



INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: **PT 1448301 E**

(51) Classificação Internacional:

B01L 11/00 (2006.01) **B01L 3/00** (2006.01)

B01L 3/14 (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2002.11.15**

(30) Prioridade(s): **2001.11.16 NL 1019378**

(43) Data de publicação do pedido: **2004.08.25**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.08.02**
012/2006

(73) Titular(es):

TECHNISCHE UNIVERSITEIT DELFT
JULIANALAAN 136 NL-2628 BL DELFT **NL**

(72) Inventor(es):

ROBERT MOERMAN **NL**

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
R DAS FLORES 74 4 AND 1249-235 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **PROCESSO DE ENCHIMENTO DE UM POÇO NUM SUBSTRATO**

(57) Resumo:

RESUMO

"Processo de enchimento de um poço num substrato"

O presente invento refere-se a um processo de enchimento de um poço (incluindo um canal) num substrato. De acordo com o invento o líquido é aplicado sobre um substrato que compreende um poço numa posição que não coincide com poço, e o poço após o enchimento é vedado com meios de cobertura, em que o líquido é aplicado numa posição entre a frente dos meios de cobertura e o poço que não está coberto pelos meios de cobertura, e com o auxílio dos meios de cobertura o líquido é impelido para dentro do poço.

DESCRIÇÃO

"Processo de enchimento de um poço num substrato"

O presente invento refere-se a um processo de enchimento de um poço com um líquido, em que um líquido é aplicado num substrato que compreende um poço numa posição que não coincide com o poço, e o poço após o enchimento é vedado com meios de cobertura.

Um tal processo é, em geral, conhecido por enchimento de micro agrupamentos que são utilizados para vários ensaios, tais como ensaios de enzimas e de ADN. Devido a pequena quantidade do líquido num poço o efeito de evaporação é relativamente grande. A fim de prevenir a evaporação, podem ser colocados sobre os poços meios de cobertura tais como uma lamela de cobertura.

Um problema é que antes de se fazer a medição têm de ser efectuadas algumas operações, por exemplo, o enchimento de um poço com uma quantidade medida do líquido, que cobre o poço cheio com o líquido (tudo isto sem o desenvolvimento de bolhas de ar), e o início da medição. Esta última requer frequentemente operações demoradas, uma vez que para as várias técnicas de medição, tais como as técnicas de medição ópticas existe pouco espaço em volta de um substrato e por esta razão é frequentemente impossível encher o substrato enquanto montado. Além disso, para muitos ensaios a reacção começará logo que o poço seja enchido com o líquido.

O objecto do invento é proporcionar um processo do tipo mencionado no preâmbulo, pelo qual é possível começar medição mais rapidamente.

Para este fim o processo de acordo com o invento é caracterizado por:

- para enchimento do poço, é aplicado líquido a um primeiro sítio localizado entre um segundo sítio, em que um primeiro lado dos meios de cobertura, aplicados sobre o substrato, está situado e o poço não coberto pelos meios de cobertura,

- o lado frontal dos meios de cobertura é movido no sentido do líquido que foi aplicado e do poço, levando desse modo com os mesmos o líquido, com o qual o poço foi enchido, e
- após o lado frontal dos meios de cobertura ter passado o poço, os meios de cobertura são trazidos para uma terceira posição estacionária a fim de vedar o poço cheio de líquido.

Surpreendentemente é possível empurrar um líquido a ser introduzido dentro de poço para diante, para encher rapidamente os poços e vedar os mesmos. Tudo isto é feito com uma única operação, o que é favorável uma aplicação automática ou semi-automática opcional do processo de acordo com o invento. O presente invento torna possível realizar um ensaio quantitativo numa amostra, sem ter de realizar a medição precisa com pipeta do volume da amostra. Após o enchimento e cobertura de um poço de acordo com o invento. O poço contém uma quantidade conhecida com precisão do líquido determinada pelas dimensões do poço. Partindo de um volume relativamente grande com superfície relativamente pequena, é reduzida a evaporação. Imediatamente após o momento é enchido um poço, o mesmo já está vedado pelos meios de cobertura, de modo que isto reduz também o efeito da evaporação. Isto é claramente diferente do enchimento dos poços individuais com o líquido da amostra por meio de uma pipeta, electro-pulverização e semelhante. No presente pedido um poço é entendido como qualquer rebaixo no substrato seja qual for a sua forma. Esta definição inclui também os poços alongados, os quais podem ser também referidos como canais. Essencialmente, tais canais correm paralelos à superfície do substrato.

De preferência, os meios de cobertura que são utilizados têm uma espessura de, pelo menos, 0,5 mm, mais de preferência, pelo menos, 0,8 mm, e ainda mais de preferência, pelo menos, 1,2 mm.

Tais meios de cobertura asseguram que o líquido é impelido efectivamente para diante. Ao mesmo tempo, a rigidez

dos meios de cobertura aumenta com o aumento de espessura de modo que os meios de cobertura aderem melhor ao substrato.

Se o líquido for hidrófilo, são utilizados os meios de cobertura de acordo com uma concretização, cujo lado virado para fora do substrato perto da frente dos meios de cobertura é hidrófobo e vice-versa.

Isto auxiliará que parte do líquido se mova através do topo dos meios de cobertura em vez de ser impelido para diante. Esta concretização é, em especial, eficaz se forem utilizados meios de cobertura finos.

De acordo com uma concretização preferida, são então utilizados meios de cobertura cujo lado hidrófilo virado para o substrato possui numa das suas extremidades uma superfície com uma porção hidrófoba.

O efeito de uma tal porção de superfície na extremidade, que antes do movimento de deslizamento está mais próxima do poço, é que menos líquido (aquoso) líquido é necessário para encher o poço.

Esta porção de superfície pode ser tornada hidrófoba por, por exemplo, silanização, mas também pela aplicação de uma pasta hidrófoba tal como massa de silicone. Uma tal massa não se dissolve no líquido aquoso e tem a vantagem adicional de que a mesma pode contribuir para a prevenção da evaporação. Além disso, a mesma facilita o deslizamento dos meios de cobertura sobre o substrato.

Um problema adicional é que durante e após o enchimento do poço, o reagente ou o analito é transportado a partir de um poço para o outro devido a escoamento ou difusão. Vantajosamente o poço é enchido e vedado tão depressa que os reagentes não podem escapar do poço. Vantajosamente, pelo menos, numa terceira posição os meios de cobertura são pressionados para o substrato com uma força de, pelo menos, 1 kg/cm^2 .

Isto reduz a transferência do líquido ou dos reagentes por escoamento e/ou difusão. Foi também mostrado ser possível

aplicar uma tal força, e mesmo uma força de 15 kg/cm^2 durante o movimento a partir da primeira posição para a terceira posição. Isto auxilia adicionalmente a limitar a transferência do líquido ou dos reagentes por escoamento e/ou difusão.

De preferência, os meios de cobertura utilizados são meios de cobertura, dos quais o bordo do lado virado para o substrato e o lado frontal dos meios de cobertura é arredondado através, pelo menos, uma porção do mesmo, e o líquido em contacto com este arredondamento é movido no sentido do líquido aplicado e o poço, transportando consigo o líquido, com o qual o poço vai ser enchido.

Um tal arredondamento auxilia a transportar o líquido consigo e facilita o enchimento do poço. Um tal arredondamento é, em particular, adequado para meios de cobertura, em que o líquido está em contacto com toda a altura (espessura) dos meios de cobertura. O bordo, formado entre o lado virado para fora do substrato e o lado frontal, é em tal caso, de preferência, substancialmente direito, o mesmo é dizer o mesmo forma um ângulo agudo, o qual devido aos efeitos da coesão não é facilmente ultrapassado por um líquido.

Vantajosamente, é enchido num único substrato um primeiro poço um primeiro líquido e um segundo poço com um segundo líquido, o primeiro líquido e o segundo líquido são aplicados em respectivos primeiros sítios não sobrepostos, e os meios de cobertura estão munidos de um recesso entre os primeiros sítios não sobrepostos.

Em vez disto ou adicionalmente ao mesmo, um primeiro poço num único substrato é enchido com um primeiro líquido e um segundo poço com um segundo líquido, sendo o primeiro líquido e o segundo líquido aplicados em respectivos primeiros sítios não sobrepostos, e, pelo menos, um órgão escolhido a partir de i) o lado superior o substrato e ii) o lado inferior dos meios de cobertura, entre os primeiros sítios não sobrepostos, é proporcionada uma barreira elevada enquanto que o outro órgão na mesma posição tem uma ranhura complementar, na qual pode ser recebida a barreira, de modo

que, quando se enche os primeiro e segundo poços, a barreira é feita deslizar através da ranhura.

Ambos os processos permitem que os poços de um substrato sejam enchidos com líquidos diferentes.

De acordo com uma concretização favorável, os meios de cobertura compreendem, pelo menos, dois lados frontais, sendo, pelo menos, um lado frontal formado por uma parede de uma ranhura proporcionada perpendicularmente em relação à direcção do movimento no lado de baixo do substrato, e sendo o primeiro poço num único substrato enchido com um primeiro líquido e o segundo poço com um segundo líquido, sendo o primeiro líquido e segundo líquido aplicados em respectivos primeiros sítios não sobrepostos, de tal modo que de tal modo que o poço do primeiro líquido e o poço do segundo líquido estão no segundo primeiro sítio, após o que os meios de cobertura são colocados sobre o substrato e subsequentemente movidos através do substrato a fim de encher o primeiro poço e o segundo poço.

Deste modo os poços, que estão substancialmente em cada direcção prolongada do outro, podem ser enchidos simultaneamente líquidos diferentes.

A fim de efectivamente vedar um poço após os meios de cobertura terem sido movidos para a terceira posição, é preferido tanto para o substrato como para os meios de cobertura serem proporcionados com grupos funcionais capazes da formação de uma ligação física ou química com os grupos funcionais com os quais estão em contacto.

Por exemplo, pode ser proporcionado um componente com grupos amino e o outro com grupos epóxi. Os vários grupos funcionais podem ser encontrados com bastante facilidade na literatura relativa à imobilização das proteínas e outras moléculas numa superfície, pelo que o especialista normal na técnica não requer explicação adicional.

O invento refere-se também a meios de cobertura para aplicação do processo de acordo com uma das reivindicações 11

a 14, bem como a um substrato para a aplicação do processo de acordo com uma das reivindicações 11 a 14.

O presente invento será agora elucidado com referência a uma concretização explicativa e aos desenhos, nos quais:

as Figs. 1a e 1b mostram respectivamente uma vista lateral de um substrato com meios de cobertura de acordo com o invento, e uma vista de topo dos meios de cobertura e substrato;

as Figs. 2a e 2b mostram a vista lateral em corte transversal de um substrato com meios de cobertura de acordo com o invento para a aplicação de líquidos diferentes em poços diferentes (antes e depois); e

a Fig. 3 mostra uma vista de topo de um substrato com meios de cobertura de acordo com o invento.

A Fig. 1 mostra um substrato 1 munido de dois agrupamentos 2, 3, consistindo os agrupamentos 2, 3 em poços 4. O substrato 1 está também munido de duas ranhuras 5', 5", as quais como os poços 4 foram, convenientemente, proporcionadas no substrato 1 por meio de erosão. De acordo com uma concretização possível do invento, as ranhuras 5', 5" são adequadas para introdução do líquido A dentro dos poços 4. Em vez disso, ou adicionalmente ao mesmo, é possível de acordo com uma concretização alternativa proporcionar um revestimento linear, por exemplo, um revestimento hidrófilo, tendo grande afinidade com o líquido. Em vez disso, este sítio pode ser delimitado por duas linhas de revestimento, para as quais o líquido tem menos afinidade. No caso de um líquido aquoso que é aplicado é possível, por exemplo, utilizar pulverização de "teflon". Isto pode ser feito com bastante facilidade, protegendo o sítio em que o líquido vai ser aplicado por meio de, por exemplo, uma peça de papel rectangular. Após o líquido A ter sido aplicado, os meios de cobertura 6, posicionados sobre o substrato são movidos no sentido dos poços. Na Fig. 1 os poços 4 do agrupamento 2 estão já cheios.

O lado dos meios de cobertura 6 virado para o substrato e o lado do substrato 1 virado para os meios de cobertura 6 são completamente lisos, de modo que uma vez assentes no substrato, os meios de cobertura 6 são móveis equidistantemente em relação ao substrato 1, e o líquido de amostra A impelido a partir das ranhuras 5', 5" para dentro dos poços 4. Após o que os poços 4 são imediatamente selados pelos meios de cobertura 6. O excesso de líquido A pode ser soprado para fora com o auxílio de uma pistola de ar (pressão de aproximadamente 4-5 bar). Antes do que e, de preferência, durante a remoção do excesso do líquido, pode ser exercida, se necessário, uma força de aperto, a qual é adequadamente 2-3 kg/cm². A remoção do líquido assegura que quaisquer forças de tensão superficiais não provocam que este líquido seja aspirado entre os meios de cobertura 6 e o substrato 1, o que aumentaria a espessura da camada de líquido entre os meios de cobertura 6 e o substrato 1. Uma camada muito fina de líquido garante que mesmo sem uma força de aperto os meios de cobertura vedarão os poços 4 por meio da adesão durante um tempo de medição de, por exemplo, 5-20 minutos. Para a execução das medições, os poços 4 podem conter reagentes que se podem dissolver no líquido A, com o qual os poços foram enchidos. A presença de uma fina camada de líquido minimiza a troca (por difusão) que qualquer agente possivelmente presente de um poço para um poço adjacente. Finalmente, a evaporação de um líquido durante a medição é efectivamente evitada com o processo descrito.

Os meios de cobertura 6 e o substrato 1 estão também limpos (livres de pó) e, no caso dos líquidos aquosos A, de preferência, pelo menos, nos lados do substrato 1 e nos meios de cobertura 6 virando unidades para os outros, hidrófilos. No entanto, no caso dos líquidos aquosos A, a extremidade do lado dos meios de cobertura 6 virada para o substrato 1 está, de acordo com uma preferida concretização, fechada para os poços 4 hidrófobos. Deste modo, pode ser prevenido que relativamente muito da amostra líquida A seja requerida para o enchimento dos poços 4. De acordo com uma concretização simples, a extremidade do lado virado para o substrato 1 seja tornada hidrófoba com o auxílio da massa de silicone. A quantidade de massa de silicone utilizada é mantida num mínimo (isto é, é aplicado um revestimento muito fino). A

utilização de uma ranhura 5 não é um requisito prévio e pode mesmo ser indesejável. O líquido A é, de preferência, aplicado ao lado frontal dos meios de cobertura 6, orientado no sentido dos poços 4. Deste modo é ainda possível pulverizar o líquido A transversalmente. O dito lado frontal é, de preferência, hidrófilo.

A velocidade, à qual os meios de cobertura 6 devem ser movidos em relação ao substrato 1, depende dos materiais utilizados e do líquido A utilizado bem como dos componentes, tais como os tensioactivos, compreendidos no mesmo. No entanto, um especialista na técnica pode facilmente determinar uma velocidade adequada. Se a percentagem dos poços 4, que compreendem ar retido for maior do que a desejável, a velocidade deve ser reduzida ou devem ser utilizados poços com uma parede arredondada ou menos escalonada (estes enchem mais facilmente). o substrato 1 e os meios de cobertura 6 podem ser fabricados a partir de qualquer material que seja essencialmente inerte (em relação ao líquido A), tal como poliestireno, vidro ou materiais que podem ser tratados utilizando técnicas conhecidas da indústria dos semicondutores.

Próximo do lado do substrato na extremidade frontal, os meios de cobertura 6 possuem um bordo 7, o qual está, de preferência, munido de um arredondamento (indicado pela linha pontuada). Isto permite aos poços 4 serem efectivamente enchidos com o líquido. Um processo prático de enchimento dos poços é executado como se segue.

- 1) Um vidro de "Pyrex" (1 x 0,8 cm) que tem uma espessura de 1 mm é limpo por meio de tratamento do mesmo com a detergente e enxaguando o poço com água desmineralizada.

- 2) O vidro de "Pyrex" é colocado num substrato semiconductor. O substrato semiconductor está munido de uma camada hidrofílica de SiO_2 - e, de preferência, uma camada de nitreto de silício. O substrato semiconductor está munido de poços de 400x400 μm que têm uma profundidade de 50 μm .

3) Por meio da acção da capilaridade 0,1 to 0,2 μl de água são introduzidos entre o vidro de cobertura de "Pyrex" e o substrato. A presença de uma quantidade mínima tal do líquido faz com que o vidro de cobertura de "Pyrex" adira ao substrato por meio de sucção. É difícil remover mas pode deslizar.

4) Um líquido de amostra (1 μl) é vazado por pipeta em frente de uma fila de poços a uma distância do vidro de cobertura de "Pyrex".

5) O vidro de cobertura de "Pyrex" é impelido para dentro no sentido do líquido de amostra e dos poços a uma velocidade de 2-6 cm/s.

6) Um vidro de cobertura é pressionado para o substrato com uma força de 2-3 kg/cm² e o excesso de líquido de amostra é soprado para fora com o auxílio de uma pistola de ar (pressão de 4 bar).

7) Os substratos com vidro de cobertura são colocados num retentor lamelas deslizantes numa platina X-Y-Z por debaixo de uma lente objectiva.

Numa experiência, um agrupamento de 5 x 5 poços de 400x400x50 μm (volume total de 0,2 μl) foi enchido utilizando apenas 0,5 μl de líquido.

Experiências (reações de cor, nas quais os poços estavam revestido com uma enzima) mostraram que o arrastamento numa direcção transversalmente à direcção do movimento dos meios de cobertura em relação ao substrato era mínimo. Havia algum arrastamento detectável entre os poços sucessivos na direcção do movimento.

O processo de acordo com o invento mostrou ser adequado para o enchimento dos poços com a solvente volátil, tal como o etanol. Isto permite ao processo de acordo com o invento ser aplicado em reacções químicas de combinação e potencialmente perigosas que são seguras quando executadas numa escala pequena.

Para o especialista comum da técnica será óbvio que é possível variar o presente processo de muitas maneiras sem sair do âmbito do invento. Por exemplo, em particular se um poço for relativamente profundo, é vantajoso utilizar meios de cobertura 6, que não sejam direitos, por exemplo, serrilhados ou ondulados, em que os rebaixos serrilhados ou ondulados absorvem o líquido e os meios de cobertura 6 com os rebaixos são impelidos através do poço 4. Se um agrupamento 2 tiver de ser enchido, a posição dos rebaixos é escolhida de tal modo que os mesmos coincidem substancialmente com os centros dos poços. Se desejado, os diferentes rebaixos podem conter diferentes líquidos de amostra, de modo que os diferentes líquidos de amostra podem ser ensaiados simultaneamente.

A fim de aplicar uma camada pasta de vedação hidrófoba tal como a massa de silicone numa maneira definida e reprodutível, pode ser feita a utilização de um pulverizador, que está, pelo menos, num sítio em contacto com o substrato, sendo, no entanto, movido através do substrato numa direcção de um excesso da paste. O pulverizador deixa uma ranhura estreita entre o substrato e o pulverizador, ranhura estreita que (e com o ângulo com o qual é movido o pulverizador), determina a espessura da camada. O pulverizador pode opcionalmente estar também munido de uma componente de guia que assenta contra uma lado do substrato.

A Fig. 2a mostra um substrato 1 munido de vários poços 4. Os meios de cobertura 6 estão munidos de ranhuras 8, cada uma das quais tem uma parede frontal 9 que impele os vários líquidos A, B, C, D para diante. Quando os meios de cobertura 6 estão na terceira posição, os poços 4 ficam vedados. Os poços 4 podem compreender vários reagentes W, X, Y, Z.

A Fig. 3 mostra uma vista de topo de três agrupamentos 2, 3, 9 compostos por poços 4', 4'', 4''', para serem enchidos com diferentes líquidos A, B, C. A fim de prevenir que os líquidos que durante o movimento dos meios de cobertura estão a ser pulverizados ao longo do bordo frontal de entrarem em contacto entre si, são proporcionados rebaixos 9, de modo que os líquidos são virtualmente sujeitos aos diferentes meios de cobertura 6.

A aplicação dos líquidos e o movimento dos líquidos é, de preferência, automatizados por meios de distribuidores e actuadores.

Lisboa,

REIVINDICAÇÕES

1 - Processo de enchimento de um poço com um líquido, em que é aplicado um líquido num substrato que compreende um poço numa posição que não coincide com o poço, e o poço após o enchimento é vedado com meios de cobertura, caracterizado por:

- ser aplicado, para encher o poço, líquido a um primeiro sítio, localizado entre um segundo sítio, onde um lado frontal dos meios de cobertura, aplicados sobre o substrato, fica situado, e o poço não coberto pelos meios de cobertura,

- o lado frontal dos meios de cobertura ser movido no sentido líquido que foi aplicado e do poço, levando desse modo com o mesmo o líquido, com o qual o poço vai ser enchido, e

- após o lado frontal dos meios de cobertura ter passado o poço, os meios de cobertura serem trazidos para uma terceira posição estacionária, a fim de vedarem o poço cheio com líquido.

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por serem utilizados meios de cobertura que têm uma espessura de, pelo menos, 0,5 mm, de preferência pelo menos 0,8 mm, e mais de preferência pelo menos 1,2 mm.

3 - Processo de acordo com reivindicação 1 ou 2, caracterizado por serem utilizados, se o líquido for hidrófilo, meios de cobertura, cujo lado virado para fora do substrato próximo da frente dos meios de cobertura é hidrófobo e vice-versa.

4 - Processo de acordo com reivindicação 3, caracterizado por os meios de cobertura no lado hidrófilo, virado para o substrato, possuir uma superfície com uma porção hidrófoba numa das suas extremidades.

5 - Processo de acordo com reivindicação 4, caracterizado por a porção de superfície hidrófoba compreender uma pasta hidrófoba.

6 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por, pelo menos, numa terceira posição os meios de cobertura serem pressionados para o substrato com uma força de, pelo menos, 1 kg/cm^2 .

7 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o substrato compreender um agrupamento dos poços, ser proporcionada uma ranhura no substrato com uma componente direccional principal que é perpendicular em relação à direcção do movimento dos meios de cobertura, e o líquido ser introduzido dentro da ranhura antes de ser transferido para o agrupamento pelos meios de cobertura que se movem através da ranhura.

8 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o líquido que envolve os meios de cobertura ser removido, quando os meios de cobertura estão na terceira posição.

9 - Processo de acordo com reivindicação 8, caracterizado por a remoção ocorrer por meio de gás comprimido.

10 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por os meios de cobertura utilizados serem meios de cobertura, cujo bordo do lado virado para o substrato e o lado frontal dos meios de cobertura são arredondados através de, pelo menos, uma porção dos mesmos, e o líquido em contacto com este arredondamento ser movido no sentido do líquido aplicado e do poço, levando consigo o líquido, com o qual o poço vai ser enchido.

11 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por num único substrato um primeiro poço ser enchido com um primeiro líquido e um segundo poço com um segundo líquido, o primeiro líquido e o segundo líquidos serem aplicados em respectivos primeiros sítios não

sobrepostos, e os meios de cobertura estarem munidos de dentado entre os primeiros sítios não sobrepostos.

12 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por um primeiro poço num único substrato ser enchido com um primeiro líquido e um segundo poço com um segundo líquido, sendo o primeiro líquido e o segundo líquido aplicados em respectivos primeiros sítios não sobrepostos e, pelo menos, um órgão escolhido a partir de i) o lado superior do substrato e ii) o lado inferior dos meios de cobertura, entre os primeiros sítios não sobrepostos, está munido de uma barreira elevada, enquanto que o outro órgão na mesma posição tem uma ranhura complementar, na qual pode ser recebida uma barreira, de modo que quando se enche o primeiro e segundo poços, a barreira é feita deslizar através da ranhura.

13 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por os meios de cobertura compreenderem, pelo menos, dois lados frontais, sendo, pelo menos, um lado frontal formado por uma parede de uma ranhura proporcionada perpendicularmente em relação à direcção do movimento no lado de baixo do substrato, e sendo um primeiro poço num único substrato enchido com um primeiro líquido e um segundo poço com um segundo líquido, sendo o primeiro líquido e o segundo líquido aplicados em respectivos primeiros sítios não sobrepostos, de tal modo que o poço do primeiro líquido e o poço do segundo líquido estão no segundo primeiro sítio, após o que os meios de cobertura são colocados sobre o substrato e subsequentemente movidos através do substrato a fim de encherem o primeiro poço e o segundo poço.

14 - Processo de acordo com uma das reivindicações anteriores, caracterizado por tanto o substrato como os meios de cobertura estarem munidos de grupos funcionais capazes da formação de uma ligação física ou química com os grupos funcionais com os quais os mesmos estão em contacto.

Lisboa,

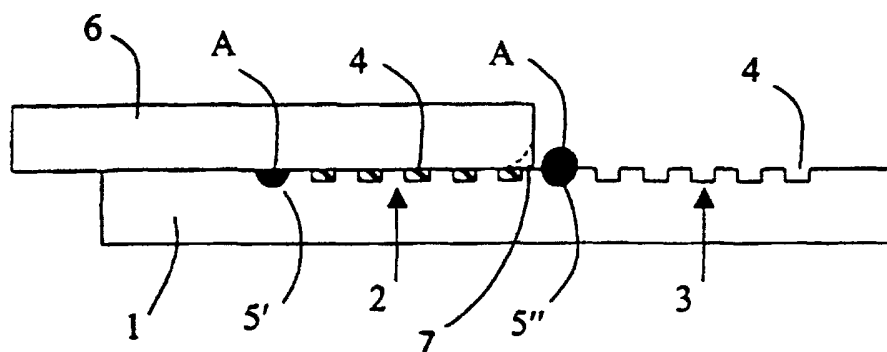


Fig. 1a

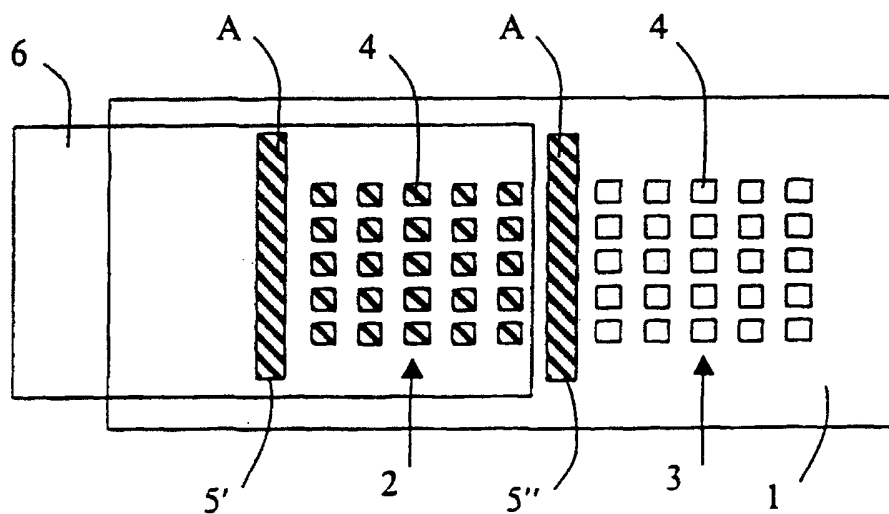


Fig. 1b

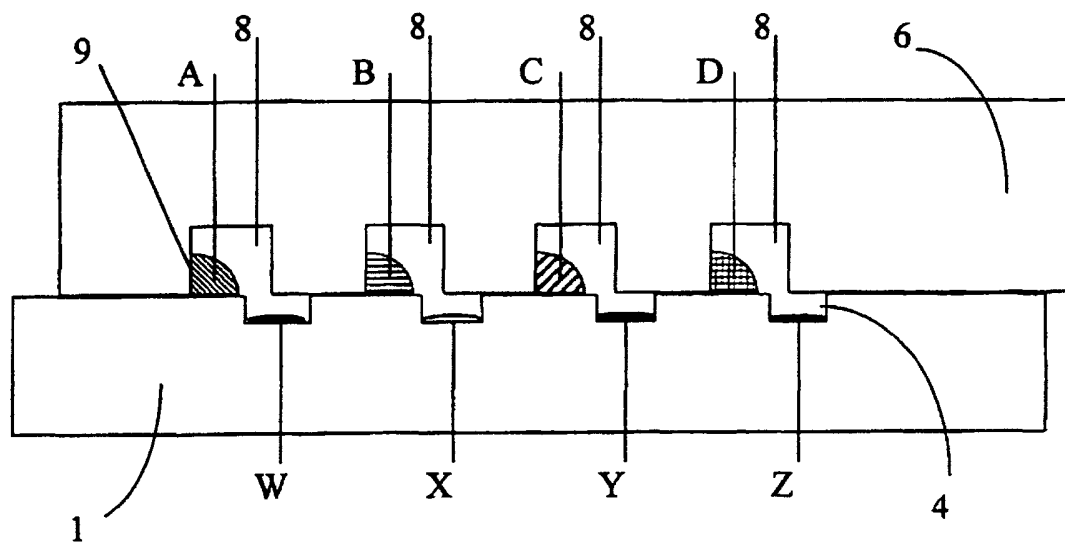


Fig. 2a

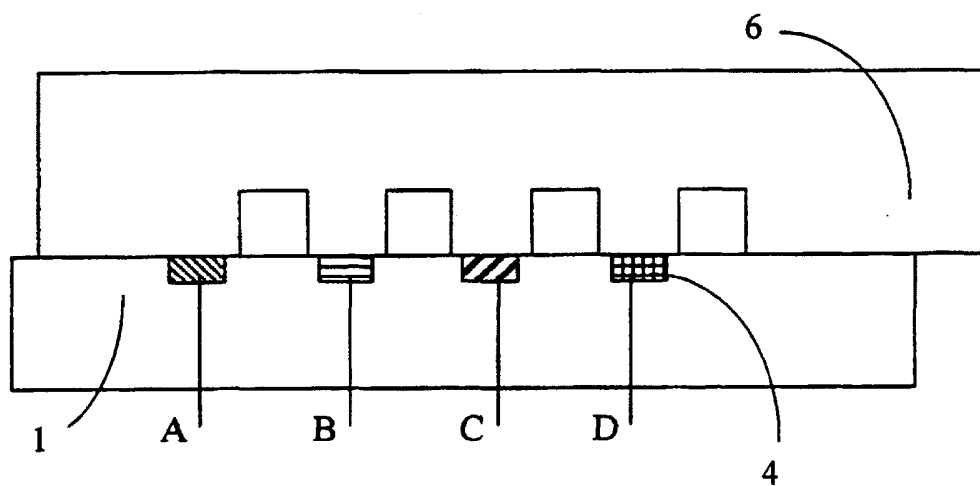


Fig. 2B

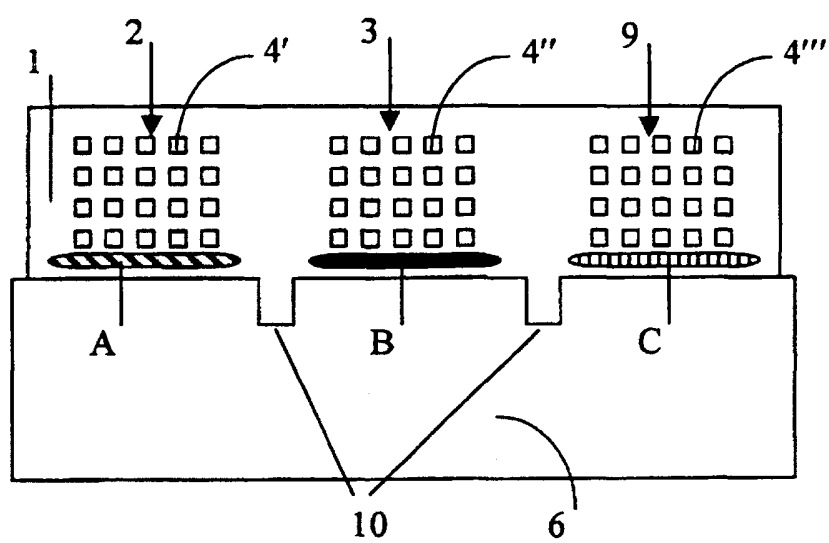


Fig. 3