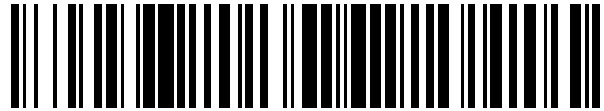


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 578 778**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

F04B 19/00 (2006.01)

F16K 99/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2010 E 10771203 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.05.2016 EP 2490812**

54 Título: **Cartucho microfluídico con placa de interfaz neumática paralela**

30 Prioridad:

21.10.2009 EP 09173589

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.08.2016

73 Titular/es:

**BIOCARTIS NV (100.0%)
Generaal De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen, BE**

72 Inventor/es:

**WIMBERGER-FRIEDL, REINHOLD;
PENTERMAN, ROEL;
VAN AMERONGEN, HENDRIK, HALLING;
LORING, THEODORUS, ANTONIUS, JOHANNES y
VAN UDEN, MARTIJN, JOCHEM**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 578 778 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Cartucho microfluídico con placa de interfaz neumática paralela

Campo de la invención

5 La invención se refiere a un accionamiento de un fluido en cartuchos microfluídicos. La invención se refiere especialmente a un cartucho microfluídico para ser insertado en una placa de interfaz neumática paralela de un instrumento neumático, una placa de interfaz para interactuar con un cartucho microfluídico y entre un instrumento neumático, un sistema para el accionamiento de un fluido dentro de un cartucho microfluídico que comprende dicho un cartucho y dicha una placa de interfaz y se refiere a un instrumento neumático.

Antecedentes de la invención

10 Los biosensores se usan para la detección de moléculas en muestras biológicas, por ejemplo proteínas o ADN, para aplicaciones de diagnóstico. También se desea detectar drogas, terapéuticas o de abuso, en sangre, orina o saliva. Dichos ensayos se desarrollan para ser usados en muchos contextos y entornos diferentes, por ejemplo, en el punto de atención para aplicaciones médicas, o en cualquier sitio deseado para las drogas de abuso, por ejemplo en el arcén de una carretera. En todos los casos, se requiere un dispositivo robusto, fiable y sensible, que debe ser también de bajo
15 coste ya que debe ser desechado después de la medición.

La realización de dicho un ensayo bioquímico requiere un cierto grado de manipulación de fluidos, al menos el fluido de muestra debe ser introducido en el dispositivo de detección con el fin de permitir la unión de las moléculas diana a la superficie del sensor. Dependiendo del tipo de ensayo, se diseñan sistemas microfluídicos más o menos complicados. Debido a que la muestra es contaminante, no debe entrar en contacto con el instrumento y debe ser almacenada, de
20 manera segura, en el interior del cartucho durante y después de la medición.

Recientemente, se han desarrollado sistemas microfluídicos bioquímicos completamente integrados o sistemas laboratorio en un chip. Un problema en estos sistemas microfluídicos es la manipulación de los fluidos desde y a las diferentes cámaras de reacción, para lo que se necesitan micro actuadores tales como bombas y válvulas. El accionamiento de las bombas y las válvulas puede realizarse de muchas maneras. Dependiendo de la aplicación, por
25 ejemplo el tipo de ensayo, los requisitos de rendimiento y los requisitos de coste, el accionamiento del fluido para la disolución de los reactivos, la incubación, la unión y el lavado, como un ejemplo, se implementa en diferentes maneras. Existe un compromiso entre el grado de control y la simplicidad, en el que la simplicidad puede ser identificada con bajos costes. O bien el fluido es accionado directamente mediante medición mecánica con pistones o bien el fluido no es accionado sino que es impulsado por fuerzas capilares, el denominado accionamiento pasivo.

30 Esta última es una solución rentable, pero no permite la inversión del flujo, el caudal es limitado y no es constante con la distancia y, más importante, depende de la viscosidad y tensión superficial del fluido. Un cambio en las características de flujo requeridas debe ser implementado en 'hardware' que sea desechable lo que hace que el sistema sea menos flexible. Por otra parte, el accionamiento mecánico es muy flexible pero requiere contacto físico, lo que crea problemas con la vida operativa del instrumento y con la contaminación, es decir, problemas de limpieza.

35 Además, el documento US 5 863 801 B1 proporciona un ejemplo de un cartucho microfluídico de la técnica anterior.

Por lo tanto, puede existir una necesidad de una tecnología de accionamiento de fluido alternativa, de bajo coste, en sistemas microfluídicos, en particular para productos médicos desechables, tales como biosensores.

Sumario de la invención

Un objeto de la invención puede ser proporcionar un accionamiento de fluido mejorado en cartuchos microfluídicos.

40 De manera similar, las realizaciones descritas se refieren al cartucho microfluídico, a la placa de interfaz neumática, en el que el sistema comprende un cartucho microfluídico y una placa de interfaz neumática, y al instrumento neumático. Pueden surgir efectos sinérgicos a partir de diferentes combinaciones de las realizaciones aunque podrían no describirse en detalle.

45 Según una primera realización de la presente invención, se proporciona un cartucho microfluídico para ser colocado sobre una placa de interfaz neumática paralela de un instrumento neumático. El cartucho comprende un canal de fluido tridimensional en el que un fluido debe ser transportado mediante el bombeo neumático de un instrumento neumático. Además, el cartucho microfluídico comprende una membrana flexible, en el que la membrana flexible abarca un plano y en el que la membrana flexible construye una superficie exterior del cartucho. Además, el canal de fluido tridimensional está definido espacialmente en tres dimensiones por las paredes internas del cartucho y por la membrana flexible, en el
50 que la membrana flexible está en un estado fundamental cuando no se aplica presión o vacío a la membrana flexible. La membrana flexible puede ser desviada neumáticamente desde el estado fundamental perpendicular al plano de la membrana flexible en dos direcciones cuando el cartucho está colocado sobre la placa de interfaz neumática paralela.

En otras palabras, el fluido no es transportado sobre una superficie plana, sino que es movido a lo largo del canal de fluido tridimensional.

Además, la membrana flexible puede ser desviada neumáticamente en las zonas que son parte de la superficie exterior del cartucho. En otras palabras, en una primera región, la membrana flexible abarca el canal de fluido, cuya primera región es parte de la superficie exterior del cartucho. Según esta realización ejemplar, la membrana flexible puede extenderse adicionalmente en una segunda región debajo de la superficie exterior del cartucho, de manera que la membrana no es accesible desde el exterior del cartucho en esa segunda región.

Además, el "estado fundamental de la membrana flexible" describe la situación en la que no se aplica ni presión ni vacío a la membrana flexible. Partiendo de esta situación, la membrana flexible puede desviarse hacia la parte interna del cartucho y puede desviarse también alejándose del cartucho. Esto puede observarse, por ejemplo, en la Fig. 1 en la que una desviación hacia arriba y hacia abajo de la membrana flexible en diferentes posiciones a lo largo de la membrana conduce a un transporte de líquido deseado. En otras palabras, la membrana flexible es desviable en dos direcciones, concretamente, hacia el canal de fluido y alejándose del canal de fluido. Sin embargo, esto no excluye que la membrana flexible pueda ser pre-tensada o pre-desviada.

El cartucho, que en esta y cualquier otra realización puede ser por ejemplo un cartucho desechable, permite el accionamiento neumático que es llevado a cabo mediante una interconexión neumática reversible entre el instrumento neumático y el cartucho, cuya interconexión está formada por la membrana flexible. Los accionamientos neumáticos se integran en el instrumento para una solución de bajo coste y fiable del cartucho. El accionamiento del fluido que está contenido en el canal de fluido dentro del cartucho se consigue mediante la desviación de la membrana flexible que puede estar fijada a la superficie principal del cartucho. De esta manera, cuando el cartucho está fijado a o insertado en la placa de interfaz neumática, la membrana flexible del cartucho y las partes de la placa de interfaz neumática forman compartimentos. La presión en estos compartimentos, cuya presión puede ser generada por el instrumento neumático separado, determina la desviación de la membrana flexible que, a su vez, acciona el fluido a través del cual se causa un movimiento.

Este cartucho microfluídico aprovecha la alta energía y el gran recorrido del accionamiento neumático mientras que, al mismo tiempo, mantiene el cartucho simple y a bajo coste y permite una introducción fácil de otro transporte físico a través de la placa de interfaz, como el calor o la vibración acústica.

Además, pueden integrarse fácilmente un gran número de actuadores en la placa de interfaz neumática plana, ya que no se requiere ninguna fijación individual, tal como tubos, para el accionamiento neumático.

En otras palabras, debido a que no hay presentes elementos de tubo neumáticos ni elementos generadores de presión o de vacío en el cartucho microfluídico ni en la placa de interfaz de interconexión correspondiente, pueden integrarse fácilmente un gran número de actuadores en la placa de interfaz. En otras palabras, se proporciona un cartucho microfluídico plano que, en conexión con una placa de interfaz neumática plana, permite un accionamiento neumático conveniente y fiable de los fluidos en el cartucho sin necesidad de tubos dentro del cartucho. Además, esto puede extenderse fácilmente a un gran número de elementos neumáticos, y puede simplificarse además la integración de placas de interfaz térmicas, acústicas o de otro tipo en el mismo plano.

En esta y cada una de las demás realizaciones de la invención, la expresión elementos neumáticos describe posiciones en las que la membrana flexible es accionada neumáticamente, es decir, válvulas y bombas o más generalmente, áreas de interacción. Una ventaja de la presente invención es también la flexibilidad para cambiar de posición y la posibilidad de tener la posición en estrecha proximidad.

Puede considerarse como una característica esencial del cartucho microfluídico proporcionado la realización del accionamiento de los fluidos en el cartucho mediante un instrumento neumático. Es importante el hecho de que el accionamiento neumático haga uso de una membrana de cartucho flexible y que las cámaras neumáticas debajo de la membrana estén montadas de manera reversible. Esto significa que el plano de separación entre el cartucho y el instrumento neumático atraviesa las cámaras neumáticas.

En otras palabras, cuando el cartucho es retirado de los canales de suministro neumático, los canales neumáticos y las cámaras neumáticas están abiertos. Las cámaras debajo de la membrana accionada están formadas por la combinación del cartucho y la placa de interfaz en el instrumento. Cuando el cartucho está levantado, es posible que la presión ya no se transfiera más a la membrana, en contraste con el tubo, que no se usa para el accionamiento de la membrana según la presente invención y cuyo tubo está fijado mecánicamente.

El cartucho microfluídico puede ser usado en combinación con un instrumento neumático, que contiene canales de suministro para el accionamiento neumático y que contiene una placa de interfaz sustancialmente plana hacia el cartucho microfluídico que contiene los canales de fluido. Los canales de fluido están confinados por una capa flexible que puede ser accionada una vez colocado el cartucho en el instrumento. Al mover la membrana flexible hacia arriba y abajo, se desplaza un volumen en el interior del cartucho y la membrana puede cerrar los canales para permitir una

función de la válvula dentro del canal de fluido.

El recorrido de la deflexión de la membrana está basado en la altura entre la posición de la membrana cuando toca la placa de interfaz neumática del instrumento neumático, tal como puede verse por ejemplo en la Fig. 1 siguiente, y/o la posición cuando toca la cámara de sustrato sobre la membrana en el cartucho (características de control).

5 En otras palabras, el cartucho microfluídico comprende una membrana flexible que cubre una trayectoria de fluido. De esta manera, la membrana flexible cubre el sistema de canal de fluido total que puede contener varias trayectorias de fluido. No es necesario que sea la superficie exterior completa en todas partes. Pero también es posible una realización en la que la membrana flexible conforme toda la superficie exterior del cartucho. Sin embargo, la membrana flexible está siempre fijada al cartucho. Después de la inserción del cartucho en un instrumento neumático, la membrana es desviada localmente por los elementos neumáticos en el instrumento de manera que el fluido es movido a lo largo de la trayectoria de fluido dentro del cartucho. La membrana es retraída localmente lejos de o es empujada hacia el cartucho, creando un volumen variable en la trayectoria de fluido y debajo de la membrana, con cuyo cambio de volumen el fluido es transportado a través del cartucho. Además, el cartucho puede comprender paredes que, junto con la membrana flexible, definen un volumen variable mediante el cual puede ser transportado el fluido. Por lo tanto, la invención permite un transporte de fluido en el cartucho microfluídico usando una placa de interfaz relativamente simple entre el cartucho y el instrumento para procesar el cartucho. En lugar del tubo neumático de interfaz, la placa de interfaz entre el cartucho y el instrumento está formada por una membrana flexible que es desviada por el instrumento de manera que el fluido es transportado al interior del cartucho.

20 Debido a que el cartucho está libre de elementos neumáticos y eléctricos, puede ser producido de una manera barata y fiable.

La membrana flexible, en combinación con una placa de interfaz, conduce a la posibilidad de fijar el cartucho sobre la placa de interfaz sólo mediante fuerzas neumáticas.

25 Por lo tanto, es posible que no se necesiten otros medios de fijación, tales como por ejemplo, tornillos y similares, además de las fuerzas neumáticas generadas por el instrumento neumático. Por ello, la placa de interfaz neumática se denomina interfaz paralela. En otras palabras, se crea una desviación de la membrana flexible en el sistema neumático cerrado que comprende el cartucho y la placa de interfaz y, a su vez, la desviación conduce a la fijación. La retracción de la membrana crea la fijación.

30 Según otra realización ejemplar de la invención, el cartucho tiene una forma sustancialmente cuboidal con seis superficies exteriores principales, en la que la membrana flexible forma una de las superficies principales del cartucho y en la que la membrana flexible abarca por completo el canal de fluido.

Esta realización ejemplar puede verse por ejemplo en la Fig. 2a, así, como por ejemplo, en la Fig. 8.

35 Según otra realización ejemplar de la invención, el canal de fluido y la membrana flexible se disponen entre sí de manera que al desviar la membrana flexible en varios puntos a lo largo de la membrana flexible mediante bombeo neumático del instrumento neumático, el fluido es puede ser transportado desde una parte inicial del canal de fluido a una parte final del canal de fluido.

40 De esta manera, las expresiones "bombeo neumático" y "accionamiento neumático" comprenden la aplicación de sobrepresión y/o presión negativa a la superficie de la membrana flexible con el fin de fijar, en primer lugar, el cartucho microfluídico en la placa de interfaz y, de esta manera, en el instrumento neumático y, en segundo lugar, de desviar el la membrana flexible del cartucho de manera que se consiga el transporte del fluido dentro del canal de fluido en el cartucho, según se desea. En otras palabras, la membrana puede ser retraída localmente desde o puede ser empujada hacia el lado interior del cartucho microfluídico, lo que crea un volumen variable en el canal de fluido y también debajo de la membrana flexible.

Mediante la creación de dicho un movimiento de la membrana flexible mediante bombeo neumático, se transporta el fluido en el cartucho.

45 Según otra realización ejemplar de la invención, la membrana puede ser desviada mediante bombeo neumático del instrumento neumático de manera que la membrana cierre el canal de fluido para proporcionar una función de válvula.

50 En otras palabras, combinando el cartucho microfluídico con una placa de interfaz neumática y un instrumento neumático, puede aplicarse una sobrepresión y/o una presión negativa a la membrana de manera que la trayectoria de fluido sea cerrada por la membrana desviada. En otras palabras, la trayectoria de fluido puede ser dividida espacialmente en diferentes secciones, en la que una primera sección puede contener fluido y una segunda sección puede estar libre de fluido. Estas secciones pueden ser espacialmente separables al proporcionar esta función de válvula.

En caso de que la función de válvula se realice de manera que la membrana cierra un canal neumático de la placa de interfaz, es decir, la membrana es retraída hacia la placa, entonces esto se usa también para fijar el cartucho en la placa de interfaz, tal como se describe en más detalle más adelante.

5 Según otra realización ejemplar de la invención, el cartucho está libre de elementos de control neumáticos y libre de elementos de tubo neumáticos.

En otras palabras, en comparación con el estado de la técnica, la invención permite una separación física beneficiosa entre el cartucho microfluídico y el instrumento, cuyo instrumento comprende la placa de interfaz neumática con todos los elementos eléctricos y de generación neumática y de control necesarios. El cartucho puede ser intercambiado de manera rápida y fácil, ya que no se necesitan tornillos o medios de fijación.

10 Según esta realización ejemplar de la invención, la funcionalidad de generación y aplicación de sobrepresión, presión negativa o vacío es retirada totalmente del cartucho y puede ser colocada por ejemplo en un instrumento neumático externo que tiene una placa de interfaz neumática. Esto puede reducir los costos del cartucho, lo cual es extremadamente importante para un sistema de cartucho microfluídico desechable. Además, puede aumentarse la fiabilidad del cartucho, debido a la menor complejidad técnica presente.

15 Según otra realización ejemplar de la invención, el cartucho microfluídico comprende características de control, en el que las características de control están adaptadas para controlar el recorrido de accionamiento de la membrana flexible durante el bombeo neumático por el instrumento neumático.

Además, las características de control de esta y todas las demás realizaciones de la invención están adaptadas también para mejorar la función de válvula que se genera cuando se desvía la membrana flexible.

20 Tal como puede observarse por ejemplo en las Figs. 1 y 2, estas características de control determinan en ciertos puntos a lo largo del canal de fluido una cierta distancia entre la membrana flexible y el límite espacial opuesto del canal de fluido. En otras palabras, estas características de control abarcan el canal de fluido. Mediante la combinación del cartucho con una placa de interfaz neumática, tal como se ha descrito anteriormente y se describe a continuación y se muestra por ejemplo en la Fig. 1, se proporciona un relieve de características de control sobre y debajo de la membrana flexible, con el que pueden causarse las desviaciones específicas deseadas de la membrana mediante la aplicación de sobrepresión o presión negativa sobre la membrana flexible a través de las cámaras neumáticas en la placa de interfaz.

25 Además, según otra realización ejemplar de la invención, es posible que los marcos de goma sean sólo una parte del cartucho microfluídico. Entonces, pueden ser colocados, por ejemplo, en el cartucho microfluídico. Esto puede combinarse, por ejemplo, con una placa de interfaz plana.

30 Según otra realización ejemplar de la invención, puede haber presentes tanto marcos como rebajes de goma en el cartucho y la placa de interfaz.

35 Según otra realización ejemplar de la invención, se proporciona una placa de interfaz neumática para interactuar con un cartucho microfluídico según una de las realizaciones anteriores y entre un instrumento neumático para la aplicación de bombeo neumático en el cartucho microfluídico. La placa de interfaz neumática puede ser insertable entre un cartucho microfluídico según una de las realizaciones anteriores y entre un instrumento neumático para la aplicación de bombeo neumático en el cartucho microfluídico. Una placa de interfaz insertable permite el uso de diferentes placas de interfaz con un único instrumento neumático, lo que resulta en una mayor flexibilidad cuando se usan diferentes placas de interfaz de diseños diferentes. La placa de interfaz neumática comprende un lado del instrumento, que está orientado hacia el instrumento cuando la placa de interfaz es insertada en el instrumento. Además, la placa de interfaz comprende un lado del cartucho, que está orientado hacia el cartucho cuando el cartucho es insertado en la placa de interfaz. La placa de interfaz comprende un canal neumático para conectar un fluido neumático del instrumento neumático desde el lado del instrumento al lado del cartucho para permitir el accionamiento neumático de la membrana flexible del cartucho microfluídico, en el que el lado del cartucho tiene al menos un rebaje para retraer la membrana flexible del cartucho.

40 En otras palabras el lado del cartucho de la placa de interfaz está adaptado para recibir el cartucho de manera que se forme un sistema neumático cerrado que, en primer lugar, permite la fijación del cartucho por medio de fuerzas neumáticas y, en segundo lugar, permite el bombeo neumático. De esta manera, no se necesitan tornillos u otros medios de fijación para conectar el cartucho a la placa de interfaz y, de esta manera, para conectarse al instrumento.

50 Es por eso por lo que la placa de interfaz neumática se denomina interfaz paralela. Además, el cartucho puede ser retirado simplemente deteniendo la presión negativa en el cartucho.

De esta manera, debe entenderse que la retracción permite la desviación de la membrana flexible. Además, el rebaje puede ser también parte del cartucho.

La placa de interfaz neumática de esta y todas las demás realizaciones de la invención puede ser parte del cartucho microfluídico pero puede ser parte también de un instrumento neumático.

5 Cabe señalar explícitamente que la realización siguiente y las realizaciones descritas anteriormente de la placa de interfaz neumática pueden ser parte también del sistema que comprende un cartucho microfluídico tal como se ha descrito anteriormente y se describe más adelante y dicha una placa de interfaz neumática.

Cabe señalar explícitamente que la placa de interfaz neumática puede ser un elemento físico sustancialmente único que debe ser integrado en un instrumento neumático. Además, es posible que las placas de interfaz neumática descritas anteriormente y más adelante sean un componente sustancial de dicho un instrumento neumático y puedan estar integradas completamente en dicho un instrumento neumático.

10 La combinación de la placa de interfaz neumática y un cartucho microfluídico permite el montaje de las cámaras neumáticas debajo de la membrana, tal como puede observarse por ejemplo en la Fig. 1. En otras palabras, el plano de separación entre el cartucho, que podría ser un cartucho desechable, y el instrumento atraviesa las cámaras neumáticas.

15 Estas cámaras neumáticas pueden ser utilizadas también para mantener el cartucho en la placa de interfaz para asegurar un buen contacto mecánico y térmico entre la placa de interfaz y el cartucho, lo cual podría ser crucial para diferentes funciones, tales como calentamiento o accionamiento por ultrasonidos del fluido.

20 Además, un gran número de zonas o elementos de interacción, tales como puntos de accionamiento neumáticos o áreas de transferencia de calor u otros, pueden ser integrados en dicha una combinación de un cartucho microfluídico, y el instrumento neumático y una placa de interfaz neumática, ya que no requieren espacio adicional debido a que se colocan debajo del actuador en el cartucho microfluídico. De esta manera, la descripción del espacio adicional que se evita según esta realización ejemplar de la invención se compara con una situación en la que habría una conexión de tubo en alguna parte y un canal de suministro separado hacia la posición donde debe producirse el accionamiento neumático. Sin embargo, según la presente invención, las conexiones neumáticas son meramente a través de los canales neumáticos en la placa de interfaz, de manera que no hay necesidad de espacio adicional.

25 Según otra realización ejemplar de la invención, al menos uno de entre el lado del cartucho y el lado del instrumento de la placa de interfaz neumática es sustancialmente plano.

Por ejemplo, el lado del cartucho de la placa de interfaz neumática es sustancialmente plano, lo que hace que sea posible combinar la placa de interfaz neumática con una membrana sustancialmente plana y flexible de dicho un cartucho microfluídico.

30 Según otra realización ejemplar de la invención, la placa de interfaz neumática comprende al menos un elemento seleccionado de entre el grupo que comprende un dispositivo generador de calor, un elemento de transferencia de calor realizado en aluminio, un elemento de transferencia de calor realizado en cobre, un elemento de transferencia de calor realizado en una aleación de aluminio y/o cobre, un dispositivo generador de calor que tiene elementos de transferencia de calor que se extienden al cartucho microfluídico, un dispositivo generador de energía acústica, un dispositivo para el tratamiento del fluido con ultrasonidos enfocados o no enfocados, un actuador piezoeléctrico, un actuador mecánico, un actuador magnético y cualquier combinación de los mismos.

35 En otras palabras, la funcionalidad del calentamiento del fluido que está contenido dentro del cartucho está puramente integrada en la placa de interfaz neumática, lo que conduce al hecho de que el cartucho microfluídico puede ser producido de manera barata, fiable y fácil. Pueden usarse múltiples cartuchos con solo una combinación de dicha una placa de interfaz neumática con un instrumento neumático. Con este cartucho de funcionalidad reducida puede realizarse un intercambio rápido del cartucho microfluídico.

Por ejemplo, los elementos calentadores pueden estar separados por un material térmicamente aislante de una placa de interfaz neumática basada en acero.

45 Según otra realización ejemplar de la invención, la placa de interfaz neumática está realizada en un material seleccionado de entre el grupo que comprende acero, acero inoxidable, otros materiales químicamente resistentes y moderadamente conductores de calor, y cualquier combinación de los mismos.

Además, según otra realización ejemplar, la placa de interfaz neumática puede comprender también características de goma y/o características compresibles alrededor de los elementos neumáticos para proporcionar un sello entre las diferentes cámaras neumáticas.

50 Según otra realización ejemplar de la invención, se proporciona una placa de interfaz neumática que comprende características de control, en el que las características de control están adaptadas para controlar el recorrido de accionamiento de la membrana flexible del cartucho microfluídico durante el bombeo neumático por el instrumento

neumático.

Además, las características de control pueden ser aplicadas para permitir un mejor cierre de la válvula, ya que la membrana se pliega alrededor de estas características de control cuando se aplica presión.

5 Tal como puede observarse, por ejemplo, a partir de la Fig. 1 y la Fig. 2, las características de control pueden tener forma cuadrática o rectangular y pueden ser usadas como un delimitador espacial de la desviación de la membrana del cartucho cuando se aplica bombeo neumático.

10 Según otra realización ejemplar de la invención, se proporciona un sistema para el accionamiento de fluido dentro de un cartucho microfluídico. El sistema comprende un cartucho microfluídico según una de las realizaciones anteriores y comprende una placa de interfaz neumática según una de las realizaciones anteriores, en el que la membrana flexible del cartucho puede ser desviada mediante bombeo neumático a través del canal neumático de la placa de interfaz, de manera que un fluido en el canal de fluido puede ser movido a lo largo del canal de fluido.

15 El sistema permite el accionamiento de fluido dentro del cartucho que, por ejemplo, podría ser desechable. El accionamiento neumático del fluido se realiza mediante la membrana flexible que separa el fluido en el cartucho del fluido neumático en el instrumento. Los accionamientos neumáticos pueden ser integrados dentro de un instrumento neumático para una solución de bajo coste y fiable de este sistema.

20 Puede considerarse como una característica esencial del sistema que los fluidos dentro del cartucho pueden ser accionados o impulsados, es decir transportados, por un instrumento neumático externo y que el accionamiento neumático hace uso de la membrana flexible, que es parte del cartucho y que las cámaras neumáticas, que están formadas debajo de la membrana flexible dentro de la placa de interfaz neumática, están montadas de manera reversible. En otras palabras, el plano de separación entre el cartucho y el instrumento neumático externo atraviesa las cámaras neumáticas.

Según otra realización ejemplar, el cartucho y la placa de interfaz neumática son dos componentes físicamente separados que se mantienen unidos de manera reversible para el accionamiento del fluido sólo por fuerzas neumáticas.

25 Según otra realización ejemplar de la invención, la membrana flexible y el lado del cartucho de la placa de interfaz están adaptados en combinación de manera que, mediante la aplicación de presión negativa a través de un canal neumático de la placa de interfaz neumática, el cartucho es fijado completamente a la placa de interfaz.

30 Por lo tanto, es posible que no se necesiten otros medios de fijación, tales como por ejemplo tornillos y similares, además de las fuerzas neumáticas generadas por el instrumento neumático que puede ser parte también del sistema. En otras palabras, se crea una desviación de la membrana flexible en el sistema neumático cerrado que comprende el cartucho y la placa de interfaz y, a su vez, la desviación conduce a la fijación. La retracción de la membrana crea la fijación.

Según otra realización ejemplar, el sistema comprende un instrumento neumático para generar bombeo neumático al cartucho microfluídico.

35 De esta manera, el bombeo neumático comprende generar y aplicar sobrepresión y presión negativa.

Según otra realización ejemplar de la invención, el cartucho y la placa de interfaz están mecánicamente conectados entre sí a través de la membrana flexible y a través del lado del cartucho de la placa de interfaz.

Según otra realización ejemplar de la invención, el transporte de fluido en el canal de fluido sólo es iniciado por el bombeo neumático a través de los canales neumáticos.

40 Esta realización ejemplar puede verse, por ejemplo, en la Fig. 1 de las figuras siguientes. Al contrario de una forma cerrada, se montan o se forman diversas cámaras neumáticas cuando el cartucho y la placa de interfaz se conectan físicamente. Estas cámaras neumáticas que están debajo de la membrana flexible están dentro de unos rebajes de la placa de interfaz neumática.

45 Además, estas cámaras pueden ser utilizadas también para mantener un cartucho en la placa de interfaz neumática para asegurar un buen contacto térmico y mecánico entre la placa de interfaz neumática y el cartucho, lo cual podría ser crucial para diversas funcionalidades.

50 Según otra realización ejemplar de la invención, el sistema comprende características de control, en el que las características de control están dispuestas encima y debajo de la membrana flexible, en el que las características de control encima de la membrana flexible están dispuestas como obstáculos para un transporte de fluido en el interior del canal de fluido del cartucho. Además, la membrana flexible está soportada mecánicamente por las características de control de manera que la membrana se desvía durante el bombeo neumático de manera que el fluido puede pasar los

obstáculos.

5 En otras palabras, la distribución espacial o la disposición espacial de las características de control a lo largo de una longitud longitudinal de la membrana flexible conduce al hecho de que ciertas características de control bloquean el canal de fluido para un movimiento del fluido cuando la membrana está en un estado relajado o presionado contra las características por la aplicación de sobrepresión en la cámara neumática. Mediante la aplicación de bombeo neumático correspondiente, que significa la aplicación de sobrepresión y/o presión negativa en los canales neumáticos correspondientes dentro de la placa de interfaz, esto conduce a una desviación de la membrana de manera que el fluido pueda ser transportado a lo largo del canal de fluido sin ser bloqueado todavía por la función de control. En otras palabras, el fluido puede ser transportado alrededor de las características de control que se encuentran en el canal de fluido.

10 Según otra realización ejemplar de la invención, el sistema comprende cámaras neumáticas, en el que entre la membrana flexible y la placa de interfaz, las cámaras neumáticas están montadas de manera reversible.

15 En otras palabras, la superficie interconectada de la membrana flexible del cartucho que forma una superficie exterior del cartucho en combinación con la superficie del lado del cartucho de la placa de interfaz neumática conduce a ciertos rebajes debajo de la membrana y dentro del dispositivo neumático que pueden ser usados para la aplicación de sobrepresión y/o presión negativa sobre la membrana mediante un dispositivo neumático externo que podría estar conectado a la placa de interfaz neumática.

20 Según otra realización ejemplar de la invención, el sistema comprende una placa de interfaz que comprende una pluralidad de canales neumáticos para conectar el fluido neumático del instrumento neumático desde el lado del instrumento al lado del cartucho para permitir el accionamiento neumático de la membrana flexible del cartucho microfluídico. De esta manera, la interconexión entre la membrana flexible y la placa de interfaz está adaptada de manera que un bombeo neumático alternante, que comprende aplicar presión y aplicar presión negativa, conduce a un transporte del fluido a lo largo del canal de fluido.

25 Según otra realización ejemplar de la invención, se proporciona un instrumento neumático para la generación de bombeo neumático a un cartucho microfluídico para el transporte de fluido dentro del cartucho microfluídico. El instrumento neumático comprende medios para accionar neumáticamente una membrana flexible del cartucho microfluídico, y una placa de interfaz neumática según una de las realizaciones descritas anteriormente y a continuación. La placa de interfaz neumática puede ser desmontable del instrumento, dejando un instrumento que comprende medios para accionar neumáticamente una membrana flexible del cartucho microfluídico y adecuado para recibir una placa de interfaz neumática según la presente invención.

30 Puede considerarse como la esencia de la invención la provisión de una combinación de un cartucho microfluídico y una placa de interfaz neumática en la que una superficie exterior del cartucho microfluídico, que está formada por una membrana flexible, es accionada por una placa de interfaz neumática que suministra sobrepresión o presión negativa, creada por un instrumento neumático, a la membrana. Esto conduce a una desviación correspondiente de la membrana lo que, a su vez, inicia un transporte de fluido del fluido contenido en el cartucho a través de un canal de fluido en el cartucho.

35 Cabe señalar que las realizaciones de la invención se describen con referencia a diferentes temas. En particular, algunas realizaciones se describen con referencia a las reivindicaciones del cartucho mientras que otras realizaciones se describen con referencia a las reivindicaciones de la placa de interfaz neumática, las reivindicaciones del sistema o las reivindicaciones del instrumento. Sin embargo, una persona con conocimientos en la materia llegará a la conclusión, a partir de la descripción anterior y la descripción siguiente, que a menos que se notifique cualquier combinación de características que pertenecen a un tipo de objeto, también cualquier combinación entre características relacionadas con diferentes temas se considera como descrita en la presente solicitud.

40 Los aspectos definidos anteriormente y aspectos, características y ventajas adicionales de la presente invención pueden derivarse también de las realizaciones ejemplares que se describirán más adelante y que se explican con referencia a realizaciones ejemplares. La invención se describirá en más detalle a continuación con referencia a ejemplos de las realizaciones pero a las cuales no está limitada la invención.

Breve descripción de los dibujos:

50 La Fig. 1 muestra esquemáticamente un cartucho microfluídico, una placa de interfaz neumática y un instrumento neumático según una realización ejemplar de la invención.

Las Figs. 2-5 muestran esquemáticamente un cartucho microfluídico y una placa de interfaz neumática según una realización ejemplar de la invención.

La Fig. 6 muestra esquemáticamente un instrumento neumático con un cartucho microfluídico y una placa de interfaz

neumática según una realización ejemplar de la invención.

La Fig. 7 muestra esquemáticamente un instrumento en el que pueden integrarse un cartucho microfluídico y una placa de interfaz neumática según una realización ejemplar de la invención.

La Fig. 8 muestra esquemáticamente un cartucho microfluídico según una realización ejemplar de la invención.

5 **Descripción detallada de las realizaciones**

Los componentes similares o relacionados en las diversas figuras se indican con los mismos números de referencia. La vista en la figura es esquemática y no está completamente a escala.

10 La Fig. 1 muestra, en la parte superior, un sistema 121 para el accionamiento de un fluido dentro de un cartucho 100 microfluídico en un primer estado, en el que la parte inferior de la Fig. 1 muestra dicho un sistema 121 en un segundo estado, en el que el fluido 104 contenido en el interior del cartucho ha sido transportado. Ambos sistemas 121 mostrados, el superior y el inferior, consisten en los mismos elementos.

15 La Fig. 1 muestra un cartucho 100 microfluídico para ser insertado en la placa 101 de interfaz neumática paralela de un instrumento neumático en el que el cartucho comprende un canal 103 de fluido tridimensional en el que debe ser transportado un fluido 104. Además, el cartucho comprende una membrana 105 flexible en el que la membrana flexible se extiende en un plano. El plano se extiende a lo largo de la dirección 107. Además, la membrana flexible conforma una superficie exterior del cartucho en la que el canal de fluido está definido espacialmente por las paredes del cartucho y por la membrana flexible. Además, la membrana flexible está en un estado relajado cuando no se aplica sobrepresión, presión negativa o vacío a la membrana flexible. La membrana flexible puede ser desviada neumáticamente desde el estado relajado perpendicular al plano de la membrana flexible en dos direcciones. En otras palabras, la membrana 105 puede ser dirigida en la dirección 106 en primer lugar hacia arriba y en segundo lugar en la orientación hacia abajo.

20 Además, puede verse que la membrana flexible es desviada en varios puntos 109, 110, 111 y 114 mediante bombeo 108 neumático. De esta manera, bombeo neumático significa la aplicación de una sobrepresión y/o una presión negativa a la membrana en las cámaras neumáticas, tal como por ejemplo, 137. El instrumento 102 neumático externo puede crear dicho un bombeo 108 neumático. Mediante la aplicación de una presión negativa correspondiente a los dos canales 122 y 123 neumáticos dentro de la placa 101 de interfaz neumática, la membrana 105 flexible es retraída al interior de los huecos sobre estos canales neumáticos. Al cambiar la situación de presión dentro de los canales neumáticos de la placa de interfaz neumática, lo cual se muestra en la figura inferior de la Fig. 1, la membrana flexible es presionada hacia el lado interior del cartucho en el canal neumático medio del cartucho. Además, la presión negativa se aplica en el canal 138 neumático en el lado derecho, de manera que el fluido es transportado desde el lado izquierdo de la Fig. 1 al lado derecho de la Fig. 1 en el interior del canal de fluido.

25 Tal como puede verse en la Fig. 1, la placa de interfaz tiene un lado 119 del instrumento, orientado hacia el instrumento cuando la placa de interfaz es insertada en el instrumento 102. Además, la placa de interfaz tiene un lado 120 del cartucho orientado hacia el cartucho cuando el cartucho es insertado en la placa de interfaz. Hay provistos canales 122, 123 y 138 neumáticos para conectar el fluido neumático, tal como por ejemplo aire, desde el lado del instrumento al lado del cartucho para permitir el accionamiento neumático de la membrana flexible del cartucho microfluídico. Los rebajes 124 a 126 permiten la retracción de la membrana flexible al interior de los rebajes. Tal como puede verse en la parte inferior de la Fig. 1, en el canal 122 neumático medio la membrana cierra el canal de fluido para proporcionar una válvula 114 en el interior del canal de fluido.

30 40 Mediante la aplicación de dicho un procedimiento con la aplicación secuencial de sobrepresión y/o presión negativa de una manera correspondiente, el fluido puede ser transportado desde el inicio 112 del canal de fluido al final 113 del canal de fluido dentro del cartucho microfluídico.

45 Puede observarse que el lado del cartucho de la placa de interfaz tiene una superficie de tipo escalonada con rebajes y canales neumáticos formados en forma de T cuando los canales neumáticos y los rebajes se observan en una sección transversal.

50 En otras palabras, esta realización permite un cartucho que comprende una membrana flexible externa que cubre una trayectoria de fluido. Tras la inserción del cartucho en el instrumento, la membrana es desviada localmente por la neumática del instrumento de manera que el fluido es movido a lo largo de la trayectoria de fluido. La membrana es retraída desde o empujada localmente hacia el cartucho creando un cambio de volumen en la trayectoria de fluido, que es el canal de fluido y debajo de la membrana con lo que el fluido es transportado a través del cartucho. El cartucho puede comprender paredes, que junto con la membrana flexible, definen el volumen variable a través del cual puede ser transportado el fluido.

La Fig. 2 muestra un sistema 121 que comprende un cartucho 100 microfluídico y una placa 101 de interfaz neumática.

Puede estar incluido también un instrumento neumático (no mostrado).

5 La placa de interfaz puede ser sustancialmente plana y puede contener características para un sellado mejorado de las cámaras neumáticas y/o puede contener características que controlan el recorrido de accionamiento de la membrana flexible del cartucho. En una realización alternativa mostrada en la Fig. 3, estas características de control de recorrido 127, 128, 129 y 130, así como 115 y 116, están integradas en el cartucho.

La Fig. 3 muestra la característica 127 a 130 de control de recorrido en el lado del cartucho de la placa 101 de interfaz neumática.

10 La Fig. 4 muestra un sistema 121 con un cartucho 100 y una placa 101 de interfaz en la que los marcos 139 de goma son parte de la placa de interfaz y los rebajes 140, 141 están presentes en parte en el cartucho y en parte en la placa de interfaz.

Además, según otra realización ejemplar de la invención, es posible que los marcos de goma sean sólo parte del cartucho microfluídico. Entonces, pueden ser colocados, por ejemplo, en el cartucho microfluídico. Esto puede combinarse, por ejemplo, con una placa de interfaz plana.

15 Según otra realización ejemplar de la invención, los marcos de goma y los rebajes puede estar presente tanto en el cartucho como en la placa de interfaz.

20 Tal como puede verse en la Fig. 5, la placa de interfaz tal como se ha descrito anteriormente y se describe a continuación, puede ser usada para retener el cartucho mediante la aplicación de un vacío 131 en las áreas entre los actuadores mediante la placa de interfaz de instrumento. Además, en el lado 101 del cartucho, se aplican marcos 139 de goma que pueden verse también en la Fig. 8 con el signo de referencia 139. Estos marcos de goma permiten un sellado hermético de las cámaras neumáticas. Los actuadores se fijan a los canales neumáticos en el lado inferior (instrumento) de 100. De esta manera, los actuadores están todos en posiciones en las que la membrana es desviada de manera reversible por el sistema neumático. En las zonas en las que se quiere retener el cartucho mediante vacío, la membrana no se desviará. Además, es posible aplicar otra capa en el exterior (sobre la membrana) para evitar la deslaminación de la membrana por las fuerzas de vacío.

25 En la Fig. 6 se muestra un instrumento 102 neumático que comprende una placa 101 de interfaz neumática. El instrumento puede tener interruptores neumáticos y calentadores que están integrados en el interior de la caja mostrada. Además, los tubos neumáticos están comprendidos en el interior del instrumento 102, también los interruptores neumáticos y los calentadores están integrados en el interior de dicho un instrumento.

30 La Fig. 7 muestra un sistema 121 según otra realización ejemplar de la invención. El sistema consiste en un instrumento 102 neumático y una placa 101 de interfaz neumática, que está adaptada para recibir un cartucho microfluídico (no mostrado aquí, mostrado en la Fig. 8). Se muestran varios calentadores, 135, 136 en el interior de la placa de interfaz y, además, se muestran los canales 122, 123 y 138 neumáticos. Además, los rebajes 124, 125 y 126 pueden verse en la Fig. 7. La placa 101 de interfaz neumática mostrada corresponde a la placa de interfaz mostrada en la Fig. 2. Pueden observarse claramente los marcos 139 de goma, que también se muestran y se describen en la Fig. 5.

35 La Fig. 8 muestra un cartucho 100 microfluídico que puede estar integrado, por ejemplo, en la placa 101 de interfaz de la Fig. 7 y, de esta manera, puede ser insertado en el instrumento 102 mostrado. Este cartucho correspondiente del instrumento 102 de la Fig. 7 tiene 14 válvulas direccionables individuales que pueden ser accionadas por el instrumento mostrado en la Fig. 7. De esta manera, el término accionamiento se refiere a bombeo neumático.

40 Por ejemplo, las válvulas pueden ser cerradas mediante la aplicación de una sobrepresión de hasta 1,5 bar en las válvulas, lo que permite un sellado fiable de los compartimentos individuales. Pueden conseguirse velocidades de bombeo de más de 1 ml en 10 segundos. Estos son sólo valores ejemplares. También pueden conseguirse otras presiones, más altas o más bajas, y otras velocidades de bombeo, más altas o más bajas.

REIVINDICACIONES

1. Cartucho (100) microfluídico para ser colocado en una placa (101) de interfaz neumática paralela de un instrumento (102) neumático, en el que el cartucho comprende:
- 5 un canal (103) de fluido tridimensional, en el que se transportará un fluido (104),
una membrana (105) flexible,
en el que la membrana flexible se extiende en un plano,
en el que la membrana flexible es parte de una superficie exterior del cartucho,
en el que el canal de fluido tridimensional está definido espacialmente en tres dimensiones por las paredes internas del cartucho y por la membrana flexible,
- 10 en el que la membrana flexible está en un estado fundamental, cuando no se aplica presión o vacío a la membrana flexible, y
en el que la membrana flexible puede ser desviada neumáticamente desde el estado (106) fundamental perpendicular al plano de la membrana flexible en dos direcciones cuando el cartucho es colocado en la placa de interfaz neumática paralela y
- 15 en el que la membrana flexible está fijada al cartucho de manera que es posible fijar el cartucho a la placa de interfaz exclusivamente con una fuerza de vacío aplicada a la membrana flexible y de manera que el cartucho, cuando está fijado a la placa de interfaz, permite que el fluido en el cartucho sea accionado por el accionamiento neumático de la membrana flexible del cartucho microfluídico por la placa de interfaz neumática.
- 20 2. Cartucho microfluídico según la reivindicación 1,
en el que el canal de fluido y la membrana flexible están dispuestos entre sí de manera que, al desviar la membrana flexible en varios puntos (109, 110, 111, 114) a lo largo de la membrana flexible mediante bombeo (108) neumático del instrumento neumático, el fluido puede ser transportado desde un inicio (112) del canal de fluido a un final (113) del canal de fluido.
- 25 3. Cartucho microfluídico según una de las reivindicaciones 1 a 2,
en el que la membrana puede ser desviada mediante bombeo neumático del instrumento neumático de manera que la membrana cierra el canal de fluido para permitir una función de válvula (114).
4. Cartucho microfluídico según una de las reivindicaciones 1 a 3,
en el que el cartucho está libre de elementos de control neumáticos y libre de elementos (133) de tubos neumáticos.
- 30 5. Placa (101) de interfaz neumática para interactuar con un cartucho (100) microfluídico según una de las reivindicaciones 1 a 4 y entre un instrumento (102) neumático para fijar neumáticamente el cartucho microfluídico mediante la aplicación de un vacío y la aplicación de bombeo neumático en el cartucho microfluídico, en el que la placa de interfaz comprende:
- 35 un lado (119) del instrumento, orientado hacia el instrumento cuando la placa de interfaz es insertada en el instrumento,
un lado del cartucho, orientado hacia el cartucho cuando el cartucho es colocado en la placa de interfaz,
un canal (122, 123, 138) neumático para conectar un fluido neumático del instrumento neumático desde el lado del instrumento al lado del cartucho para permitir el accionamiento neumático de la membrana flexible del cartucho microfluídico.
- 40 6. Placa de interfaz neumática según la reivindicación 5,
en la que el lado del cartucho tiene al menos un rebaje (124, 125, 126) para retraer la membrana flexible del cartucho cuando se aplica una presión negativa a la membrana.
7. Placa de interfaz neumática según una de las reivindicaciones 5 o 6,
en la que la placa de interfaz comprende al menos un elemento seleccionado de entre el grupo que
- 45

- comprende un dispositivo (135, 136) generador de calor, un elemento de transferencia de calor realizado en aluminio, un elemento de transferencia de calor realizado en cobre, un elemento de transferencia de calor realizado en una aleación de aluminio y/o cobre, un dispositivo generador de calor que tiene elementos de transferencia de calor que se extienden al cartucho microfluídico, un dispositivo generador de energía acústica, un dispositivo para el tratamiento del fluido con ultrasonidos enfocados o no enfocados, un actuador piezoeléctrico, un actuador mecánico, un actuador magnético y cualquier combinación de los mismos.
- 5
8. Placa de interfaz neumática según una de las reivindicaciones 5 a 7,
- en la que la placa de interfaz está realizada en un material seleccionado de entre el grupo que comprende acero, acero inoxidable, vidrio, elastómero, polímero, otros materiales químicamente resistentes y moderadamente conductores de calor, y cualquier combinación de los mismos.
- 10
9. Sistema (121) para el accionamiento de fluido en el interior de un cartucho microfluídico, en el que el sistema comprende:
- un cartucho microfluídico según una de las reivindicaciones 1 a 4,
- una placa de interfaz neumática según una de las reivindicaciones 5 a 8,
- 15 en el que la membrana flexible del cartucho puede ser desviada mediante bombeo neumático a través del canal neumático de la placa de interfaz de manera que un fluido en el canal de fluido puede ser movido a lo largo del canal de fluido.
10. Sistema según la reivindicación 9,
- en el que el cartucho y la placa de interfaz neumática son dos componentes físicamente separados que se mantienen unidos de manera reversible para el accionamiento de fluido sólo por fuerzas neumáticas.
- 20
11. Sistema según una de las reivindicaciones 9 o 10,
- en el que la membrana flexible y el lado del cartucho de la placa de interfaz están adaptados en combinación de manera que, mediante la aplicación de una presión negativa a través de un canal neumático de la placa de interfaz neumática, el cartucho está fijado completamente a la placa de interfaz.
- 25
12. Sistema según una de las reivindicaciones 9 a 11, en el que el sistema comprende además:
- el instrumento neumático para generar el bombeo neumático al cartucho microfluídico.
13. Sistema según una de las reivindicaciones 9 a 12, en el que el sistema comprende además:
- características (115, 116) de control,
- en el que las características de control están dispuestas sobre y debajo de la membrana flexible,
- 30 en el que las características de control sobre la membrana flexible están dispuestas como obstáculos para un transporte de fluido en el interior del canal de fluido, y
- en el que la membrana flexible está soportada mecánicamente por las características de control de manera que la membrana se desvía durante el bombeo neumático de manera que el fluido puede pasar por los obstáculos.
- 35
14. Sistema según una de las reivindicaciones 9 a 13,
- en el que entre la membrana flexible y la placa de interfaz, hay montadas, de manera reversible, cámaras neumáticas.
15. Instrumento (102) neumático para generar bombeo neumático a un cartucho (100) microfluídico para el transporte de fluido en el interior del cartucho microfluídico, en el que el instrumento neumático comprende:
- 40 medios para accionar neumáticamente una membrana flexible del cartucho microfluídico, y
- una placa de interfaz neumática según las reivindicaciones 5 a 8.

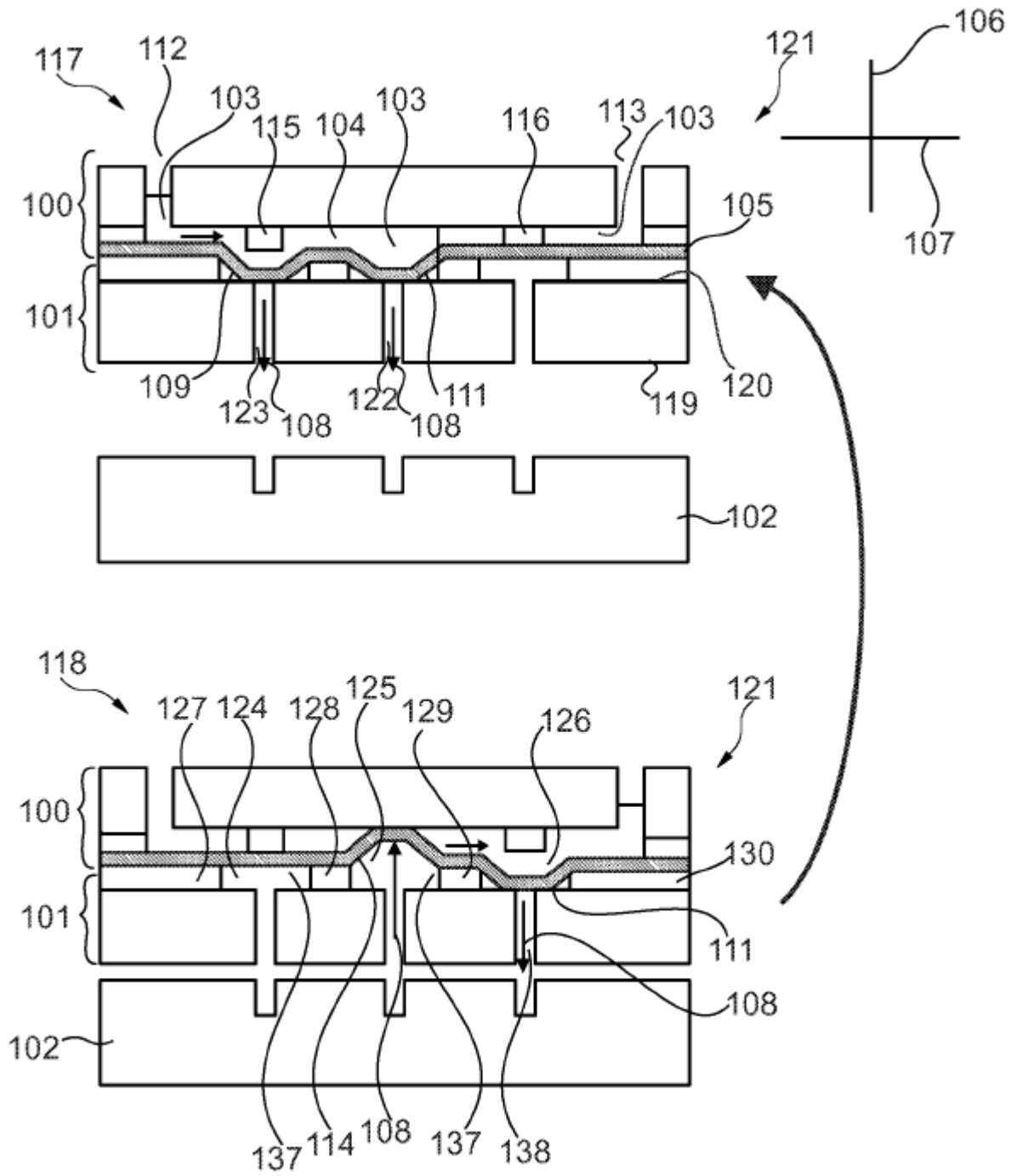


Fig. 1

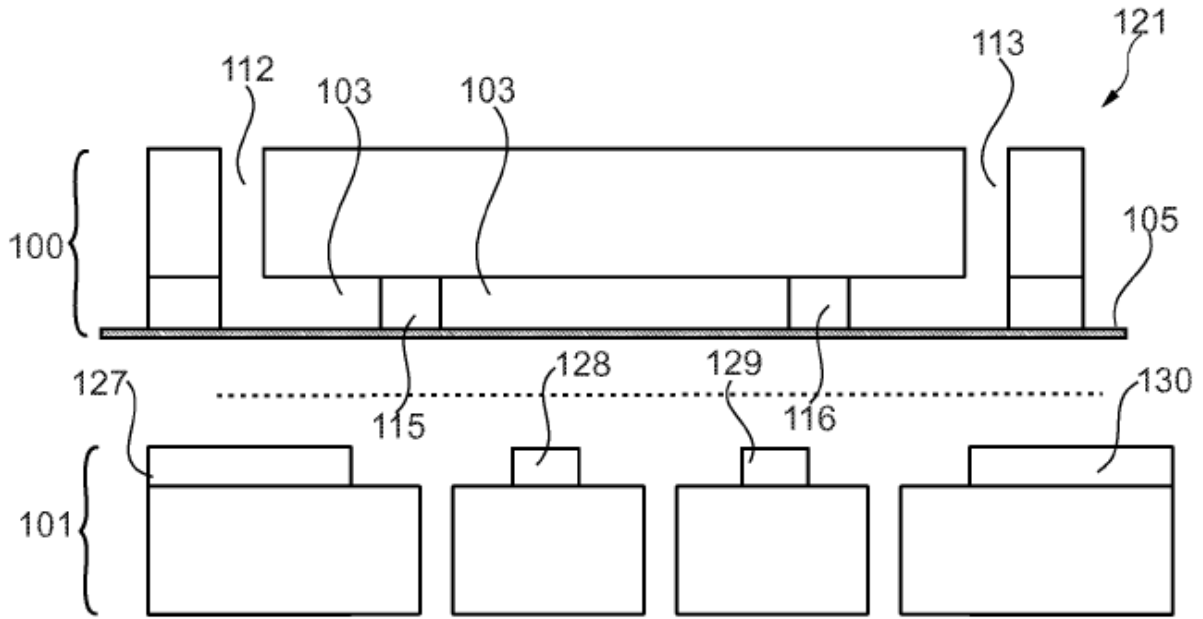


Fig. 2

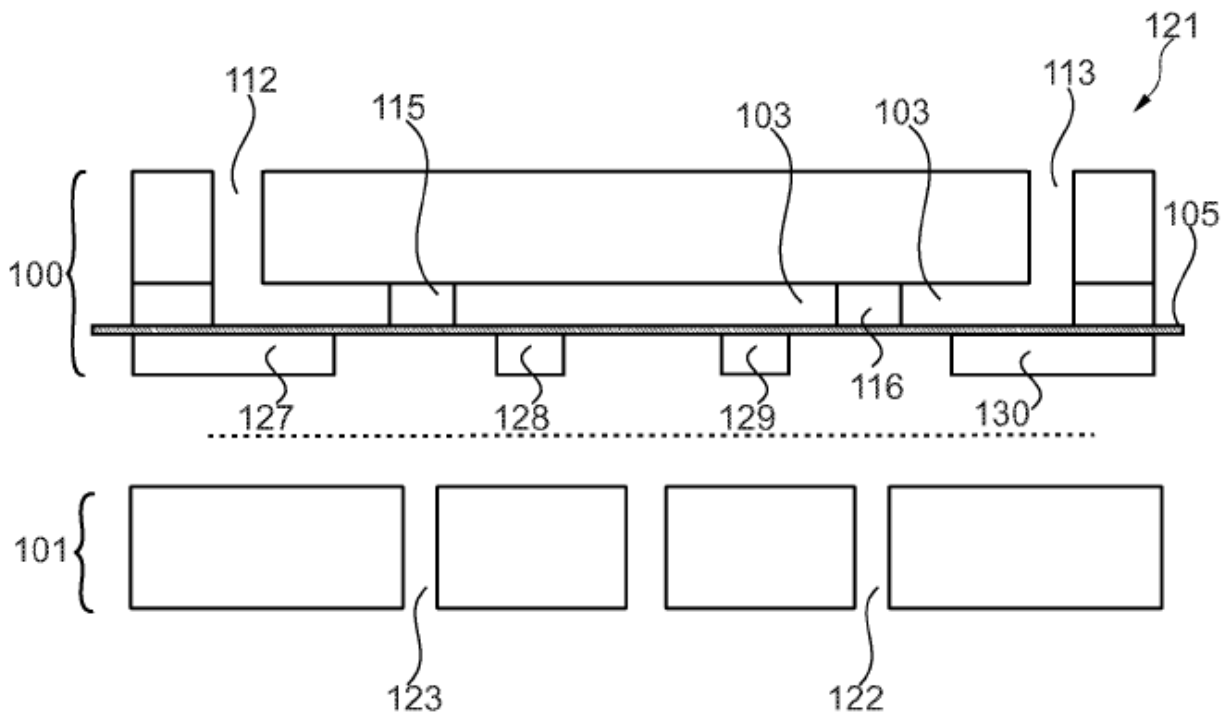


Fig. 3

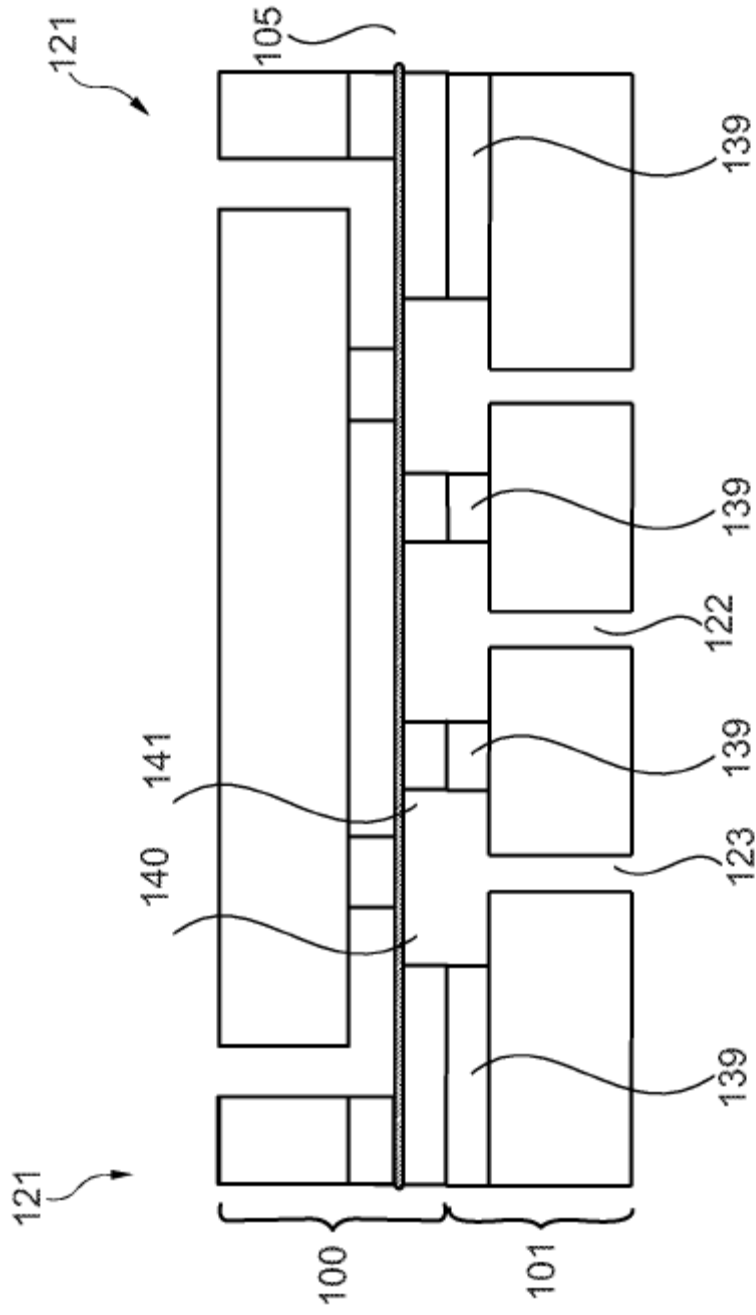


Fig. 4

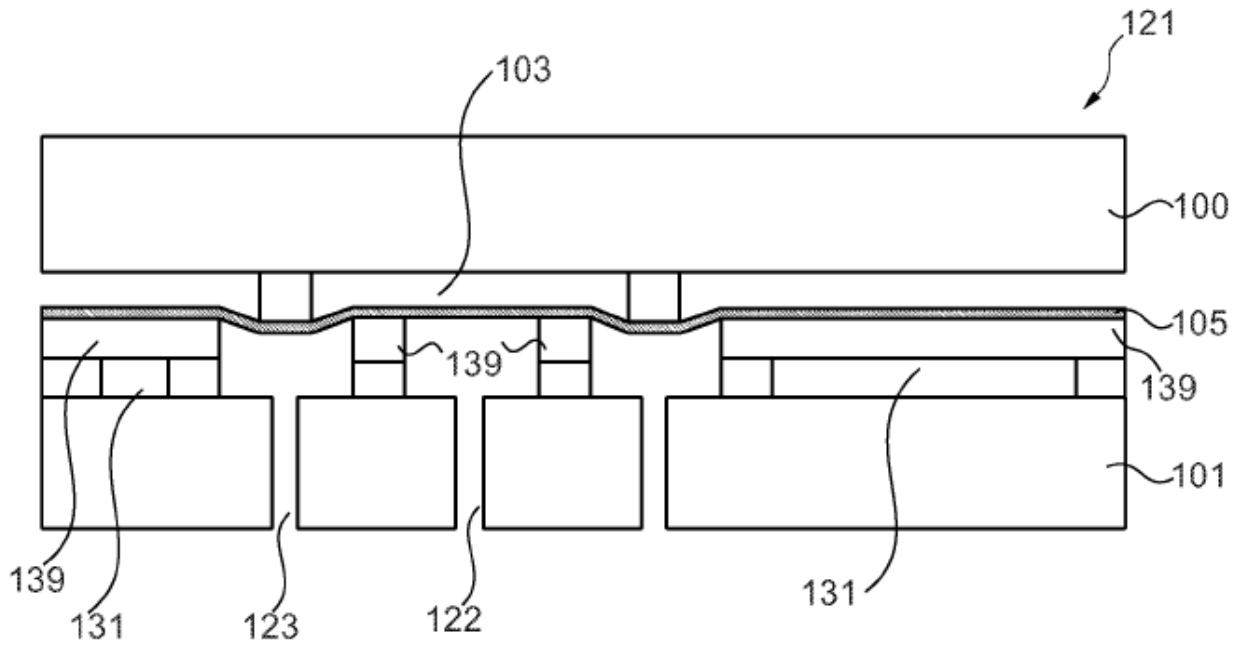


Fig. 5

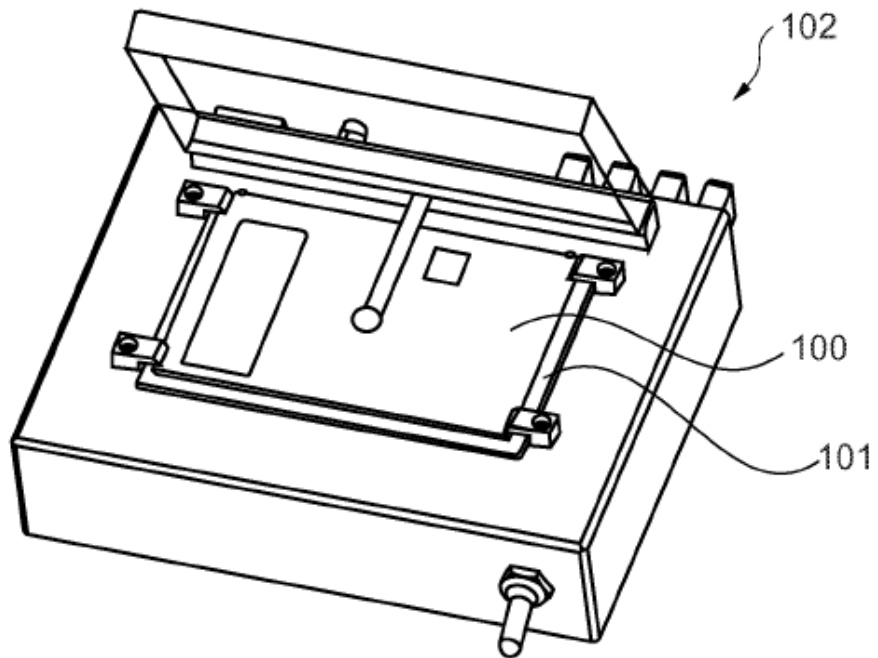


Fig. 6

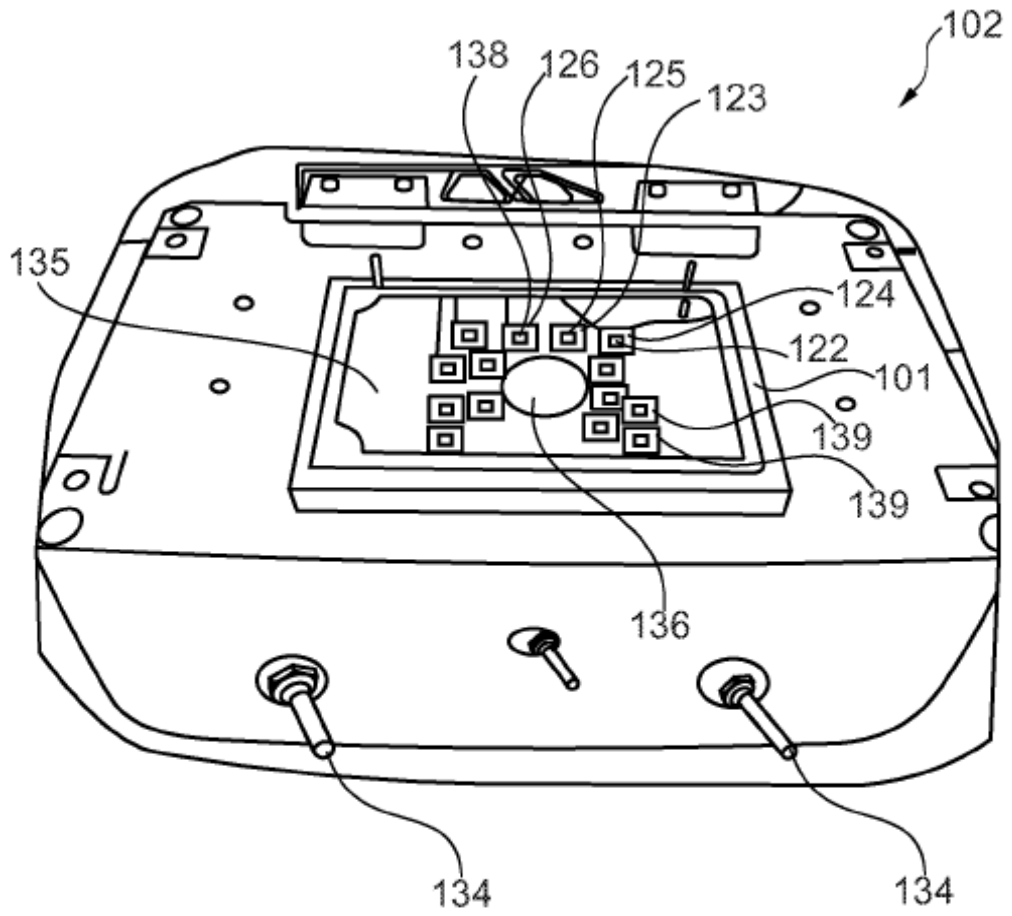


Fig. 7

100
↘

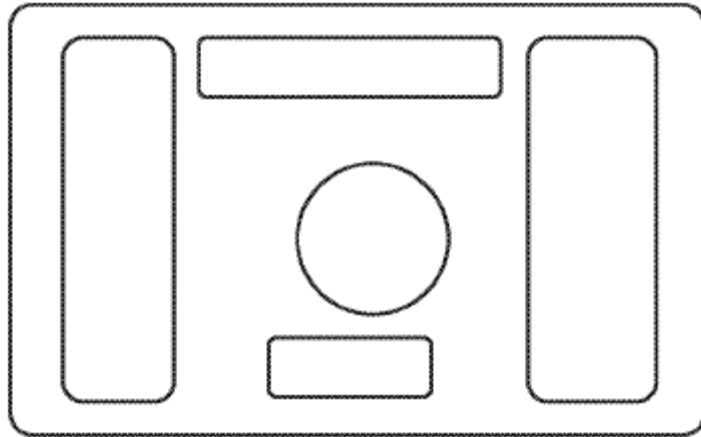


Fig. 8