



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 05 979 T2 2005.10.06**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 255 690 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 05 979.4**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/CH01/00070**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 901 108.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 01/056771**

(86) PCT-Anmeldetag: **30.01.2001**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **09.08.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **13.11.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **29.09.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **06.10.2005**

(51) Int Cl.7: **B81C 1/00**

**B29C 67/00, B01D 15/00, G01N 27/00,
B01J 19/00**

(30) Unionspriorität:

179334 P 31.01.2000 US

(73) Patentinhaber:

Diagnoswiss S.A., Monthey, CH

(74) Vertreter:

**Müller - Hoffmann & Partner Patentanwälte, 81667
München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**Schmidt, Walter, 8332 Russikon, CH; Rossier, Joel
S., 1913 Saillon, CH; Reymond, Frederic, 1093 La
Conversion, CH**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON MIKROSTRUKTUREN MIT VERSCHIEDENEN OBERFLÄCHENEIGENSCHAFTEN IN EINEM MULTISCHICHTKÖRPER DURCH PLASMAÄTZEN**

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

I. GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung stellt ein Herstellungsverfahren für die dreidimensionale Strukturierung und das Gestalten (patterning) von mindestens zwei verschiedenen Oberflächeneigenschaften für Mikrosysteme oder Mikrosubstrate bereit.

II. HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] In den letzten zehn Jahren wurde ein allgemeines Streben nach einer Miniaturisierung analytischer Werkzeuge beobachtet. Zwei Hauptgründe treiben die Entwicklung miniaturisierter chemischer Vorrichtungen voran, die als Micro Total Analysis Systems (μ -TAS) bezeichnet werden: Eine Abnahme des Analytverbrauchs und eine Verringerung der Dauer einer einzelnen Analyse. Beide Bedürfnisse sind besonders in der Neuentwicklung der Life Science offensichtlich, wo genetische Analysen und Durchmusterungen mit hohem Durchsatz in der Entdeckung von Drogen immer mehr an Bedeutung gewinnen. Bei diesen Anwendungen ist die Begrenzung des Analytverbrauchs durch die steigende Anzahl durchgeführter Tests begründet. In diesem Fall muss die Verwendung von Reaktanten zur Analyse so gering wie möglich sein, um nicht nur die Kosten zu senken, sondern auch die Abfallerzeugung zu einschränken. In anderen Fällen ist die Analyse extrem geringer Volumina erforderlich. Ein solches Volumen kann nur einige nL betragen, z.B. im Falle der Analyse neurologischer Flüssigkeit oder in der pränatalen Diagnose. In vielen Fällen ist auch die Verkürzung der Analysendauer ein wichtiger Punkt, z.B. in der medizinischen Diagnose, wo der Zeitfaktor für den Patienten fatal sein kann. Zwei verschiedene und komplementäre Strategien wurden parallel entwickelt, um diese Zielsetzungen zu erreichen. Einerseits hat die Herstellung mikrofluidischer Vorrichtungen die Handhabung von Fluida in pL-Volumina ermöglicht und andererseits die Immobilisierung von Affinitätsreagenzien zu zweidimensionalen Tests hoher Dichte für eine Affinitätsanalyse mit hohem Durchsatz.

[0003] In den letzten Jahren haben elektrophoretische Kapillarmethoden zunehmend an Popularität gewonnen, insbesondere auf Grund der beobachteten hohen Trennungseffizienzen, der Peak-Auflösung und der weiten dynamischen Bereiche von Molekulargewichten, die analysiert werden können. Ferner hat die einfache, offene röhrenartige Kapillarkonstruktion selbst zu einer Vielzahl von Automatisierungs-, Einspritz- und Erfassungsstrategien geführt, die zuvor für eher herkömmliche analytische Technologien entwickelt wurden.

[0004] Der allgemeine Instrumentenaufbau umfasst

eine Kapillare, die mit einer Elektrolytlösung gefüllt ist, und eine Hochspannungsenergieversorgung, die an Elektroden in Kontakt mit kleinen, fluidgefüllten Reservoirs an jedem Ende der Kapillare angeschlossen ist. Die Energieversorgung wird betrieben, um ein elektrisches Potenzialfeld tangential zu der Kapillarenoberfläche im Bereich von 100 bis 1000 V/cm anzulegen. Wenn das Potenzial angelegt ist, erfolgt ein Migrationsprozess. Das elektrische Feld übt eine Kraft auf geladene Spezies aus, die zur elektrophoretischen Migration von Probenmolekülen innerhalb der Kapillare führt. Wenn die File-Kapillaroberfläche geladen ist, wird ferner ein Fluss der gesamten Lösung durch Elektroosmose ausgelöst. Daher ist in den meisten Fällen die Elektrophorese auf einen so genannten elektroosmotischen Fluss (EOF) aufgesetzt. Spezies, die sich in der Kapillare infolge dieser Kräfte bewegen, werden dann über einen geeigneten Detektor geleitet, wobei Absorption und Fluoreszenz die häufigsten sind. Die Kapillarelektrophorese wurde bei zahlreichen Analyten angewandt, die für die Pharmazie, den Umweltschutz und die Landwirtschaft von Interesse sind. Ein allgemeiner Schwerpunkt bei diesen Aktivitäten ist die Bioanalyse. Trennverfahren werden zur Peptidsequenzierung, Aminosäuren, isoelektrische Punktbestimmung für Proteine, Enzymaktivität, Nukleinsäurehybridisierung, Drogen und Metaboliten in biologischen Matrizen und Affinitätstechniken wie Immunoassays entwickelt. Ferner haben Pufferzusätze wie Cyclodextrine und mikzellare Phasen die Möglichkeit eröffnet, chirale Trennungen von biologisch aktiven Enantiomeren von Topophanderivaten, Ergotalkaloiden, Epinephrinen und anderen durchzuführen, was für die pharmazeutische Industrie von großem Interesse ist.

[0005] Die zuvor beschriebenen Kapillaren haben im Allgemeinen Innendurchmesser zwischen 50 und 200 μ m und sind in geschmolzenem Silika gebildet. Die mikromechanische Herstellung von Kapillaren wurde auch durch direkte maschinelle Bearbeitung planarer Substrate auf Siliziumbasis durchgeführt. Siliziumsubstrate haben einen Überschuss an geladenen Silanolgruppen und erzeugen somit einen beachtlichen EOF. Im Falle der mikromechanischen Bearbeitung kann EOF ein Vorteil sein, da der Fluss der Bulklösung für viele Flüssigkeitsbearbeitungsvorgänge verwendet werden kann. In letzter Zeit gab es intensive Tätigkeiten im Bereich der Miniaturisierung chemischer Instrumente. Die Bemühungen galten einer Reduzierung der gesamten Laborsysteme auf Mikrochip-Substrate, und diese Systeme werden als Micro-Total Analytical Systems (μ -TAS) bezeichnet. Wie bereits erwähnt, erwähnt die meisten solcher μ TAS-Vorrichtungen bisher fotolithographisch auf Substraten auf Siliziumbasis erzeugt. Dieser Prozess beinhaltet die Bildung des gewünschten Musters auf einer Maske, durch die ein mit Fotoresistent beschichtetes Siliciumdioxid-Wafer Licht ausgesetzt wird. Dann wird das löslich gemachte Fotoresistent

entfernt und das erhaltene Muster isotrop mit Fluorwasserstoffsäure geätzt. Die geätzten Kapillaren werden dann im Allgemeinen durch Wärmebindung mit einem Glasdeckel verschlossen. Die Bindungstechnik ist insbesondere labor- und technologieintensiv und die Wärmebindung erfordert Temperaturen zwischen 600 und 1000 °C. Diese Bindungstechnik hat eine sehr geringe Toleranz gegenüber einem Defekt oder dem Vorhandensein von Staub und erfordert Reinraumbedingungen für die Herstellung, was bedeutet, dass die Produktion sehr teuer ist. Alternative Herstellungstechniken wurden auch entwickelt, die auf organischen Polymeren basieren. Die Herstellung mikrofluidischer Polymervorrichtungen wurde durch Spritzgießen oder Polymerisieren von Polydimethylsiloxan (PDMS) auf einer Form gezeigt. Diese zwei Techniken haben den Vorteil, dass eine große Zahl von Mikrostrukturen mit demselben Muster, das durch die Form gegeben ist, repliziert wird. Andere Techniken, die auf elektromagnetischer Strahlung entweder zur Polymerisation unter Röntgenstrahlen (LIGA) oder zur Ablation beruhen, haben sich auch in jüngster Zeit als durchführbar erwiesen. Diese letztgenannte Herstellungstechnik ermöglicht eine rasche Prototypisierung, indem ein Muster auf ein Substrat geschrieben wird, das in die X- und Y-Richtung bewegt werden kann. Dann können verschiedenen Strukturen hergestellt werden, indem das Substrat einfach vor dem Laserstrahl bewegt wird.

[0006] Wie bereits erwähnt, wird hier das elektroosmotische Pumpen nicht nur zum Trennen von Proben, sondern auch zur Abgabe einzelner Mengen von Reaktionssubstanzen oder zum In-Kontakt-Bringen von Lösungen für die Reaktion in kontinuierlichen Flusssystemen verwendet. Es wurden zahlreiche Strukturen und elektrische Verbindungen präsentiert, welche die Abgabe und Analyse von Proben in weniger als einer Millisekunde zum Beispiel durch Elektrophorese ermöglichen.

[0007] Diese spektakuläre Eigenschaft beweist auch, dass in diesen Mikrokanälen der Haupttransportmechanismus zwischen zwei fließenden Lösungen die Diffusion ist. Da verschiedene Spezies verschiedene Diffusionskoeffizienten aufweisen, wird eine effiziente Mischung problematisch, und dies wird häufig als ernsthafte Einschränkung für die umfassendere Verwendung von Mikrofluida in Gesamtanalyse-Systemen dargestellt. Zur Lösung dieses Problems wurden Mischer vorgestellt, in welchen die Flüsse zum Beispiel in kleinere Kanäle (20 µm) geteilt werden, bevor sie in Kontakt gebracht werden. Auf diese Weise wird die Diffusionszeit verringert und somit die Mischungseffizienz verbessert.

[0008] Die jüngsten Fortschritte in der chemischen Analyse haben die Eingliederung von Biomolekülen beinhaltet, die imstande sind, selektiv und mit hoher Affinität an Analyten von Interesse zu binden. Solche

Vorrichtungen werden häufig als Biosensoren bezeichnet, die eine Echtzeit-Übertragung des Bindungsereignisses in ein elektronisches Signal beinhalten, aber auch eine analytische Technologie enthalten, die aus Immunoassays, Enzymreaktion, wie auch Nukleinsäurehybridisierung besteht. Bioanalytische Vorrichtungen, die diese Technologie verwenden, wurden in einem großen Anwendungsbereich eingesetzt, in der Medizin, der Landwirtschaft, der Arbeitshygiene und dem Umweltschutz. Enzymelektroden stellen die älteste Gruppe von Biosensoren dar und werden zunehmend zur klinischen Testung von Metaboliten, wie Glucose, Lactat, Harnstoff, Kreatinin oder Bilirubin verwendet. Mehrere Gruppen haben nadelartige Elektroden für subkutane Glucose-Messungen entwickelt. Ein mikroelektrochemischer Enzymtransistor wurde zur Messung geringer Glucosekonzentrationen entwickelt. Das Streben galt weiter anderen klinisch relevanten Metaboliten, insbesondere für die Mehrfach-Analytbestimmung. Eine Strategie, Affinitätsschritte einzugliedern, ist auch ein aktiver Bereich von Biosensoren. Das aufkommende Gebiet von DNA-Hybridisierungs-Biosensoren ist ein besonders beliebtes Thema für die klinische Diagnose von Erbkrankheiten und für den raschen Nachweis infektiöser Mikroorganismen.

[0009] Das jüngste Interesse an der Entwicklung miniaturisierter, Array-basierender Mehrfach-Analytenbindungstestmethoden legt nahe, dass das Gebiet der Ligamentests vor einer technologischen Revolution steht. Die Studien in diesem Bereich haben sich weitgehend auf Antikörper- oder DNA-Spot-Arrays konzentriert, die sich auf Mikrochips befinden, die potenziell imstande sind, die Mengen von Hunderten verschiedenen Analyten in einer kleinen Probe (wie einem einzigen Blutropfen) zu bestimmen. Immunoassayverfahren auf Array-Basis zeigen die besondere Bedeutung in Bereichen wie der Umweltüberwachung, wo die Konzentrationen vieler verschiedener Analyten in Testproben gleichzeitig bestimmt werden müssen. Affymetrix entwickelte Möglichkeiten, biologische Moleküle in einem hochdichten, parallelen Format zu synthetisieren und zu testen. Die Integration von zwei Schlüsseltechnologien bildet den Eckstein für das Verfahren. Die erste Technologie, die "light-directed combinatorial chemistry" (LDCC), ermöglicht die Synthese von Hunderttausenden einzelner Verbindungen bei hoher Auflösung und präzisen Positionen auf einem Substrat. Die zweite, die konfokale Laser-Fluoreszenzabtastung, ermöglicht die Messung molekularer Interaktionen auf dem Array.

[0010] Kürzlich hat das Laboratoire d'Electrochimie der EPFL Lausanne eine Gestaltungstechnik (patterning technique) vorgestellt, die auf dem Fotoablationsprozess beruht. Zur Herstellung von Mikroarrays von Proteinen wird das Polymersubstrat zunächst mit einer Schicht Rinderserumalbumin ("bovine serum albumin" – BSA) blockiert, die eine nicht spezifische

Adsorption von Protein auf der Substratschicht verhindert. Dann werden auf der Oberfläche durch Fotoablation der BSA-Schicht Mikrosots erzeugt, auf denen nun Avidin absorbiert werden kann, Diese Mikrostrukturierungstechnik ermöglicht dann eine spezifische Absorption von Antikörpern, die an Biotin gebunden sind, an den Avidin-Sots, wie durch einen Biotin-Fluorescein-Komplex erkennbar ist.

[0011] Abgesehen von elektrophoretischen Trennungen und der Hybridisierung wurde in den letzten wenigen Jahren eine zunehmende Anzahl von Anwendungen auf μ -TAS gezeigt. Es wurden Voll-DNA-Analysegeräte in einer einzigen Vorrichtung realisiert, mit einer Polymerasepolymersierten-Kettenreaktions-Kammer, auf die eine elektrophoretische Trennung folgt. Es wurde auch eine Dauerfluss-PCR gezeigt, in der die Analytlösung durch Kapillar-Durchquerungszonen unterschiedlicher Temperatur geleitet wird, Es wurden auch andere genetische Analysen vorgestellt, die eine Hochgeschwindigkeits-DNA-Sequenzierung, parallele Trennung hoher Dichte oder Einzel-DNA-Molekülerfassung umfassen. Eine andere Anwendung der μ -TAS wurde in der Elektrochromatographie gezeigt. Eine Elektrochromatographie mit offenem Kanal in Kombination mit Lösemittelprogrammierung wurde unter Verwendung einer Mikrochip-Vorrichtung gezeigt. Andere haben μ -TAS erfolgreich zur Durchführung von Immunoassays verwendet, die kompetitive Marker beinhalten, wobei mehrere Vorteile gegenüber traditionellen Formaten festgestellt wurden, einschließlich (a) Trennungen hoher Effizienz zwischen kompetitiven Markern und Antikörper-Marker-Komplexen, (b) ausgezeichneter Erfassungsgrenzen (0,3 – 0,4 amol Einspritzung) bei hoher Geschwindigkeit und (c) eines guten Potenzials für die Automatisierung. Dies wurde das erste Mal in einer mikromechanisch hergestellten Kapillarelektrophoresevorrichtung von Koutny et al. gezeigt. Cortisol wurde in Serum unter Verwendung eines kompetitiven Immunoassays bestimmt, der anschließend unter Verwendung von μ -TAS quantisiert wurde. Ein mikrofluidisches System wurde auf einem Glas-Chip hergestellt, um die Mobilisierung biologischer Zellen auf dem Chip zu untersuchen. Elektroosmotisches und/oder elektrophoretisches Pumpen wurde zum Antreiben des Zelltransportes in einem Netzwerk aus Kapillarkanälen verwendet. Ein automatisierter Enzymassay wurde in einem mikromechanisch hergestellten Kanalnetzwerk durchgeführt. Präzise Konzentrationen von Substrat, Enzym und Inhibitor wurden in Nanoliter-Volumina unter Verwendung eines elektrokinetischen Flusses gemischt. Schließlich war die neue Erkenntnis in der Verwendung eines mikromechanisch hergestellten Systems die Kombination des Vorteils paralleler Reaktionen und einer Flüssigkeits-handhabung in extrem kleinen Volumina mit einer Elektrospray- oder Nanospray-Schnittstelle zur Massenspektrometrieanalyse. Diese letztgenannte An-

wendung eröffnet einen Weg zur effizienten Nutzung des Mikrochip-Formats nicht nur für die genetische Analyse, wo sie bereits anerkannt ist, sondern auch in der Proteinsequenzierung.

[0012] Es wurden mehrere mikromechanische Herstellungsprozesse vorgestellt, die die Oberflächeneigenschaften des Polymers modifizieren.

[0013] Es ist bekannt, dass Reaktionen von Gasplasmas mit Polymeren wie folgt klassifiziert werden können:

1. Oberflächenreaktionen:

Reaktionen zwischen den Gasphasenspezies und Oberflächenspezies erzeugen funktionale Gruppen und/oder Vernetzungsstellen an der Oberfläche.

2. Plasmapolymersation:

Die Bildung eines Dünnschichtes auf der Oberfläche eines Polymers durch Polymerisation eines organischen Monomers, wie CH_4 , C_2H_6 , C_2F_4 und C_3F_6 , in einem Plasma.

3. Reinigen und Abtragen (etching):

Materialien werden von einer Polymeroberfläche entfernt, indem durch chemische Reaktionen und physikalisches Abtragen der Oberfläche flüchtige Produkte erzeugt werden.

[0014] Patent von besonderer Relevanz im abtragend wirkenden Verfahren (in the etching process): US 5698299 (Dyconex). Dieses Patent beschreibt die Verwendung eines abtragend wirkenden Verfahrens (the use of etching) zur Herstellung mehrschichtiger Polymerstrukturen, bespricht aber keine Anwendungen modifizierter Oberflächeneigenschaften im Gebiet der Mikrofluidik.

[0015] Patent von besonderer Relevanz für das Versiegeln einer polymeren Mikrostruktur durch Laminieren:

WO 991197 17 (Aclara Biosciences)

Patent von besonderer Relevanz für das Gestalten (patterning) von Eigenschaften:

WO 9823957 A(EPFL)

Andere Patente zur mikromechanischen Herstellung und fluidischen Steuerung durch Oberflächeneigenschaften:

WO 9823957 A(EPFL)

WO 9846439 (Caliper technology)

WO 9807019 (Gamera Bioscience)

A. KURZDARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0016] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein abtragend wirkendes Verfahren (etching method) zur Herstellung von Mikrostrukturen oder Öffnungen in einem mehrschichtigen Körper, der aus ausgewählten Materialien hergestellt ist, bereitgestellt, wobei die Oberflächeneigenschaften der Schichten einzeln kontrolliert und vorzugsweise gleichzeitig kontrolliert

sind, so dass Kanäle, Rillen, Reservoirs, Öffnungen und so weiter gebildet werden und verschiedene Oberflächeneigenschaften aufweisen, die eine weitere Funktionalisierung gewählter Oberflächen wie auch eine Fluidhandhabung ermöglichen.

[0017] Des Weiteren wird ein abtragend wirkendes Verfahren der oben genannten Art bereitgestellt, wobei die Kanäle und Reservoirs in aufeinanderfolgenden, zu abtragend wirkenden Verfahren gehörenden Schritten hergestellt werden, zwischen welchen ausgewählte Schichten entfernt oder dem mehrschichtigen Körper hinzugefügt werden können, oder zwischen welchen die Eigenschaften ausgewählter geätzter Oberflächen modifiziert werden können.

[0018] Des Weiteren wird ein solches abtragend wirkendes Verfahren zur Herstellung von Mikrostrukturen oder Öffnungen in einem mehrschichtigen Körper bereitgestellt, der eine ausgewählte Abfolge isolierender und optisch oder elektrisch leitender Schichten enthalten kann, wodurch die Messung und/oder Erfassung eines oder mehrere Analyten und/oder Fluidhandhabungsmitteln bereitgestellt wird.

[0019] Ebenso wird ein solches abtragend wirkendes Verfahren bereitgestellt, in dem mehrere Schichten gleichzeitig hergestellt werden, oder wo Abtragprozesse verwendet werden.

[0020] Somit stellt die vorliegende Erfindung ein Herstellungsverfahren für die dreidimensionale Strukturierung oder das Gestalten (patterning) von mindestens zwei verschiedenen Oberflächeneigenschaften für Mikrosysteme bereit.

[0021] Die Erfindung umfasst des Weiteren Produkte, die unter Anwendung dieses Verfahrens hergestellt werden, wie in den Ansprüchen definiert.

[0022] Die Technologie beruht auf dem anisotropen Plasmaätzen organischer Polymerschichten, die teilweise durch eine metallische Maske geschützt sind, Die Originalität des Verfahrens ist das Gestalten (pattern) der Oberflächeneigenschaften durch dieselben physikalischen Mittel wie jene, die für die dreidimensionale Herstellung verwendet werden, und das gleichzeitig mit dieser Herstellung stattfindet. Oberflächeneigenschaften bedeuten, ohne darauf beschränkt zu sein, Hydrophobie, Hydrophilie, Leitfähigkeit, Reflektierbarkeit, Rauigkeit und genauer, der chemische und/oder physikalische Zustand der Oberfläche. Es ist auch möglich, die gewünschten Funktionalitäten, zum Beispiel Carbonsäure, Ester, Ether, Amid oder Imid, während des abtragend wirkenden Verfahrens zu erzeugen. Das Gestalten der verschiedenen Eigenschaften kann durch zwei verschiedene Techniken erreicht werden, die getrennt oder gleichzeitig angewendet werden können.

1. Die Herstellung mehrerer Polymerschichten unterschiedlicher Eigenschaften, zum Beispiel einer Schichtenkonstruktion, die aus zwei dünnen Schichten eines elektrischen Isolators (Polystyrols) besteht, die an beiden Seiten einer leitenden Polymerschicht (mit Kohlenstoff gefüllten Polystyrol) durch Schleuderbeschichtung aufgetragen sind. Das Plasmaätzen durchschneidet die drei Schichten vertikal, wodurch ein Band aus leitendem Band erscheint, das durch die zwei anderen isoliert ist.

2. Das Substrat, das durch eine Maske an beiden Seiten teilweise geschützt ist, wird in die Mitte von zwei Kammern (A und B) eingebracht, die hermetisch getrennt sind, in welchen ein Plasma in Kammer A anders als in Kammer B erzeugt wird. Dazu wird die Oberfläche, die in der Kammer A exponiert ist, mit einem oxidativen Plasma (O_2) behandelt, die andere mit einem nicht oxidativen Plasma (N_2). Die Oberfläche eines solchen Lochs wäre in Bezug auf die Ätzrate beider Plasmas zur Hälfte hydrophil und zur Hälfte hydrophob.

[0023] In einer bevorzugten Ausführungsform kann die Technologie zur Herstellung mikroanalytischer Systeme angewandt werden, die für viele Anwendungen bestimmt sind, wie zum Beispiel die chemische und biologische Analyse, Synthese und/oder Trennung. Ferner kann in einer anderen Ausführungsform die Technologie zur Herstellung von Vorrichtungen dienen, die für Reaktionen bestimmt sind, die an der Grenzfläche zwischen einer flüssigen und einer festen Oberfläche oder an der Grenzfläche zwischen zwei Lösungen stattfinden, Zum Beispiel können Mikroelektroden oder Mikronadeln hergestellt und für den elektrochemischen Nachweis oder in der massenspektrometrischen Untersuchung verwendet werden. Das System kann zur Flüssigkeitsextraktion zwischen zwei Phasen, wie Trennungsexperimenten, verwendet werden. Ferner kann die Technologie bei jeder Art von induziertem Fluss, wie Diffusion, Konvektion (zum Beispiel durch Elektroosmose) oder Migration (zum Beispiel durch Elektrophorese) angewandt werden. Die Technologie kann auch für Anwendungen verwendet werden, wo die durch Plasma erzeugte Oberfläche chemisch oder biochemisch derivatisiert wird, um chemische oder biochemische Tests auszuführen. Als weiteres Beispiel kann die Technologie bei Reaktionsarten angewandt werden, wo die Temperatur eingestellt und/oder gesteuert werden kann, zum Beispiel durch die Verwendung elektrischer Mittel, wie integrierter Thermistoren oder Thermosonden, wie zum Beispiel für PCR-Reaktionen.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0024] [Fig. 1A](#) bis [Fig. 1E](#) zeigen schematische Schnittansichten durch einen Abschnitt einer Ausführungsform des mehrschichtigen Körpers, die Verfah-

ren zur Herstellung von Mikrostrukturen oder Öffnungen in diesem mehrschichtigen Körper zeigen, der an beiden Seiten beschichtet ist und aus mehreren Materialien hergestellt ist.

[0025] [Fig. 2A](#) bis [Fig. 2E](#) zeigen schematische Schnittansichten durch einen Abschnitt einer Ausführungsform des mehrschichtigen Körpers, die Verfahren zur Herstellung von Mikrostrukturen oder Öffnungen in diesem mehrschichtigen Körper zeigen, der an beiden Seiten beschichtet ist und aus mehreren Materialien hergestellt ist, wobei eine der Schichten bereits Mikrostrukturen oder Öffnungen enthält.

[0026] [Fig. 3A](#) bis [Fig. 3C](#) zeigen schematische Schnittansichten durch einen Abschnitt einer Ausführungsform des mehrschichtigen Körpers, die Verfahren zur Herstellung von Mikrostrukturen oder Öffnungen in diesem mehrschichtigen Körper zeigen, der aus mehreren Materialien hergestellt ist, unter Verwendung von abtragend wirkenden Prozessen, die eine gleichzeitige Bearbeitung einer Schicht und Entfernung einer anderen ermöglichen.

[0027] [Fig. 4A](#) bis [Fig. 4C](#) zeigen schematische Schnittansichten durch einen Abschnitt einer Ausführungsform des mehrschichtigen Körpers, die Verfahren zur Herstellung von Mikrostrukturen oder Öffnungen in einem mehrschichtigen Körper zeigen, der aus mehreren Materialien hergestellt ist, unter Verwendung von mehreren abtragend wirkenden Prozessen, die eine unterschiedliche Strukturierung von zwei verschiedenen Abschnitten einer Schicht ermöglichen.

[0028] [Fig. 5](#) ist ein schematisches Diagramm, das ein Verfahren zur Bearbeitung eines Kunststofffilms unbestimmter Länge gemäß der vorliegenden Erfindung zeigt.

[0029] [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6E](#) zeigen schematisch eine Abfolge einer mikromechanischen Herstellung mit Plasmaätzen.

[0030] [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) zeigen eine Seitenansicht von Mikrostrukturen, die durch Plasmaätzen hergestellt wurden, mit den Elektroden und der Laminierung.

[0031] [Fig. 8](#) ist eine Draufsicht von oben auf die unversiegelte Mikrostruktur, gemeinsam mit näheren Ansichten der Elektroden-Mikroscheibe, die in den Mikrokanal eingesetzt ist.

[0032] [Fig. 9A](#) zeigt die voltammetrische Erfassung von Ferrocencarbonsäure im Mikrokanal mit einer Drei-Elektroden-Konfiguration gegen eine Ag/AgCl-Elektrode (Ferrocencarbonsäurekonzentration von 0 bis 500 μM in 125 mM PBS, pH 7,4 + KCl 100 mM).

[0033] [Fig. 9B](#) zeigt die Ferrocencarbonsäurekonzentration gegen den Strom bei 400 mV gegen Ag/AgCl.

[0034] [Fig. 10](#) zeigt die voltammetrische Erfassung von Glucose bei 15 mM im Mikrokanal mit einer Drei-Elektroden-Konfiguration gegen eine Ag/AgCl-Elektrode (Ferrocencarbonsäurekonzentration 100 μM in 125 mM PBS, pH 7,4 + KCl 100 mM).

[0035] [Fig. 11A](#) zeigt die voltammetrische Erfassung verschiedener Konzentrationen von Glucose im Mikrokanal mit einer Drei-Elektroden-Konfiguration gegen eine Ag/AgCl-Elektrode (Ferrocencarbonsäurekonzentration 100 μM in 125 mM PBS, pH 7,4 + KCl 100 mM).

[0036] [Fig. 11B](#) zeigt die Glucosekonzentration gegen den Strom bei 400 mV gegen eine Ag/AgCl-Elektrode im Inneren des Mikrokanals.

[0037] [Fig. 12A](#) zeigt die voltammetrische Erfassung verschiedener Konzentrationen von Glucose auf den Pads mit einer Drei-Elektroden-Konfiguration gegen eine Ag/AgCl-Elektrode (Ferrocencarbonsäurekonzentration 100 μM in 125 mM PBS, pH 7,4 + KCl 100 mM).

[0038] [Fig. 12B](#) zeigt die Glucosekonzentration gegen den Strom bei 400 mV gegen eine Ag/AgCl-Elektrode auf den Elektrodenpads.

[0039] [Fig. 13](#) zeigt die hier verwendete Konfiguration für das elektrokinetische Pumpen bei 1100 Volt und das gleichzeitige elektrochemische Erfassen. Diese Struktur ist eine Draufsicht von oben auf die Struktur, die als Querschnitt in [Fig. 7C](#) dargestellt ist, und

[0040] [Fig. 14](#) zeigt die elektrochemische Erfassung von Ferrocencarbonsäure, die durch elektroosmotischen Fluss in der Vorrichtung von [Fig. 13](#) gepumpt wird (1 mM Ferrocencarbonsäure in 10 mM Phosphatpuffer bei pH 7,4).

B. BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0041] Der Begriff "Mikrostruktur", wie hierin verwendet, bedeutet und bezeichnet einen einzigen Mikrokanal, eine Anordnung von Mikrokanälen oder ein Netzwerk miteinander verbundener Mikrokanäle, die in ihrer Form nicht eingeschränkt sind, aber einen Querschnitt aufweisen, der mikrofluidische Manipulationen ermöglicht. Gemäß der vorliegenden Erfindung werden diese "Mikrostrukturen" für gewöhnlich z.B. in einer Platte, einem ebenen Substrat oder dergleichen gebildet, und sind für gewöhnlich in mindestens zwei Schichten hergestellt, wobei eine das gewünschte Mikrostrukturmuster enthält und eine zwei-

te als Versiegelungskomponente dient.

[0042] Der Begriff "Öffnungen", wie hierin verwendet, bedeutet und bezeichnet hohle Durchlässe oder Räume. Diese Öffnungen enthalten zum Beispiel Reaktionskammern, Reservoirs, Vertiefungen und dergleichen. Sie können getrennt vorliegen oder können an einem Ende einer Kanals vorgesehen sein. Wenn solche Öffnungen getrennt vorliegen, können sie zum Beispiel zum Einführen von Reagenzien, zum Mischen, zur Inkubation, zum Waschen, zur Reaktion, zum Erfassen und dergleichen verwendet werden, wie z.B. in homogenen Tests erforderlich ist. Wenn sie an einen Kanal angeschlossen sind, werden sie zum Beispiel als Mittel zum Einleiten eines Fluids in einen Hauptkanal oder ein Kanalnetzwerk verwendet. Wenn sie durch mehrere Schichten gehen, können diese Öffnungen auch zur Bildung einer Mikrostruktur verwendet werden, die ausgewählte Abschnitte mit verschiedenen Oberflächeneigenschaften hat.

[0043] In der vorliegenden Erfindung sind "Kanäle" und "Mikrokanäle" Leitungen oder Mittel zur Verbindung (z.B. Fluidverbindung) zwischen Öffnungen und dergleichen. Sie enthalten zum Beispiel Gräben, Rillen, Rinnen, Kapillaren und so weiter, ohne Einschränkungen hinsichtlich der Form. Die "Mikrokanäle" sind auf 0,1 bis 1000 µm in mindestens einer ihrer Dimensionen beschränkt.

[0044] Die "Oberflächeneigenschaften", wie hierin verwendet, bedeuten und bezeichnen den chemischen und/oder physikalischen Zustand der Oberfläche. Sie umfassen zum Beispiel Hydrophobie, Hydrophilie, Leitfähigkeit, Reflektierbarkeit, Rauigkeit, Siebrate, Affinität und so weiter. Der Begriff "Leitfähigkeit" bezeichnet hier die Fähigkeit einer Oberfläche, Elektronen von einem anderen Material oder einer anderen Lösung in ihr Volumen zu übertragen, oder im Gegensatz dazu, Elektronen von ihrem Volumen in ein anderes Material oder in eine andere Lösung, das/die sich in Kontakt befindet, zu übertragen. Diese Oberflächeneigenschaften hängen an sich mit der Art der Materialien zusammen, die zur Bildung jeder Schicht verwendet werden, und sie können gemäß der vorliegenden Erfindung in einigen Teilen eines mehrschichtigen Körpers während des Strukturierungsprozesses modifiziert werden. In einigen Ausführungsformen können die Oberflächeneigenschaften gewählter Teile eines mehrschichtigen Körpers nach dem Strukturierungsprozess weiter modifiziert werden. Die Oberflächeneigenschaften dienen zum Beispiel zur Steuerung, ob ein Medium innerhalb der gebildeten Mikrostrukturen oder Öffnungen verdrängt wird oder nicht. Gemäß der vorliegenden Erfindung können die Oberflächeneigenschaften in verschiedenen Teilen eines mehrschichtigen Körpers gewählt werden, um zum Beispiel einen Kapillarfluss, einen Elektrofluss (d.h., elektrokinetischen Fluss,

elektroosmotischen Fluss, elektrophoretischen Fluss, dielektrophoretischen Fluss und so weiter), eine chromatographische Retention, Molekülbindung (z.B. Adsorption oder Physisorption), optische oder elektrische Leitfähigkeit und so weiter zu vermeiden oder zu begünstigen.

[0045] [Fig. 1](#) bis [Fig. 4](#) zeigen verschiedene Arten zur Herstellung von Mikrostrukturen in einem mehrschichtigen Körper mit gleichzeitiger Steuerung der Eigenschaften der mit einem abtragend wirkenden Verfahren behandelten Oberflächen (etched surface). In einigen Ausführungsformen ist der mehrschichtige Körper ein Kunststofffilm, der mit einem Abtragungsresistent (etch resist) an einer oder beiden Seiten beschichtet ist. Der Begriff "Abtragungsresistent" bezeichnet hier eine Substanz, die gegenüber dem abtragend wirkenden Medium (etching medium) beständig ist oder zumindest viel beständiger ist als das abzutragende Material (material to be etched).

[0046] In einer bevorzugten Ausführungsform wird das Plasmaätzen, d.h., eine Technik, bei der das abtragend wirkende Medium gasförmig ist, vorzugsweise gegenüber anderen Techniken verwendet, wie dem nassen chemischen Ätzen oder der Fotoablation, wegen der Schwierigkeit des erstgenannten, die notwendige Präzision bereitzustellen, die zur Herstellung von Mikrostrukturen notwendig ist, und wegen der relativ geringen Bearbeitungsgeschwindigkeit des letztgenannten. Es ist dennoch möglich, Kombinationen dieser Methoden zu verwenden, um ausgewählte Oberflächen von mit einem abtragend wirkenden Verfahren behandelten Schichten weiter zu modifizieren, um deren Funktionalität zu modifizieren.

[0047] Die Präzision der Plasmaätzmethode hängt direkt von der Präzision des Musters ab, das in den Beschichtungen aus Abtragungsresistent strukturiert ist, und von der Dicke der Schicht, die zu ätzen ist. Es können alle verfügbaren Methoden, wie zum Beispiel die fotochemischen Prozesse, die in der Elektronikindustrie verwendet werden, zum Strukturieren des Abtragungsresistent angewendet werden, wie zum Beispiel eines Fotoresistens mit Mikrometerpräzision. Das Plasmaätzen hat den weiteren Vorteil, ein Richtungsätzen (anisotropes Plasmaätzen) zu ermöglichen, das ein seitliches Ätzen des Materials unter dem Abtragungsresistent verhindert, ein Phänomen, das als "Unterätzen" bezeichnet wird. Ferner kann das Abtragungsresistent nach der Herstellung der Mikrostruktur oder von Öffnungen entfernt werden, wenn das Material des Abtragungsresistent nicht erwünscht ist. Dies gilt zum Beispiel im Falle von Kunststofffilmen, die vor dem Ätzprozess, z.B. durch Vakuummetallabscheidung, metallisiert wurden, die aber für ihre Anwendungen kein Metall aufweisen können. Schließlich ist der Hauptvorteil des Plasmaätzens in

Bezug auf die vorliegende Erfindung, dass das Ätzmedium geändert werden kann, um die gewünschte Oberflächeneigenschaft ausgewählter Materialien zu gestalten.

[0048] [Fig. 1](#) bis [Fig. 4](#) zeigen verschiedene Arten einer Mikrostrukturierung von Polymerschichten, die verschiedene Oberflächeneigenschaften an der Oberfläche jedes, den mehrschichtigen Körper bildenden und durch abtragend wirkende Verfahren behandelten Materials ergeben. Die Figuren sind nicht maßstabgetreu und stellen nur einen Teil der gesamten Körper dar. Sie zeigen auch verschiedene Stufen eines abtragend wirkenden Prozesses, der an beiden Seiten des mehrschichtigen Körpers ausgeführt wird, obwohl jede Seite des mehrschichtigen Körpers der Reihe nach bearbeitet werden kann.

[0049] [Fig. 1A](#) zeigt einen Abschnitt eines mehrschichtigen Körpers, der zum Beispiel aus einem Kunststofffilm **3** besteht, der an beiden Seiten mit einem Laminat **2**, **2'** versiegelt ist, das aus einem zweiten Material hergestellt ist, das mit einem Abtragsresistent **1**, **1'** beschichtet ist. Der mittlere Kunststofffilm ist zum Beispiel 100 µm dickes Polyethylenterephthalat (PET), während der Laminatfilm 25 µm dickes Polyethylen (PE) ist, das mit der ersten Schicht durch irgendeine verfügbare Technik fest verbunden ist. Das Abtragsresistent kann ein Metall, wie Kupfer, mit einer Dicke von 12 µm sein, das durch einen bekannten elektrolytischen Prozess, durch Laminieren, Sputtern oder eine andere verfügbare Technik aufgetragen wurde. Dieses Abtragsresistent enthält bereits Ausnehmungen, wie **4** und **4'**, die die notwendige Form zur Herstellung des gewünschten Musters haben, und die an den gewünschten Positionen angeordnet sind, wo Öffnungen gebildet werden sollen. Die vorbereitenden Schritte des Fotoresistentenauftrags an beiden Seiten des Körpers und die Weiterentwicklung dieser Fotoresistentbeschichtung, um die Ausnehmungen **4** und **4'** in dem gewünschten Muster zu erhalten, sind in keiner der folgenden Figuren dargestellt, da ihre Herstellung nicht Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist.

[0050] In [Fig. 1B](#) und [Fig. 1C](#) werden die Öffnungen **5**, **5'** und **7**, **7'** der Reihe nach durch die Schichten **2**, **2'** beziehungsweise **3** abgetragen, wodurch Durchlässe erhalten werden, die verschiedene Oberflächeneigenschaften **6**, **6'** und **8** aufweisen. In [Fig. 1D](#) wird das Abtragsresistent **1** durch irgendeine verfügbare Methode entfernt, wie sie für die verschiedenen Anwendungen erforderlich ist. Ebenso kann das Abtragsresistent mit einer weiteren Schicht (nicht dargestellt) zum Beispiel für Grenzflächenverbindungen der Metallbeschichtungen beschichtet werden. Jedem dieser Abtragungsschritte kann eine Behandlung in einer Lösung vorangehen, nicht dargestellt, um die Abtragungsdauer zu verringern. Ferner kann auf jeden dieser Abtragungsschrit-

te eine Behandlung folgen, um die Oberflächeneigenschaften der strukturierten Öffnungen zu modifizieren. In dem Beispiel, in dem der Körper ein PET-Film ist, der mit Kupfer beschichtet und mit einem laminierten PE-Film versiegelt ist, wird die Oberfläche des PET-Films während eines oxidativen Abtragungsprozesses (wie dem Sauerstoffplasmaätzen) sehr stark hydrophil gemacht, während die Oberfläche des PE deutlich weniger hydrophil bleibt.

[0051] In diesem Fall ist ein Tropfen einer wässrigen Lösung, der auf die Kupferbeschichtung **1** abgeschieden wird, nicht imstande, in die Öffnung **7** durch Kapillarfüllung einzudringen. Es muss eine äußere Kraft auf diesen Tropfen ausgeübt werden, damit dieser die hydrophile Oberfläche **8** erreicht. Sobald die Oberfläche **8** mit dem Tropfen in Kontakt kommt, ruft dies ein kapillares Füllen in diesem Abschnitt der Mikrostruktur hervor, das aber gestoppt wird, sobald die Flüssigkeitsfront die zweite hydrophobe Oberfläche **6'** erreicht. Auch hier ist eine äußere Kraft notwendig, damit die Fluidfront in die Öffnung **7'** eindringen kann. Dieses Beispiel zeigt eine Art, wie Fluide in Mikrostrukturen, die gemäß der vorliegenden Erfindung gebildet wurden, gehandhabt werden können. Es kann auch ein abtragend wirkendes Verfahren verwendet werden, das Oberflächen mittlerer Hydrophobie liefert, um den Fluidfluss in einem bestimmten Abschnitt einer Mikrostruktur zu verlangsamen, was vorteilhaft sein kann, um eine Reaktion, eine Adsorption und so weiter zu vollenden, falls längere Zeitperioden notwendig sind.

[0052] In [Fig. 1E](#) wird der strukturierte mehrschichtige Körper mit einer zusätzlichen Schicht **9** unter Verwendung eines herkömmlichen Verfahrens, wie zum Beispiel Laminieren, beschichtet, um ein Ende der gebildeten Struktur zu versiegeln, wodurch eine Mikrostruktur mit nur einer Öffnung an dem gegenüberliegenden Ende erhalten wird.

[0053] [Fig. 2](#) zeigt verschiedene Stufen eines Herstellungsverfahrens, das jenem, das in [Fig. 1](#) dargestellt ist, ganz ähnlich ist. Der einzige Unterschied besteht darin, dass die mittlere Schicht **3** eine oder mehrere Mikrostrukturen oder Öffnungen **10** enthält, die an der oder den gewünschten Positionen so angeordnet sind, dass sie eine Verbindung mit der durch Abtragung zu generierenden Öffnung verhindern (nicht dargestellt) oder ermöglichen. Im letzten Fall wird die Form der fertigen Mikrostruktur, die durch den Abtragungsprozess gebildet wird, modifiziert, wie auch das Ausmaß der Oberflächeneigenschaften **8**, die während dieses Abtragungsprozesses gestaltet werden. In einer anderen Variation ist (sind) die Mikrostruktur(en) oder Öffnung(en) **10** aus einem dritten Material hergestellt, wie z.B. einem Polymer, einem Gel, einer Paste und so weiter, oder ist (sind) mit einer Reihe von Materialien, wie Fasern, Wellenleitern, Kügelchen und so weiter, gefüllt.

[0054] [Fig. 3](#) und [Fig. 4](#) zeigen zwei verschiedene Möglichkeiten, Mikrostrukturen in verschiedenen Schichten unter Anwendung mehrerer Abtragungsprozesse herzustellen. In [Fig. 3](#) ist die Schicht **11** gegenüber einem ersten Abtragungsprozess beständig und enthält die Ausnehmung **15**, um das gewünschte Muster in Schicht **12** herzustellen. Ein zweiter Abtragungsprozess wird dann zur Herstellung der gewünschten Mikrostrukturen oder Öffnungen verwendet, um gleichzeitig eine Schicht in Schicht **13** zu entfernen, ohne die Oberflächeneigenschaften **16** der zuvor durch Abtragung behandelten Schicht zu verändern, und andere Oberflächeneigenschaften **17** in Schicht **13** zu erzeugen. Im vorliegenden Fall dient die Schicht **11** nur als Abtragungsresistent für den ersten Herstellungsschritt, da sie nicht zur Verwendung des strukturierten Körpers bestimmt ist. Wenn diese Schicht für den zweiten Abtragungsprozess nachteilig ist, kann sie vor dem Strukturieren der Schicht **13** entfernt werden. In einer anderen Ausführungsform kann die Schicht **11** derart gewählt werden, dass sie gegenüber dem ersten Abtragungsprozess beständig ist, aber nicht gegenüber dem zweiten, so dass beide Schichten **11** und das gewünschte Muster in Schicht **13** gleichzeitig durch Abtragung behandelt werden. In [Fig. 3](#) erstrecken sich die durch abtragend wirkende Verfahren erhaltenen Mikrostrukturen oder Öffnungen nicht durch die Schicht **14**, die gegenüber beiden Abtragungsprozessen beständig ist. Dies ist jedoch keine Notwendigkeit für den Prozess, und der mehrschichtige Körper kann derart gewählt werden, dass beide Seiten nach der oben genannten Prozedur gleichzeitig abtragend bearbeitet werden. Ferner können die oben genannten Operationen auch mehrere Male wiederholt werden, um Mikrostrukturen und Öffnungen in einem Körper herzustellen, der eine größere Zahl von Schichten enthält.

[0055] [Fig. 4](#) zeigt eine Methode ähnlich jener, die in [Fig. 3](#) dargestellt ist, für die Strukturierung eines mehrschichtigen Körpers und die Gestaltung von Oberflächeneigenschaften verschiedener Arten in verschiedenen Schichten. Das Abtragungsresistent **15** enthält mehrere Ausnehmungen **20** und **21**, und die zweite Schicht ist aus mehreren Materialien (zwei Materialien **16** und **17** im dargestellten Fall) hergestellt. Keiner der Abtragungsprozesse kann das Abtragungsresistent **15** angreifen und diese Schicht wird zwischen zwei Herstellungsschritten nicht entfernt. Die Materialien **16** und **17** sind so gewählt, dass nur das Material **16** gegenüber dem ersten Abtragungsprozess beständig ist, so dass eine Ausnehmung nur in der Schicht **17** gebildet wird. In einem zweiten Schritt wird ein zweiter Abtragungsprozess verwendet, um die gewünschten Mikrostrukturen oder Öffnungen entweder nur in der Schicht **16**, nur in der Schicht **18** (diese Fälle sind nicht dargestellt) oder gleichzeitig in beiden Schichten **16** und **18** zu erzeugen. Dies führt zu einer dreidimensionalen Struktur,

in der Löcher **20** und **21** verschiedene Oberflächeneigenschaften aufweisen, abhängig von der Art der Schichten und von dem Schritt, in dem sie abtragend bearbeitet werden. Im vorliegenden Beispiel können die Oberflächen **22**, **23** und **24** verschiedene Eigenschaften haben, oder die Oberflächen **23** und **24** haben dieselben Eigenschaften, während **22** anders ist, wenn die Schichten **16** und **18** aus gleichen Materialien bestehen.

[0056] Es muss auch betont werden, dass die Oberflächen der durch abtragend wirkende Verfahren gewonnenen Mikrostrukturen, die in [Fig. 1](#) bis [Fig. 4](#) beschrieben sind, weiter behandelt werden können, um ein Molekül in ausgewählten Materialien und/oder ausgewählten Schichten zu binden, zu immobilisieren oder aufzutragen. Dies kann zum Beispiel zur Immobilisierung biologischer Moleküle auf einem bestimmten Abschnitt einer Schicht angewendet werden, um eine Trennung oder einen Test durchzuführen. Affinitätschromatographie, Enzymgekoppelter Immunabsorptionstests ("enzyme-linked immunosorbent assays") Rezeptorbindungstests sind einige Beispiele für die Anwendungen der Mikrostrukturen, die gemäß der Erfindung hergestellt werden. Ein ähnliches organisches Material wie zum Beispiel Lysin, Polyacrylamid oder Natriumdodecylsulfat, kann an ausgewählten durch abtragend wirkende Verfahren bearbeitete Schichten angeordnet werden, um eine Elektrophorese durchzuführen.

[0057] [Fig. 5](#) zeigt einen kontinuierlichen Prozess zur Herstellung von Mikrostrukturen und Öffnungen in Kunststofffilmen. Eine Vorratsrolle **31** stützt den mehrschichtigen Körper **32**, der entweder mit einem Abtragungsresistent an einer oder beiden Seiten beschichtet sein kann, der vorgeformte Vertiefungen enthält oder nicht. Kleine Walzen **33** lenken den mehrschichtigen Körper durch verschiedene Prozessstufen und -schritte **40** bis **43**, und das abschließende Ende des mehrschichtigen Körpers wird auf eine Aufnahmewalze **39** gewickelt, um das Endprodukt zu sammeln. Dieser Aufbau kann zum Beispiel zur Verarbeitung der in [Fig. 4](#) dargestellten Struktur verwendet werden. Eine erste Stufe **40** umfasst alle Schritte, die zum Beschichten des mehrschichtigen Körpers **32** mit einem Abtragungsresistent **15** notwendig sind, der Vertiefungen **20** und **21** enthält. In einer Metallätz- und Fotoresistenttransportstufe **41** findet ein Ätzen der Metallschichten **15** an der Stelle der Vertiefung **20** statt, wo die Mikrostrukturen und/oder Öffnungen gebildet werden sollen. In der nächsten Prozessstufe **42** wird ein anderer, zweiter Prozess verwendet, um Schichten **16** und **18** gleichzeitig zu abzutragen, wodurch die gewünschten Oberflächeneigenschaften **22**, **23** und **24** in jedem Material erhalten werden. Während der letzten Prozessstufe **43** wird das Abtragungsresistent **15** entfernt und der strukturierte, mehrschichtige Körper schließlich durch Laminieren mit einem ergänzenden

Kunststofffilm **38** versiegelt, wodurch das Endprodukt **39** erhalten wird.

[0058] Der Bandinstallation können auch weitere Prozessstufen hinzugefügt werden und die verschiedenen Prozessstufen können anderen Funktionen gewidmet sein, wie dem Waschen, Härten, Beschichten, der Oberflächenmodifizierung, Immobilisierung und so weiter. Ebenso können dem Körper zwischen zwei oder mehreren Prozessstufen Schichten hinzugefügt werden. Dies ist in [Fig. 5](#) durch die zusätzliche Walze **34** dargestellt, die das Laminieren eines Kunststofffilms **35** ermöglicht, der zum Beispiel als Versiegelung der geätzten Mikrostrukturen und Öffnungen, die in vorangehenden Prozessstufen gebildet wurden und/oder als zusätzliches Abtragungsresistent für die nächsten Prozessstufen verwendet wird.

[0059] Um das Konzept der Erfindung beispielhaft darzustellen, wird im Folgenden ein Beispiel für ein Experiment und dessen Ergebnisse beschrieben, das unter Verwendung des Verfahrens gemäss der Erfindung ausgeführt wurde.

[0060] Für das Experiment werden Polyimidfolien, die an beiden Seiten mit 5 µm dickem Kupfer beschichtet sind, als Substratmaterial verwendet.

[0061] In einem ersten Schritt werden plasmageätzte Mikrostrukturen hergestellt. Plasma ist ein hoch erregter Zustand einer Substanz, für gewöhnlich eines verdünnten Gases, in dem ein bestimmter Prozentsatz der Gasatome und Moleküle ionisiert sind und sich dann teilen, um hoch reaktionsfähige Gasradikale zu bilden. Diese chemisch aggressiven Partikel reagieren vorzugsweise mit organischen Materialien und erzeugen Reaktionsnebenprodukte, die anschließend von der Oberfläche desorbiert werden. Wenn die Oberfläche eines organischen Dielektrikums teilweise mit einer Metallmaske bedeckt ist, können nur die offenen Flächen angegriffen werden.

[0062] 40 × 40 cm² Polyimidfolien mit einer Dicke von 50 µm, die an beiden Seiten mit 5 µm Kupfer beschichtet sind, werden in einem Rahmen fixiert. Das Kupfer wird nach dem Strukturieren des Fotoresistents mit Hilfe eines Computerdruckers, z.B. einem 25000 dpi hochauflösenden Drucker, chemisch abgetragen.

[0063] In [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6E](#) ist die Herstellungsabfolge für eine doppelseitige Folie mit plasmaerzeugten Mikrostrukturen schematisch dargestellt. [Fig. 6A](#) zeigt eine Folie **50**, die an beiden Seiten mit einer Kupferschicht **51** bedeckt ist. In [Fig. 6B](#) werden diese Kupferschichten dann mit einem Fotoresistent **52** beschichtet, der des Weiteren mit Licht bestrahlt wird, so dass zwei Löcher **53** und **53'** und eine Ausnehmung **54** entstehen, wie in [Fig. 6C](#) dargestellt ist.

Dieser mehrschichtige Körper wird dann chemisch geätzt, um die Kupferschichten zu strukturieren und Löcher **55** und **55'** und eine Ausnehmung **56** in denselben Mustern zu bilden, wie jene, die in den Fotoresistenschichten hergestellt wurden ([Fig. 6D](#)). Die Polymerfolie wird dann strukturiert, indem sie Plasma ausgesetzt wird, um einen Einlass **57** und ein Auslassreservoir **57'** an einer Seite und eine Rille **58** an der anderen Seite zu bilden ([Fig. 6E](#)).

[0064] Auf Grund der Tatsache, dass Plasma von beiden Seiten Zugang zu dem Substrat hat, werden die Löcher **57** und **57'** und die Rille **58** gleichzeitig gebildet, wenn das Kupfer **51** an beiden Seiten der Folie **50** strukturiert ist. Nach diesem Prozess kann der Oberflächenzustand des Polymers sehr hydrophob oder hydrophil sein, abhängig von der Plasmazusammensetzung, die entweder O₂, CF₄ oder N₂ ist. In den folgenden Beispielen wurde Sauerstoffplasma verwendet, um eine oxidierte Oberfläche zu erhalten, die einen Kapillarfluss im Inneren der Mikrokanäle erzeugen kann. Dennoch bleibt die Oberfläche außerhalb der Kapillare, die durch die Kupferschicht geschützt ist, hydrophob.

[0065] Der oben genannte Prozess kann wiederholt werden, um strukturierte Abschnitte verschiedener Niveaus (verschiedener Tiefen) zu schaffen, wodurch Ausnehmungen, Höhlen, vorstehende Elemente und dergleichen erzeugt werden. Dies kann zum Beispiel verwendet werden, um einen Kontakt unter den verschiedenen Schichten herzustellen, die den mehrschichtigen Körper bilden.

[0066] In einem anderen Beispiel wird dieser Prozess verwendet, um Elektroden in die Vorrichtung einzufügen. Zu diesem Zweck werden gut definierte Abschnitte der strukturierten Vorrichtung (wie zum Beispiel Abschnitte der Rille **58**, die in [Fig. 6E](#) dargestellt ist) wieder dem Plasma durch eine neue Kupfermaske ausgesetzt, die die gewünschten Muster enthält. Auf diese Weise kann die Polymerfolie **50** weiter geätzt werden, bis die Kupferschicht **51** erreicht ist. Nach diesen Schritten wird ein Metall, wie zum Beispiel Gold, auf die Kupferschicht elektroplattiert, um eine Oberfläche zu erhalten, die für elektrochemische Zwecke geeignet ist.

[0067] Ein Beispiel für eine solche plasmageätzte Vorrichtung ist in [Fig. 7A](#) dargestellt. Im vorliegenden Fall ist die Vorrichtung in einer 50 µm dicken Polyimidfolie hergestellt und enthält: Einen Mikrokanal **58** mit einem Einlass **57** und einem Auslass **57'**, wie auch zwei Mikroelektroden **59**, die goldbeschichtete Kupferpads sind. Die fertige Struktur wird dann durch Laminieren einer 35 µm dicken Polyethylenterephthalat-Polyethylen (PET-PE-) Schicht **60** (Morane LTD, UK) durch dieselbe Prozedur versiegelt, die bereits an anderer Stelle vorgestellt wurde.

[0068] Es ist sehr wichtig, die Oberflächeneigenschaften des Kanals nach dem Herstellungsprozess zu beobachten, der schematisch in [Fig. 7B](#) beschrieben ist. Tatsächlich ist im Inneren des Mikrokanals die Oberfläche **61** geladen und somit hydrophil, was notwendig ist, damit ein Kapillar- und/oder elektroosmotischer Fluss möglich ist. Die Wand des versiegelten Mikrokanals, die aus der laminierten Schicht **62** besteht, ist auf Grund der Eigenschaften des PE weniger hydrophil. Außerhalb der Kapillare muss die Oberfläche **63** hydrophob sein, so dass die Dispersion des Lösungstropfens um die Öffnungen, die als Einlass und Auslass dienen, vermieden wird. In den folgenden Beispielen ist Polyimid, das ein hydrophobes Material ist, für diesen Zweck gewählt, da es hydrophil wird, wenn es dem Sauerstoffplasma ausgesetzt wird. Eine andere Oberflächeneigenschaft ist die Leitfähigkeit der Oberfläche **64**, wo die metallische Schicht mit der Lösung in Kontakt ist. Diese Strukturen zeigen daher das Konzept der Erfindung: Gestalten verschiedener Oberflächeneigenschaften, die für die Steuerung der Fluidflüsse notwendig sind, Ausführen chemischer Reaktionen, Erfassen von Analyten und so weiter.

[0069] [Fig. 7C](#) zeigt ein anderes Beispiel für die Verteilung der oben genannten Oberflächeneigenschaften, wo Elektroden direkt über dem Einlass und Auslass des versiegelten Mikrokanals angeordnet sind.

[0070] Danach wird die elektrochemische Erfassung durch zyklische Voltammetrie mit einem AEW2 tragbaren Potentiostat (Sycopel Scientific, UK) durchgeführt, indem eine der Elektroden als Arbeitselektrode ("working electrode" – WE) und die andere als Gegenelektrode ("counter electrode" – CE) angeschlossen wird. Ein frisch oxidiertes Ag/AgCl-Draht wird als Referenzelektrode verwendet und auf einem Kanaleingang in Kontakt mit der zu analysierenden Lösung angeordnet. Zunächst wird eine zyklische voltammetrische Charakterisierung von Ferrocencarbonsäure gezeigt, um das Verhalten von goldbeschichteten Mikroelektroden zu verstehen, ähnlich jenem, das in einer früheren Schrift dargestellt wurde.

[0071] Dann werden nun Mikrostrukturen, die gemäß der vorliegenden Erfindung hergestellt wurden, verwendet, um einige Beispiele für analytische Anwendungen zu zeigen, nämlich immunologische Tests und enzymatische Reaktionen.

[0072] Für das Beispiel eines Immunoassays wurde die Immobilisierung der Maus-Antikörper durch Physisorption bei pH 7 in einer Stunde bei Raumtemperatur durchgeführt. Abhängig von den Experimenten wurde 1 bis 100 µg/ml Antikörperkonzentration verwendet. Dann wird die Oberfläche mit % Rinderseumalbumin (BSA) blockiert. Die Immunreaktion wird durchgeführt, indem getrocknete Kanäle mit immobi-

liziertem Maus-Antikörper mit einem Ziegen-Antimaus-HRP-Konjugat gefüllt werden und 5 Minuten bei Verdünnungen mit einem Titer zwischen 1/225000 und 1/25000 inkubiert werden. Nach der Inkubation mit dem Konjugat wird die Substratlösung, die 100 mM Hydrochinon und 100 mM Peroxid enthält, dem Kanal zugegeben, so dass der elektrochemische Nachweis von Meerrettichperoxidase ("horse raddish peroxidase – HRP) mit einer ähnlichen Prozedur möglich ist, wie jene, die von Wang et al. vorgeschlagen wurde. Zwischen jedem Schritt wird eine Waschprozedur mit einer Lösung aus Waschpuffer bei pH 7,4, die 0,1 M Phosphatpuffer und 0,1% BSA enthält, durchgeführt.

[0073] In einem zweiten Beispiel wird die Verwendung des Mikrochips für einen enzymatischen Test gezeigt. Hier wurden plasmageätzte Mikrostrukturen für den Nachweis von Glucose verwendet. Eine Lösung aus Glucoseoxidase (Enzym) und Ferrocencarbonsäure (Mediator) wird mit einer Glucoselösung gemischt und in den Mikrokanal gefüllt, wo ein zyklischer voltammetrischer Nachweis durchgeführt wird.

[0074] In einem anderen Schema wird die Glucoseoxidase und Ferrocenlösung in den Mikrokanal gefüllt und die Glucoselösung in eines der Reservoirs eingebracht.

[0075] In einem weiteren Beispiel werden 2 µL Glucoseoxidase und Ferrocencarbonsäure abgeschieden und auf den Elektrodenpads außerhalb des Kanals trocknen gelassen. Dann wird eine Glucoselösung auf die getrocknete Lösung abgeschieden und eine zyklische Voltammetrie durchgeführt.

[0076] In der Folge werden die erhaltenen Ergebnisse kurz beschrieben.

[0077] Zunächst wird ein Aspekt der verwendeten Strukturen behandelt. Eine mikroskopische Untersuchung der plasmageätzten Kunststoffolien **70** vor dem Versiegeln durch Laminiere einer PET-PE-Schicht zeigt die verschiedenen Muster, die die Mikrostruktur bilden. Vier Draufsichten von oben auf die Vorrichtung sind in [Fig. 8](#) dargestellt, die eine hellbraune Farbe auf Grund der Lichtabsorption der Polyimidschicht **70** enthält. In der oberen Ansicht an der linken Seite ist die Gegenwart des Mikrokanals **71** als helles Muster in der Mitte des Bildes dargestellt, was bedeutet, dass die Dicke des Polyimids an dieser Stelle geringer ist. An beiden Enden des Kanals befindet sich ein Loch **72**, das als Reservoir oder als Einlass und Auslass dient, wodurch Zugang zu der Flüssigkeit im Inneren des Kanals nach der Laminiereprozedur erhalten wird. Die anderen Linien, die auf der Oberfläche **73** gebildet sind, sind die goldbeschichteten Pads zur Verbindung der Elektroden mit dem Potentiostat. In den näheren Ansichten der Vorrichtung, die in [Fig. 8](#) dargestellt sind, kann beob-

achtet werden, dass die Geometrie der Elektrode eine Scheibe ist, die etwas tiefer als der Kanal liegt.

[0078] Es muss festgehalten werden, dass die obere Ansicht an der linken Seite von [Fig. 8](#) auch Reihen von vier Löchern **74** zeigt, die für die präzise Ausrichtung der Vorrichtung während ihres Herstellungsverfahrens verwendet werden.

[0079] Elektrochemische Charakterisierung: Die zyklischen, voltammetrischen Analysen von Ferrocencarbonsäure, die in [Fig. 9](#) dargestellt sind, weisen eine erwartete Form für Mikroelektroden dieser Dimensionen in einem Mikrokanal auf.

[0080] Eine Kalibrierung von Ferrocencarbonsäure kann zwischen 0 und 0,5 mM mit einer Neigung von 34 pA/μM erhalten werden, was etwa 6 mal größer ist als jene, die in einer ähnlichen Geometrie mit einer 5 mal kleineren Kohlenstoffbandelektrode erhalten wurde. Die Leistung dieser Elektroden stimmt gut mit einer solchen früheren Arbeit überein und kann für diagnostische Tests verwendet werden.

[0081] Nachweis von Glucose mit plasmageätzten Mikrochips: In einem ersten Experiment wird die Reaktion durch Mischen des Enzyms und der Mediatorlösung mit einer 15 mM Glucoselösung in einem Teströhrchen außerhalb des Mikrochips durchgeführt. Diese Lösung wird dann in den Mikrokanal eingespritzt und ein zyklisches, voltammetrisches Experiment durchgeführt. Der Nachweis von Glucose in einem solchen Mikrochip kann in [Fig. 10](#) gezeigt werden. Ohne Glucose in der Lösung zeigt das Voltammogramm die Oxidation von Ferrocencarbonsäure wie in [Fig. 9](#). Das Vorhandensein von Glucose zeigt sich durch die katalytische Form des Voltammogramms, was bedeutet, dass der Mediator durch das Enzym und die Elektrode reduziert beziehungsweise oxidiert wird. Dies zeigt, dass der Nachweis der Glucose in diesem Mikrokanal möglich ist. Es sollte hinzugefügt werden, dass das Volumen des Mikrokanals in diesem Beispiel etwa 50 nL ist.

[0082] In einem zweiten Experiment wird die Glucoseoxidase und Ferrocencarbonsäure in den Mikrokanal gefüllt. Lösungen mit unterschiedlichen Glucosekonzentrationen werden dann auf dem Reservoir am Auslass des Mikrokanals abgeschlossen. Die Glucose wird schließlich durch zyklische Voltammetrie nachgewiesen, wie in [Fig. 11A](#) dargestellt. Der Strom, der bei 400 mV erfasst wird, ist in [Fig. 11B](#) auch gegen die Glucosekonzentration eingetragen. Eine gute Korrelation der Glucosekonzentration und des erfassten Stroms wird zwischen 0 und 20 mM nachgewiesen. Für höhere Glucosekonzentrationen erreicht der Nachweis eine Sättigung.

[0083] In einem dritten Experiment werden 2 μL Glucoseoxidase und Ferrocencarbonsäure auf den

Elektrodenpads außerhalb des Mikrokanals getrocknet. In diesem Experiment werden 2 μL Glucoselösung auf die Elektrodenpads gegeben und die aufgezeichneten Voltammogramme sind in [Fig. 12A](#) dargestellt. Die Korrelation des Stroms gegen die Konzentration ([Fig. 12B](#)) ist von 0 bis 20 mM linear. Es ist interessant, die Stromstärken zwischen dem Nachweis im Inneren des Mikrokanals ([Fig. 10](#) und [Fig. 11](#)) und auf den Elektrodenpads außerhalb des Mikrokanals zu vergleichen. Der Strom ist in dem letzteren Experiment wegen der Differenz in der Elektrodendimension größer. Das Nachweisvolumen in diesem Fall ist 2 μL gegenüber 50 nL im Inneren des Mikrokanals.

[0084] Ein weiteres Anwendungsbeispiel wird nun vorgestellt, um zu zeigen, dass die vorliegende Erfindung in der Herstellung von Mikrostrukturen verwendet werden kann, in welchen die Wände ausreichend hydrophil sind, um einen Kapillarfluss zu erzeugen und die Bewegung der Fluida durch elektrische Mittel zu steuern. Zu diesem Zweck wurde die Vorrichtung, die schematisch in [Fig. 13](#) dargestellt ist, in einer 50 μL dicken Polyimidfolie **75** nach einem Ätzprozess hergestellt, der dem in [Fig. 6](#) beschriebenen ähnlich war. Die Vorrichtung von [Fig. 13](#) enthält einen 10 cm langen Mikrokanal **76** mit einem Einlass **77** und einem Auslass **78** an jedem Ende. Dieser Einlass und Auslass dienen auch als Reservoirs und sind von zwei goldbeschichteten Kupferpads **79** und **80** umgeben, die als Elektroden dienen. In dem Auslassreservoir sind eine Platinelektrode **81** und eine Silber/Silberchlorid (Ag/AgCl) Referenzelektrode **82** in Kontakt mit der Lösung. Ein starkes elektrisches Feld (1100 Volt) wird dann zwischen den Elektroden **79** und **81** angelegt, um die Lösung elektrokinetisch durch den Mikrokanal **76** zu dem Auslass **78** zu pumpen. Der Pfeil in [Fig. 13](#) zeigt die Richtung des Flusses, der durch das Anlegen dieser Hochspannung erzeugt wird. Ein geringes Potenzial (zum Beispiel 400 mV gegen Ag/AgCl) kann auch zwischen den Elektroden **80** und **82** angelegt werden, um die Moleküle nachzuweisen, die das Auslassreservoir erreichen.

[0085] Vorbereitende Experimente zeigten, dass es möglich ist, Lösung durch solche Mikrokanäle zu saugen, um diese leicht zu füllen und zu entleeren. Weitere Experimente wurden dann durchgeführt, um den elektroosmotischen Fluss zu charakterisieren, der in den versiegelten Mikrokanälen mit der in [Fig. 13](#) dargestellten Form erzeugt wurde.

[0086] Zu diesem Zweck wird eine Lösung aus Ferrocencarbonsäure (1 mM Ferrocencarbonsäure in 10 mM Phosphatpuffer bei pH 7,4) am Einlass des Mikrokanals aufgebracht und in die Richtung der Niederspannungs-Nachweiseinrichtung gepumpt, die am Auslass angebracht ist. Sobald die gepumpte elektroaktive Spezies den Auslass des Mikrokanals erreicht, wird ein Strom von dem elektrochemischen

System erfasst, das durch die Elektroden **80** und **82** definiert ist. Wie in [Fig. 14](#) dargestellt, wenn die Lösung nur den Phosphatpuffer enthält, bleibt der Strom nahe bei Null. Ein Strom wird nur zu Beginn des Experiments erfasst, der ein Artefakt auf Grund der Umschaltung des Potentials ist. Wenn die Ferrocencarbonsäurelösung am Einlass des Mikrokanals zugegeben wird, bleibt der Strom 150 Sekunden derselbe wie jener, der für den Phosphatpuffer aufgezeichnet wird. Nach diesen 150 Sekunden steigt der Strom rasch an, bis er ein Plateau nach etwa 200 Sekunden erreicht. Dies zeigt deutlich, dass die Ferrocencarbonsäure elektrokinetisch durch den Mikrokanal gepumpt wurde und dass sie etwa 150 Sekunden benötigt, um das Auslassreservoir zu erreichen.

[0087] Dieses Experiment zeigt, dass es möglich ist, den elektroosmotischen Fluss in Mikrosystemen zu verwenden, die durch die vorliegende Erfindung hergestellt werden, und diese somit zur Ausführung elektrophoretischer Trennungen wie einer chromatographischen Technik verwendet werden können.

[0088] Die drei dargestellten Experimente beweisen das große Interesse, die vorliegende Struktur oder diese Art von Strukturen, die durch Plasmaätzen hergestellt werden, für Anwendungen in chemischen oder biologischen Analysen zu verwenden.

[0089] Enzymgekoppelter Immunabsorptionstests (ELISA) mit elektrochemischem Nachweis: Zur Entwicklung eines immundiagnostischen Tests können Antikörper auf der Oberfläche der Kanalwände immobilisiert werden. Die Prozedur wird auf der Basis der Physisorption oder durch kovalente Anhaftung durchgeführt. Dann kann der Standardimmunoassay im Sandwich- oder kompetitiven Modus durchgeführt werden. Der Nachweis kann zum Beispiel erreicht werden, indem der sekundäre Antikörper oder das Antigen mit einem Enzym, wie HRP, ALP, Glucoseoxidase, Beta-Galactosidase usw., ohne darauf beschränkt zu sein, markiert wird. Strukturen und Arrays oder Strukturnetzwerke ähnlich jenen, die in [Fig. 6](#) bis [Fig. 8](#) dargestellt sind, können dann für solche Immunoassays verwendet werden, da geeignete Oberflächeneigenschaften unter Verwendung der vorliegenden Erfindung gestaltet werden können.

[0090] Herstellung von Nanospray: Die Struktur, die hergestellt wurde und in [Fig. 7](#) dargestellt ist, kann zur Massenspektrometrieanalyse verwendet werden. Tatsächlich, wenn die Struktur entweder mit einem Messer, einem Laser oder mittels Plasma geschnitten wird, kann der Querschnitt des Kanals vor einem Massenspektrometereinlass angeordnet werden und die Hochspannung, die erforderlich ist, um die Lösung aus der Kapillare **5** auszusprühen, kann Dank der Elektrode, die im Inneren der Kapillare hergestellt ist, angelegt werden. Das Innere des Kanals (das hydrophil ist) dient dazu, den Kanal zu füllen, und der

Auslass des Kanals (der hydrophob ist) dient dazu, die Bildung des Taylor-Kegels zu begünstigen. Tatsächlich muss das Äußere hydrophob sein um zu verhindern, dass die wässrige Lösung außerhalb des Kanals versprüht wird, wodurch die Erzeugung des 10 Sprays begünstigt wird.

[0091] Ferner kann eine mikrofluidische Vorrichtung gebildet werden, die die Polymerschicht und mindestens eine zusätzliche Schicht umfasst, wobei die zusätzliche Schicht strukturiert ist, und die zusätzliche Schicht chemische und/oder physikalische Oberflächeneigenschaften aufweist, die sich von den Oberflächeneigenschaften der Polymerschicht unterscheiden, so dass die Mikrostrukturen Abschnitte mit unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften aufweisen, wodurch Transport, Analyse oder Behandlung von Fluida in den Mikrostrukturen möglich sind. Die mikrofluidische Vorrichtung kann mit mindestens einem Mikrokanal gebildet sein, der mindestens eine Dimension im Bereich von 0,1 bis 1000 μm hat, oder in einer Weise, dass jede Schicht eine maximale Dicke von 1 μm aufweist, in der Länge, Breite und Form aber nicht beschränkt ist, oder mit einer Öffnung, die als Reaktionskammer, Reservoir, Vertiefung oder Zugangsloch dient, oder dass mindestens eine der Mikrostrukturen einen Oberflächenabschnitt umfasst, der hydrophob ist, und einen Oberflächenabschnitt, der hydrophil ist, oder in einer Weise, dass sie an optische und/oder elektrische Mittel angeschlossen werden kann, um eine Verbindung von Interesse unter Verwendung dieses angeschlossenen Mittels zu erfassen. Es ist verständlich, dass diese Merkmale in jeder geeigneten Weise kombiniert werden können.

[0092] Es wurde gezeigt, dass die mikrofluidische Vorrichtung zur Durchführung einer chemischen und/oder biologischen Analyse verwendet werden kann. Sie kann für elektrische und/oder mechanische Strömungstechniken und zur Abgabe einer Flüssigkeit verwendet werden. Sie kann verwendet werden, während mindestens ein Teil der Mikrostrukturen mit einem Medium gefüllt ist, wobei das Medium ein Fluid, ein Feststoff oder ein Gel sein kann. Wenn ein solches Medium Teil der mikrofluidischen Vorrichtung ist, kann das Medium geladene Partikel, wie Ionen, Moleküle, Zellen oder Viren enthalten, oder das Medium kann Kügelchen enthalten.

[0093] Wie gezeigt wurde, sind Plasmaätzen, Fotoablation oder Abtragetechniken, die zur Bereitstellung von Polymersubstratschichten mit Strukturen im Bereich von 0,1 bis 1000 μm geeignet sind, zur Herstellung mikrofluidischer Vorrichtungen für die Durchführung chemischer und/oder biologischer Analysen verwendbar.

[0094] Diese Beispiele zeigen die Verwendung der vorliegenden Erfindung, wenn sie auch nicht auf diese Anwendungen begrenzt sind.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung mikrofluidischer Vorrichtungen durch ein abtragend wirkendes Verfahren angewendet auf (by etching) einen mehrschichtigen Körper, der aus mehreren Materialien hergestellt ist, umfassend die Schritte:

(a) Bereitstellen einer Polymerschicht, die mit mindestens einer Schutzschicht beschichtet ist;
 (b) Strukturieren der mindestens einen Schutzschicht derart, dass mindestens eine Ausnehmung in der mindestens einen Schutzschicht gebildet wird;
 (c) Strukturieren der Polymerschicht des erhaltenen mehrschichtigen Körpers durch Plasmaätzen, Fotoablation oder eine Kombination davon, wobei die mindestens eine Schutzschicht als Maske in diesem Strukturierungsprozess dient, wobei die Polymerschicht in einer Weise strukturiert wird, dass in der Polymerschicht eine Mikrostruktur gebildet wird, die mindestens einen Mikrokanal, ein Reservoir, ein Fluidreservoir oder eine Vertiefung umfasst, wobei der Mikrokanal, das Reservoir, das Fluidreservoir oder die Vertiefung an der Stelle der Ausnehmung der mindestens einen Schutzschicht gebildet wird und im Wesentlichen Polymermaterialwände hat; wobei die Strukturierung in einer Weise ausgeführt wird, dass ein erster Teil der Wände des Mikrokanals, des Reservoirs, des Fluidreservoirs oder der Vertiefung so gebildet ist, dass eine hydrophobe Oberfläche bereitgestellt wird, und ein zweiter Teil der Wände des Mikrokanals, des Reservoirs, des Fluidreservoirs oder der Vertiefung so gebildet ist, dass eine hydrophile Oberfläche bereitgestellt wird;
 (d) wobei die Mikrostruktur ein Mikrosystem zur Durchführung chemischer und/oder biologischer Analysen unter Verwendung elektrochemischer Fluideigenschaften bildet.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Mikrokanal im Wesentlichen parallel zu einer Schichtoberfläche gebildet ist und/oder mindestens ein Mikrokanal im Wesentlichen senkrecht zu einer Schichtoberfläche gebildet ist.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine der mindestens einen Schutzschicht aus einem elektrisch leitenden Material hergestellt ist.

4. Verfahren gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die elektrisch leitende Schutzschicht des Weiteren mit Leitungen zur Verbindung mit einer Quelle elektrischer Leistung versehen ist und die Mikrostruktur in einer Weise konstruiert ist, dass das elektrisch leitende Material als Elektrode verwendet werden kann.

5. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine der mindestens

einen Schutzschicht des Weiteren teilweise oder vollständig nach dem Strukturieren der Polymerschicht entfernt wird.

6. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere Mikrostrukturen gleichzeitig gebildet werden.

7. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der mehrschichtige Körper mit mehreren Polymerschichten hergestellt wird.

8. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikrokanal mit einer Dicke gebildet wird, die der gesamten Dicke von mindestens einer der Polymerschichten entspricht.

9. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikrostruktur in dem mehrschichtigen Körper unter Verwendung mehrerer Abtragungsschritte und/oder unter Verwendung verschiedener Atmosphären, einschliesslich Luft, Sauerstoff, Stickstoff, Wasserstoff, Argon oder Fluor geätzt wird, wobei die Atmosphärenzusammensetzung nicht auf diese Stoffe beschränkt ist.

10. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der mehrschichtige Körper mit Mitteln zum Zusammenfügen der Schichten in präzisen relativen Positionen für die gewünschte Ausrichtung der Mikrostruktur versehen ist.

11. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Bearbeiten der Polymerschicht mit dem abtragend wirkenden Verfahren mindestens eine zusätzliche Schicht dem mehrschichtigen Körper z.B. durch Laminieren, Ankleben, Druckanwendung und/oder Bindung nach der Behandlung mit einem Plasma hinzugefügt wird.

12. Verfahren gemäß Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die zusätzliche Schicht vor dem Hinzufügen zu dem mehrschichtigen Körper bereits eine oder mehrere Mikrostrukturen enthält.

13. Verfahren gemäß Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass die zusätzliche Schicht derart konstruiert ist, dass sie zum Abdecken der Mikrostruktur verwendet werden kann, so dass ein oder mehrere versiegelte Mikrokanäle mit mindestens einer Zugangsöffnung gebildet werden, welche mit den Mikrokanälen verbunden ist.

14. Verfahren gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere der versiegelten Mikrokanäle miteinander verbunden sind, um ein Netz mit-

einander verbundener Mikrokanäle zu bilden.

15. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Schichten versehen sind mit einer Schicht mit hydrophilen Oberflächen-Eigenschaften und mit einer Schicht mit hydrophoben Oberflächeneigenschaften.

16. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens zwei verschiedene Schichten gleichzeitig durch ein abtragend wirkendes Verfahren bearbeitet werden.

17. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Strukturieren der mindestens einen Schutzschicht zumindest teilweise mit Hilfe eines Computerdruckers erfolgt.

18. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberflächeneigenschaften mindestens einer Schicht des mehrschichtigen Körpers durch mindestens eine physikalische oder chemische Behandlung weiter modifiziert werden.

19. Verfahren gemäß Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass die weitere Modifikation der Oberflächeneigenschaften aus der Abscheidung eines Metalls resultiert oder aus einer Polymerisationsreaktion resultiert.

20. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass aufeinander folgende Abtragungsschritte zur Herstellung dreidimensionaler Merkmale in dem mehrschichtigen Körper verwendet werden, wobei die dreidimensionalen Merkmale vorzugsweise eine Mikrostruktur umfassen, die in der Form einer Spitze endet,

21. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass auf einen Abtragungsschritt eine Derivatisierung und/oder Immobilisierung von Material auf der geätzten Mikrostruktur oder den Mikrostrukturen folgt, indem der mehrschichtige Körper mit einer Lösung getränkt wird (pouring the multi layer body into a solution), die das gewünschte Reagenz für eine solche Derivatisierung und/oder Immobilisierung enthält.

22. Verfahren gemäß einem der vorangehenden Ansprüche zur Herstellung miteinander verbundener und/oder miteinander verbindbarer hohler und/oder massiver Mikrostrukturen in einem mehrschichtigen Körper, der durch einen Abtragungsprozess hergestellt wurde; wobei die Polymerschichten einzeln für einige oder für alle der Schichten gewählt werden oder wobei der Abtragungsprozess so gewählt wird, dass gewünschte Kern- (bulk) oder Oberflächeneigenschaften während des Abtragungsprozesses her-

gestellt oder beibehalten werden und/oder wobei einige Oberflächeneigenschaften erzielt werden durch einen folgenden Aktivierungsschritt der Oberfläche einiger oder aller Mikrostrukturen; so dass der mehrschichtige Körper miteinander verbundene und/oder miteinander verbindbare Mikrostrukturen mit teilweise unterschiedlichen physikalischen oder chemischen Oberflächeneigenschaften beziehungsweise Aktivitäten aufweist.

23. Mikrofluidische Vorrichtung, herzustellen mit einem Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, umfassend einen mehrschichtigen Körper mit einer Polymerschicht, wobei die Polymerschichten in einer Weise strukturiert ist, dass sie ein Mikrosystem zur Durchführung chemischer und/oder physikalischer Analysen unter Ausnutzung elektrochemischer Fluideigenschaften enthält, wobei das Mikrosystem mindestens einen Mikrokanal, ein Reservoir, ein Fluidreservoir oder eine Vertiefung in der Polymerschicht umfasst, wobei der Mikrokanal, das Reservoir, das Fluidreservoir oder die Vertiefung Wände im Wesentlichen aus Polymermaterial aufweisen, wobei ein erster Teil der Wände des Mikrokanals, des Reservoirs, des Fluidreservoirs oder der Vertiefung eine hydrophobe Oberfläche umfasst, und ein zweiter Teil der Wände des Mikrokanals, des Reservoirs, des Fluidreservoirs oder der Vertiefung eine hydrophile Oberfläche umfasst.

24. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß Anspruch 23, des Weiteren umfassend mindestens eine zusätzliche Schicht, die die Mikrostruktur bedeckt, so dass einer oder mehrere versiegelte Mikrokanäle mit mindestens einem Zugangsloch gebildet werden, das mit den Mikrokanälen verbunden ist.

25. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß Anspruch 23 oder 24, umfassend mindestens zwei Polymerschichten, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine der zwei Polymerschichten eine Oberfläche neben der anderen der zwei Substratschichten mit darauf gebildeten Mikrostrukturen umfasst, so dass mindestens einer der Mikrokanäle zwischen zwei Substratschichten gebildet ist, wobei der Mikrokanal eine Oberfläche mit Abschnitten mit unterschiedlichen chemischen und/oder physikalischen Oberflächeneigenschaften umfasst, wodurch ein Transport, eine Analyse oder Behandlung von Fluida in dem Mikrokanal möglich ist.

26. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 25, umfassend ein Netzwerk miteinander verbundener und/oder miteinander verbindbarer hohler und/oder massiver Mikrostrukturen mit teilweise verschiedenen physikalischen oder chemischen Oberflächeneigenschaften.

27. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass

eine elektrische Struktur derart ausgebildet ist, dass ein Fluid durch ein elektrisches Feld dislozierbar ist, das mit Hilfe der elektrischen Struktur erzeugt werden kann.

28. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass eine elektrische Struktur derart ausgebildet ist, dass geladene Partikel, wie Ionen, Moleküle, Zellen oder Viren, getrennt oder gemischt werden können, indem sie in einem elektrischen Feld disloziert werden, das mit Hilfe der elektrischen Struktur erzeugt werden kann.

29. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung eine elektrische Struktur aufweist, die durch die Schichten gebildet ist, wobei diese eine elektrisch isolierende Folie umfassen, die eine erste Polymerschicht bildet, und eine Laminierung, die eine zweite Polymerschicht bildet, und des Weiteren umfassend einen Mikrokanal, der zwischen der isolierenden Folie und der Laminierung angeordnet ist, wobei die Oberfläche zwischen dem Mikrokanal und der isolierenden Folie elektrisch geladen sein kann und andere Oberflächenabschnitte der isolierenden Folie vor einer elektrischen Ladung geschützt sein können.

30. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberflächenabschnitte von mindestens einer der Mikrostrukturen unterschiedliche Leitfähigkeiten, Reflektierbarkeiten, Rauigkeiten, Filterraten, eine unterschiedliche Wellung (corrugations) und/oder verschiedene Physisorptions- und/oder verschiedene Chemisorptionsraten für ein bestimmtes Material aufweisen.

31. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche von mindestens einem Teil der Polymerschicht in einer Weise gebildet ist, dass ein Molekül, wie ein Antigen, ein Antikörper, ein Enzym oder ein anderes Affinitätsreagenz, auf der Oberfläche immobilisiert wird, vorzugsweise entweder durch Physisorption, Chemisorption, kovalente Bindung oder ionische Bindung.

32. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 31, umfassend Mittel, die vorgesehen sind, um an ein analytisches System gekoppelt zu werden, wie einen Flüssigchromatographen, eine Kapillarelektrophoresevorrichtung, ein isoelektrisches Fokussiersystem, eine Größenunterscheidungsvorrichtung, ein Massenspektrometer oder dergleichen.

33. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass

die Vorrichtung entweder wie eine Elektrospray- oder eine Nanospray-Spitze geformt ist, oder als Sensor-spitze oder als Fluidspender.

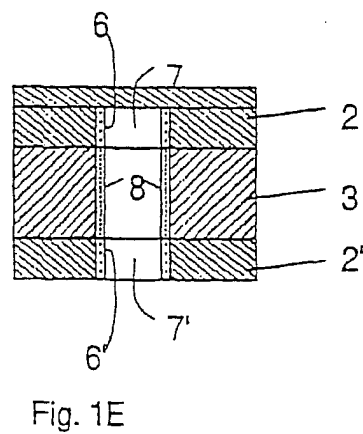
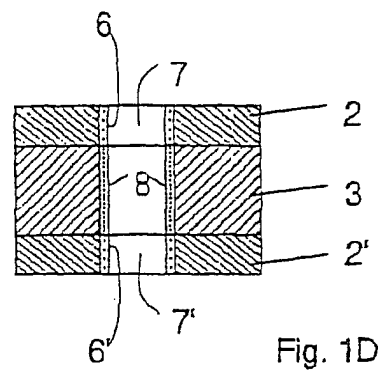
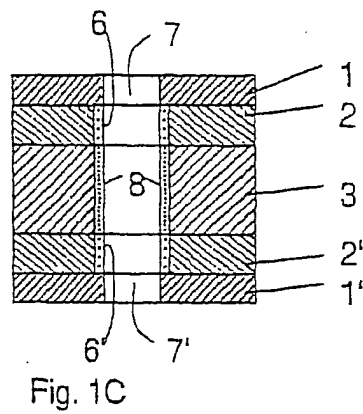
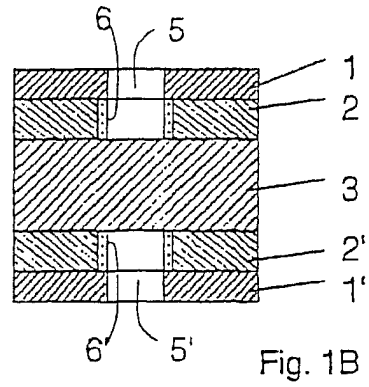
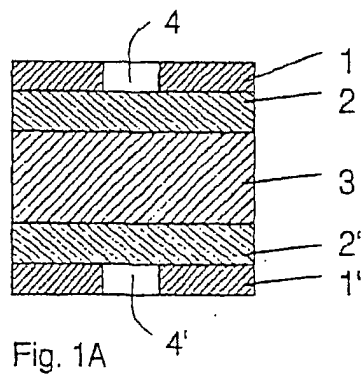
34. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung in einer Weise gebildet ist, dass mindestens ein Teil der Mikrostrukturen ein Medium aufnehmen kann, wobei das Medium ein Fluid, ein Feststoff oder ein Gel ist.

35. Mikrofluidische Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung in einer Weise gebildet ist, dass chemische und/oder biologische Tests, wie z.B. immunologische Tests, enzymatische Tests oder zelluläre Tests, durchgeführt werden können.

36. Verwendung einer mikrofluidischen Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 23 bis 35, die nach einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 22 hergestellt wurde, zur Durchführung chemischer und/oder biologischer Tests vorzugsweise in Lösung und insbesondere in Verbindung mit Synthese, und/oder zur Durchführung chemischer und/oder biologischer Analysen besonders in Verbindung chemischer und/oder biologischer Tests und/oder Trennungstechniken, wie Elektrophorese, Chromatographie, Massenspektrometrie und so weiter.

Es folgen 10 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



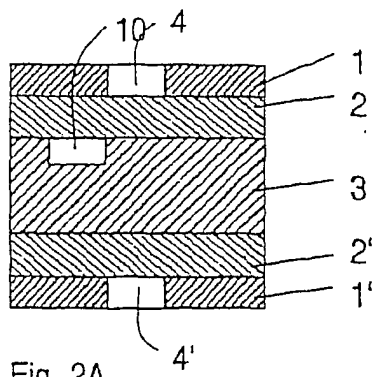


Fig. 2A

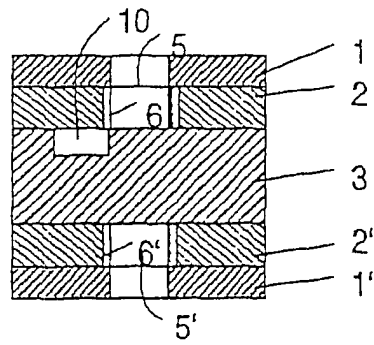


Fig. 2B

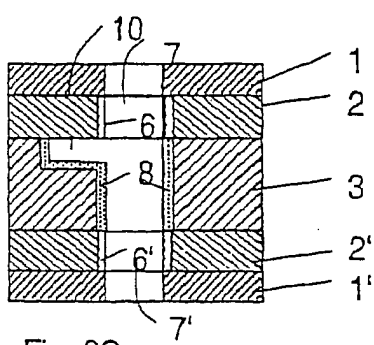


Fig. 2C

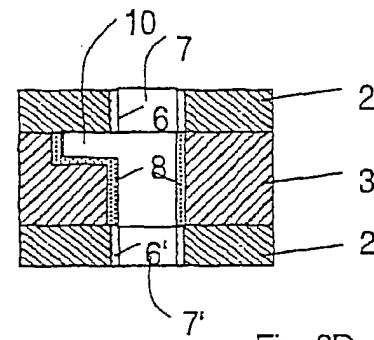


Fig. 2D

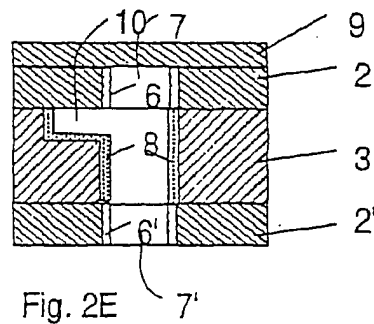


Fig. 2E

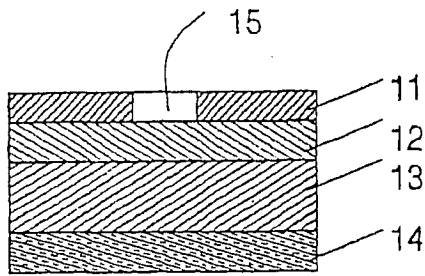


Fig. 3A

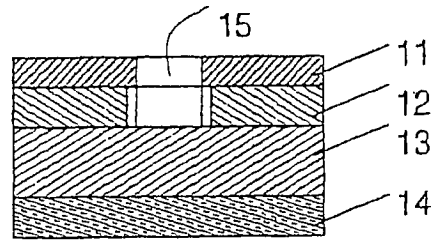


Fig. 3B

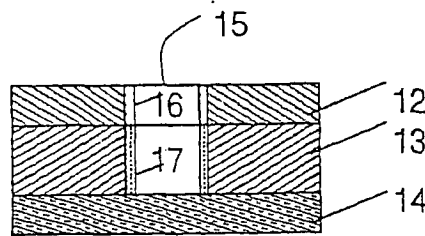


Fig. 3C

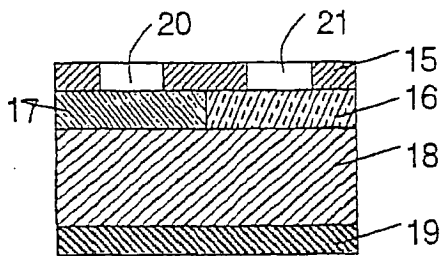


Fig. 4A

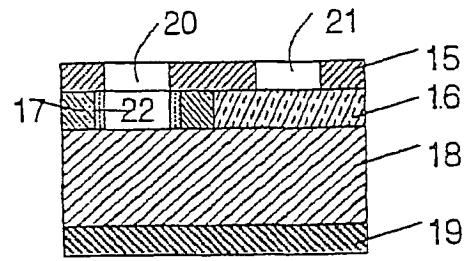


Fig. 4B

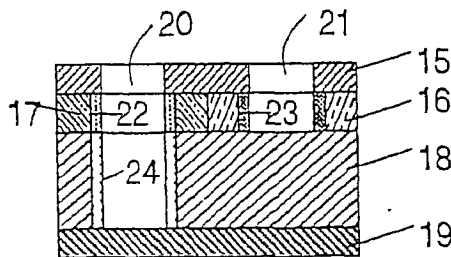


Fig. 4C

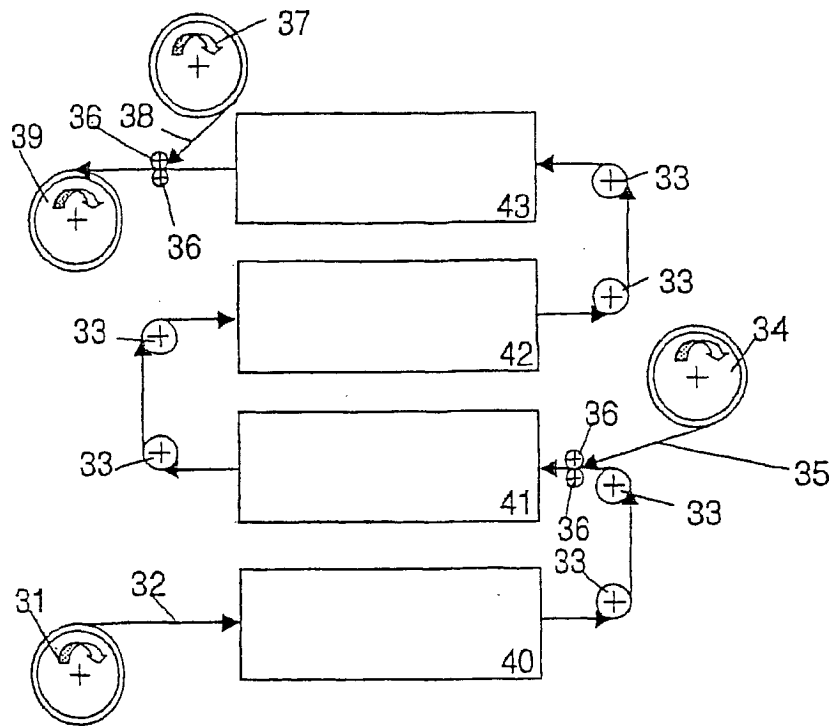


Fig. 5

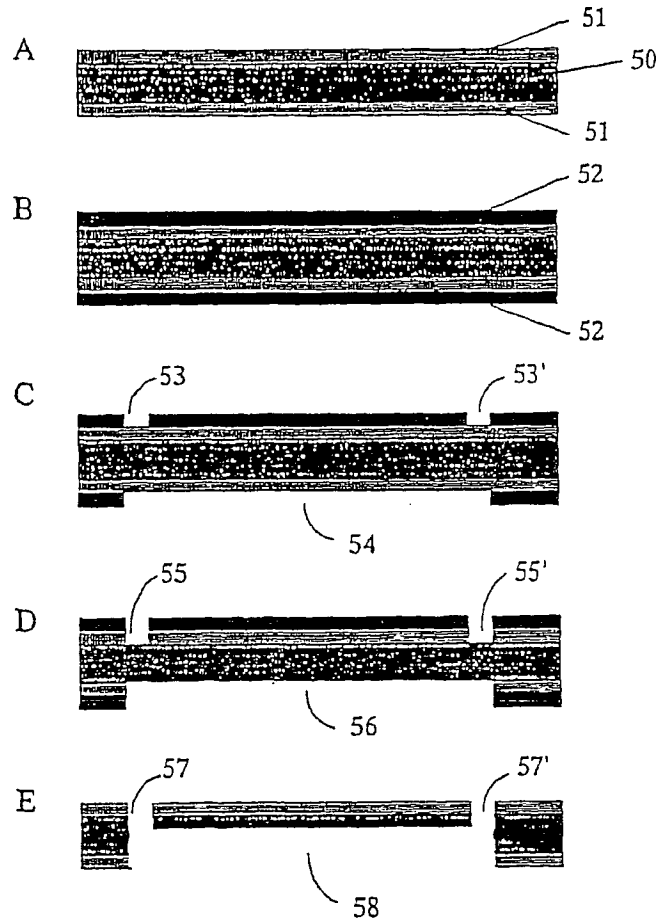


Fig 6

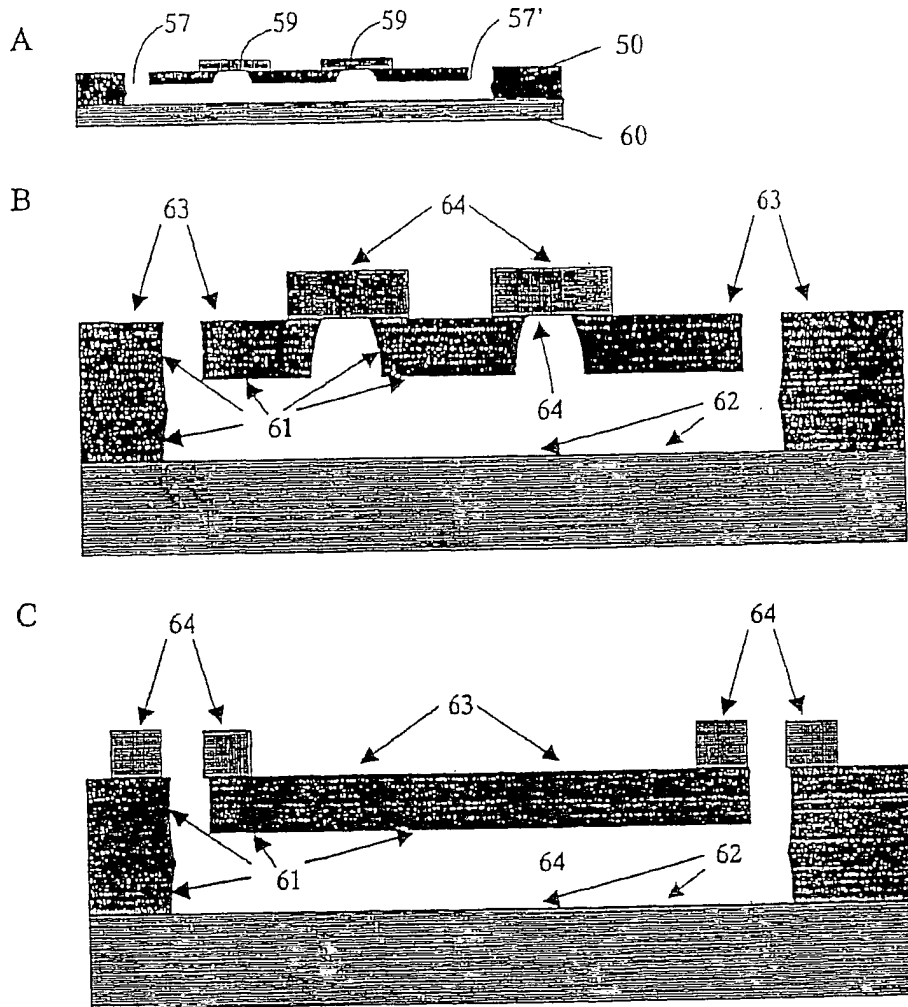


Fig. 7

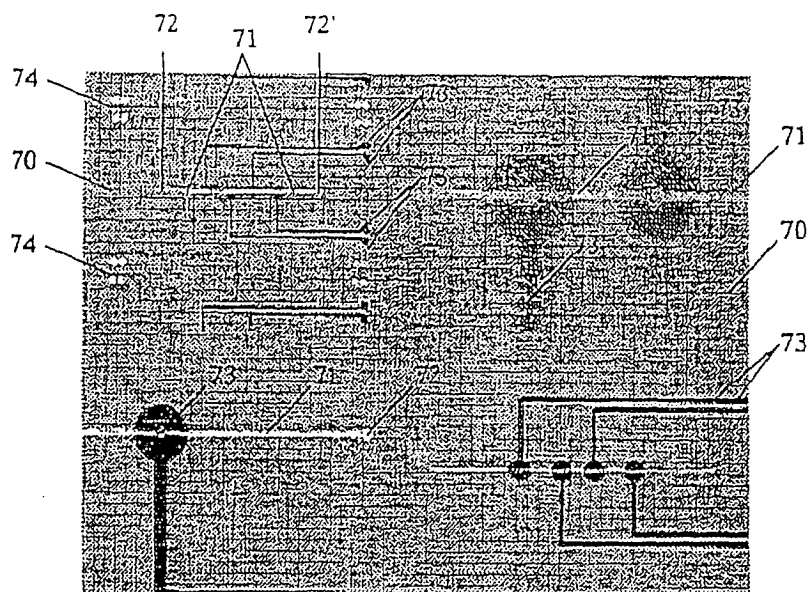


Fig. 8

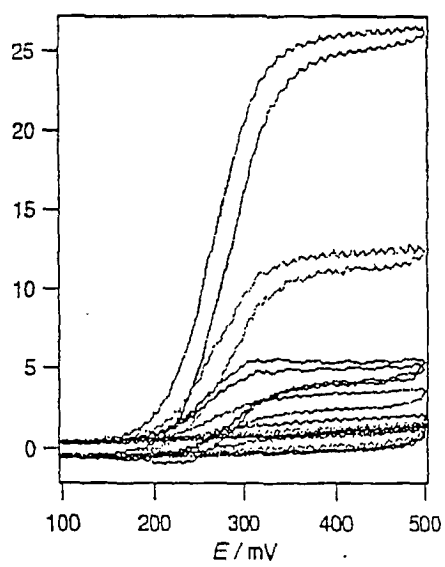


Fig. 9A

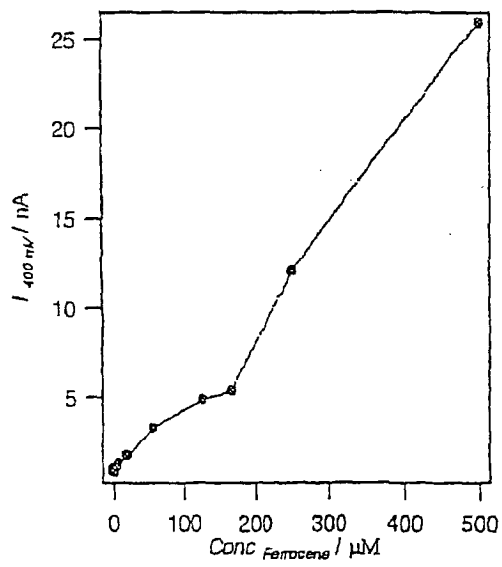


Fig. 9B

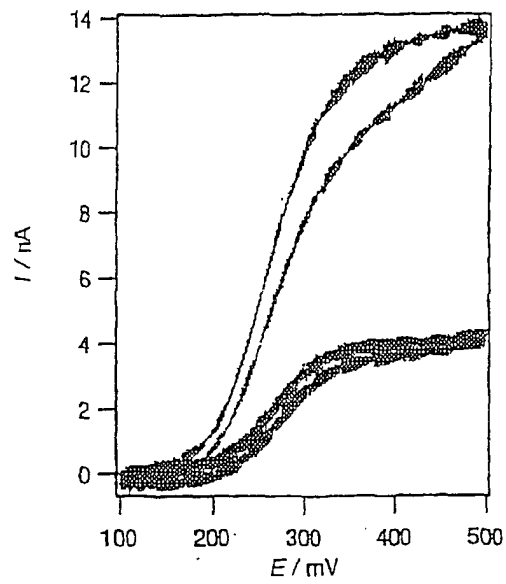


Fig. 10

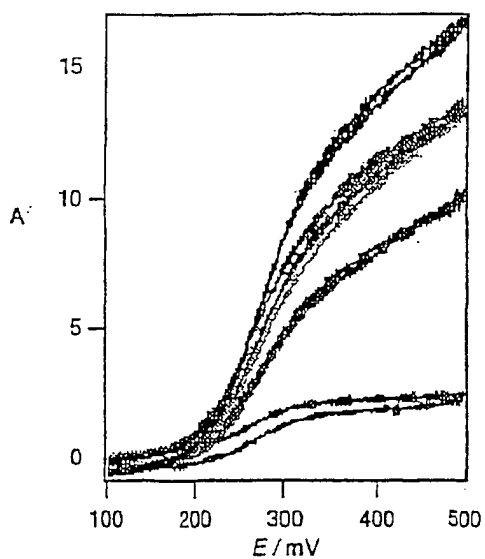


Fig. 11A

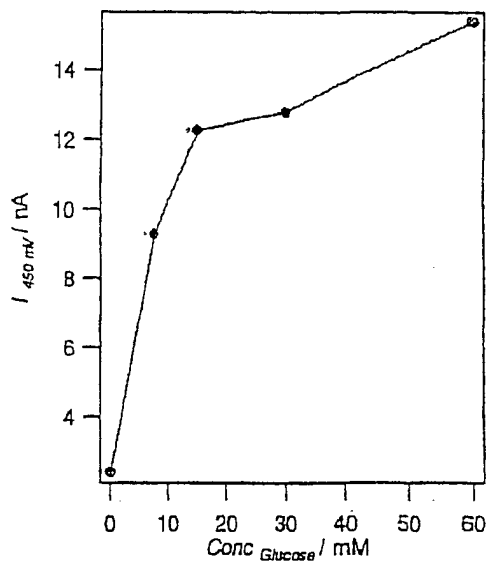


Fig. 11B

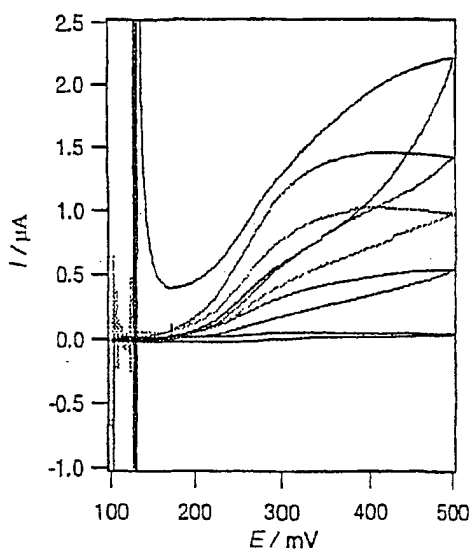


Fig. 12A

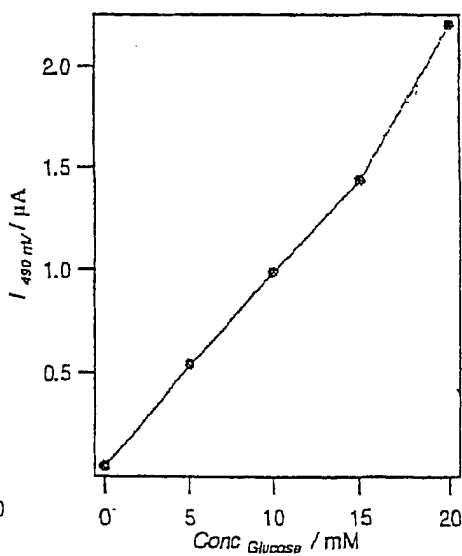


Fig. 12B

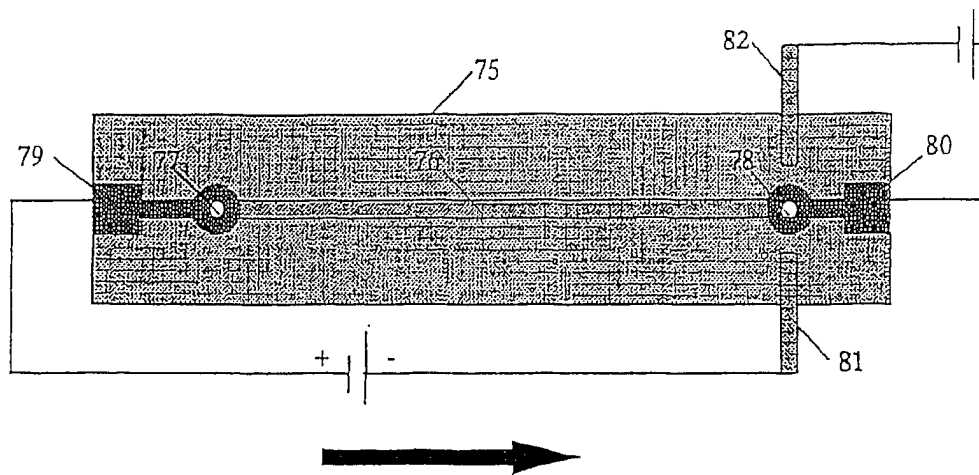


Fig. 13

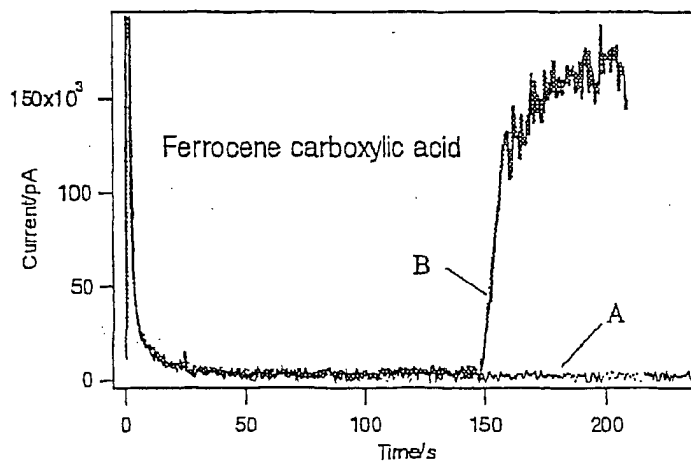


Fig. 14