



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 14 851 T2 2007.11.15**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 404 448 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 14 851.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/IB02/03220**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 765 157.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2003/004160**

(86) PCT-Anmeldetag: **04.07.2002**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **16.01.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **07.04.2004**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **20.09.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **15.11.2007**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **B01L 3/00 (2006.01)**

**B01J 19/00 (2006.01)**

**B81B 1/00 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:

**0116384 04.07.2001 GB**

(73) Patentinhaber:

**Diagnoswiss S.A., Monthey, CH**

(74) Vertreter:

**v. Fünér Ebbinghaus Finck Hano, 81541 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,  
GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR**

(72) Erfinder:

**ROSSIER, S., Joel, 1913 Saillon, CH; MICHEL,  
Philippe, 1868 Collombey, CH; REYMOND,  
Frederic, 1093 La Conversion, CH**

(54) Bezeichnung: **MIKROFLUIDISCHE VORRICHTUNG UND VERFAHREN FÜR CHEMISCHE VERSUCHE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

## GEBIET DER ERFINDUNG

**[0001]** Die Erfindung betrifft Geräte und Verfahren zur Durchführung von voll- oder halbautomatischen elektrochemischen Tests oder Reaktionen in mikrofluidischen Chips.

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

**[0002]** In den letzten Jahren ist das Gebiet der Miniaturisierung von analytischen chemischen und biochemischen Werkzeugen immer mehr gewachsen. Die Hauptfaktoren, die die Entwicklung von miniaturisierten chemischen Apparaten angetrieben haben, sind der Wunsch nach geringerem Analytenverbrauch, schnelle Analysen und bessere Automationskapazität. Diese Bedürfnisse zeigen sich insbesondere auf dem Gebiet der Biowissenschaften, wo biomedizinische Diagnostik, Genanalysen, Proteomik und Screening mit hohem Durchsatz in der Arzneimittelerdeckung immer wichtiger werden. Die Notwendigkeit, den Verbrauch von Analyten zu senken zeigt sich an der zunehmenden Anzahl von durchgeführten Assays, der Verwendung von Reaktanten für Analysen, die möglichst gering gehalten werden muss, um Kosten zu senken und die Entstehung von Abfall einzudämmen. Im Fall der biomedizinischen Diagnostik müssen oft extrem kleine Volumina analysiert werden und es ist wünschenswert, die Analysenzeit zu minimieren; ferner besteht auch ein Wunsch nach vereinfachten Handhabungsverfahren zur Verringerung von Manipulationen und Minimierung von Kreuzkontamination von Probe zu Probe. Bisher wurden zwei zwar unterschiedliche, aber dennoch komplementäre Strategien zur Erreichung dieser Ziele untersucht: Mikrofluidik-Vorrichtungen und 2-D-Assays hoher Dichte mit immobilisierten Affinitätsreagenzien.

**[0003]** Auf dem Gebiet der mikroanalytischen Systeme ist ein sehr wichtiges Thema für die Entwicklung von wirklich betriebsfähigen Vorrichtungen die Automatisierung der Assays, da die Reproduzierbarkeit der Messungen und die Anzahl durchführbarer Analysen so signifikant verbessert werden können. Für die Automatisierung von Messungen mit Mikrosystemen ist der kritischste Punkt wahrscheinlich das Reagenzien-Ausgabesystem. Bis jetzt wurden einige automatisierte Vorrichtungen für Mikromethoden entwickelt, die auf parallelen Netzen hoher Dichte basieren, wie z.B. Reihen von Mikropunkten oder Mikrovertiefungen. In diesen Fällen bestehen die Ausgabesysteme im Allgemeinen aus ein oder mehreren Nadeln zur Aspiration und Abgabe der erforderlichen Volumina von Reagenzien an sehr präzisen Punkten. Im Fall von Mikrofluidik-Systemen ist ein weiteres Schlüsselproblem für die Automatisierung der Messungen die Befüllung der Mikrokanäle und die Kon-

trolle der Bewegung der Reagenzien in ihnen. Automatisierte Mikrofluidik-Vorrichtungen auf Basis von Kapillar-Elektrophorese wurden in der Vergangenheit bereits entwickelt, beispielsweise wurde ein Voll-DNA-Analysator in einer einzelnen Vorrichtung mit einer Polymerasekettenreaktionskammer und nachfolgender elektrophoretischer Trennung implementiert.

**[0004]** Einige automatisierte Analysenmethoden, in denen Mikropipettenspitzen als Festphase der Reaktion und zur Handhabung von Reagenzien verwendet werden, wurden bereits entwickelt. Dies erfolgte durch Immobilisierung von Biomolekülen, wie z.B. Antikörpern, auf den Wänden der Spitzen und durch Verwendung dieser Spitzen zum Pipettieren der Reagenzien. Mit diesem Weg können die Risiken einer Kontamination von Probe zu Probe eingeschränkt werden. Die Verbindung der Mikrofluidik-Vorrichtungen mit einer externen Probenlösung wurde mit verschiedenen Mitteln angesprochen, beispielsweise Verbindung des Mikrofluidik-Chips mit einer Kapillare und Eintauchen der Kapillare in die Probenlösung und Pumpen der Lösung im Mikrochip durch elektroosmotische Strömung (WO 00/21666). In anderen Fällen ist der Chip mit einer Reihe von Mikrospritzenpumpen verbunden, um die Proben in den Mikrochip abzugeben (WO 01/63270). Einige Vorrichtungen verwendeten Impulse, damit die Probe den Chip mit Gas oder Hochspannung betreten konnte (CUS 6395232). Andere verwendeten Kapillarbefüllung von einer nadelgeätzten Kanalspitze, damit die Probenentnahme des Kanals durch Kapillarkirkung erfolgen und elektrochemische Versuche durchgeführt werden konnten, wie z.B. Glukosenachweis (Sensor Actuator A Band 95, 2002, 108-113). Ein solches Verfahren ermöglicht keine Kontrolle der Fluidik im Kanal. US 5580523 A offenbart einen integrierten chemischen Synthesizer mit Reaktoren, die vom elektrochemischen Typ sein können.

**[0005]** Bei der Durchführung von analytischen Assays ist die Kontrolle der Strömungsrate bei der Probenabgabe von größter Bedeutung. Aufgrund des sehr kleinen Volumens des Kanals (in der Größenordnung von Piktolitern bis Mikrolitern) führen in der Tat schon kleine Abweichungen in der Proben-Strömungsrate zu dramatischen Schwankungen im Volumen, das durch den Kanal übertragen wird. Wenn eine Reaktion beispielsweise Immunsorption oder Physisorption umfasst, kann es bei der gleichen Probenkonzentration zu starker Abweichung des Nachweises kommen. Aus diesem Grund will die vorliegende Erfindung die Strömung der Probenlösung auf elektrochemischem Wege kontrollieren und überwachen.

## Zusammenfassung der Erfindung

**[0006]** Die Erfindung ist durch den Umfang der an-

hängenden Ansprüche 1, 36 und 58 definiert, wobei die abhängigen Ansprüche die bevorzugten Ausführungsformen definieren.

**[0007]** Die Geräte und relevanten Verfahren der vorliegenden Erfindung eignen sich für die Durchführung vollautomatischer oder halbautomatischer Assays oder Reaktionen in Mikrochips. Die Mikrochips enthalten Mikrokanäle oder Mikrokanal-Reihen oder -Netze, die die Handhabung der Proben und Reagenzien und die Durchführung von Reaktionen mit anschließenden elektrochemischen Ereignissen ermöglichen. Sie können auch nur zur Handhabung von Reagenzien verwendet werden, beispielsweise für den Fall, wenn die vorliegende Vorrichtung zur Aufnahme oder Abgabe von Flüssigkeiten aus einem Mikrochip verwendet wird.

**[0008]** Im Allgemeinen enthalten die Mikrochips versiegelte Mikrokanäle mit zwei Öffnungen (eine an jedem Ende), und sie können mit verschiedenen Materialien hergestellt werden, darunter auch leitfähige Materialien zur Verwendung in elektrochemischen Assays.

**[0009]** Ein oder mehrere einzelne oder miteinander verbundene Mikrochips können einzeln und/oder auf demselben Träger hergestellt werden. Sie können einzeln oder als Anordnung von unabhängigen oder miteinander verbundenen Mikrostrukturen verwendet werden.

**[0010]** Vorzugsweise beinhaltet die untere Extremität des Mikrochips mindestens eine Spitze, die mit dem Mikrokanal verbunden ist, der mit der zur analysierenden oder zu reagierenden Probenlösung in Berührung gebracht wird. Der obere Teil des Mikrochips enthält vorzugsweise eine Ausgangsöffnung für die Mikrokanäle, die mit einer automatischen mikrofluidischen Kontrollvorrichtung verbunden werden kann, damit die Mikrokanäle gefüllt und/oder geleert werden können. In einigen Ausführungsformen kann die fluidische Kontrollvorrichtung eine einfache Mikropipette für mechanisches Pumpen sein. Vorzugsweise können die Mikrochips in x-, y- und/oder z-Richtung automatisch oder von Hand verschoben werden (z.B. sequentielles Verschieben).

**[0011]** Die Kontrolle der Strömung in der Mikrostruktur während der Probenentnahme ist wichtig, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Aus diesem Grund enthält das Gerät eine integrale Elektrode zur Überwachung des Flüssigkeitsflusses in der Mikrostruktur. Es ist wohlbekannt, eine Elektrode nicht nur zum Nachweis zu verwenden, ob ein Kanal gefüllt oder leer ist, sondern auch zur Messung des Lösungsflusses durch Amperometrie. Durch Leitfähigkeitsnachweis kann die Zeit gemessen werden, die erforderlich ist, damit die Lösung die Mikrostruktur überquert. Dies kann dadurch erfolgen, dass ver-

schiedene Elektroden am Eingang, an verschiedenen Stellen entlang der Mikrostruktur und am Ein- oder Ausgang der Mikrostruktur platziert werden. Die fluidische Kontrolle kann durch Überwachung der Strömungsrate durch amperometrischen Nachweis durchgeführt werden, wobei bereits nachgewiesen wurde, dass der nachgewiesene Strom von der Strömungsrate nach der Gleichung von Ilkovich abhängt:

$$I = 0,925nFCL (ID)^{2/3} (Fv/h^2d)^{1/3}$$

**[0012]** Wobei I der Strom, n die Anzahl pro oxidiertem Molekül ausgetauschter Elektronen, L die Breite der Elektrode, l die Länge der Elektrode, D der Diffusionskoeffizient des oxidierten Moleküls, Fv die Strömungsrate, h die halbe Höhe des Kanals, d die Breite des Kanals ist.

**[0013]** Es ist beachtenswert, dass die Art von elektrochemischer Messung quantitativ sein kann (d.h. wenn Amperometrie zur Überwachung der Konzentration einer elektroaktiven Spezies verwendet wird). Deshalb kann das bei der Probenbeladung, während den verschiedenen Schritten eines Assays (Inkubation, Waschen usw.) oder beim Hinzufügen von Reagenzien gemessene Signal zur Anpassung des am Ende des Assays erhaltenen Nachweissignals verwendet werden. Im Fall eines Immunosorbens-Assays beispielsweise variiert der bei der Probenbeladung, den Waschschritten oder beim Hinzufügen von Reagenzien gemessene Strom von Mikrostruktur zu Mikrostruktur und das am Ende des Assays erhaltene Signal ist mit großer Wahrscheinlichkeit von Mikrostruktur zu Mikrostruktur unterschiedlich. Die Schwankung des gemessenen Stroms zeigt an, dass die Strömungsraten nicht in allen Mikrokanälen und möglicherweise auch nicht in allen Schritten des Assays gleich waren. Dadurch schwankt auch die Verweilzeit der Moleküle in den Mikrostrukturen, wodurch Schwankungen in den Endwerten für den Assay entstehen. Mit elektrochemischer Kontrolle der Fluidik kann dann um diese Schwankungen variiert und die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Assays verbessert werden.

**[0014]** Auf diese Weise liefern die Vorrichtung und die Verfahren der vorliegenden Erfindung ein Mittel zur Durchführung von Analysen mit interner Kalibration des Assays. Beispielsweise fließen Proben mit leichten Viskositätsveränderungen in der Mikrostruktur mit unterschiedlichen Raten; Lösungen können in der Mikrostruktur je nach Präzision der mikrofluidischen Kontrolleinheit mit unterschiedlichen Raten gepumpt oder gedrückt werden. Ein großer Vorteil der vorliegenden Vorrichtung ist, dass sich diese Schwankungen mit einem elektrochemischen Gerät überwachen lassen. Das Endergebnis der Analyse kann so korrigiert werden, indem die mikrofluidischen Schwankungen, die in den verschiedenen Schritten des Assays elektrochemisch gemessen wurden, be-

rücksichtigt werden. Solche Messungen und die anschließende Datenverarbeitung sorgen so für interne Kalibration, wodurch die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Analysen stark verbessert wird.

**[0015]** Die Mikrochips können auch ein Mittel für die Temperaturkontrolle, zur Minimierung von elektronischem Rauschen und zur Minimierung von Verdunstung enthalten.

**[0016]** Vor Gebrauch der erfindungsgemäßen Vorrichtung werden die Reagenzien in einen Mikrokanal oder in eine Anordnung von Mikrostrukturen ausgegeben. Die Spitzen der Mikrochips, die die Eingänge der Mikrostrukturen ausmachen, werden in Vertiefungen oder Reservoirs eingetaucht und das fluidische Kontrollsystem gestattet das Befüllen und/oder Entleeren der Mikrostrukturen mit den Reagenzien. Bei Anwendung dieser Technik mit Ausführungsformen, die eine Vielzahl von Mikrostrukturen besitzen, können alle Mikrostrukturen gleichzeitig mit denselben oder verschiedenen Reagenzien gefüllt werden, so dass das Kontaminationsrisiko von Probe zu Probe begrenzt ist. Bei einigen Anwendungen können die Mikrostrukturspitzen in einem Reservoir integriert werden, in das die Probe geladen werden kann.

**[0017]** Das System kann zur Durchführung von Reaktionen oder Assays in Mikrokanälen verwendet werden. Es kann in Anwesenheit einer molekularen Phase in Lösung verwendet oder auf der Oberfläche der Mikrostruktur oder auf einem festen, in die Mikrostruktur integrierten Material, wie z.B. eine Membran, ein Filter, Perlen oder dergleichen befestigt werden.

**[0018]** Je nach Reaktion oder Assay kann der Nachweis nach verschiedenen Prinzipien erfolgen. Der Wandler, der für die Signalmessungen benötigt wird, kann in engem Kontakt platziert oder sogar in die Mikrochips integriert werden.

**[0019]** Der Begriff „Mikrochip“ wie hierin verwendet bezieht sich auf jedes System, das mindestens eine miniaturisierte Struktur (oder Mikrostruktur) besitzt, die eine Reaktions- oder Trennkammer oder eine Leitung wie eine Mikrovertiefung, ein Mikrokanal, ein Mikroloch und dergleichen ist, wobei es keine Einschränkung hinsichtlich Größe und Form gibt, aber mikrofluidische Manipulationen möglich sein müssen. In der vorliegenden Erfindung umfasst mindestens eine solche miniaturisierte Struktur mindestens eine Elektrode zur Durchführung von elektrochemischen Assays (wie unten definiert). Die Elektrode ist mit dem fluidischen Kontrollgerät verbunden und wird für verschiedene elektrochemische Ereignisse verwendet (wie unten beschrieben). In allen Fällen kann mit der Elektrode geprüft werden, ob der Kanal in den Probeentnahme- und/oder Assay-Schritten homogen gefüllt wird, und es kann kontrolliert werden, ob jeder

Kanal leer ist oder ob die Lösung in einem mehrstufigen Versuch gewechselt wurde. Wichtige Parameter wie z.B. die Flussrate können jederzeit während des Versuchs mit elektrochemischen Mitteln kontrolliert werden. In diesem Sinn ist die Anwesenheit der mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit verbundenen Elektrode einzigartig und bietet verschiedene Vorteile gegenüber ähnlichen Wegen mit optischem Nachweis und wo die Flussrate nicht genau so präzise überwacht werden kann.

**[0020]** Der Begriff „Mikrokanal“ wie hierin verwendet betrifft einen einzelnen Mikrokanal, eine Reihe von Mikrokanälen oder ein Netz von miteinander verbundenen Mikrokanälen, die hinsichtlich Anzahl oder Größe nicht begrenzt sind, aber verschlossen sind und einen Querschnitt aufweisen, der mikrofluidische Manipulation gestattet.

**[0021]** Die Mikrochips und Mikrokanäle sind vorzugsweise Einwegkomponenten und können aus verschiedenen Materialien gefertigt sein, wie z.B. Glas, Quarz, Polymer (z.B. Polyethylen, Polystyrol, Polyethylenterephthalat, Polymethylmethacrylat, Polyimid, Polycarbonat, Polyurethan oder Polyolefine), eine Reihe von Polymeren oder eine beliebige Kombination davon. Sie können auch ergänzende Elemente enthalten, wie z.B. aber ohne Einschränkung Membranen, Kammern mit Perlen, Festphase, Solgel, Elektroden, leitfähige Polster oder Spulen zur Kontrolle der Temperatur und/oder des elektrokinetischen Flusses. Die Elektroden können zur Durchführung elektrochemischer Messungen oder zum Anlegen einer hohen Spannung zur Überführung der Probe in einen Massenspektrometer mit einer Elektrospühtechnik verwendet werden.

**[0022]** Der Begriff „Spitze“ betrifft die Extremität der miniaturisierten Struktur in dem Mikrochip, von dem eine Probe entweder in die miniaturisierte Struktur geladen oder aus ihr ausgegeben wird. Der Begriff „Verbindungsende“ (auch als „Verbindungsextremität“ bezeichnet) betrifft die zweite Extremität der miniaturisierten Struktur, die mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit der erfindungsgemäßen Vorrichtung verbunden ist. Der Klarheit halber betrifft die Spitze, wenn die miniaturisierte Struktur ein Mikrokanal ist, entweder den Eingang oder den Ausgang des Mikrokanals, der mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit verbunden ist (auch als „Pipettier Vorrichtung“ in Bezug auf einige Ausführungsformen bezeichnet). Die Spitze kann mit verschiedenen geometrischen Merkmalen hergestellt werden, beispielsweise mit einem Mikrokanal-Eingang in Richtung des Mikrokanals oder lotrecht dazu oder an der Seitenwand des Mikrokanals; sie kann in ein Reservoir eingetaucht oder von einem Flüssigkeitsreservoir umgeben sein; schließlich besteht die Spitze vorzugsweise aus demselben Körper wie der Mikrochip selbst ohne Verlängerung zur externen Kapillare oder dem Verbindungs-

dungssystem.

**[0023]** Der Begriff „mikrofluidische Kontrolleinheit“ oder „Pipettier Vorrichtung“ bedeutet eine Vorrichtung aus Röhren oder Kapillaren, die die Erzeugung eines nicht turbulenten Molekularflusses durch Konvektion, Migration oder eine Kombination daraus ermöglicht; die Verbindung zwischen dem Mikrochip und der mikrofluidischen Kontrolleinheit kann durch Klemmen des Mikrochips erfolgen, so dass die mikrofluidischen Verbindungen in eine ausgerichtete Position relativ zu den Verbindungsenden der Mikrostruktur platziert werden; die mikrofluidische Kontrolleinheit bietet ein Mittel zur Erzeugung eines Flusses von Molekülen durch kontrolliertes Ziehen oder Schieben einer Lösung und/oder zum Blockieren der Lösung in den miniaturisierten Strukturen, wenn dies während einer Reaktion oder einer Wartezeit notwendig ist. Die mikrofluidische Verbindungseinheit kann auch vorteilhaft mit Lösungsreservoirs verbunden werden, die die notwendigen Reagenzien zur Durchführung der Reaktion oder des Assays enthalten, sowie Blockiermittel, Puffer, Waschlösungen und dergleichen.

**[0024]** Der Begriff „elektrochemischer Assay“ bedeutet einen elektrochemischen Versuch unter Verwendung der elektrischen Leitfähigkeit und/oder der Kraft zur Durchführung einer Reduktion, Oxidation oder Ionentransferreaktion oder zur Durchführung von Konduktimetrie und/oder Impedanzmessungen oder zur Erzeugung eines elektrischen Felds in einer Lösung, beispielsweise zur Durchführung von Ionophorese oder Patch-Klemm-Messungen oder zur Einleitung von Elektroosmose oder von elektrokinetischem Pumpen oder zur Erzeugung eines Elektrospays, wie es beispielsweise für den Transfer von Molekülen von der Spitze der miniaturisierten Struktur in einen Massenspektrometer verwendet werden kann.

**[0025]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung umfasst auch eine „elektrochemische Einheit“, die die elektronische Vorrichtung ist, die zur Durchführung der oben erwähnten elektrochemischen Assays benötigt wird. Sie kann beispielsweise leitfähige Polster beinhalten, die eine elektrische Verbindung zwischen der Lösung in den miniaturisierten Strukturen und der zur Durchführung des elektrochemischen Assays verwendeten Vorrichtung (z.B. ein Potentiostat, eine kontrollierte elektrische Stromquelle, ein Impedanzmessgerät und dergleichen) gestattet.

**[0026]** Die Kombination der oben erwähnten Elemente ermöglicht die Durchführung von genauen elektrochemischen Assays in Mikrochips; eine miniaturisierte Struktur mit einer Spitze zum Beladen und/oder Ausgeben einer Probe, und eine Verbindung mit einer mikrofluidischen Kontrolleinheit und mindestens eine Elektrode, die mit der elektrochemischen Einheit verbunden ist und die Durchführung

von elektrochemischen Assays gestattet.

**[0027]** In einigen Anwendungen kann eine elektroaktive Spezies vorteilhaft der Probenlösung zugefügt werden, um die Mikrofluidik durch Erzeugung eines elektrochemischen Signals zu verfolgen, beispielsweise des Stroms, der sich aus der Reduktion und/oder Oxidation dieser elektrochemischen Spezies ergibt oder des Widerstands entlang der Mikrostruktur. Dies kann vorteilhaft für eine innere Kalibrierung der mit der vorliegenden Vorrichtung durchgeführten Analyse verwendet werden, weil die Endergebnisse je nach den Schwankungen des in den Mikrofluidik-Schritten des Assays gemessenen elektrochemischen Signals korrigiert werden können.

**[0028]** Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann auch vorteilhaft mit einem Computer verbunden oder sogar in diesen integriert werden, so dass eine Online-Datenverarbeitung und computerisierte Steuerung der Assays oder Reaktionen möglich ist.

**[0029]** Diese Vorrichtung wird vorzugsweise zur Durchführung von biologischen oder chemischen Analysen oder Reaktionen verwendet, wie beispielsweise ohne Einschränkung jede Art von massenspektrometrischen Messungen, in vitro und in vivo diagnostischen Assays, alle Arten von Affinitäts- oder toxikologischen Assays und von physikalisch-chemischen Charakterisierungen oder kombinatorische Synthese von Verbindungen.

#### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

**[0030]** Die Erfindung wird hiernach ausführlich beispielhaft beschrieben, wobei auf die anhängenden Figuren verwiesen wird, in denen zeigen:

**[0031]** [Fig. 1](#) eine schematische Darstellung einiger Beispiele von Mikrochips und Mikrokanalstrukturen und erfindungsgemäßen Verbindungen;

**[0032]** [Fig. 2](#) eine schematische Darstellung einer Seitenansicht (A) und einer Draufsicht (B) einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung;

**[0033]** [Fig. 3](#) eine schematische Darstellung einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Reihe von Mikrokanälen, die mit einem automatischen System verbunden sind, das die Aspiration von Reagenzien und die Verdrängung der Mikrochips in x-, y- und z-Richtungen gestattet;

**[0034]** [Fig. 4](#) eine schematische Darstellung des Prinzips eines Sandwich-Immunoassays, der in einem Mikrochip in einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung durchgeführt wird;

**[0035]** [Fig. 5](#) eine schematische Darstellung der Verbindung einer Reihe von Mikrokanälen mit einem

Massenspektrometer unter Verwendung einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung;

**[0036]** **Fig. 6** eine Reihe von Fotos einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, die zur Aufnahme einer Probe in Lösungsreservoirs **18** (hier eine Mikrotiterplatte) verwendet wird; **Fig. 6A** eine allgemeine Ansicht der Vorrichtung, wobei der Mikrochip eine Reihe von 8 Mikrostrukturen aufweist, die in einem Plexiglas-System gestützt werden, das die Verbindung mit der elektrochemischen Einheit (nicht gezeigt) über die auf dem Mikrochip integrierten elektrischen Auflagen **15** und die Verbindung mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit (nur teilweise gezeigt) über kleine Verbindungslöcher **10** und Schläuche **10'** gestattet; **Fig. 6B** eine genauere Ansicht des Mikrochips und der Verbindungssysteme mit den elektrochemischen und mikrofluidischen Kontrolleinheiten; **Fig. 6C** und **Fig. 6D** die gleichen Teile der Vorrichtung wie in **Fig. 6A** und **Fig. 6B**, aber in einer Position, wo die Mikrostrukturspitzen **3** in die Lösungsreservoirs tauchen, um die gewünschten Proben aufzunehmen;

**[0037]** **Fig. 7** ein Foto einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung, die einen Mikrochip mit einer Mikrostrukturspitze auf der Oberseite des Mikrochips umgeben von Reservoirs aufweist;

**[0038]** **Fig. 8** die betriebliche Reihenfolge eines mehrstufigen Assays, der mit einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung durchgeführt wird und folgende Schritte umfasst: A) Verbinden eines Mikrochips mit einer Mikrostrukturspitze, umgeben von einem Reservoir, mit einer elektrochemischen Einheit (nicht gezeigt) und mit einer mikrofluidischen Kontrolleinheit **11**, aus der verschiedene Lösungen oder sogar Luft **31–34** gepumpt, angesaugt oder in der Mikrostruktur blockiert werden können; B) Beladen einer Probe im Lösungsreservoir **28**; C) Füllen der Mikrostruktur mit der Probenlösung entweder durch Kapillarität oder Aspiration unter Verwendung der mikrofluidischen Kontrolleinheit und Inkubation der Probenlösung in der Mikrostruktur; D) Leeren der Mikrostruktur durch Pumpen von Luft oder einer Lösung **31** in die Mikrostruktur, wodurch die Probenlösung in das Reservoir **28** gedrückt und die Verbindungsschläuche **10'** mit einer oder einer Reihe von Lösungen **32–34** gefüllt werden; E) Ausgeben dieser Lösungen in die Mikrostruktur; F) Durchführen eines elektrochemischen Assays (entweder beim Pumpen einer oder aller Lösungen **31–32** in der Mikrostruktur oder beim Blockieren einer oder sequentiell jeder dieser Lösungen in der Mikrostruktur);

**[0039]** **Fig. 9** die betriebliche Reihenfolge eines mehrstufigen Assays, der mit einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung durchgeführt wird, ähnlich der in **Fig. 8** gezeigten Reihenfolge, aber wo die Mikrostrukturspitze mit der Probenlösung

in Berührung gebracht wird und wahlweise wo der letzte Schritt die Ausgabe der Analytenlösung in einen Massenspektrometer **25** durch Erzeugung eines Elektrosprays **26** umfasst; und

**[0040]** **Fig. 10** ein Beispiel des Ergebnisses eines elektrochemischen Assays, der mit einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung durchgeführt wurde, das zeigt, wie elektrochemische Signale zur Bestimmung der Genauigkeit des Lösungsflusses unter Kontrolle der mikrofluidischen Kontrolleinheit verwendet werden können. Diese Figur zeigt die zyklische voltammetrische Entstehung des Nachweises von 500  $\mu\text{M}$  Ferrocen-Methanol unter forcierter Konvektion mit dem in **Fig. 3a** gezeigten Mikrokanal bei 10 mV/s; der Einsatz zeigt die Entstehung des Plateaustroms bei 300 mV im Vergleich mit der Flussrate zwischen 0,2 und 1,28  $\mu\text{l/h}$ .

**[0041]** Das Grundkonzept der Erfindung lässt sich mit Bezug auf die beiliegenden Figuren verstehen, in denen die verschiedenen Ausführungsformen der Erfindung ausführlich beschrieben sind. Es versteht sich, dass jeder der in den Figuren gezeigten Kanäle eine integrierte Elektrode besitzt, um die Flusskontrolle wie hierin beschrieben zu ermöglichen. Der Klarheit halber sind die Elektroden nicht immer gezeigt.

**[0042]** **Fig. 1A** und **B** zeigen ein Beispiel eines Mikrochips **1** mit verschiedenen Mikrokanal-Formen von miniaturisierten Strukturen **2** (einzelne Mikrokanäle und Netze aus miteinander verbundenen Mikrokanälen). **Fig. 1A** zeigt die Situation, in der der Chip dreieckig zugeschnitten wird, wobei sich die Extremität im Rand des Mikrokanals befindet, und **1B** zeigt den Chip mit einer Extremität des Kanals auf der Seite des Mikrokanals. Jede dieser Mikrostrukturen enthält eine oder eine Vielzahl von Spitzen **3** und Verbindungsextremitäten **4**. Eine dieser Mikrostrukturen zeigt eine integrierte Elektrode **5**, während eine andere Mikrostruktur integrierte Spulen **6** zeigt. Die Spitzenextremitäten der Mikrochips enthalten die Mikrokanal-Eingänge. Diese Figur zeigt auch wie einige Elektroden **5** und Spulen **6** in die Kanäle integriert werden können.

**[0043]** Das Netz aus Mikrokanälen auf der linken Seite zeigt, dass zwei Mikrokanäle in Berührung gebracht werden können, um eine Trennung und/oder Reaktion von zwei Lösungen durchzuführen, die gleichzeitig aus den mikrofluidischen Spitzen gepumpt wurden. Wie in der Mitte von **Fig. 1** gezeigt gehen mehr als zwei Mikrokanäle in eine Kontaktzone über, die eine Trennung und/oder Reaktion ermöglicht. In einigen Ausführungsformen sind die mikrofluidischen Spitzen nicht auf derselben Ebene angeordnet, sondern sie bestehen aus einem mehrschichtigen Körper, der die Anordnung in den drei Dimensionen ermöglicht.

**[0044]** Die Mikrokanäle können auch unterschiedliche Oberflächeneigenschaften haben, um die Adsorption einiger Verbindungen an den Wänden zu vermeiden oder zu begünstigen.

**[0045]** Die Mikrokanäle können auch mit einigen porösen Verbindungen modifiziert werden, z.B. mit Polycarbonat-Membranen, mikroporösen Teflon- oder anderen Polymeren, die die spezifische Diffusion von Gas oder Flüssigkeit ermöglichen. Dies kann beispielsweise angewendet werden, wenn die in den Mikrokanälen durchgeführten Reaktionen oder Assays Gas erzeugen, das eliminiert werden muss, oder wenn ein Ionentransferversuch an der Schnittstelle zwischen zwei Flüssigkeiten durchgeführt werden muss (wobei eine Phase beispielsweise in dieser porösen Membran unterstützt wird). Auch können vorteilhaft Membranen zur physikalischen Trennung von zwei Lösungen oder Phasen in die Mikrochip-Vorrichtung integriert werden. Darüber hinaus kann ein solches poröses Material auch zur Reinigung einer Probe durch Adsorption einer in der Probe vorliegenden Verbindung verwendet werden.

**[0046]** In der vorliegenden Erfindung kann das fluidische Kontrollsystem ein Aspirationssystem (z.B. mit mechanischem oder Druckpumpen), eine Kapillarkraft-Strömungsvorrichtung oder eine elektrokinetisch angetriebene Strömungsvorrichtung sein. Die fluidische Kontrollvorrichtung kann das Befüllen und/oder Entleeren der Mikrokanäle gestatten. Das fluidische Kontrollsystem kann mit einer automatischen Vorrichtung verbunden sein, die die sequentielle Verdrängung der Mikrochips in x-, y- und/oder z-Richtung gestattet. In einer anderen Ausführungsform kann die fluidische Kontrollvorrichtung eine einfache Mikropipette sein, die mechanisches Pumpen und manuelles Verdrängen der Mikrochips gestattet.

**[0047]** In einigen Ausführungsformen kann die manuelle oder automatische Verdrängungsvorrichtung die Modifikation der Orientierung der Mikrokanäle gestatten, um den Expositionswinkel der Spitzenextremitäten der Mikrokanäle zu verändern.

**[0048]** **Fig. 2** zeigt eine schematische Darstellung (A: Seitenansicht; B: Draufsicht) einer erfindungsgemäßen Vorrichtung. Der Mikrochip **1** umfasst eine Reihe von acht miniaturisierten Strukturen, die jeweils aus einem Mikrokanal **2**, einer Spitze **3** und einer Verbindungsextremität **4** bestehen. Dieser Mikrochip wird in einen Halter **7** gelegt, der so hergestellt ist, dass er die präzise Ausrichtung der Verbindungsextremitäten **4** mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit **11** über Leitungen, Schläuche und/oder Kapillaren **10**, **10'** gestattet. Die Vorrichtung umfasst ferner elektrische Verbindungen **12**, die die Verbindung der elektrochemischen Einheit **13** mit den in den miniaturisierten Strukturen integrierten Elektroden **14** und den elektrischen Auflagen **15** im Mikrochip gestattet

(wobei diese elektrischen Verbindungen nur für eine der acht Mikrostrukturen gezeigt sind).

**[0049]** In einer Ausführungsform kann eine Probenlösung in die Mikrostrukturen der Vorrichtung geladen werden, indem ein Tropfen der Lösung auf jede Mikrokanalspitze **3** gegeben wird. Die Mikrokanäle **2** werden dann durch Kapillarität oder Aspiration unter Verwendung der fluidischen Kontrolleinheit **11** gefüllt (nachdem der Verbindungsträger **16'** durch Aufbringen von Druck auf die Federn **17**, um Dichtigkeit auszulösen, auf den Mikrochips festgeklemt wurde).

**[0050]** Danach kann die Probenlösung mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit aus der Mikrostruktur geholt werden (beispielsweise durch Absaugen oder Pumpen von Luft oder einer anderen Lösung). Die Mikrostrukturen können dann gefüllt und wieder geleert werden, um weitere Analyseschritte durchzuführen.

**[0051]** In einer anderen Ausführungsform kann die Probenlösung durch Pumpen mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit in die Mikrostrukturen eingeführt werden, um die Flussrate bei der Probeneinführung zu kontrollieren. Dann werden die Spitzen der Mikrostrukturen entweder als Schnittstellen zu den Abfallreservoirs oder als Ausgabesysteme verwendet.

**[0052]** Die elektrochemische Einheit kann auch in jedem Schritt des Befüllen, Entleerens oder Blockierens der Probenlösung in den Mikrostrukturen verwendet werden, um einen elektrochemischen Assay durchzuführen. In einigen Anwendungen wird der elektrochemische Assay (z.B. Reduktion oder Oxidation einer elektroaktiven Verbindung oder Leitfähigkeit oder Impedanzmessungen) bei allen Füll- und Leerungsschritten der Analyse durchgeführt, um ein Signal zur Messung der richtigen Kontrolle der Mikrofluidik in jeder Mikrostruktur zu erhalten.

**[0053]** In einer anderen Ausführungsform wird die Vorrichtung zur Kontrolle der Befüllung der Probe in der Mikrostruktur verwendet. Dazu kann der Chip vorteilhaft in der Vorrichtung platziert werden, bevor die Spitze mit der Probe in Berührung kommt. In diesem Fall ist die Mikrostruktur bereits vor der Applikation der Proben mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit verbunden. Wenn der Mikrochip fest mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit verbunden ist, wird Luft in der Mikrostruktur blockiert und kann nicht entweichen (keine Entlüftungsmöglichkeit). Auf diese Weise kann diese Probe, wenn die Mikrostruktur mit der Probe in Berührung gebracht wird, die Mikrostruktur nicht füllen (es kann kein Kapillarfluss erfolgen), und dies kann durch die integrierte Elektrode und die elektrochemische Einheit überprüft werden. Damit die Probe die Mikrostruktur füllen kann, muss mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit Gegendruck aufge-

bracht werden. In einer anderen Ausführungsform kann der Mikrochip auch von der mikrofluidischen Kontrolleinheit gelöst werden (beispielsweise durch Betätigen eines Klemmsystems zur Gewährleistung einer flüssigkeitsdichten Verbindung zwischen der Mikrostruktur und der mikrofluidischen Kontrolleinheit), so dass Luft aus der Mikrostruktur durch das Verbindungsende entweichen und die Mikrostruktur durch Kapillarität gefüllt werden kann. Nach dem Füllen wird die mikrofluidische Kontrolleinheit wieder verbunden, damit die Probe in der Mikrostruktur blockiert wird oder die Probe und/oder anderen Lösungen gepumpt oder geschoben werden. Diese Kontrolle der Befüllung der Probe ist sehr hilfreich, um den Anfangspunkt der Reaktion (d.h. Zeit gleich Null) präzise festzulegen, was für die Genauigkeit der Versuche, die von der Reaktionszeit abhängen (wie beispielsweise enzymatische Tests) von größter Wichtigkeit ist. Dieses Blockierverfahren mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung gestattet die Verbesserung der Genauigkeit der Assays und ihre Reproduzierbarkeit.

**[0054]** In einer anderen Ausführungsform kann der Chip eine hydrophobe Barriere aufweisen, um die Kapillarfüllung der Probe zu verhindern. Dies wird wiederum durch die im Mikrokanal liegende Elektrode kontrolliert. In diesem speziellen Fall muss der Mikrochip aber bei der Applikation der Probe auf der Mikrostrukturspitze nicht mit der mikrofluidischen Kontrolleinheit verbunden werden.

**[0055]** In einigen Ausführungsformen wird die mikrofluidische Kontrolleinheit während der Analyse verwendet, um eine Analytenlösung in den Mikrostrukturen zu blockieren. Die elektrochemische Einheit kann dann vorteilhaft zur Induktion eines Molekularflusses durch Anlegen eines Potentials verwendet werden; in einer solchen Analyse kann die erfindungsgemäße Vorrichtung somit zur Durchführung von Elektrophorese-Versuchen verwendet werden.

**[0056]** [Fig. 3](#) zeigt, wie die Mikrochips mit einer mikrofluidischen Kontrolleinheit **11** verbunden werden können, die in diesem Fall ein halbautomatisches Aspirationssystem ähnlich einer Pipettier Vorrichtung ist, die die Abgabe der Reagenzien in die Mikrokanäle **2** und die Verdrängung der Mikrochips **1** in die x-, y- und z-Richtungen gestattet. Die Spitzen der Mikrostrukturen **3** werden nacheinander in eine Reihe von Lösungsreservoirs **18** eingetaucht (hier als Vertiefungen einer Mikrotiterplatte gezeigt), die verschiedene Reagenzien, Puffer und/oder Waschlösungen enthalten. Die Mikrokanäle **2** werden so nacheinander mit den Reagenzien, Puffer und/oder Waschlösungen für die Reaktionen des Assays gefüllt.

**[0057]** In einer bevorzugten Ausführungsform kann die Erfindung auf dem Gebiet der kombinatorischen Chemie verwendet werden, wobei Moleküle auf die

Oberfläche der Mikrostrukturen gepropft werden und mit anderen Molekülen für die Synthese neuer Verbindungen kombiniert werden, die dann freigesetzt und analysiert werden.

**[0058]** In einigen Ausführungsformen, wo die in den Mikrokanälen durchgeführten Reaktionen oder Assays endothermisch sind, kann die Spitze durch Inkubation der Mikrochips in einer thermostatisierten Kammer oder durch Durchleiten von Strom durch die integrierten Elektroden oder Spulen wie in [Fig. 1](#) schematisch gezeigt erhitzt werden. Umgekehrt kann die Temperatur der Lösung auch verringert werden, um die Reaktion zu stoppen.

**[0059]** In einigen Ausführungsformen kann die Erfindung zur Durchführung von homogenen oder heterogenen (bio)chemischen Assays in den Mikrokanälen verwendet werden. Diese Assays können ein hochspezifisches (biologisches) Erkennungselement umfassen, wie beispielsweise ohne Einschränkung ein Enzym, Antikörper, Antigen, Hapten, Nukleinsäure, Oligonucleotid oder Peptid. Das (biologische) Erkennungsinstrument kann dann in Lösung verwendet werden. Eine kovalente Bindung kann auch in den Mikrokanälen mit chemischen Verbindungen erzielt werden, die spezifische (biologische) Erkennung ermöglichen. In diesem Fall können die für die Assays benötigten Reagenzien vor den Messungen in eine ELISA-Platte gelegt werden. Die Mikrokanäle können somit beispielsweise zur Durchführung von homogenen oder heterogenen Immunassays verwendet werden.

**[0060]** Die Mikrokanäle können auch spezifische Merkmale für die Durchführung der Trennung und/oder Reinigung enthalten. Dazu kann mindestens ein Teil des Mikrokanals eine kovalent oder physikalisch adsorbierte Verbindung oder eine heterogene Phase enthalten (wie ein Gel, eine Membran, Perlen und dergleichen).

**[0061]** [Fig. 4](#) fasst die Grundsätze und die aufeinanderfolgenden Schritte zusammen, die zur Durchführung eines Sandwich-Immunassays in Mikrochips **1** mit mindestens einer Elektrode **14** wie in der vorliegenden Erfindung verwendet zusammen. Der Mikrokanal **2** ist mit einer Lösung aus einem für den Analyten spezifischen Antikörper **20** gefüllt. Der Antikörper wird dann an den Wänden der Mikrokanäle adsorbiert. Die Oberfläche wird dann durch Inkubation des Blockiermittels **21** (z.B. eine Lösung von BSA) blockiert. Dieses Blockiermittel adsorbiert an den Stellen der Kanalwände, die nach der Adsorption des Antikörpers **20** frei geblieben sind. Dies verhindert die nichtspezifische Bindung, die in den folgenden Schritten des Assays erfolgen könnte. Die zu analysierenden Proben werden dann inkubiert, was zur Bindung des gewünschten Analyten **22** mit dem Antikörper **20** führt. Der letzte Schritt umfasst die Inkuba-

tion eines für den Analyten spezifischen markierten konjugierten Antikörpers **23**. Zwischen jedem Schritt werden die Kanäle normalerweise mit Wasser oder Pufferlösungen gewaschen, um die nicht fixierten Verbindungen zu eliminieren. Der Nachweis des Sandwich-Komplexes kann dann durchgeführt werden. Unterschiedliche Nachweisprinzipien können je nach (Bio)chemie des Assays verwendet werden. Während den dem Nachweis des Sandwich-Komplexes vorausgehenden Schritten wird ein elektrochemischer Assay durchgeführt, um die Wirksamkeit der mikrofluidischen Kontrolleinheit zu bestimmen. Beispielsweise gestatten Leitfähigkeitsmessungen eine Beurteilung, ob die gesamten Mikrostrukturen mit Lösung gefüllt sind; ähnlich können amperometrische Messungen durchgeführt werden, um die Wirksamkeit der verschiedenen Schritte des Assays zu beurteilen.

**[0062]** Die Assays oder Reaktionen, die in den Mikrokanälen durchgeführt werden, können mit verschiedenen Grundsätzen bestimmt werden, einschließlich ohne Einschränkung Lumineszenz (Fluoreszenz, UV/Vis, Biolumineszenz, Chemilumineszenz, Elektrochemilumineszenz), Elektrochemie oder Massenspektrometrie.

**[0063]** In einigen Ausführungsformen sind die Mikrochips über eine Schnittstelle mit einem Detektor auf der Außenseite der Mikrokanäle verbunden. In diesem Fall kann der Detektor beispielsweise eine Photomultiplikator-Röhre oder ein Massenspektrometer sein.

**[0064]** Vor dem Nachweisschritt kann die im Mikrokanal enthaltene Lösung einem Reinigungs- und/oder Trennschritt unterworfen werden (beispielsweise mit Chromatographie, selektiven Membranen, Filtern oder elektrophoretischer Trennung).

**[0065]** **Fig. 5** zeigt, wie die Spitzenenden **3** der Mikrochips **1** über eine Schnittstelle mit einem Massenspektrometer **25** zum Nachweis eines Moleküls verbunden werden können. Am Ende beispielsweise einer immunologischen Reaktion in den Mikrokanälen **2** wird der Komplex desobiert und eluiert. Die Spitzextremität **3** wird dann zur Injektion des Eluats in den Massenspektrometer durch Erzeugung eines Elektrosprays **26** verwendet. Dazu muss die Lösung mit einer Elektrode und einer elektrochemischen Einheit in Kontakt gebracht werden, die zum Anlegen einer hohen Spannung zwischen der Mikrostruktur und dem Massenspektrometer dient. **Fig. 5** zeigt eine solche Elektrode **14**, die in verschiedenen Positionen in den Mikrokanälen oder in der Verbindungsextremität **4** der Mikrostruktur platziert werden kann. Wenn diese Elektrode in den Mikrokanal integriert wird, wird vorzugsweise ein Leitpfad **15** direkt auf dem Mikrochip hergestellt; die Elektrode wird dann über elektrisch leitfähige Verbindungen **12** (z.B. abgeschirmte

Kabel) weiter in die elektrochemische Einheit gesteckt.

**[0066]** In einigen Ausführungsformen kann der Detektor in die Mikrokanäle integriert werden. In diesem Fall kann der Wandler beispielsweise eine Elektrode oder eine Photodiode sein.

**[0067]** In anderen Ausführungsformen wird die Mikrokanalspitze nicht zum Füllen im Mikrokanal mit der interessierenden Lösung sondern zum Ausgeben der Lösung aus dem Mikrokanal in eine anderen Trenn-, Reinigungs- oder Nachweisvorrichtung verwendet. Dazu gestattet die mikrofluidische Kontrolleinheit die Kontrolle des aus den Mikrostrukturspitzen ausgegebenen Lösungsvolumens. Beispielsweise kann der Mikrokanal als Elektrospray-Schnittstelle für die MS-Analyse verwendet werden. In einer anderen Ausführungsform kann der Mikrochip horizontal platziert werden und eine Reihe von Lösungsreservoirs (z.B. eine Mikrotiterplatte) kann vertikal angeordnet werden, um die Probenentnahme in den Mikrostrukturen und dann die Ausgabe der Lösung in den Massenspektrometer zu erleichtern.

**[0068]** **Fig. 6** zeigt mehrere Ansichten eines Beispiels einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, in der Lösungsreservoirs **18** mit den Mikrostrukturspitzen **3** in Kontakt gebracht werden, um eine Reihe von Mikrokanälen mit Analytenlösungen zu füllen. Es ist offensichtlich, dass der Mikrochip oder die Lösungsreservoirs in allen x-, y- und z-Richtungen verdrängt werden können. Der die Mikrostrukturen unterstützende Mikrochip wird in einen Halter gelegt, der eine Verbindung mit der elektrochemischen Einheit und der mikrofluidischen Kontrolleinheit (nicht gezeigt) über elektrische Verbindungen **15** und Schläuche **10'** ermöglicht. In diesem Fall kann der Mikrochip eine Festphase enthalten, um Entsalzung, spezifische Affinitätsassays und andere Probenvorbereitungen zu ermöglichen. Eine Sprühlösung, die beispielsweise aus Methanol, Acetonitril und saurer Lösung besteht, kann in den Schläuchen **10'** aufbewahrt werden und kann zur Desorption von Proben dienen, die zuvor im Mikrochip immobilisiert wurden. In einer Ausführungsform können Mikroperlen in eine Reservoir zwischen dem Chip und der mikrofluidischen Kontrolleinheit platziert werden, um die Vorbehandlung der Probe (z.B. Entsalzung oder Affinitätsreaktionen) vor den Massenspektrometer-Analysen zu ermöglichen.

**[0069]** In einigen Ausführungsformen ist die Mikrostrukturspitze ein Einlass auf der Seite des Mikrochips in Kontakt mit der zu analysierenden Probenlösung. **Fig. 7** zeigt ein Beispiel einer solchen Mikrostrukturspitze, die in eine erfindungsgemäße Vorrichtung eingeführt ist. In diesem Beispiel können Reservoirs **28** auf der Oberseite der Mikrostrukturspitzen integriert sein, damit die Probenlösung über die Spitzen in die Mikrostrukturen abgegeben werden kann.

Die Lösung kann dann entweder durch Kapillarwirkung oder durch Aspiration aus der Verbindungsextremität in die Mikrostrukturen eindringen. In einigen Ausführungsformen kann der Mikrochip so mit der fluidischen Kontrollvorrichtung verbunden werden, dass Kapillarfüllung durch den Gegendruck, der von der fluidischen Kontrollvorrichtung gewährleistet wird, verhindert wird. Die Probe kann erst in den Kanal eindringen, wenn die fluidische Kontrollvorrichtung aspiriert. [Fig. 7](#) zeigt die elektrochemische Kontrolleinheit **13** mit ihren elektrischen Verbindungen **12**, die zur Durchführung der elektrochemischen Assays in jeder Mikrostruktur verwendet wird.

**[0070]** [Fig. 8](#) und [Fig. 9](#) zeigen die Reihenfolge eines mit einer erfindungsgemäßen Vorrichtung durchgeführten Assays bei der Ausgabe der Probe und der Reagenzien in die Mikrostrukturen und mit zwei verschiedenen Designs von Mikrostrukturspitzen. In [Fig. 8](#) ist ein Reservoir auf dem Spitzenende der Mikrostruktur integriert und gewährleistet den Kontakt der Lösung mit dem Chip. Es ist beachtenswert, dass dieses Reservoir zur Aufnahme aufeinanderfolgender Lösungen zur Durchführung von mehrstufigen Assays wie z.B. Synthesen, Analysen und so weiter verwendet werden kann. In einer Ausführungsform können verschiedene Reagenzien **32**, **33** und **34** in die Verbindungsschläuche **10'** ohne turbulente Strömung geladen und mit einem inerten Lösungsmittel oder sogar mit einer Gasblase **31** getrennt werden. Durch Pumpen der verschiedenen Reagenzien in den Mikrochip kann eine Reaktion ausgelöst werden, beispielsweise aber ohne Einschränkung ELISA, Affinitätsassays, Waschschritte, Entsalzungsschritt usw.

**[0071]** In einigen Ausführungsformen können die Reagenzien **31** bis **35** Perlen enthalten, die durch die mikrofluidische Kontrolleinheit so gepumpt werden, dass sie am Ende der Verbindungsschläuche (**10'**) oder an der gewünschten Stelle in der Mikrostruktur gepackt werden. Diese Perlen können verschiedene physikalisch-chemische Eigenschaften aufweisen und auch mit Molekülen je nach Verwendung dieser Perlen funktionalisiert werden. Das Hinzufügen solcher Perlen kann beispielsweise zum Entsalzen einer Lösung, zur Durchführung einer Affinitätsreaktion oder zur Synthetisierung von Verbindungen durch kombinatorische Chemie verwendet werden, wobei zu beachten ist, dass die Moleküle vorher auf diese Perlen gepropft wurden. In bestimmten Anwendungen kann auch eine Membran zwischen den Verbindungsschläuchen (**10'**) und dem Verbindungsende der Mikrostruktur (**4**) platziert werden, so dass Filtration oder verschiedene Reaktionen, wie z.B. Adsorption, Desorption, Entsalzung, enzymatische Assays und so weiter durchgeführt werden können.

**[0072]** Die Integration von Perlen oder einer Membran in der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist beson-

ders bei der massenspektrometrischen Analyse von Interesse, wenn eine systematische Entsalzung der Probe im Allgemeinen vor der Injektion in den Massenspektrometer erforderlich ist. Die obigen Merkmale können somit vorteilhaft bei Anwendungen verwendet werden, wo die vorliegende Vorrichtung beispielsweise zur Injektion von Proben in einen Massenspektrometer durch Elektrospray-Ionisation (ESI) aus dem Mikrochip oder zur Ausgabe von Proben auf spezielle Platte für massenspektrometrische Messungen unter Verwendung von matrixunterstützter Laserdesorption-Ionisation (MALDI) verwendet werden kann.

**[0073]** In einer anderen Ausführungsform wird der Assay durchgeführt, während sich die Spitze mit der Vertiefung für die Probenbeladung in Kontakt befindet.

**[0074]** In einer anderen Ausführungsform ist der Kontakt zwischen der Verbindungsextremität **4** der Mikrostruktur und der mikrofluidischen Kontrolleinheit **11** nicht eng (siehe [Fig. 2](#)) und gestattet das Befüllen des Mikrochips durch Kapillarwirkung. Es ist wichtig hierbei zu beachten, dass der Fluss der Lösung am Ende der Mikrostruktur enden sollte. Dazu kann eine hydrophobe Schicht wahlweise um den Ausgang der Mikrostruktur platziert werden, wodurch eine Kreuzkontamination der Vorrichtung vermieden wird. Nach dem Füllen der Probe kann auf den oberen Teil des Trägers **7'**, der als Verbindung zwischen dem Mikrochip und der mikrofluidischen Kontrolleinheit dient, Druck aufgebracht werden, um eine feste Dichtung zu erhalten und Austreten der Lösung zu verhindern. In diesem Stadium kann die Lösung zum und durch den Mikrochip gepumpt werden, ohne die mikrofluidische Kontrolleinheit zu kontaminieren. Eine Aufeinanderfolge von verschiedenen Analyten kann dann in den Mikrostrukturen gepumpt werden, um verschiedene Lösungen wie in [Fig. 3](#) und [Fig. 4](#) und in der Reihenfolge von [Fig. 8](#) und [Fig. 9](#) gezeigt zu platzieren. Der fluidische Schlauch sollte einen solchen Innendurchmesser aufweisen, dass er die Erzeugung von turbulenten Strömungen verhindern kann und dass Segmente verschiedener Lösungen zum Chip gepumpt werden können, wobei Lösungssegmente durch eine Luftblase voneinander getrennt sind. Jede Waschlösung, jeder sekundäre Antikörper oder weitere Reagenzienlösungen (z.B. ein Enzymsubstrat) können beispielsweise mit einem Luftblasensegment zu ihrer Trennung in die Röhren vorgeladen werden. Durch Pumpen dieser Lösungen durch die Mikrostrukturen kann dann der gesamte Sandwich-Immunoassay ohne Manipulationen und ohne Hinzufügen externer Reagenzien durchgeführt werden.

**[0075]** Als Demonstration der erfindungsgemäßen Vorrichtung wurden Versuche durch Verbinden des Mikrochips mit einer Spritzenpumpe durchgeführt, die als mikrofluidische Kontrolleinheit dient, um for-

cierte Konvektion, in eine Reihe von Mikrostrukturen zu bringen. Nur ein Mikrokanal ist in die erfindungsgemäße Vorrichtung integriert, die der in **Fig. 6** ähnelt, aber nur eine mikrofluidische Verbindung aufweist. Die hier verwendeten Mikrochips sind 75 Mikron Polyimid-Folien, in denen Mikrostrukturen mit einem  $100 \times 60 \times 10.000 \mu\text{m}$  großen Mikrokanal mit einer Spitze und einer Verbindungsextremität an jedem Ende des Mikrokanals durch Plasmaätzen gefertigt sind. Diese Mikrostrukturen umfassen ferner Gold-Mikroelektroden und Leitpfade, die mit einem Potentiostat verbunden sind, der die zur Durchführung des elektrochemischen Assays, bei dem es sich hier um die Oxid-Reduktion einer wässrigen Lösung von  $500 \mu\text{m}$  Ferrocen-Methanol handelt, verwendete elektrochemische Einheit ist. Die zyklische voltammetrische Antwort bei einer Scanrate von  $10 \text{ mV/s}$  als Funktion der Flussrate (zwischen  $0,2$  und  $128 \mu\text{l/h}$ ), ausgelöst durch eine  $100 \mu\text{l}$  Spritze, wurde aufgezeichnet und ist in **Fig. 10** dargestellt. Der Einsatz in **Fig. 10** zeigt ferner die Entstehung des Plateausstroms bei einem angelegten Potential von  $300 \text{ mV}$  versus Silber/Silberchlorid als Funktion der Flussrate. Die Intensität des Stroms hängt stark von der Flussrate ab, weil die erzwungene Konvektion die Diffusionsschicht oberhalb der Elektrode ständig erneuert.

### Patentansprüche

1. Mikrofluidische elektrochemische Testapparatur, umfassend:

mindestens einen Mikrochip, wobei der oder jeder Mikrochip mindestens einen versiegelten Mikrokanal besitzt, der mikrofluidische Manipulationen gestattet und folgende Teile aufweist: ein Spitzenende, das zur Aufnahme einer Fluidprobe in den Mikrokanal und/oder zur Abgabe einer Fluidprobe aus dem Mikrokanal befähigt ist; ein mikrofluidisches Verbindungsende; und eine in den Mikrokanal so integrierte Elektrode, dass sie in direktem Kontakt mit einem im Mikrokanal anwesenden Fluid steht; eine mikrofluidische Steuereinheit, die mit dem mikrofluidischen Verbindungsende des Mikrokanals in Verbindung steht und Fluids im Mikrokanal drücken, ziehen oder blockieren kann; gekennzeichnet durch ein elektrochemisches Gerät zur Überwachung über die mindestens eine integrierte Elektrode der Anwesenheit, Geschwindigkeit oder Strömung eines Fluids am Ort der mindestens einen integrierten Elektrode durch elektrochemische Messung einer Reduktions- oder Oxidationsreaktion darauf.

2. Apparatur nach Anspruch 1, worin ein Signal, das aus der Überwachung der Anwesenheit von Fluid resultiert, zur Überprüfung des endgültigen Testergebnisses verwendet werden kann.

3. Apparatur nach Anspruch 1, worin ein Signal,

das aus der Überwachung der Geschwindigkeit oder Strömung des Fluids resultiert, zur Kalibrierung oder Korrektur des endgültigen Testergebnisses verwendet werden kann.

4. Apparatur nach Anspruch 1, 2 oder 3, umfassend eine Vielzahl von Mikrokanälen in ein oder mehreren Mikrochips, die die gleichzeitige elektrochemische Messung in mehr als einem Mikrokanal gestatten.

5. Apparatur nach Anspruch 1, worin die mikrofluidische Steuereinheit eine Pumpe oder ein Pipettiersystem umfasst.

6. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, ferner umfassend ein Ventil, das zwischen der mikrofluidischen Steuereinheit und dem mikrofluidischen Verbindungsende des mindestens einen Mikrokanals angeordnet ist.

7. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der oder jeder Mikrochip aus Polymer, Glas, Quarz oder einer Kombination dieser Stoffe besteht.

8. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der oder jeder Mikrochip ein Einwegprodukt ist.

9. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin, der oder jeder Mikrochip durch Laserphotoablation, Spritzguss, Prägen, Plasmaätzen, Elastomerguss, Silikontechnologie oder eine Kombination dieser Techniken hergestellt wird.

10. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, ferner umfassend Trägermittel, die den bzw. die Mikrochip(s) relativ zu der mikrofluidischen Steuereinheit tragen können, so dass eine flüssigkeitsdichte Verbindung zwischen ihnen sichergestellt wird.

11. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, ferner umfassend einen Detektor, der auf der Außenseite des oder jedes Mikrokanals angeordnet ist, wobei der Detektor bzw. die Detektoren mit dem Mikrochip bzw. den Mikrochips verbunden sind.

12. Apparatur nach Anspruch 11, worin der Detektor ein Photomultiplikator, ein Massenspektrometer oder ein Kernspinsystem (NMR) ist.

13. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Mikrochip ein Netz oder eine Reihe von miteinander verbundenen Mikrokanälen umfasst.

14. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin eine Polymerschicht zum Versie-

geln der Mikrostruktur laminiert oder aufgeklebt ist.

15. Apparatur nach Anspruch 14, umfassend eine Anordnung von miteinander verbundenen Mikrokanälen, in denen eine Vielzahl von Mikrokanälen zu einem einzelnen Mikrokanal konvergieren, wobei diese Anordnung eine einzelne Mikrokanalspitze und eine Vielzahl von mikrofluidischen Verbindungsenden oder eine Vielzahl von Mikrokanalspitzen und ein einzelnes mikrofluidisches Verbindungsende umfasst.

16. Apparatur nach Anspruch 14, worin die miteinander verbundenen Mikrokanäle nicht in derselben Ebene des Mikrochips angeordnet sind, sondern in drei Dimensionen erzeugt werden.

17. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin mindestens ein Teil der Wände des Mikrokanals durch chemische, biologische oder physikalische Mittel oder durch Bereitstellung eines porösen Materials oder durch eine Kombination dieser Mittel modifiziert ist.

18. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin der Mikrokanal eine Festphase umfasst.

19. Apparatur nach Anspruch 18, worin die Festphase Moleküle, eine Membran, ein Gel, ein Sol-Gel oder Perlen umfasst.

20. Apparatur nach Anspruch 18 oder 19, ferner umfassend Moleküle, die auf mindestens den Teil der Wände des Mikrokanals und/oder auf die Membran, das Gel, Sol-Gel oder die Perlen aufgepfropft sind.

21. Apparatur nach Anspruch 20, worin die Moleküle Proteine, Peptide, Antigene, Antikörper, Enzyme, Oligonucleotide, Nucleinsäuresequenzen, Haptene oder eine Kombination daraus sind.

22. Apparatur nach Anspruch 20 oder 21, worin die Moleküle durch physikalische oder chemische Adsorption, durch kovalente Bindung oder durch eine Kombination dieser Methoden aufgepfropft sind.

23. Apparatur nach Anspruch 19 bis 22, worin die Membran zwei Lösungen oder Phasen physikalisch voneinander trennt.

24. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Spitze am Rand des Mikrochips geformt ist.

25. Apparatur nach Anspruch 24, worin sich die Spitze zum Ende des Mikrochips hin verjüngt.

26. Apparatur nach Anspruch 24 oder 25, worin die Spitze eine pyramidenförmige, paralleleflache oder

konische Gestalt aufweist.

27. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Spitze über die mindestens eine, im Mikrokanal integrierte Elektrode ein Elektro-spray erzeugen kann.

28. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Spitze in ein Fluidreservoir integriert ist oder von diesem umgeben wird.

29. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Spitze eine Elektrode umfasst.

30. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin ein Trägermittel ein Klemmsystem umfasst, um die flüssigkeitsdichte Verbindung zwischen dem (den) mikrofluidischen Verbindungsende(n) und der mikrofluidischen Steuereinheit zu gewährleisten.

31. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Apparatur und/oder der Mikrochip in x-, y- und/oder z-Richtung entweder von Hand oder mit einer automatischen Vorrichtung verschoben werden kann.

32. Apparatur nach Anspruch 31, worin die manuelle oder automatische Vorrichtung die Veränderung der Orientierung des Mikrochips gestattet, um den Orientierungswinkel der Mikrokanalspitze zu verändern.

33. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, ferner umfassend eine Temperaturkontrollereinheit, eine elektrische Isolierkammer (beispielsweise ein Faradayscher Käfig) und/oder eine Evaporation verhindernde Kammer mit Feuchtigkeitskontrolle.

34. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die elektrochemische Einheit, die mikrofluidische Steuereinheit, und wenn vorhanden, das Trägermittel in eine einzelne Plattform integriert sind, um ein tragbares System zu ergeben.

35. Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, die ferner mit einem Computer verbunden und/oder in diesen integriert ist.

36. Verfahren zur Durchführung eines mikrofluidischen Tests mit elektrochemischer In-situ-Überwachung der Anwesenheit, Geschwindigkeit oder Strömung eines Fluids in einem Mikrokanal unter Verwendung der Apparatur nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Verfahren folgende Schritte umfasst:

- (a) Inberührungbringen einer Probe mit der Mikrokanalspitze;
- (b) Füllen des Mikrokanals mit der Probe, entweder

durch Kapillarwirkung oder durch Pumpen oder Aspirieren der Probe mittels der mikrofluidischen Steuereinheit;

(c) Verwenden der mikrofluidischen Steuereinheit zum Ziehen, Drücken oder Blockieren der Probe in den Mikrokanal;

(d) Betätigen der elektrochemischen Einheit zur Überwachung über die mindestens eine integrierte Elektrode der Anwesenheit, Geschwindigkeit oder Strömung eines Fluids am Ort der mindestens einen integrierten Elektrode durch elektrochemische Messung einer Reduktions- oder Oxidationsreaktion darauf; und

(e) wahlweise Wiederholen der Schritte (a) bis (d) oben.

37. Verfahren nach Anspruch 36, worin Schritt (d) die Überwachung der Anwesenheit des Fluids umfasst und das in Schritt (d) erhaltene Signal zur Überprüfung des Ergebnisses des mikrofluidischen Tests verwendet wird.

38. Verfahren nach Anspruch 36, worin Schritt (d) die Überwachung der Geschwindigkeit oder Strömung des Fluids umfasst und das in Schritt (d) erhaltene Signal zur Kalibrierung oder Korrektur des Ergebnisses des mikrofluidischen Tests verwendet wird.

39. Verfahren nach Anspruch 36, 37 oder 38, worin eine Vielzahl von Proben und/oder Lösungen mittels der mikrofluidischen Steuereinheit in den Mikrokanal eingebracht werden.

40. Verfahren nach Anspruch 39, worin die anderen Lösungen Waschlösungen, Pufferlösungen und/oder Reagenzlösungen sind.

41. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 40, worin das Fluid, die Probe(n) oder die andere(n) Lösung(en) einen Antikörper, ein Enzym, ein Oligonucleotid, ein Hapten, ein DNA-Molekül, eine Nucleinsäuresequenz oder dergleichen enthalten.

42. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 41, ferner umfassend den Schritt des Hinzufügens einer elektroaktiven Spezies zu der (den) Probe(n) oder anderen Lösung(en) und Überwachung der Mikrofluidik davon durch Durchführung eines elektrochemischen Tests bzw. elektrochemischer Tests, beispielsweise durch Messung der Erzeugung eines Stroms aufgrund der Reduktion und/oder Oxidation der elektroaktiven Spezies am Ort der mindestens einen integrierten Elektrode.

43. Verfahren nach Anspruch 42, worin die elektrochemische In-situ-Überwachung der Anwesenheit, Abwesenheit, Geschwindigkeit oder Strömung eines Fluids in einem Mikrokanal während mindestens eines Schritts eines Affinitätstests durchgeführt wird,

für den die mindestens eine integrierte Elektrode als elektrochemisches Nachweismittel für Kalibrations- oder Prüfzwecke dient.

44. Verfahren nach Anspruch 42 oder 43, worin die zugefügte elektroaktive Spezies eine Ferrocen-Verbindung ist.

45. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 44, worin Software die bei der elektrochemischen Überwachung der Mikrofluidik erhaltenen Daten verarbeitet, um die interne Kalibrierung des endgültigen Nachweissignals durchzuführen.

46. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 45, ferner umfassend den Schritt des Inberührungbringens der Mikrokanalspitze mit einem Lösungsreservoir, damit eine Probe und/oder andere Lösung aufgenommen oder abgegeben werden kann.

47. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 46, worin die Mikrokanalspitze als Einwegteil der Pipettiervorrichtung verwendet wird.

48. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 47, worin das Füllen der Probe im Mikrokanal durch Kapillarwirkung entweder durch die mikrofluidische Steuereinheit oder durch die Anwesenheit einer hydrophoben Barriere an der Mikrokanalspitze verhindert wird.

49. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 48, worin sich die Spitze zum Ende des Mikrochips hin verjüngt.

50. Verfahren nach Anspruch 49, worin die verjüngte Spitze in ein Lösungsreservoir zur Aufnahme und/oder Abgabe von Fluid eingeführt wird.

51. Verfahren nach Anspruch 49, worin die Spitze zur Erzeugung eines Elektrosprays durch die mindestens eine, in den Mikrokanal integrierte Elektrode verwendet wird.

52. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 51, umfassend den weiteren Schritt der Injektion von Probe(n) oder anderer/anderen Lösung(en), die im Mikrokanal enthalten sind, in eine Reinigungs-, Trenn- und/oder Nachweisvorrichtung, beispielsweise einen Chromatographen, einen Spektrometer, einen Photometer, ein Gel, eine Säule, eine selektive Membran, einen Filter oder eine elektrophoretische Trennapparatur.

53. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 52, worin der in dem Mikrokanal durchgeführte Test mit Lichtabsorption, Lumineszenz (beispielsweise Fluoreszenz, Biolumineszenz, Chemilumineszenz, Elektrochemilumineszenz), Elektrochemie oder Massenspektrometrie nachgewiesen oder verfolgt wird.

54. Verfahren nach Anspruch 53, worin die für die elektrochemische Überwachung der Anwesenheit, Abwesenheit, Geschwindigkeit oder Strömung eines Fluids im Mikrokanal gemessenen elektrochemischen Signale und das endgültige Ergebnis des mikrofluidischen Tests durch die mindestens eine integrierte Elektrode erhalten werden.

55. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 54 zur Durchführung einer chemischen und/oder biologischen Analyse und/oder Synthese.

56. Verfahren nach Anspruch 55, worin das endgültige mikrofluidische Ergebnis durch massenspektrometrische Analyse erhalten wird.

57. Verfahren nach Anspruch 56, worin die Apparatur Mittel zum Entsalzen von Proben vor der Injektion in einem Massenspektrometer durch Erzeugung eines Elektrosprays oder vor der Abgabe der Proben auf eine MALDI (Matrix Assisted Ion Desorption Ionisation) Platte umfasst.

58. Verwendung der Apparatur nach einem der Ansprüche 1 bis 35 zur Durchführung einer chemischen und/oder biologischen Analyse und/oder Synthese.

59. Verwendung nach Anspruch 58 in der massenspektrometrischen Analyse.

60. Verwendung nach Anspruch 58 oder 59 zur Durchführung von klinischen, human- oder veterinärmedizinischen diagnostischen Untersuchungen in vitro.

61. Verwendung nach Anspruch 60 zur Durchführung von immunologischen Tests.

62. Verwendung nach Anspruch 58 zur Durchführung von physikalisch-chemischen Tests, toxikologischen Untersuchungen, Affinitätstests, mikrobiologischen Tests und/oder zellulären Tests.

63. Verwendung nach Anspruch 58 zur Durchführung von Lipophilie-Messungen, Ionentransferreaktionen, Löslichkeitstests und/oder Permeabilitätstests.

64. Verwendung nach Anspruch 58 zur Durchführung einer Synthese durch kombinatorische Chemie.

65. Verwendung nach einem der Ansprüche 58 bis 64 zur Durchführung einer chemischen und/oder biologischen Analyse und/oder Synthese mit elektrochemischer interner Kalibrierung des Endergebnisses des Tests.

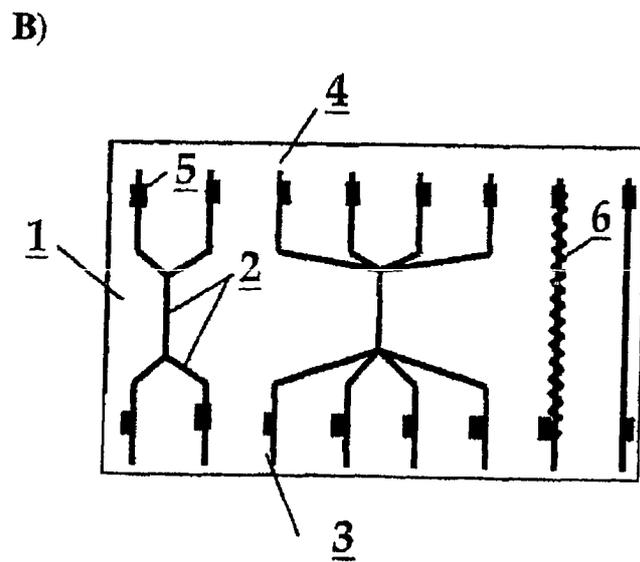
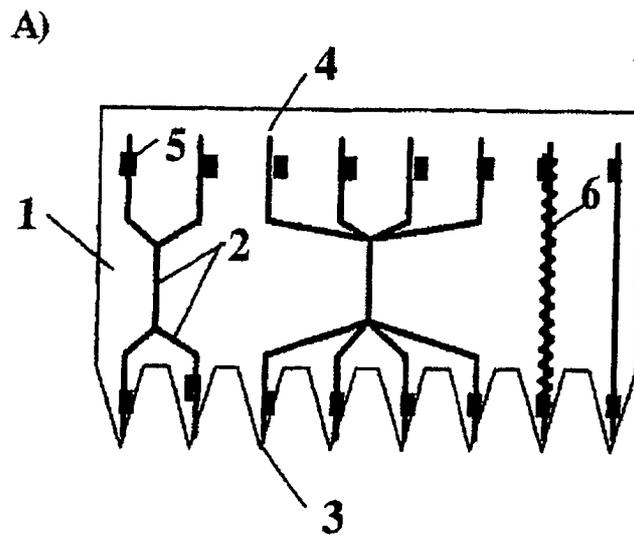
66. Verwendung nach einem der Ansprüche 58 bis 65, worin das bei der elektrochemischen In-situ-Überwachung (a) der Anwesenheit oder Abwesen-

heit oder (b) der Geschwindigkeit oder Strömung einer elektroaktiven Spezies erhaltene Signal (a) zur Überprüfung oder (b) zur Kalibrierung oder Validierung des endgültigen Ergebnisses des mikrofluidischen Tests dient.

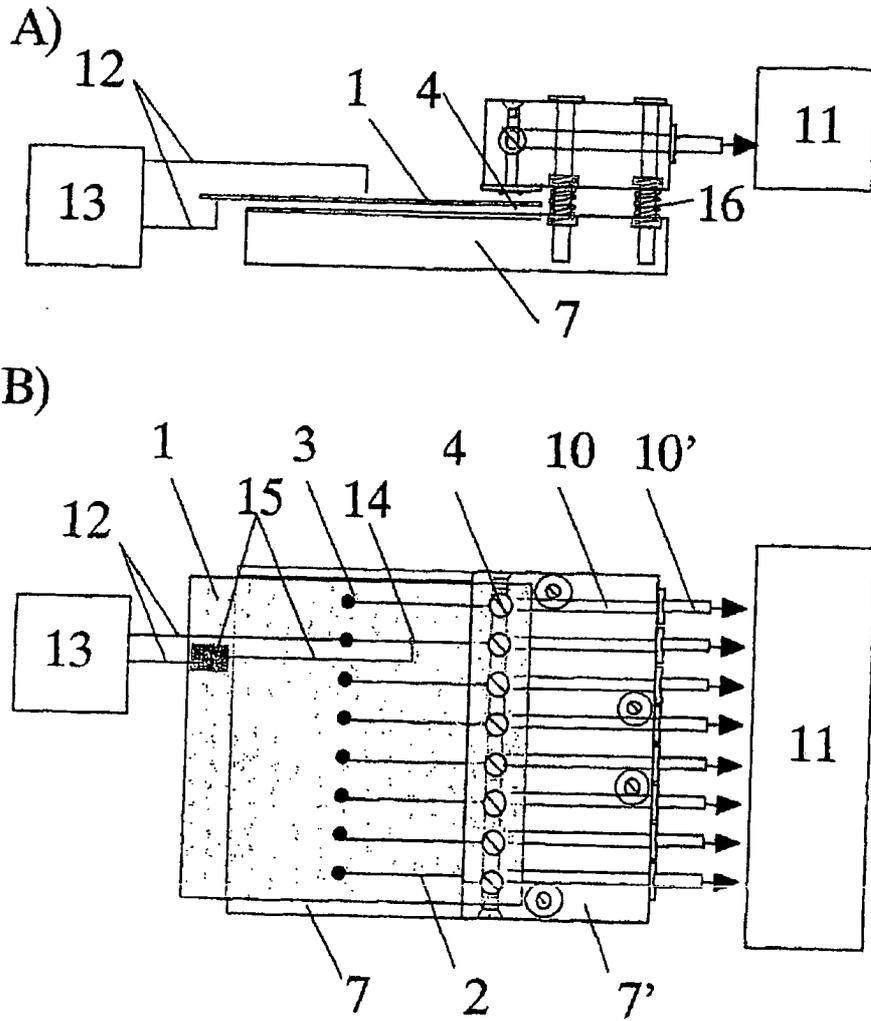
67. Verwendung nach einem der Ansprüche 58 bis 65 zur Durchführung einer vollautomatischen Analyse und/oder Synthese.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

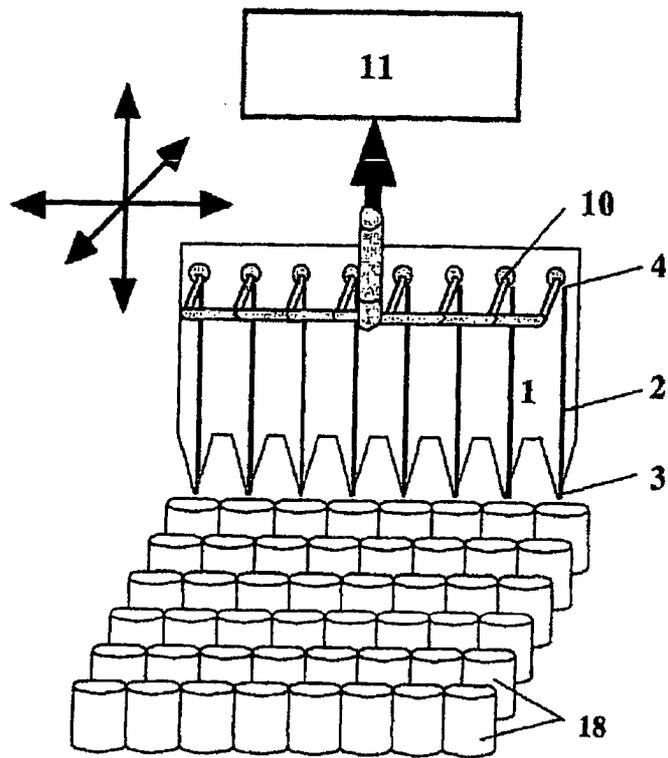
Figur 1:

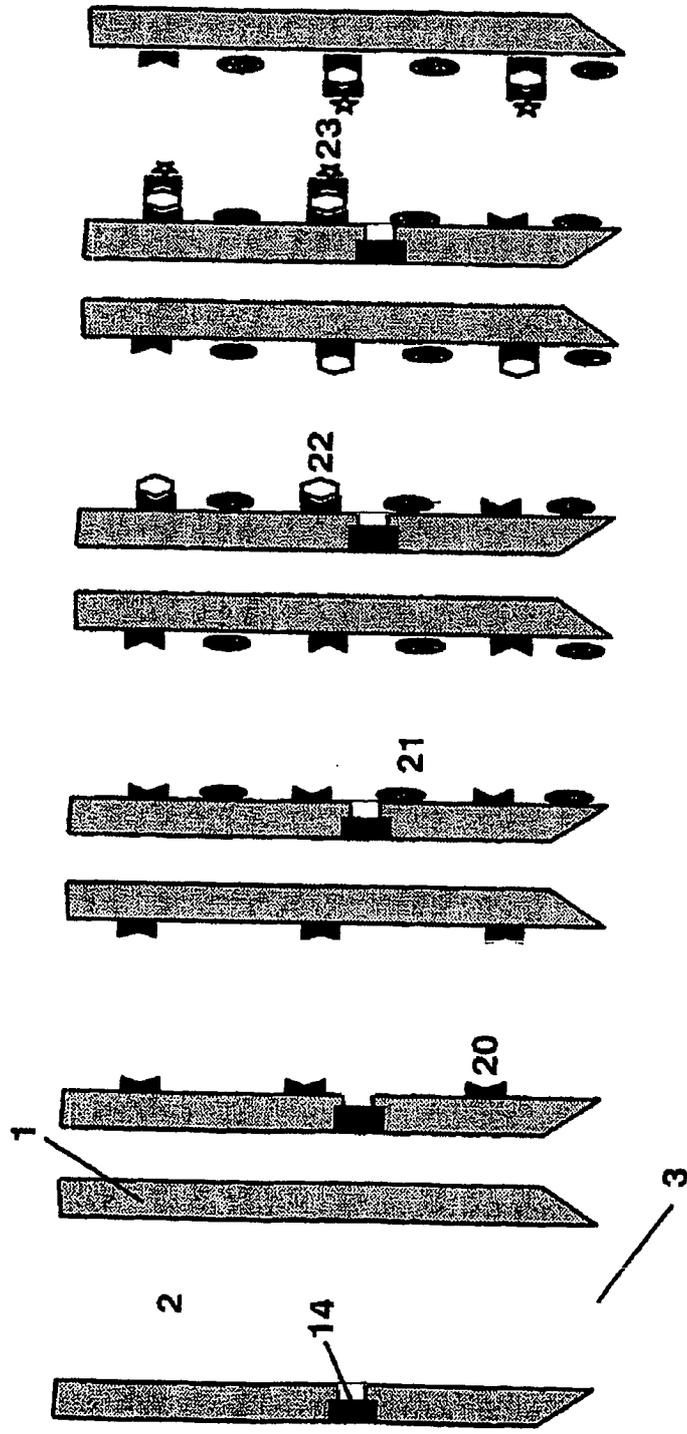


Figur 2:



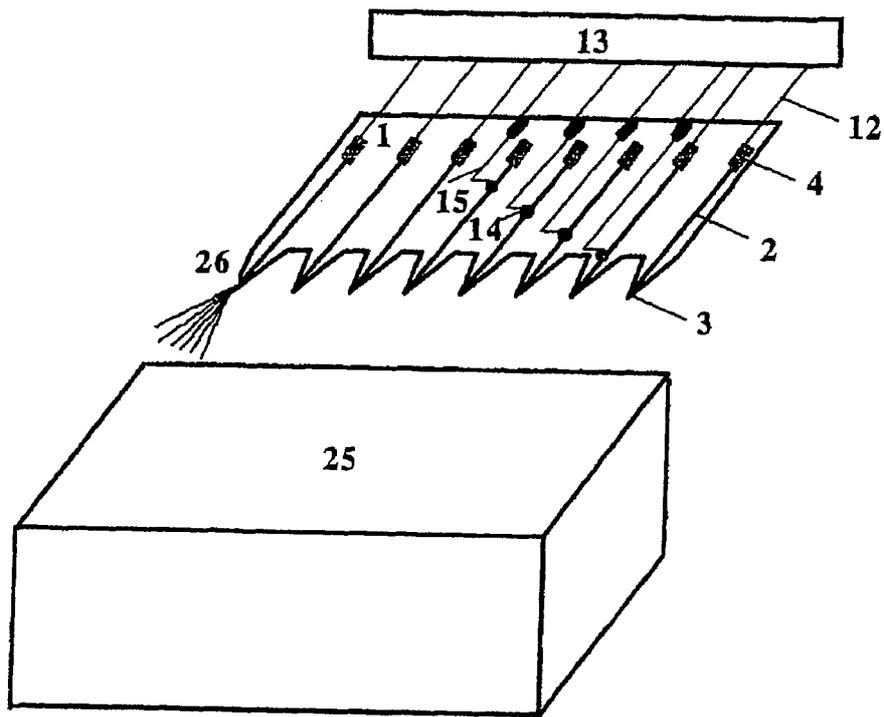
Figur 3:





Figur 4:

Figur 5:



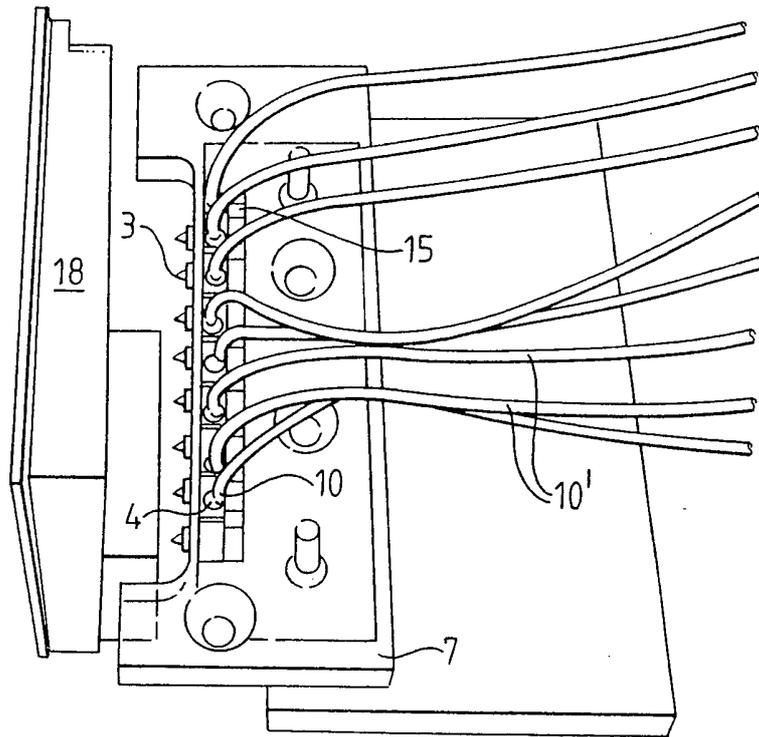


FIG. 6A

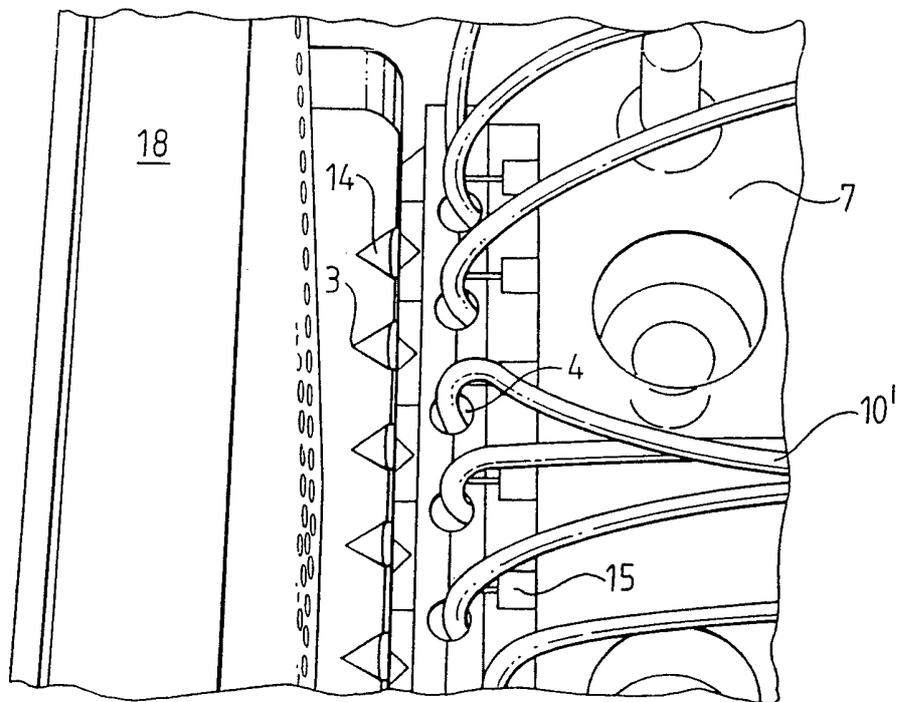


FIG. 6B

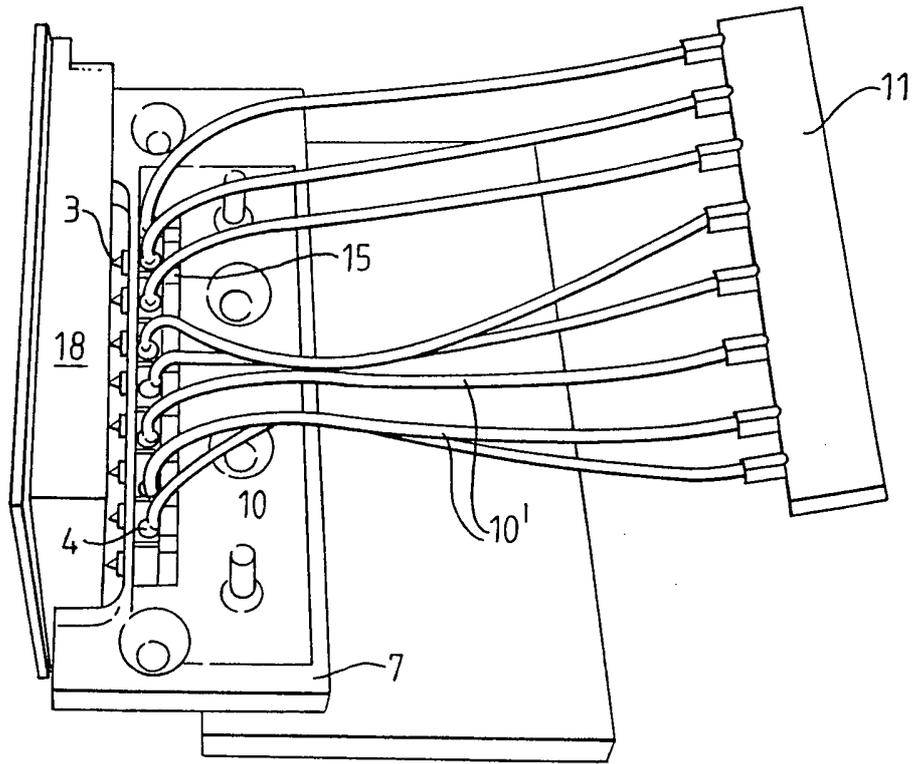


FIG. 6C

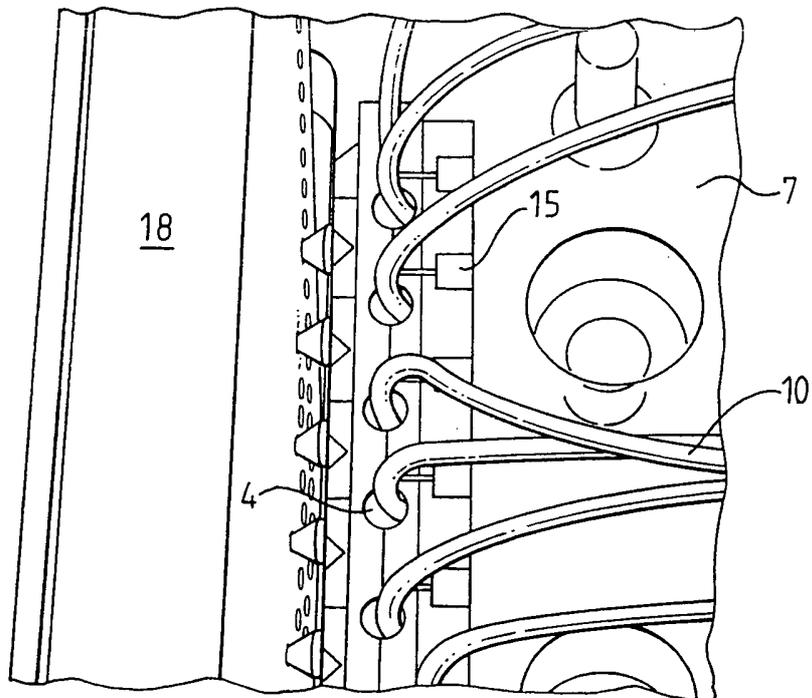


FIG. 6D

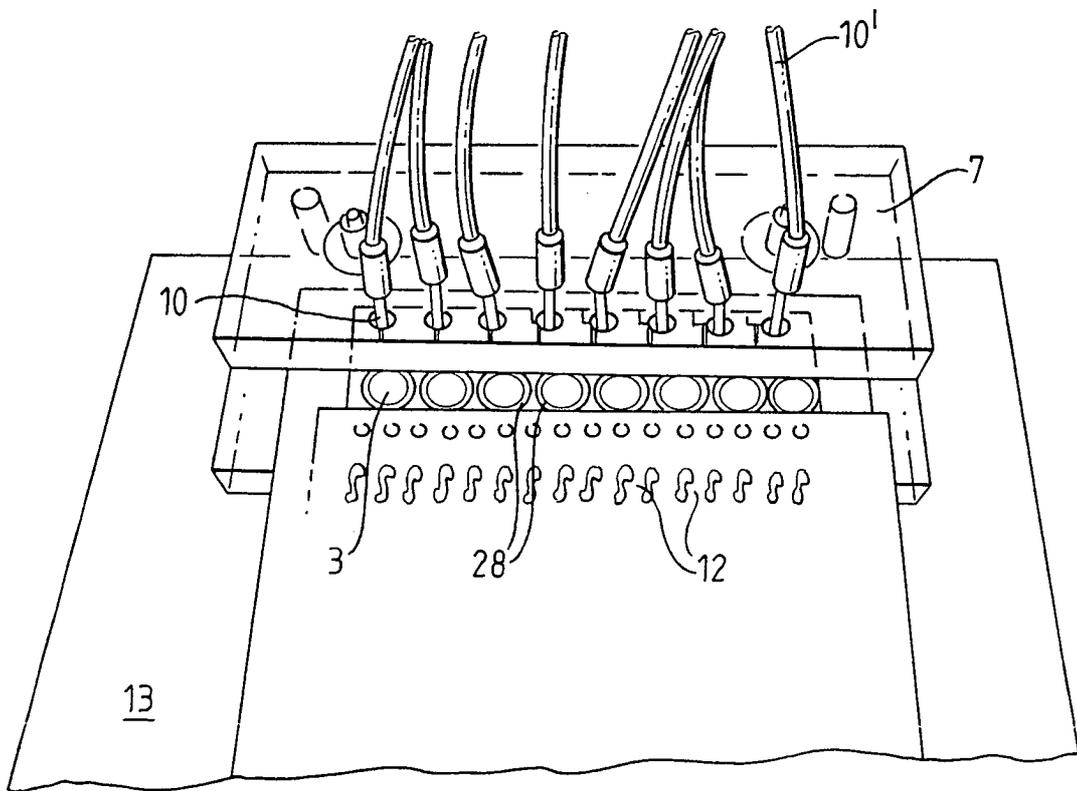
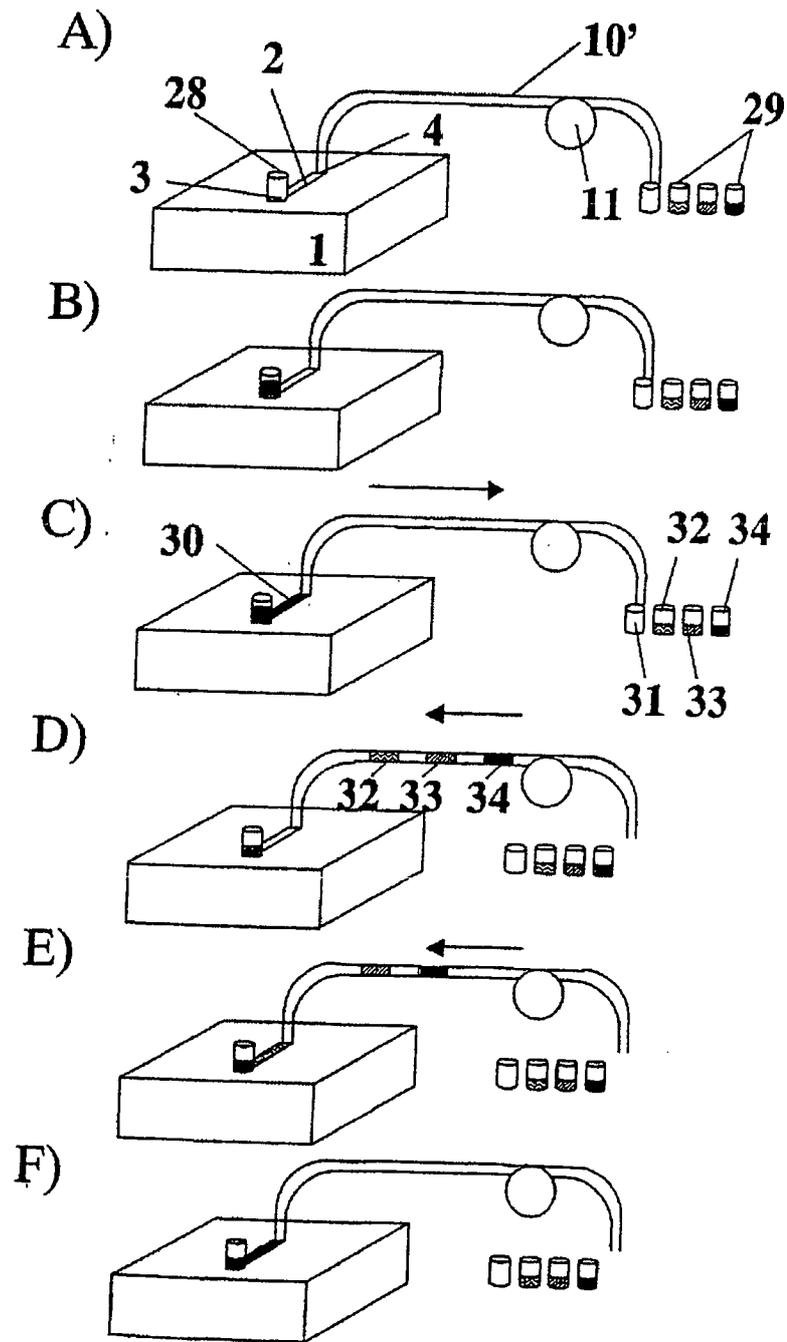
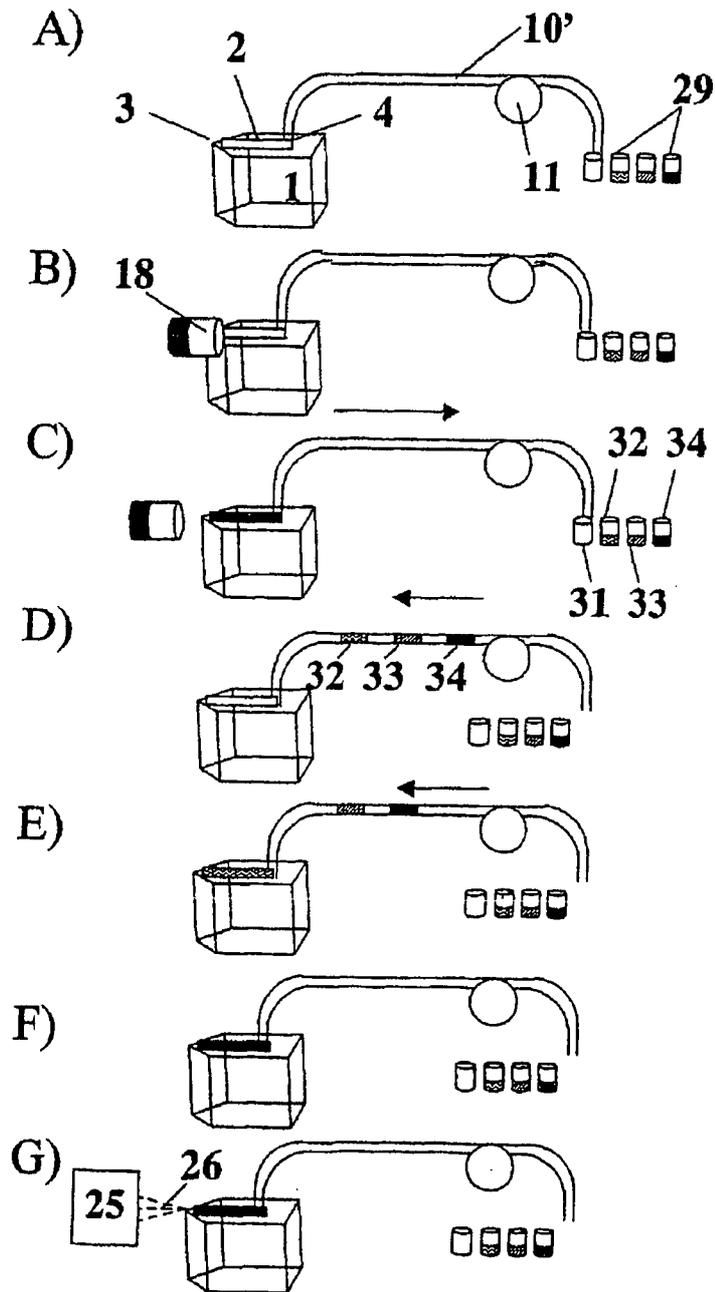


FIG. 7

Figur 8:



Figur 9:



Figur 10 :

