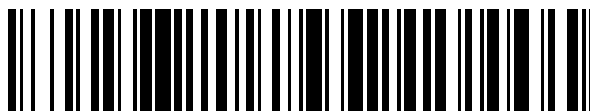


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 608 953**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00	(2006.01)	B01D 59/42	(2006.01)
B01L 3/02	(2006.01)	B01J 19/00	(2006.01)
G01N 31/00	(2006.01)		
G01N 1/00	(2006.01)		
G01N 1/10	(2006.01)		
G01N 27/26	(2006.01)		
G01N 27/27	(2006.01)		
G01N 27/403	(2006.01)		
G01N 27/453	(2006.01)		
B01D 57/02	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2002** **E 11161032 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016** **EP 2363207**

54 Título: **Métodos para control de dispositivos microfluídicos digitales**

30 Prioridad:

28.03.2001 US 819105

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2017

73 Titular/es:

HANDYLAB, INC. (100.0%)
1 Becton Drive
Franklin Lakes, NJ 07417, US

72 Inventor/es:

HANDIQUE, KALYAN y
BRAHMASANDRA, SUNDARESH, N

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 608 953 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

Métodos para control de dispositivos microfluídicos digitales

5 1. Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la microfluídica. Más en concreto, la presente invención se refiere a métodos de control, sistemas de control, y software de control para dispositivos microfluídicos que operan moviendo microgotitas discretas a través de una secuencia de configuraciones determinadas.

10

2. Antecedentes de la invención

Los dispositivos de micro/nano tecnología son conocidos en la técnica como dispositivos con componentes en la escala de 1 μm a 100s de μm que cooperan para realizar varias funciones deseadas. En particular, los dispositivos microfluídicos son dispositivos de micro/nano tecnología que realizan funciones de manejo de fluidos, que, por ejemplo, cooperan para llevar a cabo una reacción o análisis químico o bioquímico.

15

La mayor parte de los dispositivos microfluídicos de la técnica anterior se basan en un fluido que fluye a través de pasos y cámaras de microescala, de forma continua o en alcuotas relativamente grandes. Por lo general, el flujo de fluido es iniciado y controlado por fuerzas electroosmóticas y electroforéticas. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos números 5.632.876, concedida el 27 de Abril de 1997 y titulada "Aparato y métodos para controlar el flujo de fluido en microcanales"; 5.992.820, concedida el 30 de Noviembre de 1999 y titulada "Control de flujo en dispositivos microfluídicos por formación controlada de burbujas"; 5.637.469, concedida el 10 de Junio de 1997 y titulada "Métodos y aparato para la detección de un analito utilizando sistemas de flujo de mesoescala"; 5.800.690, concedida el 1 de Septiembre de 1998 y titulada "Control variable de fuerzas electroosmóticas y/o electroforéticas dentro de una estructura conteniendo fluido mediante fuerzas eléctricas"; y 6.001.231, concedida el 14 de Diciembre de 1999 y titulada "Métodos y sistemas para supervisar y controlar caudales de fluido en sistemas microfluídicos".

20

25

Estos dispositivos son relativamente desventajosos porque, entre otros, requieren mayores volúmenes de reactivos en virtud de su diseño basado en el flujo, y el control de fluido por fuerzas electroosmóticas y electroforéticas requiere típicamente voltajes relativamente grandes, que pueden ser peligrosos y son difíciles de generar en dispositivos de control portátiles pequeños. Los dispositivos de control para dispositivos microfluídicos basados en dichas tecnologías son más grandes, al menos el tamaño de sobremesa.

30

Uno o varios autores la presente solicitud y otros han desarrollado tecnologías más ventajosas para dispositivos microfluídicos. Esta tecnología ventajosa maneja alcuotas de fluidos muy pequeñas (denominadas aquí "microgotitas") en pasos a microescala basándose en gran parte en la presión y otras fuerzas no eléctricas. Estos dispositivos son ventajosos porque requieren volúmenes de reactivos más pequeños, y porque se puede generar fuerzas no eléctricas con voltajes más pequeños, del orden de magnitud producido por componentes microelectrónicos estándar. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos números 6.057.149, concedida el 2 de Mayo de 2000 y titulada "Dispositivos de microescala y reacciones en dispositivos de microescala"; 6.048.734, concedida el 11 de Abril de 2000 y titulada "Microválvulas térmicas en un método de flujo de fluido"; y 6.130.098, concedida el 10 de Octubre de 2000.

35

40

Sin embargo, que sepan los autores de la invención, no se han proporcionado sistemas de control bien estructurados para tales dispositivos microfluídicos basados en microgotitas que explotan las ventajas esenciales de tales dispositivos.

45

La cita o identificación de alguna referencia en esta sección o cualquier sección de esta solicitud no se deberá interpretar en el sentido de que tal referencia es técnica anterior de la presente invención.

50

3. Resumen de la invención

Uno de los objetos de la presente invención es superar esta deficiencia en la técnica y proporcionar métodos y sistemas para controlar dispositivos microfluídicos basados en microgotitas que explotan sus ventajas esenciales. A causa de la estructura y las propiedades de tales dispositivos microfluídicos, los métodos y los sistemas de esta invención se pueden implementar en un amplio rango de realizaciones, desde realizaciones totalmente de mano a realizaciones de laboratorio para realizar reacciones y análisis en alta producción. Además, a causa de la estructura y las propiedades de tales dispositivos microfluídicos, estos métodos y sistemas pueden ser controlados por usuarios para realizar diversas reacciones y análisis de manera similar a programar un ordenador.

55

60

Así, la presente invención tiene como uno de sus varios objetos la provisión de sistemas y software de control programables para lo que aquí se denominan dispositivos microfluídicos "digitales". Los sistemas de control proporcionados, que son el reflejo del diseño de dispositivos microfluídicos preferidos propiamente dichos, tienen un diseño generalmente jerárquico en el que el control de dispositivo detallado y a nivel inferior se organiza en un menor número de funciones de control básicas, mientras que el control de dispositivo general y a nivel superior se

65

organiza como secuencias de la función básica que hacen que un dispositivo concreto realice las reacciones de análisis previstas. Por ello, los sistemas de control de la presente invención son adaptables a muchos tipos diferentes de dispositivos microfluídicos digitales y reacciones previstas; son escalables a dispositivos de varias complejidades, simples de programar y económicos.

5 Según un primer aspecto de la presente invención, se facilita un método para controlar la operación de un dispositivo microfluídico ("MF") de tipo digital (i) donde un dispositivo MF incluye uno o más pasos para confinar una o varias microgotitas, teniendo los pasos una o varias posiciones estables para las microgotitas, y (ii) incluye uno o más componentes internos sensibles a señales de control, estando operativamente asociados los componentes internos con los pasos para controlar y supervisar el dispositivo MF, incluyendo el método:

10 (a) proporcionar una o varias peticiones de procesado de microgotita, donde una petición de procesado de microgotita específica realizar al menos una acción en al menos una microgotita, incluyendo las peticiones

15 (i) crear una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas, o
 (ii) mover una o varias microgotitas desde posiciones estables actuales a posiciones estables siguientes seleccionadas, o

20 (iii) combinar dos o más microgotitas en una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas, o

(iv) mezclar una o varias microgotitas,
 donde cada petición de procesado de microgotita proporcionada incluye además una o varias peticiones de procesado de accionador,

25 donde una petición de procesado de accionador específica realizar al menos una acción físicamente asociada con al menos un paso del dispositivo MF, y

30 donde las peticiones de procesado de accionador incluyen:

(i) abrir o cerrar un paso controlado seleccionado por componentes internos que actúan como una válvula controlable fundiendo al menos una alícuota de un material fundible, donde la alícuota del material se puede colocar para ocluir el paso controlado,

35 (ii) proporcionar presión de gas controlable en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como generador de presión calentando al menos un microdepósito de gas que comunica con el paso,

40 (iii) detectar la presencia o ausencia de una microgotita en una posición seleccionada en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita detectando un indicador de la capacidad térmica en una región alrededor de la posición, o

45 (iv) detectar la composición de la microgotita en la posición seleccionada en el paso seleccionado por componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita enviando señales ópticas al dispositivo MF y recibiendo señales ópticas devueltas del dispositivo MF, y

(b) generar señales de control, que son proporcionadas al dispositivo MF,
 donde las señales de control son generadas en una configuración y secuencia que son sensibles a cada petición de procesado de microgotita de modo que los componentes internos del dispositivo MF que son sensibles a las señales de control funcionen conjuntamente para realizar el procesado de microgotita pedido en el dispositivo MF,

55 donde la configuración y secuencia generadas de señales de control que son sensibles a una petición de procesado de microgotita incluyen además subconfiguraciones y subsecuencias que son sensibles a cada petición de procesado de accionador de la petición de procesado de microgotita, y donde la subconfiguración y subsecuencia de señales de control que son sensibles a cada petición de procesado de accionador hacen que los componentes internos sensibles del dispositivo MF funcionen conjuntamente para realizar la acción pedida.

60 Según un segundo aspecto de la presente invención, se facilita un método para realizar una reacción química en un dispositivo microfluídico ("MF") de tipo digital (i) donde un dispositivo MF incluye uno o más pasos para confinar una o varias microgotitas, teniendo los pasos una o varias posiciones estables para las microgotitas, y (ii) incluye uno o más componentes internos sensibles a señales de control, estando operativamente asociados los componentes internos con los pasos para controlar y supervisar el dispositivo MF, incluyendo el método:

65 (a) proporcionar uno o más reactivos fluidos, donde los reactivos fluidos incluyen los reactivos necesarios para la reacción,

(b) proporcionar un programa de procesamiento de microgotita, donde un programa de procesamiento de microgotita incluye una o varias peticiones de procesamiento de microgotita, donde una petición de procesamiento de microgotita especifica realizar al menos una acción en al menos una microgotita, e incluyendo las peticiones

5 (i) crear una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas calentando un gas para generar una presión de gas dentro del dispositivo MF, o

10 (ii) mover una o varias microgotitas desde posiciones estables actuales a posiciones estables siguientes seleccionadas calentando un gas para generar una presión de gas dentro del dispositivo MF, o

(iii) combinar dos o más microgotitas en una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas dentro del dispositivo MF, o

15 (iv) mezclar una o varias microgotitas,

donde el programa de procesamiento de microgotita realiza la creación de al menos una microgotita final a partir de los reactivos fluidos proporcionando señales de control al dispositivo MF, y

20 donde cada petición de procesamiento de microgotita proporcionada incluye además una o varias peticiones de procesamiento de accionador, donde una petición de procesamiento de accionador especifica realizar al menos una acción físicamente asociada con al menos un paso del dispositivo MF, y donde las peticiones de procesamiento de accionador incluyen:

25 (i) abrir o cerrar un paso controlado seleccionado por componentes internos que actúan como una válvula controlable fundiendo al menos una alícuota de un material fundible, donde la alícuota del material se puede colocar para ocluir el paso controlado,

30 (ii) proporcionar presión de gas controlable en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como generador de presión calentando al menos un microdepósito de gas que comunica con el paso,

(iii) detectar la presencia o ausencia de una microgotita en la posición seleccionada en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita detectando un indicador de capacidad térmica en una región de la posición, o

35 (iv) detectar la composición de la microgotita en la posición seleccionada en el paso seleccionado por componentes internos que actúan como sensor de presencia de microgotita enviando señales ópticas al dispositivo MF y recibiendo señales ópticas devueltas del dispositivo MF, y

40 donde la microgotita se coloca en una posición estable e incluye los reactivos necesarios para la reacción,

(c) seleccionar una petición indicada de procesamiento de microgotita a partir del programa de procesamiento proporcionado,

45 (d) generar señales de control para la petición de procesamiento de microgotita seleccionada, que son suministradas al dispositivo MF, donde las señales de control son generadas en una configuración y secuencia que son sensibles a cada petición de procesamiento de microgotita de modo que los componentes internos del dispositivo MF que sean sensibles a las señales de control funcionen conjuntamente para realizar el procesamiento de microgotita pedido en el dispositivo MF, donde la configuración y secuencia generadas de señales de control que son sensibles a una

50 petición de procesamiento de microgotita incluyen además subconfiguraciones y subsecuencias que son sensibles a cada petición de procesamiento de accionador de la petición de procesamiento de microgotita, y donde la subconfiguración y subsecuencia de señales de control que son sensibles a cada petición de procesamiento de accionador hacen que los componentes internos sensibles del dispositivo MF funcionen conjuntamente para realizar la acción pedida,

55 (e) repetir los pasos de proporcionar una petición y generar señales con cada petición de procesamiento de microgotita hasta que el programa proporcionado indique que ya no hay más peticiones disponibles para selección, y

(f) reaccionar la microgotita esperando durante un tiempo suficiente la aparición de la reacción o excitando la microgotita final proporcionando señales de control al dispositivo MF, donde la excitación es suficiente para originar la aparición de la reacción y donde el paso de reacción se realiza después de determinar, utilizando el al menos

60 único componente interno, la presencia de la microgotita dentro de una región del dispositivo MF.

Se definen características preferidas de la invención en las reivindicaciones dependientes.

65 **4. Breve descripción de las figuras**

La presente invención se puede entender más completamente por referencia a la descripción detallada siguiente de la realización preferida de la presente invención, ejemplos ilustrativos de realizaciones específicas de la invención, y las figuras anexas donde:

- 5 La figura 1 ilustra un dispositivo microfluídico ejemplar controlado térmicamente de manera preferida.
- La figura 2 ilustra una jerarquía funcional de la presente invención.
- Las figuras 3A-B ilustran la estructura preferida del sistema de control de la presente invención.
- 10 Las figuras 4A-C ilustran funciones de componente de calentamiento controlado para un procesador microfluídico preferido.
- Las figuras 5A-B ilustran funciones de componente generador de presión para un procesador microfluídico preferido.
- 15 Las figuras 6A-D ilustran funciones de accionador de microválvula para un procesador microfluídico preferido.
- Las figuras 7A-C ilustran funciones de movimiento de microgotita para un procesador microfluídico preferido.
- 20 Las figuras 8A-D ilustran funciones de medición de microgotita para un procesador microfluídico preferido.
- Las figuras 9A-E ilustran funciones de mezcla de microgotita para un procesador microfluídico preferido.
- Las figuras 10A-E ilustran funciones de reacción/análisis para un procesador microfluídico preferido.
- 25 Las figuras 11A-B ilustran funciones de accionador de detección óptica para un procesador microfluídico preferido.
- La figura 12 ilustra una función de control de reacción ejemplar.
- 30 Y la figura 13 ilustra un método ejemplar de preparación de muestra.

En las figuras de la misma designación numérica pero diferente designación alfabética, por ejemplo, la figura 5A y la figura 5B, los elementos idénticos se indican con los mismos caracteres de referencia.

35 **5. Descripción detallada de la realización preferida**

La sección 5.1 describe en general dispositivos microfluídicos preferidos controlados por los sistemas y métodos de la presente invención; la sección 5.2 describe realizaciones preferidas de estos sistemas y métodos de control en vista de las características de los dispositivos microfluídicos preferidos; la sección 5.3 describe dispositivos microfluídicos controlados térmicamente más preferidos y sus sistemas y métodos de control más preferidos; además, la sección 5.3 describe realizaciones adicionales.

45 **5.1. Dispositivos microfluídicos preferidos**

Los sistemas y métodos de la presente invención controlan dispositivos microfluídicos que operan de una manera que aquí se denomina "digital". En esta subsección, en primer lugar se describen las características generales de los dispositivos microfluídicos "digitales". Posteriormente se describe un tipo más preferido de dispositivo microfluídico "digital" controlado térmicamente.

50 **5.1.1. Dispositivos microfluídicos digitales**

Los dispositivos microfluídicos realizan reacciones químicas o bioquímicas o análisis manipulando reactivos fluidos en cámaras y pasos que por lo general tienen unas dimensiones en sección transversal de aproximadamente 10 a 50 μm (micra) hasta aproximadamente 100 a 1000 μm , y que están formados sobre o en un sustrato generalmente plano que tiene dimensiones lineales desde aproximadamente 1 mm (centímetro) a aproximadamente 20 cm. Un dispositivo microfluídico puede manipular reactivos fluidos cuando fluyen a través de los pasos y cámaras del dispositivo, como flujos continuos procedentes desde depósitos de entrada a través del dispositivo a orificios de salida, o como flujos semicontinuos de alícuotas de fluido que llenan sustancialmente los pasos y las cámaras del dispositivo durante la operación. Alternativamente, los dispositivos microfluídicos preferidos pueden manipular reactivos fluidos como microgotitas separadas y discretas que se caracterizan por tener longitudes que son aproximadamente un orden de magnitud o más pequeñas que las dimensiones del dispositivo, por ejemplo, aproximadamente de 1 a 20 mm (milímetro) o menos. Así, durante la operación, los pasos y las cámaras de un dispositivo microfluídico preferido están en gran parte libres de reactivos fluidos. Las microgotitas pueden tener, por ejemplo, volúmenes de aproximadamente 1 nl (nanolitro) a aproximadamente 1 μl (microlitro). Por ejemplo una microgotita de un tamaño de 10 μm por 100 μm por 1 mm tiene un volumen de 1 nl; una microgotita de 100 μm por 1000 μm por 10 mm tiene un volumen de 1 μl . Cada dispositivo microfluídico manipula preferiblemente microgotitas

de solamente unos pocos tamaños o volúmenes preseleccionados.

Los dispositivos microfluídicos “digitales”, en el sentido en que este término se usa y entiende aquí, son del último tipo preferido, que mantiene y manipula reactivos fluidos como microgotitas separadas y distinguibles. Los pasos y las cámaras de un dispositivo microfluídico digital tienen una pluralidad de posiciones predefinidas de modo que cada microgotita resida en una de las posiciones predefinidas o se mueva entre dichas posiciones predefinidas. Las posiciones predefinidas, denominadas aquí posiciones “estables”, son posiciones a las que una microgotita se puede desplazar y permanecer establemente en ellas, y se crean por la configuración y la disposición de pasos y cámaras, y por las fuerzas generadas en ellos. Una microgotita puede permanecer sin movimiento en una posición estable incluso mientras otras microgotitas se están moviendo entre otras posiciones estables. Las posiciones estables pueden estar en regiones donde, por ejemplo, se puede hacer que una fuerza que mueve una microgotita desaparezca de modo que una microgotita esté estacionaria, o donde se requiera una fuerza extra para el tránsito de modo que en la ausencia de tal fuerza extra una microgotita permanezca estacionaria, o donde las fuerzas que actúan en la microgotita se equilibren sin dejar una fuerza de accionamiento neta. En contraposición, el tipo menos preferido de dispositivo microfluídico que manipula flujos de fluido continuos o semicontinuos a través de pasos se puede considerar como un dispositivo “analógico”.

Las reacciones en un dispositivo microfluídico digital pueden ser especificadas en términos de residencia de microgotitas en las posiciones estables y las transiciones entre ellas. Por ejemplo, durante el movimiento entre posiciones estables, las microgotitas se pueden preparar para una reacción o análisis previstos midiendo una nueva microgotita de un depósito de fluido, o mezclando dos o más microgotitas existentes en una sola microgotita nueva, etc. (“Medir” una microgotita se entiende aquí en el sentido de crear una nueva microgotita de volumen o tamaño aproximadamente conocido). Puede producirse una reacción en una microgotita que tiene la composición necesaria mientras permanece en una posición estable. Opcionalmente, la reacción en la microgotita estacionaria puede ser excitada, por ejemplo, por calentamiento, enfriamiento o radiación, etc, o puede producirse simplemente con el paso del tiempo.

Según la presente invención es útil, aunque no se ha previsto que sea limitativo, considerar los dispositivos microfluídicos digitales como análogos a las máquinas de estado finito (FSMs). Las FSMs son conocidas en las técnicas informáticas por tener un número finito de estados o configuraciones y llevar a cabo sus funciones a través de una serie de transiciones de estado desde los estados iniciales a los estados finales, efectuándose cada transición de estado en respuesta a una entrada determinada. De forma análoga, un estado o configuración de un dispositivo microfluídico digital puede ser definido por la descripción de las microgotitas presentes en el dispositivo y la posición estable en la que actualmente permanece cada microgotita. El número de estas configuraciones es finito porque un dispositivo microfluídico digital manipula un número finito de microgotitas discretas y distinguibles que residen en un número finito de posiciones estables. La operación de un dispositivo microfluídico digital para llevar a cabo una reacción o análisis previsto se puede definir entonces por una secuencia de configuraciones desde una configuración inicial a una configuración final. En la configuración inicial, el dispositivo tiene reactivos precargados en sus posiciones iniciales y está preparado para la carga de cualesquiera reactivos o muestras restantes. Las configuraciones intermedias resultan de manipulaciones de microgotitas que forman una microgotita con los reactivos constituyentes necesarios para la reacción prevista en una posición de reacción estable. En la configuración final, la reacción prevista tiene lugar en dicha microgotita formada.

Consiguientemente, los métodos y sistemas de control de la presente invención en realizaciones preferidas están estructurados de modo que el control de reacción pueda ser especificado en términos de manipulaciones de microgotitas, o equivalentemente transiciones de configuraciones de dispositivos microfluídicos. En esta estructura, los detalles del control de dispositivo real, que dependen de la tecnología y la implementación del dispositivo, aparecen solamente en relación a realizar manipulaciones de microgotitas, y por lo demás se pueden ignorar sustancialmente para el control de reacción. En un aspecto importante, la presente invención estructura los detalles del control de dispositivo para manipulación de microgotitas incorporando características ventajosas, técnicas, y principios conocidos en la técnica informática para el control de FSMs. Por ejemplo, las posiciones estables en un dispositivo microfluídico digital pueden considerarse como uno o varios “registros”, los pasos entre estados estables pueden considerarse como “lógica combinatoria” entre los registros. La configuración de un dispositivo puede ser considerada como la ocupación de los “registros” por microgotitas, y los métodos y sistemas para dispositivos microfluídicos digitales controlados pueden diseñarse según paradigmas de diseño de transferencia de registros conocido para tipos similares de FSMs. Como otro ejemplo, un dispositivo microfluídico digital puede ser controlado de manera solapada o canalizada, donde las varias microgotitas llegan a sus posiciones en una configuración particular en tiempos diferentes, de modo que la configuración no se realice en un tiempo único en todo el dispositivo microfluídico. Tal solapamiento, o canalización, de configuraciones puede ser ventajoso porque el control canalizado, que descompone una sola operación en una secuencia de operaciones secundarias, es conocido en la técnica informática como un método de lograr una mayor producción del procesador.

En las realizaciones más preferidas a describir a continuación, los detalles de control de dispositivos hacen un uso importante de los principios de la estructura jerárquica. Se ha de entender, sin embargo, que esta analogía no tiene la finalidad de dar lugar a inferencias limitativas. Por ejemplo, los métodos y sistemas de control de esta invención no se limitan a métodos y técnicas de control de FSM conocidos.

Dispositivos microfluídicos digitales preferidos (procesadores)

5 Los sistemas y métodos de la presente invención se pueden aplicar a controlar dispositivos microfluídicos digitales generales como acaba de describirse. Sin embargo, se aplican preferiblemente a dispositivos microfluídicos digitales que tienen las propiedades adicionales siguientes:

(i) estructuras predominantemente modulares y jerárquicas, y

10 (ii) de controlabilidad principalmente por señales eléctricas de control.

15 Tales dispositivos microfluídicos digitales preferidos, a continuación llamados “procesadores” microfluídicos (o simplemente “procesadores”), son preferibles a los dispositivos microfluídicos digitales generales porque un amplio rango de diferentes procesadores puede ser controlado de forma flexible y fácil por un solo sistema de control programable que implementa métodos de control modulares y jerárquicamente estructurados. El control de un proceso microfluídico particular de una clase particular se especifica entonces invocando un módulo de control de nivel alto, que encapsula jerárquicamente detalles de control de nivel bajo para todos los procesadores microfluídicos de dicha clase particular.

20 A continuación se describen en detalle estas dos propiedades preferidas de los procesadores microfluídicos. La primera propiedad, que un procesador microfluídico tiene una construcción en gran parte modular y jerárquica, significa aquí, en primer lugar, que un procesador microfluídico está construido a partir de un número limitado de tipos de módulos funcionales básicos, por ejemplo, preferiblemente menos de aproximadamente 10 tipos de módulos, o más preferiblemente menos de aproximadamente 5 tipos de módulos. En términos de la analogía con FSM, estos tipos de módulos funcionales básicos son análogos a los tipos funcionales básicos de circuitos eléctricos, por ejemplo, puertas NAND, NOR, y flip-flops, a partir de los que se pueden construir FSMs. A continuación, los módulos básicos se denominan primariamente “accionadores”. Un conjunto ejemplar de tipos de accionadores básicos, suficientes para muchos procesadores microfluídicos (pero no necesariamente para todos), incluye accionadores del tipo de microválvula, accionadores del tipo de generación de presión (u otros tipos de accionadores de generación de fuerza), accionadores del tipo de calentamiento/enfriamiento, accionadores para supervisar el estado del procesador, etc. Las microválvulas pueden ser controladas para cerrar o abrir un paso concreto, preferiblemente de forma reversible, al movimiento de microgotitas, gases, u otro contenido del paso. Los accionadores de generación de presión pueden ser controlados para crear presión relativa de gas (o vacío relativo). Los accionadores de calentamiento/enfriamiento pueden ser controlados para realizar calentamiento o enfriamiento localizado o generalizado. Los accionadores para supervisión de estado pueden ser controlados para proporcionar una entrada que indique la posición de microgotita, temperatura local del procesador u otros parámetros. Los accionadores para excitación y detección ópticas también pueden ser deseables. Por ejemplo, la radiación puede iniciar una reacción o supervisar productos de reacción; la radiación también se puede usar para supervisar la posición y composición de microgotitas.

40 Construcción modular y jerárquica también se entiende en el sentido de que los accionadores, a su vez, están contruidos jerárquicamente a partir de componentes a nivel de dispositivo, controlables atómicamente, implementados de forma discreta. Componentes controlables atómicos o implementados de forma discreta son los componentes controlables a nivel de dispositivo que, en la tecnología usada para un procesador microfluídico particular, pueden ser implementados directamente, o son los componentes controlables más simples, o no se pueden descomponer en componentes controlables más simples, etc. Ninguna tecnología de procesador microfluídico particular tiene típicamente componentes únicos unitarios al nivel de implementación de dispositivo para todos los tipos de accionadores. Por ejemplo, en la clase preferida de procesadores térmicamente controlables a describir, no hay un solo componente de microválvula atómicamente controlable que tenga una función de microválvula disponible para construir procesadores microfluídicos. En cambio, la función de accionador de microválvula está formada a partir de varios componentes individuales, cada uno de los cuales es atómicamente controlable y se implementa discretamente y que están juntos y son controlados conjuntamente por los métodos de esta invención de manera que tengan una función de microválvula. Naturalmente, esto es similar a “macroválvulas” controlables eléctricamente que también se forman a partir de un número de componentes mecánicos y eléctricos unitarios que funcionan conjuntamente para realizar la función de válvula. También es análogo a las FSMs donde, por ejemplo, las puertas NOR no pueden implementarse directamente en muchas tecnologías de fabricación de semiconductores, sino que más bien deben construirse a partir de una disposición de puertas (formadas a su vez de transistores) formadas a partir de regiones de semiconductor, conductor, y aislador que se pueden implementar directamente. Consiguientemente, en cualquier tecnología de implementación, cada tipo de accionador básico está

60 construido a partir de varios componentes de nivel inferior e implementados de forma discreta que están dispuestos y son controlados de manera que tengan la función de accionador particular. En otros términos, los accionadores son generalmente construcciones jerárquicas de componentes de dispositivo individuales disponibles en una tecnología de implementación concreta.

65 Tal construcción sustancialmente jerárquica no excluye algunos tipos de accionadores que se pueden construir solamente a partir de un solo componente de dispositivo. En algunas tecnologías, algunas funciones de accionador

pueden implementarse directamente, sin limitación. Ni excluye una cierta cantidad de funciones microfluídicas de "finalidad especial" que pueden ser necesarias para implementar ciertas funciones limitadas y especializadas no describibles a partir de las funciones de accionador básicas y generalizadas. Preferiblemente, una función de finalidad especial ocupa menos de 20%, y más preferiblemente menos de 10%, de la zona o recuento de dispositivos de un procesador.

La construcción sustancialmente modular también se extiende preferiblemente a niveles de diseño más altos. A niveles de diseño más altos, los procesadores microfluídicos se construyen a partir de subconjuntos de un número limitado de tipos de subconjuntos. Cada tipo de subconjunto es controlado para realizar cierto tipo de manipulaciones de microgotitas; en otros términos, son los subconjuntos los que son controlados para producir las transiciones entre configuraciones de dispositivo necesarias para la reacción o el análisis previstos. De acuerdo con el principio de construcción jerárquica, cada tipo de subconjunto está construido, a su vez, de un número de accionadores individuales combinados e interconectados con pasos, cámaras, orificios, etc. En general, los métodos de esta invención tienen una estructura jerárquica en paralelo con la tecnología de procesador microfluídico de modo que los accionadores son controlados primariamente para realizar la función de subconjunto, y los componentes a nivel de dispositivo son controlados primariamente para realizar la función de accionador.

Los tipos de subconjuntos se limitan preferiblemente a menos de aproximadamente 10 subconjuntos, o más preferiblemente a menos de aproximadamente 5 subconjuntos. Un conjunto ejemplar de tipos de subconjuntos realiza la medición de microgotitas de volúmenes determinados, el movimiento de microgotitas, la combinación de dos o más microgotitas, la mezcla de una microgotita posiblemente heterogénea, la estimulación (o excitación) de una reacción en una microgotita, la observación y la detección de productos de reacción, etc. Por ejemplo, un subconjunto de medición puede usar una fuente de presión de gas para quitar un paso lleno de fluido de volumen determinado de un depósito de fluido más grande. Un subconjunto para mover una microgotita puede usar un accionador de generador de presión para generar fuerza mecánica, presión de gas, para empujar la microgotita. Un subconjunto para combinar dos microgotitas puede incluir dos pasos de entrada que convergen en un solo paso de salida, siendo controlados los pasos de entrada con accionadores de microválvula y estando provistos de accionadores de movimiento de microgotita. Se puede formar un subconjunto de mezcla de microgotitas a partir de un accionador de movimiento de microgotita que produzca un movimiento suficientemente rápido para inducir mezcla laminar. Se puede construir un subconjunto de reacción/análisis a partir de una cámara (o una longitud de paso) con acceso controlado por accionadores de microválvula, y provisto de accionadores para estimular la reacción, por ejemplo, a través de la aplicación de calor o radiación. Un subconjunto para detectar resultados de reacciones o análisis puede emplear, por ejemplo, accionadores para detectar propiedades ópticas de las microgotitas. Otros ejemplos de accionadores y subconjuntos serán evidentes a los expertos en la técnica en vista de la descripción siguiente de un procesador microfluídico digital ejemplar específico.

No se desea que la construcción en gran parte modular y jerárquica produzca innecesarias limitaciones o duplicaciones en el diseño del procesador microfluídico. Por ejemplo, aunque cada accionador es por lo general parte de un solo subconjunto, puede ser ventajoso y económico que un accionador único funcione como parte de dos o más subconjuntos. Igualmente, un componente a nivel de dispositivo puede funcionar como parte de dos o más accionadores. Cómo se puede emplear componentes o accionadores como partes de estructuras funcionales de nivel superior es a menudo específico de la tecnología.

La segunda propiedad preferida de los procesadores microfluídicos preferidos es que son controlados primariamente por señales eléctricas, y en menor medida por señales ópticas, empleándose raras veces o nunca otros tipos de señales, tal como neumáticas, hidráulicas, mecánicas, etc. Las señales de control son generadas por sistemas de control de la presente invención que operan según los métodos de la presente invención, y son intercambiadas con un procesador microfluídico controlado con el fin de controlar los componentes a nivel de dispositivo directamente controlables, y por ello realizar funciones de accionador y subconjunto de orden más alto. Las señales de supervisión pueden ser transmitidas desde un procesador microfluídico controlado a un sistema de control para reflejar el efecto de señales de control anteriores, tal como, por ejemplo, si se ha alcanzado una temperatura especificada, si una microválvula se abrió o cerró según el control, si una microgotita se movió según el control, etc. En otros términos, el control de dispositivo directo, y por ello el control de accionador y el control de subconjunto, se realiza sobre o en el procesador microfluídico principalmente en respuesta a señales eléctricas con poca o nula intervención de dispositivos externos. El uso de dispositivos externos se limita preferiblemente a la carga inevitable de muestras o reactivos no inicialmente presentes en el procesador, o para la interfaz de otro modo con el entorno externo.

Las señales de control eléctricas preferidas son de voltaje relativamente bajo (preferiblemente menos de 50 V (voltio), más preferiblemente menos de 25 V, e incluso más preferiblemente menos de 15 V o 10 V. Las señales de control enviadas a un procesador microfluídico desde un controlador pueden incluir, por ejemplo, entradas eléctricas que producen la operación del accionador interno, o entradas ópticas que excitan o examinan productos de reacción. Las entradas eléctricas pueden estar dedicadas a procesadores microfluídicos individuales o, según una realización de la invención, las entradas eléctricas pueden ser compartidas en una matriz con el fin de reducir el número de contactos externos. Las señales de control recibidas de un procesador microfluídico pueden incluir primariamente salidas eléctricas para supervisar el estado del dispositivo, por ejemplo, señales de supervisión de

temperatura, o señales de supervisión de posición de microgotitas. Las salidas de señales ópticas pueden supervisar la presencia de microgotita, características ópticas de microgotitas para determinar los resultados de una reacción o análisis, etc. Si las señales ópticas son generadas y detectadas en un procesador microfluídico en respuesta a señales de control eléctricas externas, o si las señales ópticas son generadas externamente y detectadas en un controlador (también en respuesta a señales eléctricas) e intercambiadas ópticamente, por ejemplo, por recorridos de fibra óptica con un procesador, es cuestión de implementación.

Los procesadores microfluídicos se pueden construir según cualquier tecnología que permita que los procesadores microfluídicos sean controlados configuración de microgotita por configuración de microgotita usando señales eléctricas externas. Por ejemplo, los procesadores microfluídicos se pueden construir según las técnicas de nano tecnologías a base de silicio y mecánicas. Los pasos pueden ser formados por ataque en vidrio o silicio; las válvulas pueden incluir elementos de silicio flexibles accionados por voltajes aplicados; los fluidos pueden ser movidos por nanoelementos móviles, o por presión controlada, o se pueden obtener de una fuente externa o pueden ser generados internamente. Un solo dispositivo microfluídico se puede construir en una sola tecnología, o puede incluir múltiples tecnologías.

5.1.2. Procesadores microfluídicos preferidos

Los procesadores microfluídicos preferidos utilizan primariamente accionadores térmicamente controlados con señales ópticas para supervisión o detección. En particular, se construyen según una tecnología que usa calentamiento resistivo local o enfriamiento por dispositivo Peltier para funciones de control. Por ejemplo, un procesador térmicamente controlado se puede mantener a temperatura base por un colector de calor de temperatura controlada o un elemento de enfriamiento, tal como un dispositivo Peltier, con accionadores controlados por calentamiento localizado por encima de la línea base. El calentamiento localizado lo pueden proporcionar preferiblemente calefactores resistivos de potencia baja de menos de aproximadamente 1 a 2 W, controlados ventajosamente por voltajes bajos, por ejemplo, menos de 50, 25, 15 o 10 V.

La fuerza mecánica, cuando sea necesaria a efectos de control, la puede proporcionar la presión de gas generada por el calentamiento localizado aplicado a un depósito de gas dentro de un procesador. Por ejemplo, la presión de gas controlada puede ser usada directamente para producir el movimiento de las microgotitas. También se puede usar presión de gas controlada para controlar microválvulas haciendo que un elemento de obstrucción se mueva a un paso y lo cierre, mientras que el retorno a la presión normal puede hacer volver el elemento de obstrucción y abrir el paso. En una realización preferida, el elemento de obstrucción puede ser un sólido de punto de fusión bajo, que se funde para operación de válvula también por calentamiento localizado. Las microválvulas controladas térmicamente pueden actuar para introducir presión relativa proporcionada externamente o vacío relativo a un procesador para alimentar accionadores más complejos. La fuerza mecánica controlada térmicamente también puede ser generada por otros medios, tal como por otros fluidos termosensibles, por materiales diferencialmente expansibles, etc. Además, se puede aplicar directamente calentamiento y enfriamiento localizados a microgotitas para control de reacción. Además, se puede usar señales eléctricas para control de accionador de otras formas, tal como fuerzas magnéticas o eléctricas de atracción o repulsión.

En esta realización, las señales de supervisión de dispositivo son derivadas primariamente de elementos sensibles a temperatura montados en el dispositivo, que generan preferiblemente señales eléctricas de supervisión tal como, por ejemplo, elementos resistivos o semiconductores sensibles a temperatura. El calentamiento localizado puede ser controlado exactamente por las temperaturas detectadas. Las presiones de gas se pueden controlar entonces por el calentamiento localizado controlado. La capacidad térmica local puede ser supervisada por una combinación de un sensor de temperatura con un calentador pequeño midiendo las respuestas a temperatura con respecto a una cantidad de calor determinada. Usando sensores de capacidad térmica local, la presencia o la ausencia de microgotitas pueden ser detectadas porque una microgotita tiene una capacidad térmica más alta que un paso vacío. Otras señales eléctricas de supervisión pueden ser generadas, por ejemplo, detectando la impedancia eléctrica local, que puede proporcionar medios alternativos para detectar la presencia de microgotita. Microsensores con elementos conductores deformables pueden realizar la detección directa de presiones locales.

Se puede usar señales ópticas en procesadores microfluídicos preferidos donde sea ventajoso. Por ejemplo, la radiación dispersada puede proporcionar el medio más simple de detectar u observar la reacción o los resultados de análisis. La radiación incidente puede ser útil para iniciar o estimular una reacción o análisis. Además, los sensores de posición de microgotita pueden ser de base óptica.

Con más detalle, la figura 1 ilustra, esquemáticamente y no a escala, un procesador microfluídico integrado ejemplar construido de la manera modular y jerárquica preferida en una realización de la tecnología de control térmico preferida. Este procesador microfluídico integrado está diseñado para realizar un análisis de muestras a través de los pasos siguientes: medir microgotitas predeterminadas de dos fuentes, por ejemplo, una fuente de la muestra y una fuente de reactivos de análisis; mezclar las microgotitas medidas para formar una tercera microgotita homogénea; realizar una reacción de análisis de temperatura controlada en la tercera microgotita; y finalmente, supervisar ópticamente los resultados del análisis.

Este procesador microfluídico ejemplar se construye a partir de tres tipos de subconjuntos, construyéndose cada subconjunto a partir de tres tipos de accionadores, y construyéndose cada accionador a partir de un tipo de componente a nivel de dispositivo controlable. El procesador también contiene componentes pasivos como pasos, depósitos, orificios, salidas, conductores ópticos, etc. En particular, este procesador tiene cuatro subconjuntos separados: dos subconjuntos de medición de microgotita, medición1 y medición2; un subconjunto de mezcla, mezcla1; y un subconjunto de reacción/detección, referenciado reacción/detección1. Estos subconjuntos se han construido a partir de tres accionadores de calentador controlables, seis accionadores de válvula controlables, y un detector óptico, todos ellos interconectados con entradas pasivas, rebosamientos, respiraderos, y depósitos. Los subconjuntos tienen los componentes siguientes: el subconjunto medición1 incluye entrada1, rebosamiento1, válvula1, calentador1, y el paso 1; el subconjunto medición2 incluye entrada2, rebosamiento2, válvula2, calentador2, y el paso 2; el subconjunto mezcla1 incluye calentador1 (y opcionalmente calentador2), válvula3, válvula4, respiradero1, respiradero2, el paso en forma de Y 3 y el paso 4; y el subconjunto reacción/detección1 incluye válvulas5, válvula6, calentador3, y el paso 5. Aquí, calentador1 y calentador2 se incluyen en ambos subconjuntos de mezcla y medición. Además, calentador1, válvula3, válvula4, respiradero1, respiradero2, y los pasos 1 y 4 solos pueden formar un subconjunto de movimiento de microgotita. Por último, además de pasos pasivos, el procesador se ha construido a partir de solamente un tipo de componentes a nivel de dispositivo controlables, calefactores resistivos localizados. Preferiblemente, los calefactores resistivos están acoplados operativamente a detectores de temperatura resistivos que proporcionan información de realimentación.

Antes de describir la operación del subconjunto, se describen configuraciones de paso ejemplares para crear y definir posiciones estables. En general, las posiciones estables son creadas por regiones hidrófobas, o por la disposición relativa de pasos principales y pasos laterales ventilados. (Los pasos principales son pasos continuos a lo largo de los que las microgotitas son manipuladas; los pasos laterales son pasos de extremo ciego que se bifurcan de los pasos principales). En primer lugar, las regiones hidrófobas, por ejemplo las regiones h1-h6 de la figura 1, son regiones limitadas cuyos interiores han sido tratados para que asuman un carácter hidrófobo, mientras que el resto de los interiores de paso tienen un carácter hidrófilo, o al menos humectable (normalmente o por tratamiento). A causa de los efectos de tensión superficial en las microgotitas, las microgotitas predominantemente acuosas avanzarán en las regiones hidrófilas de los pasos con menor impedimento que cuando avanzan en las regiones hidrófobas. En efecto, por lo tanto, existe una barrera en las uniones entre regiones hidrófilas e hidrófobas: las regiones hidrófilas "atraen" microgotitas acuosas, mientras que las regiones hidrófobas "repelen" tales microgotitas. Así, estas uniones hidrófobas-hidrófilas definen posiciones relativamente estables; para atravesarlas una microgotita requiere fuerza extra. A causa de los efectos "repulsivos" de las regiones de entrada hidrófobas h1, h2, h5, y h6 de los pasos a calentador1, calentador2, respiradero1, y respiradero2 en la figura 1, en comparación con los efectos "de atracción" de los interiores sustancialmente hidrófilos de los pasos adyacentes 1, 2 y 4, las microgotitas no pueden penetrar en estos pasos "protegidos" de forma hidrófoba. Igualmente, se requiere fuerza extra para hacer que las microgotitas acuosas pasen por las regiones protegidas de forma hidrófoba h3 y h4, que por lo tanto definen regiones estables entre los pasos principales 1-2 y paso principal en forma de Y 3. En el caso de microgotitas predominantemente hidrófobas, las características de los pasos hidrófobos y hidrófilos se invierten.

La presente invención incluye otros métodos de crear posiciones estables que serán evidentes a los expertos en la técnica en vista de la presente descripción. Por ejemplo, colocando un respiradero controlable junto a un paso con una válvula, se puede crear una posición estable cuando la válvula se cierre y el respiradero esté abierto.

Dado que el efecto de las fuerzas gravitacionales es despreciable en las dimensiones espaciales usadas en estos dispositivos, se puede explotar la tensión superficial diseñando diferencias locales del tamaño de paso dentro del dispositivo, tal vez en unión con regiones hidrófobas adyacentes. Por ejemplo, dado que un paso estrechado tomará fluido de un paso más grande por los efectos de la tensión superficial, se puede crear una posición relativamente estable donde un paso relativamente estrecho se une a un paso relativamente más ancho. Esta posición estable se puede reforzar mediante la presencia de una región hidrófoba adyacente.

También se pueden crear posiciones estables por una configuración local de pasos, preferiblemente donde un paso lateral protegido de forma hidrófoba es ventilado a las bifurcaciones exteriores de un paso principal. Por ejemplo en la figura 1, si una microgotita se está moviendo a lo largo del paso 4 hacia el respiradero 3 por la presión aplicada a su superficie izquierda, y si válvula3 está cerrada mientras que válvula4 está abierta, entonces la microgotita llegará a estar en la posición estable en el paso 5 justo más allá de la entrada al paso lateral que conduce a respiradero2. La microgotita no penetrará en el paso lateral a respiradero2 a causa de la región hidrófoba h6, y no pasará al paso 5 porque toda la presión aplicada se liberará a través de respiradero2 al exterior. Por lo tanto, esta posición, justo más allá del paso lateral a respiradero2, es una posición estable si válvula3 y válvula4 son accionadas adecuadamente. (Si válvula4 está cerrada, la microgotita seguirá moviéndose a través del paso 5). De esta manera, los pasos laterales con válvula y ventilados con entradas protegidas de forma hidrófoba también definen posiciones estables.

En resumen, las regiones hidrófobas h3 y h4 crean posiciones estables adyacentes en los pasos 1 y 2, respectivamente. Los pasos laterales a respiradero1 y respiradero2, protegidos de forma hidrófoba por las regiones h5 y h6, respectivamente, definen regiones estables adyacentes y a la derecha de sus uniones con el paso 4.

Pasando ahora a las operaciones del accionador y después al subconjunto, los accionadores de microválvula, por ejemplo, válvula1-válvula6, utilizan preferiblemente elementos fundibles, por ejemplo, m1-m6, respectivamente, para obstruir de forma reversible, bajo el control de presión de gas, sus respectivos pasos controlados. Para simplicidad de la ilustración solamente, las microválvulas se ilustran esquemáticamente en la figura 1 teniendo solamente un elemento calentador, mientras que, en una realización preferida descrita más adelante (figuras 6A-B), tienen en general tres calefactores separados y un sensor de temperatura (también hasta tres sensores de temperatura). Calentador1 y calentador2, que calientan sus respectivos depósitos de gas, forman accionadores de generador de presión de gas térmicamente controlados, que son parte de subconjuntos de formación y movimiento de microgotitas. El calentador 3, que calienta el paso 5, realiza el control térmico de reacciones en las microgotitas presentes en este paso. Los resultados de las reacciones completadas en el paso 5 son detectados en este procesador microfluídico ejemplar por un accionador óptico, a saber, el conductor óptico de entrada o1, que conduce la radiación incidente a la región de reacción, y el conductor óptico de salida o2, que conduce la radiación dispersada y emitida de la muestra para análisis. La radiación incidente puede estar en las bandas IR, visible o UV según sea preciso para una aplicación particular. Se puede emplear otros medios de detección en otras aplicaciones.

Las operaciones de los subconjuntos resultan de las operaciones coordinadas de sus accionadores de componente. En primer lugar, dos accionadores de movimiento de microgotita mueven las microgotitas a lo largo de los pasos 1 y 2 por medio de las presiones de gas generadas por generadores de presión controlados por calentador1 y calentador2, respectivamente. A continuación, el subconjunto medición1, que se compone de los accionadores válvula1, calentador1, entrada1, rebosamiento1, y el paso 1, mide una microgotita de volumen determinado a partir de una alícuota de fluido introducido a través del orificio entrada1 de la siguiente manera. Inicialmente, si no están abiertas ya, válvula3 y válvula1 se abren de modo que el paso lateral a respiradero1 no esté bloqueado. A continuación, se introduce fluido a entrada1, por ejemplo, por un dispositivo externo manual o robótico, y fluye hasta la posición estable creada por la primera región hidrófoba h3 justo más allá del ensanchamiento del paso 1, saliendo el fluido excedente a través del orificio rebosamiento1. La región h1 evita que el fluido introducido entre en el paso lateral a calentador1. Finalmente, la presión de gas controlada generada por calentador1 quita la microgotita del fluido introducido que está entre la unión del paso lateral a calentador1 y la región h3, y la impulsa más allá de la unión con el paso lateral a respiradero1. La región h5 evita que la microgotita entre en el paso lateral a respiradero1, y respiradero1 permite que escape la presión de gas propulsor. El subconjunto medición2 está construido y opera igualmente. (Opcionalmente, puede haber válvulas, no ilustradas, junto a entrada1 y entrada2 con el fin de evitar que los pasos 1 y 2 se rellenen después de medir la gotita).

El subconjunto mezcla1 mezcla dos microgotitas de diferentes constituyentes, que se han colocado de forma adyacente en la posición estable creada por la unión del paso principal 4 y el paso lateral a respiradero1, de la siguiente manera. En primer lugar, válvula3 (y válvula1 y válvula2) se cierran de modo que las microgotitas situadas adyacentes en el paso 4 puedan ser impulsadas hacia el paso 5. A continuación, se genera presión de gas por calentador1, o por calentador2, o por ambos, de modo que las dos microgotitas en el paso 4 sean movidas a la posición estable más allá de la unión del paso lateral a respiradero2. Es importante que la presión generada es controlada de modo que el movimiento sea suficientemente rápido para mezclar las microgotitas. Finalmente, el subconjunto restante ilustrado en la figura 1, el subconjunto reacción/detección1, que incluye válvula5, válvula6, calentador2, o1, o2, y el paso 5, opera de la siguiente manera. Después de colocar una microgotita mezclada de la composición correcta en el paso 5, este paso se sella cerrando válvula5 y válvula6. A continuación, calentador3 es controlado para estimular una reacción en la microgotita atrapada, y los resultados de la reacción estimulada son detectados ópticamente por la radiación conducida por o1 y o2.

La figura 1 también ilustra cables y conectores externos para las señales eléctricas y ópticas. Por ejemplo, los cables de supervisión y control 8 para válvula1 se ilustran esquemáticamente como dos cables que se extienden desde la válvula al borde del procesador microfluídico que termina en los conectores 10. (Una ilustración plena y completa de una microválvula tiene preferiblemente cuatro, o seis o más cables de señal). Aunque los cables 8 se ilustran aquí sustancialmente rectos, en la mayoría de los procesadores microfluídicos con más accionadores y cables, los cables se curvan para evitar obstáculos y otros cables, o se combinan donde lo permitan los requisitos de control, o se cruzan uno con otro separados por películas aislantes. Los conectores de terminación están preferiblemente estandarizados, por ejemplo, como una matriz de pines que pueden alojarse en un casquillo externo, o, como se ilustra aquí, como salientes redondeados a lo largo de los bordes de procesador que pueden ser recibidos por contactos de acoplamiento en una toma en un sistema de control. Además, se ilustran conductores ópticos ejemplares o1 y o2 extendiéndose sustancialmente rectos desde el subconjunto de reacción/detección a acoplamientos o conectores óptico 7, también preferiblemente estandarizados para conexión rutinaria a fuentes de radiación externas y detectores. Además, estos conductores pueden tener que curvarse o cruzar obstáculos. Los conductores ópticos pueden incluir tubos de luz, fibras ópticas, u otros medios para transmisión espacial de una señal óptica.

Según una realización preferida de la invención, el número de conectores de terminación requerido para el control de una pluralidad de accionadores se puede reducir disponiendo/compartiendo, en forma de una matriz, el cableado de contacto a cada accionador. La compresión resultante del número de conectores de terminación simplifica ventajosamente la comunicación con todo el procesador microfluídico. Mientras que cada accionador requiere dos

5 cables para completar un circuito eléctrico, según una disposición convencional de los cables y contactos, un dispositivo incluyendo N accionadores incluye 2N cables y 2N contactos terminales. Sin embargo, configurando el cableado de contacto en una matriz, el número de conectores terminales requeridos se puede reducir a tan sólo $2\sqrt{N}$. Por ejemplo, en un dispositivo hipotético incluyendo 100 accionadores, el número de contactos externos se puede reducir de 200 a 20. Esto simplifica en gran medida el control del cableado externo y el dispositivo.

10 Como se ha indicado anteriormente, la compresión se realiza disponiendo los contactos en una matriz. Según esta disposición, los contactos eléctricos para los N accionadores están configurados en R filas y C columnas de tal manera que el producto $RC=N$, preferiblemente donde R es aproximadamente igual a C, y muy preferiblemente donde $R=C$. Con esta disposición, los accionadores situados en una fila dada comparten un contacto eléctrico común. Igualmente, los accionadores dispuestos en una columna dada también comparten un contacto. Pero cada accionador tiene una dirección única, dada por su combinación única de fila/columna. Por lo tanto, cada accionador puede ser accionado individualmente suministrando corriente eléctrica a la combinación de fila/columna apropiada.

15 También es preferible que los procesadores microfluidicos para control por la presente invención estén físicamente estandarizados de modo que los procesadores microfluidicos diseñados para diferentes reacciones o análisis puedan ser controlados por unos sistemas de control externos únicos. La estandarización limitará, por ejemplo, un procesador microfluidico a solamente unos pocos tamaños seleccionados. Los conectores eléctricos y ópticos se limitarían a formas, posiciones y alineaciones estándar. Los orificios de entrada, los orificios de rebosamiento, los respiraderos, etc, se limitarían a formas y posiciones estándar (para fácil acceso robótico). Otra característica preferible de los procesadores microfluidicos que promueve la estandarización es una función de autodescripción. Un procesador se puede describir proporcionando sus componentes controlables y pasivos, sus relaciones e interconexiones mutuas, y, por cada componente controlable, la identidad de los conectores para sus señales de control y supervisión. Esta información autodescriptiva puede ser usada por los métodos y sistemas de control para generar señales de control correctas en los conectores correctos para un procesador microfluidico particular, de otro modo tal información autodescriptiva debe ser introducida explícitamente por un usuario o estar "codificada permanentemente" en los métodos. Esta función se puede implementar de varias formas. Por ejemplo, toda la información autodescriptiva puede estar almacenada en los procesadores microfluidicos; alternativamente, un procesador puede almacenar en una base de datos una clave de esta información autodescriptiva que esté almacenada en otro lugar.

20 Una descripción adicional de la construcción y del funcionamiento de los procesadores microfluidicos preferidos se ofrece en las Patentes de Estados Unidos números 6.048.734, 6.057.149 y 6.130.098, concedidas el 11 de Abril de 2000, el 2 de Mayo de 2000 y el 10 de Octubre de 2000, respectivamente.

35 5.2. Sistemas y métodos de control preferidos

Los sistemas de control de la presente invención controlan dispositivos microfluidicos digitales generales, y generan información de control física en modalidades y secuencias apropiadas para hacer que los dispositivos microfluidicos realicen una reacción o análisis previstos como una secuencia de configuraciones o transiciones de "estado". Comenzando en una configuración inicial, el dispositivo microfluidico es controlado para pasar a través de una serie de configuraciones intermedias, y para completar la operación en una configuración final en la que se realiza la reacción o el análisis previstos. Cada transición de configuración secuencial resulta típicamente de la creación de una nueva microgotita por ejemplo midiendo, mezclando o moviendo una microgotita; la excitación de una microgotita por medios térmicos u ópticos, la detección de resultados de reacción, etc. Durante estas operaciones, un dispositivo microfluidico genera preferiblemente señales de supervisión que los sistemas y métodos de control utilizan para asegurar la terminación exitosa de cada operación.

50 En realizaciones preferidas, los sistemas y métodos de control de esta invención controlan dispositivos microfluidicos digitales que también están contruidos de forma modular y jerárquica y son controlados con señales eléctricas y ópticas como se ha descrito anteriormente. En otros términos, en realizaciones preferidas la presente invención controla procesadores microfluidicos. Más preferiblemente, los procesadores microfluidicos controlados son implementados en una tecnología térmicamente controlada y están físicamente estandarizados, también como se ha descrito. Aunque la descripción siguiente se limita en gran parte a esta realización más preferida, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente cómo generalizar las realizaciones preferidas descritas para el control de procesadores microfluidicos generales de otras tecnologías, y también de dispositivos microfluidicos digitales generales.

60 Por lo tanto, en esta realización más preferida, los sistemas de control de la presente invención generan señales eléctricas (y ópticas) para controlar los componentes de nivel de dispositivo individualmente controlables de procesadores microfluidicos térmicamente controlados preferidos. Opcionalmente, los sistemas también reciben señales de supervisión eléctricas (y ópticas). Entonces, los métodos de control de esta invención ordenan a los sistemas de control de la presente invención que generen señales que reflejen la construcción modular y jerárquica de los procesadores microfluidicos preferidos. Se generan señales que controlan los componentes de nivel de dispositivo individualmente controlables para hacer que estos componentes funcionen conjuntamente como accionadores. Además, estas señales son generadas para hacer que los accionadores funcionen conjuntamente

como subconjuntos que manipulan microgotitas. En el nivel de control más alto, estas señales son generadas para hacer que los subconjuntos funcionen conjuntamente de modo que el procesador microfluídico en conjunto realice una reacción o análisis previsto, pasando preferiblemente a través de una secuencia de configuraciones predeterminadas diseñadas para realizar la reacción.

Esta generación jerárquica de señales también se puede considerar como generación de señales limitada jerárquicamente. Repitiendo, al nivel de dispositivo, un procesador microfluídico preferido está compuesto por componentes individualmente controlables que se pueden construir según una nanotecnología elegida como una sola entidad atómica y elemental, que no se puede descomponer de forma sustancial o significativa para construcción como un grupo de más entidades elementales. La primera limitación es que las señales de control son generadas de modo que estos componentes individualmente controlables funcionen conjuntamente solamente como accionadores, es decir, de modo que las señales de control de componente sean determinadas por las funciones de control de accionador pedidas. Una segunda limitación es que entonces las funciones de control de accionador son generadas de modo que los accionadores controlables separados actúen conjuntamente solamente como subconjuntos que manipulan el procesado, es decir, de modo que las funciones de control de accionador sean determinadas por la función de control de subconjunto pedida, también tal vez representada como señales de control de subconjunto. Finalmente, las funciones de "control de subconjunto" son pedidas según un guión, o programa, de modo que el procesador microfluídico realice configuraciones que vayan desde una configuración inicial a una configuración en la que se realice la reacción o el análisis previsto.

Desde cualquier punto de vista, un procesador microfluídico se controla preferiblemente según la presente invención "programando" el sistema de control de modo que los subconjuntos funcionen logrando las configuraciones correctas en la secuencia correcta necesaria para completar una reacción. Esta "programación" es en términos de función de subconjunto, tal como la creación, la mezcla, el movimiento, la excitación térmica (u otra), y la detección de resultados de reacción en microgotitas. En otros términos, esta "programación" es en términos intuitivamente familiares al laboratorio químico donde se miden, mezclan, calientan, etc, reactivos. Son los sistemas y métodos de la presente invención los que entonces convierten, o interpretan, o procesan de otro modo dicho "programa de subconjunto" para generar las señales de control detalladas correctas para todos los componentes de procesador microfluídico individualmente controlables, y generan preferiblemente estas señales de modo que los componentes de procesador microfluídico individuales funcionen como accionadores y los accionadores funcionen como subconjuntos. Expresado de forma diferente, estos métodos de la presente invención, realizados por los sistemas de la presente invención, ejecutan las limitaciones jerárquicas descritas y encapsulan el detalle a nivel de dispositivo de un procesador microfluídico controlado. Al usuario final se le presenta un control ampliamente simplificado o tarea de "programación".

Estos "programas de subconjunto" son realizados por sistemas de control de la presente invención que están estructurados preferiblemente como una jerarquía de al menos dos niveles. En el nivel más alto hay uno o más componentes programables, por ejemplo, un ordenador tipo PC o un microprocesador embebido. En el nivel siguiente se incluye circuitería de interfaz periférica que está bajo el control de los componentes programables y que realmente genera y responde a las señales de control eléctricas (y ópticas). Los métodos de la presente invención se implementan entonces preferiblemente como programas para este aparato programable que hacen que el aparato programable controle la circuitería periférica para generar y recibir señales de control pasadas a y de los componentes individualmente controlables en el procesador microfluídico controlado.

Con más detalle, los programas de "subconjunto", que son suministrados por un usuario para hacer que un procesador microfluídico realice una reacción o análisis previsto, son alternativamente listas de funciones de subconjunto que el procesador tiene que realizar por orden, o listas de configuraciones de procesador que el procesador tiene que asumir por orden. Opcionalmente, estas listas de programa pueden incluir órdenes para pruebas, bifurcación o iteración. Las pruebas y la bifurcación son ventajosas donde un procesador microfluídico genera señales de supervisión y donde los sistemas y métodos de esta invención hacen que la información supervisada esté disponible al nivel del "programa de subconjunto". Entonces, los métodos de la presente invención convierten, compilan, interpretan o hacen de otro modo que los sistemas de control programables que actúan a través de la circuitería periférica de control generen las señales de control pedidas jerárquicamente estructuradas o limitadas para el procesador microfluídico.

En una implementación preferida, la estructura jerárquica de las señales de control, o, equivalentemente, las limitaciones en la generación de señales de control, se puede implementar entonces preferiblemente como una estructura jerárquica correspondiente de funciones de generación de señal. En tal estructura, cuando las funciones a un nivel particular actúan de manera correctamente limitada solamente por medio de funciones de niveles inferiores, la estructura de señal y las limitaciones se mantendrán automática y fácilmente en todos los niveles mientras las funciones de nivel inferior también mantengan sus limitaciones de nivel inferior. Por ejemplo, las funciones de "nivel de subconjunto" realizan funciones de microgotita pidiendo secuencias correctas de funciones de "nivel de accionador" sin ocuparse de cómo los accionadores son implementados por componentes de procesador individuales. Las funciones de "nivel de accionador" piden secuencias correctas de órdenes de dispositivo, sin ocuparse de cómo se implementa un procesador microfluídico térmicamente controlado. Finalmente, solamente las funciones de "nivel de componente" convierten realmente los programas de usuario a generación de señales de

control y reciben realmente señales de supervisión, y contienen la mayoría de los detalles de implementación del dispositivo térmicamente controlado.

Tal organización jerárquica de funciones de control, junto con datos concomitantes, se puede expresar en muchos lenguajes de programación adecuados y paradigmas de ingeniería de software. Por una parte, los métodos de la presente invención pueden esperar a traducir programas de subconjunto proporcionados por el usuario a peticiones de función hasta la operación del procesador microfluídico controlado. Por ejemplo, funciones de control de componente, accionador y subconjunto pueden implementarse como objetos en un sistema de programación orientado a objeto (usando un lenguaje orientado a objeto como C++). Aquí, las funciones de control son métodos de objeto y son ejecutadas en secuencia en respuesta a un mensaje de método intercambiado durante la operación. Igualmente, los métodos pueden implementarse como un sistema interpretativo que también invoca funciones solamente durante la operación. Por otra parte, estos métodos pueden traducir programas durante un paso de compilación inicial. Por ejemplo, las funciones de control de los varios niveles pueden implementarse como macros (usando un lenguaje procedimental con una facilidad de macros como C) en un paradigma procedimental, que traducen cada orden de subconjunto a una pluralidad correspondiente de órdenes de accionador, de modo que los programas sean traducidos a instrucciones para el aparato programable. Son posibles las implementaciones mezcladas. Por ejemplo, las funciones de control pueden representarse como rutinas de librería, o las funciones de nivel superior pueden ser objetos y las funciones de nivel inferior pueden ser macros.

Los datos para los métodos de la presente invención incluyen, por ejemplo, la configuración actual del procesador microfluídico y el estado actual de los accionadores y componentes en el procesador. Estos datos (incluyendo cambios de microgotita entre configuraciones sucesivas) pueden representarse de maneras ventajosamente adecuadas para uso por funciones de control de microgotita.

5.2.1. Métodos de control

Esta subsección describe estructuras preferidas para las funciones de generación de señal de control junto con estructuras preferidas para sus datos y parámetros, ambas para un procesador microfluídico térmicamente controlado de la implementación preferida. Las descripciones siguientes se aplican a cualquier paradigma de implementación: para implementación con objetos, se describe la jerarquía de objetos; para implementación procedimental con macros, se describe la jerarquía de inclusión de macros; para implementación procedimental con rutinas de librería, se describe la jerarquía de invocación de procedimientos. Los expertos en la técnica serán fácilmente capaces de aplicar la descripción siguiente al paradigma elegido. Además, aunque lo siguiente describe una asignación actualmente preferida de funciones a niveles jerárquicos, los métodos de esta invención son fácilmente adaptables a otras asignaciones de funciones, e incluso a otras definiciones de funciones. En particular, el agrupamiento de componentes en accionadores puede ser dependiente de la implementación y la tecnología. Además, puede haber menos niveles funcionales, por ejemplo, solamente los niveles de subconjunto y accionador, o más niveles funcionales, donde sea ventajoso.

Estructuras funcionales preferidas

La figura 2 ilustra una organización jerárquica ejemplar y no limitadora, pero preferida, de funciones de generación de señal para un procesador microfluídico térmicamente controlado implementado en una tecnología preferida. Esta figura ilustra cuatro niveles de función, un nivel de componente, un nivel de accionador, un subconjunto (que se identifica funcionalmente en la figura 2 como un nivel de configuración o microgotita), y un nivel de usuario. Dado que una función de nivel superior actúa solamente invocando funciones de nivel inferior, cumplen necesariamente no solamente sus propias limitaciones, sino también las limitaciones de todas las funciones de nivel inferior. Como se ha descrito, esto asegura que las señales de control de procesador generadas en último término cumplan toda la estructura jerárquica preferida y las limitaciones.

En primer lugar, las funciones de nivel más bajo son funciones de nivel de componente 15b, que son preferiblemente las únicas funciones que producen directamente la generación de señales eléctricas y ópticas para control de los componentes de procesador microfluídico individualmente controlables. Por ejemplo, la función primitiva de "control de corriente/voltaje" hace que el sistema de control genere o supervise señales de control eléctricas especificadas. La función de "control de conmutador externo" hace que el sistema de control conmute estos generadores de señal a conectores de señal. (La función de "control de conmutador interno" controla los conmutadores internos a un procesador microfluídico, que, si están presentes, enrutan las señales eléctricas de control desde el procesador a conectores a componentes internos). Por lo tanto, la acción conjunta de estas dos funciones genera y supervisa señales eléctricas de control entre el sistema de control y los componentes de procesador controlados eléctricamente. Los conectores correctos para control de componentes concretos se pueden determinar a partir de los datos autodescriptivos de procesador microfluídico antes descritos, que incluyen dicha información de conector-componente. En el caso de procesadores microfluídicos autodescriptivos preferidos, esta información autodescriptiva, o una clave para ella, puede obtenerse del procesador microfluídico propiamente dicho. La función que lee esta información de un procesador se llama la función "detectar tipo de dispositivo". Finalmente, las funciones "control de diodo láser" y "control de fotodiodo" proporcionan un control similar de señales ópticas.

El nivel 15 también puede incluir ciertas funciones simples adicionales 15a, que implementan acciones algo más complejas que las acciones de los componentes de dispositivo atómicamente implementables, pero que, no obstante, son simples y se clasifican mejor como componentes más bien que como accionadores. Las funciones 15a pueden invocar funciones 15b u otras funciones 15a. Un ejemplo de tal función de nivel de componente generalizada es la función “detectar temperatura”, que envía la temperatura en un elemento sensor dado. Dado un elemento especificado (resistivo) de supervisión de temperatura, sus contactos externos pueden ser indicados por datos descriptivos de procesador microfluídico. La salida eléctrica de estos contactos indicados puede ser supervisada entonces por las funciones de “control de corriente/voltaje” y “control de conmutador externo”, y luego convertida a una temperatura en vista de propiedades físicas conocidas del sensor dado. El “calentamiento de controlador” puede aplicar, usando las funciones de control y conmutación más simples, una potencia dada a un elemento calentador dado, o puede ajustar la potencia aplicada en vista de la salida de una función “detectar temperatura” para lograr una temperatura dada.

Estas funciones de nivel de componente y sus implementaciones sugeridas no pretenden ser limitativas. En primer lugar, se puede definir otras y adicionales funciones de nivel de componente; las funciones enumeradas son ejemplares y no exhaustivas. En segundo lugar, dado que las funciones de nivel de componente son determinadas típicamente por las tecnologías de implementación, serán típicamente diferentes para procesadores microfluídicos de diferente tecnología. Incluso dentro de una sola tecnología, los detalles de calentamiento, detección, etc, difieren en diferentes implementaciones específicas de procesador microfluídico. Además, incluso para un solo tipo de procesador, diferentes realizaciones preferidas pueden empaquetar de forma diferente las funciones primitivas y generalizadas de nivel de componente.

El nivel de accionador 16 incluye funciones que controlan grupos de uno o más componentes generalmente interconectados de una manera y secuencia de modo que funcionen conjuntamente para lograr una función del tipo de accionador particular. Las funciones del tipo de accionador son las asociadas típicamente con los “tubos” o la “maquinaria” necesarios para implementar una reacción química, tal como abrir o cerrar una microválvula en el procesador microfluídico, generar presión, detectar cantidades, etc. Por ejemplo, una función “detectar resultados de reacción” puede ser implementada ópticamente. Puede actuar por medio de las funciones de “control de diodo láser” y “control de fotodiodo”, primero, para hacer que la radiación incidente apropiada sea suministrada a los conectores ópticos externos apropiados para que los resultados de reacción sean iluminados, y en segundo lugar, para hacer que la radiación dispersada o emitida sea observada. Una función “detectar microgotita” puede detectar la presencia o ausencia de una microgotita midiendo, en efecto, una capacidad térmica local. Así, esta función de accionador puede proporcionar, en primer lugar, una cantidad dada de calor por medio de la función de “calentamiento controlado”, y, en segundo lugar, determinar la respuesta de temperatura por medio de la función “detectar temperatura”. Un aumento de temperatura más grande indica una menor capacidad de calor indicativa de la ausencia de una microgotita, y viceversa. Esta función también puede ser implementada ópticamente para determinar la presencia o ausencia de una microgotita en una región detectando propiedades ópticas de la región de manera similar a la función “detectar resultados de reacción”. Una función “generar presión” puede usar la función de “calentamiento controlado” a una potencia dada o a una temperatura dada con el fin de calentar gas en un depósito a una presión incrementada. La presión generada puede ser supervisada con un sensor de presión si dispone de él el procesador microfluídico. Finalmente, las funciones importantes de “abrir/cerrar” válvula se describen más adelante.

La información que describe los componentes individuales de un accionador y la interconexión indexada por un identificador de accionador se puede obtener de datos de procesador autodescriptivos. En este caso, simplemente un identificador de accionador puede ser especificado a las funciones de accionador, que entonces determinan automáticamente partes componentes a partir de los datos de procesador autodescriptivos sin requerir la atención del usuario o la entrada de esta información. A su vez, la información de componente, por ejemplo, la identificación de conector, puede ser determinada automáticamente por funciones de nivel de componente a partir de estos mismos datos.

Cabe esperar que las funciones del tipo de accionador estén más estandarizadas que las funciones de nivel de componente porque reflejan instalaciones que necesitan virtualmente todos los procesadores de reacción microfluídicos. Por ejemplo, virtualmente todos los procesadores microfluídicos tendrán microválvulas con funciones de apertura y cierre de válvula. No obstante, las funciones de nivel de accionador y su implementación sugerida aquí descrita son ejemplares, y no exhaustivas ni se pretende que sean limitativas. Por ejemplo, algunas funciones de nivel de componente, especialmente las funciones generalizadas 15a, pueden ser consideradas funciones de accionador en diferentes implementaciones. En segundo lugar, incluso aunque muchos de estos tipos de funciones de accionador puedan ser sustancialmente similares en diferentes procesadores, su implementación puede diferir de las sugeridas anteriormente dependiendo de los componentes de procesador disponibles en la tecnología de implementación. En tercer lugar, puede haber diferentes funciones de accionador para aprovechar los diferentes tipos de componente presentes en diferentes procesadores, por ejemplo, un rango más amplio de accionadores de detección puede estar presente para aprovechar una tecnología de detección más amplia.

Las funciones de configuración/microgotita 17 (realizadas, en general, por subconjuntos) son las que actúan en microgotitas, preferiblemente invocando primariamente funciones de accionador 16 de modo que las microgotitas se

- desplacen de una posición estable a otra posición estable. Por lo tanto, las funciones de configuración/microgotita 17 proporcionan que el procesador microfluídico progrese a través de configuraciones que se definen por las microgotitas presentes en un procesador y sus posiciones estables. En otros términos, una función de microgotita empieza con una o varias microgotitas en posiciones estables e invoca funciones de accionador de modo que a la terminación la una o varias microgotitas estén de nuevo en posiciones estables diferentes. Estas funciones no se completan con microgotitas en posiciones inestables, posiciones de las que una microgotita puede desplazarse espontáneamente y de manera indeterminada. Por lo tanto, las microgotitas en posiciones inestables harían imposible la operación predecible y ordenada de un procesador microfluídico, y esta situación se ha de evitar.
- La información de entrada para funciones de microgotita incluye posiciones de las microgotitas en las que actuar. Preferiblemente, esta información se puede obtener de una configuración inicial del procesador, que se actualiza con nuevas posiciones de microgotita, a una configuración final a la terminación de la función. Donde también hay accionadores de detección, estas funciones pueden comprobar la posición de microgotita e informar un error si la posición medida y la posición prevista son incoherentes. Más preferiblemente aún, usando posición de microgotita y datos autodescriptivos de procesador, estas funciones determinan automáticamente qué accionadores invocar para lograr el resultado previsto. De otro modo, la posición de microgotita, y posiblemente también los accionadores correctos, deben ser determinados por el usuario (suponiendo que las operaciones de microgotita anteriores tengan éxito) y luego introducidos en estas funciones.
- Las funciones de nivel de microgotita se facilitan preferiblemente de manera que correspondan a tipos estándar de operaciones de laboratorio químico, tal como medición, mezcla, calentamiento, etc. Así, las funciones 17 incluyen en general las funciones de medir una microgotita procedente de una fuente de fluido con el fin de formar una nueva microgotita de volumen conocido, de mover una microgotita de una posición estable a otra posición estable, de mezclar una microgotita no homogénea para formar una microgotita homogénea, de realizar una reacción por excitación térmica o de otro tipo, etc.
- Dado que los procesadores microfluídicos de esta invención actúan de forma digital manipulando microgotitas para realizar análisis químico o biológico, los tipos básicos de funciones de microgotita son en gran parte “independientes de procesador microfluídico”. Algunas funciones de microgotita, por ejemplo, la separación de constituyentes de microgotita, se pueden añadir donde lo requiera un cierto tipo de reacción. Alternativamente, algunas combinaciones de funciones de microgotita básicas pueden estar disponibles como una sola función por razones de eficiencia. Puede haber variación en los detalles de función y la implementación de función entre diferentes tecnologías y tipos de procesador. Las implementaciones preferidas de estas funciones para procesadores preferidos se describen más adelante.
- Las funciones de nivel de usuario 18 realizan el trabajo útil para un usuario final, realizando y supervisando una reacción o análisis previsto en un procesador microfluídico. Las funciones 18a, funciones de “protocolo/compilador/intérprete”, dirigen un procesador microfluídico a realizar realmente una reacción prevista. Estas funciones clave interpretan, convierten, compilan o procesan de otro modo un programa de reacción proporcionado por el usuario, preferiblemente especificado sustancialmente como una secuencia de funciones de nivel de microgotita que preparan una microgotita conteniendo los reactivos necesarios, hacen que la reacción prevista tenga lugar en esta microgotita preparada, y luego detectan o ven los resultados de reacción. Como se ha descrito, las reacciones se “programan” preferiblemente en gran parte invocando funciones de nivel de microgotita, y se basan en la jerarquía de funciones de esta invención para generar en último término las señales de control necesarias en los conectores correctos para hacer que un procesador microfluídico realice las funciones invocadas. Dado que las funciones de microgotita, así como la función de accionador y componente, encapsulan la mayor parte de los detalles de la operación de accionador de procesador, los usuarios pueden especificar ventajosamente reacciones en términos correspondientes a operaciones rutinarias de laboratorio químico. Los datos autodescriptivos de procesador microfluídico permiten dicha especificación sin atención a detalles internos del procesador.
- El nivel de usuario 18 también puede contener funciones del tipo de operador 18b, que realizan el control de procesador microfluídico permitiendo la selección del “programa” de reacción o análisis a realizar por un procesador microfluídico, iniciando el “programa” de reacción seleccionado después de preparar el procesador, y terminando la reacción y devolviendo los resultados de reacción detectados, etc. La función de operador también puede supervisar un procesador microfluídico cuando procesa una reacción. Por ejemplo, las funciones de supervisión pueden mostrar en un dispositivo de visualización apropiado una representación gráfica (o formateada de otro modo) del estado actual de un procesador microfluídico tal como la posición actual de las microgotitas, el estado actual de los accionadores y componentes del procesador microfluídico, etc, junto con indicaciones de los pasos de “programa” ya realizados y todavía por realizar. Opcionalmente, las funciones del tipo de operador pueden incluir herramientas de desarrollo de programa y depuración, por ejemplo, herramientas para introducir órdenes de función de microgotita, para “paso único” de un procesador a través de un programa, y para otras facilidades familiares de los entornos de programación de sistemas informáticos.
- Dado que una función de un nivel jerárquico particular realiza sus acciones haciendo peticiones de funciones, el intercambio de peticiones es fundamental y aquí se hace referencia a él de varias formas. Por ejemplo, una función de nivel superior puede generar, o enviar, o transmitir, etc, una petición, que después una función de nivel inferior

procesa, o acepta, o recibe, etc. Alternativamente, una función de nivel superior puede realizar una petición a una función de nivel inferior.

Estructuras de datos preferidas

5 Las funciones de generación de señal dispuestas jerárquicamente utilizan preferiblemente y mantienen ciertos datos, por ejemplo, datos autodescriptivos para el procesador microfluidoico, datos descriptivos del estado actual del procesador, y la configuración o estado de las microgotitas presentes en el procesador. Los datos autodescriptivos para un procesador microfluidoico especifican generalmente los componentes del procesador, cómo están interconectados, y por qué contactos externos son controlados. Por ejemplo, los componentes de procesador se pueden describir como una lista de componentes atómicos, su tipo, propiedades, y donde sean controlables, los conectores de control. Los accionadores también pueden describirse como una lista de su tipo, propiedades, y componentes atómicos a partir de los que están contruidos. Los contactos externos que controlan los componentes de un accionador pueden ser determinados a partir del componente del accionador y los conectores que controlan dichos componentes. La interconexión de componente se puede describir por una lista de los pasos, regiones hidrófobas, orificios de entrada, orificios de salida, los respiraderos, etc, junto con indicaciones de la conectividad de estos elementos, que se puede representar como un diagrama de flujo de red.

20 Los datos de procesador autodescriptivos pueden ser suministrados automáticamente, preferiblemente por el procesador microfluidoico, o menos preferiblemente por el sistema de control o por ambos actuando en combinación. En una realización, una memoria tipo ROM (o EPROM, u otra memoria permanente o cuasi permanente) está embebida en o sobre un procesador microfluidoico conteniendo al menos dichos datos descriptivos de procesador. Alternativamente, esta memoria puede limitarse a unos pocos (≤ 10) bytes que almacenen solamente información de tipo clave para consulta en una base de datos de sistema de control recuperando datos autodescriptivos completos. En otra realización, se puede disponer marcas legibles por máquina, tal como un código de barras, o marcas legibles por humano, tal como un número de serie, en un procesador microfluidoico. La función de componente "detectar tipo de dispositivo" obtiene estos datos autodescriptivos accediendo a la memoria embebida de procesador microfluidoico por medio de conectores estandarizados (por ejemplo conexiones "1, 2, 3 y 4" en todos los procesadores microfluidoicos), o leyendo marcas legibles por máquina, o por entrada manual de marcas legibles por humano.

35 Los datos autodescriptivos de procesador microfluidoico permiten preferiblemente la parametrización simplificada de las funciones de nivel de componente y accionador por los componentes y accionadores simbólicamente identificados. Por ejemplo, una función de "calentamiento controlado" puede ser aplicada a "calentador-6B", donde "calentador-6B" es identificado por las funciones en los datos autodescriptivos. En contraposición, la aplicación de una función de "calentamiento controlado" a contactos externos 39, 42, 43, y 68 es menos flexible. Una función de "abrir/cerrar válvula" se puede aplicar más preferiblemente a "válvula-12", en lugar de a componentes de "válvula-12" o a sus conectores. La información que describe un procesador microfluidoico también incluye preferiblemente el estado de los componentes y accionadores simbólicamente identificados. Por ejemplo, la temperatura actual, o el calentamiento pasado de "calentador-6B" es 80 C; válvula-12" está actualmente "abierta", etc.

45 Los datos de función incluyen además datos de configuración o "estado" de microgotita, que incluyen una lista de las microgotitas actualmente presentes en un procesador microfluidoico y su composición y posición actual. La composición de microgotita puede ser registrada, por ejemplo, por la fuente o fuentes a partir de las que se creó la microgotita. La posición de microgotita registra su posición inestable actual que tiene lugar solamente de forma transitoria durante transiciones entre configuraciones. Las microgotitas pueden ser especificadas simbólicamente en la configuración, por ejemplo, la sexta microgotita creada es "microdroplet-6", y las funciones de microgotita se pueden aplicar entonces a microgotitas simbólicamente especificadas. Por ejemplo, cuando se aplica la función "mover microgotita" a "microdroplet-6", la función determina dicha posición actual de microgotita a partir de la configuración de procesador actual. A partir de esta posición determinada, la función "mover microgotita" determina a continuación a partir de los datos de procesador autodescriptivos los accionadores correctos a invocar para mover "microdroplet-6," y a partir de la información de estado actual, el estado actual de dichos accionadores. Cuando los accionadores determinados son invocados, se determinan igualmente sus componentes, sus conectores de componente, y su estado de componente. Alternativamente, en realizaciones más simples pero menos preferidas, los accionadores, los componentes y los conectores pueden estar pre-especificados.

60 Finalmente, las funciones de supervisión y visualización de operador de nivel de usuario pueden visualizar dichos datos de función. Por ejemplo, la animación de las operaciones de procesador microfluidoico puede ser visualizada como un mapa de los componentes de procesador microfluidoico y sus conexiones junto con la posición actual de la microgotita y las activaciones de componente actuales. Aspectos limitados del estado actual también pueden ser seleccionados por el operador para visualización.

65 En una realización de la presente invención, se puede representar un procesador microfluidoico en un paradigma de programa orientado a objeto. En una representación de objeto ejemplar, donde algunos o todos los componentes, accionadores, microgotitas, etc, pueden ser representados como objetos, los datos mantenidos se representarían como datos de instancia de objeto, definiendo para cada objeto su tipo, estado, relación geométrica a otros objetos,

etc. Las funciones de control serían métodos que manipulan los objetos componente, accionador y microgotita. Esta función de control de procesador microfluídico se puede representar en otros paradigmas de programa donde los datos mantenidos pueden representarse como listas, tablas, árboles u otras estructuras de datos conocidas.

5 5.2.2. Sistemas de control

Un sistema de control de la presente invención tiene preferiblemente una estructura distribuida y jerárquica, generalmente en paralelo a la estructura jerárquica de funciones de control ilustrada en la figura 2. Preferiblemente, las funciones de control de nivel más bajo, tal como las funciones de nivel de componente 15 y las funciones de nivel de accionador 16, son implementadas en hardware de interfaz de sistema configurado para conexión directa a un procesador microfluídico controlado (por ejemplo, placa de adquisición de datos y control 26 en la figura 3A), mientras que las funciones de nivel más alto, las funciones de nivel de usuario 18, especialmente las funciones de operador 18b, son implementadas en hardware de usuario del sistema configurado para interacción con el usuario (por ejemplo, ordenador personal 27 en la figura 3A). Los niveles de función intermedios, el nivel de control de reacción 18a, el nivel de microgotita 17 (o nivel de configuración), y el nivel de accionador 16 pueden implementarse en la interfaz o en el hardware de usuario, o en un nivel de hardware intermedio, según convenga. (Las funciones de nivel de microgotita 17 son las funciones realizadas por los subconjuntos físicos descritos anteriormente, que, a su vez, se componen de accionadores y tal vez componentes individuales).

Los sistemas de control, y especialmente el hardware de interfaz de sistema, pueden implementarse con microprocesador electrónico, como los que se puede obtener de Intel, Motorola u otros proveedores electrónicos. Para evitar confusión, tales procesadores electrónicos de sistema de control siempre se denominarán "microprocesadores", mientras que los procesadores microfluídicos se denominarán tanto "procesadores microfluídicos" como simplemente "procesadores".

La figura 3A ilustra un control ejemplar preferido de dos niveles. El procesador microfluídico 20 se ilustra con una configuración física estandarizada incluyendo un tamaño, forma y conectores eléctricos y ópticos 21 estandarizados, que están dispuestos a lo largo de tres bordes del procesador rectangular. El procesador se representa insertado en (o quitado de) una toma de hardware de interfaz que tiene conectores eléctricos y ópticos 25 estandarizados para acoplar con contactos 21 del procesador. La mayoría de los conectores son para señales eléctricas, mientras que algunas son para señales ópticas (IR, visibles, UV) en el caso de procesadores microfluídicos ópticamente supervisados o excitados. Además, el procesador microfluídico ejemplar 20 se ilustra con tres orificios de entrada 22 para aceptar reactivos fluidos o muestras. Preferiblemente, estos orificios de entrada están en una posición estándar en el procesador de modo que el robot de laboratorio 24, si se dispone de él, pueda ser programado fácilmente para la carga automática desde los orificios de varios tipos de procesadores microfluídicos. De otro modo, los orificios deberán ser accesibles para carga manual. Donde sea posible, los reactivos también pueden estar preempaquetados en un procesador microfluídico. Además, el procesador 20 tiene un microcircuito 23 accesible a través de ciertos conectores estándar para almacenar al menos información de procesador autodescriptiva. Alternativamente, el procesador 20 puede llevar marcas, tal como un código de barras, que indiquen el tipo de dispositivo o información adicional.

El hardware de interfaz de primer nivel ilustrado incluye una placa de adquisición de datos ("DAQ") 26 directamente conectada al procesador microfluídico 20. Una placa DAQ preferido es programable, por ejemplo incluyendo un microprocesador embebido (tal como los producidos por Intel, Motorola, etc) con memoria RAM (por ejemplo, 1-8 MB), que controla circuitos de sensor/activador eléctricos y ópticos y conmutadores entre salidas de estos circuitos y conectores 25. Los circuitos de sensor/activador son conmutados entre conectores 25 bajo el control del microprocesador para proporcionar señales de control al procesador microfluídico, o para recibir señales de supervisión. Los componentes de señalización ópticos, por ejemplo fuentes de radiación de diodo láser y detectores de radiación de fotodiodo, son igualmente controlados por el microprocesador. La placa DAQ también incluye preferiblemente una interfaz externa estandarizada que permite enlaces a un amplio rango de porciones de nivel superior del sistema de control. Aquí se ilustra una interfaz serie bidireccional genérica de 5 hilos 28, similar a interfaces estándar como UART, USB, Firewire, Ethernet, etc, todas las cuales se pueden usar en esta invención. En otras realizaciones, la placa DAQ puede estar configurada para conexión a los buses de sistemas de control de nivel superior. El hardware de usuario comunica preferiblemente con una DAQ por medio de intercambio de mensajes según un protocolo estándar.

Una placa DAQ con suficientes recursos de microprocesador y memoria puede realizar virtualmente todas las funciones de control. Por ejemplo, tal placa puede realizar funciones de nivel de componente 15, funciones de nivel de accionador 16, funciones de nivel de microgotita 17, y función de control de reacción 18a. En esta realización preferida, solamente las funciones de interfaz de usuario son realizadas más eficientemente en hardware de usuario. Tal placa DAQ capaz funcionaría con la mayor parte del hardware de usuario de recursos limitados. Con una placa DAQ menos capaz, las funciones de control pueden desplazarse ventajosamente a hardware de usuario, comenzando con las funciones de control de reacción de nivel superior y descendiendo en la jerarquía de funciones. En el primer caso, habría que intercambiar mensajes de supervisión limitados entre la placa DAQ y el hardware de usuario; en el último caso, el hardware de usuario enviaría mensajes parametrizados a la placa DAQ invocando funciones de nivel inferior. Estos mensajes pueden estar divididos en paquetes para transferencia real a través de la

interfaz DAQ, y se pueden verificar los errores de la transferencia.

En realizaciones alternativas, algunas funciones de control de nivel más bajo pueden ser descargadas de la placa DAQ al hardware de control embebido en el procesador 20 propiamente dicho, por ejemplo, en el microcircuito 23. Por ejemplo, este circuito podría servir como un conmutador interno de modo que se pueda conmutar un menor número de contactos externos 21 entre un mayor número de cables de control o supervisión en el procesador, conservando así contactos externos. Otras funciones de control de componente pueden descargarse al procesador microfluídico.

El hardware de usuario (también llamado aquí un "host") es el nivel superior de los sistemas de control de esta invención. En la mayoría de las realizaciones el hardware de usuario realiza al menos funciones de interfaz de usuario 18b en la figura 2. En respuesta a entrada del usuario, estas funciones de nivel superior tienen el control final de comenzar, supervisar y parar una reacción en un procesador, y de reportar los resultados de reacción. El hardware de usuario, u host, también puede realizar funciones administrativas, entre las que se pueden gestionar las instrucciones de software y datos para sí mismo y para placas DAQ instaladas. Las instrucciones de software para hacer que el host realice sus funciones se pueden cargar de medios legibles por ordenador, tal como un disco óptico 29, o pueden descargarse de la interconexión de red 30. También se puede cargar datos en el ordenador host a partir de medios legibles por ordenador, en particular se puede cargar en el host una base de datos descriptivos de procesador microfluídico. Además, el host puede "descargar" instrucciones de software y datos a la placa DAQ, donde ésta ya no esté por estar almacenada, por ejemplo, en una ROM/tarjeta de memoria Flash o un disco duro pequeño. Este software descargado y los datos cargados hacen que la placa DAQ realice las tareas a ella asignadas. El hardware de usuario es preferiblemente programable, por ejemplo, con microprocesador, memoria y almacenamiento, y conecta con una placa DAQ controlada por medio de la interfaz estandarizada en la placa DAQ.

Los sistemas de control jerárquicos de esta invención –el hardware de usuario, la placa DAQ y, opcionalmente, el procesador microfluídico propiamente dicho- se pueden construir convenientemente en varios puntos de diseño diferentes adecuados para diferentes aplicaciones. Como se ilustra en la figura 3A, el hardware de usuario 27 puede ser un PC personal, típicamente con un microprocesador de 500 Mhz o más velocidad, con 64 MB o más de memoria, y conectado a una placa DAQ autónoma 26 por UART bidireccional 28 que conecta con el PC. Esta implementación es adecuada para aplicaciones portátiles de producción media o para uso en laboratorios pequeños.

Un punto de diseño aún más portátil es un sistema de análisis de mano, en el que el host 27 puede ser un ordenador portátil u otro tipo de ordenador de mano, la placa DAQ 26 conecta con un zócalo de "expansión" u otro enchufe o toma en el host de mano, y, a su vez, el procesador microfluídico 20 conecta con una toma de placa DAQ. El dispositivo de mano también puede incluir interfaces de comunicación remota, tal como acceso inalámbrico. Este punto de diseño tendría aplicaciones médicas en una clínica, o junto a la cama, o en una situación de emergencia, etc. También puede tener aplicaciones industriales para el "campo" de los procesos de fabricación de sustancias químicas industriales. Otras aplicaciones serán fácilmente evidentes a los expertos en la técnica.

Otro punto de diseño es un sistema de análisis de laboratorio menos portátil, pero de mayor producción, en el que el host 27 puede ser cualquier ordenador de laboratorio del tipo de PC o del tipo de estación de trabajo y una o más placas DAQ 26 con procesadores microfluídicos 20 dispuestos en varias configuraciones apropiadas. En una disposición simple, la placa DAQ puede estar en un soporte de encimera (no ilustrado) que conecta con el host 27 mediante el cable de datos 28. Alternativamente, múltiples procesadores microfluídicos 20 con sus placas DAQ asociadas pueden estar sobre un solo soporte, o múltiples soportes, y pueden estar conectados al host 27 por conexiones de red tal como conexiones Ethernet. Para automatización más completa del laboratorio, se puede disponer uno o más procesadores 20 con sus placas DAQ asociadas de modo que las muestras o los reactivos puedan ser introducidos en los procesadores por uno o varios robots de laboratorio estándar. Esto se ilustra en la figura 3A con el robot de laboratorio 24 que tiene acceso a orificios de entrada 22 del procesador microfluídico 20. Este robot de laboratorio es controlado mediante el cable 31 desde el host 27 de modo que la carga del procesador microfluídico y la operación del procesador puedan ser controladas conveniente y automáticamente desde un solo ordenador. Alternativamente, el robot puede ser controlado por un ordenador separado.

Un amplio rango de otros puntos de diseño adecuados para otras varias aplicaciones será evidente a los expertos en la técnica.

5.3. Realización térmicamente controlada preferida

En una realización más preferida, estos sistemas y métodos de esta invención se aplican a procesadores microfluídicos térmicamente controlados, como se ilustra en la figura 1. Esta subsección describe por orden los sistemas y los métodos de esta realización más preferida.

5.3.1. Arquitectura de la placa DAQ

La placa DAQ de esta realización es relativamente más capaz, y por lo tanto puede estar en interfaz con equipo de usuario, o hosts, de un amplio rango de capacidades. La arquitectura de la placa DAQ incluye tanto una arquitectura

de hardware preferida como una arquitectura de software de sistema preferida, que se describe aquí.

Arquitectura de hardware

5 La figura 3B ilustra una arquitectura de hardware preferida para placas DAQ de esta realización. En primer lugar, las placas DAQ tienen una o varias tomas, ranuras, enchufes, etc, donde uno o varios procesadores microfluidicos sustituyibles pueden estar alojados firmemente soportados con buen contacto con sus conectores externos. Los procesadores microfluidicos están montados preferiblemente sobre un sustrato relativamente resistente, por ejemplo una placa PCB. Los sustratos de procesador están estandarizados teniendo una, o a lo sumo unas pocas, formas, tamaños, y disposiciones de conector seleccionados para fácil sustitución en uno, o a lo sumo unos pocos, tipos de toma de placa DAQ correspondientes. Así, la figura 3B ilustra el procesador microfluidico 37 instalado en el sustrato 36.

15 Conectores eléctricos estandarizados 38a conectan entre líneas de control eléctricas 39 y líneas en el sustrato 36 que van al procesador microfluidico 37, y también entre líneas de supervisión elásticas 40 y líneas de sustrato correspondientes. Unos conectores ópticos 38b conectan entre conductores ópticos 42 desde fuentes de luz de placa DAQ y conductores ópticos 41 a sensores de luz de placa DAQ y conductores ópticos correspondientes en el sustrato correspondiente 36 que también van al procesador microfluidico. Los conectores eléctricos, que pueden tener muchas realizaciones, se ilustran aquí como conectores de borde que se enganchan cuando el sustrato de procesador se inserta en una toma de placa DAQ. Alternativamente, los conectores pueden ser adecuados para enganchar un cable de cinta flexible, o pueden ser tomas de múltiples pines, etc. Los conectores ópticos pueden ser de tipos conocidos para conectar cables de fibra óptica.

25 La interfaz de ordenador host 44 se selecciona preferiblemente según el tipo de host usado en un sistema de control particular. Por ejemplo, para hosts de mano, la placa DAQ puede conectar con una ranura disponible o interfaz integrada en el dispositivo de mano. Para sistemas de laboratorio que usan hosts de tipo PC o estación de trabajo, la placa DAQ proporciona un conector modular, simple, y preferiblemente estandarizado e interfaz, por ejemplo, adecuado para una conexión USB, o un Firewire, o Ethernet por cable. En la figura 3B se ilustra una interfaz serie UART simple, bidireccional, con conectores de cable 38c. La interfaz ilustrada tiene líneas de entrada y salida de datos serie y una línea de reseteo, que deberán ser capaces de poner la placa DAQ en un estado conocido. Esta interfaz también proporciona líneas de potencia y tierra.

35 La placa DAQ es alimentada preferiblemente externamente por un ordenador host (o por un soporte autónomo). Se puede suministrar potencia a voltajes estándar, por ejemplo, a +12 V, +5 V o a otro voltaje, que la placa propiamente dicha convierte y regula a los voltajes internos requeridos. Preferiblemente, una placa DAQ es capaz de negociar con el host (o con su soporte) con relación a los requisitos de potencia de la placa y un procesador microfluidico instalado, y de generar una indicación de error si el suministro de potencia no cumple los requisitos. Se conocen negociaciones de potencia similares de interfaces USB empleadas en ordenadores personales.

40 La figura 3B ilustra en general una arquitectura preferida de placa DAQ basada en microprocesador. El microprocesador y la memoria 43 (tal como RAM o ROM) comunican con el controlador de interfaz de host 44 y con el controlador de bus interno 45 por un bus de microprocesador optimizado para comunicación a alta velocidad con unos pocos dispositivos. El bus de intervalo 46 es típicamente diferente del bus de microprocesador porque está diseñado y optimizado para controlar y supervisar interfaces a numerosos controladores de circuitos periféricos de menor velocidad. El controlador de bus interno 45 enlaza el bus de microprocesador bidireccionalmente con el bus interno. Alternativamente, el bus de microprocesador puede conectar directamente con controladores de circuitos periféricos, y el bus interno se puede eliminar. Aunque no se ilustra, la placa DAQ también puede incluir uno o más discos duros de pequeño factor de forma, lectores para dispositivos flash, RAM u otras interfaces.

50 En una realización económica, la función de generación y detección de señal incluye circuitería periférica en la que un menor número de circuitos de generación y supervisión de señal controlados por bus son conmutados (o multiplexados) por circuitos de conmutación de señal controlados por bus entre un mayor número de cables o líneas para conexión a un procesador microfluidico. Así, el microprocesador controla señales de control de procesador microfluidico controlando los circuitos de generación de señal y conmutación de señal por medio del bus interno 46. Alternativamente se puede facilitar un circuito de activador/sensor para cada conector externo, y se pueden eliminar los conmutadores de señal.

60 Consiguientemente, la figura 3B ilustra circuito de activador de calentador 47, controlado por bus 46, con relativamente pocos cables de salida conmutados o enrutados por el conmutador analógico 48, también controlado por el bus 46, entre líneas de control relativamente más numerosas 39. Los circuitos de activador de calentador pueden controlar elementos calentadores en el procesador microfluidico proporcionando una fuente de voltaje o corriente constantes, o una fuente de pulsos de anchura o frecuencia controladas, o de fuentes de señales de otros esquemas de modulación. Los elementos calentadores deberán ser controlables desde potencia cero hasta una potencia máxima, donde el máximo es preferiblemente de 1,0 a 2,0 W, y más preferiblemente de 0,5 a 2,5 W. Los procesadores microfluidicos también tienen típicamente al menos un dispositivo de enfriamiento, por ejemplo un dispositivo Peltier, que se usa para establecer una temperatura operativa base apropiada para la reacción o análisis

que se realice, por ejemplo, una temperatura ambiente de aproximadamente 25°C o menos. Por lo tanto, las placas DAQ también incluyen circuitería periférica, controlable por el microprocesador para controlar dicho dispositivo de enfriamiento.

5 Igualmente, las señales de supervisión generadas en un procesador microfluídico y conducidas por líneas de supervisión relativamente más numerosas 40 son conmutadas por el conmutador 50, bajo el control del bus 46, a uno del número relativamente más pequeño de circuitos de sensores digitales 49, que puede ser un convertidor analógico a digital o similar. Además, los circuitos de sensor también pueden proporcionar señales para activar sensores cuando sea necesario. Las señales de supervisión digitalizadas son transmitidas después a un
10 microprocesador y una memoria 43 por el bus interno 46. Se generan típicamente señales de supervisión por detectores de temperatura, preferiblemente al menos un detector acompañante y para el control de cada calentador resistivo. Los detectores de temperatura son preferiblemente detectores de temperatura resistivos (preferiblemente de platino) con una resistencia en el rango de 1000 Ω a 4000 Ω a 25°C. Dado que las mediciones de temperatura tienen preferiblemente una exactitud y una resolución de aproximadamente 0,5°C, la circuitería de sensor de temperatura deberá ser capaz de medir una resistencia (para detectores de temperatura de platino) en el rango anterior con una exactitud y una resolución superior a aproximadamente 0,25%, y más preferiblemente superior a aproximadamente 0,13%.

Para las señales ópticas se puede usar un control similar basado en conmutador. La figura 3B ilustra un conmutador analógico controlado por bus 54 que conmuta una señal de control proporcionada por bus a diodos láser y activadores 53 relativamente numerosos. La salida de diodo láser es conducida después por conductores de luz 42 al sustrato 36, y a continuación al procesador microfluídico 37. Para suministrar luz de excitación a un procesador microfluídico, una placa DAQ tiene al menos uno, y preferiblemente dos o más, diodos láser (u otras fuentes de luz controlables) con un rango de potencia de 1-10 mW y con longitudes de onda útiles para excitación de reacción y
25 detección. Preferiblemente, múltiples diodos láser están provistos de una pluralidad de longitudes de onda específicas de pluralidad de diferentes procesadores microfluídicos que realizan una pluralidad de diferentes reacciones o análisis. Además, los diodos láser, o sus conductores ópticos, puede estar provistos opcionalmente de elementos ópticos, tal como filtros o polarizadores. Los circuitos de activación para los diodos láser son preferiblemente controlables (por el microprocesador) de modo que potencia de salida de láser diodo puede ser
30 ajustada en su rango.

Las señales de supervisión ópticas son recibidas por conductores de luz 41 y son detectadas por fotodiodos 51 (u otros sensores de luz). La salida de fotodiodo digitalizada es conmutada en el bus por conmutadores 54. Para supervisar la luz devuelta de un procesador microfluídico, una placa DAQ tiene preferiblemente uno o varios
35 fotodiodos, preferiblemente cuatro o cinco, o más fotodiodos con características, tales como sensibilidad a longitud de onda, corriente oscura, eficiencia cuántica, etc, específicas para las reacciones o el análisis. Se facilita preferiblemente una pluralidad de fotodiodos de varias características específicas para varios procesadores microfluídicos que realizan varias reacciones o análisis. Además, los fotodiodos, o los conductores ópticos, pueden estar provistos opcionalmente de elementos ópticos, como filtros espectrales, para adaptar su sensibilidad a la
40 reacción. Los circuitos de digitalización de fotodiodo tienen preferiblemente ganancias y rangos ajustables para acomodar fotodiodos de diferentes características.

Alternativamente, donde los conmutadores ópticos controlables están disponibles económicamente, esta
45 arquitectura ilustrada puede ser sustituida por una arquitectura conmutada similar a la de la generación y supervisión de señales eléctricas, a saber menos fuentes ópticas y sensores ópticamente conmutados entre conductores ópticos más numerosos.

La figura 3B tiene la finalidad de ilustrar, no de liminar, la arquitectura de placa DAQ preferida. En primer lugar, esta arquitectura es fácilmente escalable. Dado que los procesadores microfluídicos tienen típicamente numerosos calefactores eléctricos y sensores eléctricos muchos de los cuales pueden operar en paralelo, una placa DAQ tiene preferiblemente capacidad de activar simultáneamente al menos dos calefactores y de detectar simultáneamente al menos dos cables de supervisión, por ejemplo, teniendo dos o más pares de conmutador/activador analógicos o conmutador/sensor analógicos. Aunque en general no se requiere la generación y supervisión simultáneas de más de una señal óptica, esta capacidad se puede proporcionar si es necesario en el caso de señales eléctricas. En
55 segundo lugar, las placas DAQ se pueden basar en otros tipos de dispositivos programables y pueden tener otra disposición de componentes para generar señales de control y detectar señales de supervisión que serán evidentes a los expertos en la técnica en vista de la descripción anterior. Por ejemplo, el bus interno puede ser eliminado en favor de la comunicación directa entre el microprocesador y los elementos de generación/supervisión de señal. Además, se puede eliminar uno o más conmutadores en favor de un mayor número de circuitos de generación o
60 detección de señal. Finalmente, una sola placa DAQ puede tener tomas y circuitería periférica para controlar más de un procesador microfluídico.

Arquitectura de software

65 Una instrucción de software ejecutada por el microprocesador 43 (u otro elemento de control programable) controla la placa DAQ. En particular, las respuestas a mensajes host y la generación de señales de control son habilitadas

según las funciones de control del procesador microfluido jerárquico. Aunque la asignación de la función del sistema de control entre un host, una placa DAQ, y un procesador microfluido es flexible, preferiblemente, como se ha descrito, la placa DAQ realiza la mayor parte de las funciones de control para que el procesador microfluido tenga que proporcionar solamente autoidentificación y para que el equipo de usuario solamente tenga que proporcionar una interfaz de operador. Con ello se reduce el costo del procesador microfluido, y el equipo de usuario se libera del control del procesador microfluido en tiempo real.

Una arquitectura de software preferida es en capas como es conocido en la técnica. En la capa más baja hay un "sistema operativo", que realiza preferiblemente, por ejemplo, control de proceso de software estándar, comunicación, asignación de memoria, y acceso para control de la circuitería periférica de la placa DAQ. El control de memoria y proceso de software realiza preferiblemente control asíncrono, en tiempo real, con interfaces para lenguajes estándar, tal como C o C++. Los activadores para la circuitería periférica realizan preferiblemente control asíncrono sobre las señales eléctricas y ópticas enviadas a un procesador microfluido y detección asíncrona de señales de supervisión procedentes de un procesador controlado. Tal sistema se puede construir, por ejemplo, a partir de un núcleo Linux mínimo aumentado con activadores de circuitería periférica.

En una implementación de método basada en proceso de software, el sistema operativo ejecuta procesos de software que gestionan, por ejemplo, funciones de control de procesador microfluido, comunicación con host, y funciones administrativas de placa DAQ interna. Los procesos de software de comunicación con host implementan preferiblemente protocolos de comunicación en capas. En una capa de red, la comunicación se basa preferiblemente en paquetes con verificación de error (por ejemplo, por suma de verificación con retransmisión de paquetes perdidos o corrompidos). En una capa física, el protocolo se puede implementar por enlace de comunicación de host, como el enlace serie ilustrado desde la interfaz de host 44, Ethernet, etc, con provisión de negociación de tasas de transmisión, tamaños de paquete, etc. Se puede seleccionar protocolos ejemplares de la familia IP, tal como SLIP o TCP, o de otros protocolos conocidos.

Los procesos de software administrativos internos proporcionan respuestas, por ejemplo, a peticiones del host con respecto a estado de la placa DAQ, y la operación y el estado de un procesador microfluido instalado. Los procesos de software administrativos también pueden proporcionar actualización de software de la placa DAQ. Por ejemplo, en respuesta a una petición de estado del host, la placa DAQ deberá informar de su estado (por ejemplo, libre, reacción en curso, pasos completados, resultados ahora disponibles, etc). La placa DAQ también puede realizar pruebas de diagnóstico de la placa propiamente dicha y calibrar la circuitería de sensor en placa. En respuesta a una petición de requisitos de potencia, la placa DAQ deberá negociar la potencia que espera tomar del host con anterioridad (por ejemplo para esta reacción concreta en este procesador microfluido concreto). En respuesta a una petición de actualización de software, la placa DAQ deberá pedir o aceptar software (o microprogramas) del host. También se puede prever más peticiones y respuestas de estado interno.

Los procesos de software de control de procesador microfluido realizan funciones que se han descrito en general con respecto a la figura 2 anterior, y se describirán con más detalle más adelante con respecto a los procesadores microfluidos térmicamente controlados preferidos. En una realización preferida, el nivel de componente, el nivel de accionador, el nivel de microgotita, y la función de control de reacción proporcionada por el usuario son realizados por procesos de software de placa DAQ. Preferiblemente, al menos las funciones para medición y mezcla de gotas, ciclo de temperatura, y separación de componentes de microgotita en un medio de separación son realizadas en una placa DAQ. En una realización basada en proceso de software, las funciones para el control por procesos de software están estructuradas jerárquicamente como también la función propiamente dicha. Por ejemplo, un proceso de software de accionador envía mensajes de petición a sus procesos de software de nivel de componente. Otras implementaciones de control serán evidentes a los expertos en la técnica.

5.3.2. Métodos y funciones

Esta subsección describe la función de control para procesadores microfluidos térmicamente controlados preferidos, funciones de nivel de componente, funciones de nivel de accionador, funciones de nivel de microgotita, y por último funciones de nivel de usuario. Esta descripción es ejemplar y no limitativa. En vista de la descripción siguiente, los expertos en la técnica entenderán cómo construir otras implementaciones de las funciones descritas, y también cómo se pueden controlar según esta invención otros posibles componentes y accionadores, que se pueden construir en las tecnologías térmicamente controladas preferidas.

5.3.2.1. Funciones de control de temperatura

La detección de temperatura y el calentamiento controlado son importantes funciones de nivel de componente para procesadores microfluidos térmicamente controlados preferidos. Los elementos de sensor de temperatura son preferiblemente elementos resistivos (detectores de temperatura resistivos o "RTDs") configurados para tener cambios de resistencia mensurables en respuesta a cambios de temperatura. Tal sensor se puede hacer de platino con una resistencia en el rango de aproximadamente 1000 Ω (Ohmio) a 4000 Ω a 25°C, de modo que se pueda lograr una exactitud y una resolución de aproximadamente 0,5°C con circuitería de sensor capaz de mediciones de resistencia de aproximadamente 0,25% o mejor exactitud y resolución.

La figura 4A ilustra un RTD ejemplar, que puede operar en al menos dos modos. La figura 4B ilustra una función que realiza el primer modo de medición de temperatura. La función obtiene en primer lugar parámetros de entrada, aquí principalmente la identidad del RTD concreto en cuestión. La identidad de RTD se puede proporcionar, por ejemplo, como una entrada a una invocación defunción procedimental, o puede ser una variable local en un objeto que represente este RTD, o por otros medios. Se proporcione como se proporcione, esta identidad determina los cables de control (y por ello los conectores de placa DAQ) a usar para la medición, por ejemplo, los cables 57-60 en la figura 4A, de modo que el microprocesador de placa DAQ pueda controlar la circuitería periférica apropiada. A continuación, se aplica una corriente pequeña a través del RTD en un par de cables, por ejemplo, los cables 57 y 60, mientras que el voltaje resultante es detectado a través de un segundo par de cables, por ejemplo, los cables 58 y 59. Finalmente, la resistencia del RTD se determina a partir de la corriente suministrada y el voltaje medido (o viceversa), y la temperatura se convierte entonces a partir de la resistencia medida. La corriente aplicada elegida es lo suficientemente pequeña para no generar calentamiento local significativo, pero suficientemente grande para generar una caída de voltaje mensurable a la precisión anterior. El uso de dos pares de cables mejora la exactitud, porque, dado que la medición de voltaje se puede hacer con poca o nula corriente, se desarrolla poca o nula caída de voltaje en los cables de medición 58 y 59; midiéndose la mayor caída de voltaje medida a través del RTD propiamente dicho. Alternativamente, donde es suficiente menos exactitud, se puede usar un solo par de cables para el suministro de corriente y la medición de voltaje.

En un segundo modo, el RTD puede detectar la presencia o ausencia de una microgotita midiendo el calor específico local, que es más grande cuando una microgotita está presente en un paso próximo que cuando no hay microgotita. Este modo funciona de manera sustancialmente similar al primer modo a excepción de que la corriente aplicada es más grande y se aplica durante un tiempo suficiente para generar calor suficiente para aumentar la temperatura del entorno en una cantidad mensurable, por ejemplo, aproximadamente de 2° a 4°C en ausencia de una microgotita. En presencia de una microgotita, el aumento de temperatura será menor. Por lo tanto, la presencia o ausencia de una microgotita puede ser detectada midiendo la tasa de aumento de temperatura.

Los calefactores también son preferiblemente resistivos y están configurados para generar de forma controlable entre 0,5 y 1,5 W de calor con fuentes de bajo voltaje. Dado que un voltaje bajo de fuente preferido es 5-10 V o menos, la resistencia de los calefactores resistivos es del rango de aproximadamente 15 Ω a 1000 Ω a 25°C (pueden ser necesarios calefactores aún más pequeños para voltajes de fuente de menos de 5 V). Como ilustra la figura 4A, un calentador con un RTD próximo puede proporcionar calentamiento controlado.

La figura 4C ilustra una función de calentamiento controlado a nivel de componente. Los parámetros de entrada incluyen la identidad del par calentador/RTD, de modo que el microprocesador mediante el bus interno pueda energizar o supervisar los cables correctos (y por ello los conectores de placa DAQ correctos), y la temperatura deseada y la tolerancia de temperatura. Usando una función de detección de temperatura, por ejemplo, la función ilustrada en la figura 4B, se determina la temperatura en el calentador. Entonces se ajusta la corriente de calentador en vista de la temperatura medida, la temperatura deseada, y la tolerancia. El retardo de tiempo se elige para proporcionar características de control suave. Estos pasos de control, especialmente el paso de ajuste de corriente, también pueden implementar un método de control alternativo, tal como un PID o un método de lógica borrosa, que puede depender de la temperatura actualmente medida y de una o más temperaturas medidas en el pasado reciente.

Otra función de nivel de componente relacionada con la temperatura controla la temperatura base de dispositivo. Además de los calefactores, un procesador microfluídico preferido puede tener un dispositivo (o dispositivos) de enfriamiento Peltier (u otro) con el fin de mantener en general el procesador a una temperatura base, por ejemplo, a una temperatura ambiente de 25°C. Alternativamente, se puede instalar un refrigerador Peltier en la placa DAQ de tal manera que haga contacto térmico con un procesador microfluídico cuando esté insertado en la placa. Tal refrigerador evita la acumulación progresiva de los efectos de calefactores energizados durante el transcurso de una reacción o análisis. Un dispositivo refrigerador puede ser controlado de forma similar a un calentador resistivo ajustando una corriente de control para mantener un sensor de temperatura específico a la temperatura base deseada, donde el sensor específico está instalado a una distancia térmica de los calefactores para detectar la temperatura del procesador de fondo.

5.3.2.2. Funciones de nivel de componente adicionales

Otra función de nivel de componente genera presión de forma controlable, por ejemplo, para mover microgotitas u otros materiales en un procesador microfluídico. Esta función es un componente importante de varios accionadores de nivel superior que requieren fuerza mecánica térmicamente controlada. Una realización preferida de un generador de presión incluye un depósito de gas con un elemento de calentamiento controlado y un paso que conduce gas presurizado por calentamiento a su punto de aplicación. La figura 5A ilustra una realización preferida con depósito de gas relativamente más grande 65 y un paso de conducción relativamente más pequeño 66 que enlaza con el punto de aplicación de presión en el paso 68. El gas en el depósito es preferiblemente inerte, tal como nitrógeno o argón, pero puede ser aire. El depósito tiene un calentador controlado 69 (el sensor de temperatura acompañante no se ilustra) embebido en su base (o parte superior). La región 67 del paso 68 tiene una superficie

hidrófoba de modo que cualquier fluido (acuoso) presente en el paso 68 quede excluido del depósito de gas 69.

La figura 5B ilustra una función de control de nivel de componente para este generador de presión. En el primer paso, la función obtiene la identificación del generador de presión y su calentador asociado y un parámetro que representa la presión deseada a generar. En un paso siguiente, la presión deseada es convertida a una cantidad deseada de calor necesario, y en el paso final, el calentador es controlado (por una señal de control a través de conectores determinados a partir de la identidad de componente) a una temperatura durante un tiempo suficiente para suministrar el calor necesario.

Además de sensores de microgotita que dependen de los efectos de temperatura descritos previamente, funciones de nivel de componente adicionales pueden controlar otros tipos de sensores de microgotita presentes en un procesador microfluídico. Por ejemplo, los sensores de microgotita se pueden basar en detección capacitiva, en la que una impedancia entre dos cables es alterada por la presencia o ausencia de una microgotita. La placa DAQ incluye entonces circuitos de detección de impedancia conmutables. También puede haber sensores de presión y pueden ser usados como sensores de posición de microgotita como se explica más adelante. Los sensores de presión también pueden proporcionar realimentación directa para uso en la función de presión controlable de las figuras 5A-B.

5.3.2.3. Microválvula, funciones

Una función de microválvula es una función de nivel de accionador importante que estará presente en la mayoría de los procesadores microfluídicos. La figura 6A ilustra una realización preferida de una microválvula para cerrar y abrir el paso controlado 78. La microválvula tiene un generador de presión, por ejemplo, incluyendo un depósito de gas 75 con un calentador HTR1 y un paso lateral 77 que conecta con el paso controlado 78. El paso lateral 77 está bloqueado por el tapón 76 de material inerte de bajo punto de fusión. El punto de fusión es preferiblemente superior a la temperatura operativa base del procesador microfluídico pero inferior al punto de ebullición de cualquier microgotita controlada por esta microválvula en el paso 78. Por ejemplo, el punto de fusión puede ser de 40° a 90°C, preferiblemente de 50° a 70°C; el material puede ser una cera (por ejemplo, una olefina) o una aleación eutéctica (por ejemplo, una suelda). La microválvula también incluye un calentador HTR2 para el calentamiento controlado del paso lateral 77, y el calentador HTR3 para el calentamiento controlado del paso controlado 78, como se ilustra. Los sensores que acompañan opcionalmente a estos tres calefactores se han omitido en la figura 6A por razones de simplicidad y sin limitación.

La configuración de los cables 79-82 es una disposición que realiza el control independiente de los tres calefactores con solamente cuatro cables de control enrutados directamente y sin solapamiento. Esta disposición ilustrada es ejemplar. Por ejemplo, en su lugar se puede disponer seis cables, dos para cada calentador.

La operación de cierre de microválvula se describe con referencia a la figura 6A, que ilustra la microválvula en un estado abierto, la figura 6B, que ilustra la microválvula en un estado cerrado, y la figura 6C, que ilustra los pasos de las funciones de cierre de microválvula. La función de cierre obtiene en primer lugar parámetros de entrada 83, que identifican la microválvula concreta a cerrar, sus calefactores componentes, y los conectores para los cables de control de calentador y para supervisar señales procedentes de cualesquiera sensores opcionales. Los parámetros de entrada también incluyen el estado de microválvula actual, que debe ser "abierto" para la función de cierre de microválvula. (Si la microválvula ya está cerrada, la función de cierre puede existir simplemente). A continuación, el paso 84 calienta de forma controlable HTR2 (activando los cables 79 y 80) y el paso lateral 77 a una temperatura T_2 ligeramente, pero suficientemente, por encima (por ejemplo, 1° a 5°C por encima) de la temperatura de fusión del tapón 76 de modo que el tapón se funda. Después o simultáneamente con la fusión del tapón, el paso 85 calienta de forma controlable HTR1 (activando los cables 80 y 81) a una temperatura T_1 y durante un tiempo tales que se genere la presión de gas suficiente para mover el tapón fundido del paso de salida 77 al paso controlado 78. Preferiblemente, $T_1 > T_2$. Esta presión se mantiene durante un retardo de tiempo 86 que se considere suficiente para que el tapón se desplace al paso 78. Alternativamente, donde se dispone de un sensor de posición para el tapón (por ejemplo, un sensor térmico en asociación con HTR3), el retardo dura hasta que se detecta un movimiento suficiente del tapón.

El paso 87 desactiva entonces HTR2 y espera hasta que su temperatura vuelva dentro de las tolerancias a T_0 , la temperatura base del procesador, de modo que el tapón solidifique de nuevo. El retorno a la temperatura base puede ser detectado por un sensor o se puede suponer después de un retardo de tiempo suficiente. Después de solidificarse el tapón, el paso 88 vuelve igualmente la temperatura de HTR1 y el depósito de gas 75 a temperatura base. Dado que el volumen del gas es ahora más grande a causa del movimiento del tapón fuera del paso 77, hay una presión de gas relativamente más baja en el depósito 75 a la temperatura base cuando la microválvula está cerrada que cuando está abierta.

La microválvula está ahora cerrada porque el paso controlado 78 está bloqueado con el tapón solidificado. El paso 89 marca el estado de la microválvula como cerrado en los datos que describen la configuración actual del procesador microfluídico.

La operación de apertura de microválvula se describe con referencia a la figura 6B, que ilustra la microválvula en un estado cerrado, la figura 6A, que ilustra la microválvula en un estado abierto, y la figura 6D, que ilustra los pasos de la función de apertura de microválvula. Como es habitual, esta función obtiene en primer lugar 90 parámetros de entrada. Estos parámetros identifican los conectores de control y supervisión e indican un estado cerrado (de otro modo, la función simplemente sale). En primer lugar, la función calienta de forma controlable HTR2 y el paso lateral 77 a la temperatura T_2 y HTR3 y el paso controlado 78 a la temperatura T_1 . T_1 y T_2 están por encima del punto de fusión del tapón, como se ha descrito anteriormente. Por ello se funde el tapón 76 en el paso controlado 78, y, bajo la influencia de la presión relativamente más baja en el depósito de gas 75 que queda del cierre de la microválvula, es aspirado al paso lateral 77. Estos calefactores son activados durante un retardo de tiempo 91 determinado que sea suficiente para que el tapón vuelva al paso lateral 77. Alternativamente, donde se dispone de un sensor de posición para el tapón (por ejemplo, un sensor térmico en asociación con HTR2), el retardo es hasta que se detecta el movimiento del tapón. Finalmente, los calefactores HTR2 y HTR3 son desactivados, y el paso 92 espera hasta que la temperatura cerca del calentador de paso de salida haya vuelto dentro de las tolerancias a la línea base (por supervisión de temperatura o por retardo de tiempo). Finalmente, el estado de la microválvula se marca como cerrado con el tapón ahora solidificado en el paso de salida 77 y el paso controlado 78 no bloqueado.

En las descripciones siguientes, para facilitar la ilustración y sin limitación, las microválvulas se representan esquemáticamente con un solo calentador y un solo par de cables, en lugar de su ilustración completa, como en las figuras 6A-B, con tres calefactores y al menos cuatro cables.

5.3.2.4. Función de detección óptica

Se prefiere la detección óptica de los resultados de las reacciones o análisis del procesador microfluídico porque se puede realizar fácilmente externamente a un procesador microfluídico sin extracción física de resultados de reacción de estos pasos. Alternativamente, donde un procesador microfluídico incluye una instalación separada para resultados de reacción, la detección de componentes separados también se realiza preferiblemente por medios ópticos. La detección óptica puede depender de la radiación incidente dispersada o la radiación fluorescente generada, etc. La invención también prevé la excitación de una reacción o análisis por radiación.

Los componentes de detección óptica básicos y las funciones de control se ilustran con referencia a las figuras 11A-B. La figura 11A ilustra la sección limitada 165 de un procesador microfluídico con componentes ejemplares para la detección óptica de la microgotita md1, que se ilustra colocada establemente junto a la región hidrófoba h1 del paso principal 167. Los componentes ópticos incluyen un conductor de radiación 166 para conducir radiación incidente (por ejemplo, de un diodo láser de placa DAQ) a md1, y un conductor de radiación 169 para conducir la radiación desde la microgotita 1 para análisis (por ejemplo, a un fotodiodo de placa DAQ). La radiación conducida desde md1 puede ser radiación dispersada, radiación fluorescente, etc. La lente 168 ilustra esquemáticamente elementos para recogida o enfoque de radiación, filtrar longitudes de onda, etc, presentes en el procesador. Además, un reflector puede estar colocado junto al paso principal para doblar el recorrido de radiación a través de la microgotita detectada. Tal reflector puede tener opcionalmente propiedades dependientes de longitud de onda, siendo, por ejemplo, un filtro de interferencia o un espejo dicróico.

La porción limitada 165 podría ser una ilustración sustancialmente vertical, que ilustrase de forma sustancialmente vertical conductores ópticos dispuestos fuera del plano del procesador microfluídico y que pasase iluminación a través del grosor del procesador. Esta porción también podría ser una ilustración sustancialmente horizontal, que ilustrase conductores ópticos dispuestos de forma sustancialmente horizontal en el plano del procesador microfluídico y que pasase iluminación a través de solamente un paso del procesador. Además, los conductores ópticos se pueden extender sustancialmente en el plano del procesador (horizontalmente), solamente en ángulo a una orientación final cerca de su objetivo.

La figura 11B ilustra una función de detección óptica de nivel de accionador. Esta función comienza obteniendo parámetros 170 que identifican el accionador de detección óptica concreto, de modo que el microprocesador de placa DAQ pueda controlar los componentes de generación y detección de radiación que conectan con los conectores correctos para el sensor de detección óptica identificado. A continuación, el conductor de radiación de entrada se ilumina 171, y la radiación resultante es detectada 172.

También se puede usar preferiblemente otros métodos de detección totalmente externos, en base a campos magnéticos (NMR) o eléctricos aplicados externamente, o en una combinación de estos campos con detección óptica, en los procesadores microfluídicos de esta invención. En este caso, los componentes de generación de campo deben colocarse en un procesador microfluídico o en la placa DAQ (o en un alojamiento de placa DAQ), deben ser identificados a la función de control, y deben ser activados por la función de control.

5.3.2.5. Función de movimiento de microgotita

Una función de movimiento de microgotita es una función de nivel de configuración importante que estará presente en la mayoría de los procesadores microfluídicos. Esta función mueve una microgotita desde una primera posición a una segunda posición, avanzando por ello el procesador microfluídico desde una primera configuración a una

segunda configuración en la que la microgotita movida está en su segunda posición. Ésta, y otras funciones de nivel de microgotita, actúan muy fiablemente cuando las posiciones de microgotita inicial y final son estables. Preferiblemente solamente son invocadas o solamente actúan cuando los datos que describen la configuración de procesador actual indican que las microgotitas están colocadas correctamente en una posición estable. Como se ha descrito, una posición estable puede ser establecida, por ejemplo, por una región hidrófoba en un paso, o por una configuración local de pasos.

El movimiento de microgotita requiere naturalmente fuerza mecánica térmicamente controlada y en general, en procesadores microfluídicos preferidos, esta fuerza mecánica es presión de gas generada por un accionador de generador de presión. El movimiento de microgotita se puede parar cuando la presión de movimiento es disipada, por ejemplo, por un respiradero al exterior del procesador. El movimiento también puede ser parado por una región hidrófoba que requiera más fuerza motriz que la suministrada (junto con la desactivación del accionador de generador de presión).

El movimiento de microgotita se ilustra con referencia a la figura 7A, que ilustra la microgotita 95 en la posición inicial 96, la figura 7B, que ilustra la microgotita 95 en la posición final 97, y la figura 7C, que ilustra los pasos de la función de movimiento de microgotita. Las microválvulas en estas figuras (y posteriormente) se representan esquemáticamente solamente con un solo calentador. El paso 100 de la función de movimiento obtiene de ordinario parámetros que identifican los componentes del subconjunto para mover la microgotita 95, aquí, válvula1, válvula2, y HTR1, su relación espacial, y sus cables de control o conectores externos. En la configuración ejemplar ilustrada, la posición inicial de microgotita 96 está justo más allá del paso lateral a respiradero1, una posición estable después de un movimiento anterior con válvula1 abierta, dejando respiradero1 accesible desde el paso principal 98 para disipar toda presión de movimiento. Alternativamente (no ilustrado), la posición inicial estable puede ser definida por una región hidrófoba en el paso 98, y válvula1, respiradero1, y su paso lateral de conexión puede faltar del procesador microfluídico. A partir de los datos de configuración introducidos se determina que la microgotita 95 está correctamente en una posición inicial estable 96, porque la configuración actual conocida del procesador microfluídico registra la posición de todas las microgotitas presentes en el procesador. Si no hay microgotita en la posición 96, esta función no tiene nada que hacer, y sale. Preferiblemente, la función de movimiento presente es reclamada por una función de nivel superior solamente cuando la microgotita 95 está en posición 96 como resultado de las funciones anteriores.

A continuación, el paso 101 prepara las microválvulas para el movimiento de microgotita invocando las funciones de microválvula de nivel de accionador para cerrar válvula1 (si está presente y previamente abierta, determinado por su estado en los datos de configuración de procesador microfluídico) y para abrir válvula2 (si previamente estaba cerrada, determinado también por su estado). El paso 102 genera entonces una presión predeterminada invocando funciones de generación de presión de nivel de accionador 102. La presión generada mueve la microgotita a la derecha (suponiendo que la presión generada no se disipe a la izquierda en el paso 98 y que el paso 98 esté "abierto", a la derecha de la posición 97), hasta la posición final 97 donde la presión aplicada se disipa al exterior a través de respiradero2. La protección hidrófoba de su paso lateral de conexión evita que la microgotita propiamente dicha entre en respiradero2. Cuando la microgotita llega a su posición final, después del retardo 103, el paso 104 detiene las funciones de generación de presión desactivando HTR1. La duración de la generación de presión activa puede ser determinada como un intervalo de tiempo preseleccionado, opcionalmente dependiente de la configuración del procesador. Alternativamente, donde se disponga de un sensor de posición de microgotita (por ejemplo, un sensor de tipo térmico o un sensor de tipo capacitivo), el paso 103 puede esperar hasta que se detecte que la microgotita está en la posición final. El paso opcional 105 invoca las funciones de microválvula para volver válvula1 y válvula2 a sus estados antes del movimiento de microgotita.

Finalmente, a la terminación exitosa, la posición de microgotita en los datos de configuración del procesador microfluídico se actualiza entonces en el paso 106.

5.3.2.6. Función de medición de microgotita

La función de medición de microgotita de nivel de configuración crea una nueva microgotita de un volumen de fluido conocido más exactamente y más pequeño a partir de un volumen de fluido conocido en general con menor exactitud y más grande (un reactivo, una muestra, etc) introducido en un procesador microfluídico.

Los fluidos pueden introducirse en un procesador a través de orificios por medios de transferencia manuales (por ejemplo, una pipeta) o por medios de transferencia automáticos (por ejemplo, un robot) desde una fuente exterior. Los orificios se pueden disponer en el procesador microfluídico de manera que reciban varios medios de transferencia de fluido, por ejemplo jeringas o pipetas. La figura 8C ilustra un orificio ejemplar adaptado para jeringas. Orificio1 incluye un depósito de fluido 114, cubierto con una membrana perforable 113 (por ejemplo, de unos materiales cauchotosos autosellantes), y conectado al paso 110 en un procesador microfluídico. Esta figura ilustra la jeringa 115 que tiene una membrana perforada 113 y que ya ha introducido fluido al orificio. La membrana asegura que el fluido inyectado penetre en el procesador sin reflujos. En el caso de pipetas, la forma del depósito 114 puede adaptarse a un ajuste sellado con la punta de la pipeta para transferencia de fluido.

En una realización preferida, se mide una microgotita nueva extrayéndola del volumen más grande, generalmente por medio de una fuerza de presión de gas. La medición de la microgotita se ilustra con referencia a la figura 8A, que representa una configuración inicial antes de la medición, la figura 8B, que representa una configuración final con una nueva microgotita medida 112, y la figura 8C, que representa pasos de la función de control de medición preferida. La figura 8A ilustra una alícuota de fluido 111, que ha sido introducida a través de orificio1 (tal como el orificio ilustrado en la figura 8C) llenando el paso 110 hasta la posición estable formada por la región hidrófoba h1. La región hidrófoba h2 evita la entrada de fluido al paso lateral a HTR1. El fluido excedente puede escapar a través de respiradero1, dado que válvula1 está inicialmente abierta, y el gas excedente puede escapar a través de respiradero2, dado que válvula2 está inicialmente abierta. El paso 110 está diseñado, es decir, tiene los tamaños relativos ilustrados, de modo que la alícuota de fluido 111 experimente allí una fuerza capilar más grande que en el paso lateral a respiradero1, para que la alícuota de fluido se extienda al parche hidrófobo antes de que el líquido excedente se extienda a respiradero1. Esta configuración de los tamaños de paso estabiliza más la posición estable formada por la región hidrófoba h1.

La operación de medición comienza, como es usual, en el paso 120, que identifica los componentes de medición, sus estados, su disposición, orden, y sus líneas de señal o conectores externos. El paso opcional 121 abre válvula1 y válvula2 por medio de las funciones de microválvula de nivel de accionador, si no estaban inicialmente abiertas. A continuación, la función de medición espera 122 la carga de la alícuota de fluido de la que se ha de medir una microgotita. Su carga puede indicarse por una señal manual externa proporcionada al equipo de usuario (y transmitida a la placa DAQ), o puede indicarse automáticamente por la terminación de la carga robótica, o la puede proporcionar un sensor interno que puede detectar la presencia de fluido junto a la región hidrófoba h1 del paso 110. El paso 123 cierra entonces válvula1 invocando la función de cierre de microválvula, de modo que ya no pueda escapar más fluido de respiradero1.

El paso 124 genera presión invocando la función de generador de presión de nivel de accionador (que activa HTR1). El generador de presión es controlado a una presión predeterminada (si hay sensores de presión disponibles) o, alternativamente, a una temperatura de medición predeterminada. La presión de gas resultante toma una longitud L de la alícuota 111 que está entre la salida del paso lateral al generador de presión y el extremo de la alícuota en la posición estable, formando una nueva microgotita. El volumen de la microgotita medida lo determina la longitud L y la sección transversal del paso 110. Con referencia ahora a la figura 8B, la presión generada también actúa moviendo la nueva microgotita 112, a modo de la función de movimiento de microgotita descrita anteriormente, a la posición 117, que está justamente más allá de un paso lateral a respiradero2. Las presiones generadas disipan respiradero2 dado que válvula2 está abierta. Los pasos 125 y 126 interrumpen la generación de presión después de un retardo predeterminado, o alternativamente después de detectar que la microgotita 112 está en la posición 117 (con un sensor de posición de microgotita). Finalmente, un paso opcional cierra válvula2, para evitar el escape adicional de gas, impidiendo por ello que la nueva microgotita se una de nuevo a la alícuota de fluido 111. Válvula1 puede volver a su estado inicial.

Por último, el paso 127 actualiza la configuración de procesador microfluidico para reflejar la presencia, la posición y la composición (la misma que la alícuota 111) de la nueva microgotita.

5.3.2.7. Función de mezcla de microgotitas

La mezcla efectiva de microgotitas no homogéneas es útil porque la simple difusión, especialmente de macromoléculas biológicas, a menudo es demasiado lenta para que sea viable, incluso para microgotitas adyacentes en contacto físico. En general, la mezcla de microgotitas se logra por un movimiento suficientemente rápido, en vista del tamaño del paso y la viscosidad de la gotita, para inducir la mezcla de microgotitas. Preferiblemente, la velocidad de la microgotita es igual o superior a la velocidad de intercalación crítica. En una realización preferida, una función de mezcla de nivel de microgotitas puede invocar una función de movimiento de nivel de microgotita de tal manera que el movimiento sea suficientemente rápido. Esto se puede lograr activando el accionador de generador de presión, que proporciona la fuerza mecánica para mover la microgotita, de modo que la presión generada se eleve de forma suficientemente rápida a un nivel suficientemente alto para producir un movimiento rápido. La activación apropiada del calentador de generador de presión de modo que la mezcla de microgotitas de viscosidades concretas tenga lugar en pasos de varios tamaños, se puede determinar fácilmente de forma experimental y almacenar para uso por la función de mezcla.

Las microgotitas homogéneas que requieren mezcla pueden surgir por varias razones. Por ejemplo, las figuras 9A-C ilustran la formación de una microgotita no homogénea como resultado de la medición de dos alícuotas de fluido diferentes a dos microgotitas adyacentes, la figura 9A ilustra porciones de dos conjuntos de medición, medición1 y medición2, después de cargar la alícuota 131 de un primer fluido y la alícuota 132 de un segundo fluido, pero antes de la medición de una microgotita. (Las figuras 8A-B ilustran de lleno tales conjuntos de medición). Los calefactores de generador de presión, HTR1 y HTR2, son partes de estos dos conjuntos de medición. La figura 9B siguiente ilustra la microgotita, md1, en la posición 133 después de haber sido medida de la alícuota 131. A continuación, la figura 9C ilustra md2 en la posición 133 después de haber sido medida, a su vez, de la alícuota 132. Md2 se coloca adyacente a md1, y estas dos microgotitas forman, en efecto, una sola microgotita no homogénea.

La función de mezcla se describe ahora con referencia a la figura 9C, que ilustra la configuración antes de la mezcla, la figura 9D, que ilustra la configuración después de los resultados de la mezcla, y la figura 9E. Ésta última figura ilustra los pasos de medición preliminares descritos 135 y 136 que preparan una microgotita homogénea para mezcla, así como los pasos 137 de la función de mezcla real. El paso 138, como es habitual, obtiene los parámetros de entrada necesarios, incluyendo la identificación de los componentes del conjunto de mezcla (aquí, porciones de los dos conjuntos de medición) y sus cables de control, y las posiciones de la microgotita a fijar. En este caso, la presión para la mezcla de las microgotitas puede ser generada por uno o ambos generadores de presión presentes en los componentes de medición. El paso 139 invoca funciones de microválvula de nivel de accionador para cerrar válvula1 (que en general está abierta como resultado de los pasos de medición previos), y abrir válvula2, si es necesario. A continuación, el paso 140 invoca la función de generación de presión de nivel de accionador para generar rápidamente presión, usando uno o ambos HTR1 y HTR2 calentados a una temperatura suficiente (la temperatura de mezcla) dando lugar a la mezcla de la microgotita. El paso 141 se retarda hasta que (o detecta cuándo) la microgotita md3 ha llegado a la posición 134, luego el paso 142 cierra válvula2 detrás de md3.

Por último, el paso 144 actualiza los datos de configuración del procesador microfluídico para reflejar la posición y la composición (ahora mezclada) de la nueva microgotita.

5.3.2.8. Realización de la función de reacción

En general, una microgotita que se ha creado con la composición correcta está preparada para la reacción o el análisis previstos. Preferiblemente, para reacción, dicha microgotita se aísla después con el fin de evitar la evaporación o las interacciones no intencionadas con el resto del procesador microfluídico, y se ajusta a una temperatura determinada, para que la reacción prosiga según lo previsto. Algunas reacciones, notablemente la reacción en cadena de polimerasa (PCR), pueden requerir que la microgotita se someta repetidas veces a un protocolo de temperatura determinado. Otras reacciones pueden requerir un catalizador (sólido), que tendrá que estar en la región de reacción del procesador microfluídico. Además, las reacciones pueden requerir estimulación de radiación. Aunque la descripción siguiente se refiere, sin limitación, a reacciones a una temperatura determinada, las personas con conocimientos medios en el tema de la descripción siguiente entenderán fácilmente cómo realizar protocolos de temperatura, catálisis, estimulación de radiación, etc.

Por lo tanto, en la realización preferida descrita, las reacciones se llevan a cabo en una región calentada de forma controlable de un paso que puede aislarse del resto del procesador microfluídico, o en un depósito calentado de forma controlable al que una microgotita se puede llevar y aislar. La figura 10A ilustra una región de reacción ejemplar 156 (sin catalizador) en el paso 150, que tiene un calentador controlable, HTR1, y válvulas de aislamiento, válvula1 y válvula2. La región 156 es una posición estable para una microgotita a causa, por ejemplo, de un paso lateral 151 que va a un respiradero controlable. (Se explican posiciones estables similares con respecto, entre otros, a la figura 1). Alternativamente, una región hidrofóbica colocada adecuadamente puede definir esta posición estable.

Se ilustra una función de control de reacción con respecto a la figura 10C, que ilustra la región de reacción 156 antes de la reacción, a la figura 10D, que ilustra la región de reacción en el transcurso de la reacción, y a la figura 10E, que ilustra los pasos de una función de control de reacción. El paso 157 obtiene parámetros incluyendo la configuración del procesador microfluídico, el perfil de temperatura para la reacción, las identidades de los componentes que forman la región de reacción y sus cables de control y conectores. A partir de la configuración obtenida, esta función comprueba que una microgotita que tenga la composición correcta esté colocada en la región de reacción como resultado o antes de pasos de procesado microfluídico. En caso negativo, esta función sale, tal vez con una indicación de error. A continuación, el paso 158 invoca las funciones de microválvula de nivel de accionador para aislar la región de reacción 156 cerrando válvula1 y válvula2. El paso 159 realiza el protocolo térmico preestablecido. Dado que las posiciones de microgotita no se cambian con esta función, la configuración solamente tiene que ser actualizada en la medida de que indique que una reacción ha tenido lugar.

Esta reacción completada puede ser el resultado final del procesado microfluídico, en cuyo caso se detecta el contenido de la microgotita resultante, o puede ser una reacción intermedia, en cuyo caso la microgotita resultante se somete a procesado adicional.

A continuación se describe brevemente una construcción ejemplar de procesadores microfluídicos térmicamente controlados preferidos. Por ejemplo, la figura 10B ilustra una sección de la figura 10A a lo largo de la línea 10A-10B que ilustra una construcción general de tales procesadores desde la placa superior 152, y la placa paralela inferior 155, que está colocada y unida con una junta estanca contra la placa superior. Las placas pueden ser de silicio, polímero plástico, vidrio, etc. Los pasos, como el paso 150, son maquinados, formados por ataque, estampados o definidos de otro modo en una placa, aquí la placa superior, mientras que la placa inferior es sustancialmente plana, y tienen paredes tratadas apropiadamente para el tipo de microgotitas a procesar. En particular, los tratamientos de pasos antes de la unión de las placas definen regiones de paso hidrofóbicas (o hidrófilas). Los componentes eléctricos y los cables, tal como el cable 154, están depositados preferiblemente en la placa sustancialmente plana no formada por ataque, y están cubiertos (también por debajo si es necesario) con la capa aislante 153, que es inerte al contenido de los pasos. Los cables pueden ser de metal depositado al vapor, por ejemplo, aluminio. La capa aislante puede ser de una cerámica o polímero, por ejemplo, dióxido de silicio. Los conductores de luz pueden

hacerse de fibras ópticas unidas a un procesador después de la unión de las placas. Los métodos de construcción se han adaptado a partir de los conocidos en la litografía que se usa en la fabricación de semiconductores. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos números 6.048.734, 6.057.149 y 6.130.098.

5 5.3.2.9. Funciones operativas del dispositivo integrado

Las funciones de nivel de microgotita previamente descritas se pueden combinar para crear funciones de control de reacción de nivel de usuario para muchos tipos diferentes de procesadores microfluídicos que realizan muchas reacciones o análisis diferentes. La construcción o la programación de tales funciones de control según la presente invención se ha simplificado enormemente porque por lo general solamente hay que prestar atención a funciones intuitivas de nivel de microgotita, que especifican funciones de laboratorio con las que están familiarizados los químicos y los biólogos, tal como medición, movimiento, mezcla o reacción. Los detalles de componentes individuales del procesador microfluídico y de su control secuencial quedan ocultos por la construcción jerárquica del nivel de componente, nivel de accionador, y funciones de control de nivel de microgotita, todos los cuales funcionan de forma cooperante para realizar el necesario control de procesador microfluídico de nivel bajo. Este control jerárquico es posible a causa de la naturaleza digital de los procesadores microfluídicos controlados.

Ilustra estas ventajas una función de control de reacción de nivel de usuario para el procesador microfluídico controlado térmicamente preferido ilustrado en la figura 1. Este procesador es capaz de realizar, entre otros, un simple análisis PCR de una muestra midiendo una primera microgotita conteniendo la muestra y algunos reactivos PCR, midiendo una segunda microgotita conteniendo los reactivos PCR restantes, mezclando las dos microgotitas, realizando un protocolo de temperatura PCR en la microgotita mezclada, y detectando los resultados de reacción.

Con más detalle, la figura 12 ilustra una función de control de reacción PCR de nivel de usuario, controlada por órdenes del usuario introducidas en un sistema host. El paso 175 inicia la función de control de reacción después de que el usuario introduce una orden en el equipo host. A continuación, los pasos 177 y 178 obtienen parámetros de entrada, que incluyen datos descriptivos del procesador microfluídico en el que se llevará a cabo la reacción. Como se ha descrito, estos datos descriptivos los puede proporcionar el procesador microfluídico propiamente dicho, o el procesador puede proporcionar una clave a una base de datos de tales datos. Esta función identifica los componentes, accionadores, y subconjuntos requeridos por posteriores funciones de nivel de microgotita, y comprueba preferiblemente que este procesador tenga los recursos correctos en una disposición correcta. En el procesador microfluídico de la figura 1, estos recursos son verificados e identificados como medición1, medición2, mezcla1, y reacción/detección1. A continuación, los pasos 177 y 178, usando las funciones de medición de nivel de microgotita parametrizadas por los subconjuntos medición1 y medición2, miden microgotitas primera y segunda, incluyendo una muestra para análisis y reactivos PCR. Ambos pasos de medición esperan (véase, por ejemplo, la figura 8D) una señal que indique que las alícuotas de las que se miden las microgotitas han sido cargadas en el procesador. A continuación, el paso 179 invoca la función de muestra de nivel de microgotita parametrizada por el subconjunto mezcla1 para mezclar las microgotitas medidas. Dado que la microgotita mezclada está situada ahora en la región de reacción del subconjunto reacción/detección1, el paso 180 realiza la reacción invocando la función realizar reacción de nivel de microgotita. Por último, el paso 181 analiza ópticamente los resultados de reacción invocando la función de detección de resultados de reacción de nivel de accionador. A la terminación de la reacción, el paso 182 devuelve los resultados de reacción y una señal de terminación al sistema host. Durante toda la operación de esta función, la supervisión o el control de host asíncrono 183 puede estar en curso, por ejemplo, supervisando datos de configuración del procesador microfluídico actualizados por las varias funciones invocadas.

Por lo tanto, esta reacción PCR ejemplar puede ser especificada totalmente en términos de funciones de microgotita de nivel alto. Las operaciones detalladas de varios componentes individuales que deben coordinarse para realizar esta función están generalmente encapsuladas por las funciones de microgotita en las que se expresa el control de reacción.

En una realización alternativa, la función de control de reacción, después de obtener la descripción del procesador microfluídico, determina qué componentes de procesador usar para realizar la reacción prevista. Si las microgotitas tienen que ser movidas entre componentes que no están conectados directamente, la función de control puede insertar las necesarias invocaciones de función de movimiento de microgotita. Esta determinación es análoga a la disposición y el cableado de una descripción de hardware expresada en lenguaje de descripción de hardware de alto nivel (como VHDL) en un chip semiconductor, y se puede llevar a cabo con métodos similares. También se incluyen en esta invención alternativas adicionales evidentes a los expertos en la técnica.

60 5.3.2.10. Preparación de la muestra

Los sistemas y métodos de control de la presente invención se aplican ventajosamente para controlar procesadores microfluídicos para realizar análisis predeterminados de muestras biológicas y médicas. Los análisis ejemplares incluyen determinar la presencia de ciertos ácidos nucleicos o proteínas que pueden indicar un estado de enfermedad de un organismo y ayudar a diagnosticar el estado de enfermedad.

65 Consiguientemente, la figura 13 ilustra la preparación de tales muestras para análisis. En primer lugar, se obtiene un

5 espécimen biológico o médico, tal como muestras obtenidas del exterior de un organismo, por ejemplo, raspando o frotando, o del interior de un organismo, por ejemplo, por biopsia o espécimen quirúrgico. A continuación se prepara una muestra a partir del espécimen. Esto puede incluir los pasos de purificar el espécimen del material extraño (quitar células donde el material extracelular haya de ser analizado), lisis de células (donde haya que analizar materiales intracelulares), separar el tipo de material a analizar de otros tipos (por ejemplo, ácidos nucleicos de proteínas). Finalmente, la muestra preparada se carga en un procesador microfluídico para análisis por los sistemas y métodos de esta invención.

10 El alcance de la invención descrita y reivindicada aquí no se ha de limitar por las realizaciones preferidas aquí descritas, dado que estas realizaciones se consideran ilustraciones de varios aspectos de la invención. Se pretende que cualesquiera realizaciones equivalentes caigan dentro del alcance de esta invención. De hecho, varias modificaciones de la invención, además de las aquí mostradas y descritas, serán evidentes a los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior. También se ha previsto que tales modificaciones caigan dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.

15

REIVINDICACIONES

1. Un método para controlar la operación de un dispositivo microfluídico (“MF”) de tipo digital (i) donde un dispositivo MF incluye uno o más pasos para confinar una o varias microgotitas, teniendo los pasos una o varias posiciones estables para las microgotitas, y (ii) incluye uno o más componentes internos sensibles a señales de control, estando asociados operativamente los componentes internos con los pasos para controlar y supervisar el dispositivo MF, incluyendo el método:
- (a) proporcionar una o varias peticiones de procesado de microgotita, donde una petición de procesado de microgotita específica realizar al menos una acción en al menos una microgotita, incluyendo las peticiones
- (i) crear una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas, o
- (ii) mover una o varias microgotitas desde posiciones estables actuales a posiciones estables siguientes seleccionadas, o
- (iii) combinar dos o más microgotitas en una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas, o
- (iv) mezclar una o varias microgotitas, donde cada petición de procesado de microgotita proporcionada incluye además una o varias peticiones de procesado de accionador, donde una petición de procesado de accionador específica realizar al menos una acción físicamente asociada con al menos un paso del dispositivo MF, y
- donde las peticiones de procesado de accionador incluyen:
- (i) abrir o cerrar un paso controlado seleccionado por componentes internos que actúan como una válvula controlable fundiendo al menos una alícuota de un material fundible, donde la alícuota del material se puede colocar para ocluir el paso controlado,
- (ii) proporcionar presión de gas controlable en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como generador de presión calentando al menos un microdepósito de gas que comunica con el paso
- (iii) detectar la presencia o ausencia de una microgotita en una posición seleccionada en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita detectando un indicador de la capacidad térmica en una región alrededor de la posición, o
- (iv) detectar la composición de la microgotita en la posición seleccionada en el paso seleccionado por componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita enviando señales ópticas al dispositivo MF y recibiendo señales ópticas devueltas del dispositivo MF, y
- (b) generar señales de control, que son suministradas al dispositivo MF,
- donde las señales de control son generadas en una configuración y secuencia que son sensibles a cada petición de procesado de microgotita de modo que los componentes internos del dispositivo MF que sean sensibles a las señales de control funcionen conjuntamente para realizar el procesado de microgotita pedido en el dispositivo MF, donde la configuración y secuencia generadas de señales de control que son sensibles a una petición de procesado de microgotita incluye además subconfiguraciones y subsecuencias que son sensibles a cada petición de procesado de accionador de la petición de procesado de microgotita, y
- donde la subconfiguración y subsecuencia de señales de control que son sensibles a cada petición de procesado de accionador hace que los componentes internos sensibles del dispositivo MF funcionen conjuntamente para realizar la acción pedida.
2. El método de la reivindicación 1, donde cada petición de procesado de microgotita proporcionada incluye dos o más peticiones de procesado de accionador.
3. El método de la reivindicación 1, donde el dispositivo MF incluye además señales de control externas sensibles a sensores internos al dispositivo MF, y donde el paso de generar señales de control incluye además:
- (a) detectar señales de control sensibles a uno o más sensores internos de dispositivo MF; y
- (b) ajustar las señales generadas que son suministradas al dispositivo MF en respuesta a las señales detectadas de modo que la ejecución de una orden de microgotita pueda ser supervisado.
4. El método de la reivindicación 1, donde una petición para crear una o varias microgotitas nuevas a partir de una alícuota de fluido en un paso en posiciones estables seleccionadas incluye además:

- (i) una o varias peticiones de procesado de accionador para cerrar el paso con el fin de evitar que la alícuota de fluido se mueva en una dirección inversa a lo largo del paso, y
- (ii) una o varias peticiones de procesado de accionador para proporcionar presión de gas controlable con el fin de tomar una nueva microgotita de la alícuota de fluido con medición y de impulsar la nueva microgotita en una dirección hacia delante a la posición seleccionada.
5. El método de la reivindicación 1, donde una petición para mover una o varias microgotitas nuevas de una alícuota de fluido en un paso desde posiciones estables actuales a posiciones estables siguientes seleccionadas incluye además:
- (i) una o varias peticiones de procesado de accionador para cerrar el paso con el fin de evitar que la alícuota de fluido se mueva en una dirección inversa a lo largo del paso, y
- (ii) una o varias peticiones de procesado de accionador para proporcionar presión de gas controlable con el fin de impulsar la microgotita en una dirección hacia delante a la posición estable siguiente.
6. El método de la reivindicación 1 incluyendo además:
- (a) antes del paso de proporcionar una o varias peticiones de procesado de microgotita, proporcionar un programa de procesado de microgotita, donde un programa de procesado de microgotita incluye una o varias peticiones de procesado de microgotita, y donde el paso de proporcionar una o varias peticiones de procesado de microgotita incluye además seleccionar una petición indicada del programa proporcionado, y
- (b) repetir los pasos de proporcionar una o varias peticiones de procesado de microgotita y generar señales de control con cada petición de procesado de microgotita hasta que el programa proporcionado indique que ya no tiene más peticiones disponibles para selección.
7. El método de la reivindicación 6, donde el programa de procesado de microgotita incluye peticiones de procesado de microgotita (i) para crear al menos una microgotita inicial a partir de al menos una fuente de fluido, y (ii) para crear al menos una microgotita final a partir de la al menos única microgotita inicial.
8. El método de la reivindicación 1, donde los componentes internos incluyen calefactores para aplicar calentamiento espacial y temporalmente localizado al dispositivo MF, y donde las señales de control incluyen señales eléctricas para activar los calefactores localizados.
9. El método de la reivindicación 8, donde los componentes internos incluyen al menos un sensor de temperatura que detecta una temperatura local del dispositivo MF, y donde las señales de control incluyen señales generadas por el sensor de temperatura.
10. Un método para realizar una reacción química en un dispositivo microfluídico ("MF") de tipo digital (i) donde un dispositivo MF incluye uno o más pasos para confinar una o varias microgotitas, teniendo los pasos una o varias posiciones estables para las microgotitas, y (ii) incluye uno o más componentes internos sensibles a señales de control, estando operativamente asociados los componentes internos con los pasos para controlar y supervisar el dispositivo MF, incluyendo el método:
- (a) proporcionar uno o más reactivos fluidos, donde los reactivos fluidos incluyen los reactivos necesarios para la reacción,
- (b) proporcionar un programa de procesado de microgotita, donde un programa de procesado de microgotita incluye una o varias peticiones de procesado de microgotita, donde una petición de procesado de microgotita especifica realizar al menos una acción en al menos una microgotita, e incluyendo las peticiones
- (i) crear una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas calentando un gas para generar una presión de gas dentro del dispositivo MF, o
- (ii) mover una o varias microgotitas desde posiciones estables actuales a posiciones estables siguientes seleccionadas calentando un gas para generar una presión de gas dentro del dispositivo MF, o
- (iii) combinar dos o más microgotitas en una o varias microgotitas nuevas en posiciones estables seleccionadas dentro del dispositivo MF, o
- (iv) mezclar una o varias microgotitas,
- donde el programa de procesado de microgotita realiza la creación de al menos una microgotita final a partir de los reactivos fluidos proporcionando señales de control al dispositivo MF, y

5 donde cada petición de procesado de microgotita proporcionada incluye además una o varias peticiones de procesado de accionador, donde una petición de procesado de accionador especifica realizar al menos una acción físicamente asociada con al menos un paso del dispositivo MF, y donde las peticiones de procesado de accionador incluyen:

10 (i) abrir o cerrar un paso controlado seleccionado por componentes internos que actúan como una válvula controlable fundiendo al menos una alícuota de un material fundible, donde la alícuota del material se puede colocar para ocluir el paso controlado,

(ii) proporcionar presión de gas controlable en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como generador de presión calentando al menos un microdepósito de gas que comunica con el paso,

15 (iii) detectar la presencia o ausencia de una microgotita en la posición seleccionada en un paso seleccionado por componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita detectando un indicador de capacidad térmica en una región de la posición, o

20 (iv) detectar la composición de la microgotita en la posición seleccionada en el paso seleccionado por componentes internos que actúan como sensor de presencia de microgotita enviando señales ópticas al dispositivo MF y recibiendo señales ópticas devueltas del dispositivo MF, y donde la microgotita se coloca en una posición estable e incluye los reactivos necesarios para la reacción,

(c) seleccionar una petición indicada de procesado de microgotita del programa de procesado proporcionado,

25 (d) generar señales de control para la petición de procesado de microgotita seleccionada, que son suministradas al dispositivo MF, donde las señales de control son generadas en una configuración y secuencia que son sensibles a cada petición de procesado de microgotita de modo que los componentes internos del dispositivo MF que sean sensibles a las señales de control funcionen conjuntamente para realizar el procesado de microgotita pedido en el dispositivo MF, donde la configuración y secuencia generadas de señales de control que son sensibles a una petición de procesado de microgotita incluye además subconfiguraciones y subsecuencias que son sensibles a cada petición de procesado de accionador de la petición de procesado de microgotita, y donde la subconfiguración y subsecuencia de señales de control que son sensibles a cada petición de procesado de accionador hace que los componentes internos sensibles del dispositivo MF funcionen conjuntamente para realizar la acción pedida,

35 (e) repetir los pasos de proporcionar una petición y generar señales con cada petición de procesado de microgotita hasta que el programa proporcionado indique que ya no hay más peticiones disponibles para selección, y

40 (f) reaccionar la microgotita esperando durante un tiempo suficiente la aparición de la reacción o excitando la microgotita final proporcionando señales de control al dispositivo MF, donde la excitación es suficiente para producir la aparición de la reacción y donde el paso de reacción se realiza después de determinar, utilizando el al menos único componente interno, la presencia de la microgotita dentro de una región del dispositivo MF.

45 11. El método de la reivindicación 10, incluyendo además determinar productos de reacción de uno o más componentes de la microgotita, si se determinó que la microgotita estaba presente.

12. El método de la reivindicación 10, donde cada petición de procesado de microgotita proporcionada incluye dos o más peticiones de procesado de accionador.

50 13. Un medio legible por ordenador incluyendo instrucciones codificadas para hacer que un sistema de adquisición de datos realice el método de la reivindicación 1.

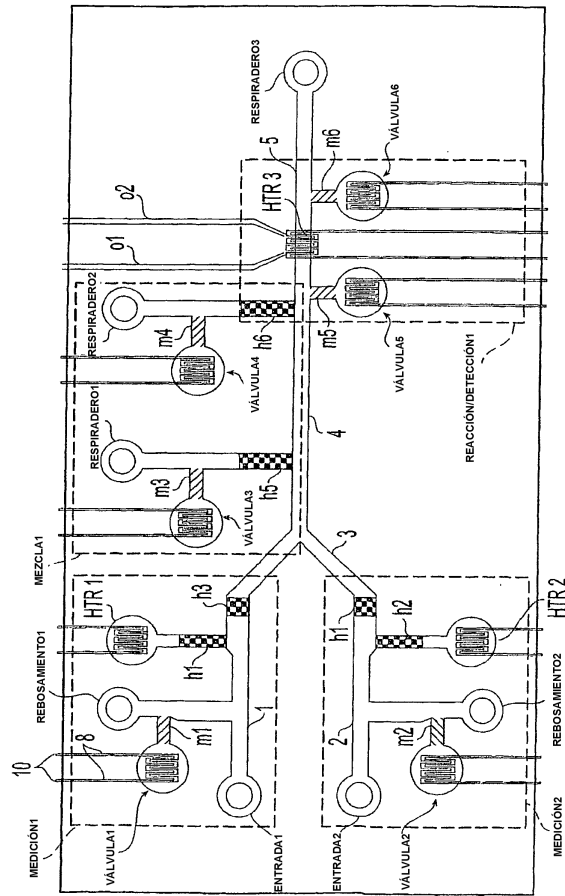


Fig. 1

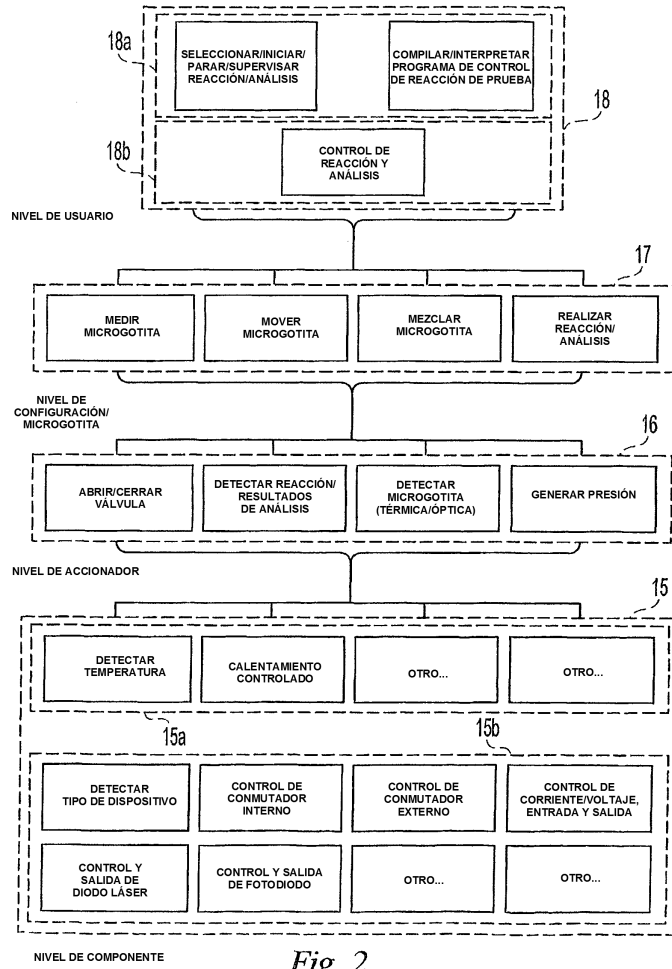


Fig. 2

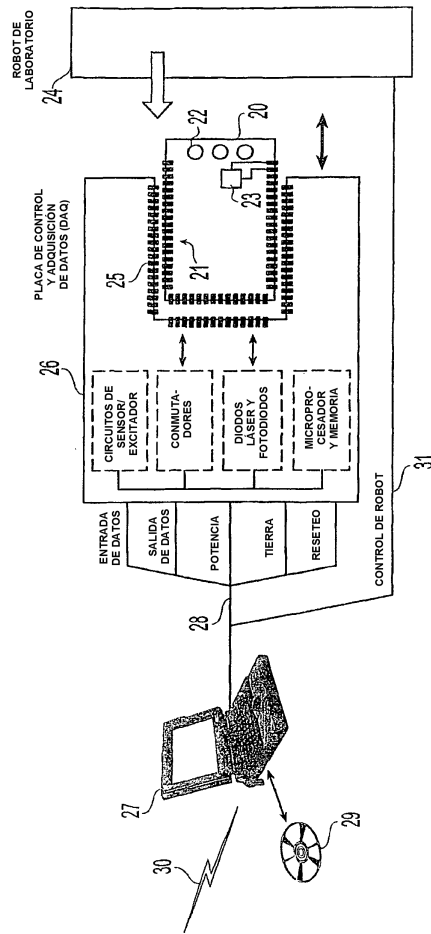


Fig. 3A

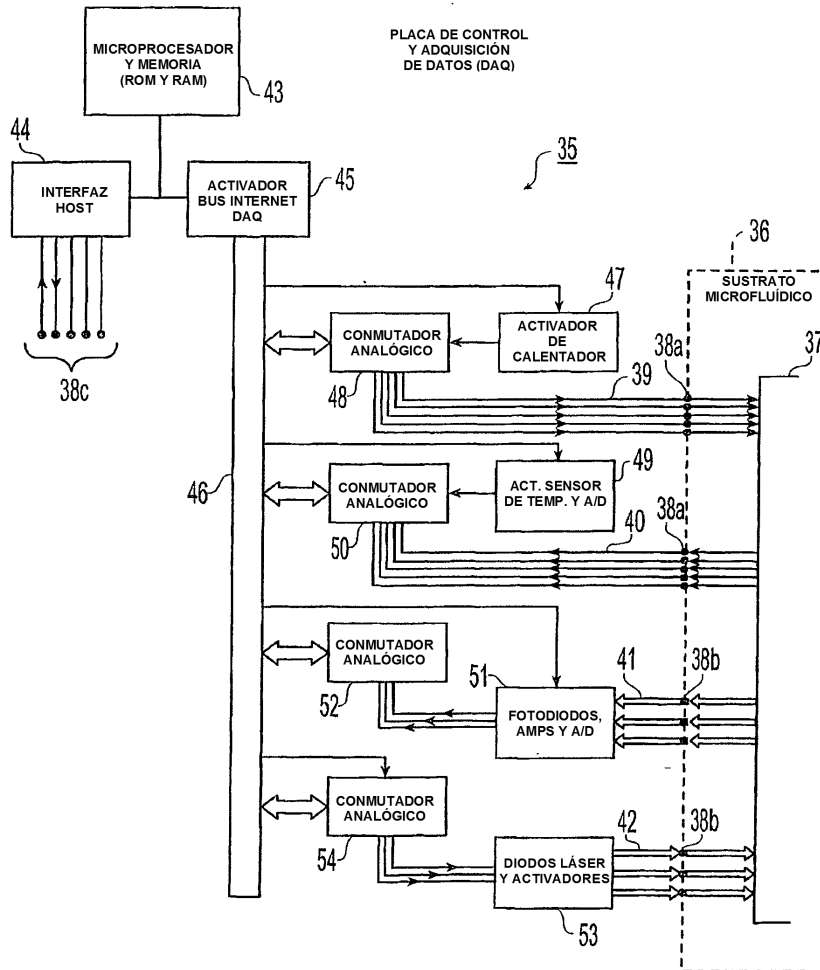


Fig. 3B

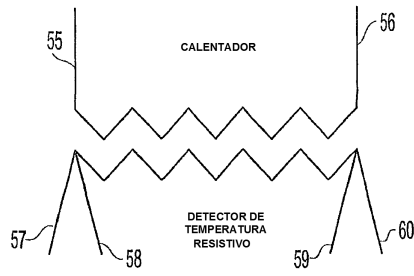


Fig. 4A

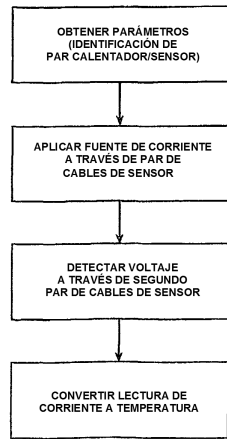


Fig. 4B

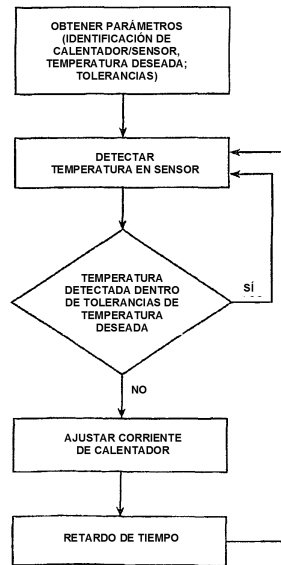


Fig. 4C

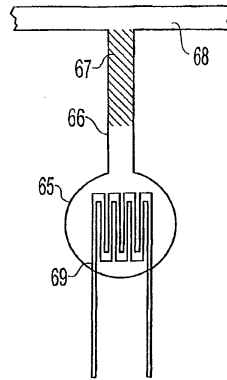


Fig. 5A

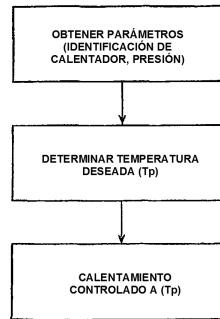


Fig. 5B

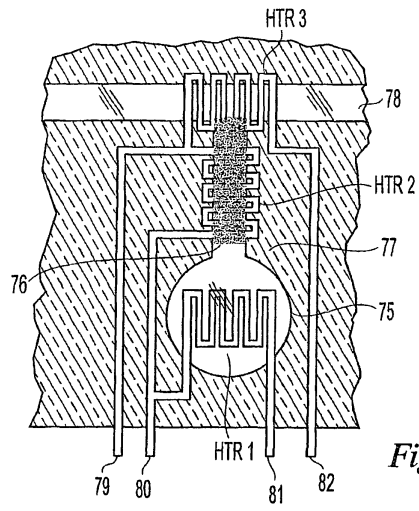


Fig. 6A

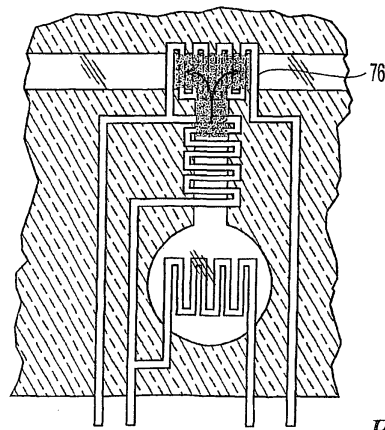


Fig. 6B

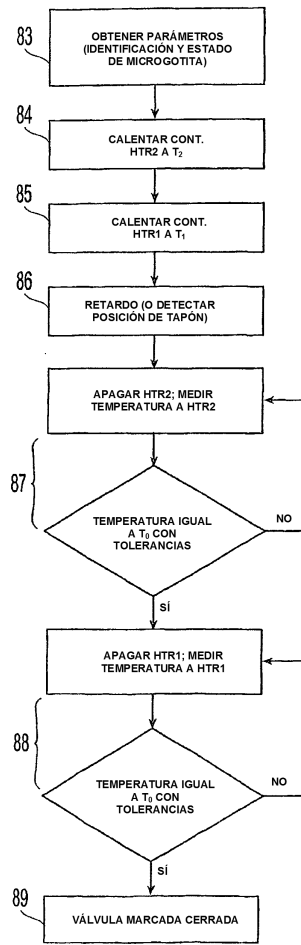


Fig. 6C

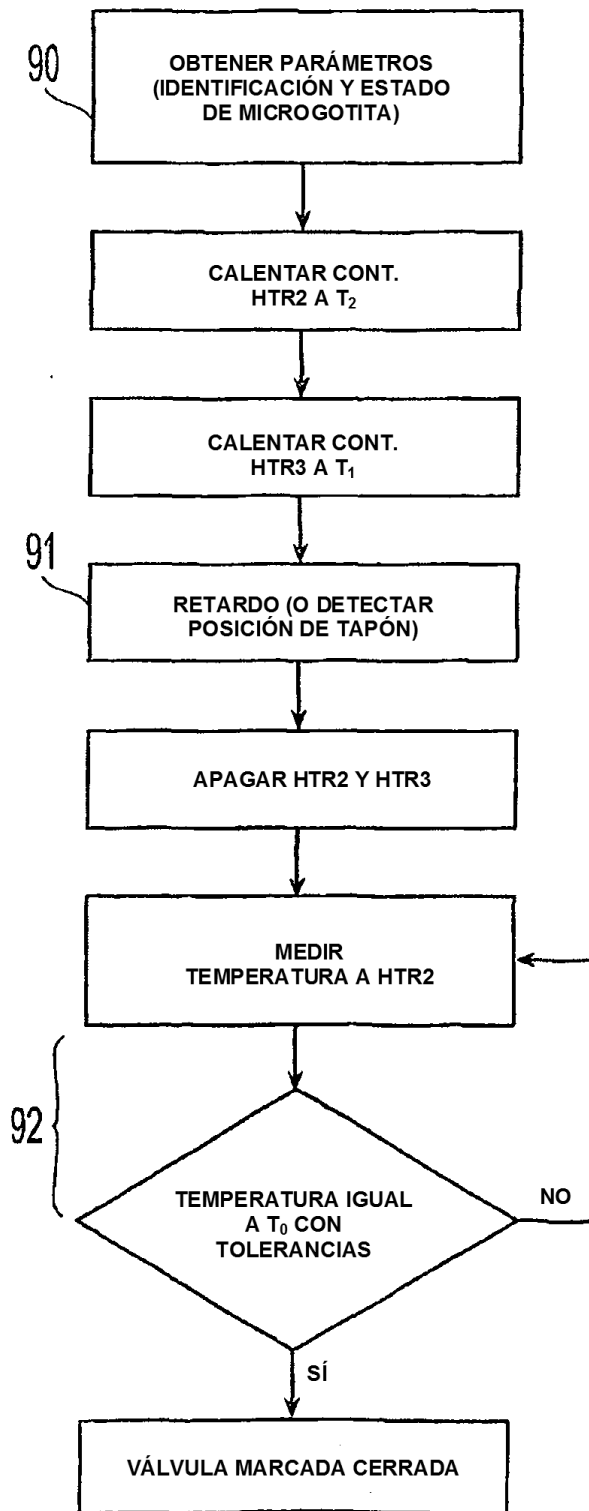


Fig. 6D

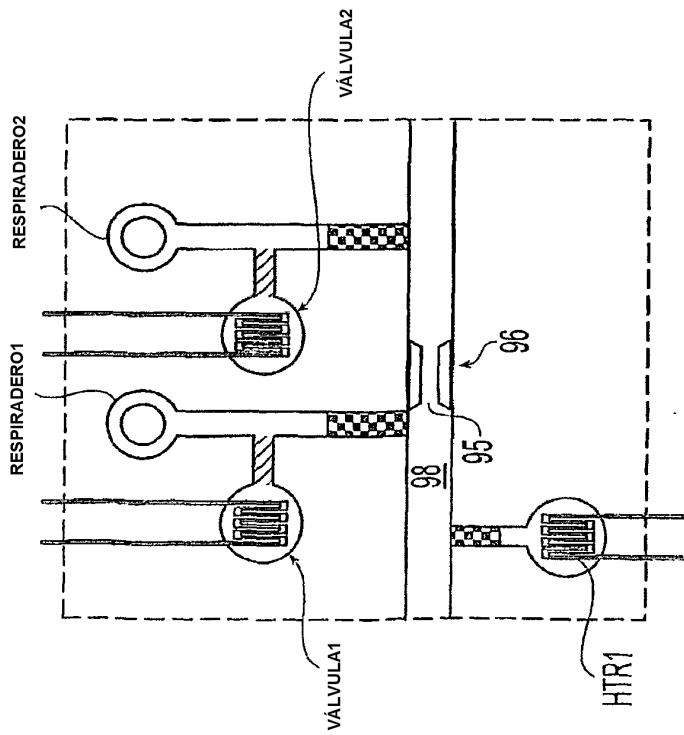


Fig. 7A

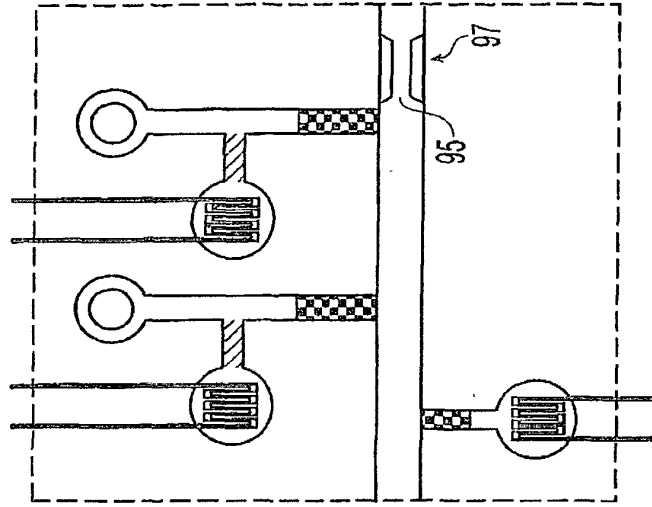


Fig. 7B

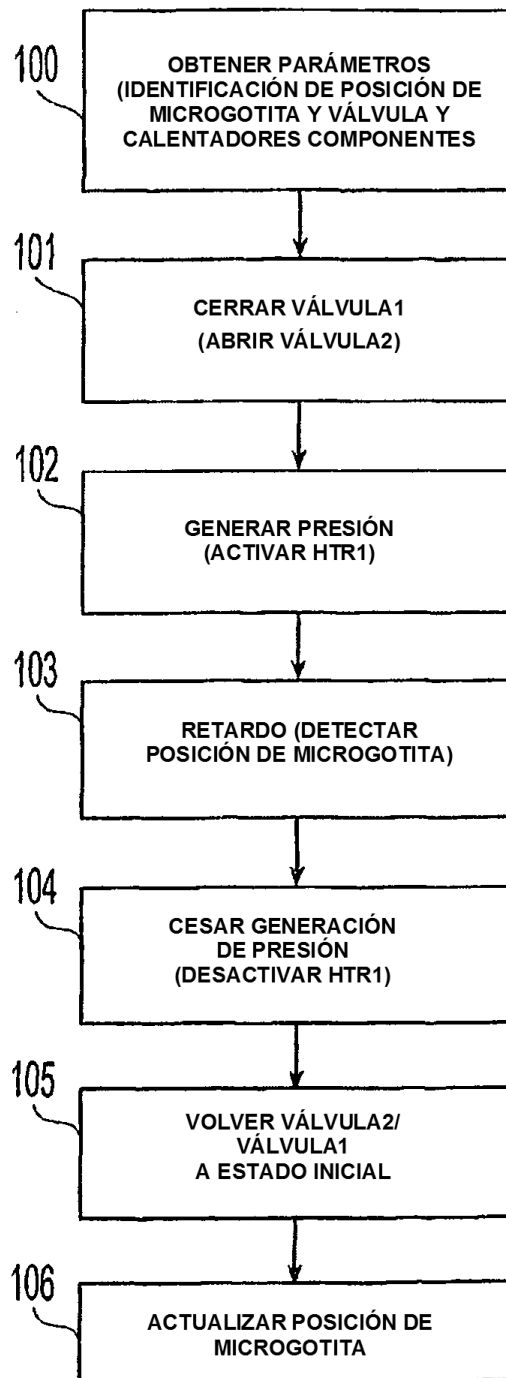


Fig. 7C

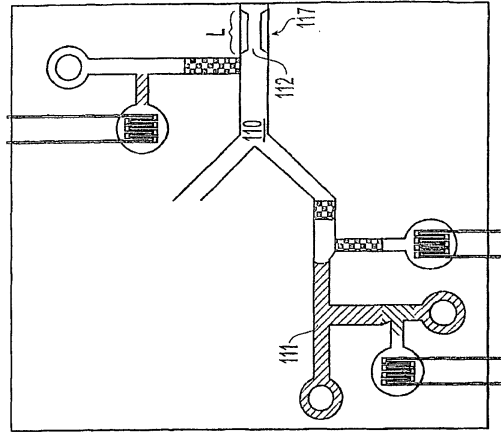


Fig. 8B

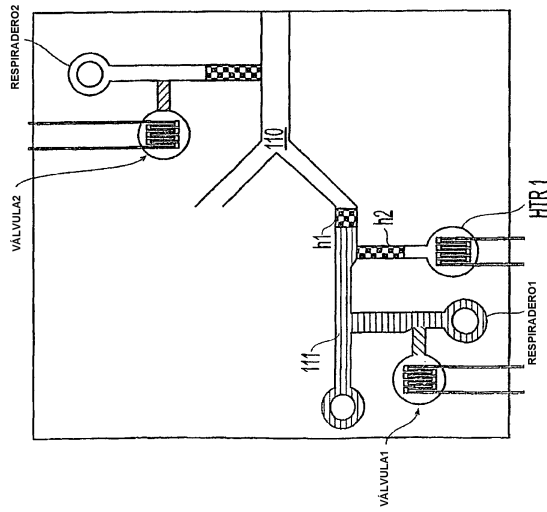


Fig. 8A

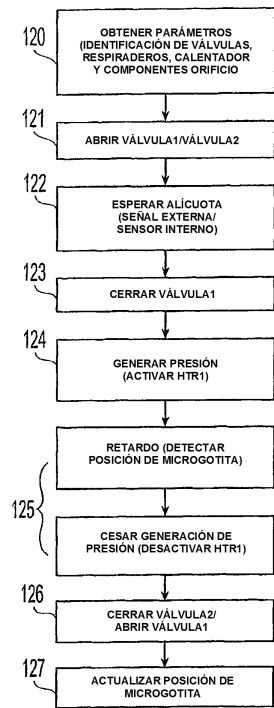


Fig. 8D

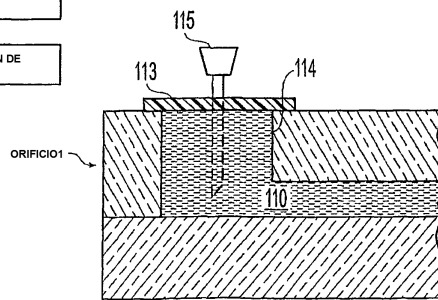


Fig. 8C

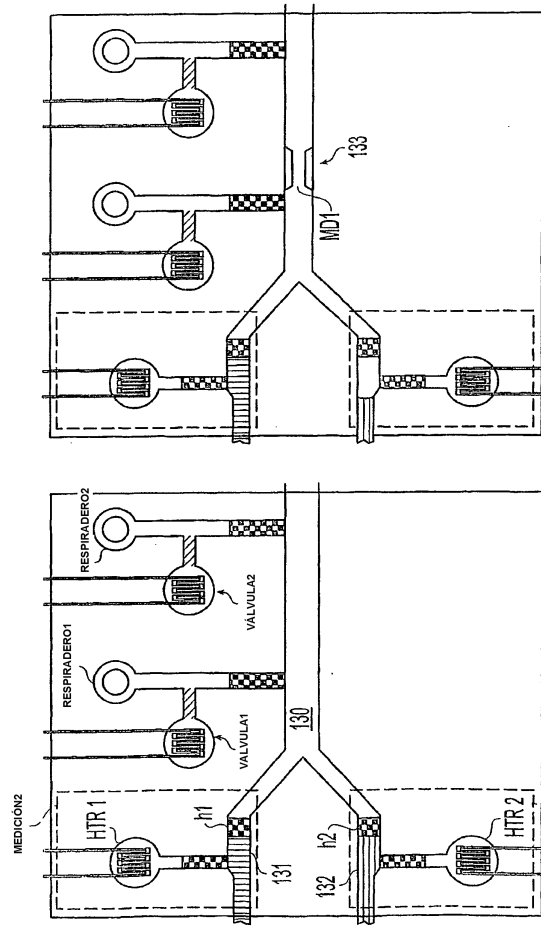


Fig. 9B

Fig. 9A

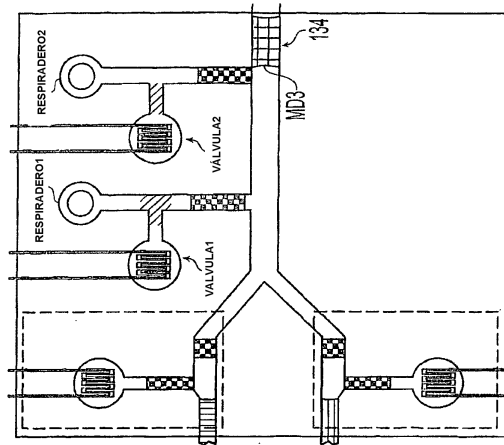


Fig. 9D

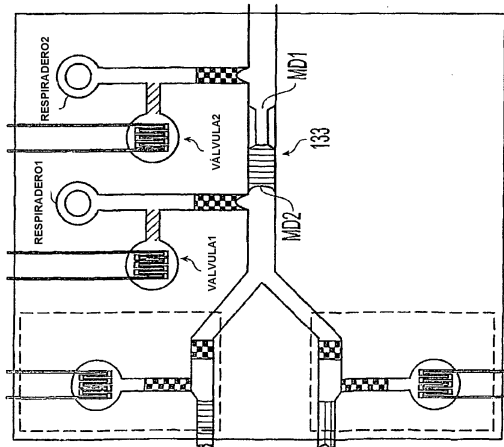


Fig. 9C

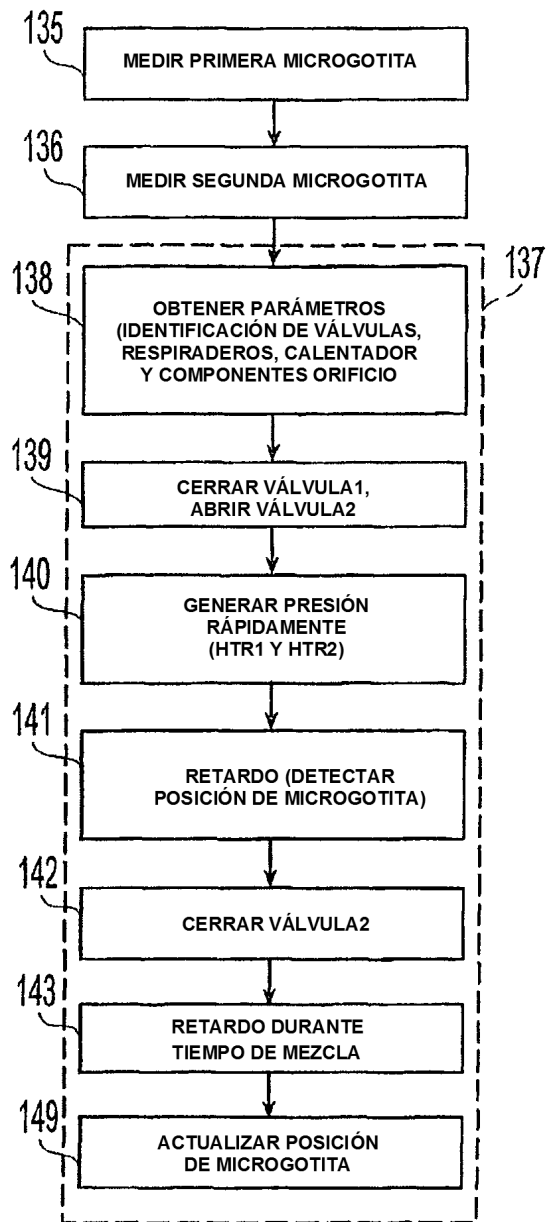


Fig. 9E

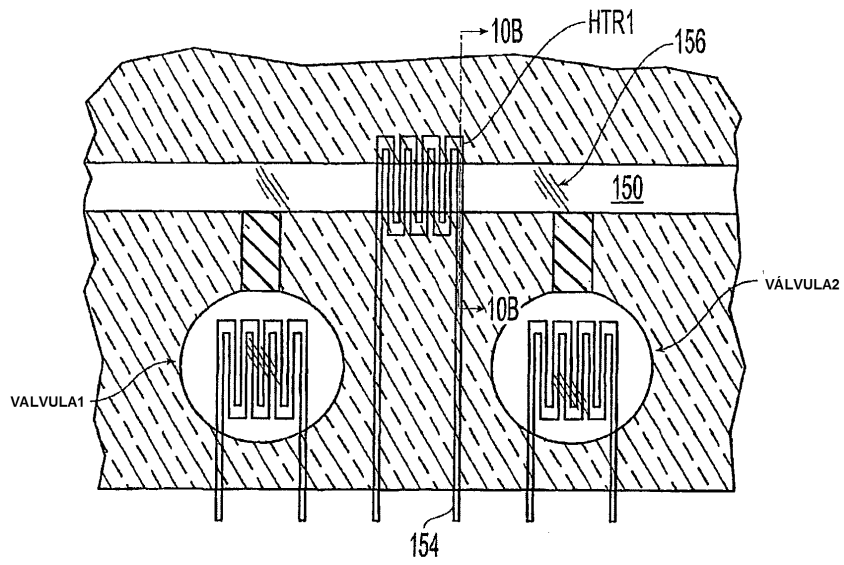


Fig. 10A

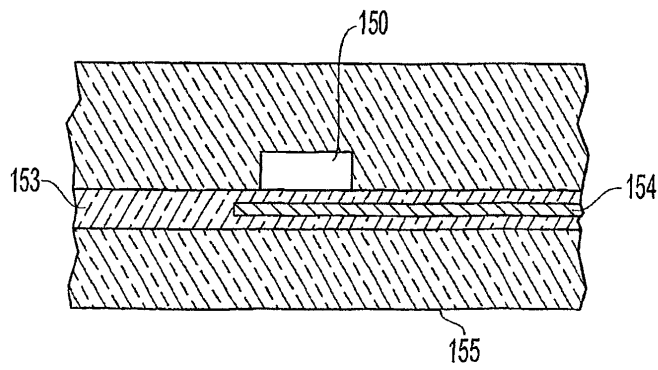


Fig. 10B

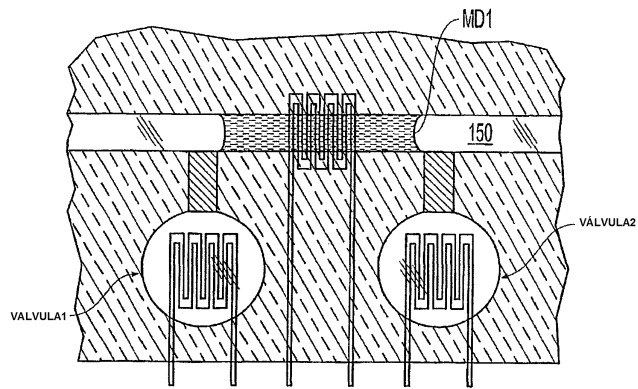


Fig. 10C

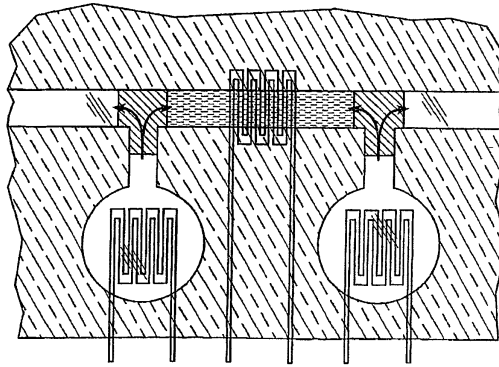


Fig. 10D

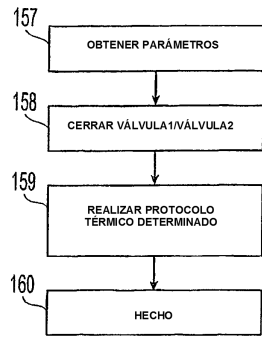


Fig. 10E

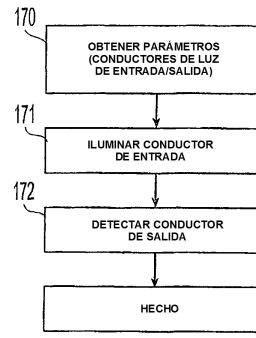


Fig. 11B

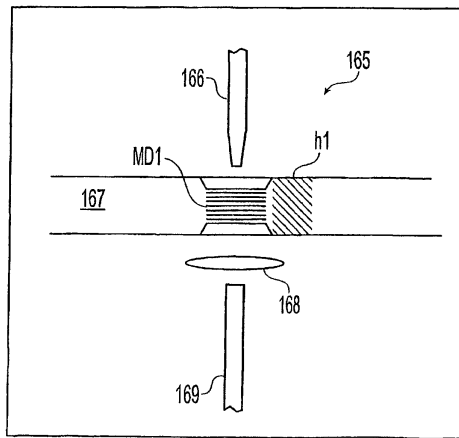


Fig. 11A

