines Flüssigkeitstropfens (22) durch elektrochemische Reaktion, umfassend: 25
- Das In-Kontakt-Bringen eines Flüssigkeitstropfens (22) mit den Elektroden einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 oder 16 bis 21,
  - das Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen den zweiten und den dritten leitenden Mitteln. 30
- 28.** Verfahren zur Behandlung eines Flüssigkeitstropfens (22) durch Elektrophorese, umfassend: 35
- Das In-Kontakt-Bringen eines Flüssigkeitstropfens (22) mit den Elektroden einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 26,
  - das Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen den zweiten und den dritten leitenden Mitteln. 40
- 29.** Verfahren zur Behandlung einer Zelle durch zelluläre Lyse, umfassend: 45
- Das In-Kontakt-Bringen einer Zelle mit den Elektroden einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 26,
  - das Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen den zweiten und dritten leitenden Mitteln. 50
- 30.** Verfahren zum Heizen eines leitenden Flüssigkeitstropfens (22) mittels Joule-Effekt, umfassend: 55
- Das In-Kontakt-Bringen eines Flüssigkeitstropfens mit den elektrisch leitenden Mitteln einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 26,
  - das Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen

den zweiten und den dritten leitenden Mitteln.

- 31.** Verfahren zur Steuerung oder zur Kalibrierung der Größe eines Tropfens (22), umfassend:
- Das In-Kontakt-Bringen eines Flüssigkeitstropfens mit den zweiten und den dritten elektrisch leitenden Mitteln (30, 32) einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 26,
  - das Fließenlassen eines Stroms zwischen den zweiten und den dritten elektrisch leitenden Mitteln,
  - das Verdampfen des Tropfens, bis der Strom nicht mehr zwischen den zweiten und den dritten elektrisch leitenden Mitteln fließt.
- 32.** Verfahren nach Anspruch 31, ferner umfassend eine Verlagerung des Tropfens durch Elektrobenetzung während des Verdampfens.
- 33.** Verfahren zur Behandlung einer Zelle durch Elektroporation, umfassend:
- Das In-Kontakt-Bringen einer Zelle mit den Elektroden einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 26,
  - das Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen den zweiten und den dritten leitenden Mitteln.
- 34.** Vorrichtung zur Kalibrierung eines Flüssigkeitstropfens, umfassend eine Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 26 sowie Mittel zur Steuerung eines Stroms, der zwischen den zweiten und den dritten elektrisch leitenden Mitteln fließt.
- 35.** Vorrichtung nach Anspruch 34, wobei die zweiten und die dritten elektrisch leitenden Mittel jeweils eine Kettenleitung umfassen, wobei die zwei Kettenleitungen in Höhen angeordnet sind, die bezüglich der hydrophoben Oberfläche verschieden sind.
- 36.** Vorrichtung nach Anspruch 35, ferner umfassend wenigstens eine zusätzliche Kettenleitung, die in einem Abstand von der hydrophoben Oberfläche angeordnet ist, welche verschieden ist vom Abstand zwischen dieser Oberfläche und den zwei vorgenannten Kettenleitungen.

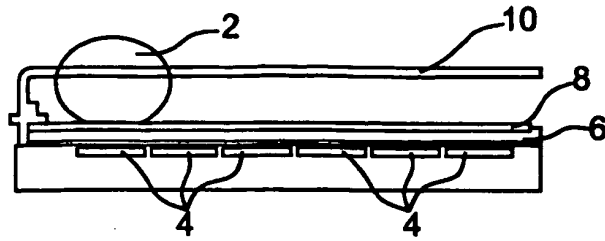


FIG. 1A

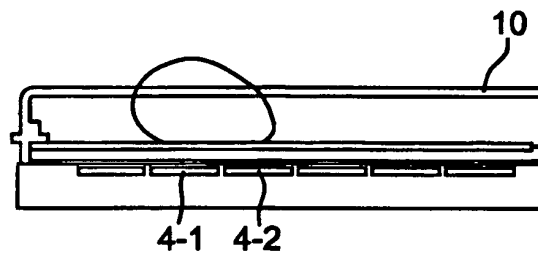


FIG. 1B

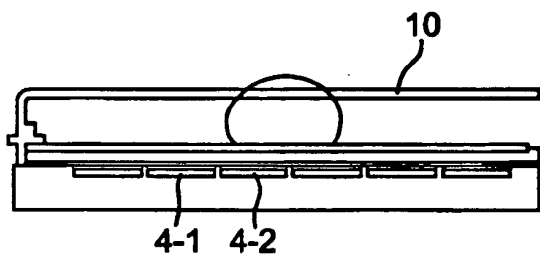


FIG. 1C

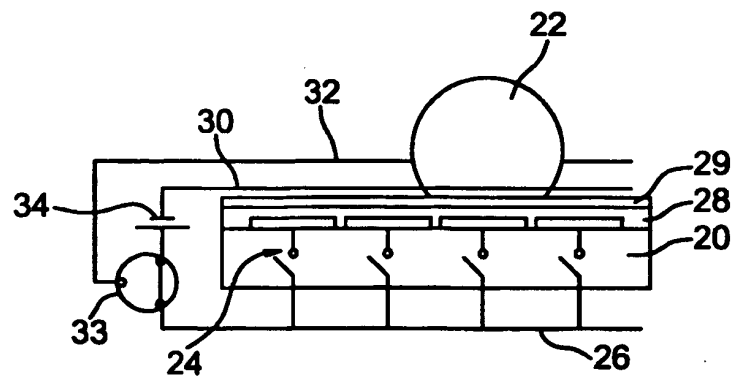


FIG. 2A



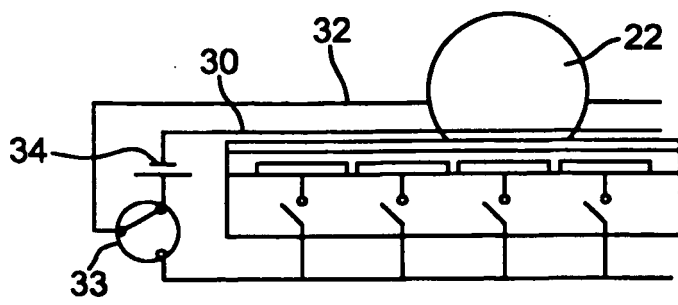


FIG. 2B

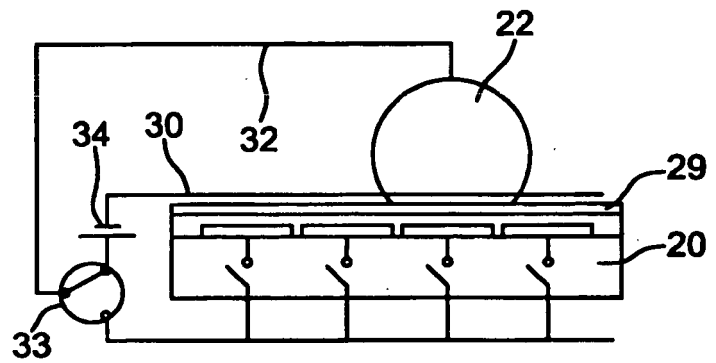


FIG. 2C

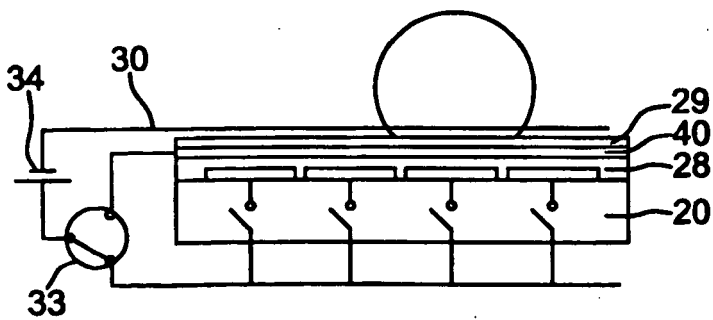


FIG. 3A

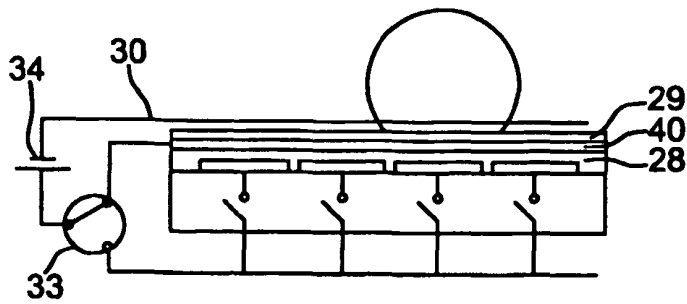


FIG. 3B

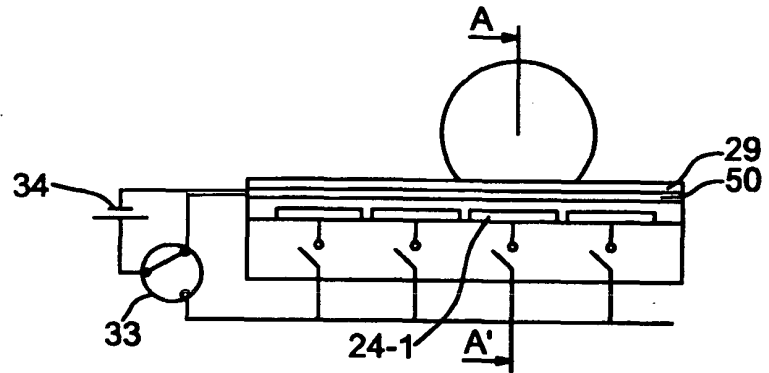


FIG. 4A

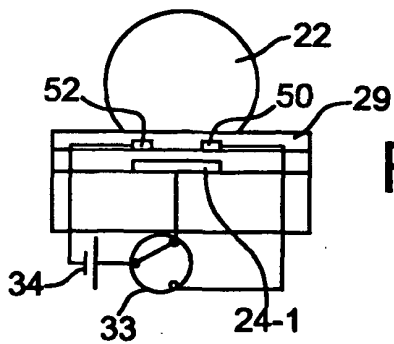


FIG. 4B

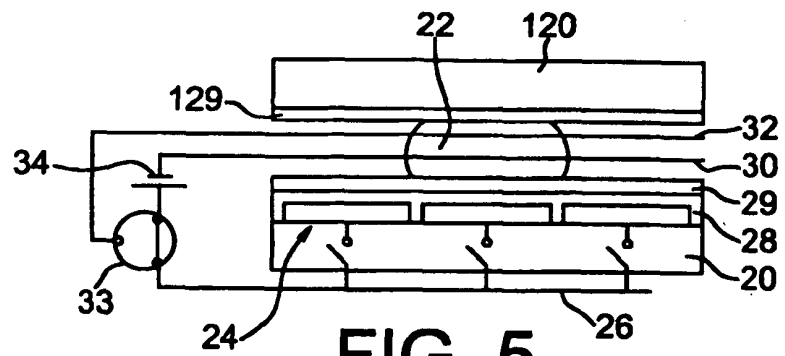


FIG. 5

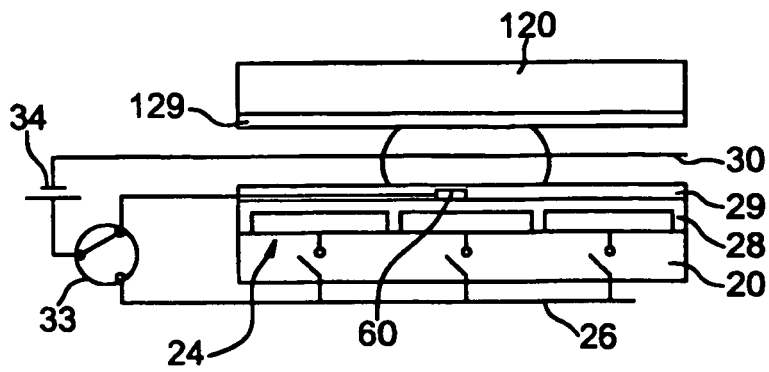


FIG. 6

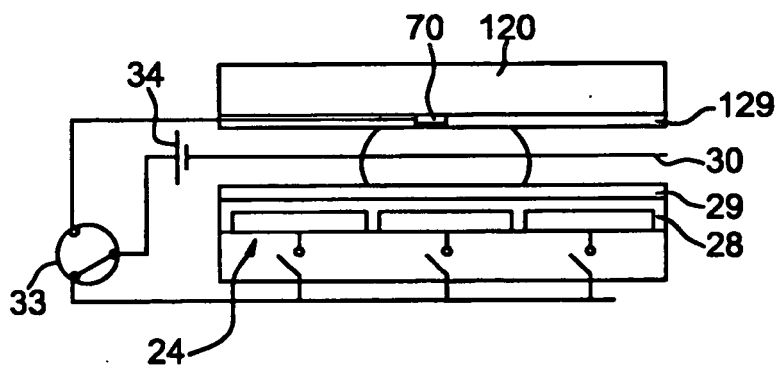


FIG. 7

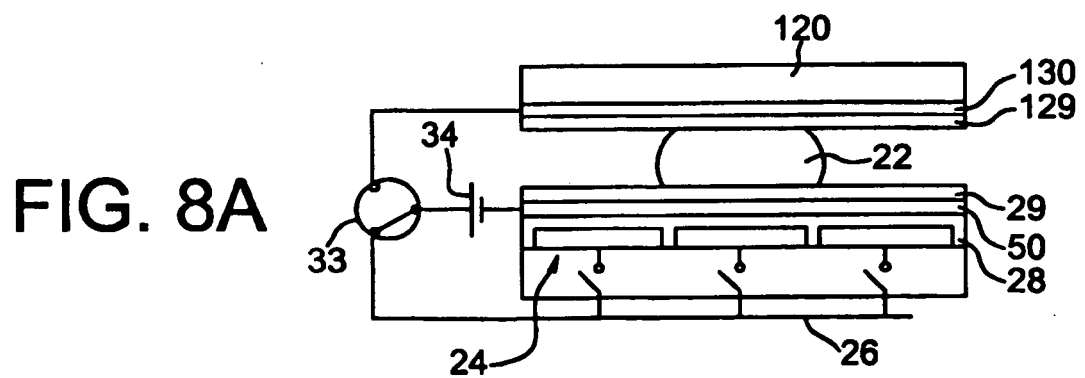


FIG. 8A

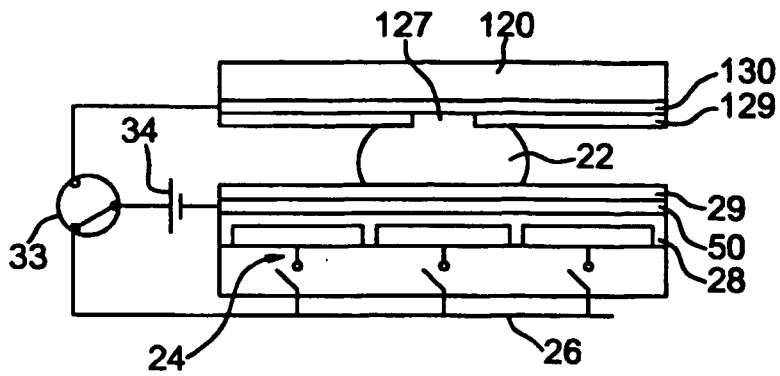


FIG. 8B

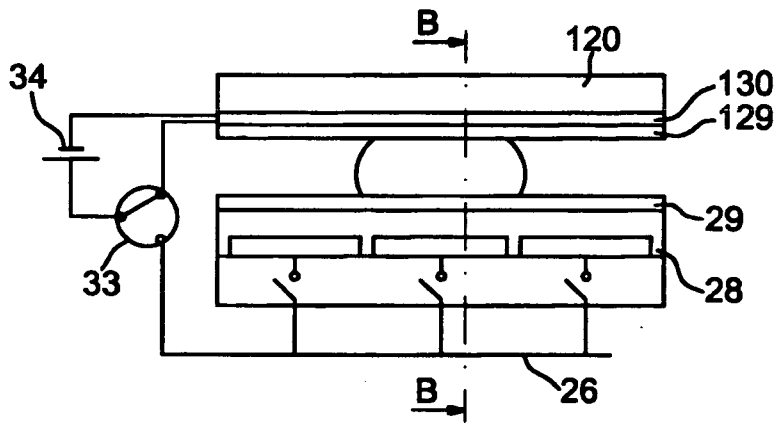


FIG. 9A

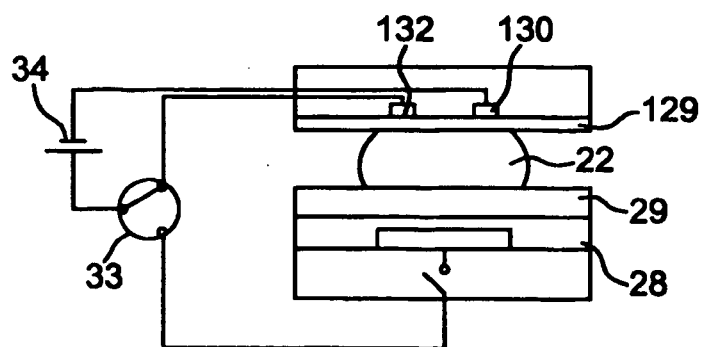


FIG. 9B

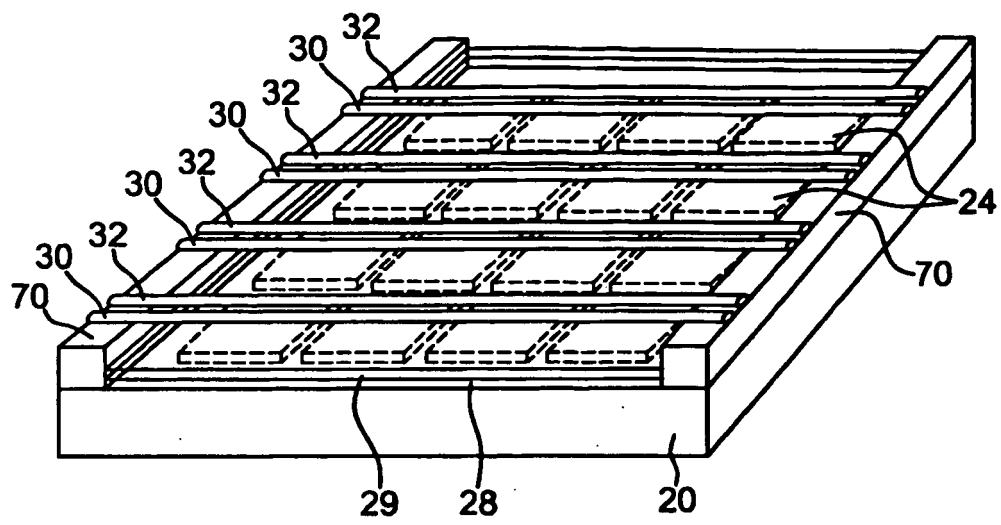


FIG. 10A

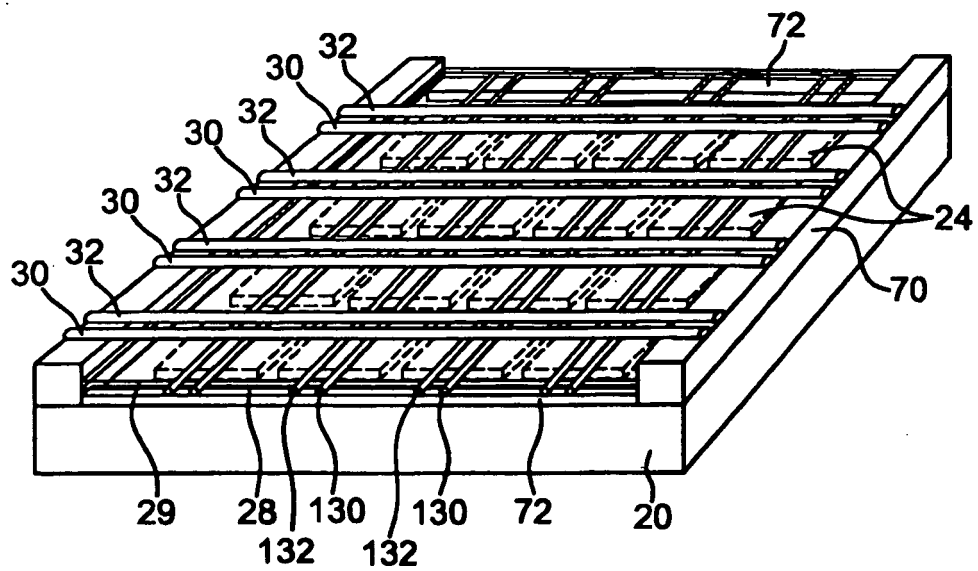


FIG. 10B

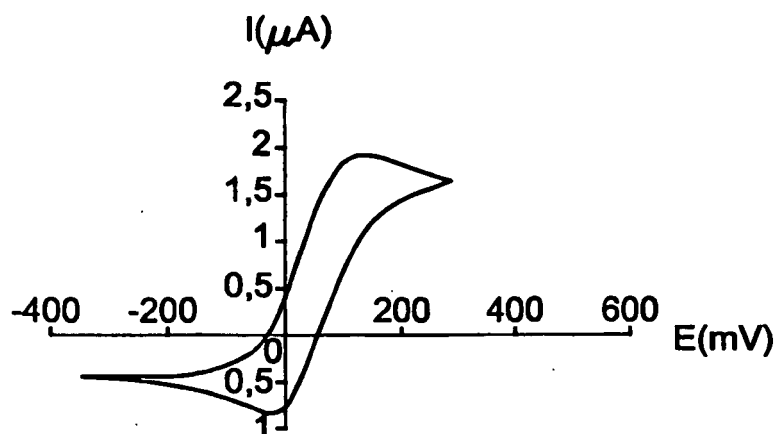


FIG. 11

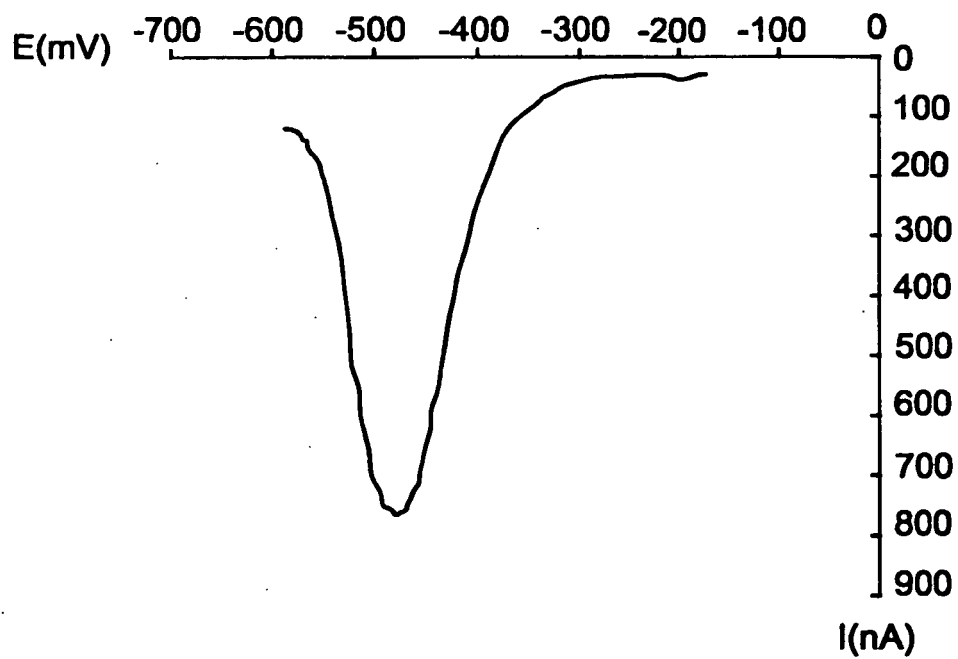


FIG. 12

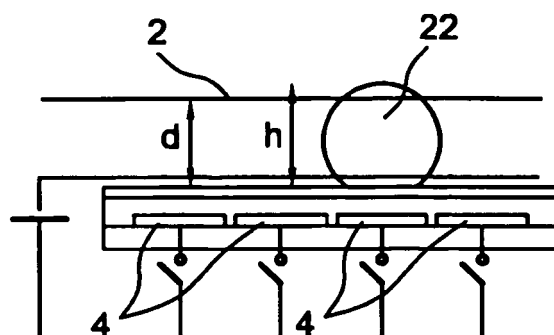


FIG. 13A

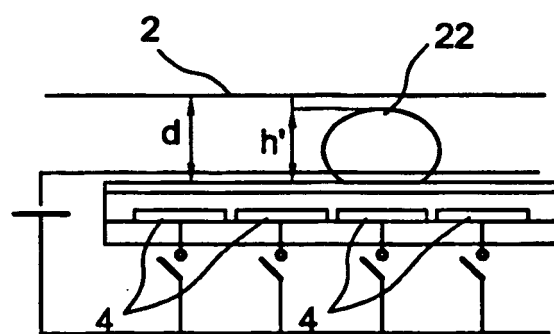


FIG. 13B

**RÉFÉRENCES CITÉES DANS LA DESCRIPTION**

*Cette liste de références citées par le demandeur vise uniquement à aider le lecteur et ne fait pas partie du document de brevet européen. Même si le plus grand soin a été accordé à sa conception, des erreurs ou des omissions ne peuvent être exclues et l'OEB décline toute responsabilité à cet égard.*

**Documents brevets cités dans la description**

- FR 2841063 [0005] [0008] [0147]

**Littérature non-brevet citée dans la description**

- **M.G. POLLACK ; A.D. SHENDOROV ; R.B. FAIR.**  
Electro-wetting-based actuation of droplets for integrated microfluidics. *Lab Chip*, 2002, vol. 2 (1), 96-101 [0003]