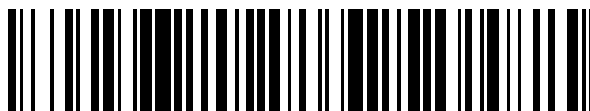


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 404**

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

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.03.2002 PCT/US2002/09439**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **10.10.2002 WO02078845**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2002 E 02723635 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 1390145**

54 Título: **Procedimientos para control de dispositivos microfluídicos**

30 Prioridad:

28.03.2001 US 819105

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

04.07.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HANDIQUE, KALYAN;
GANESAN, KARTHIK y
BRAHMASANDRA, SUNDARESH N.**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

ES 2 621 404 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

Procedimientos para control de dispositivos microfluídicos

5 Descripción

1. CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere al campo de la microfluídica. Más específicamente, la presente
10 invención está dirigida a procedimientos 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.

2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 [0002] Los dispositivos de micro/nanotecnología son conocidos en la técnica como dispositivos con
componentes en la escala de 1 μm a 100 μm que cooperan para realizar diversas funciones deseadas. En particular,
los dispositivos microfluídicos son dispositivos de micro/nanotecnología que realizan funciones de manipulación de
fluido, que, por ejemplo, cooperan para llevar a cabo una reacción o un análisis químico o bioquímico.

20 [0003] La mayoría de los dispositivos microfluídicos de la técnica anterior están basados en un fluido que
fluye a través de conductos y cámaras a microescala, ya sea continuamente o en partes alícuotas relativamente
grandes. El flujo de fluido habitualmente es iniciado y controlado por fuerzas electroosmóticas y electroforéticas.
Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N^{os} 5.632.876, concedida el 27 de abril de 1997 y titulada "Apparatus
25 and Methods for Controlling Fluid Flow in Microchannels"; 5.992.820, concedida el 30 de noviembre de 1999 y
titulada "Flow Control in Microfluidic Devices by Controlled Bubble Formation"; 5.637.469, concedida el 10 de junio
de 1997 y titulada "Methods and Apparatus for the Detection of an Analyte Utilizing Mesoscale Flow Systems";
5.800.690, concedida el 1 de septiembre de 1998 y titulada "Variable Control of Electroosmotic and/or
Electrophoretic Forces Within a Fluid-Containing Structure Via Electrical Forces"; y 6.001.231, concedida el 14 de
30 diciembre de 1999 y titulada "Methods and Systems for Monitoring and Controlling Fluid Flow Rates in Microfluidic
Systems".

[0004] Estos dispositivos son relativamente desventajosos porque, entre otras cosas, requieren grandes
volúmenes de reactivos en virtud de su diseño basado en flujo, y el control de fluido mediante fuerzas
35 electroosmóticas y electroforéticas requiere típicamente voltajes relativamente grandes, los cuales pueden ser
peligrosos y son difíciles de generar en pequeños dispositivos de control portátiles. Los dispositivos de control para
dispositivos microfluídicos basados en tales tecnologías son más grandes, al menos de tamaño de escritorio.

[0005] Una tecnología más ventajosa para dispositivos microfluídicos han sido desarrolladas por uno o más
40 de los inventores de la presente solicitud y otros. Esta tecnología ventajosa manipula partes alícuotas de fluidos muy
pequeñas (conocidas en este documento como "microgotitas") en conductos a microescala confiando en gran
medida en la presión y otras fuerzas no eléctricas. Estos dispositivos son ventajosos porque se requieren menores
volúmenes de reactivos, y porque las fuerzas no eléctricas pueden ser generadas mediante menores voltajes, del
orden de magnitud producida por componentes microelectrónicos estándar. Véase, es decir, las patentes de EE.UU.
45 n^{os}: 6.057.149, concedida el 2 de mayo de 2000 y titulada "Microscale Devices and Reactions In Microscale
Devices"; 6.048.734, concedida el 11 de abril de 2000 y titulada "Thermal Microvalves in a Fluid Flow Method"; y
6.130.098, concedida en 10 de octubre de 2000.

[0006] Sin embargo, hasta donde conocen los inventores, no se ha proporcionado ningún sistema de control
50 bien estructurado para tales dispositivos microfluídicos basados en microgotitas que aproveche las ventajas
esenciales de tales dispositivos.

[0007] La mención o identificación de cualquier antecedente en esta sección o cualquier sección de esta
solicitud no debe interpretarse como que tal antecedente está disponible como técnica anterior a la presente
55 invención.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0008] Uno de los objetos de la presente invención es superar esta deficiencia en la técnica y proporcionar

procedimientos y sistemas para controlar dispositivos microfluídicos basados en microgotitas que aprovechen sus ventajas esenciales. Debido a la estructura y las propiedades de tales dispositivos microfluídicos, los procedimientos y sistemas de esta invención pueden implementarse en una amplia variedad de realizaciones, desde realizaciones totalmente portátiles hasta realizaciones de laboratorio para realizar reacciones y análisis de elevada productividad.

5 Además, debido a la estructura y propiedades de tal dispositivo microfluídico, estos procedimientos y sistemas pueden ser controlados por los usuarios para realizar diversas reacciones y análisis de manera similar a programar un ordenador.

[0009] Por lo tanto, la presente invención tiene por uno de sus varios objetos la provisión de sistemas de control programables y software para lo que se conoce en este documento como dispositivos microfluídicos "digitales". Los sistemas de control provistos, que reflejan el diseño de dispositivos microfluídicos preferentes en sí mismos, tienen un diseño generalmente jerárquico en el que el control del dispositivo detallado y de nivel inferior está organizado en un menor número de funciones de control básicas, mientras que el control del dispositivo general y a nivel superior está organizado como secuencias de la función básica que hacen que un dispositivo particular lleve a cabo reacciones de análisis pretendidas. Los sistemas de control de la presente invención son así adaptables a muchos tipos diferentes de dispositivos microfluídicos digitales y reacciones pretendidas; son escalables a dispositivos de diversas complejidades, simples de programar y económicos.

[0010] De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para realizar una reacción química en un dispositivo microfluídico ("MF") de tipo digital, dispositivo microfluídico (i) en el que el dispositivo microfluídico comprende uno o más conductos para confinar una o más microgotitas, teniendo los conductos una o más posiciones estables para las microgotitas, siendo las posiciones estables posiciones predefinidas a las cuales una microgotita puede moverse y puede residir de manera estable, y (ii) comprende uno o más componentes internos que responden a señales de control, los componentes internos asociados operativamente con los conductos para controlar y monitorizar el dispositivo microfluídico, comprendiendo el procedimiento: (a) proporcionar uno o más reactivos fluidos, en el que los reactivos fluidos comprenden los reactivos necesarios para la reacción, (b) crear una microgotita final que comprende los reactivos necesarios para la reacción a partir de los reactivos fluidos introduciendo los reactivos dentro del dispositivo microfluídico, proporcionar señales de control para medir una microgotita a partir de los reactivos introducidos y colocar la microgotita final en una posición estable, (c) determinar, utilizando al menos un componente interno, una presencia o ausencia de la microgotita final, (d) mover la microgotita final generando una presión de gas dentro del dispositivo microfluídico, y (e) después de las etapas de determinación y movimiento, hacer reaccionar la microgotita final.

[0011] En ejemplos particulares, la etapa de reacción puede incluir además esperar un tiempo suficiente para la aparición de la reacción; la etapa de reacción puede incluir además excitar la microgotita final proporcionando señales de control al dispositivo MF, en el que la excitación es suficiente para causar la aparición de la reacción; la etapa de excitación puede incluir calentar térmicamente o irradiar ópticamente la microgotita; puede haber una etapa de detección de la composición de la microgotita que ha reaccionado proporcionando señales de control al dispositivo MF; y la reacción química puede incluir realizar el análisis de una muestra.

[0012] La etapa de creación puede incluir además: (a) proporcionar una solicitud de procesamiento de microgotita, en el que una solicitud de procesamiento de microgotita específica la realización de al menos una acción sobre al menos una microgotita, incluyendo la solicitud ya sea (i) crear una o más nuevas microgotitas en posiciones estables seleccionadas, o (ii) mover una o más microgotitas de posiciones estables actuales a siguientes posiciones estables seleccionadas, o (iii) combinar dos o más microgotitas en una o más nuevas microgotitas en posiciones estables seleccionadas, o (iv) mezclar una o más microgotitas, y (b) generar señales de control para cada solicitud de procesamiento de microgotita, las cuales son proporcionadas al dispositivo MF, en el que las señales de control son generadas en un patrón y una secuencia que responden a cada solicitud de procesamiento de microgotita de modo que los componentes internos del dispositivo MF que responden a las señales de control funcionan juntos para realizar el procesamiento de microgotita solicitado en el dispositivo MF.

[0013] La presente invención puede incluir además: (a) antes de la etapa de proporcionar una solicitud de procesamiento de microgotita, proporcionar un programa de procesamiento de microgotita, en el que un programa de procesamiento de microgotita incluye una o más solicitudes de procesamiento de microgotita, y en el que la etapa de proporcionar una solicitud de procesamiento de microgotita incluye además seleccionar una solicitud indicada del programa provisto, y (b) repetir las etapas de proporcionar una solicitud y generar señales con cada solicitud de procesamiento de microgotita hasta que el programa provisto indica que no se dispone de más solicitudes para su selección; que cada solicitud de procesamiento de microgotita provista incluye además una o más solicitudes de procesamiento de actuador, en el que una solicitud de procesamiento de actuador específica la realización de al

menos una acción asociada físicamente con al menos un conducto del dispositivo MF, en el que el patrón y la secuencia generados de señales de control que responden a una solicitud de procesamiento de microgotita incluyen además subpatrones y subsecuencias que responden a cada solicitud de procesamiento de actuador de la solicitud de procesamiento de microgotita, y en el que el subpatrón y la subsecuencia de señales de control que responden a cada solicitud de procesamiento de actuador hacen que los componentes internos receptivos del dispositivo MF funcionen juntos para realizar la acción solicitada; y que las solicitudes de procesamiento de actuador incluyen: (i) abrir o cerrar un conducto controlado seleccionado mediante componentes internos que actúan como una válvula controlable, (ii) proporcionar presión de gas controlable en un conducto seleccionado mediante componentes internos que actúan como un generador de presión, (iii) detectar la presencia o ausencia de una microgotita en una posición seleccionada en un conducto seleccionado mediante componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita, o (iv) detectar la composición de una microgotita en una posición seleccionada en un conducto seleccionado mediante componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita.

[0014] En un aspecto adicional, se proporciona un sistema de adquisición de datos (“DAQ”) para controlar la operación de un dispositivo microfluídico (“MF”) de tipo digital, el cual es un dispositivo (i) que comprende uno o más conductos para confinar una o más microgotitas, teniendo los conductos una o más posiciones estables para las microgotitas, siendo dichas posiciones estables posiciones predefinidas a las cuales una microgotita puede ser movida y residir de manera estable, (ii) que comprende uno o más componentes internos que responden a señales de control, los componentes internos asociados operativamente con los conductos para controlar y monitorizar el dispositivo microfluídico, y (iii) está configurado para recibir uno o más reactivos fluidos, en el que los reactivos fluidos comprenden los reactantes necesarios para la reacción, comprendiendo el sistema: (a) circuitos de control digital programables interconectados al dispositivo microfluídico, en el que los circuitos de control digital proporcionan señales de control al dispositivo microfluídico, y (b) memoria accesible a los circuitos de control digital programables que comprende instrucciones y datos almacenados que representan una o más solicitudes de procesamiento de microgotita, en el que una solicitud de procesamiento de microgotita especifica la realización de al menos una acción sobre al menos una microgotita, comprendiendo cada solicitud de procesamiento de microgotita una o más solicitudes de procesamiento de actuador, especificando cada una realizar al menos una acción asociada con al menos un conducto del dispositivo microfluídico, en el que las solicitudes de procesamiento de microgotita comprenden al menos uno de: (i) crear una microgotita final que comprende los reactantes necesarios para la reacción a partir de los reactivos fluidos introduciendo los reactivos dentro del dispositivo microfluídico, proporcionar señales de control al dispositivo microfluídico para medir una microgotita a partir de los reactivos introducidos, y colocar la microgotita final en una posición estable, (ii) determinar, utilizando al menos un componente interno, una presencia o ausencia de la microgotita final, (iii) mover la microgotita final generando una presión de gas dentro del dispositivo microfluídico, y (iv) después de las etapas de determinar, utilizando el al menos un componente interno, la presencia o ausencia de la microgotita final y mover la microgotita final, hacer que se produzca la reacción en la microgotita final.

[0015] Puede estar incluido además al menos un receptáculo para recibir un dispositivo MF interconectado, en el que el receptáculo permite la transferencia de señales de control entre los circuitos programables y un dispositivo MF de interfaz; los circuitos de control digital programables incluyen además una interfaz a un sistema informático anfitrión, en el que un sistema informático anfitrión es accesible a un usuario para monitorizar y controlar la operación del sistema DAQ; los circuitos de control digital programables incluyen además: (a) un procesador, y (b) circuitos periféricos controlables por el procesador para generar señales hacia un dispositivo MF interconectado; los circuitos periféricos incluyen además: (a) circuitos controladores para proporcionar señales de control eléctricas a un dispositivo MF interconectado, y (b) circuitos de detección para recibir señales de control eléctricas procedentes de un dispositivo MF interconectado; y los circuitos periféricos incluyen además: (a) circuitos controladores para proporcionar señales de control ópticas a un dispositivo MF interconectado, y (b) circuitos de detección para recibir señales de control ópticas procedentes de un dispositivo MF interconectado.

[0016] Las instrucciones y datos almacenados en la memoria pueden incluir además: (a) datos de solicitud que representan una o más solicitudes de procesamiento de microgotita, y (b) instrucciones de procesamiento de solicitud, en el que la ejecución de la instrucción de procesamiento de solicitud hace que los circuitos de control digital programables generen señales de control para realizar las solicitudes de procesamiento de microgotita representadas en el dispositivo MF; y las instrucciones y datos almacenados en la memoria incluyen además: (a) datos de configuración de microgotita que representan la identificación de las microgotitas presentes en un dispositivo MF interconectado y sus posiciones respectivas, (b) datos de configuración de dispositivo que representan el estado de los componentes internos de un dispositivo MF interconectado, y (b) instrucciones de actualización de configuración que causan la actualización de los datos de configuración tras la terminación de una solicitud de procesamiento.

[0017] Las instrucciones de procesamiento de solicitud pueden incluir además instrucciones para verificar que una solicitud de procesamiento de microgotita es coherente con los datos de configuración de microgotita; y las instrucciones y datos almacenados en la memoria incluyen además datos de estructura de dispositivo MF que representan los componentes internos de un dispositivo MF interconectado y su disposición mutua.

[0018] En un aspecto adicional, la presente invención incluye medios legibles por ordenador que incluyen instrucciones codificadas para hacer que un sistema de adquisición de datos realice cualquiera de los procedimientos de la presente invención.

10

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0019] La presente invención puede comprenderse de manera más completa por referencia a la siguiente descripción detallada de la realización preferente de la presente invención, ejemplos ilustrativos de realizaciones específicas de la invención, y las figuras adjuntas, en las que:

15

la fig. 1 ilustra un dispositivo microfluídico ejemplar controlado térmicamente de manera preferente;

la fig. 2 ilustra una jerarquía funcional de la presente invención;

las figs. 3A-B ilustran la estructura de sistema de control preferente de la presente invención;

20 las figs. 4A-C ilustran funciones de componente de calentamiento controlado para un procesador microfluídico preferente;

las figs. 5A-B ilustra funciones de componente generador de presión para un procesador microfluídico preferente;

las figs. 6A-D ilustran funciones de actuador de microválvula para un procesador microfluídico preferente;

las figs. 7A-C ilustran funciones de movimiento de microgotita para un procesador microfluídico preferente;

25 las figs. 8A-D ilustran funciones de medición de microgotita para un procesador microfluídico preferente;

las figs. 9A-E ilustran funciones de mezcla de microgotitas para un procesador microfluídico preferente;

las figs. 10A-E ilustran funciones de reacción/análisis para un procesador microfluídico preferente;

las figs. 11A-B ilustra funciones de actuador de detección óptica para un procesador microfluídico preferente;

la fig. 12 ilustra una función de control de reacción ejemplar; y

30 la fig. 13 ilustra un procedimiento de preparación de muestra ejemplar.

[0020] En las figuras de designación numérica igual pero alfabética diferente, por ejemplo, fig. 5A y fig. 5B, a los elementos idénticos se hace referencia con los mismos caracteres de referencia.

35 5. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

[0021] La sección 5.1 describe en general dispositivos microfluídicos preferentes controlados por los sistemas y procedimientos de la presente invención; la sección 5.2 describe realizaciones preferentes de estos sistemas de y procedimientos de control en vista de las características de dispositivos microfluídicos preferentes; la sección 5.3 describe dispositivos microfluídicos controlados térmicamente más preferentes y sus sistemas y procedimientos de control más preferentes; además, la sección 5.3 describe realizaciones adicionales.

40

5.1 DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS PREFERENTES

45 [0022] Los sistemas y procedimientos de la presente invención controlan dispositivos microfluídicos que operan de una manera denominada en este documento como "digital". En esta subsección, en primer lugar se describen las características generales de dispositivos microfluídicos "digitales". Posteriormente, se describe un tipo más preferente de dispositivo microfluídico "digital" controlado térmicamente.

50 5.1.1 DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS DIGITALES

[0023] Los dispositivos microfluídicos realizan reacciones o análisis químicos o bioquímicos manipulando reactivos fluidos en cámaras y conductos que generalmente están dimensionados en sección transversal desde aproximadamente 10 a 50 μm (micrómetro) hasta aproximadamente 100 a 1000 μm , y que están formados sobre o en un sustrato habitualmente plano que tiene dimensiones lineales desde aproximadamente 1 mm (centímetro) hasta aproximadamente 20 cm. Un dispositivo microfluídico puede manipular reactantes fluidos a medida que fluyen a través de los conductos y cámaras del dispositivo, ya sea como flujos continuos procedentes de reservorios de entrada a través del dispositivo hasta puertos de salida, o como flujos semicontinuos de partes alícuotas de fluido que llenan sustancialmente los conductos y cámaras del dispositivo durante la operación. Alternativamente, los

55

dispositivos microfluídicos preferentes pueden manipular reactivos fluidos como microgotitas separadas y discretas que se caracterizan por tener longitudes que son aproximadamente menores que las dimensiones del dispositivo en un orden de magnitud o más, por ejemplo, aproximadamente 1 a 20 mm (milímetro) o menos. Así, durante la operación los conductos y las cámaras de un dispositivo microfluídico preferente están en gran medida libres de reactivos fluidos. Las microgotitas pueden tener, por ejemplo, volúmenes desde aproximadamente 1 nl (nanolitro) hasta aproximadamente 1 μ l (microlitro). Por ejemplo, una microgotita de tamaño 10 μ m por 100 μ m por 1 mm tiene un volumen de 1 nl; una microgotita de 100 μ m por 1000 μ m por 10 mm tiene un volumen de 1 μ l. Cada dispositivo microfluídico manipula preferentemente microgotitas de sólo unos pocos tamaños o volúmenes preseleccionados.

10 **[0024]** Los dispositivos microfluídicos “digitales”, tal como este término se usa y entiende en este documento, son del último tipo preferente, que mantienen y manipulan los reactantes fluidos como microgotitas separadas y distinguibles. Los conductos y las cámaras de un dispositivo microfluídico digital tienen una pluralidad de posiciones predefinidas de modo que cada microgotita o bien reside en una de las posiciones predefinidas o bien está moviéndose entre estas posiciones predefinidas. Las posiciones predefinidas, conocidas en este documento como
15 posiciones “estables”, son posiciones a las cuales una microgotita puede moverse y en las cuales residir de manera estable, y son creadas por la configuración y disposición de conductos y cámaras, y por las fuerzas generadas en los mismos. Una microgotita puede residir sin movimiento en una posición estable incluso mientras otras microgotitas están moviéndose entre otras posiciones estables. Las posiciones estables pueden producirse en zonas donde, por ejemplo, puede hacerse que una fuerza que impulsa una microgotita se desvanezca de modo que una
20 microgotita se vuelve estacionaria, o donde se requiere una fuerza extra para el tránsito de modo que, en ausencia de tal fuerza extra, una microgotita permanecerá estacionaria, o donde las fuerzas que actúan sobre la microgotita se equilibran no dejando una fuerza de impulsión neta. En contraposición, el tipo menos preferente de dispositivo microfluídico que manipula flujos de fluido continuos o semicontinuos a través de conductos puede considerarse como un dispositivo “analógico”.

25 **[0025]** Las reacciones en un dispositivo microfluídico digital pueden especificarse en términos de la residencia de las microgotitas en, y las transiciones entre, posiciones estables. Por ejemplo, durante el movimiento entre posiciones estables, las microgotitas pueden ser preparadas para una reacción o un análisis pretendido midiendo una nueva microgotita procedente de un reservorio de fluido, o mezclando dos o más microgotitas
30 existentes dentro de una nueva microgotita individual, etcétera. (En este documento, se acepta que “medir” una microgotita significa crear una nueva microgotita de volumen o tamaño conocido aproximadamente). Puede producirse una reacción en una microgotita que tiene la composición necesaria mientras reside en una posición estable. Opcionalmente, la reacción en la microgotita estacionaria puede ser excitada, por ejemplo, por calentamiento, enfriamiento, o radiación, etcétera, o puede producirse simplemente con el paso del tiempo.

35 **[0026]** Según la presente invención resulta útil, pero no se pretende que sea limitativo, considerar los dispositivos microfluídicos digitales como análogos a máquinas de estado finito (FSM). Resulta bien conocido en la técnica de los ordenadores que las FSM tienen un número finito de estados o configuraciones y que logran sus funciones a través de una serie de transiciones de estado desde los estados iniciales hasta los estados finales,
40 efectuándose cada transición de estado en respuesta a una entrada determinada. Análogamente, un estado o configuración de un dispositivo microfluídico digital puede definirse por una descripción de las microgotitas presentes en el dispositivo y la posición estable en la cual reside actualmente 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
45 microfluídico digital para llevar a cabo una reacción o un análisis pretendido puede entonces estar definida por una secuencia de configuraciones desde una configuración inicial hasta una configuración final. En la configuración inicial, el dispositivo tiene reactivos precargados en sus posiciones iniciales y está listo para la carga de cualquier reactivo o muestra restante. Las configuraciones intermedias resultan de manipulaciones de microgotitas que forman una microgotita con los reactivos constituyentes necesarios para la reacción pretendida en una posición de reacción
50 estable. En la configuración final, la reacción pretendida tiene lugar en esta microgotita formada.

[0027] Por consiguiente, los procedimientos y sistemas de control de la presente invención en las realizaciones preferentes de la invención están estructurados de modo que el control de reacción puede ser especificado en términos de manipulaciones de microgotitas, o, de manera equivalente, transiciones de
55 configuraciones del dispositivo microfluídico. En esta estructura, los detalles del control del dispositivo real, que dependen de la tecnología e implementación del dispositivo, aparecen sólo en relación con la realización de manipulaciones de microgotitas, y de otro modo pueden ser ignorados sustancialmente para el control de reacción. En un aspecto importante, la presente invención estructura los detalles del control de dispositivos para manipulación de microgotitas incorporando características ventajosas, técnicas y principios conocidos en la técnica de los

ordenadores para el control de FSM. Por ejemplo, las posiciones estables en un dispositivo microfluídico digital pueden considerarse como uno o más "registros", los pasos entre estados estables pueden considerarse como "lógica combinatoria" entre los registros. La configuración de un dispositivo puede considerarse como la ocupación de los "registros" por microgotitas, y los procedimientos y sistemas para dispositivos microfluídicos digitales controlados pueden estar diseñados según paradigmas de diseño de transferencia de registros conocidos para tipos similares de FSM. Como ejemplo adicional, un dispositivo microfluídico digital puede ser controlado de una manera superpuesta o canalizada, en el que las diversas microgotitas llegan a sus ubicaciones en una configuración particular en momentos diferentes, de modo que la configuración no se realiza de una sola vez por todo el dispositivo microfluídico. Tal superposición, o canalización, de configuraciones puede ser ventajosa porque el control canalizado, que descompone una operación individual en una secuencia de suboperaciones, es conocida en la técnica de los ordenadores por ser un procedimiento para conseguir un mayor productividad del procesador.

[0028] En las realizaciones más preferentes de la invención que se describirán a continuación, los detalles del control de dispositivos hacen un uso importante de los principios de la estructura jerárquica. Ha de entenderse, sin embargo, que esta analogía no pretende conducir a inferencias limitativas. Por ejemplo, los procedimientos y sistemas de control de esta invención no están limitados a procedimientos y técnicas de control de FSM conocidos.

Dispositivos (procesadores) microfluídicos digitales preferentes

[0029] Los sistemas y procedimientos de la presente invención pueden aplicarse para controlar dispositivos microfluídicos digitales generales como se acaba de describir. Se aplican preferentemente, sin embargo, a dispositivos microfluídicos digitales que tienen las siguientes propiedades adicionales

- (i) estructuras predominantemente modulares y jerárquicas, y
- (ii) que pueden ser controlados principalmente mediante señales de control eléctricas.

Tales dispositivos microfluídicos digitales preferentes, denominados en lo sucesivo "procesadores" microfluídicos (o simplemente "procesadores"), se prefieren sobre los dispositivos microfluídicos digitales generales porque una amplia variedad de procesadores diferentes pueden ser controlados de manera fácil y flexible por un único sistema de control programable que implementa procedimientos de control modulares y estructurados jerárquicamente. El control de un process microfluídico particular de una clase particular es especificado entonces invocando un módulo de control de alto nivel, el cual encapsula jerárquicamente detalles de control de bajo nivel para todos los procesadores microfluídicos de esa clase particular.

[0030] A continuación se describen en detalle estas dos propiedades preferentes de los procesadores microfluídicos. La primera propiedad, que un procesador microfluídico tiene una construcción en gran medida modular y jerárquica, significa en este documento, en primer lugar, que un procesador microfluídico está construido de un número limitado de tipos de módulos funcionales básicos, por ejemplo, preferentemente menos de aproximadamente 10 tipos de módulos, o más preferentemente menos de aproximadamente 5 tipos de módulos. En términos de la analogía de las FSM, estos tipos funcionales básicos de módulos son análogos a los tipos funcionales básicos de circuitos eléctricos, por ejemplo, puertas NAND, NOR, y circuitos biestables, de los cuales pueden estar construidas las FSM. En lo siguiente, los módulos básicos se denominan fundamentalmente "actuadores". Un conjunto ejemplar de tipos de actuadores básicos, suficientes para muchos (pero no necesariamente todos) procesadores microfluídicos, incluye actuadores de tipo microválvula, actuadores de tipo de generación de presión (u otros tipos de actuadores generadores de fuerza), actuadores de tipo de calentamiento/enfriamiento, actuadores para monitorizar el estado del procesador, etcétera. Las microválvulas pueden ser controladas para cerrar o abrir un conducto particular, preferentemente de manera reversible, al movimiento de microgotitas, gases, u otro contenido del conducto. Los actuadores de generación de presión pueden ser controlados para crear presión de gas relativa (o vacío relativo). Los actuadores de calentamiento/enfriamiento pueden ser controlados para realizar calentamiento o enfriamiento localizado o generalizado. Los actuadores para monitorización de estado pueden ser controlados para proporcionar una entrada que señala la posición de las microgotitas, la temperatura local del procesador, u otros parámetros. También pueden ser deseables actuadores para excitación y detección óptica. Por ejemplo, la radiación puede iniciar una reacción o monitorizar los productos de reacción; la radiación también puede usarse para monitorizar la posición y composición de las microgotitas.

[0031] También se entiende que una construcción modular y jerárquica significa que los actuadores están contruidos a su vez jerárquicamente a partir de componentes controlables atómicamente, implementados discretamente, a nivel de dispositivo. Los componentes controlables atómicamente o implementados discretamente 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 pueden ser descompuestos en componentes controlables más simples, etcétera. Cualquier tecnología de procesador microfluídico particular típicamente no tiene componentes individuales, unitarios al nivel de implementación del dispositivo para todos los tipos de actuadores. Por ejemplo, en la clase de procesadores controlables térmicamente preferentes que se va a describir, no hay ningún componente de microválvula controlable atómicamente individual que disponga de una función de microválvula para construir procesadores microfluídicos. En su lugar, la función de actuador de microválvula se construye a partir de varios componentes individuales, cada uno de los cuales es controlable atómicamente y está implementado discretamente y los cuales están dispuestos juntos y son controlados conjuntamente por los procedimientos de esta invención para que tengan una función de microválvula. Esto es, por supuesto, similar a las “macroválvulas” controlables eléctricamente, las cuales también están construidas a partir de varios componentes mecánicos y eléctricos unitarios que funcionan juntos para realizar la función de válvula. También es análogo a las FSM donde, por ejemplo, las puertas NOR no pueden ser implementadas directamente en muchas tecnologías de fabricación de semiconductores, sino que, en cambio, deben ser construidas a partir de una disposición de puertas (fabricadas a su vez a partir de transistores) formada a partir de zonas de semiconductor, conductor, y aislante que pueden ser implementadas directamente. Por consiguiente, en cualquier tecnología de implementación, cada tipo de actuador básico está construido habitualmente de varios componentes de nivel inferior e implementados discretamente que son dispuestos y controlados para que tengan la función de actuador particular. En otras palabras, los actuadores son habitualmente constructos jerárquicos de componentes de dispositivos individuales disponibles en una tecnología de implementación particular.

[0032] Tal construcción sustancialmente jerárquica no excluye ciertos tipos de actuadores que pueden ser contruidos de sólo un único componente de dispositivo. En algunas tecnologías, ciertas funciones de actuador pueden, sin limitación, ser implementadas directamente. Ni excluye una cierta cantidad de funciones microfluídicas “de propósito especial” que puedan ser necesarias para implementar ciertas funciones limitadas y especializadas no describibles de las funciones de actuador básicas y generalizadas. Preferentemente, la función de propósito especial ocupa menos del 20 %, y más preferentemente menos del 10 % del área o el recuento de dispositivos de un procesador.

[0033] La construcción sustancialmente modular también se extiende preferentemente a niveles de diseño superiores. En los niveles de diseño superiores, los procesadores microfluídicos están contruidos 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 otras palabras, son subconjuntos que son controlados para causar las transiciones entre configuraciones de dispositivos necesarias para la reacción o el análisis pretendido. De conformidad con el principio de construcción jerárquica, cada tipo de subconjunto está contruido, a su vez, a partir de varios actuadores individuales combinados e interconectados con conductos, cámaras, puertos, etcétera. Generalmente, los procedimientos de esta invención tienen una jerarquía estructurada en paralelo con la tecnología de procesadores microfluídicos de modo que los actuadores son controlados fundamentalmente para realizar una función de subconjunto, y los componentes a nivel del dispositivo son controlados fundamentalmente para realizar una función de actuador.

[0034] Los tipos de subconjuntos están limitados preferentemente a menos de aproximadamente 10 subconjuntos, o más preferentemente a menos de aproximadamente 5 subconjuntos. Un conjunto ejemplar de tipos de subconjuntos permite medir microgotitas de volúmenes determinados, para mover microgotitas, combinar dos o más microgotitas, mezclar una microgotita posiblemente heterogénea, estimular (o excitar) una reacción en una microgotita, observar y detectar productos de reacción, etcétera. Por ejemplo, un subconjunto de medición puede usar una fuente de presión de gas para apretar un conducto lleno de fluido de volumen determinado procedente un reservorio de fluido más grande. Un subconjunto para mover una microgotita puede usar un actuador generador de presión para generar fuerza mecánica, presión de gas, para empujar la microgotita. Un subconjunto para combinar dos microgotitas puede incluir dos conductos de entrada que convergen en un solo conducto de salida, siendo controlados los conductos de entrada con actuadores de microválvula y estando provistos de actuadores de movimiento de microgotitas. Un subconjunto de mezcla de microgotitas puede estar contruido de un actuador de movimiento de microgotitas que causa un movimiento suficientemente rápido como para inducir una mezcla laminar. Un subconjunto de reacción/análisis puede estar contruido de una cámara (o un tramo de conducto) con acceso controlado por actuadores de microválvula, y provisto de actuadores para estimular la reacción, por ejemplo, mediante la aplicación de calor o radiación. Un subconjunto de detección de resultados de reacciones o análisis puede, por ejemplo, emplear actuadores para detectar propiedades ópticas de microgotitas. Ejemplos adicionales de actuadores y subconjuntos resultarán evidentes para un experto en la materia en vista de la siguiente descripción de un procesador microfluídico digital ejemplar específico.

[0035] La construcción en gran medida modular y jerárquica no pretende causar limitaciones innecesarias o duplicaciones en el diseño del procesador microfluídico. Por ejemplo, aunque cada actuador es habitualmente parte de un subconjunto individual, puede resultar ventajoso y económico que un actuador individual funcione como parte de dos o más subconjuntos. De manera similar, un componente a nivel de dispositivo puede funcionar como parte de dos o más actuadores. Cómo pueden emplearse los componentes o actuadores como partes de estructuras funcionales de nivel superior a menudo es específico de la tecnología.

[0036] La segunda propiedad preferente de los procesadores microfluídicos preferentes es que son controlados fundamentalmente por señales eléctricas, y en menor medida por señales ópticas, con otros tipos de señales, tales como neumáticas, hidráulicas, mecánicas, etcétera, empleándose rara vez si acaso. Las señales de control son generadas por sistemas de control de la presente invención que operan según los procedimientos de la presente invención, y son intercambiadas con un procesador microfluídico que es controlado con el fin de controlar los componentes controlables directamente a nivel de dispositivo, y para realizar así funciones de actuador y subconjunto de orden superior. Las señales de monitorización pueden ser transmitidas desde un procesador microfluídico controlado hasta un sistema de control para reflejar el efecto de las señales de control anteriores, tal como, por ejemplo, si se ha alcanzado una temperatura especificada, si una microválvula se abrió o cerró tal como fue controlada, si una microgotita se movió tal como fue controlada, etcétera. En otras palabras, el control directo de dispositivo, y por lo tanto el control de actuador y el control de subconjunto, se realiza en o dentro del procesador microfluídico principalmente en respuesta a señales eléctricas con poca o ninguna intervención por parte de dispositivos externos. El uso de dispositivos externos está limitado preferentemente a la inevitable carga de muestras o reactivos no presentes inicialmente en el procesador, o si no a interconectar con el entorno externo.

[0037] Las señales de control eléctricas preferentes son de voltaje relativamente bajo (preferentemente menos de 50 V (voltios), más preferentemente menos de 25 V, e incluso más preferentemente 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 causan la operación de un actuador interno, o entradas ópticas que excitan o sondan 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 para reducir el número de contactos externos. Las señales de control recibidas desde un procesador microfluídico pueden incluir fundamentalmente salidas eléctricas para monitorizar el estado del dispositivo, por ejemplo, señales de monitorización de temperatura, o señales de monitorización de posición de microgotitas. Las salidas de señal óptica pueden monitorizar la presencia de microgotitas, las características ópticas de las microgotitas para determinar los resultados de una reacción o un análisis, etcétera. 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 una cuestión de la implementación.

[0038] Los procesadores microfluídicos pueden estar contruidos 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 pueden ser contruidos según la técnica de las nanotecnologías mecánica y basada en el silicio. Los conductos pueden ser grabados en vidrio o silicio; las válvulas pueden incluir elementos de silicio flexibles accionados por los voltajes aplicados; los fluidos pueden ser movidos por nanoelementos móviles, o por presión controlada, ya sea disponible a partir de una fuente externa o generada internamente. Un dispositivo microfluídico individual puede ser contruido con una sola tecnología, o puede incluir múltiples tecnologías.

5.1.2. PROCESADORES MICROFLUÍDICOS PREFERENTES

[0039] Los procesadores microfluídicos preferentes usan fundamentalmente actuadores controlados térmicamente con señales ópticas para monitorización o detección. En particular, están contruidos según una tecnología que usa calentamiento resistivo local o enfriamiento por dispositivo de Peltier para funciones de control. Por ejemplo, un procesador controlado térmicamente puede ser mantenido a temperatura de referencia mediante un disipador de calor de temperatura controlada o un elemento enfriador, tal como un dispositivo de Peltier, con actuadores controlados mediante calentamiento localizado por encima de la referencia. El calentamiento localizado puede ser proporcionado preferentemente por calentadores resistivos de baja potencia de menos de aproximadamente 1 a 2 W, controlado preferentemente por bajos voltajes, por ejemplo, menos de 50, 25, 15 o 10 V.

[0040] La fuerza mecánica, cuando sea necesaria con fines de control, puede ser proporcionada por presión

de gas generada mediante calentamiento localizado aplicado a un reservorio de gas dentro de un procesador. Por ejemplo, la presión de gas controlada puede usarse directamente para causar movimiento de microgotitas. La presión de gas controlada también puede usarse para controlar microválvulas haciendo que un elemento obstructor se mueva dentro de un conducto y lo cierre, mientras que el retorno a la presión normal puede volver a extraer el elemento obstructor y abrir el conducto. En una realización preferente de la invención, el elemento obstructor puede ser un sólido de bajo punto de fusión, que se funde por el accionamiento de la válvula también mediante calentamiento localizado. Las microválvulas controladas térmicamente pueden actuar para admitir presión relativa proporcionada externamente o vacío relativo dentro de un procesador para proporcionar energía a actuadores más complejos. La fuerza mecánica controlada térmicamente también puede ser generada por otros medios, tales como por otros fluidos termosensibles, por materiales dilatables diferencialmente, etcétera. Adicionalmente, puede aplicarse directamente calentamiento o enfriamiento localizado a microgotitas para el control de la reacción. Además, las señales eléctricas pueden usarse para control del actuador de otras maneras, tales como fuerzas magnéticas o eléctricas de atracción o repulsión.

15 **[0041]** En esta realización, las señales de monitorización de dispositivo se obtienen fundamentalmente de elementos sensibles a la temperatura montados en el dispositivo, que generan preferentemente señales de monitorización eléctricas tales como, por ejemplo, elementos resistivos o semiconductores sensibles a la temperatura. El calentamiento localizado puede ser controlado con precisión mediante las temperaturas detectadas. Las presiones de gas pueden ser controladas entonces mediante calentamiento localizado controlado. La capacidad
20 térmica local puede ser monitorizada mediante una combinación de un sensor de temperatura con un pequeño calentador midiendo las respuestas a la temperatura con respecto a una cantidad de calor determinada. Usando sensores de capacidad térmica locales, la presencia o ausencia de microgotitas puede ser detectada porque una microgotita tiene una capacidad térmica superior a un conducto de lo contrario vacío. Otras señales de monitorización eléctricas pueden ser generadas, por ejemplo, detectando la impedancia eléctrica local, la cual puede
25 proporcionar medios alternativos para detectar la presencia de microgotitas. Los microsensores con elementos conductores deformables pueden permitir la detección directa de presiones locales.

[0042] Pueden usarse señales ópticas en procesadores microfluídicos preferentes cuando resulte ventajoso. Por ejemplo, la radiación dispersada puede proporcionar el medio más simple de detección u observación de
30 resultados de la reacción o el análisis. La radiación incidente puede resultar útil para iniciar o estimular una reacción o un análisis. Además, los sensores de posición de microgotitas pueden ser ópticos.

[0043] En más detalle, la fig. 1 ilustra, esquemáticamente y no a escala, un procesador microfluídico integrado ejemplar construido de la manera modular y jerárquica preferente en una realización de la tecnología de control térmico preferente. Este procesador microfluídico integrado está diseñado para realizar un análisis de
35 muestra a través de las siguientes etapas: medir microgotitas predeterminadas procedentes 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 a temperatura controlada en la tercera microgotita; y por último, monitorizar ópticamente los resultados del análisis.

[0044] El procesador microfluídico ejemplar está construido de tres tipos de subconjuntos, estando construido cada subconjunto de tres tipos de actuadores, y estando construido cada actuador de un tipo de componente controlable a nivel de dispositivo. El procesador también contiene componentes pasivos tales como conductos, reservorios, puertos, salidas, conductores ópticos, etcétera. En particular, este procesador tiene cuatro subconjuntos
45 separados, dos subconjuntos de medición de microgotitas, medición1 y medición2; un subconjunto de mezcla, mezcla 1; y un subconjunto de reacción/detección, denominados reacción/detección1. Estos subconjuntos están contruidos de tres actuadores calentadores controlables, seis actuadores de válvula controlables, y un detector óptico, todos interconectados con entradas pasivas, reboses, respiraderos, y reservorios. Los subconjuntos tienen los siguientes componentes: el subconjunto medición1 incluye la entrada1, el rebose1, la válvula1, el calentador1, y
50 el conducto 1; el subconjunto medición2 incluye la entrada2, el rebose2, la válvula2, el calentador2, y el conducto 2; el subconjunto mezcla1 incluye el calentador1 (y opcionalmente el calentador2), la válvula3, la válvula4, el respiradero1, el respiradero2, el conducto en forma de Y 3 y el conducto 4; y el subconjunto reacción/detección1 incluye las válvulas5, la válvula6, el calentador3, y el conducto 5. Aquí, el calentador1 y el calentador2 están incluidos tanto en el subconjunto de mezcla como en el de medición. Además, el calentador1, la válvula3, la
55 válvula4, el respiradero1, el respiradero2, y los conductos 1 y 4 solos pueden formar un subconjunto de movimiento de microgotitas. Finalmente, además de conductos pasivos, el procesador está construido de sólo un tipo de componentes controlables a nivel de dispositivo, calentadores resistivos localizados. Preferentemente, los calentadores resistivos están acoplados operativamente a detectores de temperatura resistivos que proporcionan información de retroalimentación.

[0045] Antes de una descripción del funcionamiento de los subconjuntos, se describen configuraciones de conducto ejemplares para crear y definir posiciones estables. Generalmente, las posiciones estables son creadas mediante zonas hidrófobas, o mediante la disposición relativa de conductos principales y conductos laterales ventilados. (Los conductos principales conductos continuos a lo largo de los cuales son manipuladas las microgotitas; los conductos laterales son conductos sin salida que se ramifican de los conductos principales). En primer lugar, las zonas hidrófobas, por ejemplo las zonas h1-h6 de la fig. 1, son zonas limitadas cuyos interiores han sido tratados para asumir un carácter hidrófobo, mientras que el resto de los interiores de los conductos tienen un carácter hidrófilo, o al menos humectable (ya sea normalmente o por tratamiento). Debido a los efectos de tensión superficial en las microgotitas, las microgotitas predominantemente acuosas se desplazarán en las zonas hidrófilas de los conductos con menor obstáculo que cuando se desplazan en las zonas hidrófobas. En efecto, por lo tanto, existe una barrera en las confluencias entre las zonas hidrófilas e hidrófobas: las zonas hidrófilas “atraen” las microgotitas acuosas, mientras que las zonas hidrófobas “repelen” tales microgotitas. Así, estas confluencias hidrófobas-hidrófilas definen posiciones relativamente estables que requieren fuerza extra para que una microgotita las atraviese. Debido a los efectos “repulsivos” de las zonas de entrada hidrófobas h1, h2, h5, y h6 de los conductos al calentador1, el calentador2, el respiradero1 y el respiradero2 en la fig. 1, en comparación con los efectos “atractivos” de los interiores sustancialmente hidrófilos de los conductos adyacentes 1, 2 y 4, se impide que las microgotitas acuosas penetren en estos conductos “protegidos” hidrófobamente. De manera similar, se requiere fuerza extra para hacer que las microgotitas acuosas pasen por las zonas protegidas hidrófobamente h3 y h4, las cuales, por lo tanto, definen zonas estables entre los conductos principales 1-2 y el conducto principal en forma de Y 3. En el caso de microgotitas predominantemente hidrófobas, las características hidrófobas e hidrófilas del conducto se invierten.

[0046] La presente invención incluye otros procedimientos de creación de posiciones estables que resultarán evidentes para un experto en la materia en vista de la presente descripción. Por ejemplo, poniendo un respiradero controlable adyacente a un conducto con una válvula, puede crearse una posición estable cuando la válvula está cerrada y el respiradero está abierto.

[0047] Como el efecto de las fuerzas de gravedad es insignificante a las dimensiones espaciales usadas en estos dispositivos, la tensión superficial puede aprovecharse diseñando diferencias locales de tamaño de conductos dentro del dispositivo, quizá conjuntamente con las zonas hidrófobas adyacentes. Por ejemplo, puesto que un conducto estrechado extraerá fluido de un conducto más grande por los efectos de capilaridad de la tensión superficial, puede crearse una posición relativamente estable donde un conducto relativamente estrecho se une a un conducto relativamente más ancho. Esta posición estable puede ser reforzada por la presencia de una zona hidrófoba adyacente.

[0048] También pueden crearse posiciones estables mediante una configuración local de conductos, preferentemente donde un conducto lateral protegido hidrófobamente es ventilado a las ramas exteriores desde un conducto principal. Por ejemplo, en la fig. 1, si una microgotita está siendo movida a lo largo del conducto 4 hacia el respiradero 3 por la presión aplicada a su superficie izquierda, y si la válvula3 está cerrada mientras la válvula4 está abierta, entonces la microgotita irá a residir a la posición estable en el conducto 5 justo más allá de la entrada al conducto lateral que conduce al respiradero2. La microgotita no penetrará en el conducto lateral al respiradero2 debido a la zona hidrófoba h6, y no pasará dentro del conducto 5 porque toda presión aplicada será liberada a través del respiradero3 al exterior. Por lo tanto, esta posición, justo más allá del conducto lateral al respiradero2, es una posición estable si la válvula3 y la válvula4 son accionadas correctamente. (Si la válvula4 está cerrada, la microgotita seguirá moviéndose a través del conducto 5). De esta manera, los conductos laterales con válvulas y ventilados con entradas protegidas hidrófobamente también definen posiciones estables.

[0049] En resumen, las zonas hidrófobas h3 y h4 crean posiciones estables adyacentes en los conductos 1 y 2, respectivamente. Los conductos laterales al respiradero1 y al respiradero2, protegidos hidrófobamente por las zonas h5 y h6, respectivamente, definen zonas estables adyacentes y a la derecha de sus confluencias con el conducto 4.

[0050] Volviendo ahora al actuador y luego a las operaciones de subconjuntos, los actuadores de microválvulas, por ejemplo, la válvula-válvula6, usan preferentemente elementos fusibles, por ejemplo, m1-m6, respectivamente, para obstruir de manera reversible, bajo el control de la presión de gas, sus conductos controlados respectivos. Por simplicidad de ilustración solamente, en la fig. 1 se ilustra esquemáticamente que las microválvulas tienen sólo un elemento calentador, mientras que, en una realización preferente descrita posteriormente (figs. 6A-B), habitualmente tienen tres calentadores separados y un sensor de temperatura (también hasta tres sensores de

temperatura). El calentador1 y el calentador 2, que calientan sus reservorios de gas respectivamente, forman actuadores de generador de presión de gas controlados térmicamente, que forman parte de subconjuntos de movimiento y formación de microgotitas. El calentador 3, que calienta el conducto 5, permite el control térmico de las reacciones en las microgotitas presentes en este conducto. Los resultados de las reacciones terminadas en el

5

conductor 5 son detectados en este procesador microfluídico ejemplar mediante un actuador óptico, concretamente el conductor óptico de entrada o1, que conduce la radiación incidente a la zona de reacción, y el conductor óptico de salida o2, que conduce la radiación dispersada y emitida desde la muestra para su análisis. La radiación incidente puede estar en las bandas IR, visible, o UV, según sea necesario para una aplicación particular. Otros medios de detección pueden emplearse en otras aplicaciones.

10

[0051] Las operaciones de los subconjuntos resultan de las operaciones coordinadas de sus actuadores componentes. En primer lugar, dos actuadores de movimiento de microgotitas mueven las microgotitas a lo largo de los conductos 1 y 2 por medio de presiones de gas generadas por generadores de presión controlados por el calentador1 y el calentador2, respectivamente. A continuación, el subconjunto medición1, que está compuesto de los

15 actuadores válvula1, calentador1, entrada1, rebose1, y conducto 1, mide una microgotita de volumen determinado procedente de una parte alícuota de fluido introducido a través del puerto entrada1 de la siguiente manera. Inicialmente, si ya no están abiertas, la válvula3 y la válvula1 son abiertas de modo que el conducto lateral al respiradero1 no esté bloqueado. A continuación, el fluido introducido dentro de la entrada1, por ejemplo, mediante un dispositivo manual o robótico externo, y fluye hasta la posición estable creada por la primera zona hidrófoba h3

20 justo más allá del ensanchamiento de conducto 1, con cualquier exceso de fluido saliendo a través del por rebose1. La zona h1 impide que el fluido introducido entre en el conducto lateral al calentador1. Por último, la presión de gas controlada generada por el calentador1 aprieta la microgotita del fluido introducido que está situada entre la confluencia del conducto lateral al calentador1 y la zona h3, y la propulsa hasta justo más allá de la confluencia con el conducto lateral al respiradero1. La zona h5 impide que la microgotita entre en el conducto lateral al respiradero1,

25 y el respiradero1 permite que la presión de gas propulsora escape. El subconjunto medición2 está construido y opera de manera similar. (Opcionalmente, pueden estar presentes válvulas, no ilustradas, adyacentes a la entrada1 y la entrada2 con el fin de impedir que los conductos 1 y 2 sean rellenados después de la medición de gotitas).

[0052] El subconjunto mezcla1 mezcla dos microgotitas de constituyentes diferentes, que han sido colocadas

30 de manera adyacente en la posición estable creada por la confluencia del conducto principal 4 y el conducto lateral al respiradero1, de la siguiente manera. En primer lugar, la válvula3 (y la válvula1 y la válvula2) son cerradas de modo que las microgotitas situadas de manera adyacente en el conducto 4 puedan ser propulsadas hacia el conducto 5. A continuación, es generada presión de gas por el calentador1, o por el calentador2, o por ambos, de modo que las dos microgotitas del conducto 4 son movidas a la posición estable justo más allá de la confluencia del

35 conducto lateral al respiradero2. De manera importante, la presión generada es controlada de modo que el movimiento sea suficientemente rápido para mezclar las microgotitas. Por último, el subconjunto restante ilustrado en la fig. 1, el subconjunto reacción/detección1, que incluye la válvula5, la válvula6, el calentador2, o1, o2, y el conducto 5, opera de la siguiente manera. Después de que una microgotita mezclada de la composición correcta es colocada en el conducto 5, este conducto es sellado cerrando la válvula5 y la válvula6. A continuación, el

40 calentador3 es controlado para estimular una reacción en la microgotita atrapada, y los resultados de la reacción estimulada son detectados ópticamente por radiación conducida por o1 y o2.

[0053] La fig. 1 también ilustra conductores y conectores externos para las señales eléctricas y ópticas. Por ejemplo, los conductores de control y monitorización 8 para la válvula 1 se ilustran esquemáticamente como dos

45 conductores que se extienden desde la válvula hasta el borde del procesador microfluídico que termina en los conectores 10. (Una ilustración plena y completa de una microválvula tiene preferentemente cuatro, o seis o más conductores de señal). Aunque los conductores 8 se ilustran aquí como sustancialmente rectos, en la mayoría de los procesadores microfluídicos con más actuadores y conductores, los conductores se curvan para evitar los obstáculos y otros conductores, o se combinan cuando los requisitos de control lo permiten, o cruzarse separados

50 por películas aislantes. Los conectores de terminación son preferentemente estandarizados, por ejemplo, como una matriz de patillas que pueden ser alojadas por un enchufe externo, o, como aquí se ilustra, como salientes redondeados a lo largo de los bordes del procesador que pueden ser aceptados por contactos de acoplamiento en un sistema de control. También, se ilustra que los conductores ópticos ejemplares o1 y o2 se extienden sustancialmente rectos desde el subconjunto de reacción/detección hasta los acoplamientos ópticos o conectores 7,

55 también preferentemente estandarizados para conexión rutinaria a fuentes y detectores de radiación externos. También, estos conductores pueden tener que curvarse o cruzar obstáculos. Los conductores ópticos pueden comprender tubos luminosos, fibras ópticas, u otros medios para transmisión espacial de una señal óptica.

[0054] Según una realización preferente de la invención, el número de conectores de terminación requeridos

para el control de una pluralidad de actuadores puede reducirse disponiendo/compartiendo, en forma de una matriz, el cableado de contacto a cada actuador. La compresión resultante del número de conectores de terminación simplifica ventajosamente la comunicación con el procesador microfluídico entero. Mientras que cada actuador requiere dos conductores para completar un circuito eléctrico, según una disposición convencional de conductores y 5 contactos, un dispositivo que comprenda N actuadores comprende 2N conductores y 2N contactos terminales. Configurando el cableado de contacto en una matriz, sin embargo, el número de conectores terminales requeridos puede reducirse a tan solo $2\sqrt{N}$. Por ejemplo, en un dispositivo hipotético que comprenda 100 actuadores, el número de contactos externos puede reducirse de 200 a 20. Esto significa en gran medida el cableado externo y el control del dispositivo.

10

[0055] Tal como se ha expuesto anteriormente, la compresión se consigue disponiendo los contactos en una matriz. Según esta disposición, los contactos eléctricos para los N actuadores están configurados en R filas y C columnas de modo que el producto $RC=N$, preferentemente donde R es aproximadamente igual a C, y lo más preferentemente donde $R=C$. Con esta disposición, los actuadores situados en una fila dada comparten un contacto 15 eléctrico común. De manera similar, los actuadores dispuestos en una columna dada también comparten un contacto. Cada actuador tiene una dirección única, sin embargo, dada por su combinación fila/columna única. Por lo tanto, cada actuador puede ser accionado individualmente suministrando corriente eléctrica a la combinación fila-columna apropiada.

20 **[0056]** También resulta preferente que los procesadores microfluídicos para control por la presente invención estén estandarizados físicamente de modo que los procesadores microfluídicos diseñados para diferentes reacciones o análisis puedan ser controlados por un único sistema de control externo. La estandarización, por ejemplo, limitaría un procesador microfluídico a sólo unos pocos tamaños seleccionados. Los conectores eléctricos y ópticos estarían limitados a formas, posiciones y alineaciones estándar. Los puertos de entrada, los puertos de 25 rebose, los respiraderos, etcétera estarían limitados a formas y ubicaciones estándar (para fácil acceso robótico). Una característica preferente adicional de los procesadores microfluídicos que fomenta la estandarización es una función de autodescripción. Un procesador puede describirse proporcionando sus componentes controlables y pasivos, sus relaciones e interconexiones mutuas, y, para cada componente controlable, la identidad de los conectores para su control y señales de monitorización. Esta información autodescriptiva puede ser usada por los 30 procedimientos y sistemas de control para generar señales de control correctas en conectores correctos para un procesador microfluídico particular, si no, tal información autodescriptiva puede ser introducida explícitamente por un usuario o estar preprogramada en los procedimientos. Esta función puede implementarse de diversas maneras. Por ejemplo, toda la información autodescriptiva puede ser almacenada en los procesadores microfluídicos; alternativamente, un procesador puede almacenar una clave a una base de datos de esta información 35 autodescriptiva que está almacenada en otra parte.

[0057] Se proporciona una descripción adicional de la construcción y el funcionamiento de procesadores microfluídicos preferentes en las patentes de EE.UU. nºs 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.

40

5.2. SISTEMAS Y PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PREFERENTES

[0058] Los sistemas de control de la presente invención controlan dispositivos microfluídicos digitales generales, y generan información de control físico en modalidades y secuencias correctas para hacer que los 45 dispositivos microfluídicos realicen una reacción o un análisis pretendido como una secuencia de configuraciones o transiciones de "estado". Partiendo de una configuración inicial, el dispositivo microfluídico es controlado para que pase a través de una serie de configuraciones intermedias, y para completar una operación en una configuración final en la cual se realiza la reacción o el análisis pretendido. Cada transición de configuración secuencial resulta típicamente de la creación de una nueva microgotita tal como midiendo, mezclando, o moviendo una microgotita; la 50 excitación de una microgotita por medios térmicos u ópticos, la detección de resultados de la reacción, etcétera. Durante estas operaciones, un dispositivo microfluídico genera preferentemente señales de monitorización que los sistemas y procedimientos de control usan para garantizar la finalización exitosa de cada operación.

[0059] En realizaciones preferentes de la invención, los sistemas y procedimientos de control de esta 55 invención controlan dispositivos microfluídicos digitales que también están contruidos de manera modular y jerárquica y controlados con señales eléctricas y ópticas tal como se describe anteriormente. En otras palabras, en realizaciones preferentes de la presente invención la presente invención controla procesadores microfluídicos. Más preferentemente, los procesadores microfluídicos controlados están implementados en una tecnología controlada térmicamente y están estandarizados físicamente, también como se describe. Aunque la siguiente descripción está

limitada en gran medida a esta realización más preferente de la invención, un experto en la materia apreciará fácilmente cómo generalizar las realizaciones preferentes de la invención descritas para el control de procesadores microfluídicos generales de otras tecnologías, y también de dispositivos microfluídicos digitales generales.

5 **[0060]** Por lo tanto, en esta realización más preferente de la invención, los sistemas de control de la presente invención generan señales eléctricas (y ópticas) para controlar los componentes controlables individualmente a nivel de dispositivo de procesadores microfluídicos controlados térmicamente preferentes. Opcionalmente, los sistemas también reciben señales de monitorización eléctricas (y ópticas). Después, los procedimientos de control de esta invención ordenan a los sistemas de control de la presente invención generar señales que reflejan la construcción modular y jerárquica de los procesadores microfluídicos preferentes. Señales que controlan los componentes controlables individualmente a nivel de dispositivo son generadas para hacer que estos componentes funcionen juntos como actuadores. Además, estas señales son generadas para hacer que los actuadores funcionen juntos como subconjuntos que manipulan microgotitas. Al nivel de control más alto, estas señales son generadas para hacer que los subconjuntos funcionen juntos de modo que el procesador microfluídico en su conjunto realice una reacción o un análisis pretendido, preferentemente pasando por una secuencia de configuraciones predeterminadas diseñadas para realizar la reacción.

20 **[0061]** Esta generación de señales jerárquica también puede considerarse como una generación de señales limitada jerárquicamente. Para repetir, a nivel de dispositivo, un procesador microfluídico preferente está compuesto de componentes controlables individualmente que pueden estar contruidos según una nanotecnología escogida como una entidad atómica y elemental individual, no descomponible sustancial o significativamente para la construcción como un grupo de más entidades elementales. La primera limitación es que las señales de control son generadas de modo que estos componentes controlables individualmente funcionan juntos sólo como actuadores, es decir de modo que las señales de control de componentes son determinadas por funciones de control de actuador solicitadas. Una segunda limitación es entonces que las funciones de control de actuador son generadas de modo que los actuadores separados controlables actúan juntos sólo como subconjuntos que manipulan el procesamiento, es decir de modo que las funciones de control de actuador son determinadas por la función de control de subconjunto solicitada, representada también quizá como señales de control de subconjunto. Por último, las funciones de "control de subconjunto" son solicitadas según un guión, o programa, de modo que el procesador microfluídico realiza configuraciones que conducen de una configuración inicial a una configuración en la cual se realiza la reacción o el análisis pretendido.

35 **[0062]** Desde cualquier punto de vista, un procesador microfluídico es controlado preferentemente según la presente invención "programando" el sistema de control de modo que los subconjuntos funcionan para conseguir las configuraciones correctas en la secuencia correcta necesaria para completar una reacción. Esta "programación" es en términos de la función de subconjunto, tal como la creación, la mezcla, el movimiento, la excitación térmica (u otra excitación), y la detección de resultados de la reacción en microgotitas. En otras palabras, esta "programación" resulta, en términos, intuitivamente familiar del laboratorio químico donde los reactivos son medidos, mezclados, calentados, etcétera. Son los sistemas y procedimientos de la presente invención los que entonces convierten, o interpretan, o procesan de otro modo tal "programa de subconjunto" para generar las señales de control detalladas correctas para todos los componentes del procesador microfluídico controlables individualmente, y preferentemente generan estas señales de modo que los componentes individuales del procesador microfluídico funcionan como actuadores y que los actuadores funcionan como subconjuntos. Planteado de manera diferente, estos procedimientos de la presente invención, realizados por los sistemas de la presente invención, imponen 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, o tarea de "programación", enormemente simplificado.

50 **[0063]** Estos "programas de subconjunto" son realizados por sistemas de control de la presente invención que están estructurados preferentemente como una jerarquía de al menos dos niveles. En el nivel más alto están uno o más componentes programables, por ejemplo, un ordenador de tipo ordenador personal o un microprocesador integrado. En el siguiente nivel están incluidos circuitos de interfaz periféricos que están bajo control de los componentes programables y que generan realmente y responden a las señales de control eléctricas (y ópticas). Los procedimientos de la presente invención son implementados entonces preferentemente como programas para este aparato programable que hacen que el aparato programable controle los circuitos periféricos para generar y recibir señales de control pasadas a y desde los componentes controlables individualmente en el procesador microfluídico controlable.

[0064] En más detalle, los programas de "subconjunto", que son suministrados por un usuario para hacer que un procesador microfluídico realice una reacción o un análisis pretendido, son alternativamente listas de funciones

de subconjunto que se hace que el procesador realice en orden, o listas de configuraciones de procesador que se hace que el procesador adopte en orden. Opcionalmente, estas listas de programa pueden incluir órdenes para prueba, ramificación, o iteración. La prueba y la ramificación son ventajosas cuando un procesador microfluídico genera señales de monitorización y cuando los sistemas y procedimientos de esta invención hacen que la información monitorizada esté disponible al nivel de "programa de subconjunto". Los procedimientos de la presente invención entonces convierten, compilan, interpretan, o hacen de otro modo que los sistemas de control programables que actúan a través de los circuitos de control periféricos generen las señales de control estructuradas jerárquicamente o limitadas solicitadas para el procesador microfluídico.

10 **[0065]** En una implementación preferente, la estructura jerárquica de las señales de control, o, de manera equivalente, las limitaciones sobre la generación de señales de control, puede entonces ser implementada preferentemente como una estructura jerárquica correspondiente de funciones de generación de señales. En tal estructura, cuando las funciones a un nivel particular actúan de una manera limitada correctamente sólo por medio de funciones de niveles inferiores, la estructura de la señal y las limitaciones se mantendrán de manera automática y
15 fácil a todos los niveles siempre que las funciones de nivel inferior también mantengan sus limitaciones de nivel inferior. Por ejemplo, las funciones "a nivel de subconjunto" realizan funciones de microgotita solicitando secuencias correctas de funciones "a nivel de actuador" sin preocuparse por cómo están implementados los actuadores por componentes individuales del procesador. Las funciones "a nivel de actuador" solicitan secuencias correctas de órdenes de dispositivo, sin preocuparse por cómo está implementado un procesador microfluídico controlado
20 térmicamente. Por último, sólo las funciones "a nivel de componente" convierten realmente los programas de usuario en generación de señales de control y reciben realmente señales de monitorización, y contienen la mayoría de los detalles de implementación de dispositivo controlado térmicamente.

[0066] Tal organización jerárquica de funciones de control, junto con los datos que conlleva, puede expresarse en muchos lenguajes de programación y paradigmas de ingeniería de software adecuados. Por una parte, los procedimientos de la presente invención pueden esperar a traducir los programas de subconjunto proporcionados por el usuario a solicitudes de función hasta la operación del procesador microfluídico controlado. Por ejemplo, las funciones de control de componentes, actuadores y subconjuntos puede ser implementadas como objetos en un sistema de programación orientada a objetos (usando un lenguaje orientado a objetos tal como C++).
25 Aquí, las funciones de control son procedimientos de objeto y son ejecutadas en secuencia en respuesta a un mensaje de procedimiento intercambiado durante la operación. De manera similar, los procedimientos pueden ser implementados como un sistema interpretativo que también invoca funciones sólo durante la operación. Por otra parte, estos procedimientos pueden traducir los programas durante una etapa de compilación inicial. Por ejemplo, las funciones de control de los diversos niveles pueden ser implementadas como macros (usando un lenguaje procedimental con una facilidad de macro tal como C) en un paradigma procedimental, las cuales traducen cada orden de subconjunto en una pluralidad correspondiente de órdenes de actuador, de modo que los programas son traducidos a instrucciones para el aparato programable. Son posibles implementaciones mixtas. Por ejemplo, las funciones de control pueden estar representadas como rutinas, o las funciones de nivel superior pueden ser objetos y las funciones de nivel inferior pueden ser macros.
30
35
40

[0067] Los datos para los procedimientos de la presente invención incluyen, por ejemplo, la configuración actual del procesador microfluídico y el estado actual de los actuadores y componentes del procesador. Estos datos (incluyendo los cambios de microgotitas entre configuraciones sucesivas) pueden ser representados de maneras ventajosamente adecuadas para uso por funciones de control de microgotitas.
45

5.2.1 PROCEDIMIENTOS DE CONTROL

[0068] Esta subsección describe estructuras preferentes para las funciones de generación de señales de control junto con estructuras preferentes para sus datos y parámetros, ambas para un procesador microfluídico controlado térmicamente de la implementación preferente. Las siguientes descripciones 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 bibliotecas, se describe la jerarquía de invocación de procedimientos. Un experto en la materia podrá aplicar fácilmente la siguiente descripción al paradigma escogido. Además, aunque lo siguiente describe una asignación preferente actualmente de funciones a niveles jerárquicos, los procedimientos de esta invención son fácilmente adaptables a otras asignaciones de función, e incluso a otras definiciones de función. En particular, la agrupación de componentes en actuadores puede depender de la implementación – y la tecnología. Además, puede haber menos niveles funcionales, por ejemplo, sólo niveles de subconjunto y actuador, o más niveles funcionales, cuando resulte ventajoso.
50
55

Estructuras funcionales preferentes

[0069] La fig. 2 ilustra una organización jerárquica no limitativa, pero preferente, de funciones de generación de señales para un procesador microfluídico controlado térmicamente implementado en una tecnología preferente. Esta figura ilustra cuatro niveles de función, un nivel de componente, un nivel de actuador, un subconjunto (que está identificado funcionalmente en la fig. 2 como un nivel de configuración o de microgotita), y un nivel de usuario. Puesto que las funciones de nivel superior sólo actúan invocando funciones de nivel inferior, obedecen necesariamente no sólo a sus propias limitaciones sino también a las limitaciones de todas las funciones de nivel inferior. Tal como se describe, esto garantiza que las señales de control de procesador generadas en última instancia se atienen a toda la estructura jerárquica y las limitaciones preferentes.

[0070] En primer lugar, las funciones de nivel más bajo son funciones a nivel de componente 15b, que son preferentemente las únicas funciones que causan directamente la generación de señales eléctricas y ópticas para control de los componentes del procesador microfluídico controlables individualmente. Por ejemplo, la función primitiva de “control de corriente/voltaje” hace que el sistema de control genere o monitoree 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 para un procesador microfluídico, los cuales, de haberlos, encaminan las señales de control eléctricas desde el procesador hasta los conectores a los componentes internos). Por lo tanto, la acción conjunta de estas dos funciones genera y monitoriza señales de control eléctricas entre el sistema de control y los componentes del procesador controlados eléctricamente. Los conectores correctos para el control de componentes de componentes particulares puede determinarse a partir de los datos de procesador microfluídico autodescriptivos descritos previamente, los cuales incluyen tal información de conector-componente. En el caso de procesadores microfluídicos autodescriptivos preferentes, esta información autodescriptiva, o una clave para ella, puede obtenerse desde el propio procesador microfluídico. La función respecto a esta información procedente de un procesador se denomina la función de “detección de tipo de dispositivo”. Por último, las funciones “control de diodo láser” y “control de fotodiodo” proporcionan un control similar de las señales ópticas.

[0071] El nivel 15 también puede incluir ciertas funciones simples adicionales 15a, que implementan acciones algo más complejas que las acciones de componentes del dispositivo que pueden ser implementadas atómicamente, pero que no obstante son menos simples y se clasifican mejor como componentes más que como actuadores. Las funciones 15a pueden invocar funciones 15b u otras funciones 15a. Un ejemplo de tal función a nivel de componente generalizada es la función de “detección de temperatura”, que produce como salida la temperatura en un elemento sensor dado. Dado un elemento de monitorización temperatura especificado (resistivo), sus contactos externos pueden estar indicados por datos de procesador microfluídico descriptivos. La salida eléctrica de estos contactos indicados puede entonces ser monitorizada por las funciones de “control de corriente/voltaje” y de “control de conmutador externo”, y después ser convertida en una temperatura en vista de las propiedades físicas conocidas del sensor dado. El “calentamiento controlado” puede aplicar, usando las funciones de control y conmutación más primitivas, una potencia dada a un elemento calentador dado, o puede ajustar la potencia aplicada en vista de la salida de una función de “detección de temperatura” para conseguir una temperatura dada.

[0072] Estas funciones a nivel de componente y sus implementaciones sugeridas no pretende ser limitativas. En primer lugar, pueden definirse funciones a nivel de componente distintas y adicionales; las funciones enumeradas son ejemplares y no exhaustivas. En segundo lugar, como las funciones a nivel de componente están determinadas típicamente por las tecnologías de implementación, típicamente diferirán para procesadores microfluídicos de diferente tecnología. Incluso dentro de una sola tecnología, los detalles de calentamiento, detección, etcétera, difieren en diferentes implementaciones específicas de procesador microfluídico. Además, incluso para un solo tipo de procesador, diferentes realizaciones preferentes de la invención pueden empaquetar las funciones a nivel de componente primitivas y generalizadas de manera diferente.

[0073] El nivel de actuador 16 incluye funciones que controlan grupos de uno o más componentes habitualmente interconectados de una manera y secuencia tal que funcionan juntos para conseguir una función de tipo actuador particular. Las funciones de tipo actuador son las asociadas típicamente con las “tuberías” y la “maquinaria” necesarias para implementar una reacción química, tal como abrir o cerrar una microválvula en el procesador microfluídico, generar presión, detectar cantidades, etcétera. Por ejemplo, una función de “detección de resultados de la reacción” puede ser implementada ópticamente. Puede actuar por medio de las funciones de “control de diodo láser” y de “control de fotodiodo”, en primer lugar, para hacer que la radiación incidente correcta sea proporcionada a los conectores ópticos externos correctos con el fin de que los resultados de la reacción sean

iluminados, y en segundo lugar, para hacer que la radiación dispersada o emitida sea observada. Una función de "detección de microgotita" puede detectar la presencia o ausencia de una microgotita midiendo, en efecto, una capacidad térmica local. Así, esta función de actuador puede, en primer lugar, proporcionar una cantidad de calor dada por medio de la función de "calentamiento controlado", y en segundo lugar, determinar la respuesta de temperatura por medio de la función de "detección de temperatura". Un mayor incremento de temperatura indica una capacidad calorífica inferior indicativa de la ausencia de una microgotita, y viceversa. Esta función también puede ser implementada ópticamente para determinar la presencia o ausencia de microgotitas en una zona detectando las propiedades ópticas de la zona de una manera similar a la función de "detección de resultados de la reacción". Una función de "generación de presión" puede usar la función de "calentamiento controlado" a una potencia dada o a una temperatura dada con el fin de calentar el gas de un reservorio a una mayor temperatura. La presión generada puede ser monitorizada con un sensor de presión si está disponible en el procesador microfluídico. Por último, las importantes funciones de "abrir/cerrar" válvula se describen posteriormente.

[0074] La información que describe los componentes individuales de un actuador y la interconexión indexada por un identificador de actuador puede estar disponible a partir de datos de procesador autodescriptivos. En este caso, simplemente puede especificarse un identificador de actuador a las funciones de actuador, las cuales entonces determinan automáticamente las partes componentes a partir de los datos de procesador autodescriptivos sin requerir la atención del usuario o la introducción de esta información. A su vez, la información de componentes, por ejemplo, la información de conector, puede determinarse automáticamente mediante funciones a nivel de componente a partir de estos mismos datos.

[0075] Se espera que las funciones de tipo actuador sean más estandarizadas que las funciones a nivel de componente porque reflejan facilidades necesarias para prácticamente todos los procesadores de reacción microfluídicos. Por ejemplo, prácticamente todos los procesadores microfluídicos tendrán microválvulas con funciones de abrir y cerrar válvula. No obstante, las funciones a nivel de actuador y sus implementaciones sugeridas descritas en este documento son ejemplares, y no exhaustivas o con intención de ser limitativas. Por ejemplo, ciertas funciones a nivel de componente, especialmente las funciones generalizadas 15a, pueden ser consideradas funciones de actuador en diferentes implementaciones. En segundo lugar, aun cuando muchos de estos tipos de funciones de actuador pueden ser sustancialmente similares en diferentes procesadores, su implementación puede diferir de las sugeridas anteriormente dependiendo de los componentes del procesador disponibles en la tecnología de implementación. En tercer lugar, pueden estar presentes diferentes funciones de actuador para aprovechar los diferentes tipos de componentes presentes en diferentes procesadores, por ejemplo, puede estar presente una variedad más extensa de actuadores de detección para aprovechar una tecnología de detección más amplia.

[0076] Las funciones de configuración/microgotita 17 (realizadas, generalmente, por subconjuntos) son las que actúan sobre microgotitas, preferentemente invocando fundamentalmente funciones de actuador 16 de modo que las microgotitas se muevan de posición estable a posición estable. Por lo tanto, las funciones de configuración/microgotita 17 permiten que el procesador microfluídico progrese por configuraciones que están definidas por las microgotitas presentes en un procesador y sus posiciones estables. En otras palabras, una función de microgotita empieza con una o más microgotitas en posiciones estables e invoca funciones de actuador de modo que tras la terminación la una o más microgotitas están de nuevo en posiciones estables diferentes. Estas funciones no terminan con las microgotitas en posiciones inestables, posiciones de las cuales una microgotita puede moverse espontáneamente y de una manera indeterminada. Las microgotitas en posiciones inestables, por lo tanto, harían imposible una operación predecible y ordenada de un procesador microfluídico, y esta situación ha de evitarse.

[0077] La información de entrada para las funciones de microgotita incluye las posiciones de las microgotitas sobre las que ha de actuarse. Preferentemente, esta información puede obtenerse a partir de una configuración inicial del procesador, que es actualizada con nuevas posiciones de microgotitas, hasta una configuración final tras la terminación de la función. También cuando están presentes actuadores de detección, estas funciones puede comprobar la posición de las microgotitas e informar de un error si la posición medida y la posición pretendida son incoherentes. Aún más preferentemente, usando la posición de las microgotitas y los datos autodescriptivos del procesador, estas funciones determinan automáticamente qué actuadores invocar para conseguir el resultado pretendido. Si no, la posición de las microgotitas, y posiblemente también los actuadores correctos, deben ser determinados por el usuario (suponiendo que las operaciones de microgotitas anteriores fueron exitosas) y luego introducidos en estas funciones.

[0078] Las funciones a nivel de microgotita son proporcionadas preferentemente para que correspondan a tipos estándar de operaciones de laboratorios químicos, tales como medición, mezcla, calentamiento, etcétera. Así, las funciones 17 incluyen habitualmente: funciones para medir una microgotita procedente de una fuente de fluido

con el fin de formar una nueva microgotita de volumen conocido, para mover una microgotita de una posición estable a otra posición estable, para mezclar una microgotita no homogénea para formar una microgotita homogénea, para realizar una reacción mediante excitación térmica o de otro tipo, etcétera.

5 **[0079]** Como los procesadores microfluídicos de esta invención actúan de manera digital manipulando microgotitas para realizar análisis químicos o biológicos, los tipos de funciones básicas de microgotita son en gran medida “independientes del procesador microfluídico”. Ciertas funciones de microgotita, por ejemplo, la separación de constituyentes de las microgotitas, pueden añadirse cuando se requiera por un cierto tipo de reacción. Alternativamente, puede disponerse de ciertas combinaciones de funciones básicas de microgotita como una única
10 función por eficiencia. Puede producirse variación en los detalles de la función y la implementación de la función entre diferentes tecnologías y tipos de procesador. Las implementaciones de estas funciones para los procesadores preferentes se describen posteriormente.

[0080] Las funciones a nivel de usuario 18 hacen que el trabajo resulte útil para un usuario final, realizando y
15 monitorizando una reacción o un análisis pretendido en un procesador microfluídico. Las funciones 18a, funciones de “protocolo/compilador/intérprete”, ordenan a un procesador microfluídico que lleve a cabo realmente una reacción pretendida. Estas funciones clave interpretan, convierten, compilan, o procesan de otro modo un programa de reacción proporcionado por el usuario, preferentemente especificado sustancialmente como una secuencia de funciones a nivel de microgotita que preparan una microgotita que contiene los reactantes necesarios, hacen que se
20 produzca la reacción pretendida en esta microgotita preparada, y luego detectan o captan los resultados de la reacción. Tal como se describe, las reacciones son “programadas” preferentemente en gran medida invocando funciones a nivel de microgotita, y confían en la jerarquía de funciones de esta invención para generar en última instancia las señales de control necesarias en los conectores correctos para hacer que un procesador microfluídico realice las funciones invocadas. Como las funciones de microgotita, así como la función de actuador y de
25 componente, encapsulan la mayoría de los detalles de la operación del actuador de procesador, los usuarios pueden especificar ventajosamente las reacciones en términos que corresponden a operaciones rutinarias de un laboratorio químico. Los datos de procesador microfluídico autodescriptivos permiten esta especificación sin atención a detalles internos del procesador.

30 **[0081]** El nivel de usuario 18 también puede contener funciones de tipo operador 18b, que permiten el control del procesador microfluídico permitiendo la selección del “programa” de reacción o análisis que ha de ser realizado por un procesador microfluídico, iniciando el “programa” de reacción seleccionado después de leer preparar el procesador, y terminando la reacción y devolviendo los resultados de la reacción detectados, etcétera. La función de operador también puede permitir monitorizar un procesador microfluídico a medida que procesa una reacción. Por
35 ejemplo, las funciones de monitorización pueden mostrar en un dispositivo de visualización apropiado una representación gráfica (o con otro formato) del estado actual de un procesador microfluídico tal como a posición actual de las microgotitas, el estado actual de los actuadores y componentes del procesador microfluídico, etcétera, junto con indicaciones de las etapas del “programa” ya realizadas y aún por realizar. Opcionalmente, las funciones de tipo operador pueden incluir herramientas de desarrollo y depuración de programas, por ejemplo, herramientas
40 para introducir órdenes de función de microgotita, para “funcionamiento paso a paso” de un procesador a través de un programa, y para facilidades adicionales conocidas de entornos de programación para sistemas informáticos.

[0082] Puesto que una función de un nivel jerárquico particular realiza sus acciones efectuando solicitudes de funciones, el intercambio de solicitudes es fundamental y en este documento se hace referencia al mismo de
45 diversas maneras. Por ejemplo, una función de nivel superior puede generar, o enviar, o transmitir, etcétera una solicitud, que una función de nivel inferior entonces procesa, o acepta, o recibe, etcétera. Alternativamente, una función de nivel superior puede proporcionar una solicitud a una función de nivel inferior.

Estructuras de datos preferentes

50 **[0083]** Las funciones de generación de señales dispuestas jerárquicamente utilizan y mantienen preferentemente ciertos datos, por ejemplo, datos autodescriptivos para el procesador microfluídico, 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 microfluídico generalmente especifican los componentes
55 del procesador, cómo están interconectados, y mediante qué contactos externos están controlados. Por ejemplo, los componentes del procesador pueden describirse como una lista de componentes atómicos, su tipo, propiedades, y cuando sean controlables, los conectores de control. Los actuadores también pueden describirse como una lista de su tipo, propiedades, y componentes atómicos de los cuales están contruidos. Los contactos externos que controlan los componentes de un actuador pueden determinarse a partir de los componentes del actuador y los

conectores que controlan estos componentes. La interconexión de componentes puede describirse por una lista de los conductos, zonas hidrófobas, puertos de entrada, puertos de salida, respiraderos, etcétera, junto con indicaciones de la conectividad de estos elementos, la cual pueden representarse como un diagrama de flujo de red.

5 **[0084]** Los datos de procesador autodescriptivos pueden ser suministrados automáticamente, preferentemente por el procesador microfluídico, o menos preferentemente 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 integrada en o sobre un procesador microfluídico que contiene al menos estos datos descriptivos del procesador. Alternativamente, esta memoria puede estar limitada a unos pocos (≤ 10) bytes que
10 almacenan sólo información clave para consulta en una base de datos del sistema de control recuperando datos autodescriptivos completos. En otra realización, signos legibles por una máquina, tales como un código de barras, o signos legibles por una persona, tales como un número de serie, pueden estar provistos en un procesador microfluídico. La función de componente de "detectar tipo de dispositivo" obtiene estos datos autodescriptivos o bien accediendo a la memoria integrada en el procesador microfluídico por medio de conectores estandarizados (por
15 ejemplo las conexiones "1, 2, 3 y 4" en todos los procesadores microfluídicos), o bien leyendo signos legibles por una máquina, o por introducción manual de signos legibles por una persona.

[0085] Los datos de procesador microfluídico autodescriptivos permiten la parametrización simplificada de las funciones a nivel de componente y de actuador mediante los componentes y actuadores identificados simbólicamente. Por ejemplo, una función de "calentamiento controlado" puede aplicarse al "calentador-6B",
20 mientras que el "calentador-6b" es identificado por las funciones de los datos autodescriptivos. En contraposición, aplicar una función de "calentamiento controlado" a los contactos externos 39, 42, 43 y 68 es menos flexible. Una función de "apertura/cierre de válvula" puede aplicarse más preferentemente a la "válvula-12", en lugar de a los componentes de la "válvula-12" o a sus conectores. La información que describe un procesador microfluídico
25 también incluye preferentemente el estado de los componentes y actuadores identificados simbólicamente. Por ejemplo, la temperatura actual, o el calentamiento pasado del "calentador-6B" es 80 C; la "válvula-12" está actualmente "abierta"; etcétera.

[0086] Los datos de función incluyen además datos de configuración o "estado" de las microgotitas, los
30 cuales incluyen una lista de las microgotitas presentes actualmente en un procesador microfluídico y su composición y posición actual. La composición de la microgotita puede, por ejemplo, ser registrada por la fuente o fuentes de las cuales fue creada la microgotita. La posición de la microgotita registra su posición inestable actual que se produce sólo transitoriamente durante las transiciones entre configuraciones. Las microgotitas pueden ser especificadas simbólicamente en la configuración, por ejemplo, siendo la sexta microgotita creada la "microgotita-6", y las
35 funciones de microgotita pueden aplicarse entonces a las microgotitas especificadas simbólicamente. Por ejemplo, cuando la función "mover microgotita" se aplica a la "microgotita-6" la función determina la posición actual de esta microgotita a partir de la configuración actual del procesador. A partir de esta posición determinada, la función "mover microgotita" determina a continuación a partir de los datos de procesador autodescriptivos los actuadores correctos que invocar para mover la "microgotita-6", y a partir de la información de estado actual, el estado actual de
40 estos actuadores. Cuando los actuadores determinados sus componentes, los conectores de sus componentes, y el estado de sus componentes son determinados de manera similar. Alternativamente, en realizaciones más simples pero menos preferentes de la invención, los actuadores, los componentes y los conectores pueden ser especificados previamente.

45 **[0087]** Por último, las funciones de monitorización y visualización de operador a nivel de usuario pueden visualizar estos datos de función. Por ejemplo, la animación de la operación de procesador microfluídico puede ser visualizada como un mapa de los componentes del procesador microfluídico y sus conexiones junto con la posición actual de la microgotita y las activaciones de componentes actuales. Los aspectos limitados del estado actual también pueden ser seleccionados por el operador para su visualización.

50

[0088] En una realización de la presente invención, un procesador microfluídico puede ser representado en un paradigma de programación orientada a objetos. En una representación de objeto ejemplar, donde algunos o todos los componentes, actuadores, microgotitas, etcétera pueden ser representados como objetos, los datos mantenidos serían representados como datos de instancia de objeto, que definen para cada objeto su tipo, estado,
55 relación geométrica con otros objetos, etcétera. Las funciones de control serían procedimientos que manipulan los objetos de componentes, actuadores y microgotitas. Estas funciones de control de procesador microfluídico pueden ser representadas en otros paradigmas de programación donde los datos mantenidos pueden ser representados como listas, tablas, árboles, u otras estructuras de datos conocidas.

5.2.2 SISTEMAS DE CONTROL

[0089] Un sistema de control de la presente invención tiene preferentemente una estructura distribuida y jerárquica, generalmente análoga a la estructura de función de control jerárquico ilustrada en la fig. 2.

5 Preferentemente, las funciones de control de nivel más bajo, tales como las funciones a nivel de componente 15 y las funciones a nivel de actuador 16, están implementadas en hardware de interfaz de sistema configurado para conexión directa a un procesador microfluídico controlado (por ejemplo, la tarjeta de adquisición de datos y control 26 en la fig. 3A), mientras que las funciones de nivel más alto, las funciones a nivel de usuario 18, especialmente las funciones de operador 18b, están implementadas en hardware de usuario de sistema configurado para interacción
10 del usuario (por ejemplo, el ordenador personal 27 en la fig. 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 actuador 16 pueden estar implementados en la interfaz o en el hardware de usuario, o en un nivel de hardware intermedio, según convenga. (Las funciones a nivel de microgotita 17 son aquellas funciones realizadas por los subconjuntos físicos descritos anteriormente, que a su vez están compuestos de actuadores y quizá componentes individuales).

15

[0090] Los sistemas de control, especialmente el hardware de interfaz de sistema, pueden estar implementados con un microprocesador electrónico, tal como los suministrados por Intel, Motorola u otros suministradores de electrónica. Para evitar la confusión, tales procesadores electrónicos de sistema de control siempre serán denominados "microprocesadores", mientras que los procesadores microfluídicos serán denominados
20 tanto "procesadores microfluídicos" como simplemente "procesadores".

[0091] La fig. 3A ilustra un control de dos niveles preferente ejemplar. El procesador microfluídico 20 se ilustra

como que tiene una configuración física estandarizada que incluye un tamaño, forma, y conectores eléctricos y ópticos 21 estandarizados, que están dispuestos a lo largo de tres bordes del procesador rectangular. El procesador
25 se muestra estando insertado dentro (o retirado de) un receptáculo de hardware de interfaz que tiene conectores eléctricos y ópticos 25 estandarizados para acoplarse con contactos 21 del procesador. La mayoría de los conectores son para señales eléctricas, mientras que ciertos son para señales ópticas (IR, visibles, UV) en el caso de procesadores microfluídicos monitorizados o excitados ópticamente. Además, el procesador microfluídico ejemplar 20 se ilustra con tres puertos de entrada 22 para aceptar reactivos o muestras fluidos. Preferentemente,
30 estos puertos de entrada están en posición estándar en el procesador de modo que el robot de laboratorio 24, cuando se disponga, puede ser programado fácilmente para carga automática de puertos de varios tipos de procesadores microfluídicos. Si no, los puertos deberían ser accesibles para carga manual. Cuando sea posible, los reactivos también pueden ser preenvasados en un procesador microfluídico. Adicionalmente, el procesador 20 tiene un microcircuito 23 accesible a través de ciertos conectores estándar para almacenar al menos información de
35 procesador autodescriptiva. Alternativamente, el procesador 20 puede llevar signos, tales como un código de barras, que indican el tipo de dispositivo o información adicional.

[0092] El hardware de interfaz de primer nivel ilustrado comprende una tarjeta de adquisición de datos ("DAQ") 26 conectada directamente al procesador microfluídico 20. Una tarjeta DAQ preferente es programable, por

40 ejemplo incluyendo un microprocesador integrado (tal como los producidos por Intel, Motorola, etc.) con memoria RAM (por ejemplo, 1-8 MB), que controla circuitos de detección/controladores eléctricos y ópticos y conmutadores entre las salidas de estos circuitos y conectores 25. Los circuitos de detección/controladores son conmutados entre los conectores 25 bajo control del microprocesador para proporcionar señales de control al procesador microfluídico, o para recibir señales de monitorización. Los componentes de señalización óptica, por ejemplo fuentes de radiación
45 de diodo láser o detectores de radiación de fotodiodo, son controlados de manera similar por el microprocesador. La tarjeta DAQ también incluye preferentemente una interfaz externa estandarizada que permite enlaces a una amplia variedad de porciones de nivel superior del sistema de control. Aquí se ilustra una interfaz serie bidireccional de 5 hilos genérica 28, similar a interfaces estándar tales como UART, USB, Firewire, Ethernet, etcétera, todas las cuales pueden usarse en esta invención. En otras realizaciones, la tarjeta DAQ puede estar configurada para enchufar en
50 los buses de sistemas de control de nivel superior. El hardware de usuario se comunica preferentemente con una DAQ por medio de intercambio de mensajes según un protocolo estándar.

[0093] Una tarjeta DAQ con suficientes recursos de microprocesador y memoria puede realizar prácticamente

55 todas las funciones de control. Por ejemplo, tal tarjeta puede realizar funciones a nivel de componente 15, funciones a nivel de actuador 16, funciones a nivel de microgotita 17, y la función de control de reacción 18a. En esta realización preferente, sólo las funciones de interfaz de usuario se realizan de manera más eficiente en el hardware de usuario. Una tarjeta DAQ tan capaz funcionaría con la mayoría del hardware de usuario de recursos limitados. Con una tarjeta DAQ menos capaz, las funciones de control pueden transferirse ventajosamente a hardware de usuario, comenzando con las funciones de control de reacción de nivel superior y continuando hacia abajo en la

jerarquía de funciones. En el primer caso, tendrían que intercambiarse mensajes de monitorización limitados entre la tarjeta DAQ y el hardware de usuario; en el segundo caso, el hardware de usuario enviaría mensajes parametrizados a la tarjeta DAQ invocando funciones de nivel inferior. Estos mensajes pueden ser divididos en paquetes para una transferencia real a través de la interfaz DAQ, y la transferencia puede ser comprobada por si
5 hay errores.

[0094] En realizaciones alternativas, ciertas funciones de control del nivel más bajo pueden ser descargadas de la tarjeta DAQ sobre hardware de control integrado en el propio procesador 20, por ejemplo, sobre el microcircuito 23. Por ejemplo, este circuito podría servir como un conmutador interno de modo que un menor número de
10 contactos externos 21 pueden ser conmutados entre un mayor número de conductores de control o monitorización en el procesador, conservando así contactos externos. Ciertas otras funciones de control de componentes pueden ser descargadas al procesador microfluídico.

[0095] El hardware de usuario (también denominado “anfitrión” en este documento) es el nivel superior de los
15 sistemas de control de esta invención. En la mayoría de las realizaciones el hardware de usuario realiza al menos las funciones de interfaz de usuario 18b de la fig. 2. En respuesta a una entrada de usuario, estas funciones de nivel superior tienen el control final del comienzo, la monitorización, y la detención de una reacción en un procesador, y de la notificación de los resultados de la reacción. El hardware de usuario, o anfitrión, además puede realizar funciones administrativas, entre las cuales puede estar gestionar las instrucciones de software y los datos para sí mismo y para
20 las tarjetas DAQ conectadas. Las instrucciones de software para hacer que el anfitrión realice sus funciones pueden ser cargadas desde medios legibles por ordenador, tales como el disco óptico 29, o pueden ser descargadas desde la interconexión de red 30. Los datos también pueden ser cargados en el ordenador anfitrión desde medios legibles por ordenador, en particular una base de datos descriptivos de procesador microfluídico puede ser cargada en el anfitrión. Además, el anfitrión puede “descargar” instrucciones de software y datos a la tarjeta DAQ, cuando tal ya no
25 es residente siendo almacenados, por ejemplo, en una tarjeta de memoria ROM/Flash o un disco duro pequeños. Este software y datos descargado cargado hace que la tarjeta DAQ realice sus tareas asignadas. El hardware de usuario es preferentemente programable, por ejemplo, con microprocesador, memoria, y almacenamiento, y se conecta a una tarjeta DAQ controlada por medio de la interfaz estandarizada en la tarjeta DAQ.

[0096] Los sistemas de control jerárquico de esta invención – el hardware de usuario, la tarjeta DAQ y,
30 opcionalmente, el propio procesador microfluídico – pueden estar contruidos convenientemente según varios puntos de diseño diferentes adecuados para diferentes aplicaciones. Tal como se ilustra en la fig. 3A, el hardware de usuario 27 puede ser un ordenador personal portátil, típicamente con un microprocesador de 500 MHz o mayor velocidad, con 64MB de memoria o más, y conectado a la tarjeta DAQ independiente 26 por el UART 28 que se
35 enchufa en el ordenador personal. Esta implementación es adecuada para aplicaciones portátiles de productividad media o para uso moderado en laboratorio.

[0097] Un punto de diseño aún más portátil es un sistema de análisis de mano, en el cual el anfitrión 27
40 puede ser un ordenador de bolsillo u otro tipo de ordenador de mano, la tarjeta DAQ 26 se enchufa en un enchufe de “expansión” u otro receptáculo o conector en el anfitrión de mano, y el procesador microfluídico 20 a su vez se enchufa en un receptáculo de la tarjeta DAQ. El ordenador de mano también puede incluir interfaces de comunicación remota, tales como acceso inalámbrico. Este punto de diseño tendría aplicaciones médicas en la consulta de un doctor, o en la cabecera de la cama, o en una situación de emergencia, etcétera. También puede tener aplicaciones industriales para el “campo” de los procesos de fabricación de productos químicos industriales.
45 Otras aplicaciones resultarán inmediatamente evidentes para los expertos en la materia.

[0098] Otro punto de diseño es un sistema de análisis de laboratorio menos portátil, pero de productividad
50 más elevada en el cual el anfitrión 27 puede ser cualquier ordenador de laboratorio de tipo ordenador personal o de tipo estación de trabajo y una o más tarjetas DAQ 26 con procesadores microfluídicos 20 dispuestos en varias configuraciones apropiadas. En una disposición simple, la tarjeta DAQ puede residir en un soporte de mesa (no ilustrado) que se conecta al anfitrión 27 por medio del cable de datos 28. Alternativamente, múltiples procesadores microfluídicos 20 con sus tarjetas DAQ asociadas pueden residir en un solo soporte, o múltiples soportes, y pueden estar conectados al anfitrión 27 por medio de conexiones de red tales como conexiones Ethernet. Para una automatización de laboratorio más completa, uno o más procesadores 20 con sus tarjetas DAQ asociadas pueden
55 estar dispuestos de modo que las muestras o los reactivos puedan ser introducidos en los procesadores por uno o más robots de laboratorio estándar. En la fig. 3A esto se ilustra por el robot de laboratorio 24 que tiene acceso a los puertos de entrada 22 del procesador microfluídico 20. Este robot de laboratorio es controlado por medio del cable 32 procedente del anfitrión 27 de modo que la carga del procesador microfluídico y la operación del procesador pueden ser controladas de manera conveniente y automática desde un solo ordenador. Alternativamente, el robot

puede ser controlado por un ordenador separado.

[0099] Una amplia variedad de puntos de diseño adicionales que son adecuados para otras aplicaciones diversas resultarán evidentes para los expertos en la materia.

5

5.3 REALIZACIÓN CONTROLADA TÉRMICAMENTE PREFERENTE

[0100] En una realización más preferente de la invención, estos sistemas y procedimientos de esta invención se aplican a procesadores microfluídicos controlados térmicamente, tal como se ilustra en la fig. 1. Esta subsección describe en orden los sistemas y los procedimientos de esta realización más preferente de la invención.

10

5.3.1 ARQUITECTURA DE TARJETA DAD

[0101] La tarjeta DAQ de esta realización es relativamente más capaz, y por lo tanto puede ser interconectada a equipos de usuario, o anfitriones, de una amplia variedad de capacidades. La arquitectura de tarjeta DAQ incluye tanto una arquitectura de hardware preferente como una arquitectura de software de sistema preferente, descritas en este documento.

15

Arquitectura de hardware

20

[0102] La fig. 3B ilustra una arquitectura de hardware preferente para tarjetas DAQ de esta realización. En primer lugar, las tarjetas DAQ tienen uno o más receptáculos, ranuras, enchufes, etcétera donde uno o más procesadores microfluídicos reemplazables pueden ser alojados de una manera de soporte firme con buen contacto con sus conectores externos. Los procesadores microfluídicos son montados preferentemente en un sustrato relativamente fuerte, por ejemplo una tarjeta PCB. Los sustratos de procesador están estandarizados para que tengan una, o como máximo unos pocos tamaños, formas y disposiciones de conectores seleccionados para una fácil sustitución en uno, o como máximo unos pocos tipos de receptáculos de tarjeta DAQ correspondientes. Así, la fig.3B ilustra el procesador microfluídico 37 montado en el sustrato 36.

25

[0103] Los conectores eléctricos estandarizados 38a conectan tanto entre las líneas de control eléctricas 39 como las líneas en el sustrato 36 que conducen al procesador microfluídico 37, y también entre las líneas de monitorización eléctricas 40 y las líneas de sustrato correspondientes. Los conectores ópticos 38b conectan tanto entre los conductores ópticos 42 desde fuentes de luz de la tarjeta DAQ como los conductores ópticos 41 hacia sensores de luz de la tarjeta DAQ y conductores ópticos correspondientes en el sustrato de procesador 36 que también conducen al procesador microfluídico. Los conectores eléctricos, que pueden tener muchas realizaciones, se ilustran aquí como conectores de borde que son acoplados cuando el sustrato de procesador es insertado en un receptáculo de tarjeta DAQ. Alternativamente, los conectores pueden ser adecuados para acoplamiento de un cable de cinta flexible, o pueden ser enchufes de patillas múltiples, etcétera. Los conectores ópticos pueden ser de tipos conocidos para conectar cables de fibra óptica.

30

[0104] La interfaz de ordenador anfitrión 44 se selecciona preferentemente según el tipo de anfitrión usado en un sistema de control particular. Por ejemplo, para anfitriones de mano la tarjeta DAQ puede enchufar en una ranura o interfaz disponible integrada en el dispositivo de mano. Para sistemas de laboratorio que usan anfitriones de tipo ordenador personal o estación de trabajo, la tarjeta DAQ proporciona un conector y una interfaz modulares, simples, y preferentemente estandarizados, por ejemplo, adecuados para una conexión USB, o Firewire, o por cable Ethernet. En la fig. 3B se ilustra una interfaz serie UART bidireccional sencilla con conector de cable 38c. La interfaz ilustrada tiene líneas de entrada de datos y salida de datos en serie y una línea de reinicio, que debería ser capaz de llevar la tarjeta DAQ a un estado conocido. Esta interfaz también proporciona líneas de alimentación y de tierra.

45

[0105] La tarjeta DAQ es alimentada preferentemente de manera externa por un ordenador anfitrión (o por un soporte independiente). La alimentación puede ser suministrada a voltajes estándar, por ejemplo, a +12 V, o +5 V, u otro voltaje, que la propia tarjeta convierte en, y regula a los voltajes internos requeridos. Preferentemente, la tarjeta DAQ es capaz de negociar con el anfitrión (o con su soporte) respecto a las necesidades de alimentación de la tarjeta y un procesador microfluídico conectado, y generar una indicación de error si el suministro eléctrico no satisface las necesidades. Se conocen negociaciones de alimentación similares de interfaces USB empleadas en ordenadores personales.

50

[0106] La fig. 3B ilustra en general una arquitectura de tarjeta DAQ basada en microprocesador preferente. El microprocesador y la memoria 43 (tal como RAM o ROM) se comunican tanto con el controlador de interfaz de

anfitrión 44 como con el controlador de bus interno 45 por un bus de microprocesador optimizado para comunicación a alta velocidad con unos pocos dispositivos. El bus interno 46 es típicamente diferente del bus de microprocesador porque está diseñado y optimizado para controlar y monitorizar interfaces a numerosos controladores de circuitos periféricos de baja 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 a los controladores de circuitos periféricos, y el bus interno puede eliminarse. Aunque no se ilustra, la tarjeta DAQ también puede incluir uno o más discos duros de pequeño factor de forma, lectores para dispositivos flash, RAM, u otras interfaces.

[0107] En una realización económica, la función de generación y detección de señales incluye circuitos periféricos en los cuales un pequeño número de circuitos de generación y monitorización de señales controlados por bus son conmutados (o multiplexados) por circuitos de conmutación de señales controlados por bus entre un mayor número de conductores o líneas para conexión a un procesador microfluídico. Así, el microprocesador controla las señales de control del procesador microfluídico controlando los circuitos de generación de señales y de conmutación de señales por medio del bus interno 46. Alternativamente, puede estar provisto un circuito controlador/de detección para cada conector externo, y los conmutadores de señales pueden eliminarse.

[0108] Por consiguiente, la fig. 3B ilustra el circuito controlador de calentador 47, controlado por el bus 46, con relativamente pocos conductores de salida estando conmutados o encaminados por el conmutador analógico 48, también controlado por el bus 46, entre líneas de control relativamente más numerosas 39. Los circuitos controladores de calentador pueden controlar elementos calentadores en el procesador microfluídico proporcionando o bien una fuente voltaje o corriente constante, o bien una fuente de pulsos de anchura o frecuencia controlada, o bien de fuentes de señales de otros esquemas de modulación. Los elementos calentadores deberían ser controlables desde potencia cero hasta una potencia máxima, donde el máximo es preferentemente de 1,0 a 2,0 W, y más preferentemente de 0,5 a 2,5 W. Los procesadores microfluídicos también tienen típicamente al menos un dispositivo de enfriamiento, por ejemplo un dispositivo de Peltier, que se usa para establecer una temperatura de funcionamiento de referencia apropiada para la reacción o el análisis que se realiza, por ejemplo, una temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C o inferior. Las tarjetas DAQ, por lo tanto, también incluyen circuitos periféricos, controlables por el microprocesador para controlar tal dispositivo de enfriamiento.

[0109] De manera similar, las señales de monitorización generadas en un procesador microfluídico y conducidas por líneas de monitorización relativamente más numerosas 40 son conmutadas por el conmutador 50, bajo control del bus 46, a uno de relativamente menor número de circuitos de detección digitales 49, que puede ser un convertidor analógico/digital o similar. Además, los circuitos de detección también pueden proporcionar señales para activar sensores cuando sea necesario. Las señales de monitorización digitalizadas son transmitidas entonces al microprocesador y la memoria 43 por el bus interno 46. Las señales de monitorización son generadas típicamente por detectores de temperatura, preferentemente al menos un detector acompañante y para control de cada calentador resistivo. Los detectores de temperatura son preferentemente detectores de temperatura resistivos (preferentemente de platino) con resistencia en el intervalo de 1000 Ω a 4000 Ω a 25 °C. Puesto que las mediciones de temperatura tienen preferentemente una exactitud y resolución de aproximadamente 0,5 °C, los circuitos de detección de temperatura deberían poder medir una resistencia (para detectores de temperatura de platino) en el intervalo anterior con una exactitud y resolución mejor que aproximadamente el 0,25 %, y más preferentemente mejor que aproximadamente el 0,13 %.

[0110] Puede usarse un control basado en conmutador similar para señales ópticas. La fig. 3B ilustra el conmutador analógico controlado por bus 54 que conmuta una señal de control proporcionada por bus a diodos láser y controladores relativamente numerosos 53. La salida del diodo láser es conducida entonces por los conductores de luz 42 al sustrato 36, y luego al procesador microfluídico 37. Para proporcionar luz de excitación a un procesador microfluídico, una tarjeta DAQ tiene al menos uno, y preferentemente dos o más diodos láser (u otras fuentes de luz controlables) con un intervalo de potencia de 1 a 10 mW y con longitudes de onda útiles para excitación y detección de reacción. Preferentemente, una pluralidad de diodos láser están provistos de una pluralidad de longitudes de onda específicas de la pluralidad de procesadores microfluídicos diferentes que realizan una pluralidad de reacciones o análisis diferentes. Además, los diodos láser, o sus conductores ópticos, pueden estar provistos opcionalmente de elementos ópticos, tales como filtros o polarizadores. Los circuitos controladores para los diodos láser son preferentemente controlables (por el microprocesador) de modo que la potencia de salida de los diodos láser puede ser ajustada a lo largo de su intervalo.

[0111] Las señales de monitorización ópticas son recibidas por los conductores de luz 41 y son detectadas por los fotodiodos 51 (u otros sensores de luz). La salida del fotodiodo digitalizada es conmutada sobre el bus por los conmutadores 54. Para monitorizar la luz devuelta desde un procesador microfluídico, una tarjeta DAQ tiene

preferentemente uno o más fotodiodos, preferentemente cuatro, o cinco, o más fotodiodos con características, tales como sensibilidad a la longitud de onda, corriente de oscuridad, eficiencia cuántica, etcétera, específicas de las reacciones o los análisis. Preferentemente, una pluralidad de fotodiodos están provistos de una diversidad de características específicas de una diversidad de procesadores microfluídicos que realizan una diversidad de reacciones o análisis. Además, los fotodiodos, o los conductores ópticos, pueden estar provistos opcionalmente de elementos ópticos, tales como filtros espectrales, para adaptar su sensibilidad a la reacción. Los circuitos de digitalización de fotodiodos tienen preferentemente ganancias e intervalos ajustables para adaptarse a fotodiodos de características diferentes.

10 **[0112]** Alternativamente, cuando se disponga económicamente de conmutadores ópticos controlables, esta arquitectura ilustrada puede ser sustituida por una arquitectura conmutada similar a la de para la generación y monitorización de señales eléctricas, concretamente menos fuentes y sensores ópticos conmutados ópticamente entre conductores ópticos más numerosos.

15 **[0113]** La fig. 3B pretende ilustrar, no limitar, la arquitectura de tarjeta DAQ preferente. En primer lugar, esta arquitectura es fácilmente escalable. Puesto que los procesadores microfluídicos tienen típicamente numerosos calentadores accionados eléctricamente y sensores eléctricos, muchos de los cuales pueden operar en paralelo, una tarjeta DAQ tiene preferentemente la capacidad de accionar simultáneamente al menos dos calentadores y de detectar simultáneamente al menos dos conductores de monitorización, por ejemplo, teniendo dos o más pares conmutador analógico/controlador o conmutador analógico/sensor. Aunque habitualmente no se requiere la generación y monitorización simultáneas de más de una señal óptica, esta capacidad puede estar prevista si es necesario en el caso de señales eléctricas. En segundo lugar, las tarjetas DAQ pueden estar basadas en otros tipos de dispositivos programables y pueden tener otra disposición de componentes para generar señales de control y detectar señales de monitorización que resultarán evidentes para un experto en la materia en vista de la descripción anterior. Por ejemplo, el bus interno puede ser eliminado en favor de una comunicación directa entre el microprocesador y los elementos de generación/monitorización de señales. Además, uno o más conmutadores pueden ser eliminados en favor de un mayor número de circuitos de generación o detección de señales. Por último, una sola tarjeta DAQ puede tener receptáculos y circuitos periféricos para controlar más de un procesador microfluídico.

30

Arquitectura de software

[0114] La instrucción de software ejecutada por el microprocesador 43 (u otro elemento de control programable) controla la tarjeta DAQ. En particular, las respuestas a mensajes del anfitrión y la generación de señales de control son permitidas según las funciones de control jerárquico de procesador microfluídico. Aunque la asignación de una función del sistema de control entre un anfitrión, una tarjeta DAQ, y un procesador microfluídico es flexible, preferentemente, tal como se describe, la tarjeta DAQ realiza la mayoría de las funciones de control con el fin de que el procesador microfluídico necesite proporcionar sólo la autoidentificación y con el fin de que el equipo de usuario necesite sólo proporcionar una interfaz de operador. De ese modo, el coste del procesador microfluídico se reduce, y el equipo de usuario es liberado del control del procesador microfluídico en tiempo real.

[0115] Una arquitectura de software preferente está estratificada tal como se conoce en la técnica. En la capa de nivel más bajo está un "sistema operativo", que proporciona preferentemente, por ejemplo, control de procesos por software estándar, comunicación, asignación de memoria, y acceso para control de circuitos periféricos de una tarjeta DAQ. El control de procesos por software y la memoria proporcionan preferentemente control asíncrono en tiempo real con interfaces para lenguajes estándar, tales como C o C++. Los controladores para los circuitos periféricos proporcionan preferentemente control asíncrono sobre las señales eléctricas y ópticas producidas como salida hacia un procesador microfluídico y detección asíncrona de señales de monitorización procedentes de un procesador controlado. Tal sistema puede estar construido, por ejemplo, de un núcleo Linux mínimo aumentado con controladores de circuitos periféricos.

[0116] En una implementación del procedimiento basada en proceso de software, el sistema operativo ejecuta procesos de software que gestionan, por ejemplo, funciones de control de procesador microfluídico, comunicación de anfitrión, y funciones administrativas de tarjeta DAQ interna. Los procesos de software de comunicación de anfitrión implementan preferentemente un protocolo de comunicación estratificado. En una capa de red, la comunicación es preferentemente basada en paquetes con verificación de errores (por ejemplo, mediante una suma de verificación con retransmisión de paquetes perdidos o corruptos). En una capa física, el protocolo puede ser implementado por un enlace de comunicación de anfitrión, tal como en enlace en serie ilustrado desde la interfaz de anfitrión 44, Ethernet, etcétera, con previsión para la negociación de velocidades de transmisión, tamaños de

paquetes, etcétera. Pueden seleccionarse protocolos ejemplares de la familia IP, tales como SLIP o TCP, o de otros protocolos conocidos.

[0117] Los procesos de software administrativo internos proporcionan respuestas a, por ejemplo, solicitudes del anfitrión del estado de la tarjeta DAQ, y para la operación y el estado de un procesador microfluídico conectado. Los procesos de software administrativo también pueden permitir la actualización de software de la tarjeta DAQ. Por ejemplo, en respuesta a una solicitud de estado del anfitrión, la tarjeta DAQ debería notificar su estado (por ejemplo, libre, reacción en curso, etapas completadas, resultados ahora disponibles, etcétera). La tarjeta DAQ también puede realizar pruebas de diagnóstico de la propia tarjeta y calibrar los circuitos de detección integrados. En respuesta a una solicitud de necesidades de potencia, la tarjeta DAQ debería negociar por adelantado la potencia que espera extraer del anfitrión (por ejemplo, para esta reacción particular en este procesador microfluídico particular). En respuesta a una solicitud de actualización de software, la tarjeta DAQ debería solicitar o aceptar el software (o el firmware) procedente del anfitrión. También pueden estar previstas solicitudes de estado internas y respuestas adicionales.

[0118] Los procesos de software de control de procesador microfluídico realizan funciones que han sido descritas en general con respecto a la fig. 2 anterior, y se describirán con más detalle más adelante para los procesadores microfluídicos controlados térmicamente preferentes. En una realización preferente, el nivel de componente, el nivel de actuador, el nivel de microgotita, y la función de control de reacción proporcionada por el usuario son realizadas por procesos de software de la tarjeta DAQ. Preferentemente, al menos, las funciones para medición y mezcla de gotas, ciclo de temperatura, y separación de componentes de microgotitas en un medio de separación son realizadas en una tarjeta DAQ. En una realización basada en procesos de software, las funciones para los procesos de control de software están estructuradas jerárquicamente como lo están las propias funciones. Por ejemplo, un proceso de software de actuador envía mensajes de solicitud a sus procesos de software a nivel de componente. Otras implementaciones de control resultarán evidentes para los expertos en la materia.

5.3.2 PROCEDIMIENTOS Y FUNCIONES

[0119] Esta subsección describe funciones de control para procesadores microfluídicos controlados térmicamente preferentes, funciones a nivel de componente, funciones a nivel de actuador, funciones a nivel de microgotita, y por último funciones a nivel de usuario. Esta descripción es ejemplar y no limitativa. En vista de la siguiente descripción, un experto en la materia comprenderá cómo construir otras implementaciones de las funciones descritas, y también cómo otros posibles componentes y actuadores, los cuales pueden construirse en tecnologías controladas térmicamente preferentes, pueden ser controlados según esta invención.

5.3.2.1 FUNCIONES DE CONTROL DE TEMPERATURA

[0120] La detección de temperatura y el calentamiento controlado son importantes funciones a nivel de componente para procesadores microfluídicos controlados térmicamente preferentes. Los elementos de detección de temperatura son preferentemente elementos resistivos (detectores de temperatura resistivos o "RTD") configurados para que tengan cambios de resistencia mensurables en respuesta a cambios de temperatura. Tal sensor puede estar hecho de platino con resistencia en el intervalo de aproximadamente 1000 Ω (ohmio) a 4000 Ω a 25 $^{\circ}\text{C}$, de modo que puede conseguirse una exactitud y resolución de aproximadamente 0,5 $^{\circ}\text{C}$ con circuitos de detección capaces de mediciones de resistencia de aproximadamente el 0,25 % o mejor exactitud y resolución.

[0121] La fig. 4A ilustra un RTD ejemplar, que puede operar en al menos dos modos. La fig. 4B ilustra una función que realiza el primer modo de medición de temperatura. La función en primer lugar obtiene parámetros de entrada, aquí principalmente la identidad del RTD particular en cuestión. La identidad del RTD puede ser proporcionada, por ejemplo, como una entrada a una invocación de función procedimental, o puede ser una variable local en un objeto que representa este RTD, o por otros medios. Proporcionada sin embargo, esta identidad determina los conductores de control (y de este modo los conectores de la tarjeta DAQ) que han de usarse para la medición, por ejemplo, los conductores 57-60 en la fig. 4A, de modo que el microprocesador de la tarjeta DAQ puede controlar los circuitos periféricos apropiados. A continuación, se aplica una pequeña corriente a través del RTD en un par de conductores, por ejemplo, los conductores 57 y 60, mientras que el voltaje resultante es detectado a través de un segundo par de conductores, por ejemplo, los conductores 58 y 59. Por último, la resistencia del RTD se determina a partir de la corriente suministrada y el voltaje medido (o viceversa), y la temperatura es convertida entonces a partir de la resistencia medida. La corriente aplicada se escoge suficientemente pequeña como para no generar un calentamiento local significativo, pero suficientemente grande como para generar una caída de voltaje mensurable a la precisión anterior. El uso de dos pares de conductores mejora la exactitud, porque, como la

medición de voltaje puede hacerse con poca o ninguna corriente, se desarrolla poca o ninguna caída de voltaje en los conductores de medición 58 y 59; midiéndose la mayoría de la caída de voltaje medida a través del propio RTD. Alternativamente, cuando sea suficiente menos exactitud, puede usarse un solo par de conductores para suministro de corriente y medición de voltaje.

5

[0122] En un segundo modo, el RTD puede detectar la presencia o ausencia de una microgotita midiendo un calor específico local, que es mayor cuando está presente una microgotita en un conducto cercano que cuando no está presente ninguna microgotita. Este modo funciona de una manera sustancialmente similar al primer modo excepto que la corriente aplicada es mayor y es aplicada durante un tiempo suficiente para generar suficiente calor para aumentar la temperatura circundante en una cantidad mensurable, por ejemplo, aproximadamente 2 a 4 °C en ausencia de una microgotita. En presencia de una microgotita, el incremento de temperatura es menor. Por lo tanto, la presencia o ausencia de una microgotita puede ser detectada midiendo la velocidad del incremento de temperatura.

10

[0123] Los calentadores también son preferentemente resistivos y están configurados para generar de manera controlable entre 0,5 y 1,5 W de calor con una fuente de bajo voltaje. Como un voltaje de fuente bajo es 5-10 V o menos, la resistencia de los calentadores resistivos está en el intervalo de aproximadamente 15 Ω a 1000 Ω a 25 °C (pueden ser necesarios calentadores incluso más pequeños para voltajes de fuente de menos de 5 V). Tal como ilustra la fig. 4A, un calentador con un RTD cercano permite un calentamiento controlado.

20

[0124] La fig. 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 a través del bus interno pueda energizar o monitorizar los conductores correctos (y de este modo los conectores correctos de la tarjeta DAQ), y una temperatura y una tolerancia de temperatura deseadas. Usando una función de detección de temperatura, por ejemplo, la función ilustrada en la fig. 4B, se determina la temperatura en el calentador. Después se ajusta la corriente del calentador en vista de la temperatura medida, la temperatura deseada, y la tolerancia. El tiempo de retardo se escoge para permitir características de control suave. Estas etapas de control, especialmente la etapa de ajuste de corriente, también pueden implementar un procedimiento de control alternativo, tal como un PID o un procedimiento de lógica difusa, que puede depender de la temperatura medida actualmente y de una o más temperaturas medidas en el pasado reciente.

30

[0125] Una función a nivel de componente relacionada con la temperatura adicional permite controlar la temperatura de referencia del dispositivo. Además de calentadores, un procesador microfluídico preferente puede tener un dispositivo (o dispositivos) de enfriamiento de Peltier (u otro) con el fin de mantener en general el procesador a una temperatura de referencia, por ejemplo, a una temperatura ambiente de 25 °C. Alternativamente, un enfriador de Peltier puede estar montado en la tarjeta DAQ de una manera tal que haga contacto térmico con un procesador microfluídico cuando esté insertado en la tarjeta. Tal enfriador impide la acumulación progresiva de los efectos de los calentadores energizados durante el transcurso de una reacción o un análisis. Un dispositivo de enfriamiento puede ser controlado de manera similar a un calentador resistivo ajustando una corriente de control para mantener un sensor de temperatura específico a la temperatura de referencia deseada, cuando el sensor específico está montado a una distancia térmica de los calentadores para detectar la temperatura de fondo del procesador.

35

40

5.3.2.2 FUNCIONES A NIVEL DE COMPONENTE ADICIONALES

45

[0126] Una función a nivel de componente adicional genera de manera controlable presión, por ejemplo, para mover las microgotitas u otros materiales en un procesador microfluídico. Esta función es un componente importante de varios actuadores de nivel superior que requieren fuerza mecánica controlada térmicamente. Una realización preferente de un generador de presión incluye un reservorio de gas con un elemento de calentamiento controlado y un conducto que conduce gas presurizado por calentamiento hasta su punto de aplicación. La fig. 5A ilustra una realización preferente con un reservorio de gas relativamente más grande 65 y un conducto de conducción relativamente más pequeño 66 que enlaza con el punto de aplicación de presión en el conducto 68. El gas del reservorio es preferentemente inerte, tal como nitrógeno o argón, pero puede ser aire. El reservorio tiene un calentador controlado 69 (el sensor de temperatura acompañante no se ilustra) integrado en su base (o la parte superior). La zona 67 del conducto 68 tiene una superficie hidrófoba de modo que cualquier fluido (acuoso) presente en el conducto 68 es excluido del reservorio de gas 69.

50

55

[0127] La fig. 5B ilustra una función de control a nivel de componente para este generador de presión. En la primera etapa, la función obtiene la identificación del generador de presión y su calentador asociado y un parámetro

que representa la presión deseada que ha de ser generada. En una siguiente etapa, la presión deseada es convertida en una cantidad deseada de calor necesaria, y en la etapa final, el calentador es controlado (por una señal de control a través de conectores determinados a partir de la identidad del componente) a una temperatura durante un tiempo suficiente para suministrar el calor necesario.

5

[0128] Además de sensores de microgotitas que dependen de los efectos de temperatura descritos anteriormente, funciones a nivel de componente adicionales pueden controlar otros tipos de sensores de microgotitas presentes en un procesador microfluídico. Por ejemplo, los sensores de microgotitas pueden estar basados en detección capacitiva, en la cual una impedancia entre dos conductores es alterada por la presencia o ausencia de una microgotita. La tarjeta DAQ incluyen entonces circuitos de detección de impedancia conmutables. También pueden estar presentes sensores de presión y pueden usarse como sensores de posición de microgotitas tal como se explica posteriormente. Los sensores de presión también pueden proporcionar retroalimentación directa para uso en la función de presión controlable de las figs. 5A-B.

10

15 5.3.2.3. FUNCIONES DE MICROVÁLVULA

[0129] Una función de microválvula es una importante función a nivel de actuador que estará presente en la mayoría de los procesadores microfluídicos. La fig. 6A ilustra una realización preferente de una microválvula para cerrar y abrir el conducto controlado 78. La microválvula tiene un generador de presión, por ejemplo, que incluye el reservorio de gas 75 con el calentador HTR1 y el conducto lateral 77 que conecta con el conducto controlado 78. El conducto lateral 77 es bloqueado por el tapón 76 de material inerte de bajo punto de fusión. El punto de fusión es preferentemente mayor que la temperatura de funcionamiento de referencia del procesador microfluídico pero inferior al punto de ebullición de cualquier microgotita controlada por esta microválvula en el conducto 78. Por ejemplo, el punto de fusión puede ser de 40 a 90 °C, preferentemente de 50 a 70 °C; el material puede ser una cera (por ejemplo, una olefina) o una aleación eutéctica (por ejemplo, un estaño para soldar). La microválvula también incluye el calentador HTR2 para calentamiento controlado del conducto lateral 77, y el calentador HTR3 para calentamiento controlado del conducto controlado 78, tal como se ilustra. Los sensores que acompañan opcionalmente a estos tres calentadores se omiten de la fig. 6A por simplicidad y sin limitación.

20

25

[0130] La configuración de los conductores 79-82 es una disposición que proporciona control independiente los tres calentadores con sólo cuatro conductores de control encaminados directamente y no superpuestos. Esta disposición ilustrada es ejemplar. Por ejemplo, en su lugar podrían estar provistos seis conductores, dos por cada calentador.

30

[0131] La operación de cierre de microválvula se describe con referencia a la fig. 6A, que representa la microválvula en un estado abierto, la fig. 6B, que representa la microválvula en un estado cerrado, y la fig. 6C, que representa las etapas de la función de cierre de microválvula. La función de cierre en primer lugar obtiene parámetros de entrada 83, que identifican la microválvula particular que ha de ser cerrada, sus calentadores componentes, y los conectores para los conductores de control de calentador y para monitorizar señales procedentes de cualquier sensor opcional. Los parámetros de entrada también incluyen el estado actual de la microválvula, que debe ser "abierto" para la función de cierre de microválvula. (Si la microválvula ya está cerrada, la función de cierre puede simplemente salir). A continuación, la etapa 84 calienta de manera controlable el HTR2 (activando los conductores 79 y 80) y el conducto lateral 77 a una temperatura T_2 ligeramente, pero suficientemente, por encima (por ejemplo, de 1 a 5 °C por encima) de la temperatura de fusión del tapón 76 de modo que el tapón se funde. Después, o simultáneamente con la fusión del tapón, la etapa 85 calienta de manera controlable el HTR1 (activando los conductores 80 y 81) a una temperatura T_1 y durante un tiempo para que se genere la suficiente presión de gas para mover el tapón fundido del conducto de salida 77 al conducto controlado 78. Preferentemente, $T_1 > T_2$. Esta presión se mantiene durante un tiempo de retardo 86 determinado para que sea suficiente para que el tapón se mueva al conducto 78. Alternativamente, cuando se dispone de un sensor de posición para el tapón (por ejemplo, un sensor térmico en asociación con el HTR3), el retardo dura hasta que se detecta suficiente movimiento del tapón.

35

40

45

50

[0132] La etapa 87 desactiva entonces el HTR2 y espera hasta que su temperatura vuelve dentro de las tolerancias a T_0 , la temperatura de referencia del procesador, de modo que el tapón se solidifica de nuevo. El retorno a la temperatura de referencia puede ser detectado por un sensor o puede ser supuesto después de un tiempo de retardo suficiente. Después de solidificarse el tapón, la etapa 88 devuelve de manera similar la temperatura del HTR1 y el reservorio de gas 75 a la referencia. Como el volumen del gas es ahora mayor debido al movimiento del tapón fuera del conducto 77, en el reservorio 75 está presente una presión de gas relativamente más baja a la temperatura de referencia cuando la microválvula está cerrada que cuando está abierta.

55

[0133] La microválvula ahora está cerrada porque el conducto controlado 78 está bloqueado con el tapón solidificado. La etapa 89 marca el estado de la microválvula como cerrado en los datos que describen la configuración actual del procesador microfluídico.

5

[0134] La operación de apertura de microválvula se describe con referencia a la fig. 6B, que representa la microválvula en un estado cerrado, la fig. 6A, que representa la microválvula en un estado abierto, y la fig. 6D, que representa las etapas de la función de apertura de microválvula. Como de costumbre, esta función en primer lugar obtiene 90 parámetros de entrada. Estos parámetros identifican los conectores de control y monitorización e indican un estado cerrado (de lo contrario, la función simplemente sale). En primer lugar, la función calienta de manera controlable el HTR2 y el conducto lateral 77 a la temperatura T_2 y el HTR3 y el conducto controlado 78 a la temperatura T_1 . T_1 y T_2 están ambas por encima del punto de fusión del tapón, tal como se describe anteriormente. El tapón 76 en el conducto controlado 78 se funde por lo tanto, y, bajo la influencia de la presión relativamente más baja en el reservorio de gas 75 que queda del cierre de la microválvula, retrocede al conducto lateral 77. Estos calentadores son activados durante un tiempo de retardo 91 determinado para que sea suficiente para que el tapón retroceda al conducto lateral 77. Alternativamente, cuando se dispone de un sensor de posición para el tapón (por ejemplo, un sensor térmico en asociación con el HTR2), el retardo es hasta que se detecta movimiento del tapón. Por último, los calentadores HTR2 y HTR3 son desactivados, y la etapa 92 espera hasta que la temperatura en las inmediaciones del conducto de salida ha vuelto dentro de las tolerancias a la referencia (ya sea por monitorización de temperatura o por tiempo de retardo). Por último, el estado de la microválvula es marcado como cerrado con el tapón ahora solidificado en el conducto de salida 77 y el conducto controlado 78 desbloqueado.

[0135] En las siguientes descripciones, por facilidad de ilustración y sin limitación, las microválvulas son representadas esquemáticamente con un solo calentador y un solo par de conductores, en lugar de su ilustración completa, como en las figs. 6A-B, con tres calentadores y al menos cuatro conductores.

25

5.3.2.4. FUNCIÓN DE DETECCIÓN ÓPTICA

[0136] Se prefiere la detección óptica de los resultados de reacciones o análisis de procesador microfluídico porque puede realizarse fácilmente de manera externa a un procesador microfluídico sin ninguna extracción física de resultados de la reacción de estos conductos. Alternativamente, cuando un procesador microfluídico incluye una facilidad de separación para los resultados de la reacción, la detección de componentes separados de ese modo también es preferentemente por medios ópticos. La detección óptica puede depender de la radiación incidente dispersada o la radiación fluorescente generada, etcétera. La invención también permite la excitación de una reacción o un análisis por radiación.

30

[0137] Los componentes básicos de detección óptica y las funciones de control se ilustran con referencia a las figs. 11A-B. La fig. 11A ilustra la sección limitada 165 de un procesador microfluídico con componentes ejemplares para detección óptica de la microgotita md1, que se ilustra como colocada de manera estable adyacente a la zona hidrófoba h1 del conducto principal 167. Los componentes ópticos incluyen el conductor de radiación 166 para conducir la radiación incidente (por ejemplo, procedente de un diodo láser de la tarjeta DAQ) a md1, un conductor de radiación 169 para conducir la radiación procedente de la microgotita 1 para su análisis (por ejemplo, hasta un fotodiodo de la tarjeta DAQ). La radiación conducida desde md1 puede ser radiación dispersada, radiación fluorescente, etcétera. La lente 168 ilustra esquemáticamente elementos para recogida o enfoque de radiación, filtrar longitudes de onda, etcétera, presentes en el procesador. También, un reflector puede estar situado adyacente al conducto principal para duplicar el recorrido de la radiación a través de la microgotita que es detectada. Tal reflector puede tener opcionalmente propiedades dependientes de la longitud de onda, siendo, por ejemplo, un filtro de interferencia o un espejo dicróico.

40

45

[0138] La porción limitada 165 podría ser una representación sustancialmente vertical, que ilustra conductores ópticos dispuestos de manera sustancialmente vertical fuera del plano del procesador microfluídico y que pasan la iluminación a través del grosor del procesador. Esta porción también podría ser una representación sustancialmente horizontal, que ilustra conductores ópticos dispuestos de manera sustancialmente horizontal en el plano del procesador microfluídico y que pasan la iluminación a través de sólo un conducto del procesador. Además, los conductores ópticos pueden correr sustancialmente en el plano del procesador (horizontalmente), sólo para formar un ángulo en una orientación final cerca de su objetivo.

50

[0139] La fig. 11B ilustra una función de detección óptica a nivel de actuador. Esta función comienza obteniendo parámetros 170 que identifican el actuador de detección óptica particular, de modo que el

microprocesador de la tarjeta DAQ puede controlar esos componentes de generación y detección de radiación que conectan con los conectores correctos para el sensor óptico de detección identificado. A continuación, el conductor de radiación de entrada es iluminado 171, y la radiación resultante es detectada 172.

5 **[0140]** Otros de tales procedimientos de detección totalmente externa, basados en campos magnéticos (NMR) o eléctricos aplicados exteriormente, o en una combinación de estos campos con detección óptica, también pueden usarse preferentemente en los procesadores microfluídicos de esta invención. En este caso, los componentes de generación de campo deben estar situados en un procesador microfluídico o en la tarjeta DAQ (o en un alojamiento de tarjeta DAQ), deben ser identificados por la función de control, y deben ser activados por la
10 función de control.

5.3.2.5. FUNCIÓN DE MOVIMIENTO DE MICROGOTITA

[0141] La función de movimiento de microgotita es una importante función a nivel de configuración que estará
15 presente en la mayoría de los procesadores microfluídicos. Esta función mueve una microgotita desde una primera posición hasta una segunda posición, haciendo avanzar así el procesador microfluídico desde una primera configuración hasta una segunda configuración en la cual la microgotita movida está en su segunda posición. Esta, y otras funciones a nivel de microgotita, actúan de la manera más fiable cuando las posiciones inicial y final de la microgotita son estables. Preferentemente, sólo son invocadas o sólo actúan cuando los datos que describen la
20 configuración actual de procesador indican que las microgotitas están colocadas correctamente en una posición estable. Tal como se describe, una posición estable puede ser establecida, por ejemplo, por una zona hidrófoba en un conducto, o por una configuración local de conductos.

[0142] El movimiento de la microgotita, por supuesto, requiere fuerza mecánica controlada térmicamente y,
25 generalmente, en los procesadores microfluídicos preferentes, esta fuerza mecánica es generada por presión de gas mediante un actuador generador de presión. El movimiento de la microgotita puede ser detenido cuando la presión de movimiento es disipada, por ejemplo, por un respiradero al exterior del procesador. El movimiento también puede ser detenido por una zona hidrófoba que requiere más fuerza motriz que la que está siendo suministrada (junto con la desactivación del actuador generador de presión).
30

[0143] El movimiento de la microgotita se ilustra con referencia a la fig. 7A, que representa la microgotita 95 en la posición inicial 96, la fig. 7B, que representa la microgotita 95 en la posición final 97, y a la fig. 7C, que representa las etapas de la función de movimiento de microgotita. Las microválvulas de estas figuras (y
35 preferentemente) están representadas esquemáticamente con sólo un único calentador. La etapa 100 de la función de movimiento obtiene habitualmente parámetros que identifican los componentes del subconjunto para mover la microgotita 95, aquí, la válvula1, la válvula2, y el HTR1, su relación espacial, y sus conductores de control o conectores externos. En la configuración ejemplar ilustrada, la posición inicial de la microgotita 96 es justo más allá del conducto lateral al respiradero1, una posición estable después de un movimiento previo con la válvula1 abierta, dejando el respiradero1 accesible desde el conducto principal 98 para disipar cualquier presión de impulsión.
40 Alternativamente (no ilustrada), la posición inicial puede estar definida por una zona hidrófoba en el conducto 98, y la válvula1, el respiradero1, y su conducto lateral de conexión pueden estar ausentes del procesador microfluídico. A partir de los datos de configuración de entrada se determina que la microgotita 95 está correctamente en una posición estable inicial 96, porque la configuración conocida actual del procesador microfluídico registra la posición de todas las microgotitas presentes en el procesador. Si no hay una microgotita en la posición 96, no hay nada que
45 esta función tenga que hacer, y sale. Preferentemente, la presente función de movimiento es llamada por una función de nivel superior sólo cuando la microgotita 95 está en la posición 96 como resultado de funciones previas.

[0144] A continuación, la etapa 101 prepara las microválvulas para el movimiento de la microgotita invocando las funciones de microválvula a nivel de actuador para cerrar la válvula1 (si está presente y abierta previamente,
50 según se determine por su estado en los datos de configuración del procesador microfluídico) y para abrir la válvula2 (si está cerrada previamente, según se determine también por su estado). La etapa 102 genera entonces una presión predeterminada invocando funciones de generación de presión a nivel de actuador 102. La presión generada mueve la microgotita a la derecha (suponiéndose que la presión generada no se disipa a la izquierda en el conducto 98 y que el conducto 98 está "abierto" a la derecha de la posición 97), hasta la posición final 97 donde la presión
55 aplicada se disipa al exterior a través del respiradero2. Se impide que la propia microgotita entre en el respiradero2 mediante la protección hidrófoba de su conducto lateral de conexión. Cuando la microgotita alcanza su posición final, después del retardo 103, la etapa 104 detiene las funciones de generación de presión desactivando el HTR1. La duración de la generación de presión activa puede determinarse como un intervalo de tiempo preseleccionado, dependiente opcionalmente de la configuración del procesador. Alternativamente, cuando se dispone de un sensor

de posición de microgotita (por ejemplo, un sensor de tipo térmico o un sensor de tipo capacitivo), la etapa 103 puede esperar hasta que se detecta que la microgotita está en la posición final. La etapa opcional 105 invoca las funciones de microválvula para devolver la válvula1 y la válvula2 a sus estados anteriores al movimiento de la microgotita.

5

[0145] Por último, tras la terminación exitosa, la posición de la microgotita en los datos de configuración del procesador microfluídico es actualizada entonces en la etapa 106.

5.3.2.6. FUNCIÓN DE MEDICIÓN DE MICROGOTITA

10

[0146] La función de medición de microgotita a nivel de configuración crea una nueva microgotita de un volumen conocido con más precisión y más pequeño de fluido a partir de un volumen de fluido habitualmente conocido con menos precisión y más grande (un reactante, una muestra, etcétera) introducido dentro de un procesador microfluídico.

15

[0147] Los fluidos pueden ser introducidos dentro de un procesador a través de puertos por medios de transferencia manuales (por ejemplo, una pipeta) o por medios de transferencia automáticos (por ejemplo, un robot) desde una fuente exterior. Pueden estar provistos puertos en el procesador microfluídico para aceptar diversos medios de transferencia de fluido, por ejemplo jeringas o pipetas. La fig. 8C ilustra un port ejemplar adaptado para jeringas. El puerto1 incluye el reservorio de fluido 114, cubierto con la membrana perforable 113 (por ejemplo, de un material autosellante similar al caucho), y conectado al conducto 110 en un procesador microfluídico. Esta figura ilustra que la jeringa 115 tiene la membrana 113 perforada y que ya tiene introducido fluido dentro del puerto. La membrana asegura que el fluido inyectado penetre dentro del procesador sin flujo de retorno. En el caso de las pipetas, la forma del reservorio 114 puede estar adaptada para un ajuste sellado con la punta de la pipeta para transferencia de fluido.

20

[0148] En una realización preferente de la invención, una nueva microgotita es medida siendo tomada del volumen más grande, generalmente por medio de una fuerza de presión de gas. La medición de microgotita se ilustra con referencia a la fig. 8A, que muestra una configuración inicial antes de la medición, la fig. 8B, que muestra una configuración final con la nueva microgotita medida 112, y a la fig. 8C, que muestra etapas de la función de control de medición preferentes. La fig. 8A ilustra la parte alícuota de líquido 111, que ha sido introducida a través del puerto1 (tal como el puerto ilustrado en la fig. 8C) llenando el conducto 110 hasta la posición estable formada por la zona hidrófoba h1. La zona hidrófoba h2 impide la entrada de fluido dentro del conducto lateral al HTR1. El exceso de fluido puede escapar a través del respiradero1, ya que la válvula1 está abierta inicialmente, y el exceso de gas puede escapar a través del respiradero2, ya que la válvula2 está abierta inicialmente. El conducto 110 está diseñado, es decir, teniendo los tamaños relativos ilustrados, de modo que la parte alícuota de fluido 111 experimente mayor fuerza de capilaridad allí que en el conducto lateral al respiradero1, con el fin de que la parte alícuota de fluido se extienda hasta el recorrido hidrófobo antes de que el exceso de líquido se extienda hasta el respiradero1. Esta configuración de tamaños de conductos estabiliza más la posición estable formada por la zona hidrófoba h1.

30

35

40

[0149] La operación de medición comienza, como siempre, en la etapa 120, que identifica los componentes de medición, sus estados, su disposición, orden, y sus líneas de señal o conectores externos. La etapa opcional 121 abre la válvula1 y la válvula2 por medio de las funciones de microválvula a nivel de actuador, si no estaban abiertas inicialmente. A continuación, la función de medición espera 122 la carga de la parte alícuota de fluido de la cual ha de medirse una microgotita. Su carga puede ser indicada por una señal manual externa proporcionada al equipo de usuario (y transmitida a la tarjeta DAQ), o puede ser indicada automáticamente por la terminación de la carga robótica, o puede ser proporcionada por un sensor interno que puede detectar la presencia de fluido adyacente a la zona hidrófoba h1 del conducto 110. La etapa 124 cierra entonces la válvula1 invocando la función de cierre de microválvula, de modo que pueda escapar más fluido del respiradero1.

45

50

[0150] La etapa 124 genera presión invocando la función de generador de presión a nivel de actuador (que activa el HTR1). El generador de presión es controlado a una presión predeterminada (si se dispone de sensores de presión) o, alternativamente, a una temperatura de medición predeterminada. La presión de gas resultante aprieta una longitud L de la parte alícuota 111 que está situada entre la salida del conducto lateral al generador de presión y el extremo de la parte alícuota en la posición estable, formando una nueva microgotita. El volumen de la microgotita medida se determina por la longitud L y la sección transversal del conducto 110. Con referencia ahora a la fig. 8B, la presión generada actúa además para mover la nueva microgotita 112, de la manera de la función de movimiento de microgotita descrita anteriormente, a la posición 117, que está justo más allá de un conducto lateral al respiradero2.

55

La presión generada se disipa por el respiradero² ya que la válvula² está abierta. Las etapas 125 y 126 cesan la generación de presión después de un retardo predeterminado, o alternativamente después de que se detecte que la microgotita 112 está en la posición 117 (mediante un sensor de posición de microgotita). Por último, una etapa opcional cierra la válvula², para prevenir que escape más gas, impidiendo de ese modo que la nueva microgotita vuelva a unirse a la parte alícuota de fluido 111. La válvula 1 puede volver a su estado inicial.

[0151] Por último, la etapa 127 actualiza la configuración del procesador microfluido para reflejar la presencia, ubicación y composición (la misma que la parte alícuota 111) de la nueva microgotita.

10 5.3.2.7 FUNCIÓN DE MEZCLA DE MICROGOTITAS

[0152] La mezcla eficaz de microgotitas no homogéneas resulta útil porque la simple difusión, especialmente de macromoléculas biológicas, a menudo es demasiado lenta para que resulte practicable, incluso para microgotitas adyacentes en contacto físico. Generalmente, la mezcla de microgotitas se consigue mediante un movimiento que sea suficientemente rápido, en vista del tamaño del conducto y la viscosidad de las gotitas, para inducir la mezcla de microgotitas. Preferentemente, la velocidad de la microgotita es igual o excede la velocidad crítica entre capas. En una realización preferente de la invención, una función de mezcla a nivel de microgotita puede invocar una función de movimiento a nivel de microgotita de tal manera que el movimiento sea suficientemente rápido. Esto puede conseguirse activando el actuador generador de presión, que proporciona la fuerza mecánica para mover la microgotita, de modo que la presión generada sube suficientemente rápido hasta un nivel suficientemente alto como para causar movimiento rápido. La activación apropiada del calentador generador de presión de modo que la mezcla de microgotitas de viscosidades particulares se produzca en conductos de diversos tamaños puede determinarse fácilmente de manera experimental y almacenarse para su uso por parte de la función de mezcla.

[0153] Las microgotitas no homogéneas que requieren mezcla pueden surgir por diversas razones. Por ejemplo, las figs. 9A-C ilustran la formación de una microgotita no homogénea como resultado de la medición de dos partes alícuotas de fluidos diferentes dentro de dos microgotitas adyacentes. La fig. 9A ilustra porciones de dos conjuntos de medición, medición¹ y medición², después de cargar la parte alícuota 131 de un primer fluido y la parte alícuota 132 de un segundo fluido, pero antes de la medición de la microgotita. (Las figs. 8A-B ilustran tales conjuntos de medición íntegramente). Los calentadores generadores de presión, HTR1 y HTR2, son partes de estos dos conjuntos de medición. La fig. 9B ilustra a continuación una microgotita, md1, en la posición 133 después de haber sido medida a partir de la parte alícuota 131. A continuación, la fig. 9C ilustra md2 en la posición 133 después de haber sido medida a su vez a partir de la parte alícuota 132. Md2 está colocada adyacente a md1, y estas dos microgotitas ahora forman, en efecto, una sola microgotita no homogénea.

[0154] A continuación se describe la función de mezcla con referencia a la fig. 9C, que representa la configuración antes de la mezcla, la fig. 9D, que representa la configuración después de los resultados de la mezcla, y la fig. 9E. Esta última figura representa las etapas de medición preliminar descrita 135 y 136 que preparan una microgotita no homogénea para la mezcla, así como las etapas 137 de la función de mezcla real. La etapa 138, como es habitual, obtiene parámetros de entrada necesarios, incluyendo la identificación de los componentes del conjunto de mezcla (aquí, porciones de los dos conjuntos de medición) y sus conductores de control, y las posiciones de la microgotita que ha de ser mezclada. En este caso, la presión para mezcla de microgotita puede ser generada por alguno o ambos generadores de presión presentes en los componentes de medición. La etapa 139 invoca funciones de microválvula a nivel de actuador para cerrar la válvula (que habitualmente está abierta como resultado de las etapas de medición previas), y para abrir la válvula², si es necesario. A continuación, la etapa 140 invoca la función de generación de presión a nivel de actuador para generar presión rápidamente, usando alguno o ambos HTR1 y HTR2 calentadas a una temperatura suficiente (la temperatura de mezcla) para causar la mezcla de la microgotita. La etapa 141 se retrasa hasta que (o detecta cuándo) la microgotita md3 ha alcanzado la posición 134, después la etapa 142 cierra la válvula² detrás de la md3.

[0155] Por último, la etapa 144 actualiza los datos de configuración del procesador microfluido para reflejar la ubicación y composición (no mezclada) de la nueva microgotita.

5.3.2.8. FUNCIÓN DE REALIZACIÓN DE REACCIÓN

[0156] Generalmente, una microgotita que ha sido creada con la composición correcta está lista para la reacción o el análisis pretendido. Preferentemente, para la reacción, esta microgotita es aislada entonces con el fin de evitar la evaporación o interacciones accidentales con el resto del procesador microfluido, y ajustada a una temperatura determinada, con el fin de que la reacción prosiga como se pretende. Ciertas reacciones, notablemente

la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), pueden requerir que la microgotita sea realice un ciclo repetido a través de un protocolo de temperatura determinado. Otras reacciones pueden requerir un catalizador (sólido), que tendrá que estar en la zona de reacción del procesador microfluídico. Además, las reacciones pueden requerir estimulación por radiación. Aunque la siguiente descripción es, sin limitación, en términos de reacciones a una temperatura determinada, un experto ordinario en términos de la siguiente descripción comprenderá fácilmente cómo proporcionar protocolos de temperatura, catálisis, estimulación por radiación, etcétera.

[0157] Por lo tanto, en la realización preferente de la invención descrita, las reacciones se realizan en una zona calentada de manera controlable de un conducto que puede ser aislado del resto del procesador microfluídico, o en un reservorio calentado de manera controlable dentro del cual una microgotita puede ser movida y aislada. La fig. 10A ilustra la zona de reacción ejemplar 156 (sin ningún catalizador) en el conducto 150, que tiene un calentador controlable, HTR1, y válvulas aislantes, la válvula1 y la válvula2. La zona 156 es una posición estable para una microgotita debido a, por ejemplo, dicho conducto 151 que conduce a un respiradero controlable. (Posiciones estables similares se analizan con respecto a, entre otros, la fig. 1). Alternativamente, una zona hidrófoba situada adecuadamente puede definir esta posición estable.

[0158] Una función de control de reacción se ilustra con respecto a la fig. 10C, que representa la zona de reacción 156 antes de la reacción, a la fig. 10D, que representa la zona de reacción en el transcurso de la reacción, y a la fig. 10E, que representa las etapas de una función de control de reacción. La etapa 157 obtiene parámetros que incluyen la configuración del procesador microfluídico, el perfil de temperatura para la reacción, las identidades de los componentes que forman la zona de reacción y sus conductores y conectores de control. A partir de la configuración obtenida, esta función comprueba que una microgotita que tiene la composición correcta está colocada en la zona de reacción como resultado de las etapas de procesamiento microfluídico anteriores. Si no, esta función sale, quizá con una indicación de error. A continuación, la etapa 158 invoca las funciones de microválvula a nivel de actuador para aislar la zona de reacción 156 cerrando la válvula1 y la válvula2. La etapa 159 realiza el protocolo térmico prescrito. Puesto que ninguna posición de la microgotita se cambia por esta función, la configuración tiene que actualizarse sólo hasta el punto de indicar que se ha realizado una reacción.

[0159] Esta reacción completada puede ser el resultado final del procesamiento microfluídico, en cuyo caso se detecta el contenido de la microgotita resultante, o puede ser una reacción intermedia, en cuyo caso se procesa nuevamente la microgotita resultante.

[0160] A continuación, se describe brevemente la construcción ejemplar de procesadores microfluídicos controlados térmicamente preferentes. Por ejemplo, la fig. 10B ilustra una sección de la fig. 10A a lo largo de la línea 10A-10B que representa la construcción general de tales procesadores desde la placa superior 152, y la placa inferior paralela 155, que está colocada y adherida con un cierre hermético contra la placa superior. Las placas pueden ser de silicio, polímero plástico, vidrio, etcétera. Los conductos, tales como un conducto 150, están mecanizados, grabados, impresos, o definidos de otro modo en un aplaca, aquí la placa superior, mientras que la placa inferior es sustancialmente plana, y tienen paredes tratadas apropiadamente para el tipo de microgotitas que han de ser procesadas. En particular, las zonas de conducto hidrófobas (o hidrófilas) son definidas por tratamientos de conducto antes de la adhesión de la placa. Los componentes y conductores eléctricos, tales como el conductor 154, son depositados preferentemente sobre la placa no grabada sustancialmente plana, y están cubiertos (también, sustentados si es necesario) por la capa aislante 153, que es inerte al contenido de los conductos. Los conductores pueden ser de metal depositado en fase vapor, por ejemplo, aluminio. La capa aislante puede ser una cerámica o un polímero, por ejemplo, dióxido de silicio. Los conductores de luz pueden estar hechos de fibras ópticas conectadas a un procesador después de la adhesión de la placa. Los procedimientos de construcción están adaptados de los bien conocidos en las técnicas litográficas usadas en la fabricación de semiconductores. Véase, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n^{os} 6.048.734, 6.057.149, y 6.130.098.

50 5.3.2.9. FUNCIONES INTEGRADAS DE OPERACIÓN DEL DISPOSITIVO

[0161] Las funciones a nivel de microgotita descritas anteriormente pueden combinarse para crear funciones de control de reacción a nivel de usuario para muchos tipos diferentes de procesadores microfluídicos que realizan muchas reacciones o análisis diferentes. La construcción, o programación, de tales funciones de control según la presente invención se simplifica enormemente porque generalmente sólo tiene que prestarse atención a funciones de nivel microgotita intuitivas, las cuales especifican funciones de laboratorio conocidas por los químicos y los biólogos, tales como medir, mover, mezclar, o reaccionar. Los detalles de los componentes individuales del procesador microfluídico y de su control secuencial están ocultos por la construcción jerárquica de las funciones de control a nivel de control a nivel de componente, a nivel de actuador, y a nivel de microgotita, todas las cuales

funcionan cooperativamente para realizar el control de procesador microfluídico de bajo nivel necesario. Este control jerárquico es posible debido a la naturaleza digital de los procesadores microfluídicos controlados.

5 **[0162]** Estas ventajas se ilustran por una función de control de reacción a nivel de usuario para el procesador microfluídico controlado térmicamente preferente ilustrado en la fig. 1. Este procesador es capaz de realizar, entre otras cosas, un análisis de PCR simple de una muestra midiendo una primera microgotita que contiene la muestra y algunos reactivos de PCR, midiendo una segunda microgotita que contiene reactivos de PCR restantes, mezclando las dos microgotitas, realizando un protocolo de temperatura de PCR en la microgotita mezclada, y detectando los resultados de la reacción.

10

[0163] Con más detalle, la fig. 12 ilustra una función de control de reacción de PCR a nivel de usuario, controlada por órdenes de usuario introducidas en un sistema anfitrión. La etapa 175 inicia la función de control de reacción después de que un usuario introduce una orden en el equipo anfitrión. A continuación, las etapas 177 y 178 obtiene parámetros de entrada, que incluyen datos descriptivos del procesador microfluídico en el que ha de realizarse la reacción. Tal como se describe, estos datos descriptivos pueden ser proporcionados por el propio procesador microfluídico, o el procesador puede proporcionar una clave a una base de datos de tales datos. Esta función identifica los componentes, actuadores, y subconjuntos requeridos por las funciones a nivel de microgotita posteriores, y comprueba preferentemente que este procesador tiene estos recursos correctos en una disposición correcta. En el procesador microfluídico de la fig. 1, estos recursos son comprobados e identificados como medición1, medición2, mezcla1, y reacción/detección1. A continuación, las etapas 177 y 178, usando las funciones a nivel de microgotita de medición parametrizadas por los subconjuntos medición1 y medición2, miden la primera y la segunda microgotitas, incluyendo una muestra para análisis y reactivos de PCR. Ambas etapas de medición esperan (véase, por ejemplo, la fig. 8D) una señal que indica que las partes alícuotas de las cuales son medidas las microgotitas han sido cargadas dentro de procesador. A continuación, la etapa 179 invoca la función a nivel de microgotita de mezcla parametrizada por el subconjunto mezcla1 para mezclar las microgotitas medidas. Puesto que la microgotita mezclada ahora está situada en la zona de reacción del subconjunto de reacción/detección1, la etapa 180 realiza la reacción invocando la función a nivel de microgotita realizar reacción. Por último, la etapa 181 analiza ópticamente los resultados de la reacción invocando la función a nivel de actuador de detección de resultados de la reacción. Tras la terminación de la reacción, la etapa 182 devuelve los resultados de la reacción y una señal de terminación al sistema anfitrión. A lo largo de toda la operación de esta función, la monitorización o control asíncrono de anfitrión 183 puede estar en curso, por ejemplo, monitorizando los datos de configuración del procesador microfluídico a medida que son actualizados por las diversas funciones invocadas.

35 **[0164]** Por lo tanto, esta reacción de PCR ejemplar puede especificarse enteramente en términos de funciones de microgotita de alto nivel. Las operaciones detalladas de varios componentes individuales que deben ser coordinadas para realizar esta función generalmente son encapsuladas por las funciones de microgotita en las cuales se expresa el control de reacción.

40 **[0165]** En una realización alternativa, la función de control de reacción, después de obtener la descripción del procesador microfluídico, determina ella misma qué componentes del procesador usar para realizar la reacción pretendida. Si tienen que moverse microgotitas entre componentes que no están conectados directamente, la función de control puede insertar las invocaciones de función de movimiento de microgotitas necesarias. Esta determinación es análoga a la distribución y cableado de una descripción de hardware expresada en lenguaje de descripción de hardware de alto nivel (tal como VHDL) en un chip semiconductor, y puede realizarse por procedimientos similares. Alternativas adicionales evidentes para un experto en la materia también están incluidas en esta invención.

5.3.2.10. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

50 **[0166]** Los sistemas y procedimientos de control de la presente invención se aplican ventajosamente para controlar procesadores microfluídicos para realizar análisis predeterminados de muestras biológicas y médicas. 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.

55 **[0167]** Por consiguiente, la fig. 13 ilustra la preparación de tales muestras para análisis. En primer lugar, se obtiene un 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, mediante biopsia o espécimen quirúrgico. A continuación se prepara una muestra a partir del espécimen. Esto puede incluir las etapas de purificar el espécimen de material extraño (retirar las células cuando ha de analizarse material extracelular), lisar las células (cuando han

de analizarse materiales intracelulares), separar el tipo de material que ha de ser analizado de otros tipos (por ejemplo, ácidos nucleicos de proteínas). Por último, la muestra preparada es cargada dentro de un procesador microfluídico para su análisis mediante los sistemas y procedimientos de esta invención.

- 5 **[0168]** El alcance de la invención descrita y reivindicada en este documento no ha de estar limitado por las realizaciones preferentes de la invención descritas en este documento, ya que estas realizaciones tienen la intención de ser ilustraciones de varios aspectos de la invención. Cualquier realización equivalente tiene la intención de estar dentro del alcance de esta invención. Efectivamente, diversas modificaciones de la invención además de las mostradas y descritas en este documento resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir de la descripción anterior. Tales modificaciones también tienen la intención de entrar dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.
- 10

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para realizar una reacción química en un dispositivo microfluídico de tipo digital, dispositivo microfluídico que es adecuado para mantener y manipular reactivos fluidos como microgotitas separadas
5 y distinguibles, (i) donde el dispositivo microfluídico comprende uno o más conductos para confinar una o más microgotitas, teniendo los conductos una o más posiciones estables para las microgotitas, siendo las posiciones estables posiciones predefinidas a las cuales una microgotita puede ser movida y puede residir de manera estable, y (ii) comprende uno o más componentes internos que responden a señales de control, los componentes internos asociados operativamente con los conductos para controlar y monitorizar el dispositivo microfluídico, comprendiendo
10 el procedimiento:
- (a) proporcionar uno o más reactivos fluidos, donde los reactivos fluidos comprenden los reactantes necesarios para la reacción,
(b) crear una microgotita final que comprende los reactantes necesarios para la reacción a partir de los reactivos
15 fluidos introduciendo los reactivos dentro del dispositivo microfluídico, proporcionar señales de control para medir una microgotita a partir de los reactivos introducidos y colocar la microgotita final en una posición estable,
(c) determinar, utilizando al menos un componente interno, una presencia o ausencia de la microgotita final, y
(d) después de la etapa de determinación, hacer reaccionar la microgotita final.
- 20 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 donde la etapa de reacción comprende además esperar un tiempo suficiente para la aparición de la reacción.
3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 donde la etapa de reacción comprende además excitar la microgotita final proporcionando señales de control al dispositivo microfluídico, donde la excitación es
25 suficiente para causar la aparición de la reacción.
4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3 donde la etapa de excitación comprende calentar térmicamente o irradiar ópticamente la microgotita.
- 30 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende además una etapa de detección de la composición de la microgotita tras la reacción proporcionando señales de control al dispositivo microfluídico.
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 donde la etapa de reacción comprende realizar un análisis de una muestra.
35
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 donde la etapa de creación comprende además:
- (a) proporcionar una solicitud de procesamiento de microgotita, donde una solicitud de procesamiento de microgotita específica la realización de al menos una acción sobre al menos una microgotita, comprendiendo las solicitudes:
40 (i) crear una o más nuevas microgotitas en posiciones estables seleccionadas, o
(ii) mover una o más microgotitas de posiciones estables actuales a siguientes posiciones estables seleccionadas, o
(iii) combinar dos o más microgotitas en una o más nuevas microgotitas en posiciones estables seleccionadas, o
45 (iv) mezclar una o más microgotitas, y
- (b) generar señales de control para cada solicitud de procesamiento de microgotita, las cuales son proporcionadas al dispositivo microfluídico, donde las señales de control son generadas en un patrón y una secuencia que responden a cada solicitud de procesamiento de microgotita de modo que los componentes internos del dispositivo microfluídico
50 que responden a las señales de control funcionan juntos para realizar el procesamiento de microgotita solicitado en el dispositivo microfluídico.
8. El procedimiento de la reivindicación 7 que comprende además:
- 55 (a) antes de la etapa de proporcionar una solicitud de procesamiento de microgotita, proporcionar un programa de procesamiento de microgotita, donde un programa de procesamiento de microgotita comprende una o más solicitudes de procesamiento de microgotita, y donde la etapa de proporcionar una solicitud de procesamiento de microgotita comprende además seleccionar una solicitud indicada del programa provisto, y
(b) repetir las etapas de proporcionar una solicitud y generar señales con cada solicitud de procesamiento de

microgotita hasta que el programa provisto indica que no se dispone de más solicitudes para su selección.

9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7 donde cada solicitud de procesamiento de microgotita provista comprende además una o más solicitudes de procesamiento de actuador,
5 donde una solicitud de procesamiento de actuador especifica la realización de al menos una acción asociada físicamente con al menos un conducto del dispositivo microfluídico,
donde el patrón y la secuencia generados de señales de control que responden a una solicitud de procesamiento de microgotita comprenden además subpatrones y subsecuencias que responden a cada solicitud de procesamiento de actuador de la solicitud de procesamiento de microgotita, y
10 donde el subpatrón y la subsecuencia de señales de control que responden a cada solicitud de procesamiento de actuador hacen que los componentes internos receptivos del dispositivo microfluídico funcionen juntos para realizar la acción solicitada.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9 donde las solicitudes de procesamiento de
15 actuador comprenden:
- (i) abrir o cerrar un conducto controlado seleccionado mediante componentes internos que actúan como una válvula controlable,
 - (ii) proporcionar presión de gas controlable en un conducto seleccionado mediante componentes internos que actúan como generador de presión,
20
 - (iii) detectar la presencia o ausencia de una microgotita en una posición seleccionada en un conducto seleccionado mediante componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita,
 - (iv) detectar la composición de una microgotita en una posición seleccionada en un conducto seleccionado mediante componentes internos que actúan como un sensor de presencia de microgotita.
25
11. Un medio legible por ordenador que comprende un programa informático que incluye código para ejecución en un sistema de adquisición de datos para hacer que el sistema de adquisición de datos realice el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1.

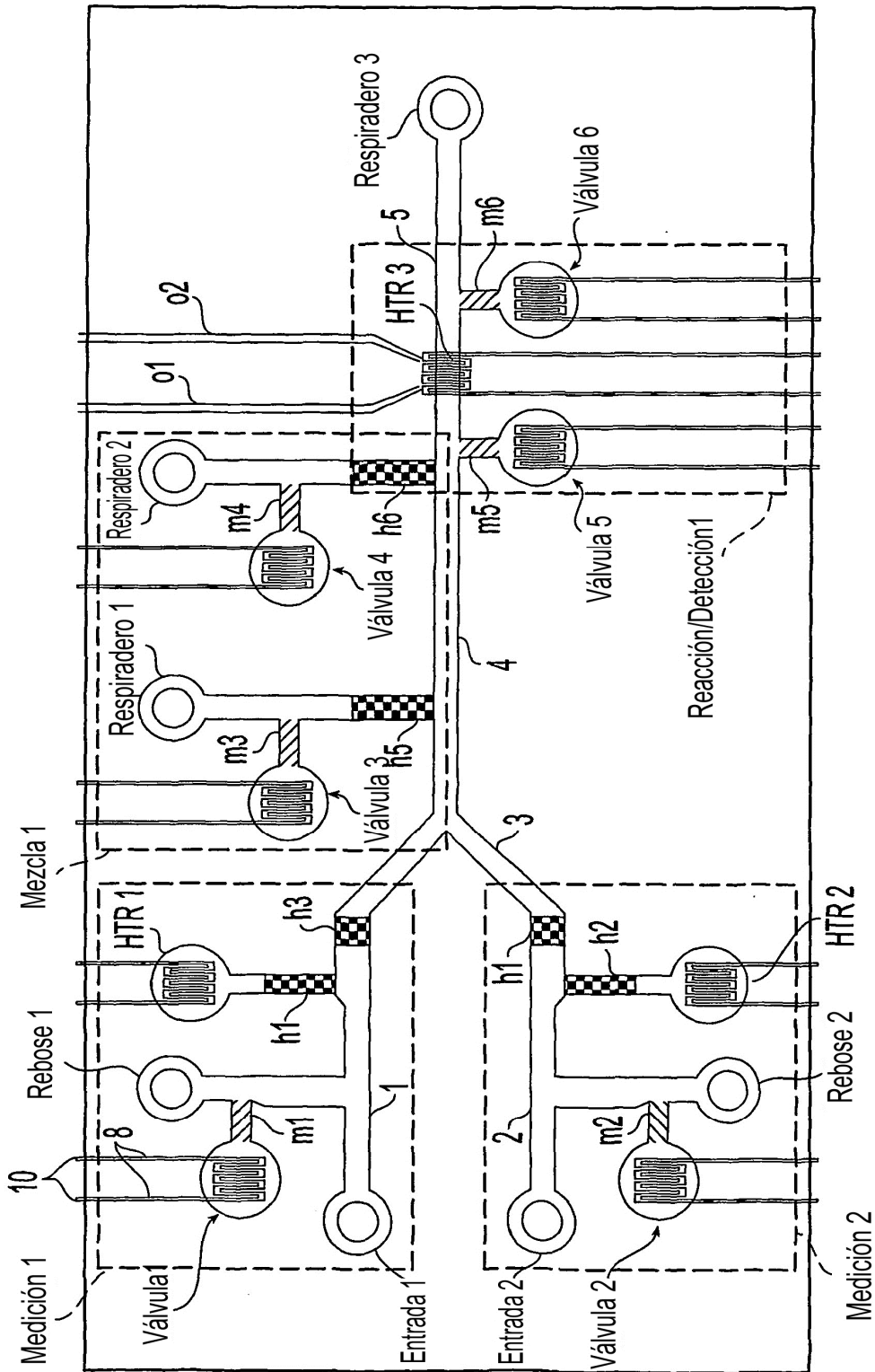


Fig. 1

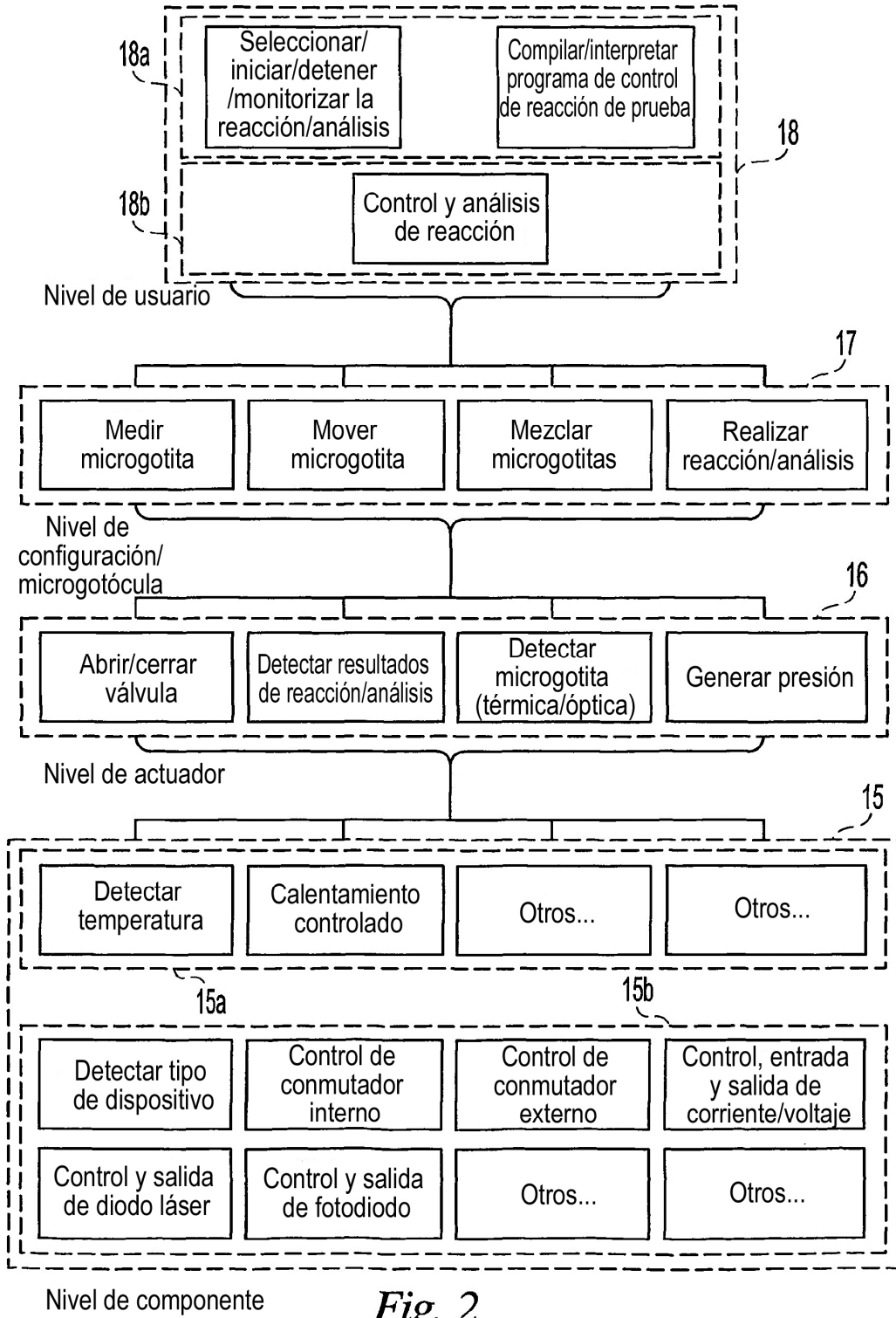


Fig. 2

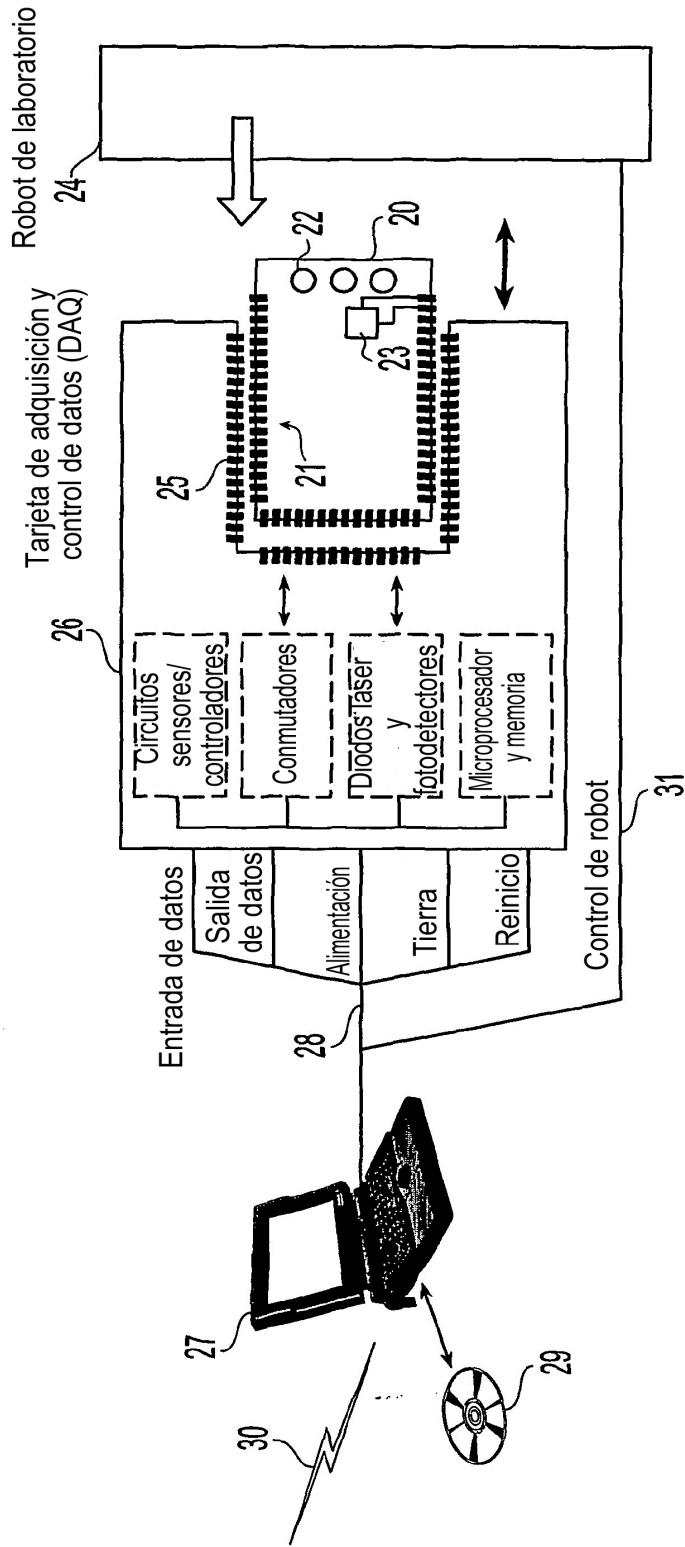


Fig. 3A

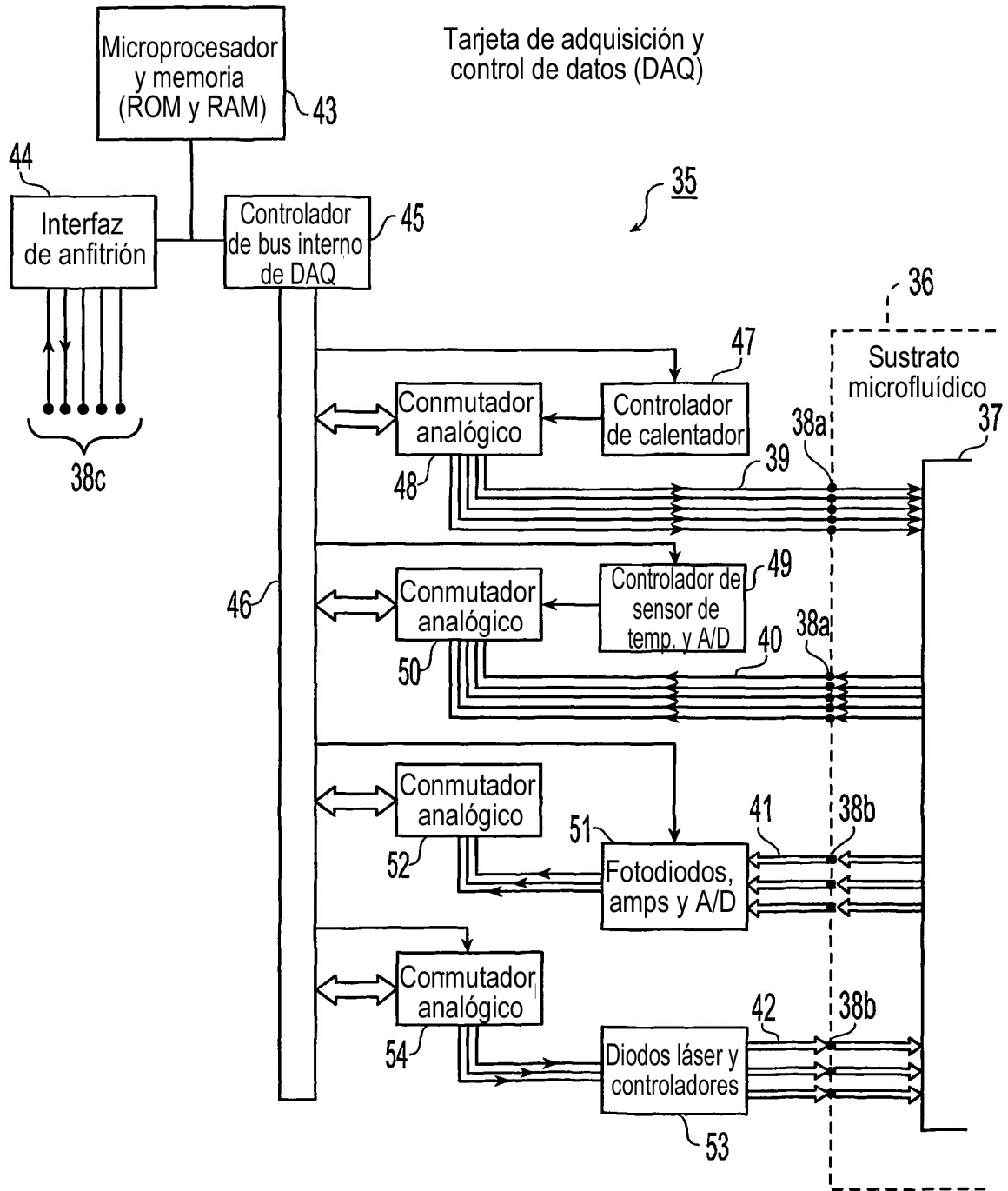


Fig. 3B

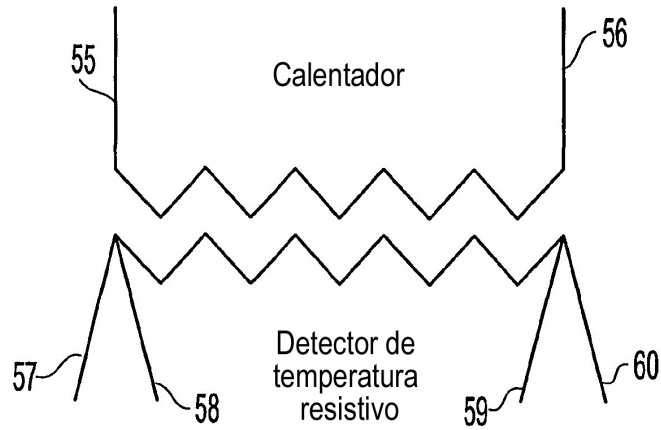


Fig. 4A

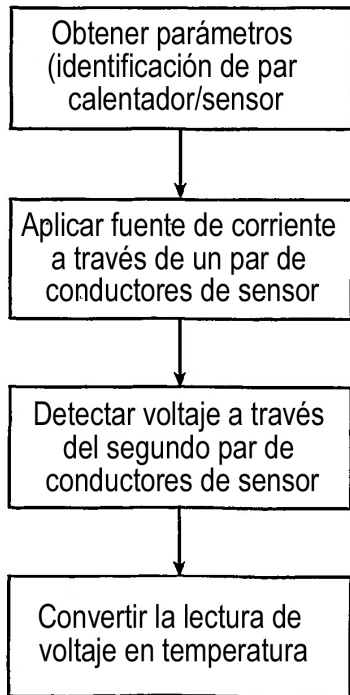


Fig. 4B

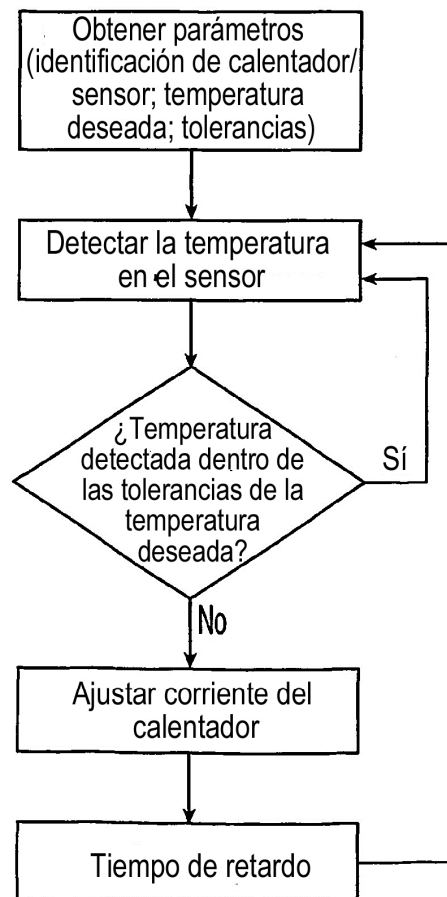


Fig. 4C

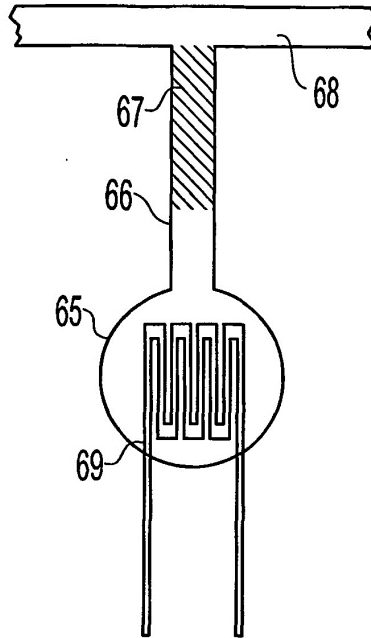


Fig. 5A

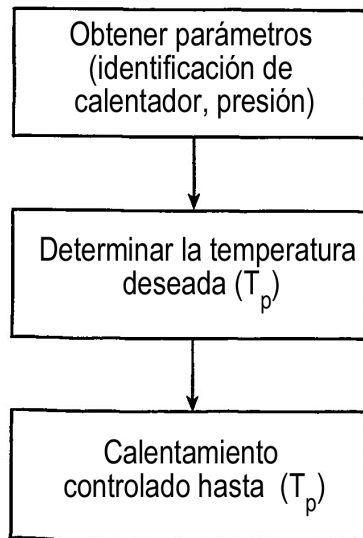


Fig. 5B

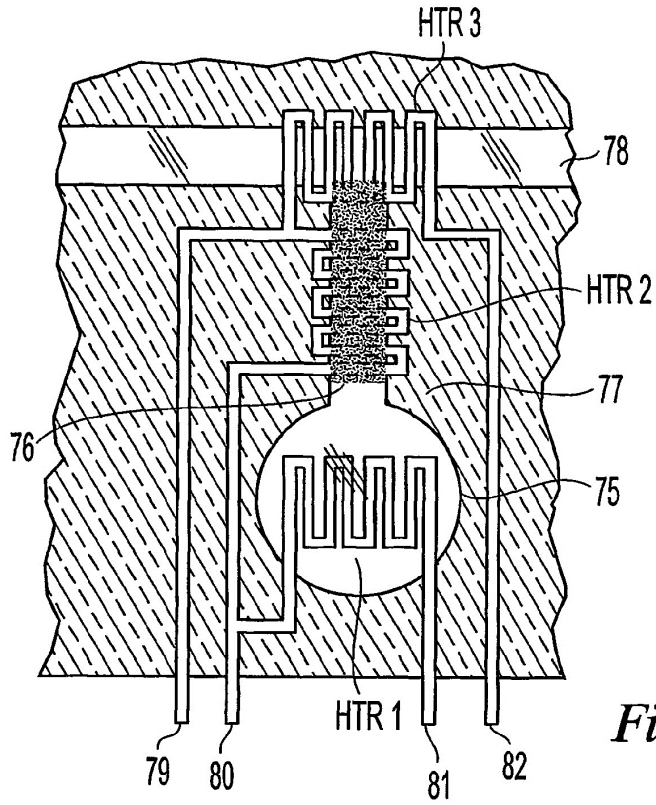


Fig. 6A

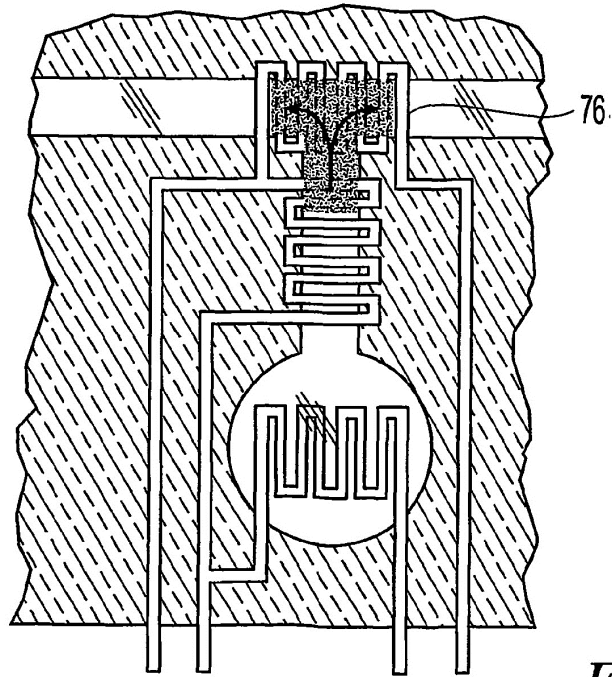


Fig. 6B

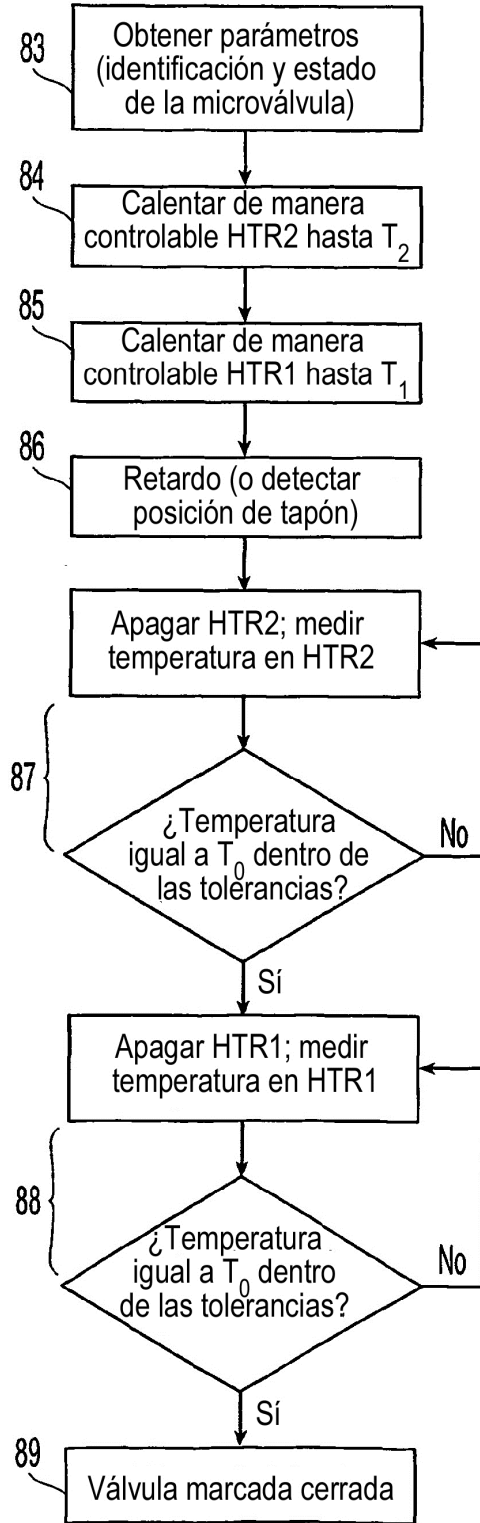


Fig. 6C

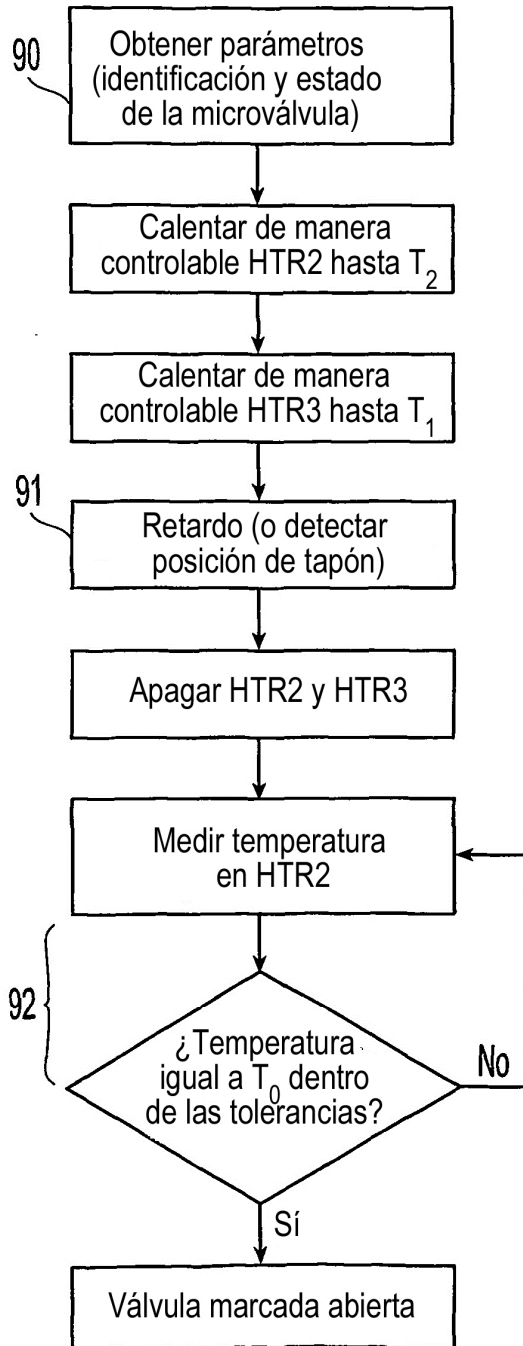


Fig. 6D

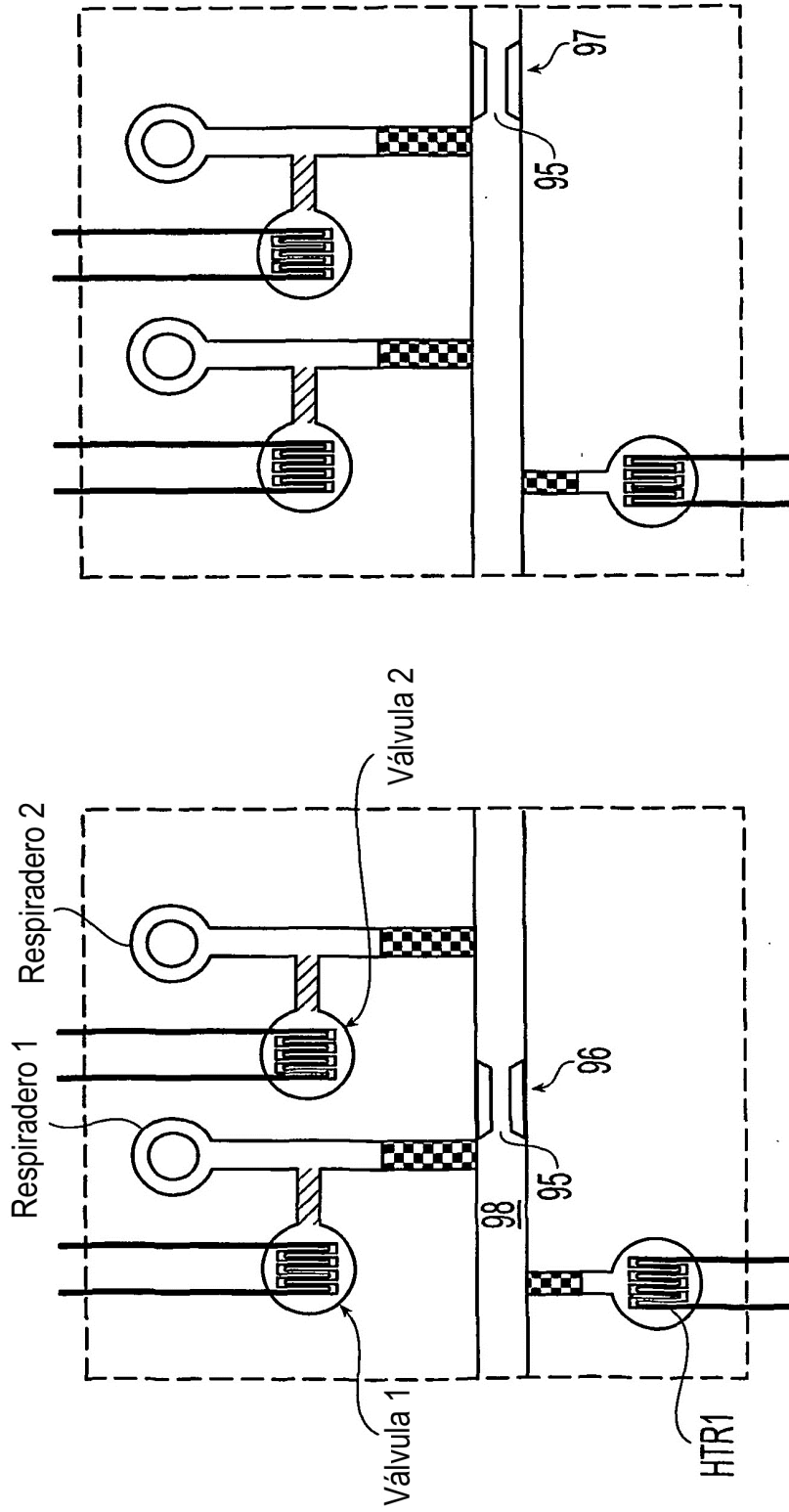


Fig. 7B

Fig. 7A

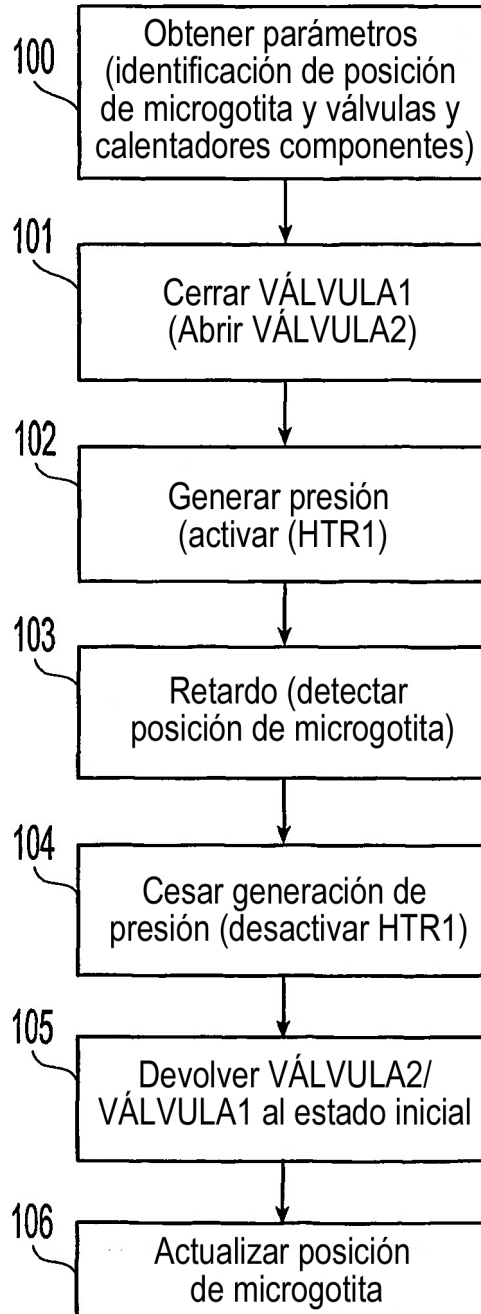
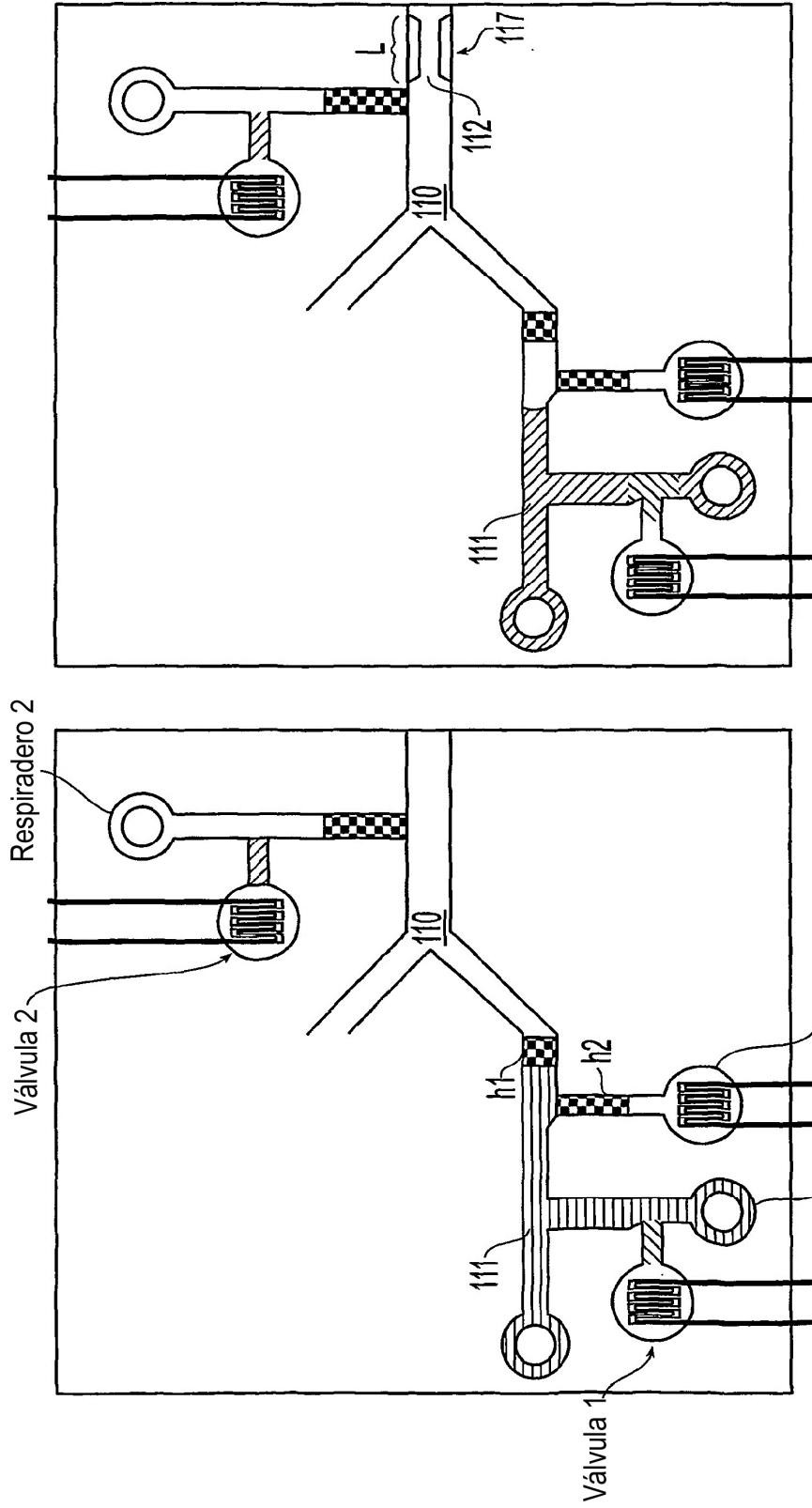


Fig. 7C



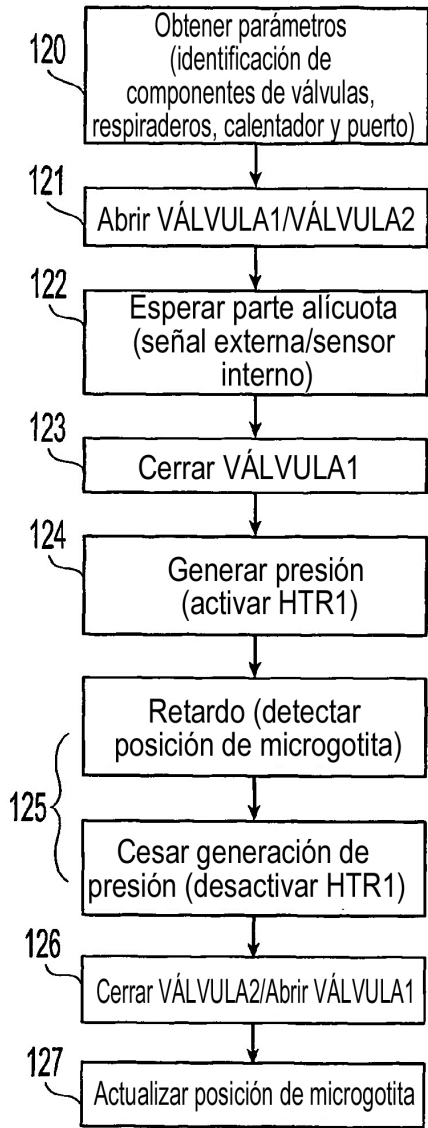


Fig. 8D

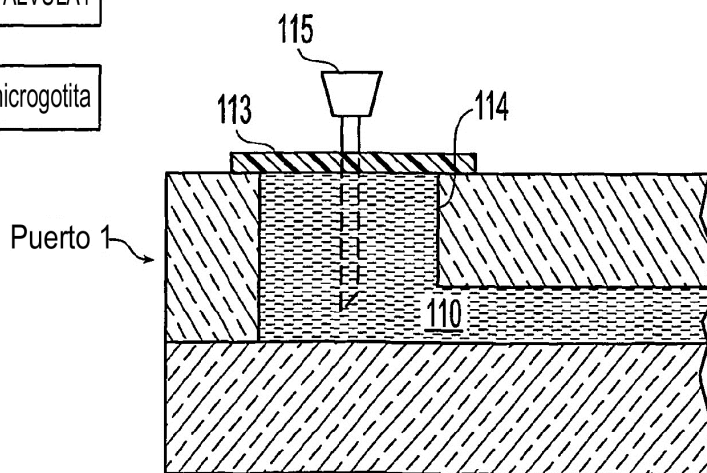


Fig. 8C

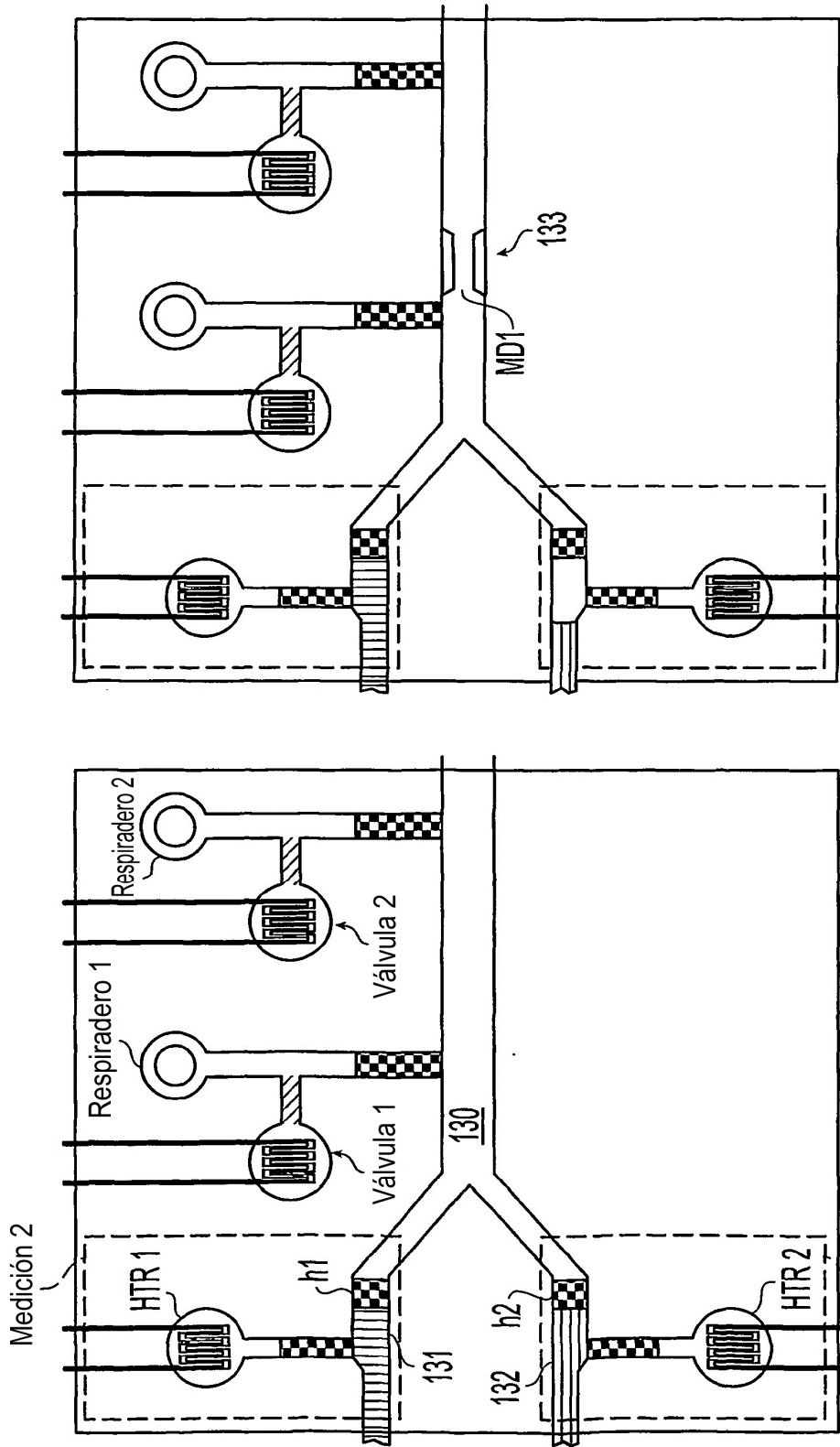


Fig. 9B

Fig. 9A

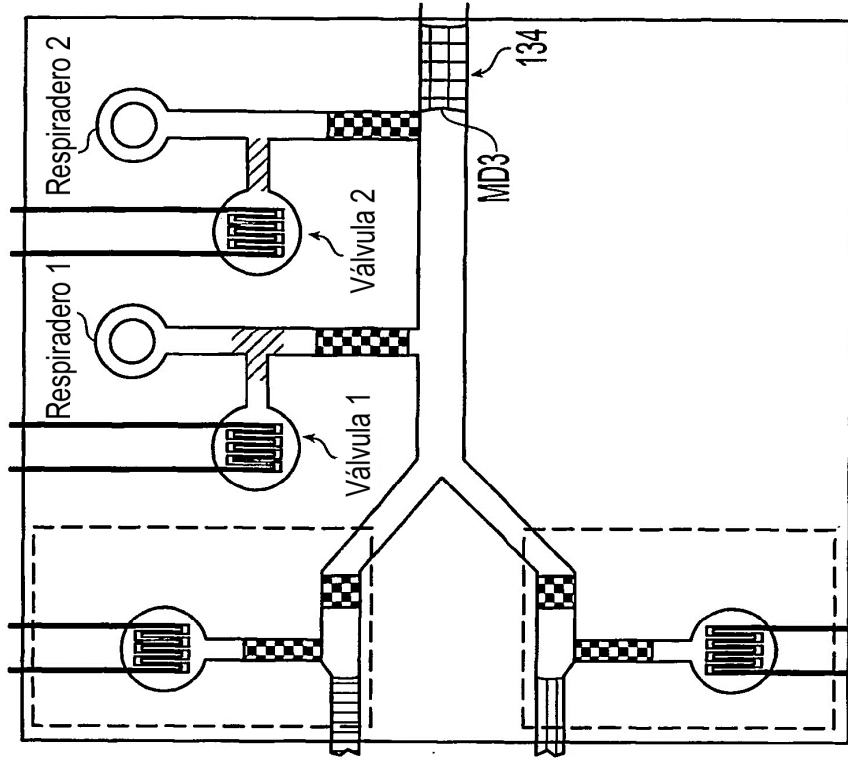


Fig. 9D

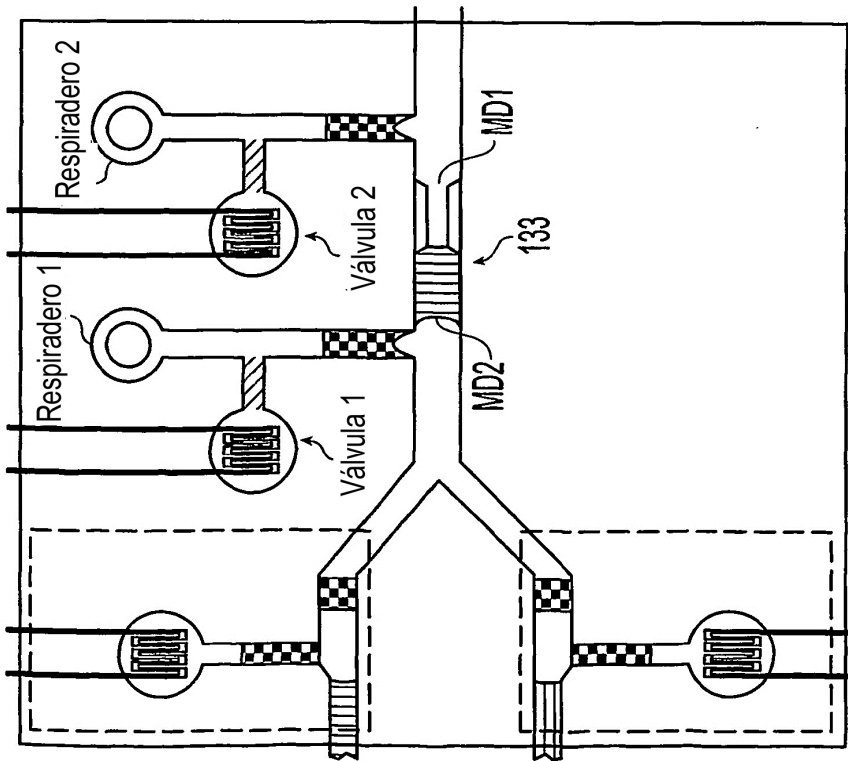


Fig. 9C

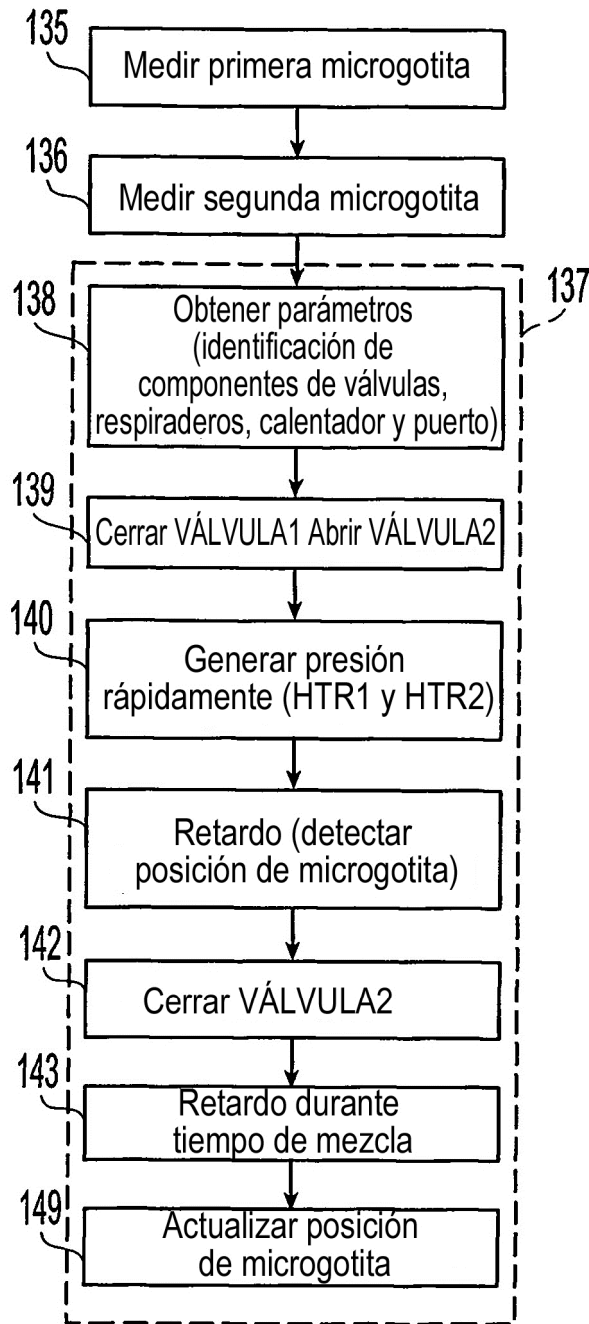


Fig. 9E

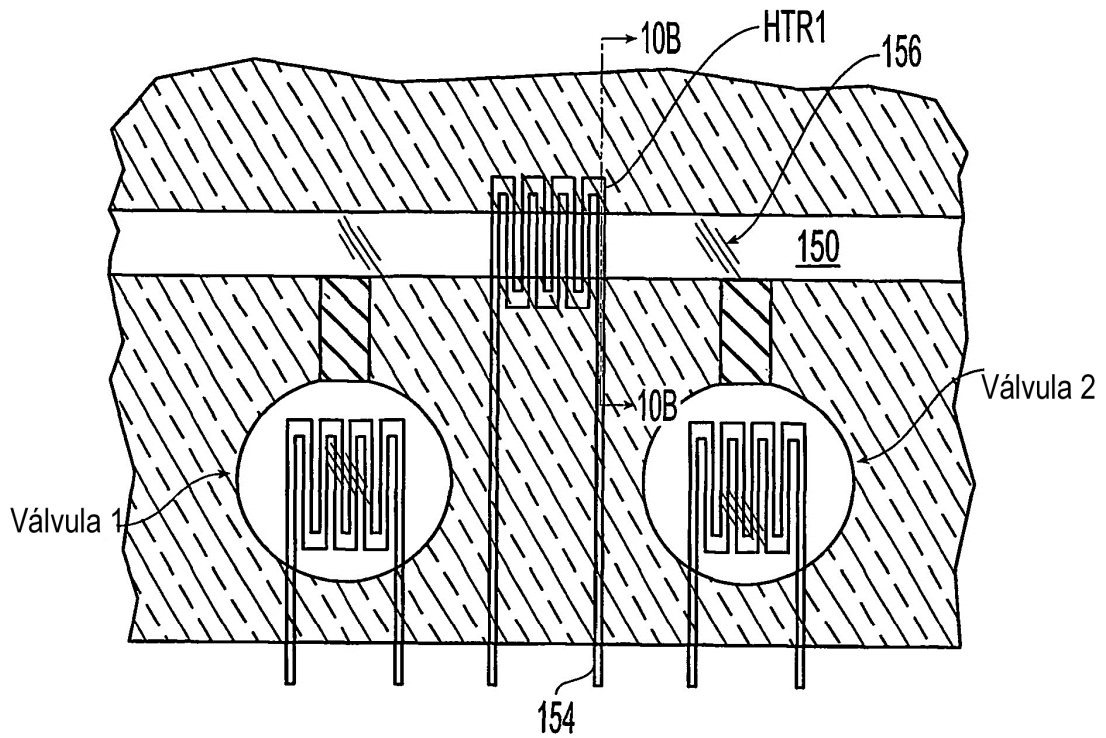


Fig. 10A

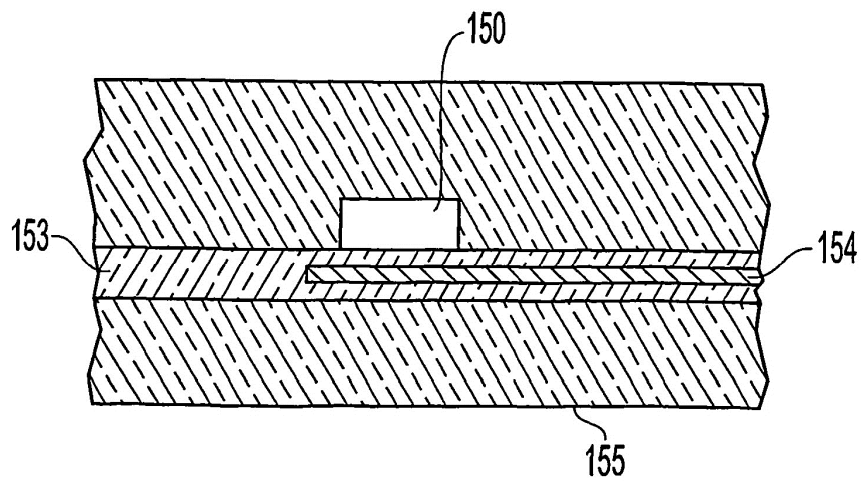


Fig. 10B

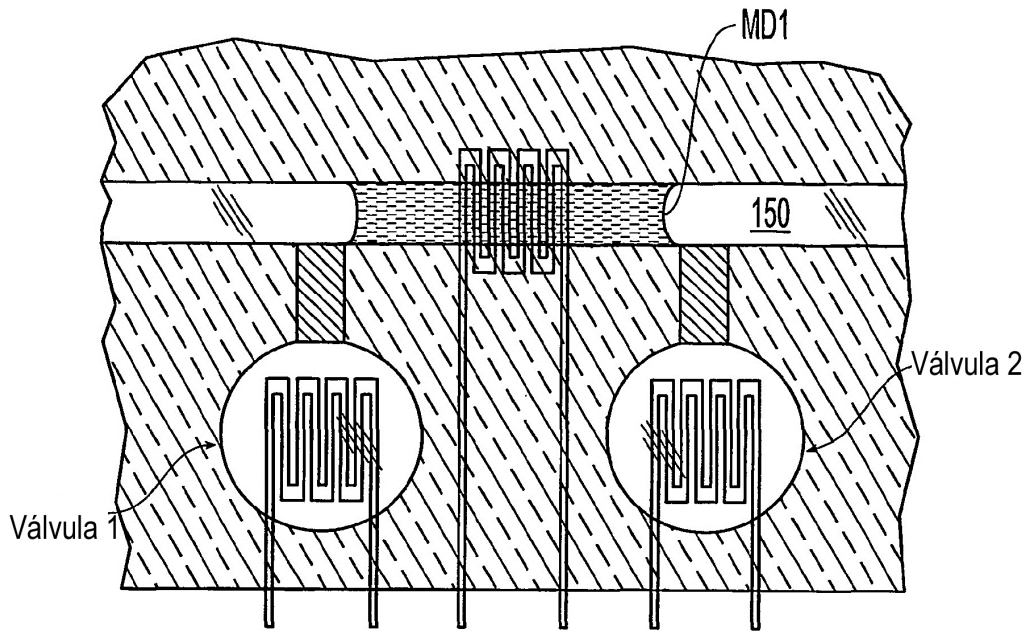


Fig. 10C

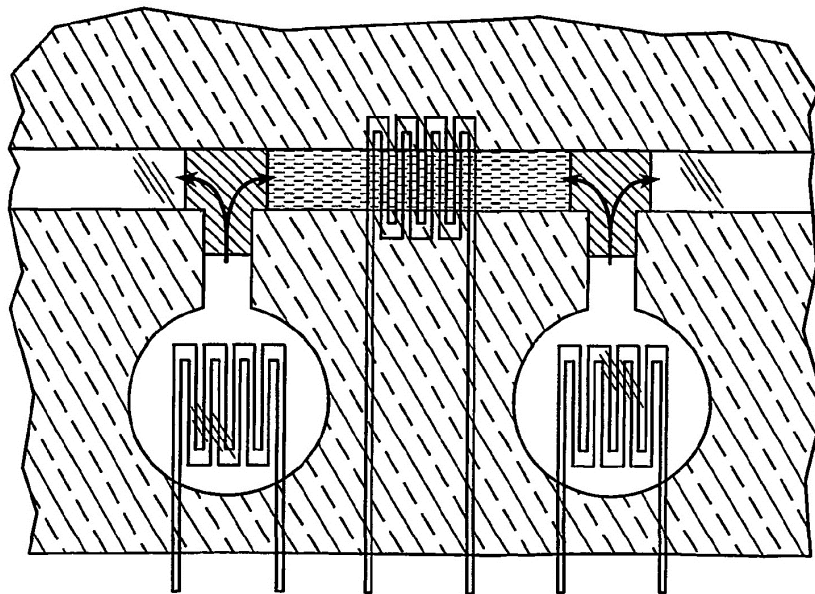


Fig. 10D

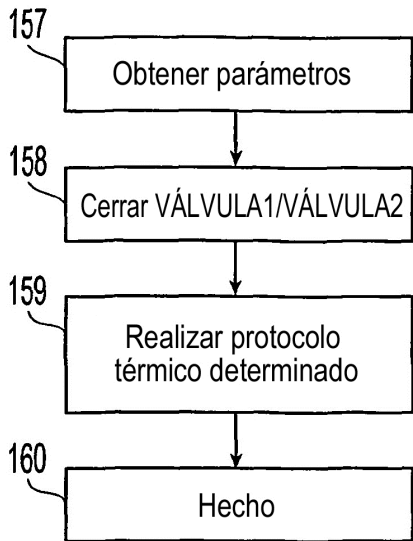


Fig. 10E

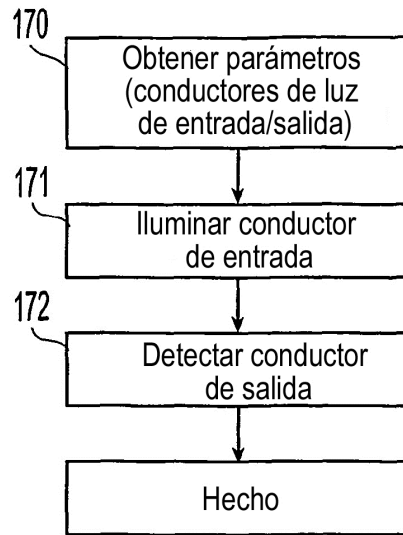


Fig. 11B

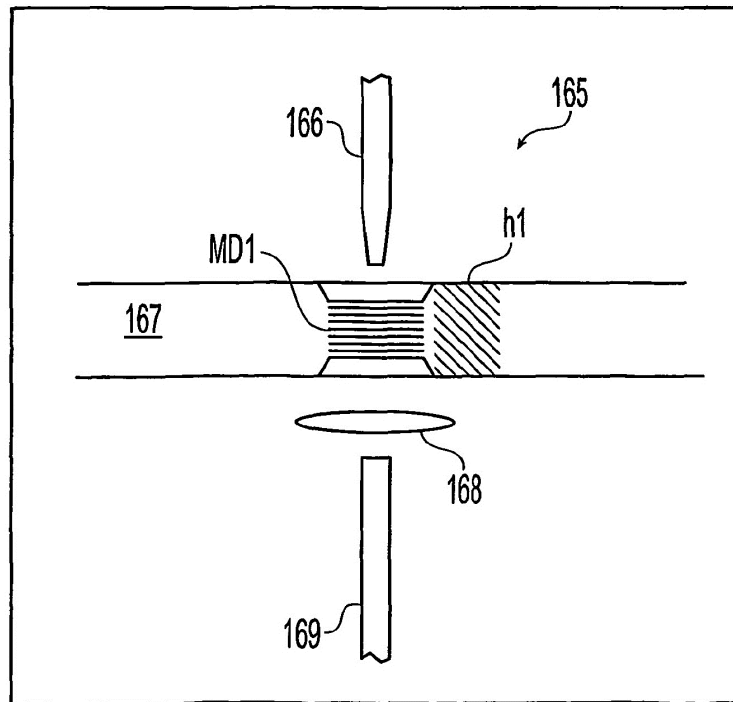


Fig. 11A

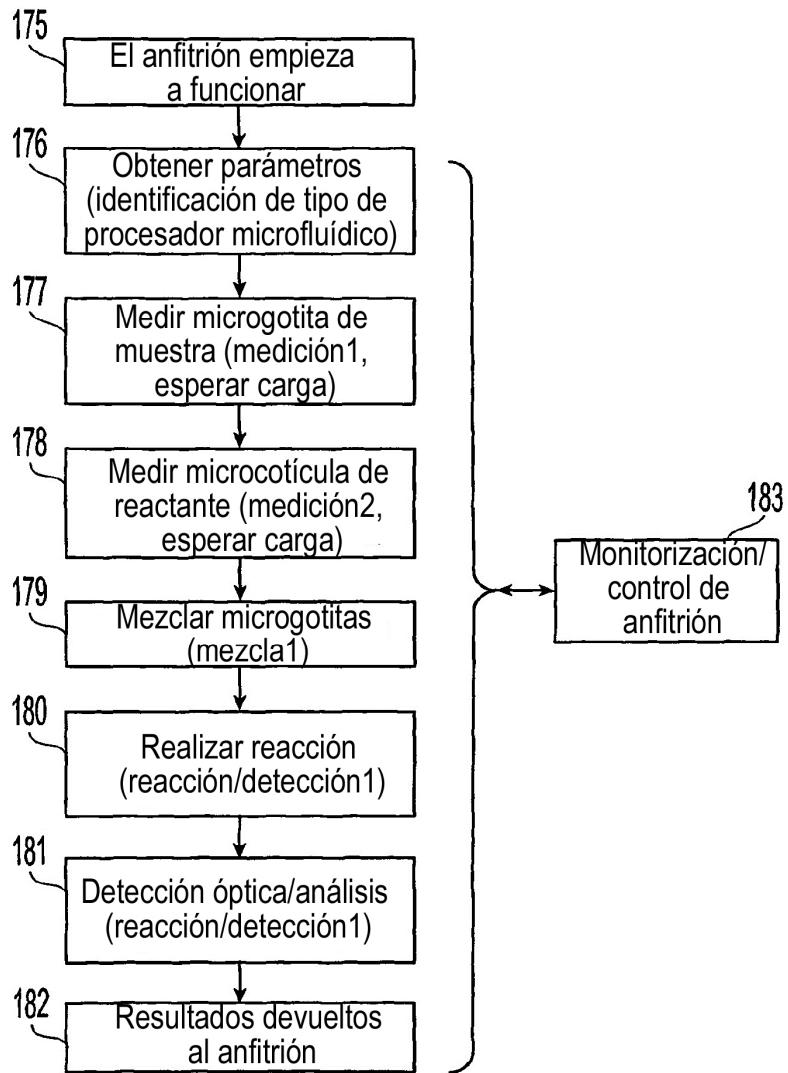


Fig. 12

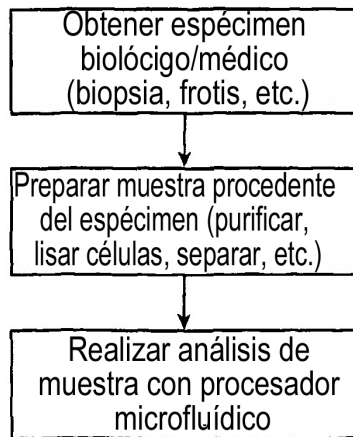


Fig. 13