MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	**102009901713664**
Data Deposito	**17/03/2009**
Data Pubblicazione	**17/09/2010**

Classifiche IPC

Titolo

APPARATO PER L'ISOLAMENTO DI PARTICELLE

DESCRIZIONE

del brevetto per Invenzione Industriale dal titolo:

"APPARATO PER L'ISOLAMENTO DI PARTICELLE"

di SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.

di nazionalità italiana,

con sede : VIA DEI LAPIDARI 12

BOLOGNA (BO)

Inventori: MEDORO Gianni, PEROZZIELLO Gerardo, CALANCA Alex, SIMONE Giuseppina, MANARESI Nicolò

****

La presente invenzione è relativa ad un sistema microfluidico, ad un apparato per l'isolamento di particelle, ad un dispositivo microfluidico e ad un metodo per l'isolamento di particelle.

È noto un dispositivo per l'isolamento di particelle di un tipo determinato comprendente una camera principale, in cui un operatore inserisce tramite pipetta ed attraverso un foro della camera principale un campione, ed una camera di recupero, da cui l'operatore preleva sempre tramite pipetta ed attraverso un foro della camera di recupero le particelle del tipo determinato. Spesso, in uso, la separazione tra le particelle del tipo determinato ed il resto del campione dalla camera principale alla camera di recupero viene effettuata mediante dielettroforesi.

I dispositivi noti presentano diversi problemi di

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

precisione durante le fasi di separazione, inserimento, e recupero. Inoltre, i risultati non sono sempre riproducibili, a volte si verificano contaminazione del campione durante le diverse fasi, ed è spesso necessario l'intervento di operatori con elevate capacità manuali.

Scopo della presente invenzione è quello di fornire un sistema microfluidico, un apparato per l'isolamento di particelle, un dispositivo microfluidico ed un metodo per l'isolamento di particelle, i quali permettano di superare, almeno parzialmente, gli inconvenienti dello stato dell'arte e siano, nel contempo, di facile ed economica realizzazione.

Secondo la presente invenzione, viene fornito un sistema microfluidico secondo quanto licitato nelle rivendicazioni indipendenti che seguono e, preferibilmente, in una qualsiasi delle rivendicazioni dipendenti direttamente od indirettamente dalle rivendicazioni indipendenti.

A meno che non sia esplicitamente differentemente specificato, nel presente testo i seguenti termini presentano il significato indicato qui sotto.

Per diametro equivalente di una sezione si intende il diametro di un cerchio presentante la medesima area della sezione.

Per sezione di un canale o di un condotto si intende

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

la sezione sostanzialmente perpendicolare all'estensione longitudinale del canale (o condotto) ovvero alla direzione di avanzamento del fluido nel canale (o condotto).

Per diametro equivalente di un foro si intende il diametro di un cerchio presentante la medesima area della sezione trasversale di minori dimensioni del foro stesso.

Per sistema (o dispositivo) microfluidico si intende un sistema (o dispositivo) comprendente almeno un canale (o condotto) microfluidico.

Per canale (o condotto) microfluidico si intende un canale (o condotto) presentante una sezione con diametro equivalente inferiore a 1 mm.

Le dimensioni dei canali o condotti possono essere misurate in modo standard con dei profilometri.

Nel presente testo, per particella si intende un corpuscolo presentante la dimensione maggiore inferiore a 500 μm (vantaggiosamente inferiore a 150 μm). Esempi non limitativi di particelle sono: cellule, detriti cellulari (in particolare, frammenti cellulari), aggregati cellulari (quali per es. piccoli cluster di cellule derivanti da cellule staminali come neurosfere o mammosfere) batteri, liposfere, microsfere (in polistirene e/o magnetiche), nanosfere (per es. nanosfere fino a 100 nm) complessi formati da microsfere legate a cellule. Vantaggiosamente, le particelle sono cellule.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Secondo alcune forme di attuazione, le particelle (vantaggiosamente cellule e/o detriti cellulari) presentano la dimensione maggiore inferiore a 60 μm.

Le dimensioni delle particelle possono essere misurate in modo standard con dei microscopi con scala graduata o microscopi normali utilizzati con vetrini (sui quali vengono depositate le particelle) a scala graduata.

Nel presente testo, per dimensioni di una particella si intende la lunghezza, la larghezza e lo spessore della particella.

Il termine "sostanzialmente selettivo" viene utilizzato per identificare uno spostamento (o altri termini analoghi indicanti un movimento e/o una separazione) di particelle, in cui le particelle che vengono spostate e/o separate sono particelle in gran maggioranza di uno o più tipi determinati. Vantaggiosamente, uno spostamento (o altri termini analoghi indicanti un movimento e/o una separazione) sostanzialmente selettivo prevede di spostare particelle con almeno il 90% (vantaggiosamente il 95%) di particelle del o dei tipi determinati (percentuale data dal numero di particelle del/i tipo/i determinato/i rispetto al numero di particelle complessive).

L'invenzione viene di seguito descritta con riferimento ai disegni annessi, che ne illustrano alcuni

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

esempi d'attuazione non limitativi, in cui:

- la figura 1 illustra in modo schematico un sistema realizzato in accordo con la presente invenzione;
- la figura 2 illustra in modo schematico un'alternativa forma di attuazione di un sistema realizzato in accordo con la presente invenzione;
- la figura 3 è una vista laterale e schematica del sistema della figura 1;
- la figura 4 è una vista prospettica di un esploso di un dispositivo realizzato in accordo con la presente invenzione;
- la figura 5 è una vista dall'alto di un componente del dispositivo della figura 4;
- la figura 6 è una vista dal basso del componente della figura 5;
- la figura 7 è una vista prospettica di componenti del dispositivo della figura 4;
- la figura 8 è una vista prospettica di un esploso di un componente del dispositivo della figura 4;
- la figura 9 è una vista dall'alto del componente della figura 8;
- la figura 10 è una vista prospettica parziale con particolari asportati per chiarezza di un apparato realizzato in accordo con la presente invenzione;
- la figura 11 è una vista prospettica parziale con

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

particolari asportati per chiarezza dell'apparato della figura 10 in una differente posizione operativa;

- la figura 12 è una vista prospettica dal basso di un particolare dell'apparato delle figure 10 e 11;
- la figura 13 è una vista dall'alto di una parte dell'apparato delle figure 10 e 11 con particolari asportati per chiarezza;
- le figure 14 e 15 illustrano in sezione parziale un particolare dei sistemi delle figure da 1 a 3 in due differenti posizioni operative;
- la figura 16 illustra in sezione parziale un particolare dei sistemi delle figure da 1 a 3;
- la figura 17 è una vista prospettica di una parte del particolare delle figure 14 e 15;
- la figura 18 è un esploso prospettico del particolare della figura 17;
- le figure 19 e 20 illustrano un particolare del dispositivo della figura 4 in diverse fasi operative;
- la figura 21 è una vista dall'alto di un dispositivo della figura 4;
- la figura 22 illustra fotografie di prove effettuate con il sistema della figura 1;
- la figura 23 illustra in scala ingrandita una forma d'attuazione di un particolare delle figure 1 e 2;
- la figura 24 è una vista prospettica di una

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

variante della parte illustrata dalla figura 17;

- la figura 25 è un esploso prospettico della variante della figura 24;

- la figura 26 è una sezione laterale della variante della figura 24;

- le figure 27 e 28 illustrano un particolare del dispositivo della figura 31 in diverse fasi operative;

- la figura 29 è una vista prospettica di un esploso di un componente del dispositivo della figura 31;

- la figura 30 è una vista dall'alto del componente della figura 29;

- la figura 31 è una vista dall'alto di un dispositivo realizzato in accordo con la presente invenzione;

- la figura 32 è una vista dal basso di variante del componente della figura 6 ed, in particolare, un componente del dispositivo della figura 31; e

- la figura 33 illustra in scala ingrandita un particolare della figura 32.

Sistema microfluidico

Secondo un primo aspetto della presente invenzione viene fornito un sistema 1 microfluidico per il sostanziale isolamento di particelle C1 (schematicamente illustrate nella figura 20) di almeno un tipo determinato da un campione. Il sistema 1 (figura 1) comprende un ingresso 2, attraverso il quale, in uso, il campione viene inserito nel

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

sistema 1; un'unità di separazione 3, la quale è atta a separare in modo sostanzialmente selettivo almeno una parte delle particelle C1 del tipo determinato da ulteriori particelle C2 del campione (schematicamente illustrate nella figura 20); ed un'uscita 8, la quale è collegata all'unità di separazione 3 e attraverso la quale, in uso, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato separate in modo sostanzialmente selettivo escono dal sistema 1.

Secondo alcune forme d'attuazione, il sistema 1 comprende una valvola 9 disposta tra l'ingresso 2 e l'unità di separazione 3; ed una valvola 12 disposta tra l'uscita 8 e l'unità di separazione 3. In particolare, il sistema 1 comprende una valvola disposta tra l'unità di separazione 3 e ciascuna apertura del sistema 1 verso l'esterno.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'unità di separazione 3 comprende una camera 4 principale ed una camera 5 di recupero ed è atta a trasferire almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato dalla camera 4 principale alla camera 5 di recupero in modo sostanzialmente selettivo rispetto alle ulteriori particelle C2 del campione.

L'unità di separazione 3 comprende, inoltre, un canale 5, il quale collega (vale dire permette il passaggio di fluido tra) le camere 4 e 5 e presenta dimensioni (in

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

particolare, larghezza e lunghezza) molto inferiori ad entrambe le camere 4 e 5 stesse.

Il sistema 1 è dotato di una uscita 7 collegata alla camera 4 principale per permettere al campione di entrare liberamente all'interno della camera 4 principale fungendo da sfiato; e l'uscita 8, la quale è collegata alla camera 5 di recupero e attraverso la quale, in uso, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato raccolte nella camera 5 di recupero escono dal sistema 1.

Il sistema 1 comprende, inoltre, la valvola 9 disposta a monte della camera 4 principale; una valvola 10 disposta tra la camera 4 principale e l'uscita 7; una valvola 11 disposta a monte della camera 5 di recupero; e la valvola 12 disposta tra la camera 5 di recupero e l'uscita 8.

Le valvole 9 e 10 sono atte a regolare l'afflusso del campione alla camera 4 principale.

Le valvole 11 e 12 atte a regolare l'afflusso di un liquido di trasporto (carrier liquid) alla camera 5 di recupero ed il deflusso del liquido di trasporto assieme alle particelle C1 del tipo determinato dalla camera 5 di recupero attraverso l'uscita 8.

Se, in uso, le valvole 9 e 12 vengono chiuse e le valvole 11 e 10 vengono aperte, viene effettuato un lavaggio della camera 4 principale; in altre parole, le ulteriori particelle C2 del campione vengono scaricate

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

(vale a dire fatte defluire) dalla camera 4 principale.

Secondo specifiche forme d'attuazione il liquido di trasporto è una soluzione tampone, in particolare PBS (Phosphate Buffer Saline).

Secondo la forma d'attuazione illustrata nella figura 1, il sistema 1 comprende un serbatoio 13 (reservoir), il quale è disposto tra l'ingresso 2 e la valvola 9 ed è atto a raccogliere il campione inserito attraverso l'ingresso 1 stesso; ed un serbatoio 14 per contenere il liquido di trasporto, che è atto a riempire la camera 5 di recupero. Il sistema 1 comprende, inoltre, un serbatoio 7' il quale è disposto in corrispondenza dell'uscita 7 ed è atto a raccogliere i fluidi provenienti dalla camera 4 principale.

La valvola 9 è disposta tra l'ingresso 2 e la camera 4 principale, in particolare tra il serbatoio 13 e la camera 4 principale, ed è atta a collegare o isolare l'ingresso 2 e la camera 4 principale uno rispetto all'altra.

Vantaggiosamente, il sistema 1 comprende, inoltre, una sorgente di pressione 15 per imporre una pressione dal serbatoio 13 verso la camera 5 principale in una direzione di alimentazione della pressione determinata. In particolare, il serbatoio 13 è disposto tra la sorgente di pressione 15 e la valvola 9.

In particolare, il serbatoio 13 è disposto tra la sorgente di pressione 15 e la camera 4 principale.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Secondo specifiche forme di attuazione, il sistema 1 comprende un condotto 16, il quale collega (vale dire permette il passaggio di fluido tra) la sorgente di pressione 15 e la camera 4 principale e lungo il quale sono disposti il serbatoio 13 e la valvola 9. Il condotto 16 presenta una sezione di diametro equivalente inferiore o uguale a 2 mm; vantaggiosamente, il condotto 16 presenta una sezione di diametro equivalente superiore o uguale a 50 μm. Il condotto 16 comprende almeno un tratto il quale presenta una sezione con diametro equivalente inferiore o uguale a 0,9 mm.

Il sistema 1 comprende, inoltre, un dispositivo di vibrazione 17, il quale è atto a fare variare in modo oscillante la pressione esercitata sul campione almeno in una zona dall'ingresso 2 alla camera 4 principale ed è disposto tra la sorgente di pressione 15 ed il serbatoio 13. In questo modo, le particelle C1 e C2 del campione presenti nel serbatoio 13 e/o nel condotto 16 e/o nella camera 4 principale vengono fatte vibrare; l'afflusso delle particelle C1 e C2 del campione dal serbatoio 13 alla camera 4 principale viene migliorato. Le particelle C1 e C2 presentano una minore tendenza a raggrupparsi o aderire alle pareti del serbatoio 13 e/o del condotto 16 e/o della camera 4 principale. L'omogeneità della distribuzione delle particelle C1 e C2 all'interno della camera 4 principale

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

viene migliorata.

Vantaggiosamente, il dispositivo di vibrazione 17 comprende un diaframma oscillante 18 collegata, in particolare mediante un giunto 19 a T, al condotto 16. Secondo specifiche forme d'attuazione, il diaframma oscillante è una micropompa (Thinxxs® MDP2205) con ingresso ed uscita cortocircuitati.

Secondo alcune forme di attuazione, (non illustrate nella figura 1) l'ingresso 2 è disposto lungo il condotto 16, tra la sorgente di pressione 15 (in particolare, il giunto 19) ed il serbatoio 13.

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 comprende un condotto 20, il quale è disposto tra la camera 4 principale e l'uscita 7 e presenta almeno un tratto 20' avente una sezione inferiore alla sezione del condotto 16. In particolare, la sezione del tratto 20' è inferiore di almeno 100 μm rispetto alla sezione del condotto 16. Vantaggiosamente, il tratto 20' è disposto immediatamente a valle (vale a dire senza l'interposizione di ulteriori tratti o elementi) della camera 4 principale.

Il tratto 20' presenta una larghezza inferiore a 150 μm, una profondità inferiore a 110 μm ed una lunghezza maggiore di 2 mm. Vantaggiosamente, il tratto 20' presenta una larghezza superiore a 100 μm, una profondità superiore a 30 μm, ed, in particolare, una lunghezza inferiore a 6

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

mm.

Secondo alcune forme di attuazione, il condotto 20 comprende un tratto 20'', il quale è disposto tra il tratto 20' e l'uscita 7 e presenta una sezione di diametro equivalente superiore a quella del tratto 20' (in particolare sostanzialmente uguale a quella del condotto 16).

In generale, secondo diverse forme d'attuazione, il sistema 1 comprende un sensore per rilevare direttamente o indirettamente quando il campione incomincia ad entrare nel condotto 20; un dispositivo di bloccaggio per bloccare l'afflusso del campione verso la camera principale; ed un gruppo di controllo collegato al sensore ed al dispositivo di bloccaggio per azionare il dispositivo di bloccaggio in funzione di quanto rilevato dal sensore (in particolare, quando il campione incomincia ad entrare nel condotto 20).

Secondo alcune specifiche forme di attuazione, il sistema 1 comprende un sensore di pressione 21 per rilevare variazioni di pressione lungo il condotto 16 e/o in corrispondenza della camera 4 principale; ed un dispositivo di bloccaggio 22 per bloccare l'afflusso del campione verso la camera 4 principale. Il sistema 1 comprende, inoltre, un gruppo di controllo 23 collegato al sensore di pressione 21 ed al dispositivo di bloccaggio 22 per azionare il dispositivo di bloccaggio 22 in funzione della variazione

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

di pressione rilevata. In particolare, in uso, il gruppo di controllo 23 aziona il dispositivo di bloccaggio 22 quando il sensore di pressione 21 rileva una pressione superiore ad una pressione di soglia determinata.

Secondo ulteriori specifiche forme d'attuazione, il sistema 1 comprende, in aggiunta o in alternativa al sensore di pressione 21, uno o più tra i seguenti elementi: un rilevatore ottico disposto in corrispondenza dell'entrata del tratto 20'; un rilevatore della conducibilità elettrica, il quale è disposto in corrispondenza dell'entrata del tratto 20' per rilevare variazioni di conducibilità dovute all'inizio del passaggio del campione; un rilevatore della permettività elettrica, il quale è disposto in corrispondenza dell'entrata del tratto 20' per rilevare variazioni di permettività dovute all'inizio del passaggio del campione; un rilevatore di resistenza termica, il quale è disposto in corrispondenza dell'entrata del tratto 20' per rilevare variazioni di resistenza termica dovute all'inizio del passaggio del campione; e un rilevatore di capacità termica, il quale è disposto in corrispondenza dell'entrata del tratto 20' per rilevare variazioni di capacità termica dovute all'inizio del passaggio del campione. In tutti questi casi, il gruppo di controllo 23 è collegato al/i rilevatore/i ed è atto ad azionare il dispositivo di bloccaggio 20 in funzione delle

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

variazioni rilevate dal/i rilevatore/i.

Secondo alcune forme d'attuazione, il rilevatore ottico è un fotodiodo integrato oppure una telecamera esterna (eventualmente con sistema di ingrandimento dell'immagine).

Facendo particolare riferimento alla figura 23, il dispositivo di bloccaggio 22 comprende una valvola di sfiato 22' ed è, vantaggiosamente, disposto tra la sorgente di pressione 15 ed il serbatoio 13; quando il dispositivo di bloccaggio 22 viene azionato la valvola di sfiato viene aperta ed il getto d'aria proveniente dalla sorgente di pressione 15 sfiata verso l'esterno e la pressione lungo il condotto 16 cala. La valvola di sfiato 22' è idraulicamente collegata al condotto 16 mediante un giunto 22'' a T.

In particolare, il dispositivo di bloccaggio 22 è disposto tra il giunto 19 e la sorgente di pressione 15, specificamente a monte del sensore di pressione 21 rispetto alla direzione di alimentazione della pressione alla camera 4 principale.

Da quanto sopra esposto si desume che viene migliorato l'inserimento del campione nell'unità di separazione 3, riducendo il rischio che una parte rilevante del campione superi l'unità di separazione 3 stessa.

Secondo forme di attuazione alternative, non è presente il dispositivo di bloccaggio 22; la funzione di

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

bloccaggio viene svolta dalla valvola 9, la quale è collegata al gruppo di controllo 23. In altre parole, il gruppo di controllo 23, in uso, chiude la valvola 9 quando il sensore di pressione 21 rileva una pressione superiore alla pressione di soglia determinata.

Vantaggiosamente, il gruppo di controllo 23 è collegato alle valvole 9, 10, 11 e 12.

Il collegamento tra il gruppo di controllo ed altri elementi (dispositivi, unità valvole ecc.) può essere realizzato tramite collegamenti elettrici tradizionali (cavi conduttori) ovvero tramite onde elettromagnetiche (ad esempio mediante onde radio, microonde ecc.).

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 comprende un ingresso 24. Il serbatoio 14 è disposto tra l'ingresso 24 e la valvola 11 ed è atto a raccogliere il liquido di trasporto inserito attraverso l'ingresso 24.

La valvola 11 è disposta tra l'ingresso 24 e la camera 5 di recupero ed è atta a collegare o isolare l'ingresso 24 e la camera 5 di recupero uno rispetto all'altra. In particolare, la valvola 11 è disposta tra il serbatoio 14 e la camera 5 di recupero ed è atta a collegare o isolare il serbatoio 14 e la camera 5 di recupero uno rispetto all'altra.

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 comprende una sorgente di pressione 25 per imporre una

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

pressione dal serbatoio 14 verso la camera 5 di recupero.

Vantaggiosamente, il serbatoio 14 è disposto tra la sorgente di pressione 25 e la valvola 11. In particolare, il sistema 1 comprende un condotto 26, il quale collega (vale dire permette il passaggio di fluido tra) la sorgente di pressione 25 e la camera 5 di recupero e lungo il quale sono disposti il serbatoio 14 e la valvola 13.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'ingresso 24 è disposto lungo il condotto 26, in particolare tra la sorgente di pressione 25 ed il serbatoio 14.

Facendo particolare riferimento alla figura 3, il sistema 1 comprende un dispositivo di vibrazione 17a, il quale è analogo al dispositivo di vibrazione 17 ed è atto a fare variare in modo oscillante la pressione almeno in una zona della camera 5 di recupero. In questo modo, le particelle C1 del tipo determinato presenti all'interno della camera 5 di recupero vengono fatte vibrare ed il deflusso delle particelle C1 del tipo determinato stesso dalla camera 5 di recupero verso l'uscita viene migliorato. Le particelle C1 presentano una minore tendenza a raggrupparsi o aderire alle pareti della camera 5 di recupero e/o di un condotto 27 che collega (vale dire permette il passaggio di fluido tra) la camera 5 di recupero all'uscita 8. La valvola 12 è disposta tra la camera 5 di recupero e l'uscita 8.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Vantaggiosamente, il dispositivo di vibrazione 17a comprende una pompa a diaframma 18a collegata, in particolare, mediante un giunto 19a a T, al condotto 26.

Secondo forme d'attuazione non illustrate, il sistema per il riempimento della camera 5 è analogo a quello della camera 4. Pertanto, in tali casi, un dispositivo di bloccaggio (non illustrato) è disposto tra la sorgente di pressione 25 ed il serbatoio 14: inoltre, uno o più sensori e/o rilevatori (non illustrati) analoghi a quelli sopra descritti con riferimento alla camera 4 principale sono disposti in corrispondenza dell'entrata del condotto 27 o in altre posizioni adatte.

Secondo non illustrate forme di attuazione, il sistema 1 comprende un rilevatore (in particolare ottico o impedenziometrico o ad ultrasuoni), il quale è disposto in corrispondenza dell'uscita 8, è collegato al gruppo di controllo 23 ed è atto a rilevare un liquido che esce dall'uscita 8. Il gruppo di controllo 23 è atto a regolare l'apertura della valvola 11 e/o 12 in funzione di quanto rilevato dal rilevatore ottico. In particolare, in uso, quando il rilevatore ottico rileva almeno una goccia di liquido di trasporto (nel quale è presente almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato) il gruppo di controllo 23 aziona una valvola di sfiato che porta la pressione di attuazione a zero bloccando il flusso del

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

liquido.

In aggiunta o in alternativa, quando il rilevatore ottico rileva almeno una goccia di liquido di trasporto (nel quale è presente almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato) il gruppo di controllo 23 chiude la valvola 12 e/o la valvola 11.

In questo modo, è possibile ottenere le particelle C1 in un volume molto piccolo di liquido. Ciò facilita le fasi di analisi successive.

La figura 2 illustra una forma di attuazione del sistema 1 che si differenzia dal sistema 1 della figura 1 per la posizione del condotto 26 rispetto alla camera di recupero 5 e per il fatto di comprendere un condotto 28, il quale collega la camera 5 di recupero all'uscita 7 (o ad un'ulteriore uscita non illustrata) e lungo il quale è disposta una valvola 29, collegata al gruppo di controllo 23. Il condotto 26 si raccorda alla camera 5 di recupero tra i condotti 27 e 28. In particolare, il condotto 26 si raccorda alla camera 5 di recupero sostanzialmente di fronte al canale 6.

Facendo particolare riferimento alle figure 14 e 15, secondo alcune forme di attuazione, almeno una tra le valvole 9, 10, 11 e 12 (in particolare ciascuna valvola 9, 10 11 e 12) presenta una particolare struttura sotto descritta con riferimento ad una particolare valvola V (in

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

altre parole, una o più delle valvole 9, 10, 11 e 12 presenta la struttura della valvola V sotto descritta).

Secondo un secondo aspetto della presente invenzione, viene fornita una valvola V.

La valvola V è dotata di un elemento di chiusura 30, il quale comprende (in particolare, è costituito di) un materiale sostanzialmente elastico, è atto a passare tra una posizione di bloccaggio (illustrata nella figura 14), in cui l'elemento di chiusura 30 separa due tratti 31 e 32 di un rispettivo condotto, ed una posizione di apertura (illustrata nella figura 15), in cui l'elemento di chiusura 30 è disposto in modo che sia permesso il passaggio di fluido tra i tratti 31 e 32.

La valvola V comprende un setto 33, il quale è disposto tra i due tratti 31 e 32. Quando l'elemento di chiusura 30 è disposto nella posizione di bloccaggio, l'elemento di chiusura 30 stesso è a contatto con il setto 33 in modo da separare i tratti 31 e 32. Quando l'elemento di chiusura 30 è disposto nella posizione di apertura, l'elemento di chiusura 30 stesso è distanziato dal setto 33 in modo da permettere il passaggio di fluido tra i tratti 31 e 32.

La valvola V comprende, inoltre, un rispettivo elemento di pressione meccanico 34, il quale spinge l'elemento di chiusura 30 verso i tratti 31 e 32 (in

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

particolare, verso il setto 33) in modo da mantenere l'elemento di chiusura 30 stesso nella posizione di bloccaggio. Vantaggiosamente l'elemento di pressione meccanico 34 comprende (in particolare, è) una molla, la quale si comprime quando l'elemento di chiusura 34 passa dalla posizione di bloccaggio alla posizione di apertura e si estende quando l'elemento di chiusura 34 passa dalla posizione di apertura alla posizione di bloccaggio.

La valvola V comprende un attuatore fluidodinamico 35, il quale a sua volta comprende un ugello attuatore 36 dotato di un elemento cavo 37, che alloggia l'elemento di pressione meccanico 34. L'elemento cavo 37 presenta un canale interno 38 ed un'estremità aperta (in particolare dotata di un foro 39 attuatore) disposta a contatto dell'elemento di chiusura 34.

L'attuatore fluidodinamico 35 comprende un elemento di tenuta 40, il quale è atto a scorrere a tenuta di fluido lungo il canale interno 38 ed è disposto in corrispondenza del foro 39 attuatore a contatto dell'elemento di pressione meccanico.

L'attuatore fluidodinamico 35 comprende, inoltre, un'unità aspirante 41, la quale, a sua volta, comprende un condotto 42 che collega l'ugello attuatore 36 ad una sorgente di aspirazione 43 (illustrata nella figura 3).

In uso, quando l'unità aspirante 41 viene azionata,

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

l'elemento di tenuta 30 viene aspirato e spinge l'elemento di tenuta 40 che scorre all'interno del canale interno 38 in modo da comprimere l'elemento di pressione meccanico 34. Tale depressione allontana l'elemento di chiusura 30 dal setto 33 in modo che l'elemento di chiusura 30 raggiunga la posizione di apertura. Quando l'unità aspirante viene disattivata, l'elemento di pressione meccanico 34 spinge l'elemento di tenuta 40 verso l'esterno attraverso il foro 39 attuatore. L'elemento di tenuta 40, a sua volta, spinge l'elemento di chiusura 30 contro il setto 33 in modo che l'elemento di chiusura 30 stesso raggiunga la posizione di bloccaggio.

L'elemento di chiusura 30 (anche illustrato nella figura 7) presenta una porzione a membrana 44 ed un rilievo 45 che si estende lungo un bordo perimetrale della porzione a membrana 44. In altre parole, l'elemento di chiusura 30 presenta un spessore maggiore in corrispondenza del bordo perimetrale. Ciò permette di migliorare la resistenza meccanica della membrana e la tenuta di fluido tra l'elemento 30 di chiusura e l'ugello attuatore 36 (in particolare l'elemento cavo 37). Il rilievo 45 presenta una forma anulare.

Secondo specifiche forme di attuazione la porzione a membrana 44 presenta un forma sostanzialmente cilindrica; in questo caso il rilievo 45 presenta la forma di una

anello circolare.

Secondo alcune forme di attuazione, l'elemento di chiusura 30 è costituito da un unico materiale elastomerico (vale a dire un elastomero) oppure da una combinazione (ad esempio una miscela) di più materiali elastomerici tra loro differenti.

Vantaggiosamente, l'elastomero comprende (in particolare consiste di) un silicone, in particolare una gomma siliconica. Secondo alcune forme di attuazione, il silicone presenta la seguente formula:

$$[R_2SiO]_n$$

in cui n è un numero intero maggiore di 4, ciascun R è scelto, indipendentemente dagli altri, nel gruppo consistente in: metile, etile, propile.

Secondo alcune forme di attuazione l'elastomero comprende (ovvero è costituito da) un solo silicone o, alternativamente, più siliconi tra loro differenti.

Secondo alcune forme di attuazione, al disotto dell'ugello attuatore 36 è disposto un elemento di pressione meccanico 46 (in particolare una molla) per spingere l'ugello attuatore 36 stesso contro l'elemento di chiusura 30.

Secondo una variante, l'attuatore fluidodinamico 35 presenta la struttura illustrata nelle figure da 24 a 26, in cui l'elemento di tenuta 40 comprende due componenti tra

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

loro smontabili 40’ e 40’’.

È importante sottolineare, che la particolare struttura della valvola V presenta rilevanti vantaggi rispetto allo stato dell’arte.

Un primo vantaggio consiste nel minore rischio di contaminazione gassosa (in particolare di aria) del campione. A questo riguardo, si noti che solitamente l’elemento di chiusura 30 è parzialmente permeabile ai gas e che nella soluzione proposta non è necessario alimentare un getto d’aria per mantenere l’elemento di chiusura 30 nella posizione di bloccaggio (alimentando il getto d’aria, parte del getto d’aria entrerebbe nel condotto).

Un secondo vantaggio consiste nella riduzione delle perdite di carico quando la sorgente di aspirazione è in funzione (le parti sono tra loro accoppiate in modo da presentare un’elevata tenuta di fluido).

Nella forma d’attuazione della figura 3 le valvole 9 e 11 sono illustrate schematicamente e presentano sostanzialmente la medesima struttura della valvola V sopra descritta. In questo caso, vantaggiosamente, le valvole 9 e 11 sono collegate, ciascuna, ad una rispettiva sorgente di aspirazione 43.

Secondo alcune non illustrate forme d’attuazione, il sistema 1 non comprende le sorgenti di pressione 15 e 25. In questo caso le valvole 9 e/o 11, invece di essere delle

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

singole valvole comprendono una pluralità di valvole disposte in successione lungo il condotto 16 e/o 26. In uso, le valvole disposte in successione vengono aperte e chiuse in sequenza per alimentare il campione e/o il liquido di trasporto all'unità di separazione 3. In questo modo, le valvole disposte in successione lavorano in maniera analoga ad una pompa peristaltica.

Si noti che per lavorare come una pompa peristaltica normalmente sono necessarie almeno tre valvole disposte in successione.

Secondo alcune forme d'attuazione, tuttavia, le valvole 9 e/o 11 comprendono (in particolare, consistono di), ciascuna, due valvole disposte in successione. In questi casi, tali valvole vengono azionate in combinazione con le valvole 10 e/o 12 per lavorare come una pompa peristaltica.

Queste forme d'attuazione, presentano alcuni vantaggi: non necessitano dell´integrazione di ingombranti sorgenti di pressione; permettono di regolare in modo molto preciso la quantità di fluido che viene alimentata all'unità di separazione 3.

In accordo con la forma di attuazione illustrata nella figura 3, l'unità di separazione 3 comprende una parte di un sistema di dielettroforesi.

In particolare, il sistema 1 (specificamente il

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

sistema di dielettroforesi) comprende un rilevatore ottico 47. Il gruppo di controllo 23 è collegato al rilevatore ottico 47 e all'unità di separazione 3. Vantaggiosamente, il rilevatore ottico 46 comprende una telecamera 48. In uso, il gruppo di controllo 23 aziona diversi componenti attivi delle camere 4 e 5 in funzione di quanto rilevato dal rilevatore ottico 47.

Secondo alcune forme di attuazione, l'unità di separazione 3 comprende, inoltre, un interfaccia operatore 49 (Human/Machine Interface). Vantaggiosamente, l'interfaccia operatore 49 comprende un personal computer.

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema di dielettroforesi e/o il suo funzionamento è come descritto in almeno una delle domande di brevetto WO00069565, WO2007010367, WO2007049120, il cui contenuto viene qui integralmente richiamato per completezza di descrizione (incorporato per riferimento).

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 (figura 2) comprende un gruppo di raffreddamento 50, il quale è atto a raffreddare almeno parte dell'unità di separazione 3, in particolare la camera 4 principale e la camera 5 di recupero.

Il gruppo di raffreddamento 50, secondo alcune forme di attuazione, è un Peltier e comprende un piatto di raffreddamento 51 presentante una superficie attiva 52 atta

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

ad assorbire il calore dall'unità di separazione 3; ed una superficie di scarico 53 per cedere calore. Vantaggiosamente, la superficie attiva 52 presenta una estensione minore della superficie di scarico 53.

Secondo alcune forme d'attuazione, tra la superficie attiva 52 e l'unità di separazione 3 è interposto un tappetino (di per sé noto) di un materiale polimerico conduttore di calore.

Il gruppo di raffreddamento 50 comprende, inoltre, un piatto di trasferimento calore 54 collegato ad un circuito 55 di condizionamento che funge da dispositivo scambiatore di calore.

Il circuito 55 comprende due condotti 56; un radiatore 57, il quale è disposto tra i due condotti 56; una pluralità di ventole 58 per raffreddare un liquido di condizionamento mentre scorre all'interno del radiatore 57; ed una pompa 59 per fare scorrere il liquido di condizionamento lungo i condotti 56 ed attraverso il radiatore 57.

Secondo la forma d'attuazione illustrata nella figura 3, il sistema 1 comprende almeno un (nel caso specifico quattro) elemento di pressione meccanico 60 (in particolare, una molla) per spingere il gruppo di raffreddamento 50 verso la camera 4 principale e la camera 5 di recupero.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Con particolare riferimento alle figure 16, 18, 13 e 3, il sistema 1 comprende, inoltre, due ugelli di alimentazione pressione 61 e 61a disposti tra due tratti del condotto 16 e del condotto 26, rispettivamente.

L'ugello di alimentazione pressione 61 comprende un corpo cavo 62, il quale è collegato ad un dispositivo di pressione 64, e presenta un foro di alimentazione pressione 63 disposto ad una estremità opposta rispetto al dispositivo di pressione 64.

Il dispositivo di pressione 64 comprende un'unità di pressione 65, la quale, a sua volta, comprende la sorgente di pressione 15 ed un condotto (in particolare, un primo tratto del condotto 16) il quale collega la sorgente di pressione 15 all'ugello di alimentazione pressione 61.

Tra il foro di alimentazione pressione 63 ed un secondo tratto del condotto 16 è disposto un anello di tenuta 66 (illustrato nelle figure 7, 16) comprendente (in particolare, consistente di) un materiale sostanzialmente elastico.

Vantaggiosamente il materiale sostanzialmente elastico è definito come sopra descritto con riferimento all'elemento di chiusura 30.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'anello di tenuta 66 è di forma sostanzialmente circolare e presenta un foro 67 sostanzialmente centrale; una porzione interna che

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

delimita il foro 67; ed una porzione periferica di spessore maggiore rispetto ad una porzione interna.

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 comprende, inoltre almeno un elemento di pressione meccanico 68 (in particolare, una molla), il quale è disposto in modo da spingere l'ugello di alimentazione pressione 63 contro l'anello di tenuta 66. In questo modo si ottiene una minore dispersione della pressione (vale a dire una migliore tenuta) tra l'ugello di alimentazione pressione 63, l'anello di tenuta 66 ed il secondo tratto del condotto 16. L´elemento di pressione meccanico 68 ha l'importante funzione di compensare eventuali mancanze di planaritá del dispositivo e di regolare le forze di contatto applicate.

Secondo vantaggiose forme di attuazione, l'ugello di alimentazione pressione 61a presenta la medesima struttura dell'ugello di alimentazione pressione 61, è collegato al dispositivo di pressione 64 ed è sospinto verso un rispettivo anello di tenuta 66a da un relativo elemento di pressione meccanico 68a.

Il sistema 1 comprende, inoltre, una sede 69 (parzialmente illustrata nella figura 13), la quale è atta ad alloggiare un raccoglitore asportabile (ad esempio una provetta), di tipo di per sé noto e non illustrato, ed è disposta in corrispondenza dell'uscita 8.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Tra il condotto 27 e la sede 69 è disposto un anello di tenuta 70, il quale è atto a garantire una minore dispersione (vale a dire una migliore tenuta) tra il condotto 27 e la sede 69. L'anello di tenuta 70 comprende (in particolare, consiste di) un materiale sostanzialmente elastico.

Vantaggiosamente il materiale sostanzialmente elastico è definito come sopra descritto con riferimento all'elemento di chiusura 30.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'anello di tenuta 70 è di forma sostanzialmente circolare e presenta un foro 71 sostanzialmente centrale; una porzione interna che delimita il foro 71; ed una porzione periferica di spessore maggiore rispetto ad una porzione interna.

Secondo alcune forme di attuazione il sistema 1 comprende due porzioni tra loro separabili: un apparato 72 sostanzialmente fisso (una forma d'attuazione dell'apparato 72 è parzialmente illustra nel figure 10 ed 11) ed un dispositivo 73 (una forma d'attuazione del dispositivo 73 è illustrata dall'alto nella figura 21 ed in esploso nella figura 4)

In uso, il sistema 1 viene utilizzato secondo il metodo sotto descritto.

Metodo

Secondo un terzo aspetto della presente invenzione,

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

viene fornito un metodo per l'isolamento di particelle C1 di almeno un tipo determinato da un campione mediante un sistema microfluidico. Il sistema microfluidico è il sistema 1 od un sistema microfluidico simile al sistema 1; in ogni caso, per semplicità nella successiva descrizione del metodo il sistema microfluidico e le sue parti verranno identificate con i numeri di riferimento utilizzati sopra per identificare il sistema 1 e parti analoghe o identiche, rispettivamente.

Il metodo comprende una fase di inserimento del campione in un sistema 1 attraverso un ingresso 2 del sistema 1; una fase di separazione, durante la quale almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato vengono separate da ulteriori particelle C2 all'interno di un'unità di separazione 3 del sistema 1; una prima fase di alimentazione, la quale è almeno parzialmente precedente alla fase di separazione e durante la quale almeno parte del campione viene alimentata all'unità di separazione 3 (la prima fase di alimentazione è schematicamente illustrata nelle figure 19e-19i); ed una fase di recupero, la quale è almeno parzialmente successiva alla fase di separazione e durante la quale almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato separate in modo sostanzialmente selettivo defluiscono dall'unità di separazione 3 attraverso un'uscita 8 del sistema 1 (la fase

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

di recupero è schematicamente illustrata nelle figure 20c e 20d).

Secondo alcune forme d'attuazione, il sistema 1 comprende una valvola 9 disposta tra l'ingresso 2 e l'unità di separazione 3; ed una valvola 12 disposta tra l'uscita 8 e l'unità di separazione 3. Durante la fase di separazione, le valvole 9 e 12 vengono mantenute chiuse.

In particolare, il sistema 1 comprende una valvola disposta tra ciascuna apertura (ad esempio ingressi e/o uscite) del sistema 1 verso l'esterno e l'unità di separazione 3. Durante la fase di separazione, ciascuna di queste valvole viene mantenuta chiusa.

Secondo alcune forme di attuazione, la fase di recupero è completamente successiva alla fase di separazione.

Secondo alcune forme d'attuazione, la fase di separazione è completamente successiva alla prima fase di alimentazione.

Secondo alcune forme d'attuazione, durante la fase di separazione, le particelle C1 del tipo determinato vengono trasferite da una camera 4 principale ad una camera 5 di recupero dell'unità di separazione 3 in modo sostanzialmente selettivo rispetto ad ulteriori particelle C2 del campione (il termine della fase di separazione è illustrato nella figura 20a).

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Secondo alcune forme di attuazione, durante la fase di separazione, utilizzando un sistema come descritto in figura 2, le particelle C1 di più tipi determinati vengono trasferite da una camera principale 4 ad una particolare zona della camera di recupero 5 isolata tramite resistenza fluidiche dal resto della camera di recupero.

Un'uscita 7 ed un'uscita 8 del sistema 1 sono collegate alla camera 4 principale ed alla camera 5 di recupero, rispettivamente.

Vantaggiosamente, il sistema 1 comprende la valvola 9, la quale è disposta a monte della camera 4 principale; una valvola 10 disposta a valle della camera 4 principale; una valvola 11 disposta a monte della camera 5 di recupero; la valvola 12 disposta a valle della camera 5 di recupero. Durante la fase di separazione, le valvole 9, 10, 11, 12 sono chiuse, in particolare in modo da isolare la camera 4 principale e la camera 5 di recupero rispetto all'esterno.

Il metodo comprende, inoltre, la prima fase di alimentazione, la quale è almeno parzialmente precedente alla fase di separazione e durante la quale almeno parte del campione viene alimentata nella camera 4 principale (la prima fase di alimentazione è schematicamente illustrata nelle figure 19e-19i); ed una seconda fase di alimentazione, la quale è almeno parzialmente precedente alla fase di separazione e durante la quale del liquido di

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

trasporto viene alimentato alla camera 5 di recupero (la seconda fase di alimentazione è illustrata nelle figure 19a-19d).

Il metodo comprende, inoltre, la fase di recupero, durante la quale il liquido di trasporto assieme ad almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato defluiscono dalla camera 5 di recupero attraverso l'uscita 8 (la fase di recupero è schematicamente illustrata nelle figure 20c e 20d).

Secondo alcune forme di attuazione, durante la fase di inserimento almeno parte del campione viene inserito in un serbatoio 13 (reservoir) del sistema 1.

Vantaggiosamente, la fase di separazione avviene per dielettroforesi. Almeno durante la fase di separazione, l'unità di separazione 3 viene raffreddata.

Secondo alcune forme di attuazione, almeno una o entrambe la prima e la seconda fase di alimentazione sono completamente precedenti alla fase di separazione.

Secondo alcune forme di attuazione, la seconda fase di alimentazione è almeno parzialmente precedente alla prima fase di alimentazione. Vantaggiosamente, la seconda fase di alimentazione è completamente precedente alla prima fase di alimentazione.

Secondo alcune forme di attuazione, una prima pressione viene imposta per alimentare il campione alla

camera 4 principale.

In particolare, la prima pressione spinge il campione dal serbatoio 13 verso la camera 4 principale.

Secondo alcune forme di attuazione, la prima pressione viene esercitata almeno prima e durante la prima fase di alimentazione.

Vantaggiosamente, durante la fase di recupero, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato vengono sottoposte a vibrazione, in particolare vengono sottoposte ad una pressione che varia in modo oscillante (la frequenza di vibrazione è tra 2 e 80Hz, vantaggiosamente da 5 a 40Hz).

Vantaggiosamente, durante la prima fase di alimentazione una valvola 9 del sistema 1, la quale valvola 9 è disposta a monte della camera 4 principale, ed una valvola 10 del sistema 1, la quale valvola 10 è disposta tra la camera 4 principale e l'uscita 7, sono aperte. In particolare, durante la prima fase di alimentazione, il campione passa attraverso la valvola 9.

Secondo alcune forme di attuazione, durante la prima fase di alimentazione, il campione viene sottoposto a vibrazione, in particolare viene sottoposto ad una pressione che varia in modo oscillante (la frequenza di vibrazione è tra 2 e 80Hz, vantaggiosamente da 5 a 40Hz).

Secondo particolari forme d'attuazione, il sistema 1

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

comprende un condotto 16 per collegare l'ingresso 2 alla camera 4 principale; ed un condotto 20, il quale è disposto tra la camera 4 principale e l'uscita 7 e presenta una sezione inferiore, in particolare di almeno 100 μm, alla sezione del condotto 16. Durante la prima fase di alimentazione, venendo rilevata la pressione del campione; l'alimentazione del campione venendo bloccata in funzione della pressione rilevata, in particolare quando viene rilevata una pressione superiore ad un valore determinato.

Secondo ulteriori forme d'attuazione, in aggiunta o in alternativa alla rivelazione di pressione una o più delle seguenti rilevazione viene effettuata: rilevazione ottica del passaggio del campione tra la camera 4 ed il condotto 20; rilevazione della variazione della conducibilità elettrica in corrispondenza di una zona di collegamento tra la camera 4 ed il condotto 20 dovuta all'inizio del passaggio del campione; rilevazione della variazione della permettività elettrica in corrispondenza di una zona di collegamento tra la camera 4 ed il condotto 20 dovuta all'inizio del passaggio del campione; rilevazione della variazione della resistenza termica in corrispondenza di una zona di collegamento tra la camera 4 ed il condotto 20 dovuta all'inizio del passaggio del campione; rilevazione della variazione della capacità termica in corrispondenza di una zona di collegamento tra la camera 4 ed il condotto

20 dovuta all'inizio del passaggio del campione.

In tutti questi casi, l'afflusso del campione 40 viene bloccato quando viene rilevato che il campione incomincia ad entrare nel condotto 20.

Secondo alcune forme di attuazione, durante la seconda fase di alimentazione, una valvola 11 del sistema 1, la quale valvola 11 è disposta a monte della camera 5 di recupero, ed una valvola 12, la quale valvola 12 è disposta tra la camera 5 di recupero e l'uscita 8, sono aperte.

Vantaggiosamente, una seconda pressione viene imposta per alimentare il liquido di trasporto alla camera 5 di recupero. In particolare, la seconda pressione spinge il liquido di trasporto da un serbatoio 14 del sistema 1 verso la camera 5 di recupero. Durante la seconda fase di alimentazione, il liquido di trasporto passa attraverso la valvola 11.

Secondo alcune forme di attuazione, la seconda pressione viene esercita almeno prima e durante la seconda fase di alimentazione.

Durante la fase di recupero le valvole 11 e 12 sono aperte.

Secondo alcune forme di attuazione, il metodo comprende una fase di scarico, la quale è almeno parzialmente successiva alla fase di separazione e almeno parzialmente precedente alla fase di recupero e durante la

quale almeno parte delle ulteriori particelle C2 del campione vengono fatte defluire dalla camera 4 principale attraverso l'uscita 7; la fase di scarico è schematicamente illustrata nelle figure 20b e 20c. Vantaggiosamente la fase di scarico è completamente successiva alla fase di separazione e/o completamente precedente alla fase di recupero.

Durante la fase di scarico, le valvole 10 e 11 sono aperte in modo da alimentare il liquido di trasporto alla camera 4 principale.

L'effettuazione della fase di scarico permette di ridurre i rischi che, durante la fase di recupero, passino attraverso l'uscita 8 parte delle ulteriori particelle C2 che vengano richiamate dalla camera 4 principale dal flusso del liquido di trasporto attraverso la camera 5 di recupero.

In pratica, secondo alcune forme di attuazione, le valvole 11 e 12 vengono aperte in modo da riempire la camera 5 di recupero con il liquido di trasporto. A questo punto, le valvole 9 e 10 vengono aperte in modo che il campione riempia la camera 4 principale. Le valvole 9, 10, 11 e 12 vengono, quindi, chiuse e le particelle C1 del tipo determinato vengono portate in modo sostanzialmente selettivo dalla camera 4 principale alla camera 5 di recupero. A questo punto, le valvole 11 e 10 vengono aperte

in modo da fare defluire dalla camera 4 almeno parte delle ulteriori particelle C2.

Secondo alcune forme di attuazione, le particelle C1 del tipo determinato vengono disposte all'interno della camera 5 di recupero in modo che, durante la fase di scarico, rimangano almeno in parte all'interno della camera 5 di recupero stessa. In particolare, le particelle C1 del tipo determinato vengono disposte lateralmente (vale a dire non di fronte) ad un canale 6 di collegamento tra la camera 4 principale e la camera 5 di recupero. Specificamente, le particelle C2 vengono disposte tra il canale 6 ed un condotto 26 di collegamento all'uscita 8.

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 comprende una valvola 29 (figure 2 e 27), la quale è disposta tra la camera di recupero e l'uscita 7 (o un'ulteriore uscita non illustrata). La camera 5 comprende una prima zona 5' la quale è idraulicamente collegata al condotto 27 (e quindi alla valvola 12); una seconda zona 5'' idraulicamente collegata al condotto 28 (e quindi alla valvola 29); ed un'ulteriore zona che definisce un tratto terminale del condotto 26 (ed è quindi collegata alla valvola 11).

Durante la seconda fase di riempimento, le valvole 12 e 11 sono aperte in modo da riempiere la prima zona 5' della camera 5 di recupero che collega le valvole 12 e 11;

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

le valvole 11 e 29 sono aperte per riempire la seconda zona 5'' della camera 5 di recupero che collega le valvole 11 e 29.

Secondo specifiche forme d'attuazione, le valvole 12, 11 e 29 vengono aperte in modo da riempire la prima zona 5' (figure 27b e 27c), a questo punto viene chiusa la valvola 12 viene riempita la seconda zona 5'' (figura 27d).

Durante la fase di separazione, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato ed almeno parte di particelle C3 di almeno un secondo tipo determinato vengono trasferite nella camera 5 di recupero (figure 28a e 28b) (in particolare, nella seconda zona 5''). La fase di recupero comprende una prima sottofase di recupero, durante la quale almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato viene portata in modo sostanzialmente selettivo nella prima zona 5' (figura 28d) e, successivamente, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato viene fatta defluire dalla prima zona 5' attraverso l'uscita 8 alimentando alla camera 5 di recupero ulteriore liquido di trasporto (figura 28e).

La fase di recupero comprende una seconda sottofase di recupero, durante la quale almeno parte delle particelle C3 viene fatta uscire dalla camera 5 di recupero attraverso l'uscita 8 alimentando alla camera 5 di recupero ulteriore liquido di trasporto.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Vantaggiosamente, durante la seconda sottofase di recupero, almeno parte delle particelle C3 viene portata nella prima zona 5' (figure 28e e 28f) e, successivamente, almeno parte delle particelle C3 viene fatta defluire dalla prima zona 5' attraverso l' uscita 8 (figura 28g).

Secondo alcune forme d'attuazione, il metodo comprende una fase di lavaggio, durante la quale ulteriori particelle C2 presenti della camera 4 principale vengono allontanate dal canale 6. Durante la fase di lavaggio, le valvole 11 e 10 vengono aperte (figura 28c). Vantaggiosamente, durante la fase di lavaggio la valvola 29 è chiusa e le particelle C1 e C3 sono disposte nella seconda zona 5''. Vantaggiosamente, durante la fase di lavaggio, la valvola 12 è chiusa. Vantaggiosamente, durante la fase di lavaggio, la valvola 9 è chiusa.

Vantaggiosamente, la fase di lavaggio è almeno parzialmente (in particolare, completamente) successiva alla fase di recupero ed almeno parzialmente (in particolare, completamente) precedente alla fase di recupero.

Secondo alcune forme di attuazione, durante la fase di recupero, viene rilevato la prima goccia di liquido di trasporto che esce dall'uscita 8; quando la prima goccia viene rilevata il deflusso dalla camera 5 di recupero viene bloccato.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Secondo alcune forme di attuazione, più fasi di recupero si susseguono, cambiando i contenitori disposti in prossimità dell´uscita 8 ogni qualvolta almeno una goccia viene rilevata.

Secondo alcune forme di attuazione, all'interno del sistema 1 viene alimentata dell'anidride carbonica. In questo modo si riduce o si elimina la presenza di ossigeno all'interno del sistema 1. La presenza di ossigeno all'interno del sistema può portare alla formazione di bolle durante le varie fasi del metodo.

Secondo alternative forme d'attuazione, il liquido di trasporto (e/o eventualmente il campione) viene degassato mediante ultrasuoni prima dell'inserimento nel sistema 1 (o nell'unità di separazione 3).

Vantaggiosamente, il campione ed il liquido di trasporto vengono utilizzati ad una temperatura superiore a 20°C, in particolare superiore a 25°C. Anche questo riduce il rischio della formazione di bolle.

Secondo alcune forme d'attuazione, il metodo viene applicato utilizzando un sistema 1 definito in accordo con il primo aspetto della presente invenzione.

Secondo alcune forme di attuazione, il sistema 1 comprende due porzioni tra loro separabili: un apparato 72 sostanzialmente fisso (una forma d'attuazione dell'apparato 72 è parzialmente illustrata nel figure 10 ed 11) ed un

dispositivo 73 (una forma d'attuazione del dispositivo 73 è illustrata dall'alto nella figura 21 ed in esploso nella figura 4).

Secondo alcune forme d'attuazione, solo parte del campione viene portato nella camera 4 principale. In pratica il campione viene sottoposto ad una pluralità di separazioni parziali successive.

Dispositivo microfluidico

Secondo un quarto aspetto della presente invenzione viene fornito il dispositivo 73 per l'isolamento di particelle C1 di almeno un tipo determinato da un campione. Il dispositivo 73 comprende l'ingresso (inlet) 2, attraverso il quale, in uso, il campione viene inserito nel dispositivo 73; l'unità di separazione 3, la quale comprende una camera 4 principale ed una camera 5 di recupero.

In uso, quando il dispositivo 73 è montato all'interno dell'apparato 72, l'unità di separazione 3 è atta a trasferire almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato dalla camera 4 principale alla camera 5 di recupero in modo sostanzialmente selettivo rispetto ad ulteriori particelle C2 del campione.

Secondo alcune forme di attuazione, il dispositivo 73 comprende l'uscita 7 collegata alla camera 4 principale; l'uscita 8, la quale è collegata alla camera 5 di recupero.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Attraverso l'uscita 8, in uso, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato raccolte nella camera 5 di recupero escono dal dispositivo 73.

L'uscita 7 è atta a permettere al campione di entrare liberamente all'interno della camera 4 principale fungendo da sfiato.

Il dispositivo 73 comprende, inoltre, una porzione valvolare 74, la quale è disposta a monte della camera 4 principale; ed una porzione valvolare 75, la quale è disposta tra la camera 4 principale e l'uscita 7.

La porzione valvolare 74 è atta a costituire parte della valvola 9. La porzione valvolare 75 è atta a costituire parte della valvola 10.

Il dispositivo comprende anche una porzione valvolare 76, la quale è disposta a monte della camera 5 di recupero; ed una porzione valvolare 77, la quale è disposta tra la camera 5 di recupero e l'uscita 8.

La porzione valvolare 75 è atta a costituire parte della valvola 11. La porzione valvolare 76 è atta a costituire parte della valvola 12.

Secondo alcune forme di attuazione, almeno una delle porzioni valvolari 74, 75, 76 e 77 comprende l'elemento di chiusura 30, il quale è atto a passare tra una posizione di bloccaggio, in cui l'elemento di chiusura 30 è disposto in modo da separare due tratti di un rispettivo canale del

dispositivo 73, ed una posizione di apertura, in cui l'elemento di chiusura 30 è disposto in modo tale che i due tratti siano tra loro collegati. Vantaggiosamente, ciascuna porzione valvolare 74, 75, 76 e 77 comprende un rispettivo elemento di chiusura 30.

Vantaggiosamente, l'elemento di chiusura 30 è definito come sopra descritto in relazione al sistema 1. In particolare, l'elemento di chiusura 30 presenta una parte a membrana, la quale comprende, in particolare è costituita da, un materiale sostanzialmente elastico.

Secondo alcune forme di attuazione, almeno una, in particolare ciascuna, delle porzioni valvolari 74, 75, 76 e 77 comprende il setto 33, il quale è disposto tra i due tratti del condotto del dispositivo 73. Nella posizione di bloccaggio l'elemento di chiusura 30 è a contatto con il setto 33; nella posizione di apertura l'elemento di chiusura 30 è distanziato dal setto 33.

Almeno una, in particolare ciascuna, delle porzioni valvolari 74, 75, 76 e 77 comprende almeno un foro in un canale del dispositivo 73. In particolare, ciascun elemento di chiusura 30 è disposto in corrispondenza di due rispettivi fori di un relativo canale, i quali fori sono tra loro separati da un rispettivo setto 33. Ciascuno di questi fori presenta un diametro da 0,1 a 0,7 mm. Secondo specifiche forme d'attuazione, ciascun foro presenta un

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

diametro di circa 0,5 mm.

Secondo alcune forme di attuazione, ciascuna porzione valvolare 74, 75, 76 e 77 corrisponde ad una parte della valvola V sopradescritta priva dell'attuatore fluidodinamico 35.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo 73 comprende, inoltre, il serbatoio 13, il quale è disposto tra l'ingresso 2 e la porzione valvolare 74 ed è atto a raccogliere il campione inserito attraverso l'ingresso 2; ed un canale 78, il quale collega il serbatoio 13 alla camera 4 principale e lungo il quale è disposta la porzione valvolare 74. In particolare, il canale 78 è una parte del condotto 16.

Vantaggiosamente, il canale 78 presenta una sezione di diametro equivalente da 0,9 mm a 50 μm. In particolare, il canale 78 presenta una larghezza da 0,7 a 0,1 mm ed una profondità da 1,00 a 0,15 mm. Secondo specifiche forme d'attuazione, il canale 78 presenta una larghezza di circa 0,5 mm ed una profondità da circa 0,25 a circa 0,5 mm. I particolari percorsi del canale 78 contribuiscono a ridurre il rischio che dell'aria entri nel dispositivo 73.

Vantaggiosamente, il serbatoio 13 presenta un volume da 5μL a 100 μL, in particolare una larghezza da 3 a 0,8 mm ed una profondità da 1,5 a 0,25 mm.

Secondo specifiche forme d'attuazione, il serbatoio 13

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

presenta un volume di circa 35 μL, una larghezza di circa 1 mm ed una profondità di circa 0,5 mm.

Vantaggiosamente, la porzione valvolare 74 è disposta tra il serbatoio 13 e la camera 4 principale.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo 73 comprende un foro di alimentazione 79. In particolare, il foro di alimentazione 79 è disposto in corrispondenza dell'ingresso 2. Il serbatoio 13 è disposto tra il foro di alimentazione 79 e la camera 4 principale. Il canale 78 collega il foro di alimentazione 79 alla camera 4 principale.

Secondo alcune forme di attuazione, il dispositivo 73 comprende l'anello di tenuta 66, il quale circonda verso l'esterno il foro di alimentazione 79.

Vantaggiosamente, l'anello di tenuta 66 è definito come sopra descritto in relazione al sistema 1 ed, in particolare, è atto ad accoppiarsi con un rispettivo ugello di alimentazione pressione 61.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo 73 comprende un canale 80 (corrispondente a parte del condotto 20), il quale è disposto tra la camera 4 principale e l'uscita 7 e comprende il tratto 20'. Il tratto 20' presenta una sezione inferiore, in particolare di almeno 100 μm, alla sezione del canale 78 (il tratto 20' è meglio illustrato nella figura 9).

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Vantaggiosamente, il tratto 20' presenta una larghezza inferiore a 150 μm, una profondità inferiore a 110 μm ed una lunghezza maggiore di 2 mm. Vantaggiosamente, il tratto 20' presenta una larghezza superiore a 100 μm, una profondità superiore a 30 μm, ed, in particolare, una lunghezza inferiore a 6 mm.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo 73 comprende il serbatoio 14, il quale è atto a contenere il liquido di trasporto.

Vantaggiosamente, il serbatoio 14 presenta un volume da 10mL a 100 μL, una larghezza da 5 a 0,8 mm ed una profondità da 1,5 a 0,25 mm.

Secondo specifiche forme d'attuazione, il serbatoio 14 presenta un volume di circa 150 μL, una larghezza di circa 1 mm ed una profondità di circa 0,5 mm.

Il dispositivo 73 comprende un canale 81, il quale collega il serbatoio 14 alla camera 5 di recupero e lungo il quale è disposta la porzione valvolare 76.

In particolare, il canale 81 è una parte del condotto 26.

Vantaggiosamente, il canale 81 presenta una sezione di diametro equivalente da 0,9 mm a a 200 μm. In particolare, il canale 81 presenta una larghezza da 0,7 a 0,25 mm ed una profondità da 0,7 a 0,15 mm. Secondo specifiche forme d'attuazione, il canale 81 presenta una larghezza di circa

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

0,5 mm ed una profondità di circa 0,25 mm.

I particolari percorsi del canale 81 contribuiscono a ridurre il rischio che dell'aria entri nel dispositivo 73.

Secondo alcune forme d'attuazione, la porzione 76 valvolare è disposta tra il serbatoio 14 e la camera 5 di recupero.

Secondo alcune forme di attuazione, il dispositivo 73 comprende un foro di alimentazione 82. Il serbatoio 14 è disposto tra il foro di alimentazione 82 e la camera 5 di recupero; il canale 81 collegando il foro di alimentazione 82 alla camera 5 di recupero.

Secondo alcune forme di attuazione, il dispositivo 73 comprende l'anello di tenuta 66a, il quale circonda verso l'esterno il foro di alimentazione 82.

Vantaggiosamente, l'anello di tenuta 66a è definito come sopra descritto in relazione al sistema 1 ed, in particolare, è atto ad accoppiarsi con un rispettivo ugello di alimentazione pressione 61a.

Il dispositivo 73 comprende connettori elettrici 83 (illustrati nella figura 3) per collegare elettricamente il dispositivo 73 stesso all'apparato 72. Vantaggiosamente, i connettori elettrici 83 comprendono (in particolare consistono di) almeno un circuito elettrico, in particolare un circuito elettrico stampato (PCB) di collegamento.

Secondo la forma d'attuazione illustrata nella figura

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

31, il dispositivo 73 comprende un'ulteriore porzione valvolare 29' atta a costituire una parte della valvola 29. In questo caso, la porzione valvolare 29' è disposta tra la camera 5 di recupero ed un'uscita del dispositivo 73 (ovvero del sistema 1). Tale uscita può essere un'ulteriore uscita rispetto alle uscite 7 e 8 sopra descritte o può coincidere con l'uscita 7 o l'uscita 8 (nella forma d'attuazione illustrata nella figura 31, tale uscita corrisponde con l'uscita 7).

Pertanto, secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo 73 comprende un'ulteriore uscita; la porzione valvolare 29' è disposta tra la camera 5 di recupero e l'ulteriore uscita; opzionalmente, l'ulteriore uscita corrisponde all'uscita 7.

Il dispositivo 73 comprende, inoltre, il condotto 28, il quale collega idraulicamente la camera 5 (in particolare, la seconda zona 5'') all'ulteriore uscita. La porzione valvolare 29' è disposta in corrispondenza del condotto 28.

In questi casi, la camera 5 comprende la prima zona 5' la quale è idraulicamente collegata al condotto 27 (e quindi alla porzione valvolare 77); la seconda zona 5'' idraulicamente collegata al condotto 28 (e quindi alla porzione valvolare 29'); e l'ulteriore zona che definisce un tratto terminale del canale 81 (ovvero del condotto 26)

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

(ed è quindi collegata con la porzione valvolare 76).

Il condotto 28 presenta una sezione di diametro equivalente da 0,9 mm a 200 μm. In particolare, il condotto 28 presenta una larghezza da 0,7 a 0,25 mm ed una profondità da 0,7 a 0,15 mm. Secondo specifiche forme d'attuazione, il condotto 28 presenta una larghezza di circa 0,5 mm ed una profondità di circa 0,25 mm.

Il dispositivo 73 della figura 31 è atto ad essere parte del sistema 1 illustrato nella figura 2 ed a funzionare secondo quanto illustrato nelle figure 27 e 28.

Apparato

Secondo un quinto aspetto della presente invenzione, viene fornito un apparato 72 per l'isolamento di particelle C2 di almeno un tipo determinato da un campione.

L'apparato 72 comprende una sede 84 (illustrata aperta nella figura 11 e chiusa nella figura 10) per alloggiare un dispositivo micorfluidico (in particolare il dispositivo 73) per l'isolamento delle particelle C1 del tipo determinato dal campione; connettori elettrici 85 (illustrati nelle figure 3 e 13) per collegare elettricamente l'apparato 1 al dispositivo microfluidico; ed il gruppo di controllo 23 collegato ai connettori elettrici 85.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende uno sportello 86, il quale è illustrato in

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

posizione sollevata nella figura 11 ed in posizione abbassata nella figura 10. La faccia inferiore dello sportello 86 è illustrata nella figura 12.

L'apparato 72 comprende almeno quattro attuatori fluidodinamici 35, ciascuno dei quali è atto a costituire una parte di una rispettiva valvola e comprende un rispettivo ugello attuatore 36 (si veda, in particolare, la figura 13), che presenta un rispettivo foro 39 attuatore; almeno due ugelli di alimentazione pressione 61 e 61a, i quali presentano, ciascuno, un rispettivo foro di alimentazione pressione 63 e 63a.

L'apparato comprende almeno il dispositivo di pressione 64 collegato agli ugelli di alimentazione di pressione 61 per determinare una pressione in corrispondenza dei fori di alimentazione pressione 63 e 63a; ed almeno un dispositivo di pressione 87, il quale è collegato agli ugelli attuatori 36 (figura 3) ed è atto ad determinare una aspirazione in corrispondenza di almeno uno dei fori 39 attuatori (figure 14 e 15).

Quando lo sportello 86 è in posizione sollevata la sede 84 è aperta ed accessibile dall'esterno (figura 11); in particolare, quando lo sportello 86 è in posizione sollevata il dispositivo microfluidico (in particolare il dispositivo 73) può essere inserito al disotto dello sportello 86 stesso. In uso, una volta che il dispositivo

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

microfluidico è stato inserito sotto lo sportello 86, lo sportello 86 viene abbassato (figura 10) ed il dispositivo microfluidico viene portato nella sede 84. Ciò viene fatto ruotando delle maniglie 88 che presentano in corrispondenza di una propria estremità dei profili a camma 89. I profili a camma 89, ruotando, spingono verso il basso lo sportello 86 superando la resistenza di molle (di per sé note e non illustrate) che tendono a mantenere lo sportello 86 in posizione sollevata.

Secondo quanto illustrato nella figura 12, lo sportello 86 comprende dei fori 86a per ispezionare le valvole 9, 10, 11 e 12 ed un'apertura 86b per rendere visibile le camere 4 e 5.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende un gruppo di pressione 90 (figura 3) comprendente i dispositivi di pressione 64 e 87. Il gruppo di pressione 90 comprende almeno una pompa.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo di pressione 64 comprende l'unità di pressione 65 ed almeno un'unità di pressione 65a collegate, ciascuna, al rispettivo ugello di alimentazione pressione 61 e 61a. Le unità di pressione 65 e 65a sono azionabili separatamente e sono atte, ciascuna, a definire una pressione in corrispondenza del (in particolare un getto d'aria attraverso il) relativo foro di alimentazione pressione 63

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

e 63a.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo di pressione 64 comprende almeno una sorgente di pressione 15 (e/o 25) (figure 1, 2 e 3). Almeno una tra le unità di pressione 65 e 65a comprende un relativo condotto (in particolare, per l'unità di pressione 65, un primo tratto del condotto 16; per l'unità di pressione 65a, un primo tratto del condotto 26), il quale collega la sorgente di pressione 15 e/o 25 al rispettivo ugello di alimentazione pressione 61 e/o 61a.

L'apparato 72 comprende il sensore di pressione 21 per rilevare la pressione lungo il citato condotto; ed il dispositivo di bloccaggio 22, il quale è atto ad interrompere la trasmissione di pressione al rispettivo ugello di alimentazione pressione 61 e/o 61a. Il gruppo di controllo 23 è collegato al sensore di pressione 21 ed al dispositivo di bloccaggio 22 per azionare il dispositivo di bloccaggio 22 in funzione della pressione rilevata.

Secondo alcune forme di attuazione, il sensore di pressione 21 è disposto in corrispondenza del dispositivo di pressione 64.

Vantaggiosamente, il dispositivo di bloccaggio 22 comprende una valvola di sfiato, la quale è, in particolare, disposta lungo il citato condotto (un primo tratto del condotto 16 e/o un primo tratto del condotto

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

26).

Secondo le forme d'attuazione illustrate nelle figure 1 e 2, il dispositivo di bloccaggio 22 è disposto lungo un primo tratto del condotto 16 ed il sensore di pressione 21 è atto a rilevare la pressione all'interno del condotto 16 stesso.

Secondo alcune non illustrate forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende un sensore di pressione per rilevare la pressione in corrispondenza del condotto 26 ed un dispositivo di bloccaggio. Il sensore di pressione ed il dispositivo di bloccaggio sono definiti e disposti in modo analogo a quanto sopradescritto con riferimento al sensore di pressione 21 ed al dispositivo di bloccaggio 22.

Secondo alcune forme di attuazione, l'apparato 72 comprende almeno un dispositivo di vibrazione 17 e/o 17a, il quale è disposto lungo il citato condotto (un primo tratto del condotto 16 e/o un primo tratto del condotto 26) ed è atto a fare variare in modo oscillante la pressione definita dalla sorgente di pressione 15 e/o 25 in corrispondenza del rispettivo foro di alimentazione pressione 63 e/o 63° (figura 3).

Vantaggiosamente, il dispositivo di vibrazione 17 e/o 17a comprende una pompa a diaframma.

Vantaggiosamente, l'apparato 72 comprende due dispositivi di vibrazione 17 e 17a, i quali sono disposti

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

lungo un primo tratto del condotto 16 ed un primo tratto del condotto 26, rispettivamente. I dispositivi di vibrazione 17 e 17a sono atti a fare variare in modo oscillante la pressione definita dalle relative sorgenti di pressioni 15 e 25 in corrispondenza dei fori di alimentazione pressione 63 e 63a, rispettivamente.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo di pressione 87 comprende almeno quattro unità aspiranti 41 collegate, ciascuna, ad un rispettivo ugello di attuatore 36. Le unità aspiranti 41 sono azionabili separatamente una dalle altre e sono atte, ciascuna, ad definire almeno una aspirazione in corrispondenza di un relativo foro 39 attuatore.

Vantaggiosamente, il dispositivo di pressione 87 comprende almeno una sorgente di aspirazione 43. Almeno una delle unità aspiranti 41 comprende un rispettivo condotto 42, il quale collega la sorgente di aspirazione 43 al rispettivo ugello di attuatore 36; ed un dispositivo di bloccaggio (di per sé noto e non illustrato), il quale è atto ad interrompere la trasmissione dell'aspirazione al detto rispettivo ugello attuatore 36.

Vantaggiosamente, il citato dispositivo di bloccaggio comprende un elemento scelto in un gruppo consistente di: una valvola disposta lungo il condotto 42, ed un azionamento della sorgente di pressione 43, il quale

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

azionamento è atto ad attivare o a disattivare la sorgente di pressione 43 stessa.

Secondo alcune forme di attuazione, almeno uno degli ugelli attuatori 36 comprende (figure 14 e 15) un relativo elemento di pressione meccanico 34 il quale è atto ad esercitare una pressione attraverso il rispettivo foro 39 attuatore verso l'esterno.

Vantaggiosamente, l'elemento di pressione meccanico 34 comprende una molla, in corrispondenza di una estremità esterna della quale è disposto l'elemento di tenuta 40.

Vantaggiosamente, uno o più degli ugelli attuatori 36 comprende un elemento cavo 37 per alloggiare l'elemento di pressione meccanico 34 e per collegare la rispettiva unità aspirante 41 al relativo foro 39 attuatore. L'elemento cavo 37 è dotata di una estremità presentante il relativo foro 39 attuatore.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende almeno un elemento di pressione meccanico 46 per spingere uno o più degli ugelli attuatori 36 verso il dispositivo microfluidico. Vantaggiosamente, l' elemento di pressione meccanico 46 comprende (in particolare, è costituito da) una molla.

Vantaggiosamente, l'apparato 72 comprende una pluralità di elementi di pressione meccanici 46, ciascuno, per spingere un rispettivo ugello attuatore 36 verso il

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

dispositivo microfluidico.

Secondo alcune forme d'attuazione, uno o più (in particolare tutti) degli attuatori fluidodinamici 35 è definito come sopra descritto in relazione al sistema 1.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende almeno un elemento di pressione meccanico 68 e/o 68a per spingere almeno un rispettivo ugello di alimentazione pressione 61 e/o 61a verso il dispositivo microfluidico.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende il gruppo di raffreddamento 50, il quale è atto a raffreddare almeno una parte del dispositivo microfluidico. In particolare, la parte del dispositivo microfluidico da cui viene assorbito calore è l'unità di separazione 3.

Vantaggiosamente, il gruppo di raffreddamento 50 è definito in accordo con quanto descritto in relazione al sistema 1.

In particolare, il gruppo di raffreddamento 50 comprende un piatto di raffreddamento 51 presentante una superficie attiva 52 atta a assorbire calore dal dispositivo microfluidico; ed una superficie di scarico 53 per cedere calore. La superficie attiva 52 è di dimensioni inferiori alla superficie di scarico 53.

Vantaggiosamente, il gruppo di raffreddamento 50 comprende un Peltier ed un dispositivo scambiatore di

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

calore (in particolare, il circuito 55 di condizionamento) collegato al Peltier.

Vantaggiosamente, l'apparato 72 comprende almeno un (in particolare, una pluralità) elemento di pressione meccanico 60 per spingere il gruppo di raffreddamento 50 verso il dispositivo microfluidico.

Secondo una forma d'attuazione non illustrata, l'apparato 72 comprende almeno un ulteriore ugello attuatore 36 ed una ulteriore relativa unità aspirante 41.

Secondo alcune forme d'attuazione, il gruppo di controllo 23 è collegato ai dispositivi di pressione 64 e 87 per regolare la pressione e/o l'aspirazione in corrispondenza di ciascun ugello attuatore 36 e/o ciascun ugello di alimentazione pressione 61 in modo indipendente uno dagli altri.

Secondo alcune forme d'attuazione, l'apparato 72 comprende un'unità di raccolta per raccogliere un liquido di trasporto contente almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato. In particolare, l'unità di raccolta comprende una sede 69 (figura 13), la quale è atta ad alloggiare un raccoglitore asportabile (ad esempio una provetta), di tipo di per sé noto e non illustrato, ed è disposta in corrispondenza dell'uscita 8.

Vantaggiosamente, l'apparato 72 comprende un rilevatore per rilevare (ad esempio una telecamera di per

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

sé nota e non illustrata) quando una goccia del detto liquido di trasporto entra nell'unità di raccolta.

Tale rilevatore è collegato al gruppo di controllo 23. In uso, quando il rilevatore avverte il passaggio di una goccia, il gruppo di controllo interrompe il deflusso del liquido di trasporto dalla camera 5 di recupero.

Secondo alcune forme d'attuazione, parti del dispositivo 73 e/o dell'apparato 72 sono definite, anche solo relativamente ad alcuni aspetti presi separatamente dagli altri, come le parti analoghe del sistema 1 e/o viceversa.

Dispositivo microfluidico

Secondo un ulteriore aspetto della presente invenzione, viene fornito un dispositivo 73 per il sostanziale isolamento di particelle C1 di almeno un tipo determinato da un campione. Il dispositivo 73 comprende l'ingresso (inlet) 2, attraverso il quale, in uso, il campione viene inserito nel dispositivo 73; un'unità di separazione 3, la quale è atta a separare in modo sostanzialmente selettivo almeno una parte delle particelle C1 del tipo determinato da ulteriori particelle C2 del campione; ed un'uscita 8, la quale è collegata all'unità di separazione 3 e attraverso la quale, in uso, almeno parte delle particelle C1 del tipo determinato separate in modo sostanzialmente selettivo escono dal dispositivo 73.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Il dispositivo 73 comprende una porzione valvolare 74 disposta tra l'ingresso 2 e l'unità di separazione 3; ed una porzione valvolare 77 disposta tra l'uscita 8 e l'unità di separazione 3. In particolare, il dispositivo 73 comprende una porzione valvolare disposta tra ciascuna apertura del dispositivo 73 verso l'esterno e l'unità di separazione 3.

Secondo alcune forme d'attuazione, il dispositivo 73 è definito, anche solo relativamente ad alcuni aspetti presi separatamente dagli altri, come in accordo con il quarto aspetto della presente invenzione.

Vantaggi

È importante sottolineare che la presente invenzione presenta diversi vantaggi, oltre a quelli sopra indicati, rispetto allo stato dell'arte. Tra questi citiamo i seguenti.

Le particelle C1 del tipo determinato possono venire portate nella camera 5 recupero mentre l'unità di separazione 3 è isolata dall'esterno (le valvole 9-10 sono chiuse). In questo modo, viene sostanzialmente impedita l'evaporazione sia della parte liquida del campione che del liquido di trasporto. Evitando l'evaporazione, non si verificano correnti di ritorno dalla camera 5 di recupero alla camera 4 principale (o viceversa) riducendo il rischio che le particelle C1 e/o C2 si muovano in modo non

controllato (specificamente, particelle C1 portate nella camera 5 di recupero non tornano della camera 4 principale; analogamente ulteriori cellule C2 non vengono richiamate nella camera 5 di recupero). Inoltre, evitando l'evaporazione, non si verifica un aumento della concentrazione dei sali nell'unità di separazione 3. L'aumento della concentrazioni dei sali può causare aumenti della conducibilità e della dissipazione locale di potenza con problemi relativi (danneggiamento di eventuali elettrodi presenti nelle camere 4 e 5).

Le diverse fasi vengono controllate dal gruppo di controllo 23. Ciò determina una maggiore riproducibilità (precedentemente, un operatore inseriva il campione ed il liquido di recupero mediante una pipetta).

La presenza di anidride carbonica all'interno del dispositivo 73 prima del caricamento del campione riduce il rischio che si formino delle bolle dentro le camere 4 e 5. Le bolle riducono il volume del campione analizzato e possono impedire il recupero delle particelle C1 del tipo determinato soprattutto se si dispongono in corrispondenza del canale 6.

Il campione entra in contatto solo con il dispositivo 73, il quale è vantaggiosamente usa e getta (disposable). In questo modo non è necessario lavare le varie parti del sistema 1 e si riducono drasticamente i rischi di

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

contaminazione tra campioni successivi. A questo riguardo, è importante anche sottolineare che la maggior parte delle componenti attive, più complesse e costose sono disposte nell'apparato 72 che non ha un utilizzo usa e getta.

Il sistema 1 presenta piccolissimi volumi morti grazie al fatto che il campione viene mantenuto nel serbatoio 13 molto vicino all'unità di separazione 3. I serbatoi 13 e 14 sono entrambi parti del dispositivo 73.

Ulteriori caratteristiche della presente invenzione risulteranno dalla descrizione che segue di alcuni esempi meramente illustrativi e non limitativi della realizzazione del dispositivo 73 e del funzionamento del sistema 1.

Esempio 1

Questo esempio descrive la realizzazione di un chip 91 a base di silicio dell'unità di separazione 3. Il chip è meglio rappresentato nella figura 9 ed in esploso nelle figura 8.

Il chip ha una larghezza di 19,9 mm una lunghezza di 24,5 mm ed uno spessore di 1,2 mm e comprende un substrato 92 di silicio (spessore 600μm); un elemento distanziatore 93, che delimita le camere 4 e 5 ed il canale 6 (spessore 90μm); ed un coperchio 94 trasparente, in particolare in borosilicato o quarzo (500 μm).

Il substrato 92 è stato ottenuto utilizzando tecnologie CMOS (Complementary metal oxide semiconductor)

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

standard. Sul substrato 92 è stato laminato a 90° uno strato di foto-polimero (Dryresist® in particolare Ordyl SY300, Elga Europe) (spessore 90 μm). Lo strato di fotopolimero è stato, quindi, parzialmente protetto da una maschera fotolitografica (una trasparenza - slide - trasparente stampata con una risoluzione di 24000 DPI) e sottoposto a radiazioni UV (150W) per 15 secondi in modo che le aree dello strato di fotopolimero esposte (vale a dire non coperte dalle parti scure della maschera) polimerizzino. Una volta effettuata selettivamente la polimerizzazione, la parte non polimerizzata è stata rimossa immergendo il substrato laminato in uno sviluppatore (developer) (BMR developer - miscela di xilene, 2-butossietilacetato, miscela di isomeri).

A questo punto, il substrato 91 con il relativo elemento distanziatore 93 così ottenuto è stato messo in un forno a 50°C per 1 ora per ottenere un essiccamento.

Il coperchio 94 (in vetro) (spessore 500μm) è stato realizzato mediante fresatura. I fori del coperchio 94 presentavano una forma tronco-conica con la parte inferiore avente diametro di 700 μm e la parte superiore avente diametro di 1200 μm.

Il coperchio 94 è stato premuto contro l'elemento distanziatore 8 per 80 minuti alla temperatura di 95°C per ottenere un legame termico.

Esempio 2

Questo esempio descrive un PCB 95 (Printed Circuit Board) parzialmente illustrato in prospettiva nella figura 4.

Il PCB 95 comprende quattro strati di rame preparati utilizzando tecniche foto-litogrfiche di tipo noto (si veda ad esempio l'esempio precedente).

Il PCB 95 presenta una struttura principale in materiale composito di polimero epossidico e fibra di vetro. La forma del PCB 95 illustrata nella figura 4 viene ottenuta fresando la struttura principale.

Gli strati di rame sono annegati nella struttura principale e sono esposti verso l'esterno con quattrocento piastre (pad) orientate (nella figura 4) verso l'alto (vale a dire verso il chip 91) e disposte (duecento, in corrispondenza della zona indicata con la freccia 96 e, duecento, in corrispondenza della zona indicata dalla freccia 97) da bande opposte di un'apertura 98 del PCB 95 stesso.

Queste piastre sono elettricamente collegate ad ulteriori quattrocento piastre (pad) orientate (nella figura 4) verso il basso; duecento delle ulteriori piastre sono disposte in corrispondenza di un bordo del PCB nella zona indicata dalla freccia 99; duecento delle ulteriori piastre sono disposte in corrispondenza di un bordo del PCB

95 nella zona indicata dalla freccia 100.

Le piastre disposte in corrispondenza delle zone 96 e 97 sono rivestite d'oro atte a collegare elettricamente il PCB 95 al chip 91.

Le piastre disposte in corrispondenza delle zone 98 e 99 sono rivestite d'oro e fungono da connettori elettrici per collegare elettricamente il dispositivo 73 all'apparato 72 ed, in particolare, al gruppo di controllo 23.

Il PCB 95 presentava uno spessore di circa 1,6 mm.

Esempio 3

Questo esempio descrive il collegamento tra il chip 91 ed il PCB 95.

Il chip 91 è stato allineato al centro del PCB 95 utilizzando un dispositivo "pick & place" ed incollato sul PCB 95 stesso con un adesivo.

Le quattrocento piastre del PCB 95 disposte in corrispondenza delle zone 96 e 97 sono state collegate al chip 91 mediante tecniche note di "wire bonding" con fili di alluminio, ciascuno dei quali collegava una rispettiva piastra ad un lato 101 o 101a del chip 95. I fili sono stati, quindi, ricoperti con una resina epossidica che è stata fatta polimerizzare in modo da proteggere i fili stessi.

A questo punto, un 1μL di vernice contenente argento è stata introdotta in ciascuna di quattro camere 102 (figura

9) disposte in corrispondenza degli angolo del chip 91 attraverso quattro dei fori del coperchio 94 (tali fori sono indicati nelle figure 8 e 9 con il numero 103). La vernice è stata utilizzata per creare un collegamento elettrico tra il substrato 92 di silicio ed il coperchio 94.

Le figure 29 e 30 illustrano una variante del chip 91, Tale variante è producibile ed assemblabile in modo da ottenere il dispositivo 73 illustrato nella figura 31 in maniera analoga a quanto descritto negli esempi da 1 a 3.

Esempio 4

Questo esempio descrive la realizzazione di un piatto 104 intermedio di PMMA, un piatto 105 superiore di plexiglass, ed un piatto 106 di supporto di plexiglass (figura 4).

I piatti 104, 105 e 106 presentavano uno spessore di circa 1 mm e sono ottenuti mediante fresatura. Dopo la fresatura è stata effettuata una satinatura per rimuovere le bave derivanti dalla fresatura. I piatti 104, 105 e 106 sono stati quindi lavati con bagno ultrasonico.

Il piatto 104 è illustrato dall'alto nella figura 5 e dal basso nelle figura 6. Come si può facilmente notare, sulla superficie superiore del piatto 104 (figura 5) sono stati ricavati parte dei canali (ad esempio 78, 80, 81), i serbatoi (ad esempio 13, 7' e 14) ed i fori (ad esempio 79,

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

82, 107, 107', 107'' e 108) del dispositivo 73. I fori 107 sono fori passanti attraverso l'intero spessore del piatto 104 e sono a coppie elementi componenti delle porzioni valvolari 74, 75, 76 e 77 (figura 21). Il foro 108 è disposto in corrispondenza dell'uscita 8; attraverso il foro 108, in uso, defluisce il liquido di trasporto assieme alle particelle C2. I fori 107' e 107'' sono fori passanti di collegamento al chip 91.

Sulla superficie inferiore del piatto 104 attorno a ciascuna coppia dei fori 107 ed attorno al foro 108 è disposta una rispettiva cavità 109. Ciascuna cavità è di forma anulare e presenta un diametro di circa 0,5 mm ed una profondità di circa 0,25 mm. La presenza delle cavità 109 riduce l'area che gli elementi di chiusura 30 e l'anello di tenuta 70 devono premere per rimanere in tenuta (per quanto riguarda gli elementi di chiusura 30 per chiudere i fori 107).

I piatti 104, 105 e 106 presentavano rispettivi fori 109 passanti. Durante l'assemblaggio del dispositivo 75, i piatti 104, 105 e 106 sono stati disposti in modo che aste lineari fisse si estendessero attraverso i fori 110, in questo modo è possibile allineare con precisione i piatti 104, 105 e 106. I piatti 104, 105 e 106 presentavano rispettive aperture centrali attraverso le quale, una volta assemblato il dispositivo 73, era possibile osservare il

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

contenuto delle camere 4 e 5.

Il piatto 106 presenta delle aperture 111 che, una volta assemblato il dispositivo 73 permettono l'esposizione verso l'esterno degli elementi di chiusura 30 e degli anelli di tenuta 66 e 70. Attorno a ciascuna apertura 111 è disposta una rispettiva cavità anulare che permette un migliore posizionamento ed una migliore tenuta degli elementi di chiusura 30 e degli anelli di tenuta 66 e 70. In pratica, tali cavità fungono da alloggiamenti per gli elementi di chiusura 30 e gli anelli di tenuta 66 e 70.

Anche i menzionati canali, serbatoi, cavità, aperture e fori sono stati ricavati per microfresatura.

Le figure 32 e 33 illustrano una variante del piatto 104. In questo caso, ciascuna cavità 109 presenta una canale 119 perimetrale, il quale è, in particolare, sostanzialmente circolare. Per ciascuna porzione valvolare 74, 75, 76 e 77, un foro 107 è disposto in corrispondenza del canale 119 ed un foro 107 è disposto nella cavità 109 fuori dal canale 119. Questa particolare configurazione permette di ridurre le perturbazioni (in particolare, movimento - aspirazione - di fluido) durante l'apertura della valvola V (figure 14 e 15). L'apertura della valvola V è relativamente graduale e, quindi, la depressione che si crea in corrispondenza della valvola V stessa durante l'apertura è relativamente bassa.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

Esempio 5

Gli elementi di chiusura 30, gli anelli di tenuta 66 e 70 ed un elemento di collegamento 112 sono stati ottenuti per mezzo di tecniche di per sé note di stampaggio ad iniezione. Il materiale utilizzato è stato l'Elastosil® trattato in modo da ottenere un grado di durezza di 60 shore per gli elementi di chiusura 30 e 50 shore per gli anelli di tenuta 66 e 70 e l'elemento di collegamento 112.

L'elemento di collegamento 112 presentava un'apertura centrale 113 e dei fori 114 passanti, i quali, una volta assemblato il dispositivo 73 collegano il chip 91 al piatto 104. In particolare, i fori 114 collegano i fori 107' con fori 115 del substrato 92 ed i fori 107'' con fori 116 del substrato 92.

Esempio 6

Questo esempio descrive l'assemblaggio delle diverse componenti sopradescritte per ottenere il dispositivo 73. Come già accennato, per allineare i diversi componenti sono state utilizzate delle aste lineari fisse.

I piatti 104 e 105 sono stati collegati legame ad etanolo.

Uno strato 117 di biadesivo (Duplobond® della Elcom SpA - 0,325 mm di spessore) è stato applicato sulla faccia superiore del piatto 106. Lo strato 117 di biadesivo adeguatamente conformato (in particolare con un apertura

centrale e dei fori corrispondenti ai fori 110) era stato, ad esempio, ottenuto da un nastro continuo che era stato tagliato mediante laser od una fustellatrice.

Gli elementi di chiusura 30, gli anelli di tenuta 66 e 70 e l'elemento di collegamento 111 sono stati montati sul piatto 106. A questo punto, uno strato di organosilano è stato depositato sulla superficie inferiore del piatto 104 ed è stato rimosso selettivamente mediante plasma per effettuare un legame solo dove necessario (un metodo di legame selettivo tra gli elementi di silicone ed il PMMA - polimetilmetacrilato - è descritto nella domanda di brevetto IT BO2007A000588 il cui contenuto viene qui completamente richiamato per completezza di descrizione). In particolare, l'organo silano è stato rimosso o non è stato applicato in corrispondenza dei fori di alimentazione 79 e 82 e dei fori 107, 107' e 107''. Gli elementi di chiusura 30, gli anelli di tenuta 66 e 70 e l'elemento di collegamento 111 sono stati attivati mediante plasma. I piatti 104 e 106 sono stati portati in contatto e pressati uno contro l'altro.

A questo punto, un'ulteriore strato 118 di biadesivo (Duplobond® della Lohmann SpA - 0,325 mm di spessore) è stato applicato sulla faccia inferiore del piatto 106.

Il piatto 106 è stato, quindi pressato contro la faccia superiore del PCB 95, sulla quale faccia era già

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

stato montato il chip 91.

Esempio 7

Questo esempio descrive delle prove effettuate per ottimizzare il funzionamento del sistema 1.

La sedimentazione delle particelle C1 e/o C2 rappresenta una delle cause dell'adesione delle particelle nel serbatoio 13 e/o nel condotto 78.

Solitamente, prima che il campione venga inserito nella camera 4, il campione stesso rimane nel serbatoio 13 per parecchio tempo (in particolare, approssimativamente per mezz'ora). Durante questo periodo, le particelle C1 e C2 si depositano sul fondo del serbatoio. Per staccare le particelle dal fondo è solitamente necessaria un'elevata forza. Inoltre, le particelle C1 e C2 si spostano generalmente più lentamente della parte liquida del campione all'interno della camera 4. Pertanto, le particelle C1 e C2 entrano nella camera 4 quando la camera 4 è già stata almeno in parte occupata dalla parte liquida del campione e riescono a distribuirsi solo nella parte centrale della camera 4 e non in modo uniforme (non riescono a raggiungere le parti periferiche angolari della camera 4). Si noti che c'è anche il forte rischio che non tutte le particelle C1 e C2 raggiungano la camera 4.

La non uniforme distribuzione delle particelle C1 e C2 all'interno della camera 4 rende più difficoltosa la

separazione delle particelle C1 dalla particelle C2 ed il trasferimento delle particelle C1 stesse nella camera 5.

Sono state, pertanto, effettuate due prove di caricamento della camera 4 mantenendo spento ed azionato (ad una frequenza di 30Hz), rispettivamente, il dispositivo di vibrazione 17 (comprendente una micropompa Thinxxs® MDP2205 cortocircuitata).

I campioni utilizzati sono stati preparati utilizzando una cultura di cellule K562 (la concentrazione dei campioni era di circa 1250 particelle/μL) marcate con DAPI.

I risultati delle prove con il dispositivo di vibrazione 17 disattivato sono illustrati nelle fotografie della colonna sinistra della figura 22. I risultati delle prove con il dispositivo di vibrazione 17 attivato sono illustrati nelle fotografie della colonna destra della figura 22. Le fotografie sono state effettuate in diverse condizioni ottiche.

Come si può facilmente notare, quando il dispositivo di vibrazione 17 è stato attivato le particelle C1 e C2 si sono distribuite in modo più omogeneo anche all'interno degli angoli della camera 4 portando ad una rilevante riduzione dei volumi morti.

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

RIVENDICAZIONI

1.- Apparato per l'isolamento di cellule (C1) di almeno un tipo determinato da un campione; l'apparato (72) comprendendo una sede (84) per alloggiare un dispositivo (73) micorfluidico per l'isolamento delle cellule (C3) del tipo determinato dal campione; connettori elettrici (85) per collegare elettricamente l'apparato (72) al dispositivo (73) microfluidico; un gruppo di controllo (23) collegato ai connettori elettrici (85); almeno quattro attuatori fluododinamici (35), ciascuno dei quali è atto a costituire una parte di una rispettiva valvola (V; 9, 10, 11, 12) e comprende un rispettivo ugello attuatore (36), che presenta un rispettivo foro (39) attuatore; almeno due ugelli di alimentazione pressione (61, 61a), i quali presentano, ciascuno, un rispettivo foro di alimentazione pressione (63, 63a); almeno un primo dispositivo di pressione (64) collegato agli ugelli di alimentazione pressione (61, 61a) per determinare una pressione in corrispondenza dei fori di alimentazione pressione (63, 63a); ed almeno un secondo dispositivo di pressione (87), il quale è collegato agli ugelli attuatori (36) ed è almeno atto ad determinare una aspirazione in corrispondenza dei fori (39) attuatori.

2.- Apparato secondo la rivendicazione 1, e comprendente un gruppo di pressione (90) comprendente il primo ed il secondo dispositivo di pressione (64, 87); il

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

gruppo di pressione (90) comprendendo almeno una pompa.

3.- Apparato secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui il primo dispositivo di pressione (64) comprende una prima ed una secondo unità di pressione (65, 65a) collegate, ciascuna, ad un rispettivo ugello di alimentazione pressione (61; 61a); la prima e la seconda unità di pressione (65, 65a) essendo azionabili separatamente ed essendo atte, ciascuna, a definire una pressione in corrispondenza di (in particolare un getto d'aria attraverso) un relativo foro di alimentazione pressione (63; 63a).

4.- Apparato secondo la rivendicazione 3, in cui il primo dispositivo di pressione (64) comprende almeno una sorgente di pressione (15; 25); almeno una tra la prima e la seconda unità di pressione (65, 65a) comprendendo un relativo primo condotto, il quale collega la sorgente di pressione (15; 25) al rispettivo ugello di alimentazione pressione (61; 61a); un sensore di pressione (21) per rilevare la pressione lungo il primo condotto; ed un primo dispositivo di bloccaggio (22), il quale è atto ad interrompere la trasmissione di pressione al detto rispettivo ugello di alimentazione pressione (61; 61a); il gruppo di controllo (23) essendo collegato al sensore di pressione (21) ed al primo dispositivo di bloccaggio (22) per azionare il primo dispositivo di bloccaggio (22) in

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

funzione della pressione rilevata.

5.- Apparato secondo la rivendicazione 4, in cui il primo dispositivo di bloccaggio (22) comprende una valvola di sfiato, la quale è, in particolare, disposta lungo il primo condotto.

6.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui il primo dispositivo di pressione (64) comprende almeno una sorgente di pressione (15; 25); almeno una tra la prima e la seconda unità di pressione (65, 65a) comprendendo un relativo primo condotto, il quale collega la sorgente di pressione (15;25) al rispettivo ugello di alimentazione pressione (61; 61a); ed almeno un dispositivo di vibrazione (17; 17a), il quale è disposto lungo il primo condotto ed è atto a fare variare in modo oscillante la pressione definita dalla sorgente di pressione (15; 25) in corrispondenza del rispettivo foro di alimentazione pressione (63; 63a).

7.- Apparato secondo la rivendicazione 6, in cui il dispositivo di vibrazione (17; 17a) comprende una pompa a diaframma.

8.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui il secondo dispositivo di pressione (87) comprende una prima, una seconda, una terza ed almeno una quarta unità aspirante (41) collegate, ciascuna, al rispettivo ugello di attuatore (36); la prima, la seconda,

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

la terza e la quarta unità aspirante (41) essendo azionabili separatamente una dalle altre ed essendo atte, ciascuna, ad definire almeno una aspirazione in corrispondenza di un relativo foro (39) attuatore.

9.- Apparato secondo la rivendicazione 8, in cui il secondo dispositivo di pressione (87) comprende almeno una sorgente di aspirazione (43); almeno una tra la prima, la seconda, la terza e la quarta unità aspirante (41) comprendendo un secondo condotto (42), il quale collega la sorgente di aspirazione (43) al rispettivo ugello di attuatore (36); ed un secondo dispositivo di bloccaggio, il quale è atto ad interrompere la trasmissione dell'aspirazione al detto rispettivo ugello attuatore (36).

10.- Apparato secondo la rivendicazione 9, in cui il secondo dispositivo di bloccaggio comprende un elemento scelto in un gruppo consistente di: una valvola disposta lungo il secondo condotto (42), ed un azionamento della sorgente di pressione (43), il quale azionamento è atto ad attivare o a disattivare la sorgente di pressione (43) stessa.

11.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui almeno un primo ugello attuatore (36) degli ugelli attuatori comprende un relativo primo elemento di pressione meccanico (34) il quale è atto ad esercitare una pressione attraverso il rispettivo foro (39) attuatore

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

verso l'esterno.

12.- Apparato secondo la rivendicazione 11, in cui il primo elemento di pressione meccanico (34) comprende una molla ed, in particolare, un elemento di tenta (40) disposto in corrispondenza di una estremità esterna della molla.

13.- Apparato secondo la rivendicazione 11 o 12, in cui il primo ugello attuatore (36) comprende un elemento cavo (37) per alloggiare il primo elemento di pressione meccanico (34) e per collegare la rispettiva unità aspirante (41) al relativo foro (39) attuatore; l'elemento cavo (37) presentando una estremità presentante il relativo foro (39) attuatore.

14.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, e comprendente almeno un secondo elemento di pressione meccanico (46) per spingere un rispettivo ugello attuatore (36) verso il detto dispositivo (73) microfluidico.

15.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, e comprendente almeno un terzo elemento di pressione meccanico (68) per spingere un rispettivo ugello di alimentazione pressione verso il detto dispositivo (73) microfluidico.

16.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, e comprendente un gruppo di raffreddamento

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

(50), il quale è atto a raffreddare almeno una parte del dispositivo (73) microfluidico.

17.- Apparato secondo la rivendicazione 16, in cui il gruppo di raffreddamento (50) comprende un piatto di raffreddamento (51) presentante una superficie attiva (52) atta ad assorbire calore da almeno una parte del dispositivo (73) microfluidico; ed una superficie di scarico (53) per cedere calore; la superficie attiva (52) essendo di dimensioni inferiori alla superficie di scarico (53).

18.- Apparato secondo la rivendicazione 17, in cui il gruppo di raffreddamento (50) comprende un Peltier ed un dispositivo scambiatore di calore (55) collegato al Peltier.

19.- Apparato secondo una delle rivendicazione da 16 a 18, e comprendente almeno un quarto elemento di pressione meccanico (60) per spingere il gruppo di raffreddamento (50) verso il dispositivo (73) microfluidico.

20.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, e comprendente almeno un ulteriore ugello attuatore ed una ulteriore relativa unità aspirante.

21.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, in cui il gruppo di controllo (23) è collegato al primo ed al secondo dispositivo di pressione (64, 87) per regolare la pressione e/o l'aspirazione in

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

corrispondenza di ciascun ugello attuatore (36) e ciascun ugello di alimentazione pressione (61; 61a) in modo indipendente uno dagli altri.

22.- Apparato secondo una delle rivendicazioni precedenti, e comprendente un'unità di raccolta per raccogliere un liquido di trasporto contente almeno parte delle cellule (C1) del tipo determinato.

23.- Apparato secondo la rivendicazione 22, e comprendente un rilevatore per rilevare quando una goccia del detto liquido di trasporto entra nell'unità di raccolta.

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.

Simone MANGINI

Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

MECH-ADAPTOR

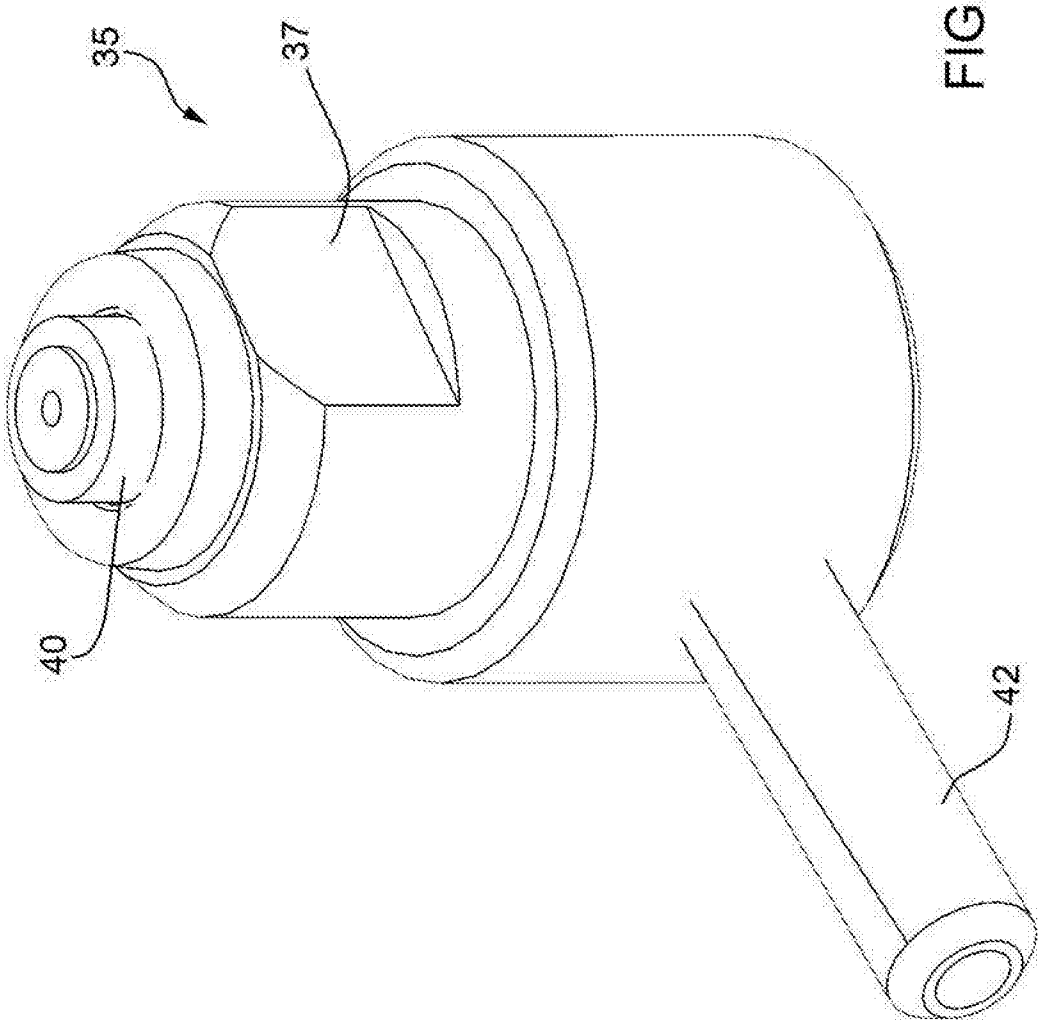

FIG.17

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.

Simone MANGINI

(Iscrizione Albo nr. 1001)

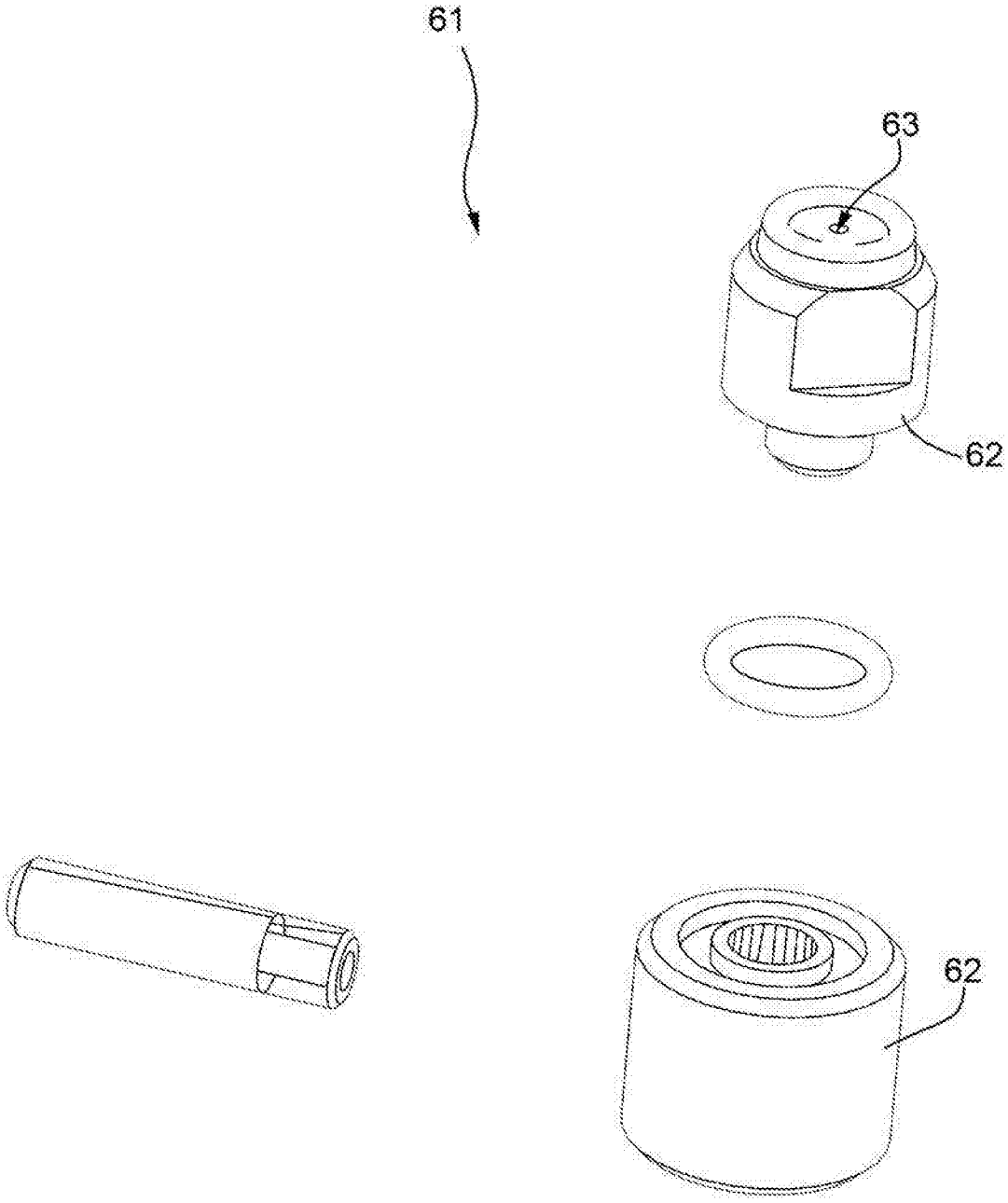

FIG.18

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

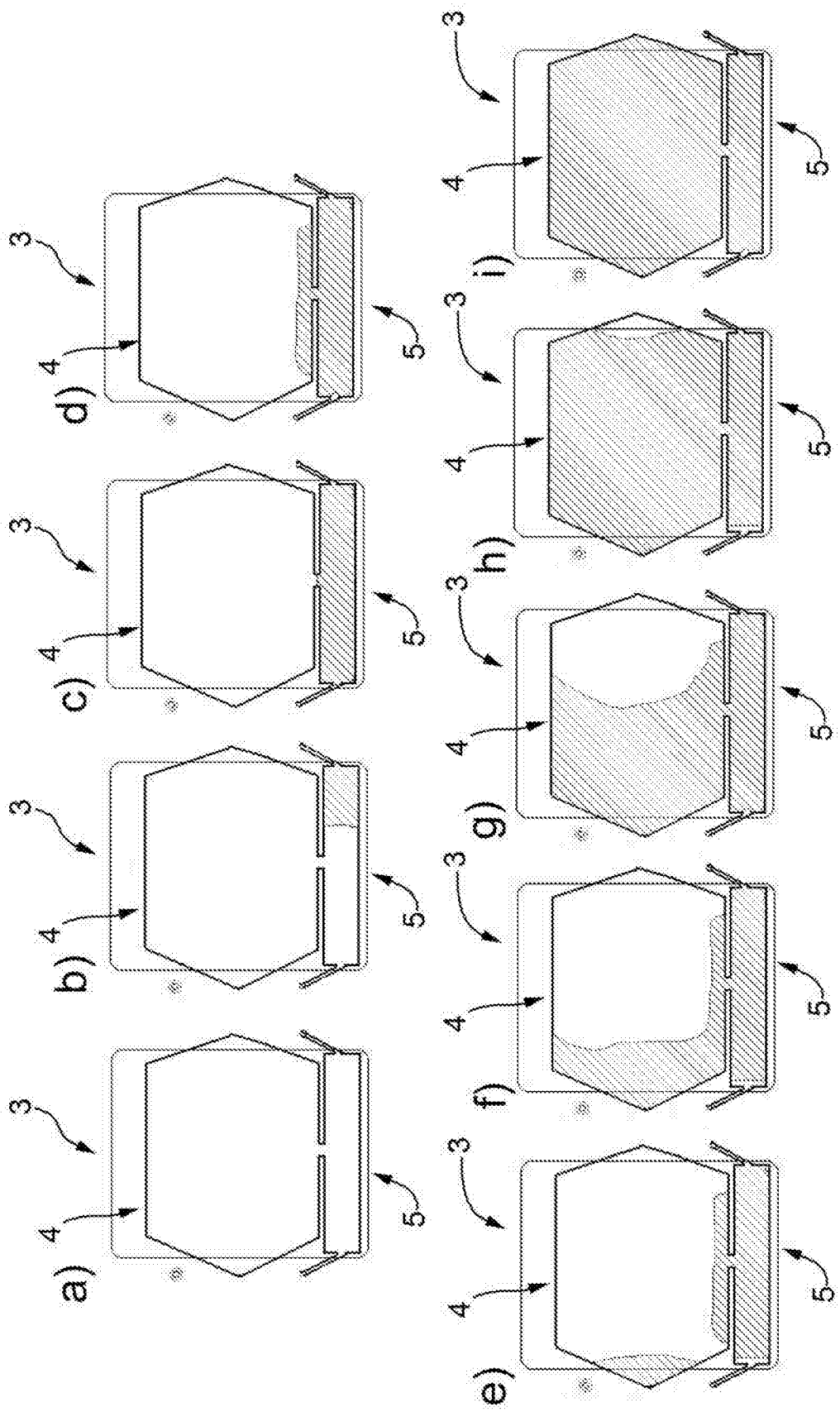

FIG.19

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

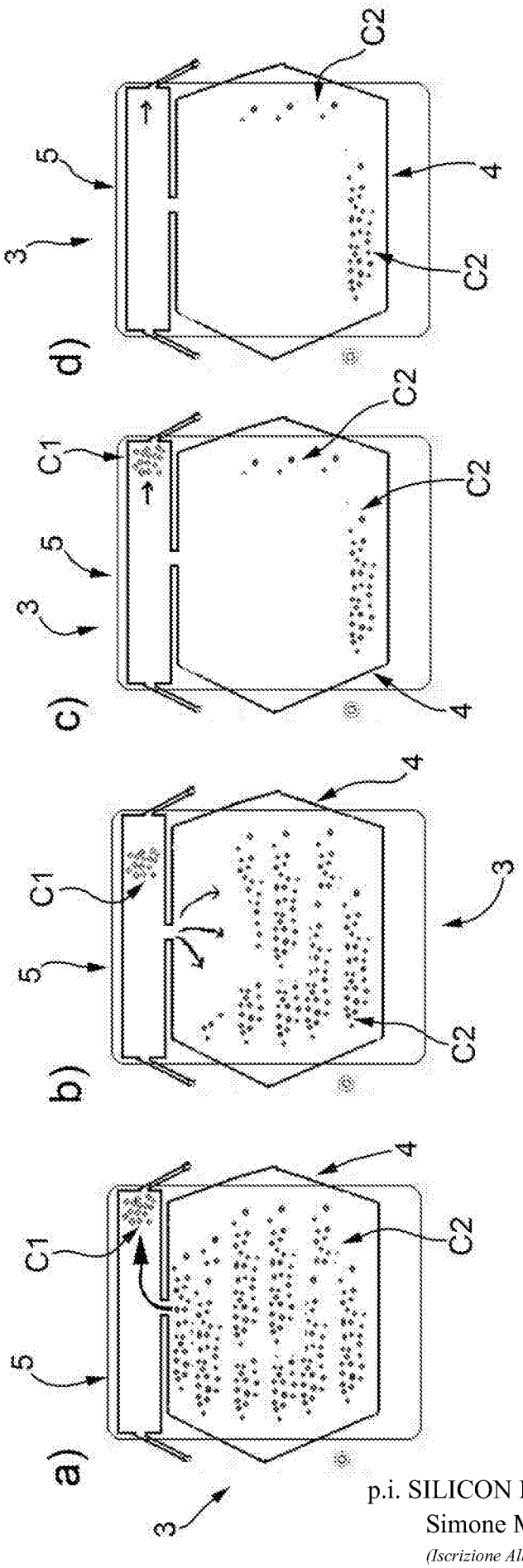

FIG.20

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

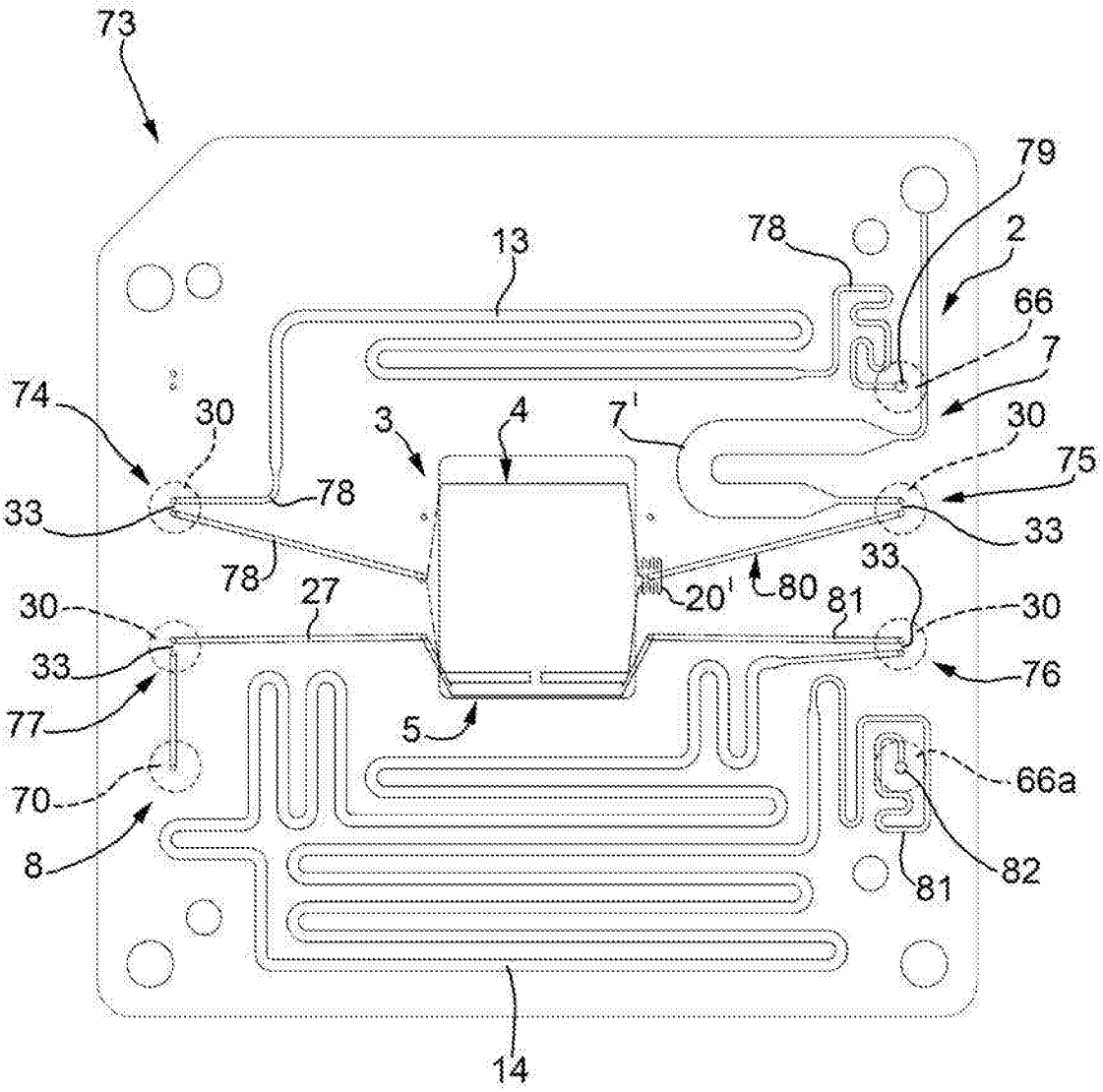

FIG.21

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

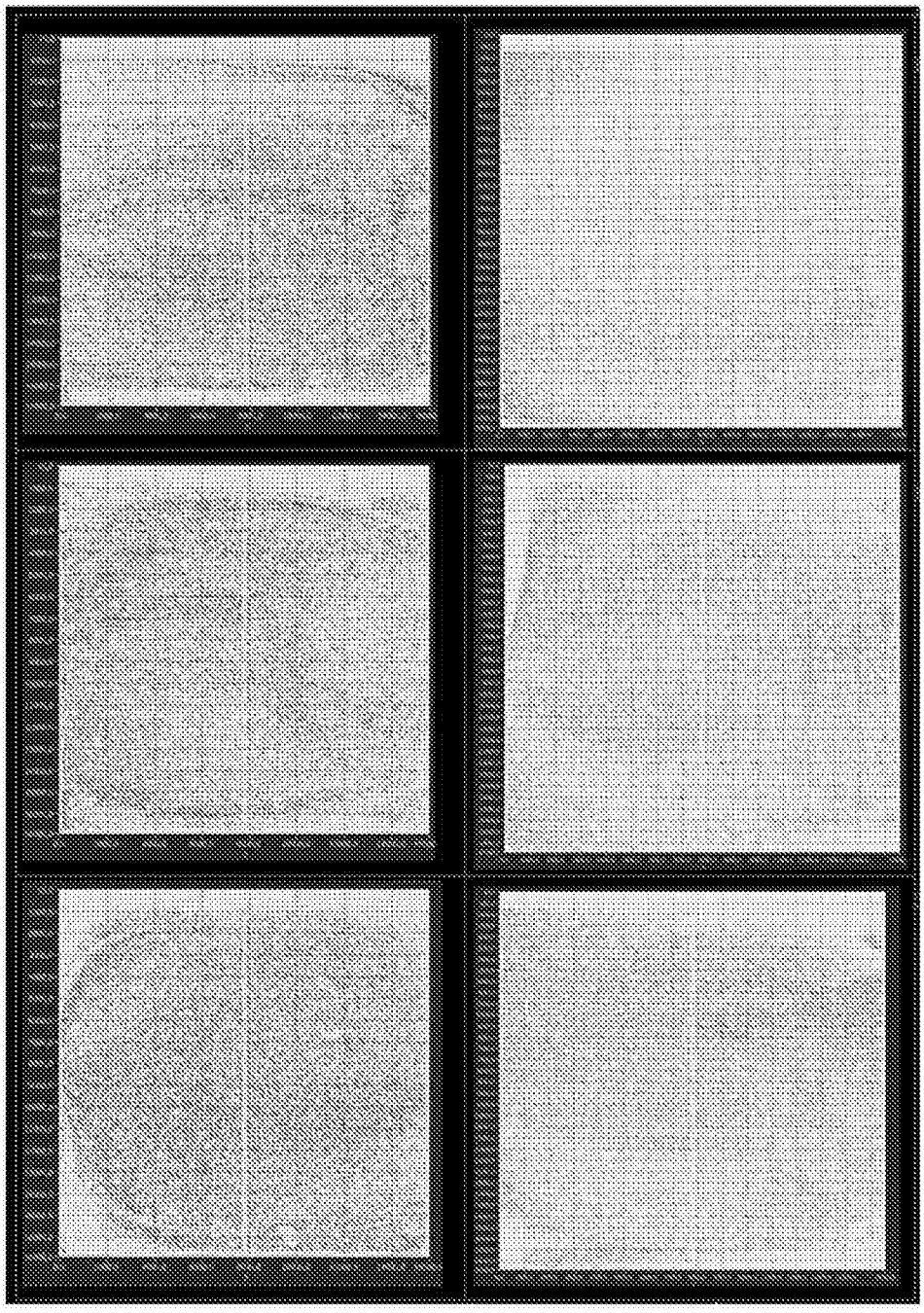

FIG.22

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

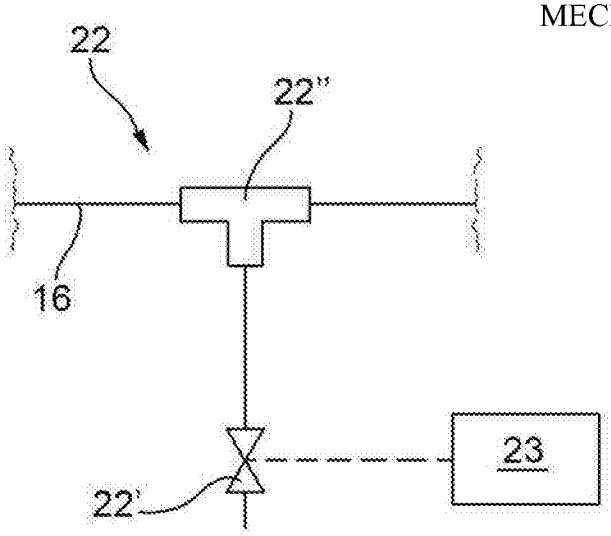

FIG.23

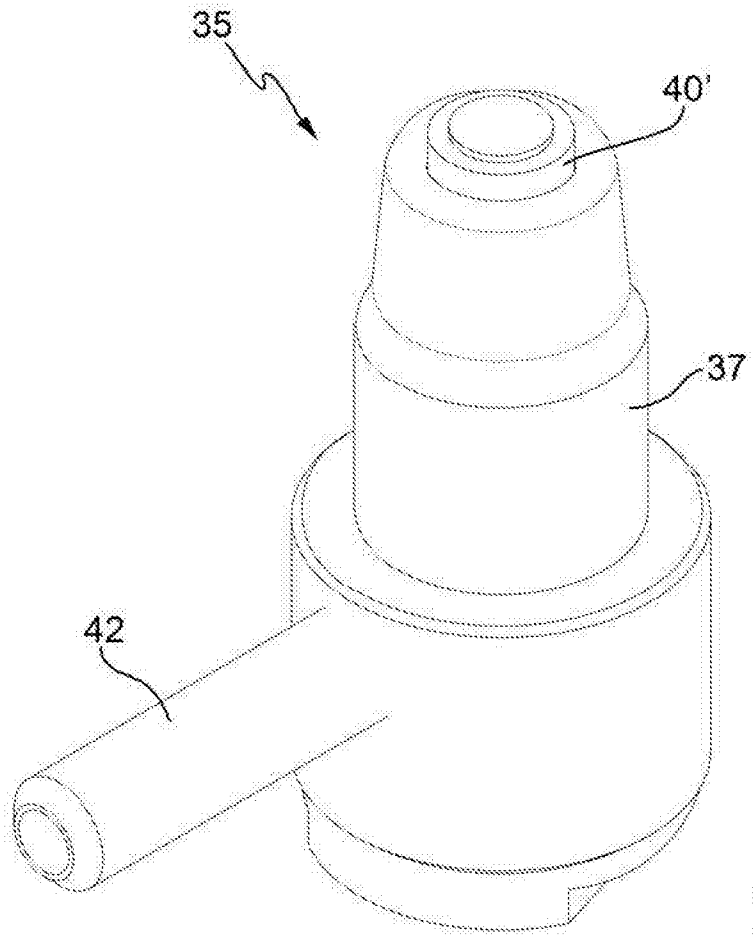

FIG.24

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

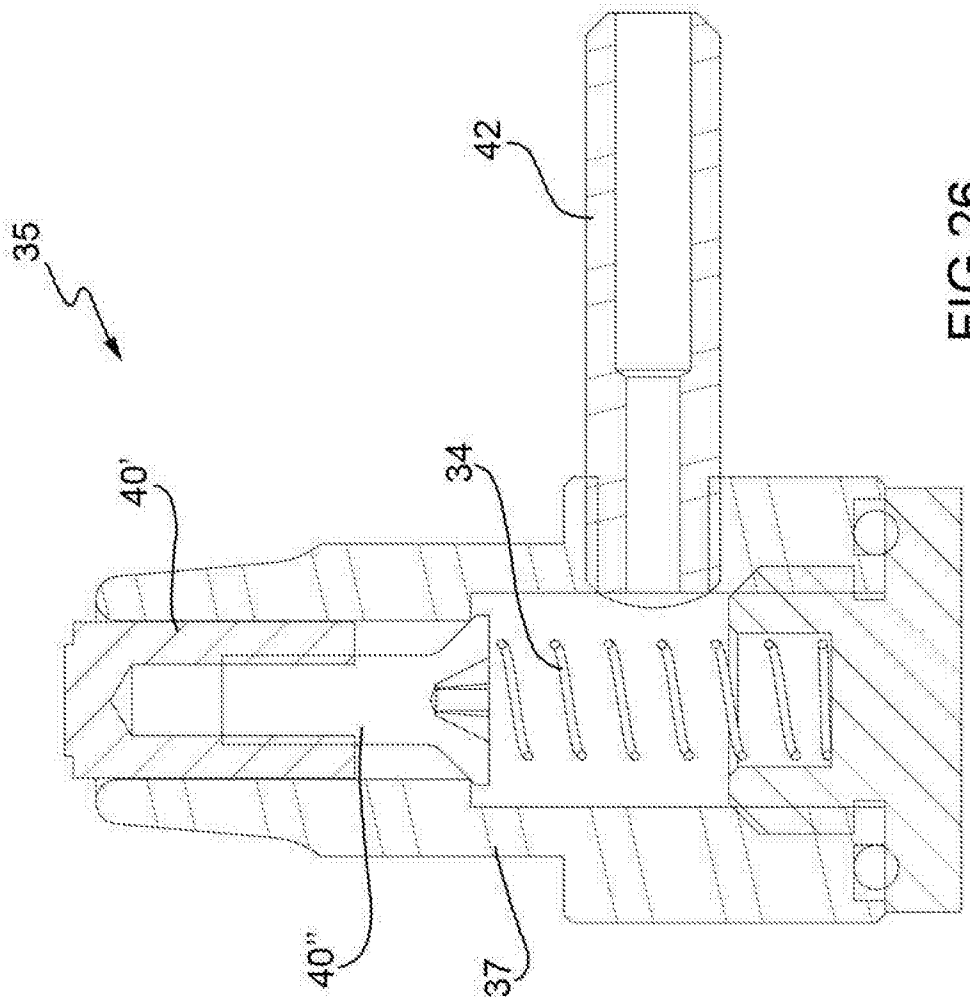

FIG.26

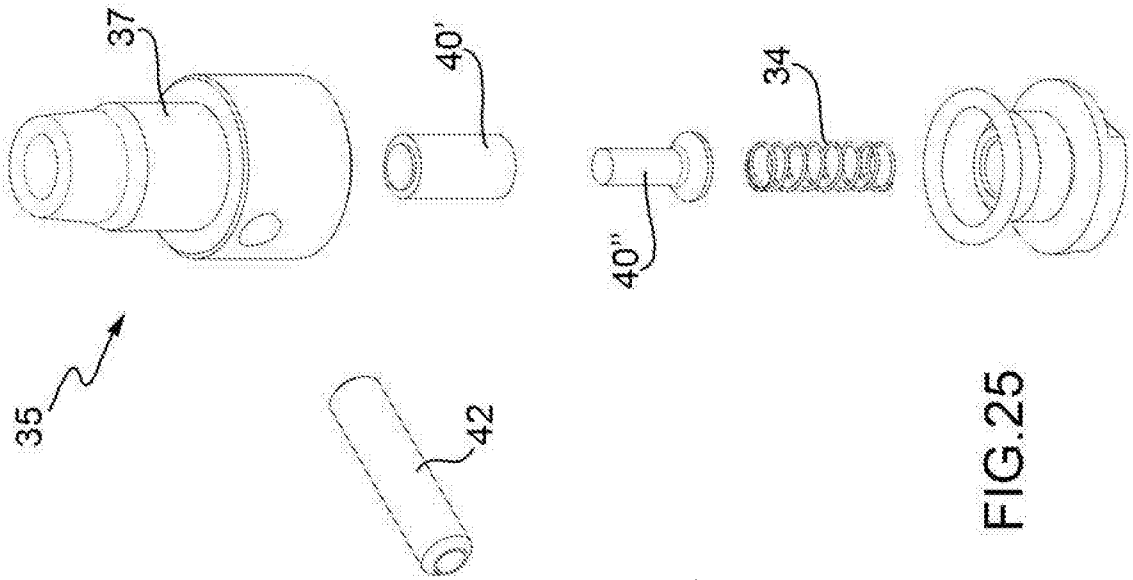

FIG.25

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

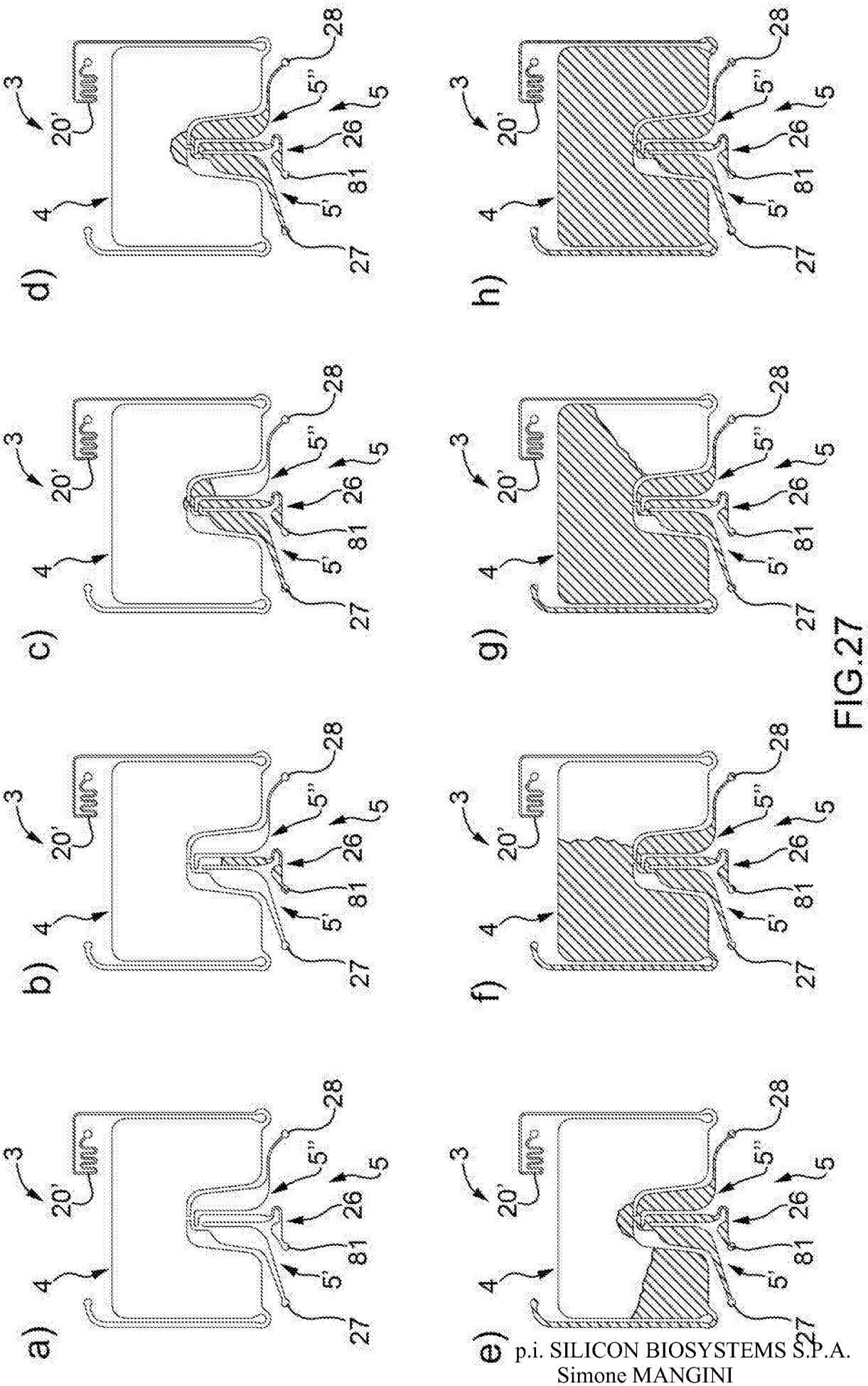

FIG.27

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

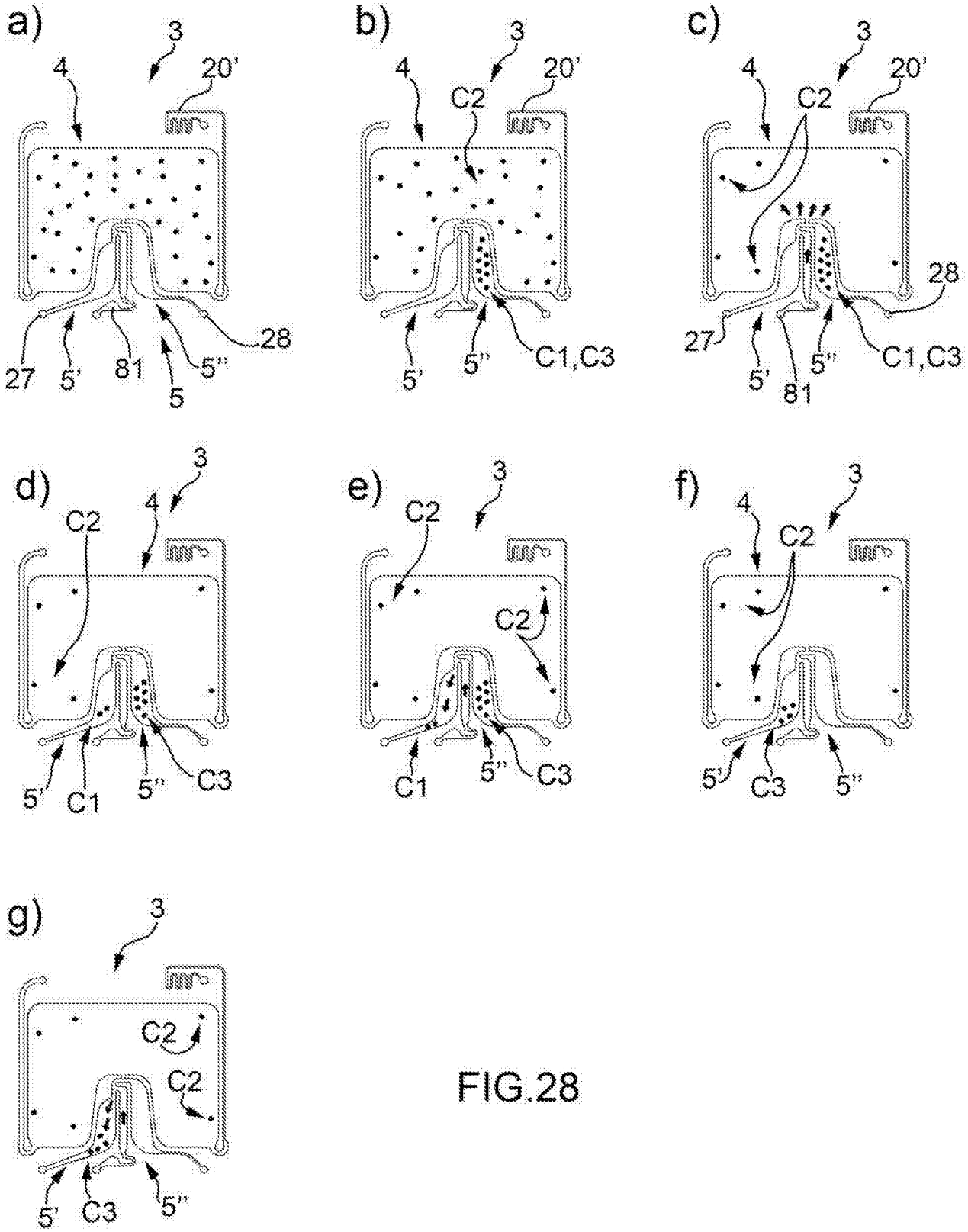

FIG.28

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

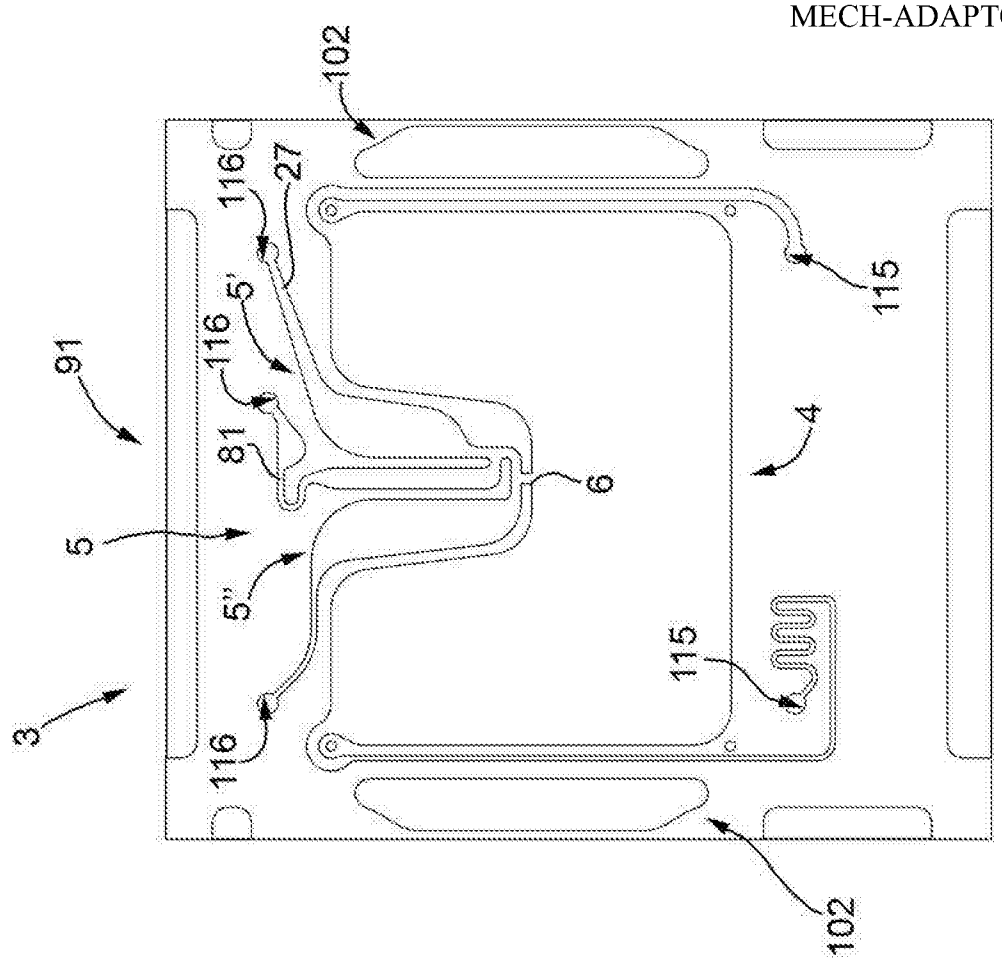

FIG.30

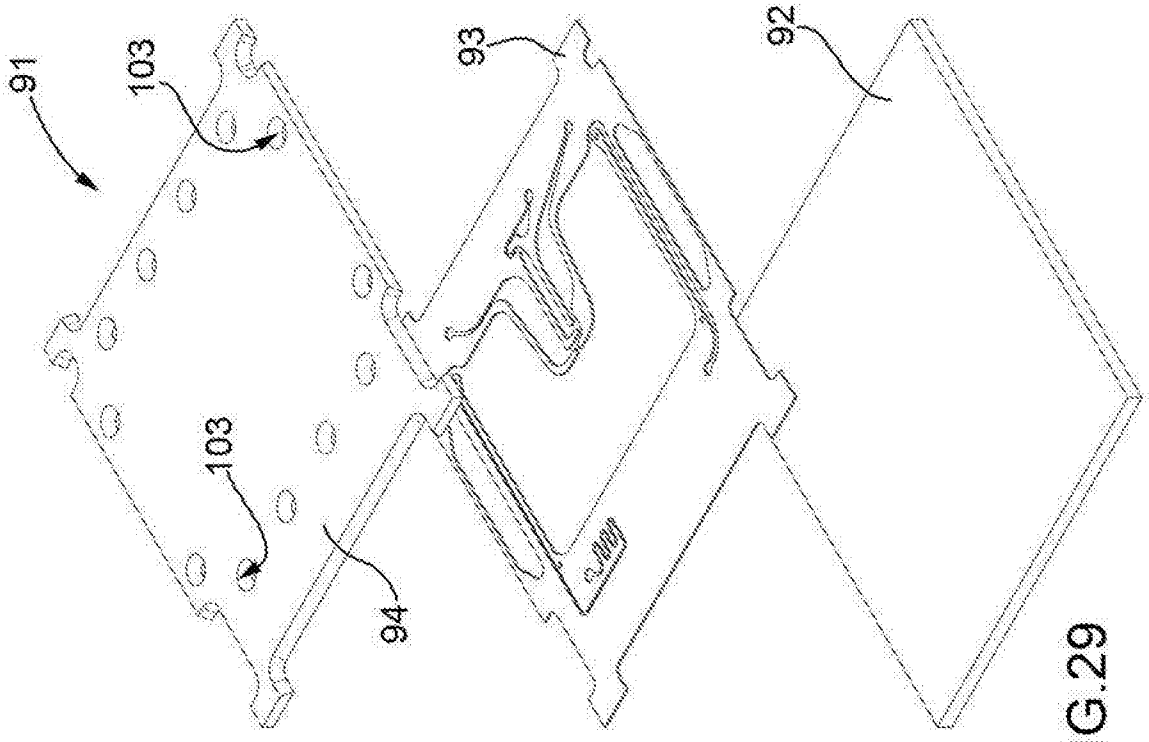

FIG.29

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

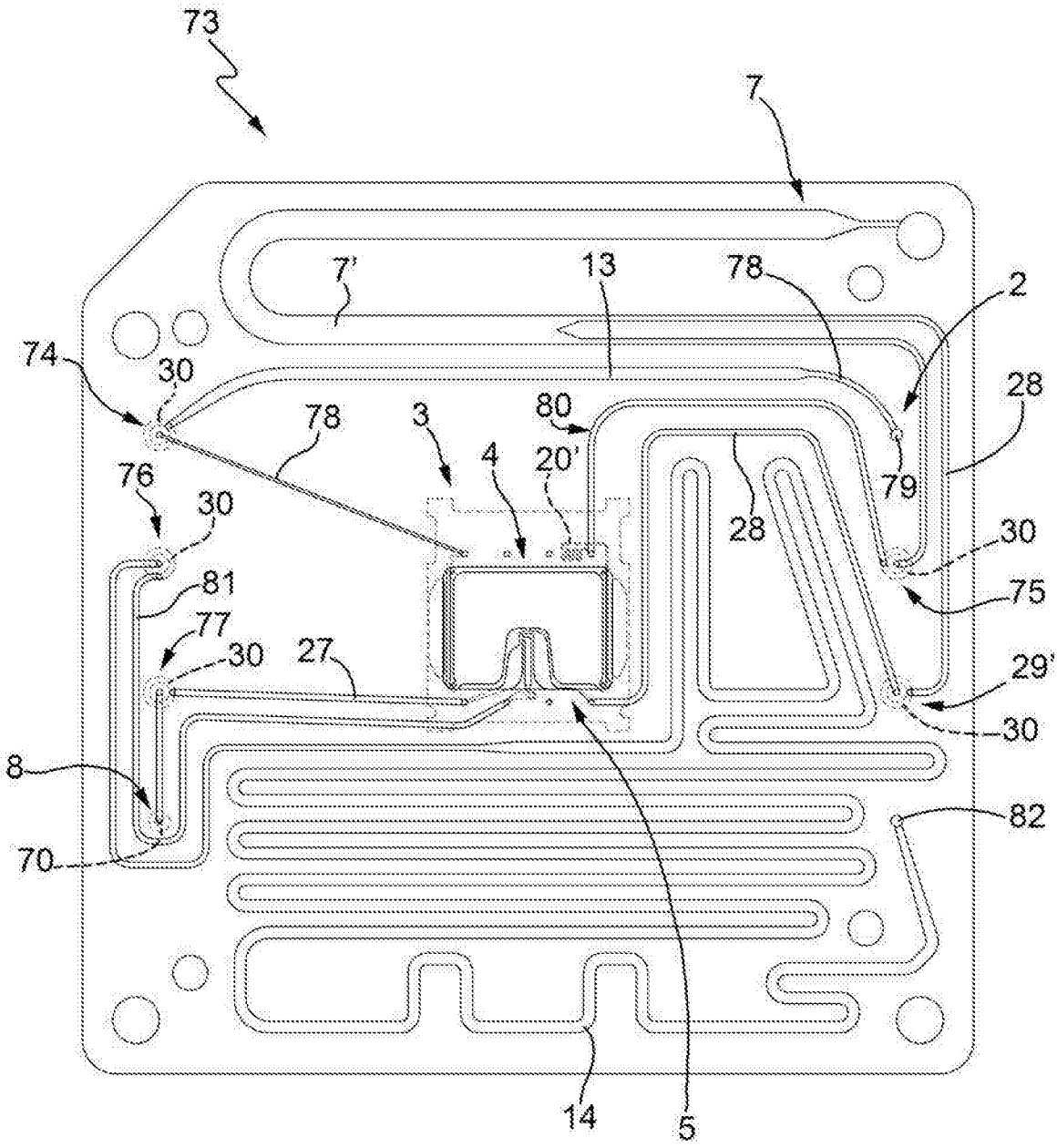

FIG.31

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)

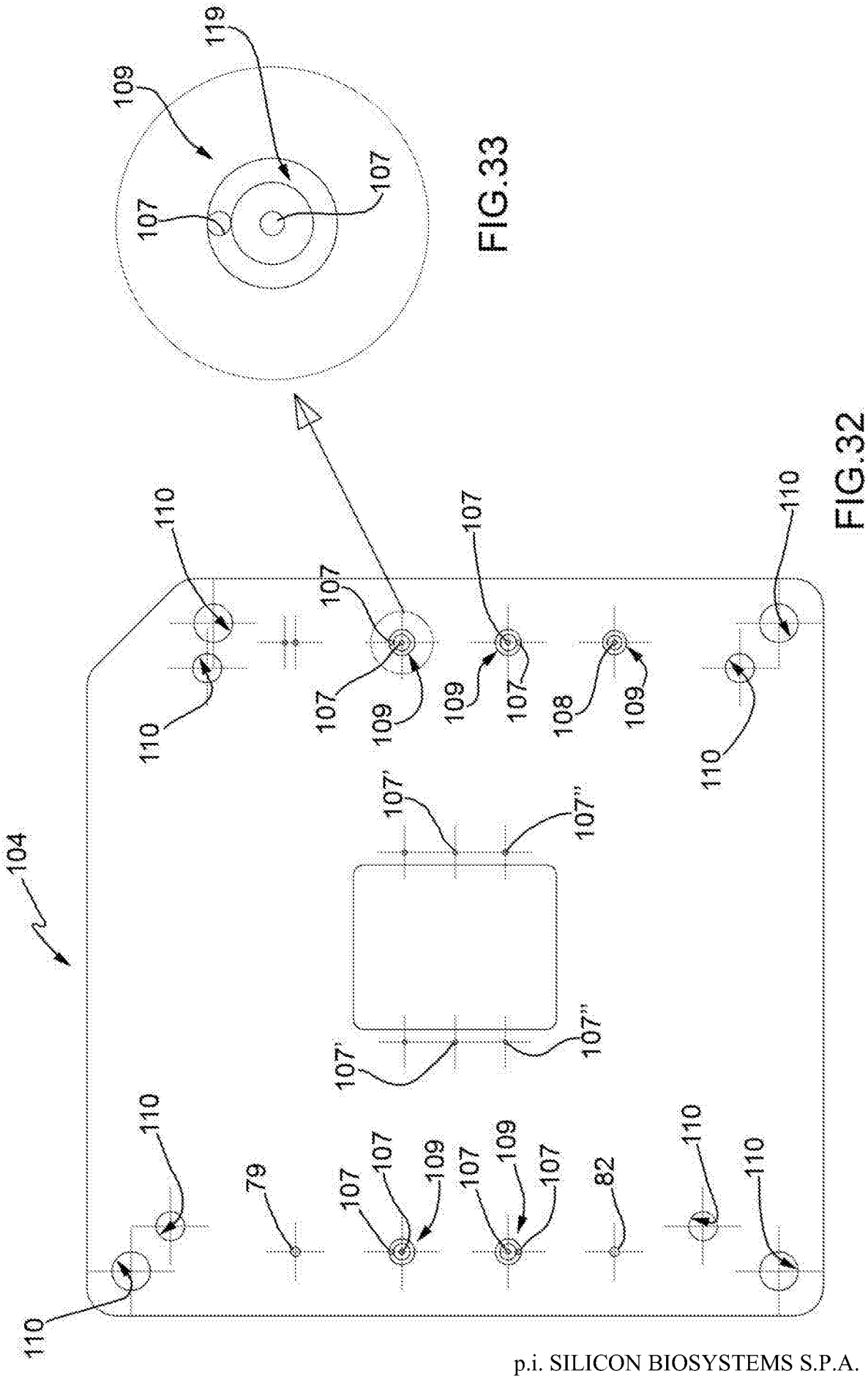

FIG.32

FIG.33

p.i. SILICON BIOSYSTEMS S.P.A.
Simone MANGINI
(Iscrizione Albo nr. 1001)