



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

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102009901719384
Data Deposito	01/04/2009
Data Pubblicazione	01/10/2010

Classifiche IPC

Titolo

DISPOSITIVO E PROCEDIMENTO PER LA SEPARAZIONE DI MOLECOLE DI DNA

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

"Dispositivo e procedimento per la separazione di molecole di DNA"

Di: UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA, nazionalità italiana, via Balbi 5, 16126 GENOVA

Inventori designati: Luca REPETTO, Giuseppe FIRPO, Corrado BORAGNO, Ugo VALBUSA, Elena ANGELI

Depositata il: 1° Aprile 2009

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce ad un dispositivo e ad un procedimento per la separazione di molecole di DNA di diversa lunghezza.

Sono noti dispositivi per la separazione di molecole di DNA che si basano sulla nota tecnica dell'*entropic recoil*, come ad esempio descritto in Cabodi et al., "Entropic Recoil Separation of Long DNA molecules", Anal. Chem., 2002, 74, 5169-5174 .

Tali dispositivi comprendono una regione nano-strutturata per il confinamento delle molecole di DNA, in particolare comprendente un *array* di colonnine di diametro e spaziatura nanometriche.

Le nano-strutture devono essere di dimensioni inferiori rispetto alle dimensioni delle molecole di DNA nella loro configurazione superavvolta.

La regione di confinamento, utilizzata per indurre variazioni nella conformazione delle molecole di DNA di interesse, è realizzata con un materiale rigido (preferibilmente nitruro di silicio) che non permette la variazione della geometria e delle dimensioni della regione.

Il confinamento obbliga dunque le molecole ad abbandonare la loro conformazione superavvolta a vantaggio di una conformazione "a bassa entropia" in cui la catena di DNA è allungata.

In tali dispositivi vengono applicati, come sopra detto, campi elettrici che agevolano l'ingresso delle molecole di DNA nella regione nano-strutturata di confinamento. In particolare, vengono applicati campi elettrici impulsati di durata variabile ai capi della regione di confinamento.

Al fine di consentire un completo inserimento in tale regione nano-strutturata di molecole a lunga catena, aventi cioè un numero di basi preferibilmente maggiore di 50.000, il campo elettrico deve essere applicato per un intervallo temporale più lungo rispetto a quello necessario per l'inserimento di catene più corte.

Il tempo necessario all'inserimento è legato all'intensità del campo elettrico attraverso la seguente relazione:

$$t_c = \frac{L}{\mu_{nano}} E$$

dove t_c è la durata dell'impulso del campo elettrico applicato, E è l'intensità del campo elettrico, L è la lunghezza della molecola di DNA che deve essere inserita completamente nella regione di confinamento, μ_{nano} è la mobilità delle molecole di DNA (nella regione di confinamento) ed è legata prevalentemente alle dimensioni geometriche dei canali.

Se una catena non viene completamente inserita nella regione di confinamento e/o non riesce ad oltrepassarla, al momento dello spegnimento del campo elettrico fuoriesce da tale regione nano-strutturata e assume nuovamente una conformazione superavvolta per effetto di una forza entropica che agisce sulla molecola stessa.

Tali dispositivi presentano tuttavia una molteplicità di svantaggi.

In primo luogo, la rigidità della regione di confinamento implica che la separazione sia unicamente legata alle caratteristiche del campo elettrico applicato (intensità E e durata temporale dell'impulso t_c) e non alla mobilità μ_{nano} delle molecole di DNA all'interno della regione di confinamento, che rimane costante. Inoltre, l'utilizzo di materiali rigidi come il nitrato di silicio, l'ossido di silicio, il quarzo fuso, ecc. richiede processi di fabbricazione costosi per la realizzazione di un singolo dispositivo.

In secondo luogo, è necessario applicare il campo elettrico per tempi lunghi al fine di assicurare un completo inserimento nella regione di confinamento di molecole di DNA a lunga catena.

Sono altresì noti altri dispositivi per la separazione di molecole di DNA che si basano sull'utilizzo di canali chiusi di dimensioni sub-micrometriche realizzati in materiale elastomerico, e quindi deformabili meccanicamente, come ad esempio descritto in Huh et al., "Tuneable elastomeric nanochannels for nanofluidic manipulation", Nature Materials, vol. 6, giugno 2007, 424-428.

Tali dispositivi sono fabbricati con un materiale elastomerico la cui elasticità permette di variare la sezione e la geometria dei canali della regione di confinamento in modo da controllare il passaggio delle molecole di DNA in base alle loro dimensioni. Per la separazione delle molecole di DNA non vengono utilizzati campi elettrici impulsati.

La deformazione meccanica della struttura viene ottenuta appoggiando sulla stessa dei "pesetti", aventi differenti valori nominali di massa, i quali esercitano una forza meccanica sulla regione di confinamento provocandone la deformazione.

In tal modo, non è possibile variare con continuità l'entità della forza applicata alla struttura del dispositivo, in quanto questa è funzione dei valori discreti delle masse dei vari "pesetti". Inoltre, non è possibile controllare con grande precisione la deformazione.

Tali dispositivi vengono fabbricati utilizzando una procedura a basso costo, la tecnica aleatoria del *nanocrack*, la quale non consente tuttavia di controllare il numero di canali fabbricati nella regione di confinamento e consente

solo di realizzare canali a sezione di triangolo isoscele.

Scopo della presente invenzione è dunque quello di proporre un dispositivo per la separazione di molecole di DNA che non richieda l'applicazione di campi elettrici per lunghi intervalli di tempo, che sia semplice ed economico da realizzare e che consenta di controllare in modo preciso il passaggio delle molecole di DNA attraverso la regione confinamento.

Questi ed altri scopi vengono raggiunti con un dispositivo per la separazione di molecole di DNA le cui caratteristiche sono definite nella rivendicazione 1 e con un procedimento per la realizzazione di tale dispositivo come definito nella rivendicazione 8.

Modi particolari di realizzazione formano oggetto delle rivendicazioni dipendenti, il cui contenuto è da intendersi come parte integrale e integrante della presente descrizione.

Ulteriori caratteristiche e vantaggi dell'invenzione appariranno dalla descrizione dettagliata che segue, effettuata a puro titolo di esempio non limitativo, con riferimento ai disegni allegati, nei quali:

- la figura 1 è una vista dall'alto di una porzione del dispositivo, contenente la regione di confinamento, secondo l'invenzione;
- la figura 2 è una vista in sezione laterale, nella direzione indicata dalla freccia A di figura 1, di una porzione del dispositivo secondo l'invenzione;
- la figura 3 è una vista dall'alto del dispositivo secondo l'invenzione;
- la figura 4 è una vista in sezione laterale di un sistema di deformazione di tipo piezoelettrico secondo l'invenzione;
- la figura 5 è una vista in sezione laterale di un sistema di deformazione di tipo pneumatico secondo l'invenzione;
- la figura 6 è una vista in sezione laterale di un sistema di deformazione di tipo magnetico secondo l'invenzione.

In sintesi, il dispositivo secondo l'invenzione comprende:

- una regione di confinamento costituita da canali di dimensioni sub-micrometriche fabbricati con materiali elastomerici, i quali possono essere deformati in funzione di uno stimolo

piezoelettrico, pneumatico o magnetico applicato, in modo tale da presentare sezioni modulabili;

- elettrodi per l'applicazione di campi elettrici impulsati di durata temporale adattabile alla lunghezza delle molecole da separare;

- sistemi per la deformazione della regione di confinamento integrati nel dispositivo per la separazione di molecole di DNA, in particolare dispositivi piezoelettrici, pneumatici o magnetici.

Il dispositivo secondo l'invenzione si basa sull'applicazione del meccanismo dell'*entropic recoil* ad una struttura polimerica di sezione modulabile in cui viene variata la sezione della regione di confinamento durante l'applicazione di campi elettrici impulsati.

Questo consente di aumentare la flessibilità del dispositivo e la sua efficienza; il dispositivo permette infatti di variare la sezione dei nanocanali in modo continuo, a differenza di quanto realizzato da Huh et al. in "Tuneable elastomeric nanochannels for nanofluidic manipulation", Nature Materials, vol. 6, giugno 2007, 424-428.

Il dispositivo secondo l'invenzione consente di deformare in modo continuo la sezione dei nanocanali usati per il confinamento, e di

conseguenza anche la mobilità delle molecole all'interno di tale regione.

Inoltre, la variazione continua della sezione consente di sfruttare al meglio le diverse mobilità sperimentate dalle molecole di DNA in condizioni di confinamento diverse.

In figura 1 è illustrata una vista dall'alto di una porzione di un dispositivo 1 per la separazione di molecole di DNA secondo l'invenzione.

Tale dispositivo 1 comprende due micro-canali 3a e 3b separati di una distanza variabile tra 10 e 500micron, a seconda della lunghezza delle molecole da separare, che vengono collegati da una pluralità di nano-canali 4 di dimensioni sub-micrometriche che rappresentano la regione di confinamento 2.

Tali nano-canali 4 hanno preferibilmente una sezione triangolare, con una base di larghezza compresa nell'intervallo 100-900nm, e un'altezza compresa nell'intervallo 50-400nm. Vantaggiosamente, i nano-canali 4 sono reciprocamente distanziati di una distanza compresa nell'intervallo 300nm-10 μ m.

Un flusso di molecole di DNA si muove lungo la direzione rappresentata dalla freccia 6; in

particolare il flusso viene trasportato dal primo micro-canale 3a verso i nano-canali 4, e poi prosegue fuoriuscendo dai nano-canali 4 verso il secondo micro-canale 3b.

Le dimensioni dei nano-canali 4 sono legate alle dimensioni delle molecole di DNA che si intende separare. Tuttavia, controllare la distanza reciproca dei nano-canali 4, a parità di larghezza degli stessi, consente di aumentarne il numero, e quindi di processare un numero più elevato di molecole di DNA aumentando la quantità di molecole separate nell'unità di tempo.

Tali nano-canali 4 vengono utilizzati per confinare lunghe molecole di DNA all'interno dei nano-canali stessi 4, in modo da modificarne la conformazione e ridurre l'entropia di conformazione.

Questo meccanismo di riduzione dell'entropia è associato all'applicazione di campi elettrici che permettono l'ingresso delle molecole nella regione a bassa entropia. Il tempo necessario all'ingresso di tali molecole nella regione a bassa entropia dipende dalla lunghezza della molecola stessa.

Il dispositivo 1 viene realizzato con materiali elastomerici, quali ad esempio il

polidimetilsilossano (PDMS), mediante un processo di replica a due stadi qui descritto.

Un master di silicio viene lavorato mediante tecniche fotolitografiche tradizionali in modo da ottenere sulla superficie una struttura microfluidica, descritta in seguito, per la gestione della soluzione contenente molecole di DNA da condurre in prossimità della regione di confinamento 2. Tale regione di confinamento 2 viene realizzata scavando nel master, mediante un fascio ionico focalizzato, i nano-canali 4.

L'utilizzo di un fascio ionico consente di realizzare in modo molto accurato nano-canali 4 di dimensioni precise e controllate, aventi sezioni ad esempio rettangolari.

A questo punto, sulla superficie del master di silicio viene depositato, ad esempio per fase vapore, un monostrato di molecole di silani, quali ad esempio tridecafluoro-1,1,2,2-tetraidrooctiltriclorosilano, per ridurre l'energia superficiale dello stampo e agevolare il distacco della replica successiva.

Il master viene usato per la fabbricazione, mediante la nota tecnica di "replica molding", di

un primo modello realizzato con un duplice strato di polimeri.

Sul monostrato di silani viene depositato un primo strato superficiale (avente ad esempio uno spessore variabile tra i 10 e 50 micron) preferibilmente di h-PDMS, materiale proposto da Schmid, H.; Michel, B. in "Siloxane Polymers for high-resolution, high-accuracy soft-lithography, *Macromolecules* (2000), 33, 3042-3049. In seguito viene depositato un secondo strato (avente ad esempio uno spessore variabile tra 2 e 4mm) di PDMS.

I due strati differiscono principalmente per le proprietà elastiche, in quanto il modulo di Young dell'h-PDMS è circa tre volte maggiore rispetto a quello del PDMS. La maggiore rigidità dell'h-PDMS permette di realizzare repliche polimeriche con caratteristiche geometriche e dimensionali più fedeli alle strutture realizzate sul master di silicio rispetto a repliche realizzate in PDMS.

A questo punto il primo modello viene separato dal master di silicio e sullo strato di h-PDMS viene eseguito un processo di ossidazione con plasma di ossigeno, necessario alla deposizione di

un monostrato di silani, con la stessa tecnica usata per il master di silicio.

Il primo modello viene a questo punto utilizzato per la fabbricazione, sempre mediante la tecnica di "replica molding", per la produzione di un secondo modello, positivo e simile al master di silicio.

Sul monostrato di silani vengono quindi depositati, in successione, un primo strato di h-PDMS e un secondo strato di PDMS.

In seguito, il secondo modello viene separato dal primo modello e lo strato di PDMS costituisce la base del dispositivo mentre i nano-canali 4 sono ricavati nello strato di h-PDMS.

Vantaggiosamente, il PDMS e l'h-PDMS vengono ottenuti in modo per sé noto mediante miscele di polimeri compositi.

I nano-canali 4 costringono le molecole di DNA a deformarsi per attraversarli.

Per il confinamento delle molecole i nano-canali 4 devono essere chiusi.

Tale noto processo di chiusura è detto processo di "bonding" e sfrutta gli effetti dell'esposizione ad un plasma di ossigeno della superficie dell'h-PDMS.

In figura 2 è illustrata una vista in sezione laterale, nella direzione indicata dalla freccia A in figura 1, di una porzione del dispositivo 1.

I nano-canali 4, realizzati nello strato di h-PDMS, indicato con il riferimento 1a, sono chiusi con uno strato sottile di materiale polimerico 8, quale ad esempio PDMS o h-PDMS, legato chimicamente tramite un'esposizione ad un plasma di ossigeno allo strato di h-PDMS 1a in cui sono realizzati i nano-canali 4.

Lo strato di h-PDMS 1a è posto sullo strato di PDMS di base, indicato con il riferimento 1b.

Alternativamente all'utilizzo dello strato di materiale polimerico 8, è possibile utilizzare una sottile lastra di vetro, o una lastra di vetro ricoperta di PDMS o una lastra di vetro ricoperta di h-PDMS.

Sia il PDMS sia l'h-PDMS presenti sulla lastra di vetro hanno sulla superficie dei gruppi metile ($-\text{CH}_3$), che grazie al bombardamento degli ioni che avviene all'interno di una camera dove si forma il plasma di ossigeno, diventano gruppi ossidrilici ($-\text{OH}$). Tali gruppi portano alla formazione di legami covalenti ($\text{O}-\text{Si}-\text{O}$) con lo strato di h-PDMS 1a del dispositivo 1, i quali permettono di sigillare i

nano-canali 4 in modo da ottenere strutture chiuse. Nel caso in cui si usi la lastra di vetro non ricoperta di PDMS o h-PDMS, si formano direttamente i legami Si-O-Si.

Una struttura microfluidica 9 che consente di trasportare la soluzione necessaria al funzionamento del dispositivo stesso è illustrata, in una vista dall'alto schematica, in figura 3.

La soluzione comprende vantaggiosamente una soluzione salina, quale ad esempio, Tris-Borato e acido etilene diaminotetraacetico, e piccole quantità, dell'ordine delle picomoli e nanomoli, di molecole di DNA di diversa lunghezza.

La struttura microfluidica 9 comprende quattro serbatoi 10 posti agli estremi di una croce latina e collegati, tramite rispettivi micro-canali 12, ai micro-canali 3a e 3b che trasportano la soluzione contenente le molecole di DNA alla regione di confinamento 2, la quale si trova nel ramo di lunghezza maggiore di detta croce latina. I serbatoi 10 sono collegati a rispettivi elettrodi 14 per l'applicazione alla regione di confinamento 2 dei campi elettrici impulsati di durata variabile.

Alternativamente alla configurazione a croce latina, possono essere utilizzate altre disposizioni come ad esempio quella illustrata nell'articolo di Huh et al. sopra citato.

In particolare, la configurazione a croce latina presenta il vantaggio di consentire il frazionamento della soluzione agendo sull'applicazione di campi elettici diversi ai vari serbatoi; tale tecnica è di per sé nota.

Il dispositivo 1 viene associato ad un dispositivo di deformazione della regione di confinamento 2.

Tale dispositivo di deformazione può comprendere un dispositivo piezoelettrico, per eseguire deformazioni mediante l'utilizzo di campi elettrici, oppure un dispositivo pneumatico o un dispositivo magnetico, integrati nel dispositivo 1 come descritto qui di seguito.

In figura 4 è illustrata una vista in sezione laterale di un dispositivo di deformazione di tipo piezoelettrico.

Un disco 16 di materiale piezoelettrico viene inserito nello strato di PDMS 1b del dispositivo 1, al di sotto della regione di confinamento 2, e

comprende ad esempio un blocco di piombo-zirconato di titanio (PZT).

Alternativamente vengono utilizzati materiali più complessi come quelli proposti da Kim, K. Y.; Park, K. H.; Park, H. C.; Goo, N. S.; Yoon, K. J. in "Performance evaluation of lightweight piezo-composite actuators", Sensors and Actuators A 120, (2005), 123-129. Tali materiali, a parità di tensione applicata, consentono maggiori deflessioni dello strato di PDMS 1b e di h-PDMS 1a.

Il disco 16 deve essere inserito nel dispositivo 1 in modo tale che la deformazione dello strato di PDMS 1b sia parallela all'asse X del disco 16 e permetta di deformare i nano-canali 4 in direzione trasversale rispetto al loro asse.

Il disco 16 ha una faccia inferiore 16a e una faccia superiore 16b alle quali sono accoppiati due rispettivi elettrodi 18, collegati a rispettivi fili conduttori 20 che permettono di applicare una tensione alternata (ad esempio avente una forma d'onda quadrata di frequenza modulabile) di intensità variabile, tramite una sorgente di tensione 22.

La dipendenza della deflessione del materiale piezoelettrico del disco 16 dall'intensità della

tensione applicata è stata riportata ad esempio da Kim, J.-H.; Kang, C. J.; Kim, Y.-S. in "A disposable polydimethylsiloxane-based diffuser micropump actuated by piezoelectric-disc", Microelectronic Engineering, 71, (2004), 119-124.

Un'attenta modulazione della tensione applicata dalla sorgente 22 permette un accurato controllo della deflessione del disco 16, e di conseguenza della deformazione della sezione dei nano-canali 4, in un modo molto più accurato e continuo rispetto a quanto proposto nell'articolo di Huh et al. Sopra riportato.

In figura 5 è illustrata una vista in sezione laterale di un dispositivo di deformazione di tipo pneumatico.

All'interno dello strato di PDMS 1b del dispositivo 1 viene creata una "camera di espansione" pneumatica 24 al di sotto della regione di confinamento 2. Tale "camera di espansione" 24, realizzata in PDMS, è collegata tramite un foro 26 ad uno strato 24a realizzato con un polimero rigido quale ad esempio PMMA (polimetilmetacrilato), che non si deforma se sottoposto a pressione. Il PDMS, materiale più elastico, viene deformato se

sottoposto a pressione da parte di un gas inserito nella "camera di espansione" 24.

Vengono inoltre realizzati canali di collegamento 27 per portare un gas pressurizzato, quale ad esempio aria, alla "camera di espansione" 24. Tale gas entra nei canali di collegamento 26 attraverso una elettrovalvola di ingresso 28 e fuoriesce attraverso una elettrovalvola di uscita 30.

La deformazione della "camera di espansione" 24 consente di deformare gli strati di PDMS 1b e h-PDMS 1a, e quindi anche i nano-canali 4, che si trovano al di sopra della "camera di espansione" 24.

In figura 6 è illustrata una vista in sezione laterale di un dispositivo di deformazione di tipo magnetico.

Uno strato di materiale di supporto 32, ad esempio di PDMS, viene depositato oppure legato tramite un'esposizione ad un plasma di ossigeno (come descritto sopra) sullo strato di materiale polimerico 8. All'interno di questo strato di supporto 32 viene collocato un magnete 34, sopra la regione di confinamento 2. Un elettromagnete 36 viene collocato nello strato di PDMS 1b sotto la

regione di confinamento 2. L'elettromagnete 36 viene alimentato con una corrente in modo tale da creare una forza attrattiva nei confronti del magnete 34. In questo modo, gli strati di PDMS 1b, di h-PDMS 1a e i nano-canali 4 interposti tra il magnete 34 e l'elettromagnete 36 vengono deformati in modo controllato.

Il magnete 34 comprende ad esempio un disco di acciaio, oppure un blocco di materiale composito costituito da particelle di materiale magnetico, come ad esempio NdFeB, disperse in una matrice polimerica come ad esempio PDMS. Esempi i tali materiali sono riportati nel seguente articolo: Yamahata, C; Lotto, C., Al-Assaf, E.; Gijs, M. A. M. in "A PMMA valveless micropump using electromagnetic actuation", Microfluid Nanofluid, (2005), 1, 197-207.

Alternativamente, invece del magnete 34 e dell'elettromagnete 36, una elettrovalvola di per sé nota avente una porzione mobile viene collocata nello strato di PDMS 1b sotto la regione di confinamento 2. Attivando l'elettrovalvola, la parte mobile deforma gli strati di PDMS 1b, di h-PDMS 1a e i nano-canali 4 ad essa sovrapposti.

Il dispositivo secondo l'invenzione è vantaggioso perché consente di sfruttare contemporaneamente diversi meccanismi di separazione, uno legato alle dimensioni della zona di confinamento e uno legato all'applicazione di campi elettrici di intensità e durata variabile, in un unico dispositivo.

Inoltre, per realizzare il dispositivo viene utilizzata una tecnica a basso costo, il processo di realizzazione dei modelli, adatta alla produzione di massa di dispositivi. Inoltre, il costo legato all'utilizzo di una tecnologia onerosa quale l'uso di un fascio ionico focalizzato per la fabbricazione dei nano-canali 4 sul master di silicio, viene ripartito su un numero molto elevato di modelli.

L'utilizzo di una sottile lastra di vetro, o di materiale polimerico, e di un'esposizione a plasma di ossigeno per la chiusura dei nano-canali 4 è anch'esso un processo a basso costo, che non richiede apparecchiature complicate ed è appetibile per un processo industriale seriale ed efficiente.

Naturalmente, fermo restando il principio dell'invenzione, le forme di attuazione ed i particolari di realizzazione potranno essere

ampiamente variati rispetto a quanto è stato descritto ed illustrato a puro titolo di esempio non limitativo, senza per questo uscire dall'ambito di protezione della presente invenzione definito dalle rivendicazioni allegate.

RIVENDICAZIONI

1. Dispositivo (1) per la separazione di molecole di DNA comprendente:

- una regione di confinamento (2) atta a ricevere dette molecole di DNA;
- una pluralità di elettrodi (14) predisposti per applicare alla regione di confinamento (2) campi elettrici impulsati, in modo tale da agevolare l'ingresso delle molecole di DNA nella regione di confinamento (2);

il dispositivo essendo caratterizzato dal fatto di essere realizzato con materiali elastomerici e dal fatto di comprendere inoltre un dispositivo di deformazione (16; 24; 34, 36) della regione di confinamento (2).

2. Dispositivo secondo la rivendicazione 1, in cui detta regione di confinamento (2) comprende una pluralità di nano-canali (4) predisposti per essere attraversati da dette molecole di DNA.

3. Dispositivo secondo la rivendicazione 2, comprendente un primo micro-canale (3a) e un secondo micro-canale (3b) collegati fra loro da detta pluralità di nano-canali (4), detto primo micro-

canale (3a) essendo predisposto per trasportare le molecole di DNA verso i nano-canali (4) e detto secondo micro-canale (3b) essendo predisposto per raccogliere le molecole di DNA che fuoriescono dai nano-canali (4).

4. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, comprendente inoltre una struttura microfluidica (9) predisposta per condurre le molecole di DNA alla regione di confinamento (2).

5. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il dispositivo di deformazione (16; 24; 34, 36) comprende un disco di materiale piezoelettrico (16), inserito al di sotto della regione di confinamento (2), due elettrodi (18) accoppiati al disco (16) per l'applicazione di una tensione alternata in modo tale da produrre una deformazione del disco (16), detta deformazione del disco (16) provocando una deformazione della regione di confinamento (2).

6. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il dispositivo di deformazione (16; 24; 34, 36) comprende una camera di espansione pneumatica (24), posta al di sotto della

regione di confinamento (2) e predisposta per ricevere un gas pressurizzato in modo tale che la camera di espansione (24) si deformi, detta deformazione della "camera di espansione" (24) provocando una deformazione della regione di confinamento (2).

7. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il dispositivo di deformazione (16; 24; 34, 36) comprende un magnete (34) posto sopra la regione di confinamento (2), e un elettromagnete (36), posto al di sotto della regione di confinamento (2), detto elettromagnete (36) essendo predisposto per esercitare una forza attrattiva nei confronti del magnete (34) in modo da provocare una deformazione della regione di confinamento (2).

8. Procedimento per la realizzazione di un dispositivo (1) per la separazione di molecole di DNA comprendente le operazioni di:

- realizzare su uno strato di supporto (1a, 1b) una regione di confinamento (2) atta a ricevere dette molecole di DNA;

il procedimento essendo caratterizzato dal fatto che lo strato di supporto (1a, 1b) comprende materiali elastomerici e dal fatto che l'operazione di realizzare una regione di confinamento (2) comprende l'operazione di utilizzare un fascio ionico focalizzato.

9. Procedimento secondo la rivendicazione 8, comprendente l'operazione di realizzare sullo strato di supporto (1a, 1b) una pluralità di elettrodi (14) predisposti per applicare alla regione di confinamento (2) campi elettrici impulsati, in modo tale da agevolare l'ingresso delle molecole di DNA nella regione di confinamento (2);

10. Procedimento secondo la rivendicazione 8 o 9, comprendente inoltre l'operazione di realizzare un dispositivo di deformazione (16; 24; 34, 36) della regione di confinamento (2) integrato nello strato di supporto (1a, 1b).

FIG. 1

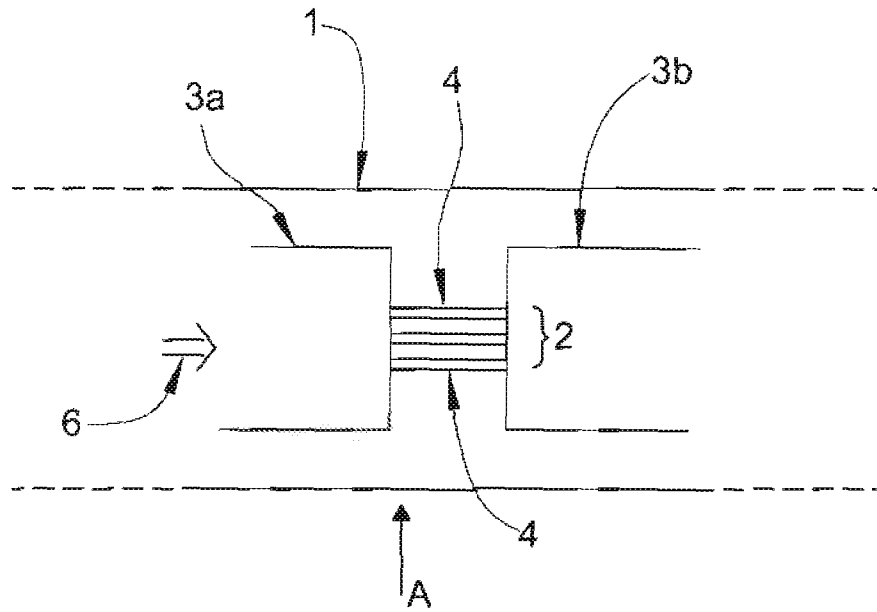


FIG. 2

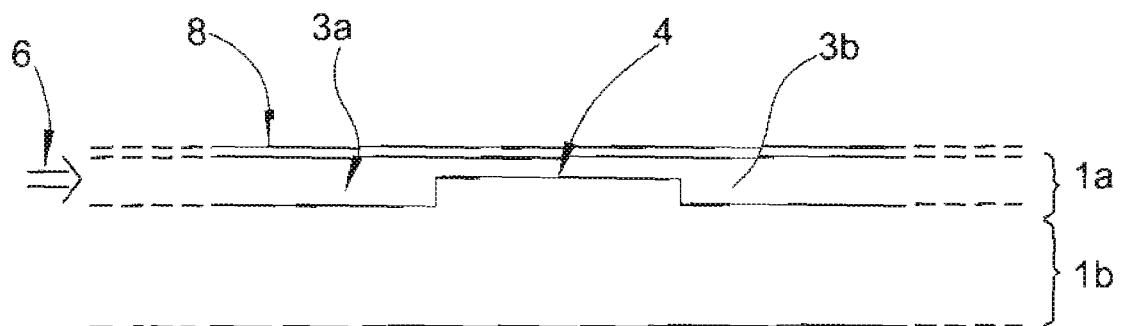


FIG. 3

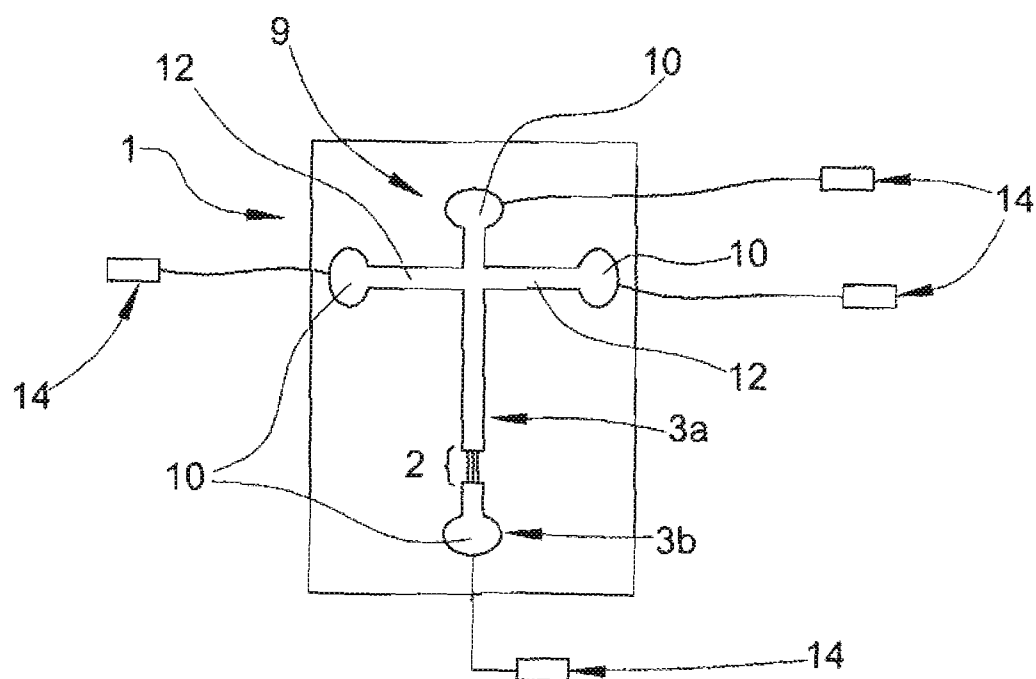


FIG. 4

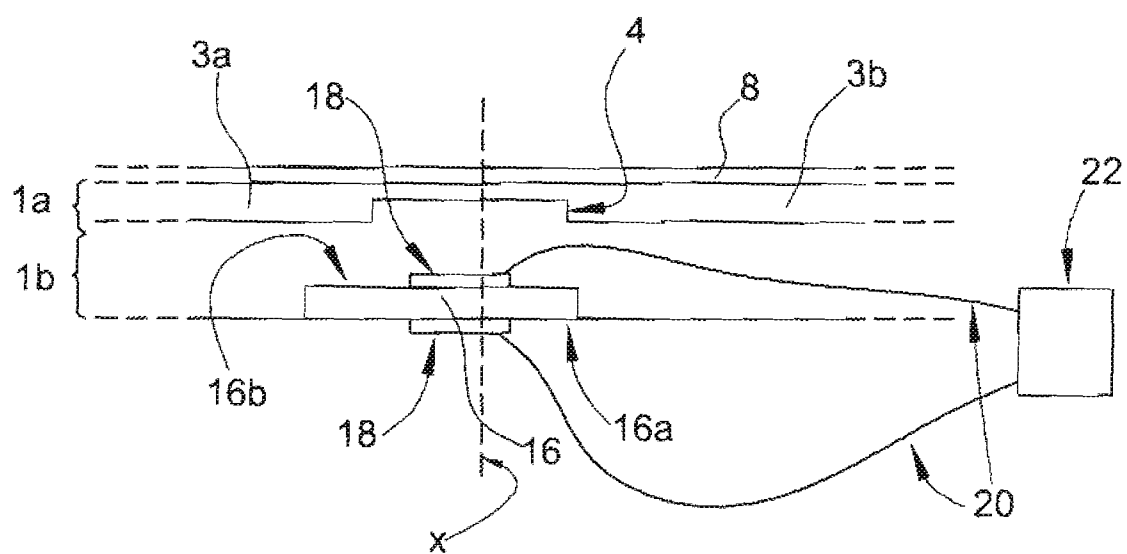


FIG. 5

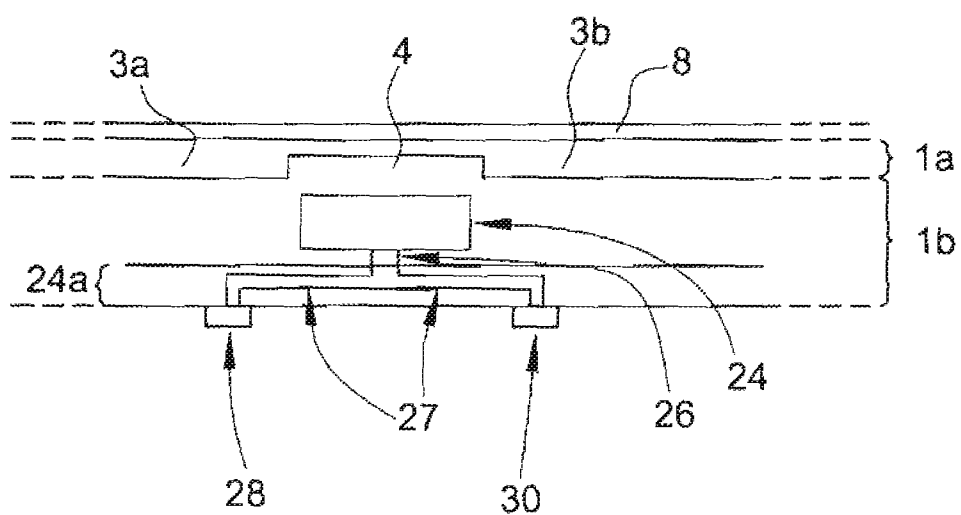


FIG. 6

