

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2014/056931 A1

(43) Date de la publication internationale
17 avril 2014 (17.04.2014)

W I P O I P C T

- (51) Classification internationale des brevets :
B01F 11/00 (2006.01) *B01L 3/00* (2006.01)
B01F 11/02 (2006.01) *B01F 3/08* (2006.01)
B01F 13/00 (2006.01) *B01F 15/02* (2006.01)
B01F 13/10 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP20 13/070967
- (22) Date de dépôt international :
8 octobre 2013 (08.10.2013)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
1259565 8 octobre 2012 (08.10.2012) FR
- (71) Déposant : **ECOLE POLYTECHNIQUE** [FR/FR];
Route de Saclay, F-91 120 Palaiseau (FR).
- (72) Inventeurs : **BAROUD, Charles**; 36 rue Abel Hovelacque, F-75013 Paris (FR). **ABBYAD, Paul**; 1027 Sherman Street, Santa Clara, California 95050 (US). **FRADET, Etienne**; 35 avenue du Docteur Durand, F-941 10 Arcueil (FR). **DANGLA, Rémi**; 67 rue de Rochechouart, F-75009 Paris (FR).
- (74) Mandataire : **MILON, Marie-Anne**; 90333, B, Technopole Atalante, 16B rue de Jouanet, F-35703 Rennes Cedex 7 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : MICROFLUIDIC CIRCUIT ALLOWING DROPS OF SEVERAL FLUIDS TO BE BROUGHT INTO CONTACT, AND CORRESPONDING MICROFLUIDIC METHOD

(54) Titre : CIRCUIT MICROFLUIDIQUE PERMETTANT LA MISE EN CONTACT DE GOUTTES DE PLUSIEURS FLUIDES, ET PROCÉDÉ MICROFLUIDIQUE CORRESPONDANT

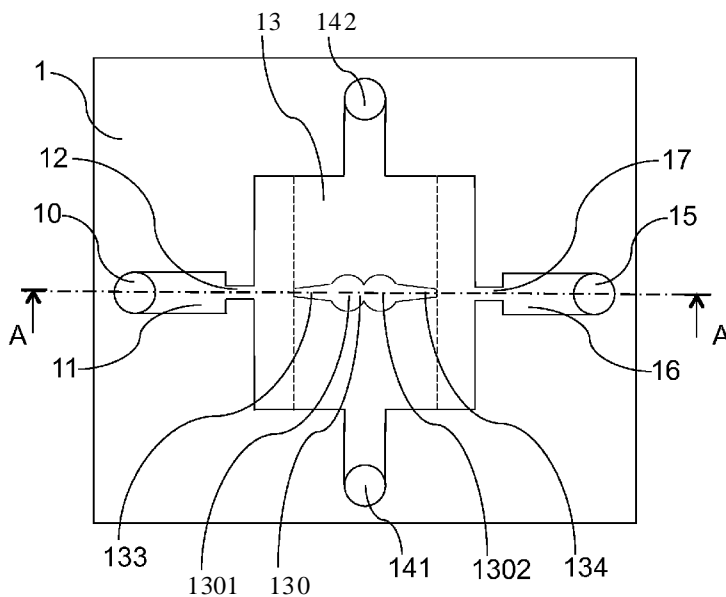


Fig. 1A

(57) Abstract : The subject of the present invention is a microfluidic circuit (1) in which are defined microchannels able to contain fluids and comprising at least one device for forming drops of a solution, means (133) for guiding the drops to a storage zone (130) in which one of the drops can be brought into contact with a drop of another solution, the walls of said microchannel portion forming the first drop-formation device diverging so as to cause drops of said first solution to detach under the effect of the surface tension of said first solution; said first guide means (133) comprise wall portions of said microchannels that diverge so as to cause said drops to move along under the effect of the surface tension of said first solution.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet un circuit micro fluidique (1), dans lequel sont définis des microcanaux pouvant contenir des fluides, et comprenant au moins un dispositif de formation de gouttes d'une solution, des moyens de guidage des gouttes

[Suite sur la page suivante]

WO 2014/056931 A1

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(133) vers une zone de stockage (130) dans laquelle une des gouttes peut être mise en contact avec une goutte d'une autre solution, les parois de ladite portion de microcanal formant le premier dispositif de formation de gouttes s'écartent de façon à détacher des gouttes de ladite première solution sous l'effet de la tension de surface de ladite première solution; lesdits premiers moyens de guidage (133) comprennent des portions de paroi desdits microcanaux, s'écartant de façon à déplacer lesdites gouttes sous l'effet de la tension de surface de ladite première solution.

Circuit microfluidique permettant la mise en contact de gouttes de plusieurs fluides, et procédé microfluidique correspondant.

1. Domaine de l'invention

5 La présente invention concerne un circuit microfluidique permettant la manipulation de très petites quantités de fluides. Elle concerne en particulier un tel circuit microfluidique permettant la manipulation de plusieurs fluides différents et leur mise en contact.

La présente invention concerne en particulier un tel circuit microfluidique permettant de la mise en contact de petites quantités de réactifs chimiques pour déclencher une réaction entre eux et faire une analyse cinétique de cette réaction.

L'invention concerne également un procédé microfluidique de mise en contact de gouttes de plusieurs fluides.

2. Art antérieur

15 Méthodes « Stop flow »

Différentes méthodes sont connues de l'Homme du Métier pour analyser la cinétique d'une réaction chimique. L'une de ces méthodes consiste à mélanger des réactifs dans une cuve et à observer, dans les instants suivant le mélange, l'évolution de la réaction chimique. La mise en œuvre de cette méthode impose un mélange particulièrement rapide des réactifs, pour éviter que la réaction chimique ne soit réalisée pendant la phase de mélange.

Ce mélange rapide des composants dans une cuve et l'analyse du déroulement de la réaction nécessitent des équipements spécialisés, qui sont coûteux. Par ailleurs, la mise en œuvre de cette méthode entraîne la consommation d'une quantité relativement importante des réactifs (généralement plus de 100 microlitres), ce qui peut s'avérer coûteux quand l'un des réactifs est rare ou précieux ou quand une série de nombreuses analyses est nécessaire. Enfin, cette méthode s'avère inefficace pour l'observation de réactions très rapides, qui se déroulent au cours du mélange des réactifs.

30 Méthodes microfluidiques

Une autre méthode d'analyse de la cinétique d'une réaction chimique, également connue de l'Homme du Métier, consiste à mettre en contact deux réactifs sans les mélanger. L'observation de la progression de la réaction chimique dans les réactifs, dans les instants suivant cette mise en contact, permet de calculer les caractéristiques cinétiques de la réaction chimique. Ces méthodes peuvent être efficaces, notamment pour l'observation de réactions à cinétique très rapide. Cependant, elles sont souvent difficiles à mettre en œuvre.

Parmi les procédés de mise en contact des réactifs sans les mélanger, certains sont des procédés microfluidiques, dans lesquels les volumes de réactifs mis en contact sont très faibles.

Procédé microfluidique de mise en contact de flux

On connaît ainsi, notamment par l'article « Reaction - diffusion dynamics : Confrontation between theory and experiment in a microfluidic reactor » de Baroud, Okkels, Ménétrier et Tabeling (Physical Review, E 67 060104(R) (2003)) un procédé microfluidique dans lequel deux flux de très faible volume de réactifs sont mis en contact sans être mélangés, ce qui permet l'observation de la réaction se produisant entre les réactifs.

Ce procédé s'avère, en pratique, relativement complexe à mettre en œuvre, et présente une fiabilité et une robustesse limitées. Par ailleurs, il entraîne la consommation d'un volume très important de réactifs. En conséquence, même si sa faisabilité a été démontrée expérimentalement, il n'a pas été mis en œuvre à une échelle industrielle.

Procédé microfluidique de mise en contact de gouttes

Un autre procédé microfluidique consiste à mettre en contact l'une avec l'autre des gouttes de réactifs, de très faible volume, puis de fusionner les gouttes afin de mettre en contact les réactifs pour permettre la réaction. Un tel procédé a été décrit dans l'article « Monitoring a Reaction at Submillisecond Resolution in picoliter Volumes » de Huebner, Abell, Huck, Baroud et Hollfelder (Analytical Chemistry).

Selon ce procédé, des gouttes d'un premier réactif, portées par un flux de fluide porteur, sont envoyées dans des pièges ménagés dans un circuit

microfluidique. Par la suite, des gouttes d'un second réactif sont envoyées par le flux de fluide porteur vers ces mêmes pièges, de façon à rassembler dans un même piège une goutte de chacun des deux réactifs. Il est alors possible, par des moyens connus, de fusionner les deux gouttes en contact l'une avec l'autre dans le piège pour mettre en contact les deux réactifs et provoquer la réaction.

Cependant, cette méthode s'avère relativement complexe à mettre en œuvre et nécessite des conditions particulières pour obtenir des résultats fiables. Par ailleurs, elle entraîne également une consommation de réactifs supérieure à ce qui est nécessaire.

10 3. Objectif de l'invention

La présente invention a pour objectif de palier à ces inconvénients de l'art antérieur.

En particulier, la présente invention a pour objectif de proposer un procédé permettant la mise en contact de différents fluides qui puisse être contrôlée et observée efficacement, par exemple pour obtenir une réaction entre eux et permettre une analyse de la cinétique de cette réaction.

L'invention a également pour objectif de proposer une telle méthode qui soit plus fiable, plus simple et moins coûteuse à mettre en œuvre que les méthodes d'analyse de cinétique de réaction de l'art antérieur.

L'invention a également pour objectif de proposer une telle méthode qui entraîne la consommation d'une quantité particulièrement faible des fluides destinés à réagir.

4. Exposé de l'invention

Ces objectifs, ainsi que d'autres qui apparaîtront plus clairement par la suite, sont atteints à l'aide d'un circuit microfluidique, dans lequel sont définis des microcanaux contenant des fluides, le circuit comprenant au moins :

- un premier dispositif de formation de gouttes d'une première solution dans un fluide porteur, comprenant une portion de microcanal parcourue par la première solution ;
- des premiers moyens de guidage desdites gouttes vers une zone de stockage dans laquelle une des gouttes peut être mise en contact avec

une goutte d'une seconde solution.

Selon l'invention, les parois de la portion de microcanal du premier dispositif de formation de gouttes s'écartent de façon à détacher des gouttes de la première solution sous l'effet de la tension de surface de la première solution ; et
5 en ce que les premiers moyens de guidage comprennent des portions de paroi des microcanaux, s'écartant de façon à déplacer les gouttes sous l'effet de la tension de surface de la première solution.

Ainsi, les parois du microcanal dans lequel s'écoule le fluide s'écartent, c'est à dire que le fluide s'écoulant dans ce microcanal passe, au cours de son
10 écoulement, d'une portion de microcanal dans laquelle il subit un confinement fort à une portion de microcanal dans laquelle il subit un confinement moins fort. Cette diminution du confinement permet que l'énergie de surface de ce fluide diminue au cours de l'écoulement.

Pour cela, les microcanaux du circuit microfluidique sont configurés pour
15 que la solution y circule entre des parois qui s'écartent les unes des autres, en causant une variation du confinement de la solution. L'écartement de chaque paroi peut être progressif (parois en pentes) ou abrupt (marche). La tension de surface de la solution, c'est à dire la tension interfaciale entre la solution et le fluide porteur avec lequel elle est en contact, impose au flux de solution une forme
20 tenant compte de ce confinement variable, qui aboutit à la séparation de gouttes.

Cette méthode de séparation de gouttes, dans laquelle la tension de surface de la solution est utilisée pour causer le détachement de la goutte, se distingue donc radicalement des méthodes nécessitant un flux de fluide porteur pour créer une goutte par cisaillement de la solution, en s'opposant à la tension de surface de
25 la solution qui tend au contraire à rassembler la solution. Elle présente également l'avantage de ne pas exiger d'équilibrage d'un flux de fluide porteur avec le flux de solution, ce qui simplifie le procédé.

Le déplacement des gouttes est également causé par l'écartement des parois couplé avec les effets de la tension de surface des gouttes. Les gouttes
30 peuvent ainsi être fabriquées et transportées indépendamment de la présence ou non d'un écoulement du fluide porteur. La taille des gouttes, notamment, ne

dépend pas fortement d'un mouvement du fluide porteur, et est homogène dès le début de leur formation. La fabrication et le déplacement des gouttes sont ainsi plus fiables, dans la mesure où ils sont définis uniquement par la configuration des parois des microcanaux, sans être perturbés par un écoulement de fluide porteur. Bien entendu, le fluide porteur, bien que sensiblement statique, subit de légères perturbations causées par le déplacement des gouttes.

Le circuit microfluidique de l'invention permet notamment de mettre en contact des gouttes pour les fusionner, ce qui permet une étude particulièrement simple de la cinétique des réactions chimiques. Le dispositif à mettre en œuvre est simple et peu coûteux et une très faible quantité de solution est utilisée pour mettre en œuvre cette étude. Par ailleurs, cette étude de réaction entre deux gouttes dans un circuit microfluidique permet d'observer des réactions à cinétique très rapide entre plusieurs réactifs.

Le procédé est particulièrement robuste, dans la mesure où il suffit de remplir un circuit de fluide porteur, puis d'injecter les solutions, pour produire des gouttes de volume prédéfini et les mettre en contact. Les différentes opérations peuvent être réalisées successivement, sans qu'il y ait à les coordonner ou à les équilibrer.

Il est à noter que le procédé rend facultatif l'utilisation d'additif surfactant dans le fluide porteur, dans la mesure où les gouttes ne sont pas en contact avec une autre goutte avant d'arriver dans le piège dans lequel elles doivent fusionner.

Selon un mode de réalisation avantageux, le premier dispositif de formation de gouttes comprend une buse parcourue par la première solution et débouchant dans une chambre dont les parois sont plus écartées que les parois de la buse.

Avantageusement, dans ce cas, les parois de ladite chambre s'écartent les unes des autres en s'éloignant de la buse.

De préférence, les parois de ladite chambre sont conformées pour définir lesdits moyens de guidage et ladite zone de stockage.

Selon un mode de réalisation préférentiel, la zone de stockage est constituée par une zone de l'un des microcanaux dans laquelle une goutte peut

présenter une énergie de surface plus faible que dans les zones voisines.

Une goutte peut ainsi pénétrer dans cette zone, mais ne peut plus en sortir sans qu'une énergie supplémentaire lui soit conférée, par exemple par un flux de fluide porteur. Il lui est en effet nécessaire d'augmenter son énergie de surface
5 pour aller dans une zone contiguë à la zone de stockage, encore appelée piège à goutte.

Préférentiellement, cette zone de stockage est divisée en au moins deux zones de piégeage contiguës pouvant chacune recevoir une goutte.

Chacune de ces zones de piégeage constitue une zone de stockage, ou un
10 piège à goutte. Cependant, ces zones de piégeage étant contiguës, elles imposent aux gouttes qu'elles contiennent d'être en contact l'une avec l'autre.

De façon avantageuse, cette zone de stockage est divisée en deux zones de piégeage de forme sensiblement circulaire se recoupant partiellement, de façon à présenter une forme en « 8 ».

15 Cette forme de zone de stockage permet de mettre en contact deux gouttes, en connaissant avec précision la position de chacune des deux gouttes et la position du contact entre ces gouttes. Par ailleurs, quand les deux gouttes fusionnent en une seule, cette forme de zone de stockage permet que la goutte résultant de la fusion présente une forme oblongue, permettant une meilleure
20 observation de la réaction entre le contenu des deux gouttes. Cette forme de zone de stockage est particulièrement bien adaptée à l'observation de réactions chimiques.

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, le circuit microfluidique comprend également

- 25
- un second dispositif de formation de gouttes d'une seconde solution dans le fluide porteur, comprenant une portion de microcanal parcourue par la seconde solution, et
 - des seconds moyens de guidage des gouttes de la seconde solution vers la zone de piégeage dans laquelle une desdites gouttes de
30 ladite seconde solution peut être mise en contact avec ladite goutte de la première solution ;

Les parois de ladite portion de microcanal du second dispositif de formation de gouttes s'écartant de façon à détacher une goutte de la seconde solution sous l'effet de la tension de surface de la seconde solution ; et lesdits seconds moyens de guidage desdites gouttes comprenant des portions de paroi desdits microcanaux, s'écartant de façon à déplacer les gouttes de ladite seconde solution sous l'effet de la tension de surface de ladite seconde solution.

Il est ainsi possible que les deux gouttes qui sont mises en contact soient toutes les deux produites dans le circuit microfluidique, ce qui simplifie la fabrication et la mise en contact des gouttes.

Avantageusement, dans ce cas, les premiers moyens de guidage sont conformés pour guider les gouttes de la première solution vers une première zone de piégeage de la zone de stockage, et les seconds moyens de guidage sont conformés pour guider les gouttes de la seconde solution vers une seconde zone de piégeage de la zone de stockage.

De façon avantageuse, le premier et le second dispositif de formation de gouttes sont conformés pour former des gouttes de taille différente.

De préférence, dans ce cas, la zone de stockage présente au moins deux zones de piégeage de taille différente, l'une étant de taille adaptée pour recevoir une goutte formée par le premier dispositif de formation de gouttes, et l'autre étant de taille adaptée pour recevoir une goutte formée par le second dispositif de formation de gouttes.

Le circuit microfluidique peut ainsi s'adapter au mieux aux conditions d'expérimentations désirées.

Selon un mode de réalisation avantageux, le circuit microfluidique comprend également au moins un troisième dispositif de formation de gouttes d'une troisième solution dans le fluide porteur, et des moyens de guidage des gouttes de la troisième solution vers la zone de stockage.

Le circuit microfluidique peut ainsi permettre d'observer successivement plusieurs réactions, entre des réactifs différents.

Préférentiellement, le circuit microfluidique comprend des moyens d'évacuation des gouttes situées dans la zone de stockage.

Plusieurs réactions peuvent ainsi être analysées avec le même dispositif avec une cadence très importante.

Avantageusement, ces moyens d'évacuation comprennent des moyens de production d'un flux de fluide porteur apte à entraîner lesdites gouttes hors de ladite zone de stockage.

L'invention concerne également un circuit microfluidique dans lequel sont définis des microcanaux aptes à être remplis par des fluides pour former un circuit microfluidique tel que décrit ci-dessus.

L'invention concerne également un procédé microfluidique de mise en contact de deux gouttes de solutions différentes, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes, réalisées simultanément ou successivement :

- introduction d'une première solution dans des microcanaux d'un circuit microfluidique ;
- détachement d'une première goutte de ladite première solution dans un fluide porteur, causé par l'écartement des parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite première solution ;
- déplacement de ladite première goutte, causé par l'écartement des parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite première goutte, jusqu'à une zone dans laquelle elle est mise en contact avec une seconde goutte d'une seconde solution.

Selon un mode de réalisation préférentiel, ce procédé microfluidique comprend une étape finale de fusion de ladite première goutte et de ladite seconde goutte.

Avantageusement, ce procédé microfluidique comprend également les étapes suivantes :

- introduction d'une seconde solution dans des microcanaux dudit circuit microfluidique ;
- détachement d'une seconde goutte de ladite seconde solution dans ledit fluide porteur, causé par l'écartement des parois desdits

microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite seconde solution ;

- déplacement de ladite seconde goutte, causé par l'écartement des parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite seconde goutte, jusqu'à ladite zone dans laquelle elle est mise en contact avec ladite première goutte.

Avantageusement, ce procédé microfluidique est mis en œuvre dans un circuit microfluidique tel que décrit ci-dessus.

5. Liste des figures

L'invention sera mieux comprise au vu de la description suivante de modes de réalisation préférentiels, donnée à titre illustratif et non limitatif, et accompagnée des figures parmi lesquelles :

- les figures 1A et 1B sont respectivement un plan et une vue de coupe d'un circuit microfluidique selon un premier mode de réalisation de l'invention ;
- les figures 2A, 3A, 4A et 5A représentent un détail du plan de la figure 1, à différents moments de l'utilisation du circuit microfluidique ;
- les figures 2B, 3B, 4B et 5B sont des vues de coupe correspondant respectivement aux figures 2A, 3A, 4A et 5A ;
- les figures 6A et 6B sont respectivement un plan et une vue de coupe d'un autre détail du circuit microfluidique de la figure 1, à un moment de son utilisation ;
- la figure 6C est un plan du détail du circuit microfluidique représenté par les figures 6A et 6B, à un autre moment de son utilisation ;
- les figures 7A et 7B sont respectivement un plan et une vue de coupe d'un détail d'un circuit microfluidique selon un second mode de réalisation possible de l'invention ;
- la figure 8 est un plan d'un circuit microfluidique selon un troisième mode de réalisation possible de l'invention ;

- les figures 9A et 9B sont respectivement un plan et une vue de coupe d'un circuit microfluidique selon un quatrième mode de réalisation possible de l'invention ;
- 5 - la figure 10 est un plan d'un circuit microfluidique selon un cinquième mode de réalisation possible de l'invention ;
- la figure 11 est un plan d'un circuit microfluidique selon un sixième mode de réalisation possible de l'invention ;
- les figures 12A et 12B sont respectivement un plan et une vue de coupe d'un circuit microfluidique selon un septième mode de réalisation possible de l'invention ;
- 10 - la figure 13 est un plan d'un circuit microfluidique selon un huitième mode de réalisation possible de l'invention.

6. Description détaillée de modes de réalisation

15 6.1. Circuit microfluidique

La figure 1A est un plan, en vue de dessus, d'un circuit microfluidique 1 selon un premier mode de réalisation de l'invention, permettant la mise en contact de gouttes de plusieurs fluides. Ce plan montre les différents canaux microfluidiques qui sont ménagés à l'intérieur de ce circuit microfluidique. Ce circuit microfluidique est également représenté, en vue de coupe, à la figure 1B.

De façon connue en elle-même, le circuit microfluidique peut être composé de deux plaques superposées, collées l'une à l'autre. Ainsi, le circuit 1 est composé d'une plaque 102, qui peut par exemple être une lame transparente de microscope, et d'une plaque 101, dont la face en contact avec la plaque 102 est gravée de façon à définir des microcanaux entre les deux plaques, qui sont superposées et collées l'une à l'autre. La plaque 101 peut être constituée d'un matériau polymère. De préférence, le matériau constituant au moins l'une des deux plaques est transparent, afin de faciliter l'observation des fluides dans les microcanaux. Dans ce cas, l'observation du circuit 1 permet de voir les microcanaux par transparence, comme le représente la figure 1A.

De façon connue, les dimensions de ces microcanaux peuvent être choisies

librement en adaptant la largeur et la profondeur des gravures dans la plaque 101 gravée. Par exemple, les microcanaux peuvent avoir une largeur de 100 μm environ et une profondeur de 50 μm environ. Ces microcanaux peuvent également présenter des dimensions plus importantes, ou au contraire plus faibles, de façon à s'adapter aux caractéristiques de différents fluides, ou aux tailles des gouttes à manipuler.

Il est à noter que des circuits microfluidiques fabriqués selon d'autres méthodes connues de l'homme du métier peuvent évidemment être utilisés pour mettre en œuvre l'invention. Dans certains cas, ces circuits peuvent être appelés "cuvettes" ou "tubes", plutôt que « circuits microfluidiques ». Ils constituent cependant des circuits microfluidiques, au sens de la présente invention, quand les dimensions typiques des canalisations, ou microcanaux, qui transportent les fluides sont comprises entre environ 1 μm et 1 mm.

Ces microcanaux sont normalement dimensionnés pour que leurs parois exercent une contrainte confinant la solution ou sur les gouttes qui y circulent. Dans la plupart des microcanaux, les gouttes sont ainsi confinées par les parois supérieure, inférieure, droite et gauche. Certains microcanaux, appelés « chambres » par la suite, sont cependant dimensionnés de façon à n'exercer une contrainte que dans une dimension, deux de leurs parois sensiblement parallèles (généralement la paroi supérieure et la paroi inférieure) étant proches l'une de l'autre pour confiner les gouttes, et les autres parois étant suffisamment éloignées pour ne pas confiner les gouttes.

Le circuit microfluidique 1 doit, préalablement à son utilisation, être rempli d'un fluide, appelé par la suite fluide porteur, qui n'est pas miscible avec les fluides que l'on souhaite manipuler dans le circuit. Ce fluide porteur est par exemple de l'huile, pouvant être additionnée d'un produit surfactant permettant d'éviter la fusion spontanée de gouttes de fluide manipulées, si elle entre en contact. Cet additif surfactant peut parfois être inutile, notamment si l'on souhaite que les gouttes fusionnent spontanément quand elles entrent en contact.

30 6.2. Formation des gouttes

Le circuit microfluidique 1 comporte deux trous d'alimentation 10 et 15,

qui sont percés dans la plaque 101, et dans lesquels peut être introduite l'aiguille d'une seringue ou l'extrémité d'une pipette afin d'y injecter les fluides devant être manipulés. Ces trous d'alimentation 10 et 15 sont reliés respectivement à des canaux d'alimentation 11 et 16 permettant chacun d'acheminer le fluide vers une buse de formation de gouttes, respectivement 12 et 17.

Ces buses de formation de gouttes sont des microcanaux de faible section pouvant être alimentés en fluide par leur première extrémité et faisant passer de manière contrôlée ce fluide vers une deuxième extrémité. Les figures 2A, 3A, 4A et 5A représentent en détail le plan de la buse de formation de gouttes 12, à plusieurs moments de la formation d'une goutte d'un fluide 2. Cette buse est également représentée en détail par les vues de coupe des figures 2B, 3B, 4B et 5B, qui correspondent respectivement aux vues des figures 2A, 3A, 4A et 5A. Dans un souci de clarté, le fluide porteur qui remplit les canaux du circuit 1 n'est pas représenté sur ces figures.

Comme le montrent ces figures, la deuxième extrémité de la buse 12 débouche sur une chambre centrale 13, qui présente une paroi supérieure gravée dans la plaque 101 et une paroi inférieure constituée par la plaque 102. A proximité de la seconde extrémité de la buse 12, la paroi supérieure de la chambre 13 présente une zone inclinée 131, de telle sorte que les deux parois de la chambre s'écartent quand elles s'éloignent de la seconde extrémité de la buse 12. Cet écartement des parois permet que le confinement subi par la solution diminue au cours de son trajet, après son passage dans la buse 12.

Comme le montrent les figures 2A et 2B, quand un fluide 2, par exemple une solution, est introduit dans le circuit microfluidique 1 par le trou 10, il remplit la conduite d'alimentation 11 et la buse 12. Quand l'introduction du fluide dans le trou 10 se poursuit, le front du fluide 2 s'avance dans la chambre 13, comme le montrent les figures 3A et 3B. Ce fluide se trouve alors confiné entre une paroi inférieure, constituée par la plaque 102, et une paroi supérieure, constituée par la zone inclinée 131, qui s'écartent l'une de l'autre en s'éloignant de la buse 12.

Cet écartement des parois tend à attirer le fluide 2 loin de la buse 12. En effet, le fluide tend à prendre une forme la plus proche possible d'une sphère, qui

est la forme dans laquelle son énergie de surface est minimale. Il tend donc à se déplacer vers les espaces dans lesquels il est moins confiné. Cette attraction tend à éloigner le front du fluide de la buse 12 plus rapidement que n'arrive le fluide 2 à travers la buse 12. Comme le montrent les figures 4A et 4B, cet éloignement tend à séparer le front de fluide 2 du flux continu de fluide 2 se trouvant dans la conduite d'alimentation 11 et la buse 12, jusqu'à la séparation d'une goutte 20 de ce flux continu de fluide, comme le représentent les figures 5A et 5B.

Ainsi, la forme des microcanaux du circuit microfluidique 1, et plus précisément la succession d'une buse de formation de goutte 12 et d'une chambre 13 dans laquelle les parois s'écartent l'une de l'autre en s'éloignant de la buse 12, permet la formation de gouttes 20 de fluide 2 sans qu'aucun flux du fluide porteur ne soit nécessaire. La seule action nécessaire pour former ces gouttes est en effet l'introduction du fluide 2 dans le trou 10. Il est à noter à cet égard que la pression d'introduction du fluide 2 dans le circuit microfluidique 1 n'influe que très faiblement sur la taille des gouttes 20 formées. Il a ainsi été montré qu'une multiplication par mille de la pression d'introduction du fluide 2 ne multiplie que par deux la taille de la goutte produite. Le circuit microfluidique 1 permet donc de produire des gouttes 20 dont la taille découle principalement des caractéristiques géométrique des microcanaux (et notamment de la section de la buse 12 et de la pente de la zone inclinée 13 1) et de la viscosité du fluide 2, et est en conséquence relativement homogène.

Il est à noter cependant que, dans certains cas, il est possible d'exercer des contraintes sur les gouttes en formation pour produire des gouttes de taille différente. Ainsi, des gouttes de plus grande taille peuvent être produites en injectant le fluide rapidement mais durant une courte période. De la même manière, des gouttes de taille plus petite peuvent être produites en aspirant le fluide de la goutte durant la phase de brisure de celle-ci. Ces méthodes de forçage "actif, dans lesquelles une intervention extérieure influe sur la formation de la goutte, ne sont pas indispensables mais peuvent être utilisées en combinaison avec les méthodes passives décrites dans la présente demande, dans lesquelles les gouttes se forment naturellement, sous l'effet de la forme des microcanaux dans

lesquels circulent les fluides et de l'énergie de surface de ces fluides.

Le circuit microfluidique 1 étant symétrique, la conduite d'alimentation 16 et la buse de formation de gouttes 17, associée à la zone inclinée 132 de la paroi supérieure de la chambre 13 à proximité de la buse 17, permettent de former de la même façon des gouttes 25 à partir du fluide qui est introduit dans le trou d'alimentation 15.

Il est à noter que ce mode de formation des gouttes peut avantageusement être du type présenté par le document WO20 11/1 2 1220, au nom des demanderesses.

10 6.3. Guidage des gouttes

Des chemins permettant le guidage des gouttes sont définis sur la paroi supérieure de la chambre 13. Ces chemins sont constitués par des rainures gravées en creux dans la paroi. Ainsi, une goutte placée dans un de ces chemins peut prendre une forme plus compacte qu'une goutte confinée entre les parois supérieure et inférieure de la chambre 13. En conséquence de ce confinement moins important, une goutte se trouvant dans le chemin présente une énergie de surface inférieure à une goutte se trouvant à côté de ce chemin. Une goutte placée dans ce chemin ne peut donc pas en sortir sans qu'une énergie lui soit apportée de l'extérieur.

20 Plus précisément, deux chemins de guidage sont prévus dans la chambre 13 du circuit microfluidique 1. Un chemin de guidage 133 est formé de telle sorte qu'une première de ses extrémités soit placée à proximité de l'endroit où se forment les gouttes 20, de telle sorte que ces gouttes s'engagent dans le chemin après leur formation. Les bords de ce chemin 133 ne sont pas parallèles, et sont plus éloignés au niveau de sa deuxième extrémité qu'au niveau de sa première 25 extrémité. Ainsi, les parois supérieure et inférieure de la chambre 13 s'éloignent l'une de l'autre le long de ce chemin, en allant de la première à la deuxième extrémité de ce chemin. En conséquence, une goutte 20 engagée dans le chemin 133 au niveau de sa première extrémité se déplace vers sa seconde extrémité, sous 30 l'effet de sa tension de surface, attirée par la conformation du microcanal lui permettant de prendre une forme dans laquelle son énergie de surface est plus

faible.

De la même façon, le chemin de guidage 134 présente une forme similaire, ce qui lui permet de recueillir à sa première extrémité les gouttes 25 se formant, et de les guider vers sa seconde extrémité.

5 Bien évidemment, toute autre forme de microcanaux permettant de guider les gouttes peut être mise en œuvre sans sortir du cadre de l'invention. Il est également possible que le circuit microfluidique ne comprenne pas de tel chemin, seules les pentes des parois supérieure et inférieure de la chambre guidant les gouttes vers leur destination.

10 6.4. Piégeage des gouttes

Les secondes extrémités des chemins 133 et 134 aboutissent à une zone de stockage, ou piège à gouttes 130, situé au milieu de la chambre 13. Les termes « zone de stockage » ou « piège » désignent dans la présente description un espace dans lequel une goutte peut pénétrer, mais dont elle ne peut pas sortir sans
15 une intervention extérieure. Ce piège à gouttes 130, qui est défini par une gravure en creux dans la paroi supérieure de la chambre 13, présente avantageusement une forme « en huit » définissant une zone de piégeage 1301, qui est connectée à la seconde extrémité du chemin 133, et une zone de piégeage 1302, qui est connectée à la seconde extrémité du chemin 134. Chacune de ces zones de piégeage 1301 et
20 1302 présente une conformation telle qu'une goutte qui y est placée ne peut pas en sortir sans qu'une énergie extérieure lui soit apportée.

Il est à noter que la technique de guidage et de piégeage des gouttes dans le circuit microfluidique peut avantageusement être du type présenté par le document WO2011/039475, au nom des demanderessees.

25 6.5. Mise en contact et fusion des gouttes

En introduisant une première solution par le trou 10, et une seconde solution par le trou 15, il est possible de créer une goutte 20 de la première solution, qui est guidée jusqu'à se positionner dans la zone de piégeage 1301 et une goutte 25 de la seconde solution, qui est guidée jusqu'à se positionner dans la zone de piégeage
30 1302 du piège 130. Quand deux gouttes 20 et 25 sont placées l'une dans la zone de piégeage 1301 et l'autre dans la zone de piégeage 1302, ces deux gouttes sont

en contact l'une avec l'autre, comme le représentent les figures 6A et 6B.

Ce contact des gouttes n'entraîne cependant pas nécessairement le contact des solutions contenues dans chacune des gouttes. En effet, chacune des gouttes est entièrement entourée d'un film de fluide porteur qui sépare les solutions l'une de l'autre. Cependant, la fusion entre les gouttes, en supprimant le film de fluide porteur séparant les deux gouttes 20 et 25 afin qu'elles ne forment plus qu'une goutte, peut être obtenue facilement, en utilisant une technique connue de l'homme du métier. Cette technique peut par exemple être celle décrite dans le document de brevet FR 2 873 171, au nom des demanderesse de la présente demande, dans laquelle une impulsion laser est envoyée à l'interface entre deux gouttes afin d'y provoquer un échauffement local permettant de rompre le film de fluide porteur entre les deux gouttes, et de fusionner celles-ci.

D'autres méthodes connues de l'homme du métier peuvent bien entendu être mises en œuvre pour fusionner les gouttes. Il est ainsi connu de réaliser un forçage mécanique de la fusion, en appliquant une légère déformation de la chambre ou des vibrations, ou d'appliquer un champ électrique déclenchant la fusion des gouttes, ou de chauffer localement l'interface entre les gouttes.

Dans un circuit microfluidique selon l'invention, il est également possible de prévoir que la fusion des gouttes intervienne de façon spontanée après leur contact. Pour cela, il suffit de choisir un fluide porteur présentant les caractéristiques adaptées, par exemple une huile sans additif surfactant. Cette variante est rendue possible par les circuits microfluidiques selon l'invention, dans la mesure où ils permettent qu'une goutte ne puisse entrer en contact qu'avec la goutte avec laquelle elle devra fusionner.

La fusion des gouttes aboutit à la formation d'une goutte unique 29 dans le piège à gouttes 130, comme le représente la figure 6C. Dès la fusion des deux gouttes 20 et 25 occupant les zones de piégeage 1301 et 1302 en une seule goutte occupant le piège 130, les solutions initialement contenues dans les gouttes séparées peuvent réagir l'une avec l'autre. Au moins l'une des parois du circuit microfluidique 1 étant transparente, il est alors possible de réaliser une observation optique de la réaction se déroulant entre les deux solutions.

Cette observation est particulièrement facile, dans le procédé selon l'invention, du fait que le piège 130, et ses zones de piégeage 1301 et 1302, sont à des positions bien définies. Un système optique adapté peut donc être centré précisément sur ce piège 130. Du fait de la forme du piège à gouttes 130, la goutte 29 présente avantageusement une forme oblongue, qui permet une meilleure observation de la progression de la réaction entre les solutions contenus dans les deux gouttes 20 et 25. De plus, la connaissance de la position exacte de chacune des solutions, au moment où se fait la fusion entre les gouttes, et de la zone où se fait le contact entre les deux solutions permet une exploitation plus facile et efficace des observations.

6.6. Retrait des gouttes

Une fois la réaction entre les deux solutions effectuée, il est possible de retirer la goutte du piège 130, en injectant un flux de fluide porteur, avec une pression suffisamment importante, par un trou 141 relié à la chambre 13. Le flux de fluide porteur traverse alors la chambre 13, et est évacué par le trou 142. Ce flux entraîne avec lui la goutte placée dans le piège 130, en lui communiquant suffisamment d'énergie pour qu'elle quitte le piège et soit évacuée de la chambre 13. Le circuit microfluidique 1 peut alors être utilisé de nouveau pour observer une réaction des mêmes fluides, ou, sous réserve de nettoyer les conduites et les buses de formation de gouttes, d'autres fluides.

6.7. Mode de réalisation sans parois inclinées

Un grand nombre de variantes de ce circuit microfluidique peuvent être mis en œuvre sans sortir du cadre de l'invention, pour s'adapter à des conditions d'expérimentations variées.

Ainsi, les figures 7A et 7B sont respectivement un plan et une vue de coupe d'un détail d'un circuit microfluidique 3 selon un second mode de réalisation possible de l'invention.

Ce circuit microfluidique 3 est en grande partie identique au circuit microfluidique 1 des figures 1A et 1B. Seule sa chambre centrale 33, dans laquelle débouche une buse de formation des gouttes 32, présente une conformation différente.

Cette chambre centrale 33, en effet, ne présente pas de parois inclinées. En revanche, les parois supérieure et inférieure de cette chambre centrale 33 présentent un écartement supérieur à celui des parois de la buse 32. Par ailleurs, le chemin de guidage 333, qui permet de conduire une goutte jusqu'au piège 330, se prolonge jusqu'à proximité de la buse 32. L'écartement des parois supérieure et inférieure de la chambre centrale 33, associé au chemin de guidage 333, permet de détacher des gouttes d'une solution parcourant la buse 32 sous l'effet de la tension de surface de cette solution, de la même manière que dans le circuit microfluidique 1.

10 6.8. Mode de réalisation avec plusieurs canaux d'alimentation d'une zone de piégeage

La figure 8 représente un plan d'un circuit microfluidique 4 selon un troisième mode de réalisation possible de l'invention. Une moitié de ce circuit microfluidique 4 est identique au circuit microfluidique 1 des figures 1A et 1B. Elle comprend ainsi un trou d'alimentation 40 alimentant un canal d'alimentation 41 et une buse de formation des gouttes 42, qui débouche dans une chambre centrale 43. La buse 42, en association avec une pente adaptée des parois de la chambre 43 à proximité de la buse 42, permet la formation de gouttes d'un fluide qui est introduit dans le trou 40. Les gouttes formées sont guidées par un chemin de guidage 433 vers une première zone de piégeage 4301 d'un piège 430, situé sensiblement au centre de la chambre 43.

La seconde zone de piégeage 4302 du piège 430 est, elle, connectée à une extrémité d'une pluralité de chemins de guidage 4341, 4342, 4343 et 4344. L'autre extrémité de chacun de ces chemins de guidage est située à proximité d'une buse de formation de goutte, respectivement 471, 472, 473, 474, qui sont chacune alimentée par un trou d'alimentation, respectivement 451, 452, 453, 454, par l'intermédiaire d'un canal d'alimentation, respectivement 461, 462, 463 et 464. Chaque buse de formation de goutte 471, 472, 473, 474, en association avec la pente adaptée des parois de la chambre 43 à proximité de ces buses, permet de former des gouttes avec la solution qui peut être injectée dans le trou d'alimentation correspondant. Cette goutte est alors guidée jusqu'à la zone de

piégeage 4302 du piège 430, afin de pouvoir être fusionnée avec une goutte placée dans la zone de piégeage 4301.

En conséquence, il est ainsi possible de fusionner une goutte d'une solution injectée par le trou 40 avec une solution injectée, au choix, par l'un des
5 trous 451, 452, 453 ou 454.

Un tel circuit microfluidique permet de réaliser successivement, sans avoir à nettoyer le circuit, plusieurs réactions chimiques entre la solution introduite dans le trou d'alimentation 40 et une des solutions introduites dans un trou d'alimentation choisi parmi les trous 451, 452, 453 ou 454.

10 En pratique, le circuit d'alimentation 4 permet de réaliser simplement des réactions d'une première solution avec plusieurs autres solutions différentes. La première solution peut être injectée dans le trou 40 afin qu'une goutte de cette première solution se place dans la zone de piégeage 4301. Une seconde solution peut également être injectée dans le trou 451 afin de placer une goutte de cette
15 seconde solution dans la zone de piégeage 4302. Les deux gouttes peuvent alors être fusionnées pour provoquer une réaction entre les deux solutions. Après cette réaction, il est possible d'évacuer très facilement la goutte résultant de la fusion par le trou 442, en injectant un flux de fluide porteur par le trou 441 .

Il est alors possible, sans avoir à effectuer de nettoyage supplémentaire,
20 d'injecter à nouveau de la première solution dans le trou 40 pour en placer une nouvelle goutte dans la zone de piégeage 4301, et d'injecter une troisième solution dans le trou 452 afin de placer une goutte de cette troisième solution dans la zone de piégeage 4302. Une nouvelle réaction, entre des solutions différentes, peut alors être réalisée. Bien entendu, il est possible de continuer la série
25 d'expériences en utilisant les trous d'alimentation 453 et 454.

Bien évidemment, le nombre de buses de formation de gouttes pouvant alimenter la zone de piégeage 4302 peut varier. De même, d'autres variantes de ce circuit microfluidique peuvent être imaginées par l'homme du métier, notamment des variantes selon lesquelles chacune des deux zones de piégeage peuvent
30 recevoir des gouttes provenant d'une pluralité de buses de formation de gouttes, des variantes selon lesquelles un même chemin de guidage peut acheminer vers

une zone de piégeage des gouttes provenant de plusieurs buses, etc.

6.9. Mode de réalisation avec des gouttes de taille différentes

Les figures 9A et 9B représentent un circuit microfluidique 5 selon un quatrième mode de réalisation possible de l'invention, permettant la mise en contact de deux gouttes de solutions distinctes, présentant des volumes différents. Pour obtenir des gouttes de volume différent, avec un fluide donné, il est possible de faire varier les caractéristiques dimensionnelles du circuit microfluidique, notamment les dimensions des buses et/ou les pentes et/ou écartements des parois en sortie des buses.

Dans le mode de réalisation représenté par le plan de la figure 9A et la coupe de la figure 9B, le circuit microfluidique 5 présente des trous d'alimentation 50 et 55, des canaux d'alimentation 51 et 56 et des buses de formation de gouttes 52 et 57 qui sont identiques à ceux du circuit 1 représenté par les figures 1A et 1B. En revanche, la chambre centrale 53, sur laquelle débouchent les buses 52 et 57, présente une forme permettant que les gouttes formées par le fluide traversant la buse 52 et la buse 57 ne soient pas de la même taille.

Pour cela, la paroi supérieure de la chambre 53 présente une première zone inclinée 531, à proximité de la buse 52, et une seconde zone inclinée 532, à proximité de la buse 57, dont les inclinaisons ne sont pas les mêmes. Ainsi, le fluide sortant de la buse 52 est confiné entre deux parois formant un angle relativement faible, ce qui fait que l'attraction du fluide l'éloignant de la buse 52 est relativement faible. En conséquence, lorsqu'une goutte finit par se détacher du flux de fluide, elle présente un volume relativement important. Au contraire, le fluide sortant de la buse 57 est confiné entre deux parois formant un angle plus fort, ce qui fait que l'attraction du fluide l'éloignant de la buse 57 est plus forte. En conséquence, la goutte se détache plus rapidement du flux de fluide, et présente un volume relativement faible.

Les dimensions des chemins de guidage 533 et 534, et des zones de piégeage 5301 et 5302 du piège 530 qui sont gravés dans une des parois de la chambre 50 sont de préférence adaptées aux dimensions des gouttes qui doivent y circuler.

6.10. Mode de réalisation permettant deux mises en contact successives

La figure 10 représente un plan d'un circuit microfluidique 6 selon un cinquième mode de réalisation possible de l'invention. Ce circuit microfluidique 6 est en grande partie identique au circuit microfluidique 1 des figures 1A et 1B. Il comprend ainsi un trou d'alimentation 60 alimentant un canal d'alimentation 61 et une buse de formation des gouttes 62, qui débouche dans une chambre centrale 63. Il comprend également un trou d'alimentation 651 alimentant un canal d'alimentation 661 et une buse de formation des gouttes 671, qui débouche également dans la chambre centrale 63. Les buses 62 et 671, en association avec des pentes adaptées des parois de la chambre 63, permettent chacune la formation de gouttes d'une solution différente. Les gouttes formées sont alors guidées par des chemins de guidage 633 et 634 vers un premier piège 630, dans lequel elles peuvent être mises en contact, puis fusionnées.

Après cette fusion, il est possible de retirer la goutte résultant de la fusion du piège 630, en injectant un flux de fluide porteur, avec une pression prédéterminée, par un trou 641 relié à la chambre 63. Un flux de fluide porteur traverse alors la chambre 63, et est évacué par le trou 642 communiquant avec la chambre 3 à une position opposée au trou 641. Ce flux peut communiquer suffisamment d'énergie à la goutte située dans le piège 630 pour qu'elle quitte ce piège et se déplace vers le trou 642.

Cette goutte arrive alors dans la zone de piégeage 6311 d'un second piège 631 prévu dans la chambre 63. De préférence, les pièges sont conformés pour qu'un flux de fluide porteur suffisant pour faire sortir la goutte du piège 630 soit insuffisant pour faire sortir la même goutte de la zone de piégeage 6311. Ainsi, si le flux de liquide porteur est choisi judicieusement, la goutte résultant de la fusion de gouttes des solutions introduites par les trous 60 et 651 est retenue dans la zone de piégeage 6311.

Cette goutte peut alors être mise en contact avec une goutte d'une troisième solution, introduite dans un trou d'alimentation 652 alimentant un canal d'alimentation 662 et une buse de formation des gouttes 672, qui débouche dans la chambre centrale 63. Cette buses 672, en association avec une pente adaptée

des parois de la chambre 63, permet la formation d'une goutte de cette troisième solution qui est guidée par un chemins de guidage 635 vers la zone de piégeage 6312 du second piège 631. Les gouttes contenues dans les zones de piégeage 631 1 et 6312 sont alors en contact, et peuvent de nouveau être fusionnées.

5 Ainsi, le circuit microfluidique 6 permet qu'une goutte d'une solution introduite par le trou 60 soit mélangée successivement à une goutte d'une solution introduite par le trou 65 1 et à une goutte d'une solution introduite par le trou 65 1.

6.1 1. Mode de réalisation permettant la mise en contact de gouttes d'une première solution avec différentes autres solutions

10 La figure 11 représente un circuit microfluidique 7 selon un sixième mode de réalisation possible de l'invention.

 Ce circuit microfluidique comporte une pluralité de trous d'alimentation 751, 752, 753 et 754, qui sont connectés respectivement à des canaux d'alimentation 761, 762, 763 et 764, alimentant respectivement des buses de
15 formation de gouttes 771, 772, 773 et 774. Chacune de ces buses 771, 772, 773 et 774 débouche sur une même chambre 73 dont les parois présentent des pentes adaptées permettant la formation de gouttes de chacune des solutions traversant les buses 771, 772, 773 et 774. Ces gouttes sont chacune guidées par un chemin de guidage, respectivement 731, 732, 733 et 734, jusqu'à un piège,
20 respectivement 735, 736, 737 et 738.

 Une fois que chacun des pièges 735, 736, 737 et 738 contient une goutte d'une solution différente, il est possible d'amener dans la chambre 73 une pluralité de gouttes d'une autre solution, qui sont portées par un flux de fluide porteur introduit par le trou 741 et s'évacuant par le trou 742. Certaines de ces
25 gouttes sont retenues par les pièges 735, 736, 737 et 738, dans lesquels elles entrent en contact avec les gouttes des solutions introduites dans les trous d'alimentation 751, 752, 753 et 754.

 Le circuit microfluidique selon ce mode de réalisation permet donc de
30 mettre en contact, en vue de les fusionner, des gouttes d'une solution (introduite par le trou 741) avec des gouttes d'une pluralité d'autres solutions (introduits dans les trous d'alimentation 751, 752, 753 et 754).

6.12. Mode de réalisation avec chambre centrale ronde

Les figures 12A et 12B représentent un circuit microfluidique 8 selon un huitième mode de réalisation possible de l'invention.

Ce circuit microfluidique 8 comprend un trou d'alimentation 80 alimentant un canal d'alimentation 81 et une buse de formation des gouttes 82, qui débouche dans une chambre centrale 83. Il comprend également un trou d'alimentation 85 alimentant un canal d'alimentation 86 et une buse de formation des gouttes 87, qui débouche également dans la chambre centrale 83.

La chambre centrale 83 présente, dans ce mode de réalisation, une paroi inférieure plate et une paroi supérieure en forme de cône. Les buses 82 et 87, en association avec la pentes de la parois supérieure de la chambre centrale 83, permettent chacune la formation de gouttes d'une solution différente.

Du fait de cette pente de la paroi supérieure de la chambre centrale 83, les gouttes ainsi produites se déplacent, sous l'effet de la tension de surface, vers la zone située à proximité de la pointe 830 de la surface supérieure conique. Cette zone centrale de la chambre 83 constitue un piège à gouttes, dans laquelle les gouttes des solutions introduites dans les trous 80 et 85 entrent en contact, et peuvent être fusionnées.

Ce circuit microfluidique, dans lequel la forme de la chambre 83 est particulièrement simple, permet donc la mise en contact de gouttes de deux solutions distinctes.

6.13. Mode de réalisation avec des buses de formation de gouttes parallèles

La figure 13 représente un circuit microfluidique 9 selon un neuvième mode de réalisation possible de l'invention.

Ce circuit microfluidique 9 comprend un trou d'alimentation 90 alimentant un canal d'alimentation 91 et une buse de formation des gouttes 92, qui débouche dans une chambre centrale 93. Il comprend également un trou d'alimentation 95 alimentant un canal d'alimentation 96 et une buse de formation des gouttes 97, qui débouche également dans la chambre centrale 93.

L'une des parois de la chambre centrale 93 présente, dans ce mode de

réalisation, une zone inclinée 93 de forme sensiblement triangulaire, qui permet que les parois inférieure et supérieure de la chambre s'écartent en s'éloignant des buses 92 et 97, et en se rapprochant d'un piège 932 prévu dans cette chambre. Les bords 931 1 et 9312 de cette zone inclinée 93, qui la séparent d'une zone plate 933 de la paroi supérieure de la chambre, sont conformés de telle sorte qu'une goutte ne puisse pas passer de la zone inclinée 93 à la zone plate 933 sans augmenter son énergie de surface. Ainsi, les deux gouttes produites dans la chambre 93 sont guidées par la zone inclinée 931 jusqu'au piège 932 où elles entrent en contact, et peuvent être fusionnées.

10 Ce circuit microfluidique permet donc également la mise en contact de gouttes de deux fluides distincts.

Bien évidemment, l'homme du métier peut sans difficultés imaginer d'autres variantes d'un tel circuit microfluidique, sans sortir du cadre de l'invention.

REVENDICATIONS

1. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9), dans lequel sont définis des microcanaux contenant des fluides, ledit circuit comprenant au moins :
- 5 - un premier dispositif de formation de gouttes (20) d'une première solution dans un fluide porteur, comprenant une portion de microcanal parcourue par ladite première solution ;
- des premiers moyens de guidage (133, 333, 433, 533, 633, 731, 732, 733, 734) desdites gouttes (20) vers une zone de stockage dans laquelle
- 10 une desdites gouttes (20) peut être mise en contact avec une goutte (25) d'une seconde solution,
- caractérisé en ce que les parois (131, 531) de ladite portion de microcanal dudit premier dispositif de formation de gouttes (20) s'écartent de façon à détacher des gouttes (20) de ladite première solution sous l'effet de la tension de surface de
- 15 ladite première solution ;
- et en ce que lesdits premiers moyens de guidage (133, 333, 433, 533, 633, 731, 732, 733, 734) comprennent des portions de paroi desdits microcanaux, s'écartant de façon à déplacer lesdites gouttes (20) sous l'effet de la tension de surface de ladite première solution.
- 20 2. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon la revendication 1, caractérisé en ce que ledit premier dispositif de formation de gouttes comprend une buse (12, 32, 42, 52, 62, 771, 772, 773, 774, 82, 92, 97) parcourue par ladite première solution et débouchant dans une chambre (13, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93) dont les parois sont plus écartées que les parois de la buse (12, 32, 42, 52, 62, 771,
- 25 772, 773, 774, 82, 92, 97).
3. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon la revendication 2, caractérisé en ce que les parois de ladite chambre (13, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93) s'écartent les unes des autres en s'éloignant de ladite buse (12, 32, 42, 52, 62, 771, 772, 773, 774, 82, 92, 97).
- 30 4. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon l'une quelconque des revendications 2 et 3, caractérisé en ce que les parois de ladite chambre (13, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93) sont conformées pour définir lesdits moyens de guidage et ladite zone de stockage (130, 330, 430, 530, 630, 735, 736, 737, 738, 83, 932).

5. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que ladite zone de stockage (130, 330, 430, 530, 630, 735, 736, 737, 738, 83, 932) est constituée par une zone (1301, 4301, 5301) de l'un desdits microcanaux dans laquelle une goutte (20) peut présenter une énergie de surface plus faible que dans les zones voisines.
6. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon la revendication 5, caractérisé en ce que ladite zone de stockage (130, 330, 430, 530, 630, 735, 736, 737, 738, 932) est divisée en au moins deux zones de piégeage (1301, 1302, 4301, 4302, 5301, 5302) contiguës pouvant chacune recevoir une goutte (20, 25).
7. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon la revendication 6, caractérisé en ce que ladite zone de stockage (130, 330, 430, 530, 630, 735, 736, 737, 738, 932) est divisée en deux zones de piégeage (1301, 1302, 4301, 4302, 5301, 5302) de forme sensiblement circulaire se recoupant partiellement, de façon à présenter une forme en « 8 ».
8. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il comprend également un second dispositif de formation de gouttes (25) d'une seconde solution dans ledit fluide porteur, comprenant une portion de microcanal parcourue par ladite seconde solution, et des seconds moyens de guidage (134, 4341, 4342, 4343, 4344, 534, 634) des gouttes (25) de ladite seconde solution vers ladite zone de piégeage (1302, 4302, 5302) dans laquelle une desdites gouttes (25) de ladite seconde solution peut être mise en contact avec ladite goutte (20) de la première solution ; les parois (132, 532) de ladite portion de microcanal dudit second dispositif de formation de gouttes s'écartant de façon à détacher une goutte (25) de ladite seconde solution sous l'effet de la tension de surface de ladite seconde solution ; et lesdits seconds moyens de guidage (134, 4341, 4342, 4343, 4344, 534, 634) desdites gouttes (25) comprenant des portions de paroi desdits microcanaux, s'écartant de façon à déplacer les gouttes de ladite seconde solution sous l'effet de la tension de surface de ladite seconde solution.
9. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6) selon la revendication 8 et l'une quelconque des revendications 6 et 7, caractérisé en ce que lesdits premiers moyens de guidage (133, 333, 433, 533, 633) sont conformés pour guider les gouttes (20) de ladite première solution vers une première zone de piégeage

(1301, 4301, 5301) de ladite zone de stockage (130, 330, 430 ,530 ,630), et lesdits second moyens de guidage (134, 4341, 4342, 4343, 4344, 534, 634) sont conformés pour guider les gouttes (25) de ladite seconde solution vers une seconde zone de piégeage (1302, 4302, 5302) de ladite zone de stockage(130, 330, 430 ,530 ,630).

10. Circuit microfluidique (5, 6) selon l'une quelconque des revendications 8 et 9, caractérisé en ce que ledit premier et ledit seconds dispositifs de formation de gouttes (20 ,25) sont conformés pour former des gouttes de taille différente.

11. Circuit microfluidique (5, 6) selon la revendication 10 et l'une quelconque des revendications 6 et 7, caractérisé en ce que ladite zone de stockage (530, 631) présente au moins deux zones de piégeage (5301, 5302, 631 1, 6312) de taille différente, l'une (5301, 631 1) étant de taille adaptée pour recevoir une goutte formée par ledit premier dispositif de formation de gouttes, et l'autre (5302, 6312) étant de taille adaptée pour recevoir une goutte formée par ledit second dispositif de formation de gouttes.

12. Circuit microfluidique (6) selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisé en ce qu'il comprend au moins un troisième dispositif de formation de gouttes d'une troisième solution dans ledit fluide porteur, et des moyens de guidage des gouttes (635) de ladite troisième solution vers ladite zone de stockage (631).

13. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 9) selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend des moyens d'évacuation des gouttes situées dans ladite zone de stockage (130, 330, 430, 530, 630, 631, 735, 736, 737, 738, 932).

14. Circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 9) selon la revendications précédente, caractérisé en ce que lesdits moyens d'évacuation comprennent des moyens de production d'un flux de fluide porteur apte à entraîner lesdites gouttes hors de ladite zone de stockage (130, 330, 430, 530, 630, 631, 735, 736, 737, 738, 932).

15. Circuit micro fluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) dans lequel sont définis des microcanaux aptes à être remplis par des fluides pour former un circuit microfluidique selon l'une quelconque des revendications 1 à 14.

16. Procédé microfluidique de mise en contact de deux gouttes (20, 25) de

solutions différentes, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes, réalisées simultanément ou successivement :

- introduction d'une première solution dans des microcanaux d'un circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9);
 - 5 - détachement d'une première goutte (20) de ladite première solution dans un fluide porteur, causé par l'écartement des parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite première solution ;
 - déplacement de ladite première goutte (20), causé par l'écartement des
10 parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite première goutte (20), jusqu'à une zone (130 ,330, 430, 530, 630, 631, 735, 736, 737, 738, 83, 932) dans laquelle elle est mise en contact avec une seconde goutte d'une seconde solution.
- 17.** Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce qu'il
15 comprend une étape finale de fusion de ladite première goutte (20) et de ladite seconde goutte (25).
- 18.** Procédé microfluidique selon l'une quelconque des revendications 16 et 17, caractérisé en ce qu'il comprend également les étapes suivantes :
- introduction d'une seconde solution dans des microcanaux dudit
20 circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9);
 - détachement d'une seconde goutte (25) de ladite seconde solution dans ledit fluide porteur, causé par l'écartement des parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite seconde solution ;
 - 25 - déplacement de ladite seconde goutte, causé par l'écartement des parois desdits microcanaux, couplé avec les effets de la tension de surface de ladite seconde goutte (25), jusqu'à ladite zone (130 ,330, 430, 530, 630, 631, 735, 736, 737, 738, 83, 932) dans laquelle elle est mise en contact avec ladite première goutte (20).
- 19.** Procédé microfluidique selon l'une quelconque des revendications 16 à 18,
30 caractérisé en ce qu'il est mis en œuvre dans un circuit microfluidique (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) selon l'une quelconque des revendications 1 à 14.

1/8

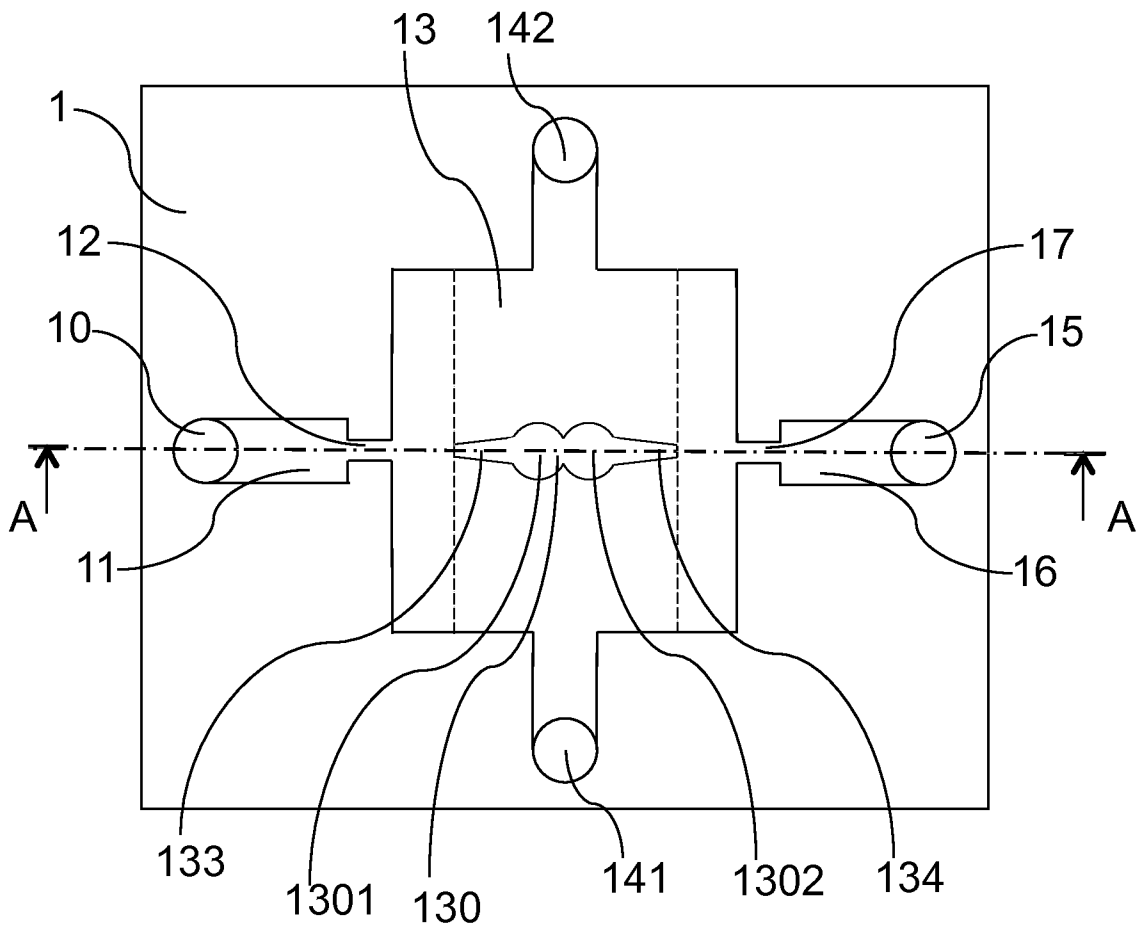


Fig. 1A

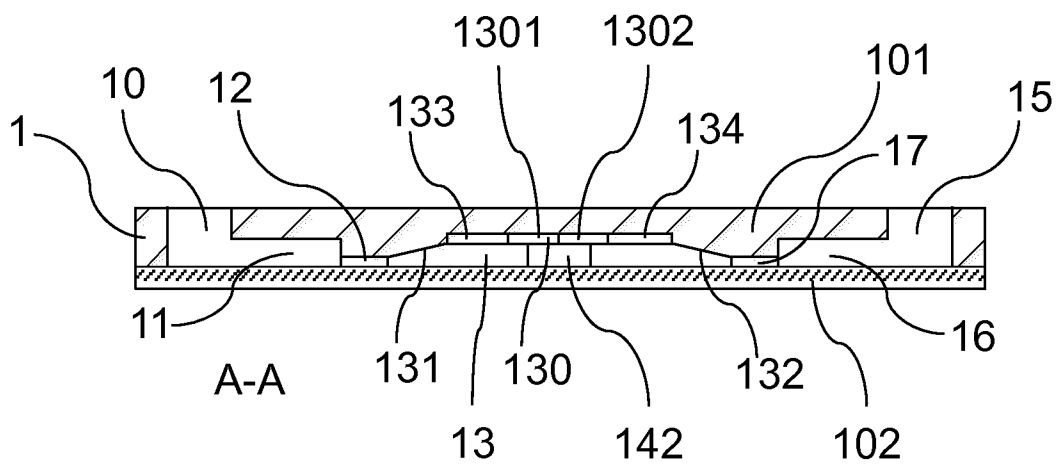


Fig. 1B

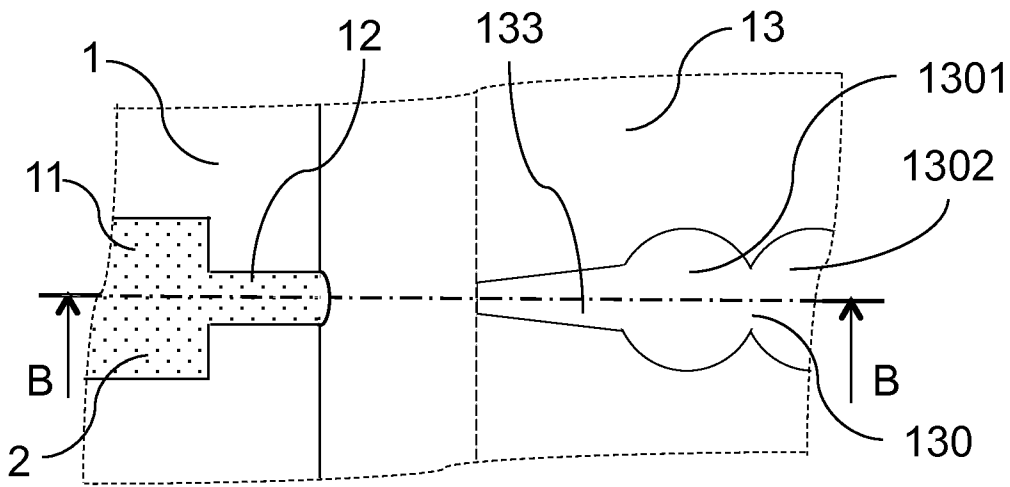


Fig. 2A

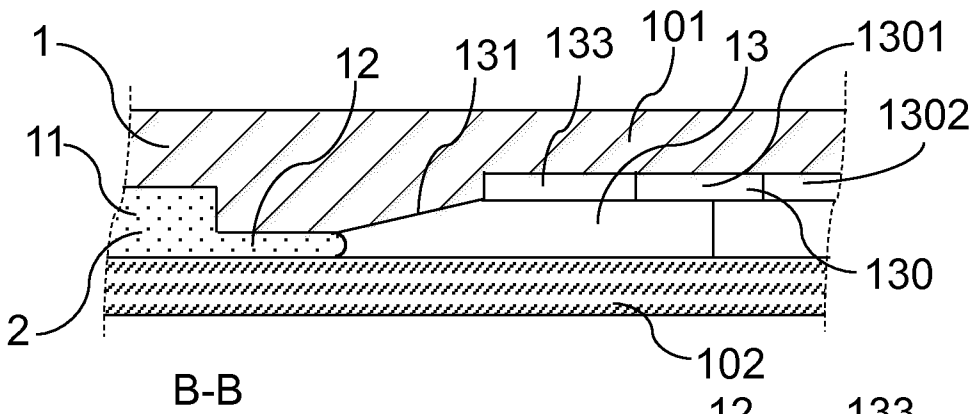


Fig. 2B

Fig. 3A

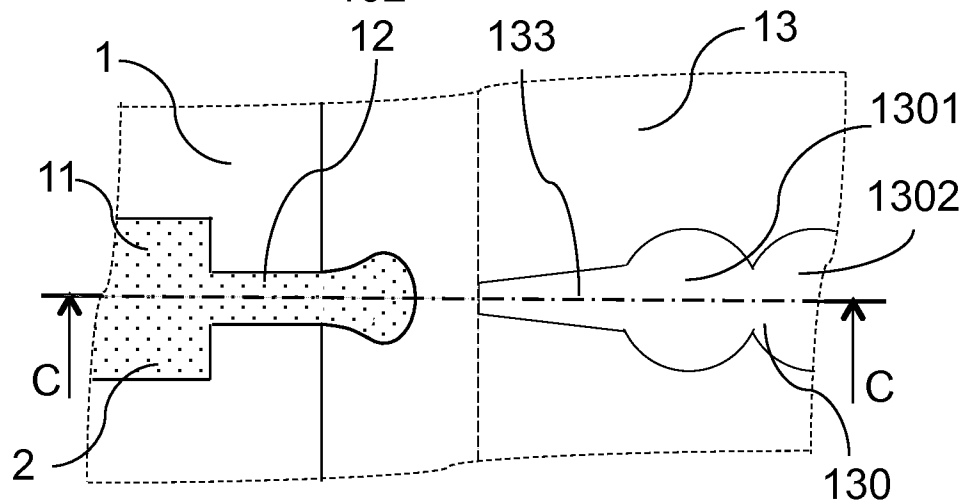
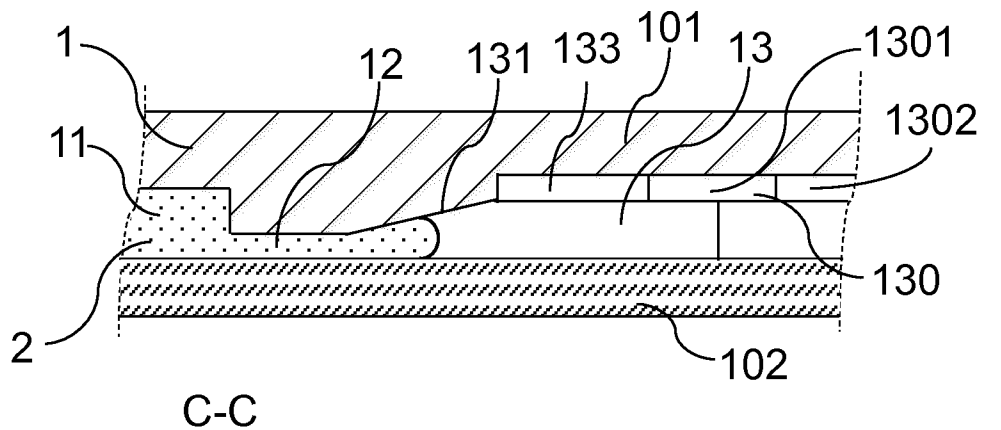


Fig. 3B



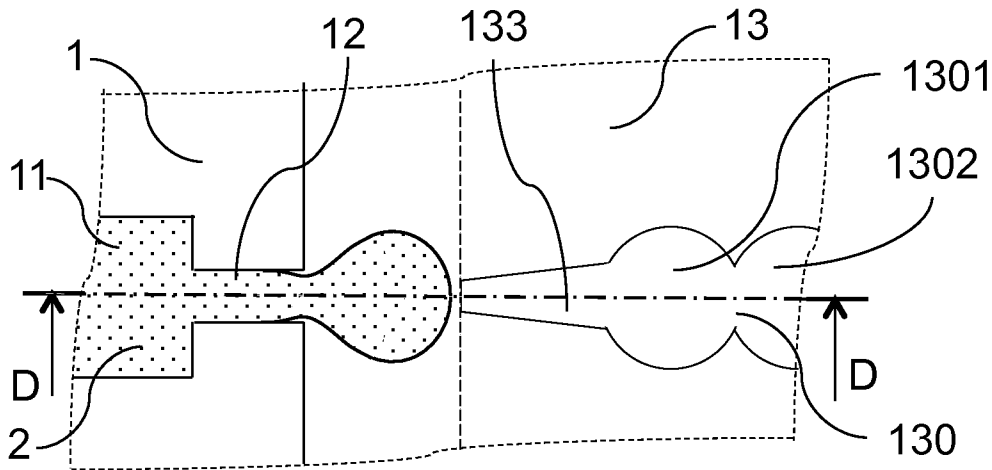


Fig. 4A

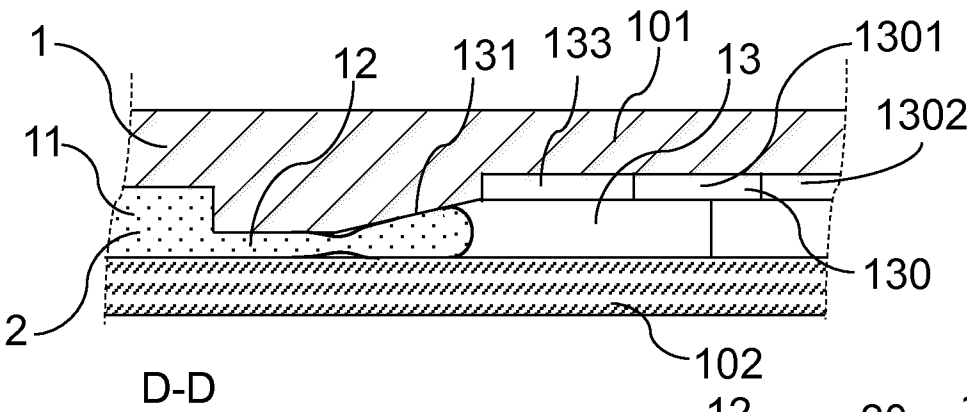


Fig. 4B

Fig. 5A

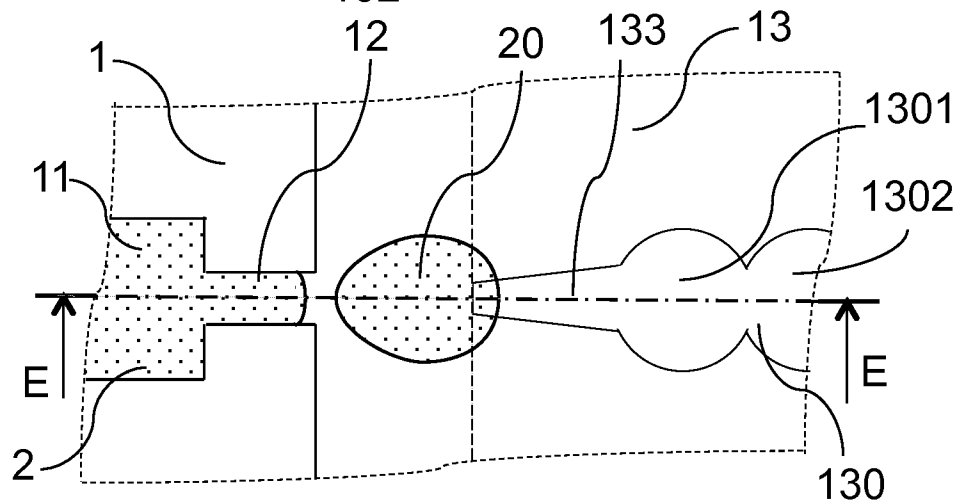


Fig. 5B

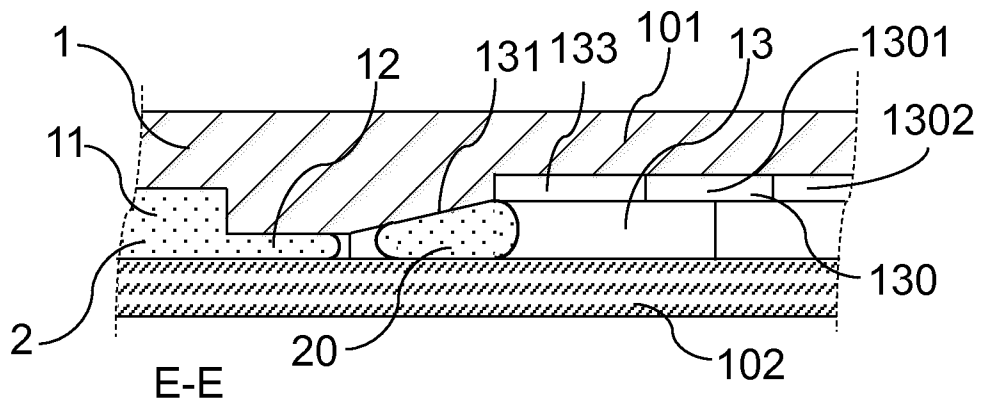


Fig. 6A

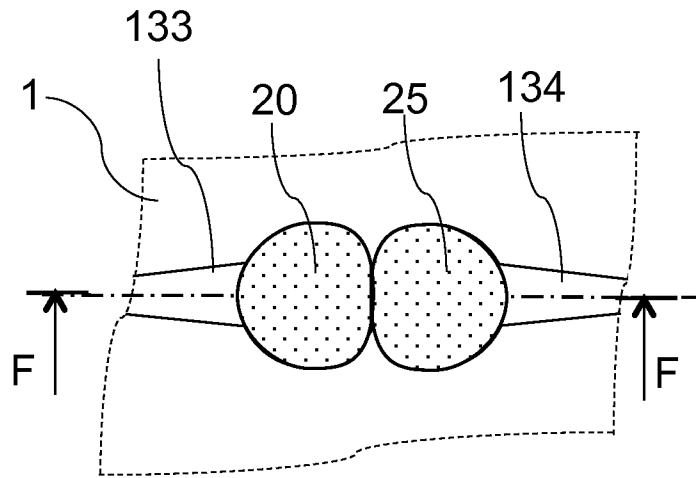


Fig. 6B

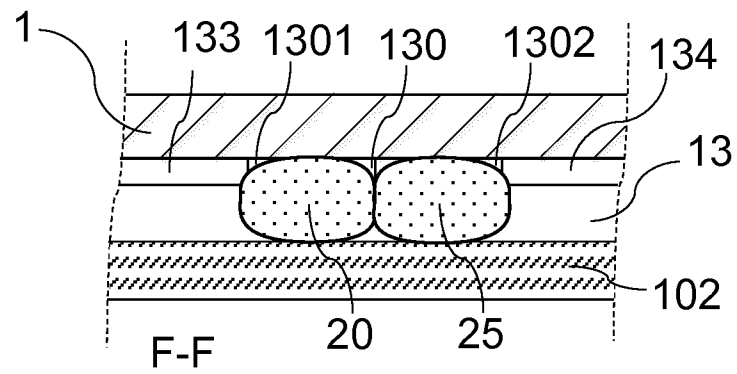
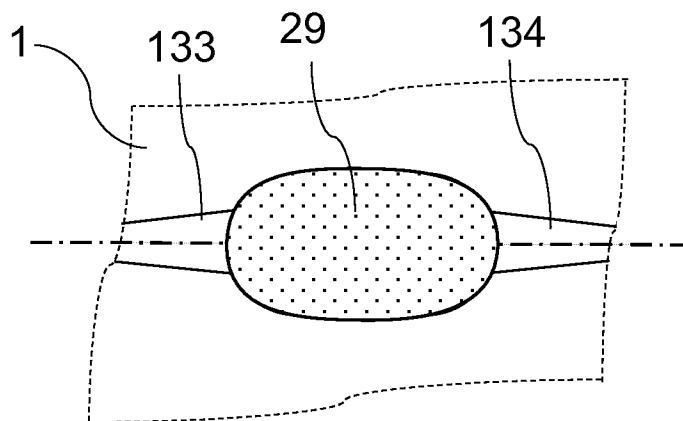


Fig. 6C



5/8

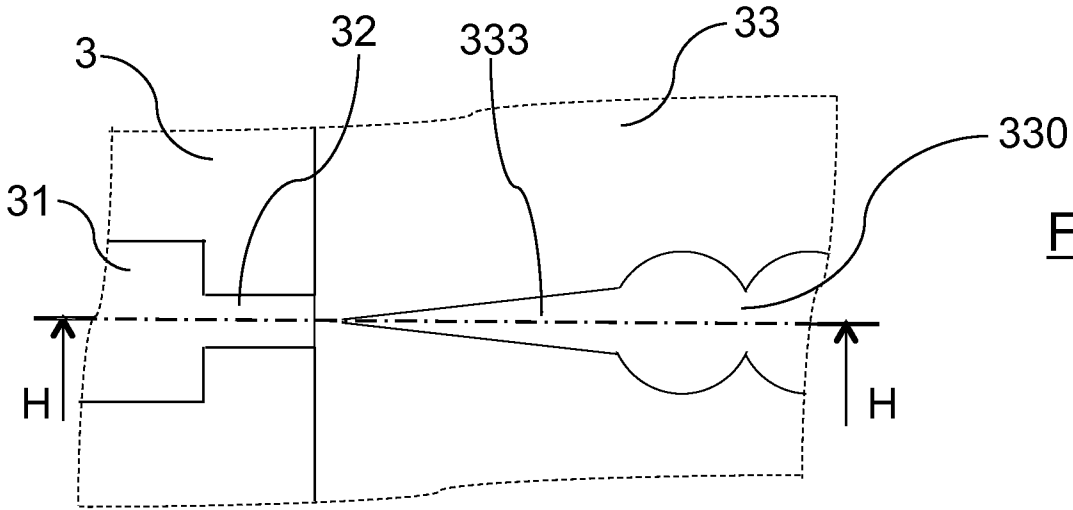


Fig. 7A

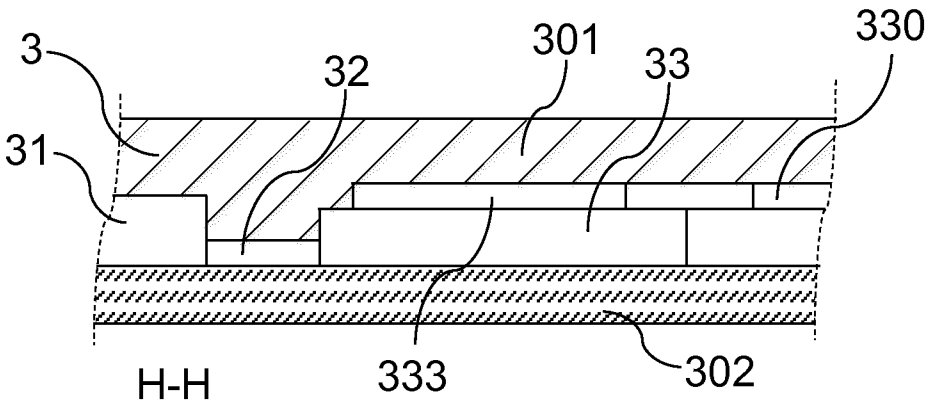


Fig. 7B

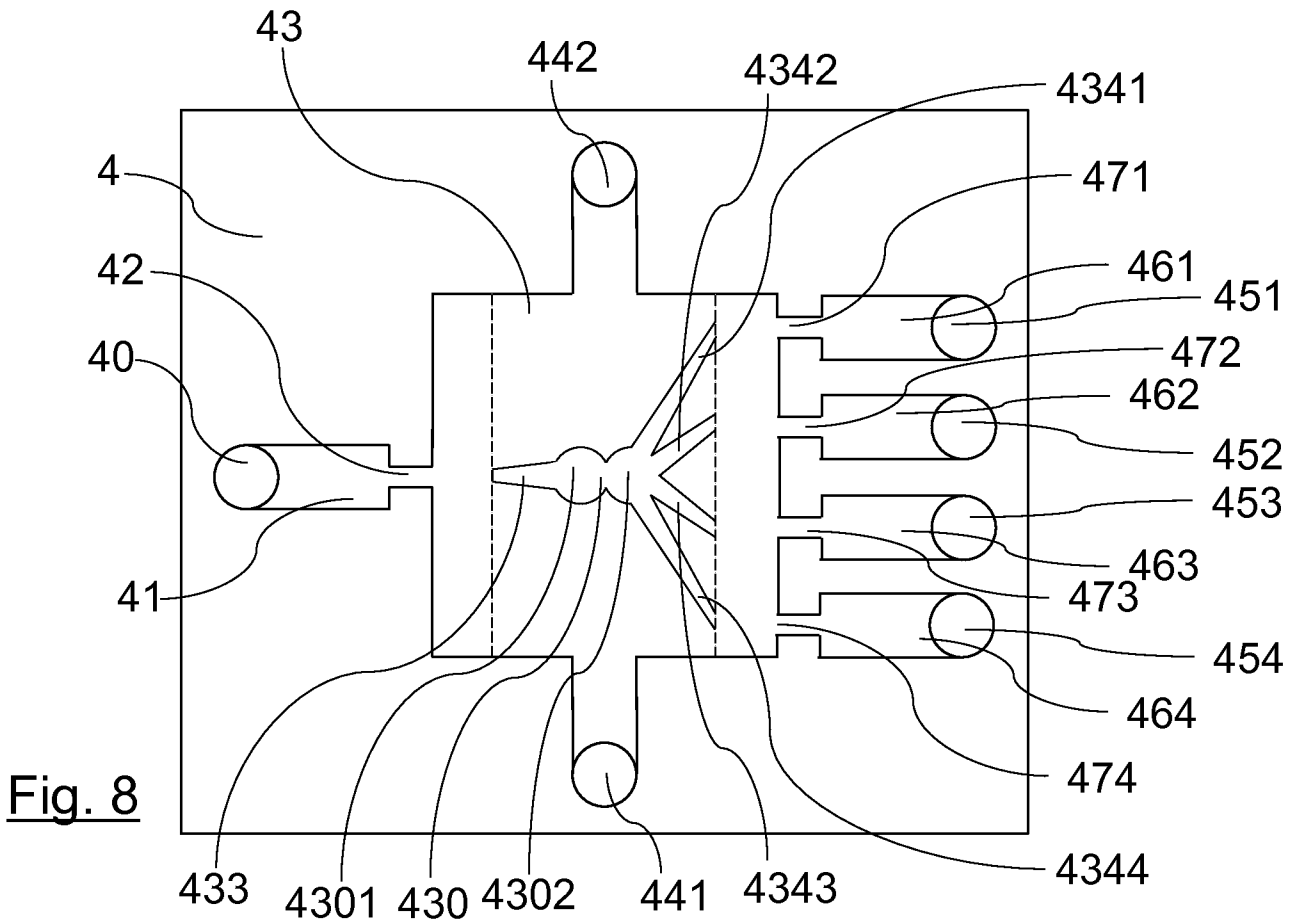


Fig. 8

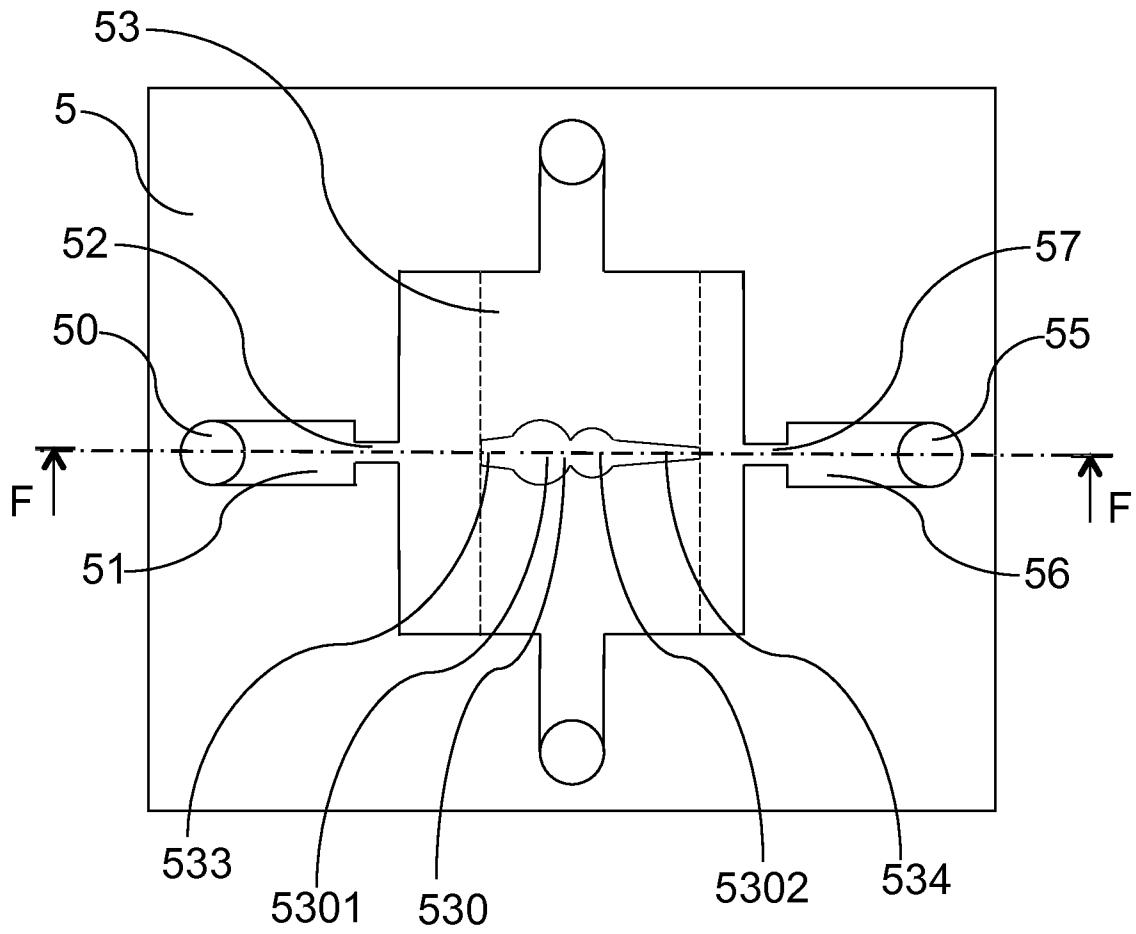


Fig. 9A

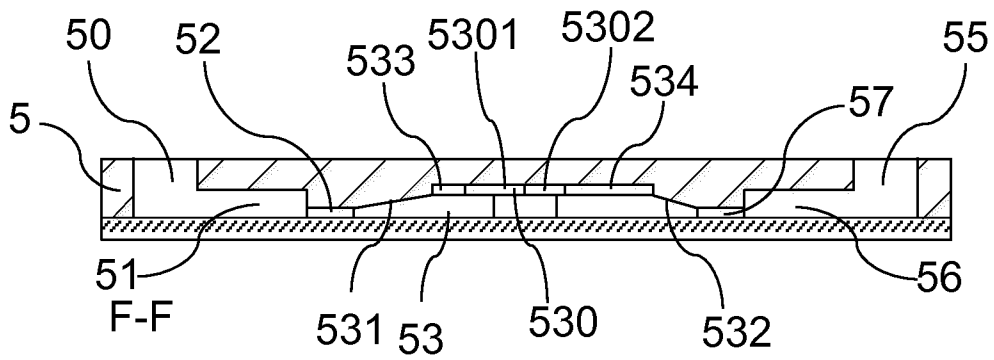


Fig. 9B

7/8

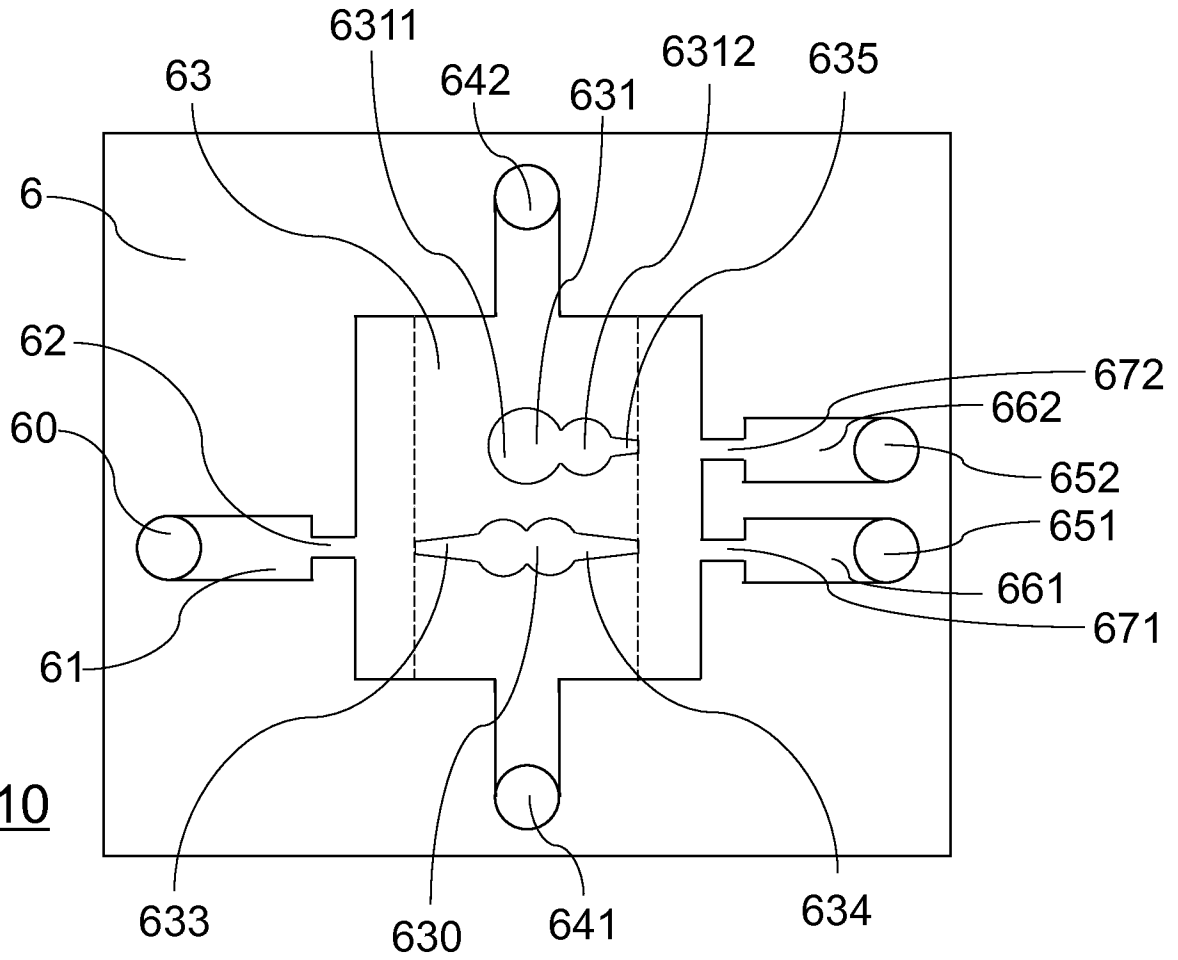


Fig. 10

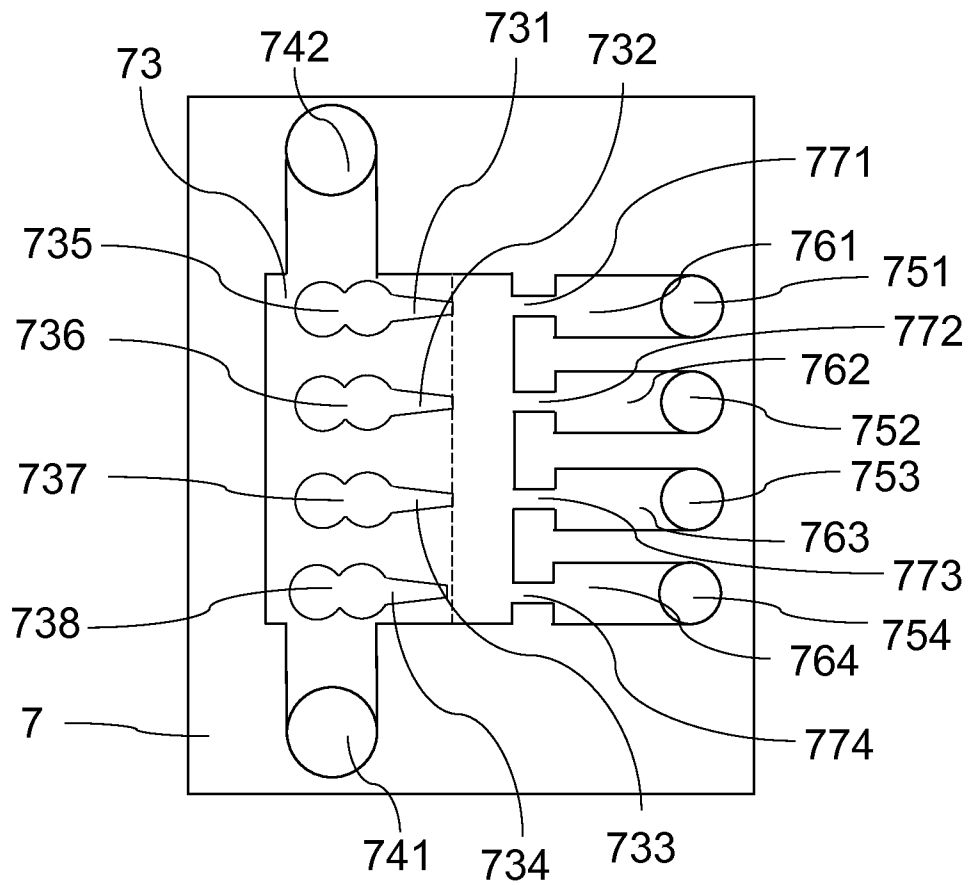


Fig. 11

8/8

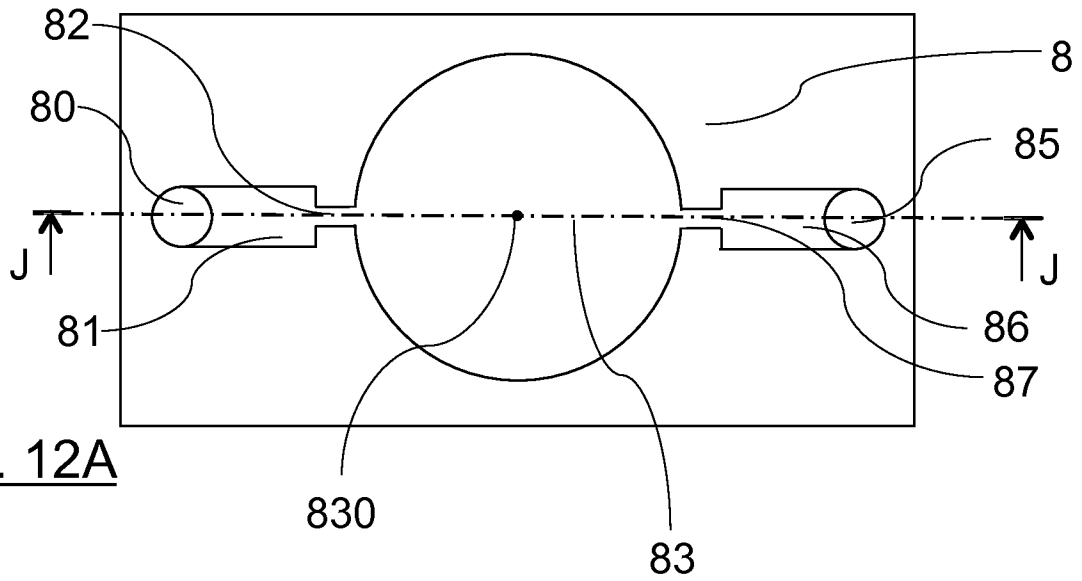


Fig. 12A

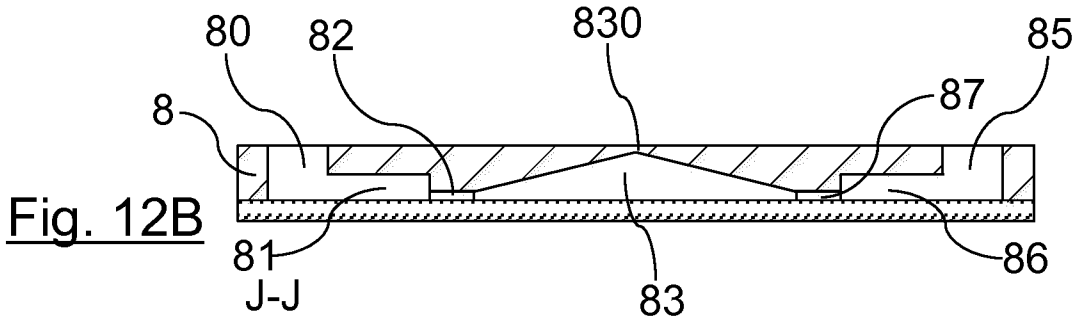


Fig. 12B

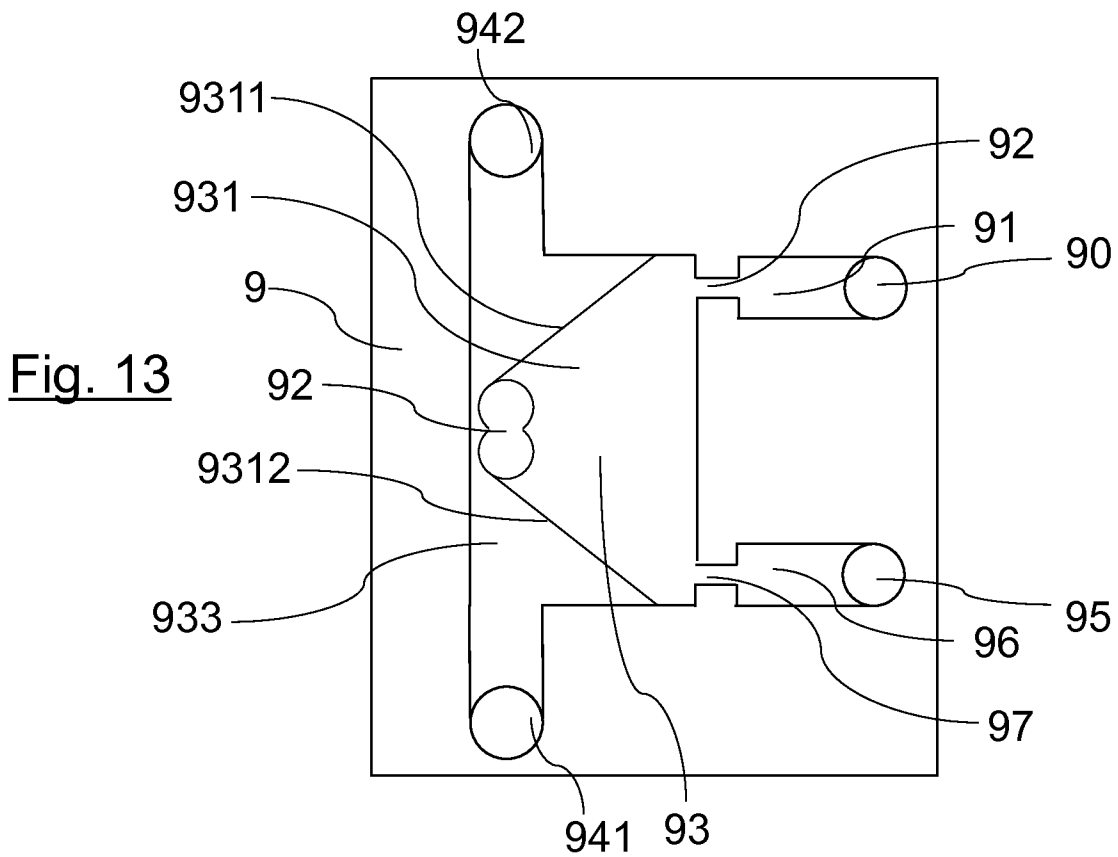


Fig. 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/070967

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. B01F11/00 B01F11/02 B01F13/00 B01F13/10 B01L3/00
 B01F3/08
 ADD. B01F15/02
 According to International Patent Classification (IPC) onto both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification System followed by classification symbols)
 B01F B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 EPO-Internal , WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Huebner A. M. , Abel I C , Huck W. T. S. , Baroud C. N. , Hol l fel der F. : "Moni tori ng a reacti oin at submi 11i second resol uti on in pi col iter vol umes" , , 12 January 2011 (2011-01-12) , XP002698842 , Retri eved from the Internet: URL: http://pubs .acs .org/doi /pdf/10. 1021/ac 103234a [retri eved on 2013-06-14] col umn 4, paragraph 1; figure 1 -----	1-6,8,9 , 13 , 15-19
Y	Wo 2011/121220 AI (ECOLE POLYTECH [FR] ; BAROUD CHARLES [FR] ; DANGLA REMI [FR]) 6 October 2011 (2011-10-06) cited in the applicati on page 9, line 21 - page 12, line 30; figures ----- -/-- -	1-6,8,9 , 13 , 15-19

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Spécial catégories of cited documents :

"A" document defining the général state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other spécial reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 8 November 2013	Date of mailing of the international search report 18/11/2013
--	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Zattoni , Federi co
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/070967

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 2 016 997 AI (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE] ; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 21 January 2009 (2009-01-21) paragraphs [0013] - [0015] -----	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/EP2013/070967

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
Wo 2011121220 AI	06-10-2011	CN 102892704 A	23-01-2013
		EP 2552823 AI	06-02-2013
		FR 2958186 AI	07-10-2011
		JP 2013523431 A	17-06-2013
		US 2013078164 AI	28-03-2013
		Wo 2011121220 AI	06-10-2011
EP 2016997 AI	21-01-2009	AT 494061 T	15-01-2011
		EP 2016997 AI	21-01-2009
		JP 5027070 B2	19-09-2012
		JP 2009025301 A	05-02-2009
		US 2009016932 AI	15-01-2009

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2013/070967

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE	INV. B01F11/00	B01F11/02	B01F13/00	B01F13/10	B01L3/00
	B01F3/08				
ADD.	B01F15/02				

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
B01F B01L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal , WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	Huebner A. M. , Abell C , Huck W. T. S. , Baroud C. N. , Holfel der F. : "Monitori ng a reacti oin at submi 11i second resol uti on in pi col iter vol umes" , 12 janvi er 2011 (2011-01-12) , XP002698842 , Extrai t de l'Internet: URL: http://pubs .acs .org/doi /pdf/10. 1021/ac 103234a [extrai t le 2013-06-14] col onne 4, alinéa 1; figure 1 -----	1-6,8,9 , 13 , 15-19
Y	Wo 2011/121220 Al (ECOLE POLYTECH [FR] ; BAROUD CHARLES [FR] ; DANGLA REMI [FR]) 6 octobre 2011 (2011-10-06) cité dans la demande page 9, ligne 21 - page 12, ligne 30; figures -----	1-6,8,9 , 13 , 15-19

<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe
--	--

* Catégories spéciales de documents cités:

<p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p>	<p>"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p>
---	--

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
8 novembre 2013	18/11/2013

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Zattoni , Federi co
--	--

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>EP 2 016 997 A1 (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 21 janvier 2009 (2009-01-21) alinéas [0013] - [0015] -----</p>	1-19

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2013/070967

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
Wo 2011121220 AI	06-10-2011	CN 102892704 A	23-01-2013
		EP 2552823 AI	06-02-2013
		FR 2958186 AI	07-10-2011
		JP 2013523431 A	17-06-2013
		US 2013078164 AI	28-03-2013
		Wo 2011121220 AI	06-10-2011
		-----	-----
EP 2016997 AI	21-01-2009	AT 494061 T	15-01-2011
		EP 2016997 AI	21-01-2009
		JP 5027070 B2	19-09-2012
		JP 2009025301 A	05-02-2009
		US 2009016932 AI	15-01-2009
-----	-----	-----	-----