



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

B01L 3/00 (2019.08); G01N 33/48 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2017135317, 02.04.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.04.2016

Дата регистрации:
29.01.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
03.04.2015 US 62/142,858

(43) Дата публикации заявки: 08.04.2019 Бюл. № 10

(45) Опубликовано: 29.01.2020 Бюл. № 4

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 05.10.2017

(86) Заявка РСТ:
US 2016/025785 (02.04.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/161400 (06.10.2016)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

ХАФФ, Джеффри Б. (US),
ХЕЙДЕН, Марк, А. (US),
КАРАБАТСОС, Питер Дж. (US),
ФИШЕР, Эндрю (US),
РОБИНСОН, Джон М. (US),
ХОЛЕТС-МАККОРМАК, Шелли Р. (US),
ЛОРЕНСОН, Софи (CH)

(73) Патентообладатель(и):

ЭББОТТ ЛЭБОРЕТРИЗ (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 2014291152 A1, 02.10.2014. EP
2825501 A1, 21.01.2015. US 7591936 B2,
22.09.2009. US 8895292 B2, 25.11.2014.

(54) УСТРОЙСТВА И СПОСОБЫ ДЛЯ АНАЛИЗА ОБРАЗЦА

(57) Реферат:

Раскрыты интегрированные устройства, которые содержат компонент подготовки образца, интегрированный с компонентом обнаружения. Компонент подготовки образца может представлять собой цифровой микрожидкостный модуль или модуль поверхностных акустических волн, причем эти модули используют для объединения капли образца с каплей реактивов и для выполнения дополнительной стадии подготовки образца,

ведущей к капле, которая содержит бусины/частицы/метки, которые указывают на присутствие или отсутствие анализируемого вещества, представляющего интерес, в образце. Бусины/частицы/метки можно обнаруживать посредством перемещения капли в компонент обнаружения в устройстве, этот компонент обнаружения содержит массив лунок. 15 н. и 191 з.п. ф-лы, 30 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

B01L 3/00 (2019.08); **G01N 33/48** (2019.08)(21)(22) Application: **2017135317, 02.04.2016**(24) Effective date for property rights:
02.04.2016Registration date:
29.01.2020

Priority:

(30) Convention priority:
03.04.2015 US 62/142,858(43) Application published: **08.04.2019 Bull. № 10**(45) Date of publication: **29.01.2020 Bull. № 4**(85) Commencement of national phase: **05.10.2017**(86) PCT application:
US 2016/025785 (02.04.2016)(87) PCT publication:
WO 2016/161400 (06.10.2016)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B.Spaskaya, 25, stroenie 3,
OOO "Yuridicheskaya firma Gorodisskij i
Partnery"**

(72) Inventor(s):

**KHAFF, Dzheffri B. (US),
KHEJDEN, Mark, A. (US),
KARABATSOS, Piter Dzh. (US),
FISHER, Endryu (US),
ROBINSON, Dzhon M. (US),
KHOLETS-MAKKORMAK, Shelli R. (US),
LORENSON, Sofi (CH)**

(73) Proprietor(s):

EBBOTT LEBORETRIZ (US)(54) **DEVICES AND METHODS FOR SAMPLE ANALYSIS**

(57) Abstract:

FIELD: physical and chemical processes.

SUBSTANCE: disclosed are integrated devices which contain a sample preparation component integrated with the detection component. Sample preparation component can be a digital micro-liquid module or surface acoustic wave module, wherein these modules are used to combine the sample droplets with a drop of reactants and to perform an additional step of preparing the sample leading to the droplet, which

contains beads / particles / labels, which indicate presence or absence of the analysed substance of interest in the sample.

EFFECT: beads / particles / marks can be detected by moving a droplet into a detection component in a device, this detection component comprises an array of holes.

206 cl, 30 dwg

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По данной заявке испрашивается приоритет предварительной патентной заявки США № 62/142,858, поданной 3 апреля 2015 года, каковая заявка включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ВВЕДЕНИЕ

[0002] Анализ анализируемого вещества обычно выполняют посредством осуществления стадии подготовки образца, которую выполняют или вручную, или с использованием сложных роботов. После подготовки образца, анализ анализируемого вещества в подготовленном образце дополнительно включает использование дорогостоящих и сложных систем для транспортировки подготовленного образца в машину, которая затем выполняет анализ анализируемого вещества в подготовленном образце.

[0003] Интегрированные устройства, которые можно использовать для того, чтобы подготавливать образец и анализировать подготовленный образец, очень желательны в области анализа анализируемого вещества. Такие интегрированные устройства будут предлагать малозатратный вариант и значительно повышать простоту выполнения анализа анализируемого вещества, в частности, в клинических применениях, таких как применения в месте предоставления медицинских услуг.

[0004] Следовательно, присутствует интерес к интегрированным устройствам для осуществления анализа анализируемого вещества.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Раскрыто интегрированное микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство. Также в настоящем описании предоставлены образцовые способы использования интегрированного микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства и связанных систем.

[0006] Раскрыто цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, содержащее первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, первая подложка содержит множество электродов для того, чтобы генерировать электрические приводящие в движение силы на капельке жидкости; и массив лунок, имеющий такие размеры, чтобы удерживать часть капельки жидкости, где по меньшей мере часть массива лунок располагают между одним или несколькими из множества электродов и зазором.

[0007] В некоторых вариантах осуществления множество электродов располагают на поверхности первой подложки. В некоторых вариантах осуществления устройство дополнительно содержит первый слой, расположенный на поверхности первой подложки и покрывающий множество электродов. В некоторых вариантах осуществления первая подложка содержит первую часть, в которую вводят капельку жидкости, и вторую часть, в направлении которой перемещают капельку жидкости. В некоторых вариантах осуществления множество электродов и первый слой проходят от первой части ко второй части первой подложки. В некоторых вариантах осуществления массив лунок располагают во второй части первой подложки. В некоторых вариантах осуществления вторая подложка содержит первую часть и вторую часть, где первая часть расположена обращенной к первой части первой подложки, и вторая часть расположена обращенной к массиву лунок. В некоторых вариантах осуществления вторая часть второй подложки является по существу прозрачной для того, чтобы содействовать оптическому опросу массива лунок.

[0008] В некоторых вариантах осуществления устройство дополнительно содержит второй слой, расположенный на поверхности первого слоя. В некоторых вариантах

осуществления второй слой идет поверх первой и второй частей первой подложки. В некоторых вариантах осуществления первый слой представляет собой диэлектрический слой и второй слой представляет собой гидрофобный слой. В некоторых вариантах осуществления массив лунок располагают во втором слое. В некоторых вариантах осуществления массив лунок располагают в первом слое. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

[0009] В некоторых вариантах осуществления массив лунок содержит боковую стенку, которая ориентирована для того, чтобы содействовать приему и удержанию бусин или частиц, присутствующих в каплях, перемещаемых по массиву лунок. В некоторых вариантах осуществления массив лунок содержит первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где первая боковая стенка ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и где вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет усеченную коническую форму, причем более узкая часть усеченной конической формы предусматривает отверстие массива лунок. В некоторых вариантах осуществления массив лунок содержит первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где верхняя часть первой боковой стенки ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и нижняя часть боковой стенки ориентирована перпендикулярно дну лунок и где вторая боковая стенка ориентирована перпендикулярно дну лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке, где верхняя часть первой боковой стенки находится в отверстии лунок.

[0010] Также раскрыто цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит первую подложку и вторую подложку, определяющие устройство, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, где устройство содержит первую часть и вторую часть; и первая часть содержит множество электродов для того, чтобы исполнять объединение первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, из биологического образца и второй капли жидкости, содержащей по меньшей мере одну бусину; и вторая часть содержит массив лунок имеющий такие размеры, чтобы удерживать часть капли жидкости.

[0011] В некоторых вариантах осуществления множество электродов располагают только в первой части устройства. В некоторых вариантах осуществления множество электродов располагают на поверхности первой подложки. В некоторых вариантах осуществления устройство дополнительно содержит первый слой, расположенный на поверхности первой подложки и покрывающий множество электродов. В некоторых вариантах осуществления первая подложка содержит первую часть, в которую вводят капли жидкости, и вторую часть, в направлении которой перемещают каплю жидкости. В некоторых вариантах осуществления множество электродов и первый слой проходят от первой части ко второй части первой подложки. В некоторых вариантах осуществления массив лунок располагают во второй части первой подложки.

[0012] В некоторых вариантах осуществления вторая подложка содержит первую часть и вторую часть, где первая часть расположена обращенной к первой части первой подложки и вторая часть расположена обращенной к массиву лунок.

[0013] В некоторых вариантах осуществления вторая часть второй подложки является по существу прозрачной для того, чтобы содействовать оптическому опросу массива лунок. В некоторых вариантах осуществления множество электродов выполнены с

возможностью перемещать капельку, помещенную в зазоре, в направлении второй части устройства, устройство содержит капиллярную часть, по текучей среде соединяющую первую часть со второй частью, где капилляр содержит гидрофильный материал для того, чтобы содействовать движению капельки от первой части ко второй части через капиллярную часть в отсутствии электрической силы.

[0014] В некоторых вариантах осуществления устройство дополнительно содержит второй слой, расположенный на верхней поверхности первого слоя. В некоторых вариантах осуществления второй слой идет по первой подложке. В некоторых вариантах осуществления первый слой представляет собой диэлектрический слой и второй слой представляет собой гидрофобный слой.

[0015] В некоторых вариантах осуществления множество лунок располагают во втором слое. В некоторых вариантах осуществления массив лунок располагают в первом слое. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность. В некоторых вариантах осуществления лунки содержат боковую стенку, которая ориентирована для того, чтобы содействовать приему и удержанию нанобусин или наночастиц, присутствующих в каплях, перемещаемых по массиву лунок. В некоторых вариантах осуществления лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где первая боковая стенка ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и где вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке. В некоторых вариантах осуществления лунки имеют усеченную коническую форму, причем более узкая часть усеченной конической формы предусматривает отверстие лунок. В некоторых вариантах осуществления лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где верхняя часть первой боковой стенки ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и нижняя часть боковой стенки ориентирована перпендикулярно дну лунок и где вторая боковая стенка ориентирована перпендикулярно дну лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке, где верхняя часть первой боковой стенки находится в отверстии лунок.

[0016] Также в настоящем описании описано поверхностное акустическое волновое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, содержащее первую подложку и вторую подложку, в котором вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, где устройство содержит первую часть и вторую часть, первая часть содержит вышележащий слой, соединенный с генерирующим поверхностные акустические волны компонентом; и вторая часть содержит множество лунок, расположенных на первой подложке или второй подложке.

[0017] В некоторых вариантах осуществления вышележащий слой содержит фоновые структуры на верхней поверхности вышележащего слоя. В некоторых вариантах осуществления вышележащий слой перекрывает пьезоэлектрический кристаллический слой. В некоторых вариантах осуществления вторая подложка является по существу прозрачной.

[0018] Также в настоящем описании описано поверхностное акустическое волновое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, содержащее первую подложку и вторую подложку, в котором вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, первая подложка содержит множество лунок и вторая подложка содержит фоновую структуру, где множество лунок и фоновые структуры располагают напротив друг друга.

[0019] В некоторых вариантах осуществления вторая подложка представляет собой вышележащий слой. В некоторых вариантах осуществления вышележащий слой располагают на второй подложке и фононную структуру располагают на вышележащем слое. В некоторых вариантах осуществления первая подложка, вторая подложка и

5 вышележащий слой по существу прозрачны.

[0020] Также раскрыты способы обнаружения или измерения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости. В некоторых вариантах осуществления способ включает стадии предоставления первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, предоставления второй

10 капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй капельки жидкости для того, чтобы создавать смесь,

15 перемещения всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель, добавления поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок и обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

[0021] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок. В

25 некоторых вариантах осуществления способ включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых

30 вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка включает хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

[0022] В некоторых вариантах осуществления используемая энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу. В некоторых вариантах осуществления электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией,

40 центрифугированием или всасыванием. В некоторых вариантах осуществления акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

[0023] В некоторых вариантах осуществления генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока. В некоторых вариантах осуществления переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или

45 больше. В некоторых других вариантах осуществления переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

[0024] В некоторых вариантах осуществления первая капелька жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капелька жидкости представляет собой

поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

[0025] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает
5 расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием электрической приводящей в движение силы. В некоторых других вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с
возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

[0026] В некоторых вариантах осуществления носители представляют собой
10 магнитные твердые носители. В некоторых других вариантах осуществления, когда используют магнитные твердые носители, электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно
15 включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей. В некоторых вариантах осуществления смесь представляет собой водную жидкость. В некоторых других вариантах осуществления смесь представляет собой несмешиваемую жидкость. В некоторых других вариантах
20 осуществления капелька жидкости представляет собой капельку гидрофобной жидкости. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность. В некоторых других вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофобную поверхность. В некоторых вариантах осуществления подложка содержит гидрофильную поверхность. В некоторых других вариантах осуществления подложка содержит
25 гидрофобную поверхность. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок для того, чтобы закупоривать загруженные лунки.

[0027] В некоторых вариантах осуществления одну или несколько лунок массива
30 загружают по меньшей мере одним твердым носителем. В некоторых других вариантах осуществления загрузка включает приложение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива. В некоторых других вариантах осуществления способ дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают
35 в лунку массива, после загрузки. В некоторых других вариантах осуществления удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок. В некоторых других вариантах
40 осуществления удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

[0028] В некоторых вариантах осуществления способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF),
45 микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

[0029] В других вариантах осуществления способ включает стадии предоставления первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, предоставления второй капли жидкости, содержащей поддающуюся обнаружению метку, которая содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, использования энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости и второй каплей жидкости для того, чтобы создавать смесь, перемещения всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок и обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

[0030] В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка включает хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

[0031] В некоторых вариантах осуществления используемая энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу. В некоторых вариантах осуществления электрическая приводящая в движение сила является приведением капли в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием. В некоторых вариантах осуществления акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

[0032] В некоторых вариантах осуществления генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока. В некоторых вариантах осуществления переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше. В некоторых других вариантах осуществления переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

[0033] В некоторых вариантах осуществления первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капли жидкости, так и второй капли жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

[0034] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием электрической приводящей в движение силы. В некоторых других вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

[0035] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей. В некоторых вариантах осуществления смесь представляет собой водную жидкость. В некоторых других вариантах осуществления смесь представляет собой несмешиваемую жидкость. В некоторых других вариантах осуществления капля жидкости представляет собой каплю гидрофобной жидкости. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность. В некоторых других вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофобную поверхность. В некоторых вариантах осуществления подложка содержит гидрофильную поверхность. В некоторых других вариантах осуществления подложка содержит гидрофобную поверхность. В

некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок для того, чтобы закупоривать загруженные лунки.

5 [0036] В некоторых вариантах осуществления одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одной поддающейся обнаружению меткой. В некоторых других вариантах осуществления удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы
10 перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок. В некоторых других вариантах осуществления удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

[0037] В некоторых вариантах осуществления способ осуществляют с использованием
15 микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

20 [0038] В других вариантах осуществления способ включает стадии измерения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капле жидкости, способ включает предоставление первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, предоставление второй капли жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит специфический
25 связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй жидкости для того, чтобы создавать смесь, перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера
30 для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель, добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок и измерение поддающейся обнаружению метки в лунках.

[0039] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически
35 связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив
40 лунок. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка включает хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или
45 радиоактивное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

[0040] В некоторых вариантах осуществления используемая энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу. В некоторых

вариантах осуществления электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием. В некоторых вариантах осуществления акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

[0041] В некоторых вариантах осуществления генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока. В некоторых вариантах осуществления переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше. В определенных других вариантах осуществления переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

[0042] В некоторых вариантах осуществления первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капли жидкости, так и второй капли жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

[0043] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием электрической приводящей в движение силы. В определенных других вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

[0044] В некоторых вариантах осуществления носители представляют собой магнитные твердые носители. В определенных других вариантах осуществления, когда используют магнитные твердые носители, электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси.

[0045] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

[0046] В некоторых вариантах осуществления смесь представляет собой водную жидкость. В определенных других вариантах осуществления смесь представляет собой несмешиваемую жидкость. В определенных других вариантах осуществления капля жидкости представляет собой каплю гидрофобной жидкости. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность. В определенных других вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофобную поверхность. В некоторых вариантах осуществления подложка содержит гидрофильную поверхность. В определенных других вариантах осуществления подложка содержит гидрофобную поверхность. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок для того, чтобы закупоривать загруженные лунки.

[0047] В некоторых вариантах осуществления одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем. В определенных других вариантах осуществления загрузка включает приложение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива. В определенных других вариантах осуществления способ

дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки. В определенных других вариантах осуществления удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого

5 текучего вещества в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок. В определенных других вариантах осуществления удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

10 [0048] В некоторых вариантах осуществления способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или

15 роботизированной технологической установки для анализов.

[0049] В некоторых вариантах осуществления измерение включает определение общего числа твердых носителей в лунках массива. В некоторых вариантах осуществления измерение включает определение числа твердых носителей в лунках массива, которые содержат поддающуюся обнаружению метку. В некоторых вариантах

20 осуществления измерение включает вычитание числа твердых носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, из общего числа твердых носителей в лунках массива для того, чтобы определять число твердых носителей в лунках массива, которые не содержат какую-либо поддающуюся обнаружению метку. В некоторых вариантах осуществления измерение включает определение соотношения твердых

25 носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, и числа твердых носителей, которые не содержат какую-либо поддающуюся обнаружению метку.

[0050] Также в настоящем описании описан способ загрузки лунок частицами, который включает генерацию электрического поля с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку жидкости, содержащую микрочастицы,

30 в массив лунок, где одна или несколько лунок массива лунок выполнены достаточного размера, чтобы загружать в них частицу; загрузку одной или нескольких лунок частицей; и генерацию электрического поля с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы закупоривать массив лунок.

35 [0051] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение капельки жидкости по массиву лунок с использованием электрического поля. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение капельки жидкости по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению капельки жидкости

40 в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления частица представляет собой магнитную бусину. В некоторых вариантах осуществления загрузка включает приложение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению одной или нескольких магнитных бусин в одну или несколько лунок массива. В некоторых вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность. В некоторых

45 вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофобную поверхность. В некоторых вариантах осуществления генерация электрического поля включает генерацию переменного тока. В некоторых вариантах осуществления переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше. В некоторых вариантах

осуществления переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

[0052] Также в настоящем описании описан способ формирования цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, включающий разворачивание первого рулона, содержащего первую подложку, чтобы
5 располагать первую часть первой подложки в первом положении; формирование множества электродов на первой части первой подложки в первом положении; и формирование массива лунок на второй части первой подложки во втором положении.

[0053] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает разворачивание первого рулона для того, чтобы располагать вторую часть смежно с
10 первой частью первой подложки во втором положении перед формированием массива лунок. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает разворачивание второго рулона, содержащего вторую подложку, для того, чтобы располагать третью часть третьей подложки в третьем положении; и скрепление второй подложки с первой подложкой в третьем положении таким образом, который достаточен
15 для того, чтобы располагать вторую подложку на расстоянии от первой подложки.

[0054] Также в настоящем описании описан способ формирования интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, включающий разворачивание первого рулона, содержащего первую подложку, чтобы
20 располагать первую часть первой подложки в первом положении; формирование множества электродов на первой части первой подложки в первом положении; разворачивание второго рулона, содержащего вторую подложку, чтобы располагать вторую часть второй подложки во втором положении; формирование массива лунок на второй части во втором положении; и скрепление второй подложки с первой подложкой таким образом, который достаточен для того, чтобы располагать вторую
25 подложку на расстоянии от первой подложки; и расположение второй части поверх первой части или поверх третьей части смежно с первой частью первой подложки, где массив лунок обращен к первой подложке.

[0055] В некоторых вариантах осуществления формирование массива лунок включает использование тепловой или ультрафиолетовой наноимпринтной литографии, наноимпринтного валика, лазерной абляции или посредством скрепления
30 предварительно изготовленной подложки, содержащей массив лунок, с первой частью первой подложки. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает воздействие на первую подложку интенсивным теплом, давлением или ультрафиолетовым светом для того, чтобы формировать фононные структуры на или
35 в первой подложке с использованием формы.

[0056] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает нанесение гидрофобного и/или диэлектрического материала на электроды серии с использованием печатного устройства. В некоторых вариантах осуществления гидрофобный и/или диэлектрический материал содержит отверждающий материал. В
40 некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает применение тепла или ультрафиолетового света для того, чтобы отверждать нанесенный гидрофобный и/или диэлектрический материал. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает нарезку первой и второй подложек для того, чтобы создавать скрепленные подложки, которые содержат первые и вторые части.

[0057] Также в настоящем описании описаны способы обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, которые включают
45 предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес; предоставление второй капельки жидкости, содержащей

специфический связывающий элемент и меченое анализируемое вещество, где связывающий элемент иммобилизуют по меньшей мере на одном твердом носителе, специфический связывающий элемент специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и меченое анализируемое вещество представляет собой анализируемое вещество, представляющее интерес, меченое поддающейся обнаружению меткой; использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости для того, чтобы создавать смесь; и перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель.

[0058] Также в настоящем описании описаны способы обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капле жидкости, которые включают предоставление первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес; предоставление второй капли жидкости, содержащей иммобилизованное анализируемое вещество и по меньшей мере один специфический связывающий элемент, где иммобилизованное анализируемое вещество представляет собой анализируемое вещество, представляющее интерес, иммобилизованное по меньшей мере на одном твердом носителе, по меньшей мере один специфический связывающий элемент специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и по меньшей мере один специфический связывающий элемент метят поддающейся обнаружению меткой; использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости для того, чтобы создавать смесь; перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель; и обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР ЧЕРТЕЖЕЙ

[0059] На фиг. 1А проиллюстрирован вид сбоку интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства в соответствии с одним из вариантов осуществления.

[0060] На фиг. 1В проиллюстрирован вид сбоку интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства в соответствии с другим вариантом осуществления.

[0061] На фиг. 2А проиллюстрирован вид сбоку интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства в соответствии с одним из вариантов осуществления.

[0062] На фиг. 2В проиллюстрирован вид сбоку интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства в соответствии с другим вариантом осуществления.

[0063] На фиг. 3А проиллюстрирован вид сбоку устройства с фиг. 2А с каплей жидкости, перемещаемой в устройство.

[0064] На фиг. 3В проиллюстрирован вид сбоку устройства с фиг. 2В с каплей, перемещаемой в устройство.

[0065] На фиг. 4А проиллюстрирован вид сбоку устройства с фиг. 2А с каплей, содержащей частицы/бусины, которую перемещают на массив лунок.

[0066] На фиг. 4В проиллюстрирован вид сбоку устройства с фиг. 2В с каплей, содержащей частицы/бусины, которую перемещают на массив лунок, с использованием

капельки несмешиваемого текучего вещества.

[0067] На фиг. 5 проиллюстрирована водная капелька, которую перемещают по массиву лунок с использованием гидрофильного капиллярного участка устройства.

5 [0068] На фиг. 6 проиллюстрирована водная капелька, которую перемещают по массиву лунок.

[0069] На фиг. 7А-7В проиллюстрированы различные образцовые ориентации боковых стенок лунок.

10 [0070] На фиг. 8 проиллюстрирован пример изготовления второй (например, нижней) подложки цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства.

[0071] На фиг. 9 проиллюстрирован пример изготовления первой (например, верхней) подложки цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства.

15 [0072] На фиг. 10 проиллюстрирован пример сборки верхней и нижней подложек для производства множества цифровых микрожидкостных и обнаруживающих анализируемое вещество устройств.

[0073] На фиг. 11А и фиг. 11В представлен вид сверху нижней подложки образцовых цифровых микрожидкостных и обнаруживающих анализируемое вещество устройств по настоящему раскрытию.

20 [0074] На фиг. 12А-12D проиллюстрированы примеры изготовления массива лунок в интегрированном цифровом микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве.

25 [0075] На фиг. 13А проиллюстрирован вид сбоку одного из вариантов осуществления поверхностного акустического компонента интегрированного микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства и массива лунок.

[0076] На фиг. 13В проиллюстрирован вид сбоку другого варианта осуществления поверхностного акустического компонента интегрированного микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства и массива лунок.

30 [0077] На фиг. 14А-14В проиллюстрирован пример изготовления компонента подготовки образца и компонента массив лунок.

[0078] На фиг. 15 изображен образцовый способ по настоящему раскрытию.

[0079] На фиг. 16 проиллюстрирован образцовый способ удаления бусин, не расположенных в лунках изображенного устройства.

35 [0080] На фиг. 17 проиллюстрирован другой образцовый способ удаления бусин, не расположенных в лунках изображенного устройства.

[0081] На фиг. 18 изображена схема процесса изготовления дешевого DMF чипа.

[0082] На фиг. 19 изображен единый гибкий чип, изготовленный в соответствии со схемой на фиг. 18.

40 [0083] На фиг. 20 изображено приведение капелек в движение в DMF чипе, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0084] На фиг. 21А-21Е изображено выполнение иммунологического анализа в DMF чипе, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

45 [0085] На фиг. 22А и 22В представлены схематические изображения, показывающие конструкцию и способ изготовления DMF чипов с верхним электродом и массива лунок в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0086] На фиг. 23 представлено схематическое изображение конструкции лунки в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0087] На фиг. 24А и 24В представлены схематические изображения, показывающие

форматы разнесения лунок, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0088] На фиг. 25 представлена совокупность увеличенных оптических изображений массива лунок в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0089] На фиг. 26 представлено схематическое изображение, показывающее сборку интегрированного DMF-луночного устройства из DMF чипа с верхним электродом и массива лунок, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0090] На фиг. 27A-27G представлена совокупность схематических изображений, показывающих иммунологический анализ, выполняемый на интегрированном DMF-луночном устройстве, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0091] На фиг. 28 представлено схематическое изображение иммунологического сэндвич-анализа на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), сопряженного с цифровым флуоресцентным обнаружением в массиве лунок, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0092] На фиг. 29 представлена схема, показывающая компоненты для DMF-направляемой верхней загрузки микрочастиц в массив лунок, в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

[0093] На фиг. 30A-30D представлена совокупность схематических изображений, показывающих стадии иммунологического анализа на тиреостимулирующий гормон (TSH) с использованием интегрированного DMF-луночного устройства в соответствии с вариантами осуществления по настоящему раскрытию.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0094] Раскрыто интегрированное микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство. Также в настоящем описании предоставлены образцовые способы использования интегрированного микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства и связанных систем.

[0095] Прежде чем настоящее изобретение описать более подробно, следует понимать, что это изобретение не ограничено конкретным описанным вариантом осуществления и по существу можно, конечно, варьировать. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем описании, служит только цели описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена в качестве ограничения, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только приложенной формулой изобретения.

[0096] Следует отметить, что, как используют в настоящем описании и в приложенной формуле изобретения, формы единственного числа включают множественное число до тех пор, пока контекст явно не диктует иное. Таким образом, например, упоминание об «электроде» включает множество таких электродов и упоминание о «лунке» включает упоминание об одной или нескольких лунках и их эквивалентах, известных специалистам в данной области, и так далее.

[0097] Все публикации, отмеченные в настоящем описании, включены в настоящий документ посредством ссылки для того, чтобы раскрывать и описывать способы и/или материалы, в связи с которыми публикации цитированы. Настоящее раскрытие имеет решающее значение в случае противоречия между настоящим раскрытием и публикацией, включенной по ссылке.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0098] Варианты осуществления по настоящему раскрытию относятся к способам, системам и устройствам для анализа анализируемого вещества(веществ) в образце. В некоторых вариантах осуществления образец может представлять собой биологический

образец.

Определения

[0099] Прежде чем описать варианты осуществления по настоящему раскрытию, следует понимать, что это изобретение не ограничено конкретными описанными вариантами осуществления и по существу можно, конечно, варьировать. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящем описании, служит только цели описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена в качестве ограничения.

[00100] «Содержать», «включать», «иметь», «мочь» и их варианты, как используют в настоящем описании, предназначены в качестве открытых переходных фраз, терминов или слов, которые не исключают возможность дополнительных действий или структур. Формы единственного числа включают множественное число, если контекст явно не диктует иное. Настоящее раскрытие также предполагает другие варианты осуществления, «содержащие», «состоящие из» и «по существу состоящие из» вариантов осуществления или элементов, представленных в настоящем описании, будь они изложены явно или нет.

[00101] В настоящем описании при изложении числовых диапазонов, в них явно предусмотрено каждое промежуточное число с той же степенью воспроизводимости. Например, для диапазона 6-9 числа 7 и 8 предусмотрены в дополнение к 6 и 9, а для диапазона 6,0-7,0 явно предусмотрены числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0.

[00102] «Аффинность» и «аффинность связывания», как взаимозаменяемо используют в настоящем описании, относятся к склонности или силе связывания связывающего элемента с анализируемым веществом. Например, аффинность связывания можно представлять с помощью равновесной константы диссоциации (K_D), скорости диссоциации (k_d) или скорости ассоциации (k_a).

[00103] «Аналог», как используют в настоящем описании, относится к молекуле, которая имеет схожую структуру с молекулой, представляющей интерес, (например, нуклеозидный аналог, нуклеотидный аналог, фосфатный аналог сахара, аналог анализируемого вещества и т. д.). Аналог анализируемого вещества представляет собой молекулу, которая структурно схожа с анализируемым веществом, но для которой связывающий элемент имеет отличающуюся аффинность.

[00104] Термин «аптамер», как используют в настоящем описании, относится к олигонуклеотидной или пептидной молекуле, которая может связываться с предварительно выбранными мишенями, включая низкомолекулярные соединения, белки и пептиды, среди прочих, с высокой аффинностью и специфичностью. Аптамеры могут принимать различные геометрические формы из-за их предрасположенности формировать спирали и одноцепочечные петли. Аптамер из олигонуклеотида или нуклеиновой кислоты может представлять собой одноцепочечную молекулу ДНК или РНК (оцДНК или оцРНК). Пептидный аптамер может включать короткий переменный пептидный домен, прикрепленный обоими концами к белковому каркасу.

[00105] «Бусину» и «частицу» используют в настоящем описании взаимозаменяемо, и они относятся по существу к сферическому твердому носителю.

[00106] «Компонент», «компоненты» или «по меньшей мере один компонент» относятся в целом к иммобилизованному антителу, обнаруживающему реактиву или конъюгату, калибровочному стандарту, контролю, панели чувствительности, контейнеру, буферу, разбавителю, соли, ферменту, кофактору для фермента, обнаруживающему реактиву, реактиву/раствору для предварительной обработки,

субстрату (например, в виде раствора), останавливающему раствору и т. п., которые могут быть включены в набор для анализа тестового образца, такого как образец мочи, сыворотки, цельной крови, тканевого аспирата или плазмы пациента, в соответствии со способами, описанными в настоящем описании и другими способами, известными в данной области. Некоторые компоненты могут быть в растворе или лиофилизированы для восстановления для использования в анализе.

[00107] «Цифровая микрожидкостная техника (DMF)», «цифровой микрожидкостный модуль (DMF модуль)» или «цифровое микрожидкостное устройство (DMF устройство)», как взаимозаменяемо используют в настоящем описании, относятся к модулю или устройству, в которых используют цифровые или капельные микрожидкостные способы для обеспечения манипуляций дискретными и малыми объемами жидкостей в форме капелек. В цифровой микрожидкостной технике используют принципы науки об эмульсиях для того, чтобы создавать дисперсию текучего вещества в текучем веществе в каналах (главным образом эмульсию «вода-в-масле»). Это позволяет получать монодисперсные капли/пузырьки с очень низкой полидисперсностью. Цифровая микрожидкостная техника основана на микроманипуляциях дискретными капельками текучего вещества внутри сети с меняющейся конфигурацией. Сложные инструкции можно программировать посредством комбинирования базовых операций формирования капелек, транслокации, разделения и слияния.

[00108] Цифровая микрожидкостная техника работает на дискретных объемах текучих веществ, которыми можно манипулировать посредством бинарных электрических сигналов. Используя дискретные капельки единичного объема, микрожидкостную операцию можно определить как набор повторных базовых операций, т.е. перемещение одной единицы текучего вещества на одну единицу расстояния.

Капельки можно формировать с использованием свойств поверхностного натяжения жидкости. Приведение капельки в движение основано на присутствии электростатических сил, генерируемых электродами, расположенными под нижней поверхностью, на которой располагают капельку. Различные типы электростатических сил можно использовать для того, чтобы управлять геометрической формой и движением капелек. Один способ, который можно использовать для того, чтобы создавать приведенные выше электростатические силы, основан на диэлектрофорезе, который основан на разности электрических проницаемостей между капелькой и окружающей средой, и в нем можно использовать высокочастотные электрические поля переменного тока. Другой способ, который можно использовать для того, чтобы создавать приведенные выше электростатические силы, основан на электросмачивании, которое основано на зависимости поверхностного натяжения между капелькой жидкости, присутствующей на поверхности, и поверхностью на электрическом поле, прикладываемом к поверхности.

[00109] «Дрэг-маркер» относится к модификатору подвижности. Дрэг-маркер может представлять собой генетически сконструированные полипептиды («белковые полимеры») с большим числом повторений, которые сконструированы так, чтобы быть большими, водорастворимыми и полностью монодисперсными. Положительно заряженные аргинины можно преднамеренно вводить через регулярные интервалы в аминокислотную последовательность для увеличения гидродинамического сопротивления без увеличения длины дрэг-маркера. Дрэг-маркеры описаны в публикации патента США № 20120141997, включенной в настоящий документ посредством ссылки.

[00110] «Ферментативно-расщепляемая последовательность», как используют в настоящем описании, относится к какой-либо последовательности нуклеиновой кислоты, которую можно расщеплять с помощью фермента. Например, фермент может

представлять собой протеазу или эндонуклеазу, такую как рестрикционная эндонуклеаза (также называемую рестрикционным ферментом). Рестрикционные эндонуклеазы способны распознавать и расщеплять молекулу ДНК в специфическом сайте расщепления ДНК между предварительно определяемыми нуклеотидами. Некоторые

5 эндонуклеазы, такие как, например, FokI, содержат расщепляющий домен, который расщепляет ДНК не специфически в определенном положении независимо от нуклеотидов, присутствующих в этом положении. В некоторых вариантах осуществления специфический сайт расщепления ДНК и сайт распознавания ДНК рестрикционной эндонуклеазы идентичны.

10 [00111] «Глобулярный белок» относится к водорастворимому белку, который имеет приблизительно сферическую форму. Примеры глобулярных белков включают, но не ограничиваясь этим, овальбумин, β -глобулин, С-реактивный белок, фибрин, гемоглобин, IgG, IgM и тромбин.

[00112] «Метка» или «поддающаяся обнаружению метка», как взаимозаменяемо

15 используют в настоящем описании, относится к фрагменту, прикрепленному к специфическому связывающему элементу или анализируемому веществу, чтобы сделать реакцию между специфическим связывающим элементом и анализируемым веществом поддающейся обнаружению, и специфический связывающий элемент или анализируемое вещество, меченные таким образом, обозначают как «меченные с возможностью

20 обнаружения». Метка может давать сигнал, который поддается обнаружению с помощью визуальных или аппаратных средств. Различные метки включают: (i) маркер, прикрепленный к специфическому связывающему элементу или анализируемому веществу посредством расщепляемого линкера; или (ii) дающее сигнал вещество, такое как хромогены, флуоресцентные соединения, ферменты, хемилюминесцентные

25 соединения, радиоактивные соединения и т.п. Репрезентативные примеры меток включают фрагменты, которые дают свет, например, соединения акридиния, и фрагменты, которые дают флуоресценцию, например, флуоресцеин. Другие метки описаны в настоящем описании. В связи с этим, сам фрагмент может не поддаваться обнаружению, но может становиться поддающимся обнаружению после реакции с еще

30 одним другим фрагментом. Использование термина «меченый с возможностью обнаружения» предусматривают охват такого мечения.

[00113] «Микрочастица(ы)» и «микробусина(ы)» используют взаимозаменяемо в настоящем описании, и они относятся к микробусине или микрочастице, которая может занимать или оседать в массиве лунок, например, таком как массив лунок в модуле

35 обнаружения. Микрочастица и микробусина может содержать по меньшей мере один специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и по меньшей мере одну поддающуюся обнаружению метку. Альтернативно, микрочастица и микробусина может содержать первый специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, и второй

40 специфический связывающий элемент, который также связывается с анализируемым веществом и содержит по меньшей мере одну поддающуюся обнаружению метку.

[00114] «Нуклеиновое основание» или «основание» обозначает встречающиеся в природе и синтетические гетероциклические фрагменты, общеизвестные в области технологий нуклеиновых кислот или полинуклеотидов или технологий пептид-

45 нуклеиновых кислот для создания полимеров. Неограничивающие примеры подходящих нуклеиновых оснований включают: аденин, цитозин, гуанин, тимин, урацил, 5-пропинилурацил, 2-тио-5-пропинилурацил, 5-метилцитозин, псевдоизоцитозин, 2-тиоурацил и 2-тиотимин, 2-аминопурин, N9-(2-амино-6-хлорпурин), N9-(2,6-

диаминопурин), гипоксантин, N9-(7-дезагуанин), N9-(7-деза-8-азагуанин) и N8-(7-деза-8-азааденин). Нуклеиновые основания можно связывать с другими фрагментами для того, чтобы формировать нуклеозиды, нуклеотиды и аналоги нуклеозидов/нуклеотидов.

5 [00115] «Нуклеозид» относится к соединению, состоящему из нуклеинового основания пурина, дезапурина или пиримидина, например, аденина, гуанина, цитозина, урацила, тимина, 7- деазааденина, 7-дезагуанозина, которое связано с аномерным углеродом сахара пентозы в положении 1', такого как рибоза, 2'-дезоксирибоза или 2',3'-дидезоксирибоза.

10 [00116] «Нуклеотид», как используют в настоящем описании, относится к фосфатному эфиру нуклеозида, например, моно-, ди- или трифосфатному эфиру, в котором наиболее распространенным местом этерификации является гидроксильная группа, присоединенная в С-5 положении пентозы.

[00117] «Полимер нуклеиновых оснований» или «олигомер нуклеиновых оснований»
15 относится к двум или больше нуклеиновым основаниям, которые соединены связями для того, чтобы формировать олигомер. Полимеры или олигомеры нуклеиновых оснований включают, но не ограничиваясь этим, поли- и олигонуклеотиды (например, полимеры и олигомеры ДНК и РНК), поли- и олигонуклеотидные аналоги и поли- и олигонуклеотидные миметики, такие как полиамид или пептид-нуклеиновые кислоты.

20 Полимеры или олигомеры нуклеиновых оснований можно варьировать в размере от нескольких нуклеиновых оснований до нескольких сотен нуклеиновых оснований или до нескольких тысяч нуклеиновых оснований. Полимеры или олигомеры нуклеиновых оснований могут содержать приблизительно от 2 до 100 нуклеиновых оснований или приблизительно от 8000 до 10000 нуклеиновых оснований. Например, полимеры или
25 олигомеры нуклеиновых оснований могут иметь по меньшей мере приблизительно 2 нуклеиновых основания, по меньшей мере приблизительно 5 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 10 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 20 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 30 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 40 нуклеиновых оснований,
30 по меньшей мере приблизительно 50 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 60 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 70 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 80 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 90 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 100 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 200
35 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 300 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 400 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 500 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 600 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 700 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 800 нуклеиновых оснований, по меньшей мере
40 приблизительно 900 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 1000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 2000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 3000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 4000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 5000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 6000 нуклеиновых оснований,
45 по меньшей мере приблизительно 7000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 8000 нуклеиновых оснований, по меньшей мере приблизительно 9000 нуклеиновых оснований или по меньшей мере приблизительно 10000 нуклеиновых оснований.

[00118] «Полимерная щетка» относится к слою полимеров, прикрепленных одним концом к поверхности. Полимеры находятся близко друг к другу и формируют слой или покрытие, которое формирует свою собственную среду. Щетки могут быть или в состоянии растворителя, когда свисающие цепи погружены в растворитель, или в состоянии расплава, когда свисающие цепи полностью заполняют доступное пространство. Дополнительно, существует отдельный класс полиэлектролитных щеток, когда сами полимерные цепи несут электростатический заряд. Щетки могут отличаться высокой плотностью привитых цепей. Тогда ограниченное пространство ведет к сильному вытягиванию цепей и необычным свойствам системы. Щетки можно использовать для того, чтобы стабилизировать коллоиды, снижать трение между поверхностями и обеспечивать смазывание в искусственных суставах

[00119] «Полинуклеотиды» или «олигонуклеотиды» относятся к полимерам или олигомерам нуклеиновых оснований, в которых нуклеиновые основания соединены посредством сахарофосфатных связей (сахарофосфатный остов). Образцовые поли- и олигонуклеотиды включают полимеры 2'-дезоксирибонуклеотидов (ДНК) и полимеры рибонуклеотидов (РНК). Полинуклеотид может состоять полностью из рибонуклеотидов, полностью из 2'-дезоксирибонуклеотидов или их сочетаний. Термин нуклеиновая кислота охватывает термины полинуклеотид и олигонуклеотиды и включает одноцепочечные и двухцепочечные полимеры нуклеотидных мономеров.

[00120] «Полинуклеотидный аналог» или «олигонуклеотидный аналог» относится к полимерам или олигомерам нуклеиновых оснований, в которых нуклеиновые основания соединены посредством сахарофосфатного остова, содержащего один или несколько сахарофосфатных аналогов. Типичные сахарофосфатные аналоги включают, но не ограничиваясь этим, алкилфосфонаты сахаров, фосфорамидиты сахаров, алкил- или замещенные сложные алкилфосфотриэфиры сахаров, фосфоротиоаты сахаров, фосфородитиоаты сахаров, фосфаты сахаров и аналоги фосфатов сахаров, в которых сахар отличен от 2'-дезоксирибозы или рибозы, полимеры нуклеиновых оснований, имеющие положительно заряженные сахар-гуанидиловые связи, такие как те, что описаны в патенте США № 6013785 и патенте США № 5696253.

[00121] «Рецептор», как используют в настоящем описании, относится к белковой молекуле, которая распознает эндогенные химические сигналы и отвечает на них. Когда такие эндогенные химические сигналы связываются с рецептором, они вызывают некоторую форму клеточного/тканевого ответа. Примеры рецепторов включают, но не ограничиваясь этим, нейронные рецепторы, гормональные рецепторы, рецепторы питательных веществ и рецепторы клеточной поверхности.

[00122] Как используют в настоящем описании, «спейсер» относится к химическому фрагменту, который отдаляет отщепляемую группу от специфического связывающего элемента, или который обеспечивает связь между связывающим элементом и носителем, или который отдаляет маркер от фоторасщепляемого фрагмента. В некоторых вариантах осуществления один или несколько спейсеров могут находиться на N-конце или C-конце маркера на основе полипептида или нуклеотида для того, чтобы оптимально разносить последовательности и специфический связывающий элемент. Спейсеры могут включать, но не ограничиваясь этим, 6-аминокапроновую кислоту, 6-аминогексановую кислоту; 1,3-диаминопропан; 1,3-диаминоэтан; полиэтиленгликолевые (PEG) полимерные группы и короткие аминокислотные последовательности, такие как полиглициновые последовательности, от 1 до 5 аминокислот.

[00123] «Специфический связывающий партнер» или «специфический связывающий элемент», как взаимозаменяемо используют в настоящем описании, относится к одной

из двух различных молекул, которая специфически распознает другую молекулу по сравнению с по существу меньшим распознаванием других молекул. Одна из двух различных молекул имеет область на поверхности или в полости, которая специфически связывается, и, тем самым, определена как комплементарная, с конкретной пространственной и полярной организацией другой молекулы. Молекулы могут представлять собой элементы специфически связывающейся пары. Например, специфический связывающий элемент может включать, но не ограничиваясь этим, белок, такой как рецептор, фермент, антитело и аптамер, пептидный нуклеотид, олигонуклеотид, полинуклеотид и их сочетания.

[00124] Как используют в настоящем описании, «маркер» или «молекула маркера» относятся к молекуле (например, отщепленной от второго связывающего элемента, диссоциировавшего от целевого анализируемого вещества), которую используют для того, чтобы предоставлять указание уровня анализируемого вещества в образце. Эти термины относятся к одной молекуле маркера или множеству одинаковых молекул маркера. Аналогичным образом, «маркеры», пока точно не указано иное, относятся к одному или нескольким маркерам.

[00125] «Индикатор», как используют в настоящем описании, относится к анализируемому веществу или фрагменту анализируемого вещества, конъюгированному с маркером, где анализируемое вещество, конъюгированное с маркером, может эффективно конкурировать с анализируемым веществом за участки на антителе со специфичностью к анализируемому веществу. Например, индикатор может представлять собой анализируемое вещество или аналог анализируемого вещества, такой как циклоспорин или его аналог ISA247, витамин D и его аналоги, половые гормоны и их аналоги, и т.д.

[00126] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, в каком их обычно понимает специалист в данной области. В случае противоречия данный документ, включая определения, имеет решающее значение. Предпочтительные способы и материалы описаны далее, несмотря на то, что способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, что описаны в настоящем описании, можно использовать при практической реализации или тестировании настоящего изобретения. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие источники, упомянутые в настоящем описании, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме, чтобы раскрывать и описывать способы и/или материалы, в связи с которыми публикации процитированы. Материалы, способы и примеры, описанные в настоящем описании, являются только иллюстративными и не предназначены в качестве ограничения.

Способы анализа анализируемого вещества.

[00127] В настоящем описании предоставлены способы анализа анализируемого вещества. Способ может включать подсчет отдельных молекул. В некоторых вариантах осуществления способ анализа анализируемого вещества может включать оценку анализируемого вещества, присутствующего в образце. В некоторых вариантах осуществления оценку можно использовать для определения присутствия и/или концентрации анализируемого вещества в образце. В некоторых вариантах осуществления способ также можно использовать для определения присутствия и/или концентрации множества различных анализируемых веществ, присутствующих в образце.

[00128] В настоящем описании предоставлены способы обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости (где анализируемое вещество, представляющее интерес, из тестового или биологического образца). Способ включает

предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель (например, такой как магнитный твердый носитель (такой как бусина)), который содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости (которая содержит анализируемое вещество, представляющее интерес) с использованием второй жидкости (содержащей по меньшей мере один твердый носитель) для того, чтобы создавать смесь, перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок (где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель), добавление по меньшей мере одной поддающейся обнаружению метки в смесь до, после или как до, так и после перемещения части смеси в массив лунок, и обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках. В некоторых вариантах осуществления «использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капельки жидкости» относится к использованию не механических сил (а именно, например, энергии, создаваемой без использования насосов и/или клапанов), чтобы обеспечивать или прикладывать силу, которая манипулирует (например, сливает или объединяет) по меньшей мере первыми и вторыми каплями жидкости (и, необязательно, дополнительные капли) в смесь. Пример не механических сил, которые можно использовать в способах, описанных в настоящем описании, включают электрическую приводящую в движение силу (например, приведение капельки в движение, электрофорез, электросмачивание, диэлектрофорез, электростатическое приведение в движение, опосредованную электрическим полем, опосредованную электродом, капиллярную силу, хроматографию, центрифугирование или всасывание) и/или акустическую силу (такую как поверхностная акустическая волна (или «SAW»). В некоторых вариантах осуществления генерируемая электрическая приводящая в движение сила представляет собой переменный ток. Например, переменный ток может иметь среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В, 15 В, 20 В, 25 В, 30 В, 35 В или больше. Например, такой переменный ток может иметь rms напряжение 10 В или больше, 15 В или больше, 20 В или больше, 25 В или больше, 30 В или больше или 35 В или больше. Альтернативно, переменный ток может иметь частоту в радиочастотном диапазоне.

[00129] В некоторых вариантах осуществления, если используют магнитные твердые носители, можно прикладывать электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле, и прикладывать с противоположных направлений, в отношении по меньшей мере части смеси. В определенных других вариантах осуществления смесь смешивают посредством перемещения ее: назад и вперед, по круговому паттерну или посредством разделения ее на две или больше подсмесей и последующего слияния подсмесей. В определенных других вариантах осуществления электрическую приводящую в движение силу можно генерировать с использованием серии или множества электродов (а именно, по меньшей мере двух или больше, по меньшей мере трех или больше, по меньшей мере четырех или больше, по меньшей мере пяти или больше, по меньшей мере шести или больше, по меньшей мере семи или больше, по меньшей мере восьми или больше, по меньшей мере девяти или больше, по меньшей мере десяти или больше, по меньшей мере одиннадцати или больше, по меньшей мере двенадцати или больше, по меньшей мере тринадцати или больше, по меньшей мере четырнадцати или больше, по меньшей мере пятнадцати или больше и т. д.) для того,

чтобы перемещать смесь в массив лунок для того, чтобы закупоривать лунки (которые загружены по меньшей мере одним твердым носителем).

[00130] В некоторых вариантах осуществления перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок ведет к загрузке (заполнению и/или размещению) по меньшей мере одного твердого носителя в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления магнитное поле используют для того, чтобы содействовать движению смеси и, таким образом, по меньшей мере одного твердого носителя, в одну или несколько лунок массива. В некоторых вариантах осуществления после загрузки по меньшей мере одного твердого носителей в лунки, какие-либо твердые носители, которые не загружают в лунку, можно удалять с использованием стандартных способов, известных в данной области. Например, такое удаление может включать генерацию электрической приводящей в движение силы (такой как та, что описана в настоящем описании ранее) с использованием серии или множества электродов для того, чтобы перемещать капельку текучего вещества (такую как капелька поляризуемого текучего вещества) в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на расстояние (величина которого не критична) от массива лунок. В некоторых вариантах осуществления водную промывающую жидкость можно использовать для того, чтобы удалять твердые носители, не связанные с каким-либо анализируемым веществом, представляющим интерес. В таких вариантах осуществления, удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии или множества электродов для того, чтобы перемещать водную смывающую (или промывающую) капельку (третью капельку) через массив лунок. Количество и тип водной жидкости, используемой для указанного промывания, не критичны.

[00131] В некоторых вариантах осуществления смесь в способе представляет собой водную жидкость. В других вариантах осуществления смесь представляет собой несмешиваемую жидкость. В других вариантах осуществления капелька жидкости представляет собой капельку гидрофобной жидкости. В других вариантах осуществления капелька жидкости представляет собой капельку гидрофильной жидкости. В некоторых вариантах осуществления массив лунок, используемый в способе, имеет гидрофобную поверхность. В других вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

[00132] В некоторых вариантах осуществления первая капелька жидкости, используемая в способе, представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления вторая капелька жидкости, используемая в способе, представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления первая и вторая капельки жидкости, используемые в способе, представляют собой поляризуемые жидкости. В некоторых вариантах осуществления смесь представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из первой капельки, второй капельки и смеси представляют собой поляризуемую жидкость.

[00133] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку добавляют в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок. В определенных других вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку добавляют в смесь после перемещения по меньшей мере части анализируемого вещества, представляющего интерес. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка

содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент представляет собой рецептор, аптамер или антитело. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

[00134] В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием микрожидкостного устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием цифрового микрожидкостного устройства (DMF). В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW). В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием интегрированного микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием роботизированной технологической установки для анализов.

[00135] В настоящем описании предоставлены способы обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости (в которой анализируемое вещество, представляющее интерес, из тестового или биологического образца). Способ включает предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере одну поддающуюся обнаружению метку, которая содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости (которая содержит анализируемое вещество, представляющее интерес) с использованием второй жидкости (содержащей по меньшей мере один твердый носитель) для того, чтобы создавать смесь (а именно, комплекс анализируемого вещества/поддающейся обнаружению метки-специфического связывающего элемента), перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок (где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель) и обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках. В некоторых вариантах осуществления «использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй капельки жидкости» относится к использованию не механических сил (а именно, например, энергии, создаваемой без использования насосов и/или клапанов), чтобы обеспечивать или прикладывать силу, которой манипулируют (например, сливают или объединяют) по меньшей мере первую и вторую капельки жидкости (и необязательно, дополнительные капельки) в смесь. Пример не механических сил, которые можно использовать в способах, описанных в настоящем описании, включают электрическую приводящую в движение силу (например, приведение капельки

в движение, электрофорез, электросмачивание, диэлектрофорез, электростатическое приведение в движение, опосредованную электрическим полем, опосредованную электродом, капиллярную силу, хроматографию, центрифугирование или всасывание) и/или акустическую силу (такую как поверхностная акустическая волна (или «SAW»).

5 В некоторых вариантах осуществления генерируемая электрическая приводящая в движение сила представляет собой переменный ток. Например, переменный ток может иметь среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В, 15 В, 20 В, 25 В, 30 В, 35 В или больше. Например, такой переменный ток может иметь rms напряжение 10 В или больше, 15 В или больше, 20 В или больше, 25 В или больше, 30 В или больше или 35 В или
10 больше. Альтернативно, переменный ток может иметь частоту в радиочастотном диапазоне.

[00136] В некоторых вариантах осуществления смесь смешивают посредством перемещения ее: назад и вперед, по круговому паттерну или посредством разделения ее на две или больше подсмесей и последующего слияния подсмесей. В определенных
15 других вариантах осуществления электрическую приводящую в движение силу можно генерировать с использованием серии или множества электродов (а именно, по меньшей мере двух или больше, по меньшей мере трех или больше, по меньшей мере четырех или больше, по меньшей мере пяти или больше, по меньшей мере шести или больше, по меньшей мере семи или больше, по меньшей мере восьми или больше, по меньшей
20 мере девяти или больше, по меньшей мере десяти или больше, по меньшей мере одиннадцати или больше, по меньшей мере двенадцати или больше, по меньшей мере тринадцати или больше, по меньшей мере четырнадцати или больше, по меньшей мере пятнадцати или больше и т. д.) для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок для того, чтобы закупоривать лунки (которые загружены по меньшей мере одним твердым
25 носителем).

[00137] В некоторых вариантах осуществления перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок ведет к загрузке (заполнению и/или размещению) комплекса анализируемого вещества/поддающейся обнаружению метки-специфического связывающего элемента в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления
30 магнитное поле используют для того, чтобы содействовать движению смеси и, таким образом, по меньшей мере одного комплекса анализируемого вещества/поддающейся обнаружению метки-специфического связывающего элемента в одну или несколько лунок массива. Например, такое перемещение может включать генерацию электрической приводящей в движение силы (такой как та, что описана в настоящем описании ранее)
35 с использованием серии или множества электродов для того, чтобы перемещать капельку текучего вещества (такую как капелька поляризуемого текучего вещества) в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на расстояние (величина которого не критична) от массива лунок. В некоторых вариантах осуществления водную промывающую жидкость можно использовать для того, чтобы удалять какие-либо
40 поддающиеся обнаружению метку-специфические связывающие элементы, не связанные с каким-либо анализируемым веществом. В таких вариантах осуществления, удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии или множества электродов для того, чтобы перемещать водную смывающую (или промывающую) капельку (третью капельку) через массив лунок. Количество и
45 тип водной жидкости, используемой для указанного промывания, не являются критичными.

[00138] В некоторых вариантах осуществления смесь в способе представляет собой водную жидкость. В других вариантах осуществления смесь представляет собой

несмешиваемую жидкость. В других вариантах осуществления капележка жидкости представляет собой капележку гидрофобной жидкости. В других вариантах осуществления капележка жидкости представляет собой капележку гидрофильной жидкости. В некоторых вариантах осуществления массив лунок, используемый в способе, имеет гидрофобную поверхность. В других вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

[00139] В некоторых вариантах осуществления первая капележка жидкости, используемая в способе, представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления вторая капележка жидкости, используемая в способе, представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления первая и вторая капележки, жидкости, используемые в способе, представляют собой поляризуемые жидкости. В некоторых вариантах осуществления смесь представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из первой капележки, второй капележки и смеси представляют собой поляризуемую жидкость.

[00140] В некоторых вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку связывают по меньшей мере с одним твердым носителем. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент представляет собой рецептор, аптамер или антитело. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

[00141] В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием микрожидкостного устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием цифрового микрожидкостного устройства (DMF). В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW). В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием интегрированного микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием роботизированной технологической установки для анализов.

[00142] В настоящем описании предоставлены способы измерения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капележке жидкости (в которой анализируемое вещество, представляющее интерес, из тестового или биологического образца). Способ включает предоставление первой капележки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, предоставление второй капележки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель (например, такой как магнитный твердый носитель (такой как бусина)), который содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости (которая содержит анализируемое вещество,

представляющее интерес) с использованием второй жидкости (содержащей по меньшей мере один твердый носитель) для того, чтобы создавать смесь, перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок (где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель), добавление по меньшей мере одной поддающейся обнаружению метки в смесь до, после или как до, так и после перемещения части смеси в массив лунок и измерение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках. В некоторых вариантах осуществления «использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости» относится к использованию не механических сил (а именно, например, энергии, создаваемой без использования насосов и/или клапанов), чтобы обеспечивать или прикладывать силу, которой манипулируют (например, сливают или объединяют) по меньшей мере первой и второй каплями жидкости (и, необязательно, дополнительными каплями) в смесь. Пример не механических сил, которые можно использовать в способах, описанных в настоящем описании, включает электрическую приводящую в движение силу (например, приведение капли в движение, электрофорез, электросмачивание, диэлектрофорез, электростатическое приведение в движение, опосредованную электрическим полем, опосредованную электродом, капиллярную силу, хроматографию, центрифугирование или всасывание) и/или акустическую силу (такую как поверхностная акустическая волна (или «SAW»). В некоторых вариантах осуществления генерируемая электрическая приводящая в движение сила представляет собой переменный ток. Например, переменный ток может иметь среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В, 15 В, 20 В, 25 В, 30 В, 35 В или больше. Например, такой переменный ток может иметь rms напряжение 10 В или больше, 15 В или больше, 20 В или больше, 25 В или больше, 30 В или больше или 35 В или больше. Альтернативно, переменный ток может иметь частоту в радиочастотном диапазоне.

[00143] В некоторых вариантах осуществления, если используют магнитные твердые носители, можно прикладывать электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле, и прикладывать с противоположных направлений, по отношению по меньшей мере к части смеси. В определенных других вариантах осуществления смесь смешивают посредством перемещения ее: назад и вперед, по круговому паттерну или посредством разделения ее на две или больше подсмесей и затем слияния подсмесей. В определенных других вариантах осуществления электрическую приводящую в движение силу можно генерировать с использованием серии или множества электродов (а именно, по меньшей мере двух или больше, по меньшей мере трех или больше, по меньшей мере четырех или больше, по меньшей мере пяти или больше, по меньшей мере шести или больше, по меньшей мере семи или больше, по меньшей мере восьми или больше, по меньшей мере девяти или больше, по меньшей мере десяти или больше, по меньшей мере одиннадцати или больше, по меньшей мере двенадцати или больше, по меньшей мере тринадцати или больше, по меньшей мере четырнадцати или больше, по меньшей мере пятнадцати или больше и т. д.) для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок для того, чтобы закупоривать лунки (которые загружают по меньшей мере одним твердым носителем).

[00144] В некоторых вариантах осуществления перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок ведет к загрузке (заполнению и/или размещению) по меньшей мере одного твердого носителя в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления магнитное поле используют для того, чтобы содействовать движению смеси и, таким образом, по меньшей мере одного твердого носителя, в одну или

несколько лунок массива. В некоторых вариантах осуществления после загрузки по меньшей мере одного твердого носителей в лунки, какие-либо твердые носители, которые не загружают в лунку, можно удалять с использованием стандартных способов, известных в данной области. Например, также удаление может включать генерацию электрической приводящей в движение силы (такой как та, что описана в настоящем описании ранее) с использованием серии или множества электродов для того, чтобы перемещать капельку текучего вещества (такую как капелька поляризуемого текучего вещества) в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на расстояние (величина которого не критична) от массива лунок. В некоторых вариантах осуществления водную промывающую жидкость можно использовать для того, чтобы удалять твердые носители, не связанные с каким-либо анализируемым веществом, представляющим интерес. В таких вариантах осуществления, удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием серии или множества электродов для того, чтобы перемещать водную смывающую (или промывающую) капельку (третью капельку) через массив лунок. Количество и тип водной жидкости, используемой для указанного промывания, не являются критичными.

[00145] В некоторых вариантах осуществления смесь в способе представляет собой водную жидкость. В других вариантах осуществления смесь представляет собой несмешиваемую жидкость. В других вариантах осуществления капелька жидкости представляет собой капельку гидрофобной жидкости. В других вариантах осуществления капелька жидкости представляет собой капельку гидрофильной жидкости. В некоторых вариантах осуществления массив лунок, используемый в способе, имеет гидрофобную поверхность. В других вариантах осуществления массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

[00146] В некоторых вариантах осуществления первая капелька жидкости, используемая в способе, представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления вторая капелька жидкости, используемая в способе, представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления первая и вторая капельки жидкости, используемые в способе, представляют собой поляризуемые жидкости. В некоторых вариантах осуществления смесь представляет собой поляризуемую жидкость. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из первой капельки, второй капельки и смеси представляют собой поляризуемую жидкость.

[00147] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку добавляют в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок. В определенных других вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку добавляют в смесь после перемещения по меньшей мере части анализируемого вещества, представляющего интерес, в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент представляет собой рецептор, аптамер или антитело. В некоторых вариантах

осуществления способ дополнительно включает расположение по меньшей мере части смеси по массиву лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

[00148] В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием микрожидкостного устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием цифрового микрожидкостного устройства (DMF). В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW). В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием интегрированного микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящем описании, осуществляют с использованием роботизированной технологической установки для анализов.

[00149] В некоторых вариантах осуществления измерение сначала включает определение общего числа твердых носителей в лунке массива («общее число твердых носителей»). Затем определяют число твердых носителей в лунках массива, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, например, определение интенсивности сигнала, образуемого поддающейся обнаружению меткой («положительные»). Положительные вычитают из общего числа твердых носителей, чтобы предоставлять число твердых носителей в массиве, лунок, которые не содержат поддающуюся обнаружению метку или не обнаружены («отрицательные»). Затем можно определять соотношение положительных и отрицательных в массиве лунок и после этого сравнивать с калибровочной кривой. Альтернативно, цифровое количественное определение с использованием уравнения Пуассона $P(x; \mu)$, как показано далее:

$$P(x; \mu) = (e^{-\mu} \mu^x) / x!$$

где

e : А представляет собой константу, равную приблизительно 2,71828,

μ : представляет собой среднее число удачных исходов, которые происходят в конкретном участке, и

x : представляет собой фактическое число удачных исходов, которые происходят в конкретном участке.

[00150] Образец может представлять собой какой-либо тестовый образец, содержащий или предположительно содержащий анализируемое вещество, представляющее интерес. Как используют в настоящем описании, «анализируемое вещество», «целевое анализируемое вещество», «анализируемое вещество, представляющее интерес» используют взаимозаменяемо, и они относятся к анализируемому веществу, измеряемому в способах и устройствах, описанных в настоящем описании. Анализируемые вещества, представляющие интерес, дополнительно описаны далее.

[00151] «Контакт» и его грамматические эквиваленты, как используют в настоящем описании, относится к объединяющему действию какого-либо типа, которое приводит связывающий элемент в достаточно непосредственную близость с анализируемым веществом, представляющим интерес, в образце так, что связывающее взаимодействие будет происходить, если анализируемое вещество, представляющее интерес, специфическое для связывающего элемента, присутствует в образце. Контакта можно

достигать многими различными путями, включая объединение образца со связывающим элементом, экспозицию целевого анализируемого вещества для связывающего элемента посредством введения связывающего элемента в непосредственной близости от анализируемого вещества и т. п.

5 [00152] В определенных случаях первый связывающий элемент можно иммобилизовать на твердом носителе. Как используют в настоящем описании, термин «иммобилизованный» относится к стабильной связи первого связывающего элемента с поверхностью твердого носителя. Под «стабильной связью» понимают физическую связь между двумя объектами, где среднее время полужизни связи составляет одни
10 сутки или больше, например, в физиологических условиях. В определенных аспектах, физическая связь между двумя объектами имеет среднее время полужизни двое суток или больше, одна неделя или больше, один месяц или больше, в том числе шесть месяцев или больше, например, 1 год или больше, в PBS при 4°C. В соответствии с определенными вариантами осуществления, стабильная связь возникает из ковалентной связи между
15 двумя объектами, нековалентной связи между двумя объектами (например, ионной или металлической связи), или других форм химического притяжения, таких как образование водородных связей, Ван-дер-Ваальсовы силы и т. п.

[00153] Твердый носитель, имеющий поверхность, на которой иммобилизуют связывающий реактив, может представлять собой какую-либо удобную поверхность
20 плоской или неплоской конформации, такую как поверхность микрожидкостного чипа, внутренняя поверхность камеры, внешняя поверхность бусины (как определено в настоящем описании) или внутренняя и/или внешняя поверхность пористой бусины. Например, первый связывающий элемент можно прикреплять ковалентно или нековалентно к бусине, например, латексу, агарозе, сефарозе, стрептавидину,
25 тозилативированной, эпокси, полистирол, amino-бусине, аминной бусине, карбоксильной бусине или тому подобному. В некоторых вариантах осуществления бусина может представлять собой частицу, например, микрочастицу. В некоторых вариантах осуществления микрочастица может составлять между приблизительно 0,1 нм и приблизительно 10 мкм, между приблизительно 50 нм и приблизительно 5 мкм,
30 между приблизительно 100 нм и приблизительно 1 мкм, между приблизительно 0,1 нм и приблизительно 700 нм, между приблизительно 500 нм и приблизительно 10 мкм, между приблизительно 500 нм и приблизительно 5 мкм, между приблизительно 500 нм и приблизительно 3 мкм, между приблизительно 100 нм и 700 нм или между приблизительно 500 нм и 700 нм. Например, микрочастица может составлять
35 приблизительно 4-6 мкм, приблизительно 2-3 мкм или приблизительно 0,5-1,5 мкм. Частицы меньше приблизительно 500 нм иногда считают наночастицами. Таким образом, микрочастица необязательно может представлять собой наночастицу между приблизительно 0,1 нм и приблизительно 500 нм, между приблизительно 10 нм и приблизительно 500 нм, между приблизительно 50 нм и приблизительно 500 нм, между
40 приблизительно 100 нм и приблизительно 500 нм, приблизительно 100 нм, приблизительно 150 нм, приблизительно 200 нм, приблизительно 250 нм, приблизительно 300 нм, приблизительно 350 нм, приблизительно 400 нм, приблизительно 450 нм или приблизительно 500 нм.

[00154] В некоторых вариантах осуществления бусина может представлять собой
45 магнитную бусину или магнитную частицу. В некоторых вариантах осуществления бусина может представлять собой магнитную нанобусину, наночастицу, микробусину или микрочастицу. Магнитные бусы/частицы могут быть ферромагнитными, ферримагнитными, парамагнитными, суперпарамагнитными или магнитожидкостными.

Образцовые ферромагнитные материалы включают Fe, Co, Ni, Gd, Dy, CrO₂, MnAs, MnBi, EuO, NiO/Fe. Примеры ферромагнитных материалов включают NiFe₂O₄, CoFe₂O₄, Fe₃O₄ (или FeO•Fe₂O₃). Бусины могут иметь часть твердого ядра, которая является магнитной и окружена одним или несколькими немагнитными слоями. Наоборот, магнитная часть может представлять собой слой около немагнитного ядра. Твердый носитель, на котором иммобилизуют первый связывающий элемент, можно хранить в сухой форме или в жидкости. На магнитные бусы можно воздействовать магнитным полем до или после контакта с образцом с магнитной бусиной, на которой иммобилизуют первый связывающий элемент.

[00155] После стадии контакта, образец и первый связывающий элемент можно инкубировать в течение достаточного периода времени для того, чтобы сделать возможным возникновение связывающего взаимодействия между связывающим элементом и анализируемым веществом. Кроме того, инкубация может проходить в связывающем буфере, который содействует специфическому связывающему взаимодействию. Аффинностью связывания и/или специфичностью первого связывающего элемента и/или второго связывающего элемента можно манипулировать или изменять их в анализе посредством варьирования связывающего буфера. В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания и/или специфичность можно увеличивать посредством варьирования связывающего буфера. В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания и/или специфичность можно уменьшать посредством варьирования связывающего буфера.

[00156] Аффинность связывания и/или специфичность первого связывающего элемента и/или второго связывающего элемента можно измерять с использованием раскрытых способов и устройства, описанных далее. В некоторых вариантах осуществления одну аликвоту образца анализируют с использованием одного набора условий и сравнивают с другой аликвотой анализируемого образца с использованием другого набора условий, тем самым определяя эффект условий, оказываемый на аффинность связывания и/или специфичность. Например, изменение условия может представлять собой одно или несколько из удаления целевого анализируемого вещества из образца, добавления молекулы, которая конкурирует с целевым анализируемым веществом или лигандом за связывание, и изменение pH, концентрации соли или температуры. Дополнительно или альтернативно, длительность времени может представлять собой переменную, и изменение условия может включать ожидание в течение определенной длительности времени, прежде чем снова выполнять способы обнаружения.

[00157] Связывающий буфер может содержать молекулы, стандартные для связывающих буферов для антигена-антитела, такие как альбумин (например, BSA), неионные детергенты (Tween-20, Triton X-100) и/или ингибиторы протеаз (например, PMSF). В определенных случаях, связывающий буфер можно добавлять в микрожидкостный чип, камеру и т. д., до или после добавления образца. В определенных случаях первый связывающий элемент может присутствовать в связывающем буфере перед контактом с образцом. Длительность времени для возникновения связывающего взаимодействия между связывающим элементом и анализируемым веществом можно определять эмпирически, и она может зависеть от аффинности связывания и avidность связывания между связывающим элементом и анализируемым веществом. В некоторых вариантах осуществления контакт или инкубация может проходить в течение периода от 5 с до 1 часа, такого как от 10 с до 30 минут, или от 1 минуты до 15 минут, или от 5 минут до 10 минут, например, 10 с, 15 с, 30 с, 1 минута, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 30

минут, 45 минут, 1 час или 2 часа. Другие условия для связывающего взаимодействия, такие как температура, концентрация соли, также можно определять эмпирически или могут быть основаны на инструкциях производителя. Например, контакт можно

осуществлять при комнатной температуре (21-28°C, например, 23-25°C), 37°C или 4°C.

В некоторых вариантах осуществления необязательное смешивание образца с первым связывающим элементом можно осуществлять во время стадии контакта.

[00158] После формирования комплекса между иммобилизованным первым связывающим элементом и анализируемым веществом, какое-либо несвязанное анализируемое вещество может быть удалено поблизости от первого связывающего

элемента наряду с образцом, тогда как комплекс первого связывающего элемента и анализируемого вещества можно удерживать благодаря его связи с твердым носителем. Необязательно, твердый носитель может контактировать с буфером для промывания для того, чтобы удалять какие-либо молекулы, не специфически связанные с твердым носителем.

[00159] После первой стадии контакта и необязательного удаления образца и/или необязательных стадий промывания, комплекс первого связывающего элемента и анализируемого вещества можно приводить в контакт со вторым связывающим элементом, что, тем самым, ведет к формированию сэндвич-комплекса, в котором анализируемое вещество связано двумя связывающими элементами. Необязательное

смешивание второго элемента с комплексом первого связывающего элемента-анализируемого вещества можно осуществлять во время второй стадии контакта. В некоторых вариантах осуществления иммобилизация молекул анализируемого вещества относительно поверхности может способствовать удалению какого-либо избытка вторых связывающих элементов из раствора, не касаясь удаления молекул анализируемого вещества с поверхности. В некоторых вариантах осуществления второй связывающий элемент может содержать поддающуюся обнаружению метку, содержащую одно или несколько дающих сигнал веществ, таких как хромогены, флуоресцентные соединения, хемилюминесцентные соединения, ферменты, радиоактивные соединения и т. п.

[00160] Как указано выше, вторую стадию контакта можно осуществлять в условиях, достаточных для связывающего взаимодействия между анализируемым веществом и вторым связывающим элементом. После второй стадии контакта какой-либо несвязанный второй связывающий элемент может быть удален, после чего следует необязательная стадия промывания. Какой-либо несвязанный второй связывающий элемент можно отделять от комплекса первого связывающего элемента - анализируемого вещества - второго связывающего элемента с помощью подходящего средства, например, приведения капельки в движение, электрофореза, электросмачивания, диэлектрофореза, электростатического приведения в движение, опосредованного электрическим полем, опосредованного электродом, капиллярной силы, хроматографии, центрифугирования, всасывания или SAW. После удаления какого-либо несвязанного второго связывающего элемента поблизости от комплекса первого связывающего элемента-анализируемого вещества - второго связывающего элемента, поддающуюся обнаружению метку, прикрепленную ко второму связывающему элементу, присутствующему в комплексе первого связывающего элемента - анализируемого вещества - второго связывающего элемента, можно отделять с помощью подходящего средства или можно обнаруживать с применением известных в данной области способов. В некоторых вариантах осуществления поддающаяся обнаружению метка содержит поддающуюся обнаружению метку, содержащую одно или несколько

дающих сигнал веществ, таких как хромогены, флуоресцентные соединения, ферменты, хемилюминесцентные соединения, радиоактивные соединения и т.п. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления, если поддающаяся обнаружению метка содержит маркер, маркер может быть отщепляемым или диссоциирующим от комплекса, который сохраняется после удаления несвязанных реактивов. Например, маркер можно прикреплять ко второму связывающему элементу через расщепляемый линкер («расщепляемый линкер», как описано в настоящем описании. Комплекс первого связывающего элемента-анализируемого вещества-второго связывающего элемента можно экспонировать для расщепляющего средства, которое опосредует расщепление расщепляемого линкера.

[00161] Как отмечено в настоящем описании, маркер может содержать нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления количественное определение анализируемого вещества не включает определение идентичности маркера посредством определения идентичности по меньшей мере части последовательности нуклеиновой кислоты, присутствующей в маркере. Например, стадия подсчета может не включать определение последовательности маркера. В других вариантах осуществления маркер может не быть секвенирован, однако идентичность маркера можно определять в такой мере, что один маркер можно отличать от другого маркера на основании дифференцируемого сигнала, связанного с маркером, благодаря его размеру, конформации, заряду, количеству заряда и т.п. Идентификацию маркера можно использовать в способах, включающих одновременный анализ множества различных анализируемых веществ в образце, например, двух, трех, четырех или больше различных анализируемых веществ в образце.

[00162] В некоторых вариантах осуществления одновременный анализ множества анализируемых веществ в одном образце можно осуществлять с использованием множества различных первых и вторых связывающих элементов, где пара из первого и второго связывающих элементов специфична для одного анализируемого вещества в образце. В этих вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку, связанную со вторым связывающим элементом из первой пары из первого и второго связывающих элементов со специфичностью к одному анализируемому веществу, можно отличать от поддающейся обнаружению метки, связанной со вторым связывающим элементом из второй пары из первого и второго связывающих элементов со специфичностью к другому анализируемому веществу. Как указано выше, первую поддающуюся обнаружению метку можно отличать от второй поддающейся обнаружению метки на основании различий в дающих сигнал веществах и т.д.

[00163] В некоторых вариантах осуществления концентрация анализируемого вещества в образце текучего вещества, которая может быть по существу точно определена, составляет меньше приблизительно 5000 фМ (фемтомоль), меньше приблизительно 3000 фМ, меньше приблизительно 2000 фМ, меньше приблизительно 1000 фМ, меньше приблизительно 500 фМ, меньше приблизительно 300 фМ, меньше приблизительно 200 фМ, меньше приблизительно 100 фМ, меньше приблизительно 50 фМ, меньше приблизительно 25 фМ, меньше приблизительно 10 фМ, меньше приблизительно 5 фМ, меньше приблизительно 2 фМ, меньше приблизительно 1 фМ, меньше приблизительно 500 аМ (аттомоль), меньше приблизительно 100 аМ, меньше приблизительно 10 аМ, меньше приблизительно 5 аМ, меньше приблизительно 1 аМ, меньше приблизительно 0,1 аМ, меньше приблизительно 500 зМ (zeptomol), меньше приблизительно 100 зМ, меньше приблизительно 10 зМ, меньше приблизительно 5 зМ, меньше приблизительно 1 зМ, меньше приблизительно 0,1 зМ или меньше.

[00164] В некоторых случаях, предел обнаружения (например, наименьшая концентрация анализируемого вещества, которую можно определять в растворе) составляет приблизительно 100 фМ, приблизительно 50 фМ, приблизительно 25 фМ, приблизительно 10 фМ, приблизительно 5 фМ, приблизительно 2 фМ, приблизительно 1 фМ, приблизительно 500 аМ (аттомоль), приблизительно 100 аМ, приблизительно 50 аМ, приблизительно 10 аМ, приблизительно 5 аМ, приблизительно 1 аМ, приблизительно 0,1 аМ, приблизительно 500 зМ (zeptомоль), приблизительно 100 зМ, приблизительно 50 зМ, приблизительно 10 зМ, приблизительно 5 зМ, приблизительно 1 зМ, приблизительно 0,1 зМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления

концентрация анализируемого вещества в образце текучего вещества, которая может быть по существу точно определена, составляет между приблизительно 5000 фМ и приблизительно 0,1 фМ, между приблизительно 3000 фМ и приблизительно 0,1 фМ, между приблизительно 1000 фМ и приблизительно 0,1 фМ, между приблизительно 1000 фМ и приблизительно 0,1 зМ, между приблизительно 100 фМ и приблизительно 1 зМ, между приблизительно 100 аМ и приблизительно 0,1 зМ или меньше.

[00165] Верхний предел обнаружения (например, наибольшая концентрация анализируемого вещества, которую можно определять в растворе) составляет по меньшей мере приблизительно 100 фМ, по меньшей мере приблизительно 1000 фМ, по меньшей мере приблизительно 10 пМ (пикомоль), по меньшей мере приблизительно 100 пМ, по меньшей мере приблизительно 100 пМ, по меньшей мере приблизительно 10 нМ (наномоль), по меньшей мере приблизительно 100 нМ, по меньшей мере приблизительно 1000 нМ, по меньшей мере приблизительно 10 мкМ, по меньшей мере приблизительно 100 мкМ, по меньшей мере приблизительно 1000 мкМ, по меньшей мере приблизительно 10 мМ, по меньшей мере приблизительно 100 мМ, по меньшей мере приблизительно 1000 мМ или более.

[00166] В некоторых случаях присутствие и/или концентрацию анализируемого вещества в образце можно обнаруживать быстро, обычно приблизительно меньше чем за 1 час, например, за 45 минут, 30 минут, 15 минут, 10 минут, 5 минут, 1 минуту или 30 секунд.

[00167] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторые стадии способов, описанных в настоящем описании, можно осуществлять на цифровом интегрированном микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве, таком как устройство, описанное в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему раскрытию осуществляют с использованием цифрового интегрированного микрожидкостного устройства в сочетании с обнаруживающим анализируемое вещество устройством. Например, цифровое микрожидкостное устройство и обнаруживающее анализируемое вещество устройство могут представлять собой отдельные устройства, и капельку, содержащую поддающуюся обнаружению метку, можно создавать в микрожидкостном устройстве и транспортировать в обнаруживающее анализируемое вещество устройство.

[00168] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему раскрытию осуществляют с использованием устройства, в котором цифровой микрожидкостный модуль интегрирован с обнаруживающим анализируемое вещество устройством, таким как устройство, описанное далее. В некоторых вариантах осуществления цифровой интегрированный микрожидкостный модуль и обнаруживающее анализируемое вещество устройство могут быть обратимо интегрированы. Например, два модуля можно объединять физически для того, чтобы формировать интегрированное устройство, и затем это устройство может быть разделено на индивидуальные модули.

В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему раскрытию осуществляют с использованием одноразового картриджа, который содержит микрожидкостный модуль со встроенным обнаруживающим анализируемое вещество устройством. Образцовые варианты осуществления устройств, используемых для осуществления способов, предоставленных в настоящем описании, дополнительно описаны в следующем разделе.

[00169] Образцовые варианты осуществления данного способа включают слияние капельки образца, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, с каплей, содержащей первый связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и который можно иммобилизовать на твердом носителе (таком как магнитные частицы или бусины). Единую слитую капельку можно инкубировать в течение периода времени, достаточного для того, чтобы сделать возможным связывание первого связывающего элемента с анализируемым веществом, представляющим интерес. Необязательно, единую капельку можно перемешивать для того, чтобы содействовать смешиванию образца с первым связывающим элементом. Смешивания можно достигать посредством перемещения единой капельки назад и вперед, перемещения единой капельки по множеству электродов, разделения капельки и последующего слияния капелек или с использованием SAW и т.п. Затем на единую капельку можно воздействовать магнитной силой для того, чтобы удерживать бусины в местоположении в устройстве, тогда как капельку можно удалять и заменять каплей, содержащей второй связывающий элемент, этот второй связывающий элемент может необязательно содержать поддающуюся обнаружению метку. Необязательную стадию промывания можно осуществлять, перед добавлением второго связывающего элемента, посредством перемещения капельки буфера для промывания в местоположение, в котором бусины удерживают с использованием магнитной силы. После периода времени, достаточного для связывания второго связывающего элемента с анализируемым веществом, связанным с первым связывающим элементом, капельку, содержащую второй связывающий элемент, можно удалять, тогда как бусины удерживают в первом местоположении. Бусины можно промывать с использованием капельки буфера для промывания. После стадии промывания магнитная сила может быть удалена, и капельку, содержащую меченые бусины (содержащие первый специфический связывающий элемент/анализируемое вещество/второй специфический связывающий элемент - необязательную поддающуюся обнаружению метку), перемещают в модуль обнаружения, такой как тот, что описан в настоящем описании. Меченым бусинам позволяют оседать в массив лунок в модуле обнаружения. Бусины могут оседать под действием гравитационной силы или посредством приложения электрической или магнитной силы. После стадии промывания для того, чтобы удалять какие-либо бусины, не расположенные внутри лунок, лунки можно закупоривать с использованием гидрофобной жидкости. В приведенных выше вариантах осуществления, необязательно после объединения, каплей можно манипулировать (например, перемещать назад и вперед, перемещать в направлении по кругу, колебать, разделять/сливать, экспонировать для SAW и т. д.) для того, чтобы содействовать смешиванию образца с реактивами для анализа, такими как первый связывающий элемент, второй связывающий элемент и т.д. В вариантах осуществления, где поддающаяся обнаружению метка представляет собой фермент, субстрат можно добавлять до или после перемещения комплекса в массив лунок.

[00170] Перемещение капелек в интегрированном микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве можно осуществлять с

использованием электрической силы (например, электросмачивания, диэлектрофореза, опосредованной электродом, оптоэлектросмачивания, опосредованной электрическим полем и электростатического приведения в движение), давления, поверхностных акустических волн и т.п. Силу, используемую для перемещения капелек, можно
 5 определять на основании особенностей устройства, которые описаны в следующих разделах, и для конкретного устройства, описанного в настоящем описании.

Мультиплексирование.

[00171] Способы могут включать один или несколько (или, иначе, два или больше) специфических связывающих элементов для того, чтобы обнаруживать одно или
 10 несколько (или, иначе, два или больше) целевых анализируемых веществ в образце в мультиплексированном анализе. Каждый из одного или нескольких (или, иначе, двух или больше) специфических связывающих элементов связывается с отличающимся целевым анализируемым веществом и, каждый специфический связывающий элемент метят отличающейся поддающейся обнаружению меткой. Например, первый
 15 специфический связывающий элемент связывается с первым целевым анализируемым веществом, второй специфический связывающий элемент связывается со вторым целевым анализируемым веществом, третий специфический связывающий элемент связывается с третьим целевым анализируемым веществом и т.д., и первый специфический связывающий элемент метят поддающейся обнаружению меткой, второй специфический
 20 связывающий элемент метят второй поддающейся обнаружению меткой, третий специфический связывающий элемент метят третьей поддающейся обнаружению меткой и т.д. Например, каждая из первой, второй и третьей поддающихся обнаружению меток может иметь отличающийся цвет. Альтернативно, можно использовать метки различных типов, например, первая метка представляет собой ферментативную метку, вторая
 25 метка представляет собой хромоген и третья метка представляет собой хемилюминесцентное соединение.

Образцовые целевые анализируемые вещества

[00172] Как понятно специалисту в данной области, какое-либо анализируемое вещество, которое может быть специфически связано первым и вторым связывающим
 30 элементом, можно обнаруживать и, необязательно, количественно определять с использованием способов и устройств по настоящему раскрытию.

[00173] В некоторых вариантах осуществления анализируемое вещество может представлять собой биомолекулу. Неограничивающие примеры биомолекул включают макромолекулы, такие как белки, липиды и углеводы. В определенных случаях
 35 анализируемое вещество может представлять собой гормоны, антитела, факторы роста, цитокины, ферменты, рецепторы (например, нейронные, гормональные рецепторы, рецепторы питательных веществ и клеточной поверхности) или их лиганды, маркеры злокачественных опухолей (например, PSA, TNF- α), маркеры инфаркта миокарда (например, тропонин, креатинкиназу и т.п.), токсины, лекарственные средства (например,
 40 лекарственные средства, вызывающие зависимость), метаболические средства (например, включая витамины) и т. п. Неограничивающие варианты осуществления белковых анализируемых веществ включают пептиды, полипептиды, фрагменты белков, белковые комплексы, слитые белки, рекомбинантные белки, фосфопротеины, гликопротеины, липопротеины или тому подобное.

[00174] В некоторых вариантах осуществления анализируемое вещество может представлять собой посттрансляционно модифицированный белок (например, фосфорилированный, метилированный, гликозилированный белок), и первый или
 45 второй связывающий элемент может представлять собой антитело со специфичностью

к посттрансляционной модификации. Модифицированный белок может быть связан с первым связывающим элементом, иммобилизованным на твердом носителе, где первый связывающий элемент связывается с модифицированным белком, но не с немодифицированным белком. В других вариантах осуществления первый связывающий элемент может связываться как с немодифицированным, так и с модифицированным белком, и второй связывающий элемент может быть специфичным к посттрансляционно модифицированному белку.

[00175] В некоторых вариантах осуществления анализируемое вещество может представлять собой клетку, такую как циркулирующая опухолевая клетка, патогенные бактерии, вирусы (в том числе ретровирусы, герпесвирусы, аденовирусы, лентивирусы, филовирусы (Эбола), вирусы гепатита (например, А, В, С, D и E); HPV и т. д.); споры и т. д.

[00176] Неограничивающий список анализируемых веществ, которые можно анализировать способами, представленными в настоящем описании, включает белок β -амилоида A β 42, фетуин-А, тау, секретогранин II, прионный белок, α -синуклеин, тау белок, легкую цепь нейрофиламента, паркин, PTEN-индуцируемую предполагаемую киназу 1, DJ-1, киназу 2 с повторами, богатыми лейцином, мутированный ATP13A2, Аро Н, церулоплазмин, коактиватор-1 α активируемого пролифератором пероксисом рецептора γ (PGC-1 α), транстиретин, витамин D-связывающий белок, проапоптозную киназу R (PKR) и ее фосфорилированную PKR (pPKR), CXCL13, IL-12p40, CXCL13, IL-8, Dkk-3 (семья), фрагмент эндокана p14, сыворотку, ACE2, аутоантитело к CD25, hTERT, CAI25 (MUC 16), VEGF, sIL-2, остеопонтин, белок 4 эпидидимиса человека (HE4), α -фетопротеин, альбумин, альбуминурия, микроальбуминурия, липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL), интерлейкин 18 (IL-18), молекулу повреждения почек-1 (KIM-1), печеночный белок, связывающий жирные кислоты (L-FABP), LMP1, BARF1, IL-8, эмбриональный опухолевый антиген (CEA), BRAF, CCNI, EGFR, FGF19, FRS2, GREB1 и LZTS1, α -амилазу, эмбриональный опухолевый антиген, CA 125, IL8, тиоредоксин, уровни β -2 микроглобулина - мониторинг активности вируса, рецепторы фактора некроза опухоли α - мониторинг активности вируса, CA15-3, фолликулостимулирующий гормон (FSH), лютеинизирующий гормон (LH), инвазия и метастазы Т-клеточной лимфомы (TIAM1), N-кадгерин, EC39, амфирегулин, дУТФазу, секреторный гелсолин (pGSN), PSA (специфичный антиген предстательной железы), тимозин β 15, инсулин, С-пептид плазмы, гликозилированный гемоглобин (HbA1c), С-реактивный белок (CRP), интерлейкин-6 (IL-6), ARHGDI1B (ингибитор 2 диссоциации Rho GDP), CFL1 (кофилин-1), PFN1 (профилин-1), GSTP1 (глутатион S-трансфераза Р), S100A11 (белок S100-A11), PRDX6 (пероксиредоксин-6), HSPE1 (10 кДа белок теплового шока, митохондриальный), LYZ (предшественник лизоцима С), GPI (глюкозо-6-фосфатизомераза), HIST2H2AA (гистон H2A типа 2-A), GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа), HSPG2 (предшественник корового белка специфичного протеогликана базальной мембраны гепарансульфата), LGALS3BP (предшественник галектин-3-связывающего белка), CTSD (предшественник катепсина D), APOE (предшественник аполипопротеина Е), IQGAP1 (белок IQGAP1, подобный активирующему ГТФазу Ras), CP (предшественник церулоплазмينا) и IGLC2 (белок IGLC1), PCDGF/GP88, EGFR, HER2, MUC4, IGF-IR, p27(kip1), Akt, HER3, HER4, PTEN, PIK3CA, SHIP, Grb2, Gab2, PDK-1 (3-фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа-1), TSC1, TSC2, mTOR, MIG-6 (ингибитор 1 обратной связи рецептора ERBB), S6K, src, KRAS, MEK митоген-активированную протеинкиназу 1, cMYC, топоизомераза (ДНК) II α ТРО II 170 кДа, FRAP1, NRG1, ESR1, ESR2, PGR, CDKN1B, MAP2K1, NEDD4-1, FOXO3A,

PPP1R1B, PXN, ELA2, CTNNA1, AR, EPHB2, KLF6, ANXA7, NKX3-1, PITX2, MKI67, PHLPP, адипонектин (ADIPOQ), цепь α фибриногена (FGA), лептин (LEP), специфичный рецептор конечных продуктов усиленного гликозилирования (AGER, также известный как RAGE), α -2-HS-гликопротеин (AHSG), ангиогенин (ANG), молекулу CD14 (CD14), ферритин (FTH1), связывающий инсулиноподобный фактор роста белок 1 (IGFBP1), рецептор интерлейкина 2, α (IL2RA), молекулу адгезии сосудистого эндотелия 1 (VCAM1) и фактор фон Виллебранда (VWF), миелопероксидазу (MPO), IL1 α , TNF α , перинуклеарное антинейтрофильное цитоплазматическое антитело (p-ANCA), лактоферрин, кальпротектин, белок-1 опухоли Вильмса, аквапорин-1, MLL3, AMBR, VDAC1, энтеротоксины E. coli (термолабильный экзотоксин, термостабильный энтеротоксин), антиген ГА гриппа, столбнячный токсин, дифтерийный токсин, ботулотоксины, токсин Шига, шигаподобный токсин I, шигаподобный токсин II, токсины A и B Clostridium difficile и т. д.

Образцы

[00177] Как используют в настоящем описании, «образец», «тестовый образец», «биологический образец» относятся к образцу текучего вещества, содержащему или предположительно содержащему анализируемое вещество, представляющее интерес. Образец можно извлекать из любого подходящего источника. В некоторых случаях образец может содержать жидкость, текучее твердое вещество в виде частиц или текучую суспензию твердых частиц. В некоторых случаях образец можно обрабатывать перед анализом, описанным в настоящем описании. Например, образец можно отделять или очищать от его источника перед анализом; однако в некоторых вариантах осуществления необработанный образец, содержащий анализируемое вещество, можно анализировать непосредственно. Источник молекулы анализируемого вещества может быть синтетическим (например, полученным в лаборатории), из окружающей среды (например, образцы воздуха, почвы, текучего вещества, например, запасов воды и т. д.), животным, например, млекопитающим, растением или каким-либо их сочетанием. В конкретном примере источник анализируемого вещества представляет собой вещество организма человека (например, текучее вещество организма, кровь, сыворотка, плазма, моча, слюна, пот, мокрота, семя, слизь, слезное текучее вещество, лимфатическое текучее вещество, амниотическое текучее вещество, интерстициальное текучее вещество, лаваж легких, цереброспинальное текучее вещество, фекалии, ткань, орган или тому подобное). Ткани могут включать, но не ограничиваясь этим, скелетную мышечную ткань, ткань печени, ткань легкого, ткань почки, ткань миокарда, ткань головного мозга, костный мозг, ткань шейки матки, кожу и т. д. Образец может представлять собой жидкий образец или жидкий экстракт твердого образца. В определенных случаях источник образца может представлять собой орган или ткань, такой как образец биопсии, который можно растворять посредством размельчения ткани/лизиса клеток.

[00178] Можно анализировать широкий диапазон объемов образца текучего вещества. В некоторых образцовых вариантах осуществления объем образца может составлять приблизительно 0,5 нл, приблизительно 1 нл, приблизительно 3 нл, приблизительно 0,01 мкл, приблизительно 0,1 мкл, приблизительно 1 мкл, приблизительно 5 мкл, приблизительно 10 мкл, приблизительно 100 мкл, приблизительно 1 мл, приблизительно 5 мл, приблизительно 10 мл или тому подобное. В некоторых случаях, объем образца текучего вещества составляет между приблизительно 0,01 мкл и приблизительно 10 мл, между приблизительно 0,01 мкл и приблизительно 1 мл, между приблизительно 0,01 мкл и приблизительно 100 мкл или между приблизительно 0,1 мкл и приблизительно 10 мкл.

[00179] В некоторых случаях, образец текучего вещества можно разбавлять перед использованием в анализе. Например, в вариантах осуществления, где источник молекулы анализируемого вещества представляет собой текучее вещество организма человека (например, кровь, сыворотку), текучее вещество можно разбавлять

5 подходящим растворителем (например, буфером, таким как PBS буфер). Перед использованием образец текучего вещества можно разбавлять приблизительно 1-кратно, приблизительно 2-кратно, приблизительно 3-кратно, приблизительно 4-кратно, приблизительно 5-кратно, приблизительно 6-кратно, приблизительно 10-кратно, приблизительно 100-кратно или более.

10 [00180] В некоторых случаях, образец можно подвергать преданалитической обработке. Преданалитическая обработка может обеспечивать дополнительную функциональность, такую как удаление не специфических белков и/или эффективную, но дешево реализуемую функциональность смешивания. Основные способы преданалитической обработки могут включать использование электрокинетических

15 ловушек, электрокинетики переменного тока, поверхностных акустических волн, изотахофореза, диэлектрофореза, электрофореза или других способов предварительного превращения, известных в данной области. В некоторых случаях образец текучего вещества можно концентрировать перед использованием в анализе. Например, в вариантах осуществления, где источник молекулы анализируемого вещества

20 представляет собой текучее вещество организма человека (например, кровь, сыворотку), текучее вещество можно концентрировать посредством преципитации, испарения, фильтрования, центрифугирования или их сочетания. Перед использованием образец текучего вещества можно концентрировать приблизительно 1-кратно, приблизительно 2-кратно, приблизительно 3-кратно, приблизительно 4-кратно, приблизительно 5-

25 кратно, приблизительно 6-кратно, приблизительно 10-кратно, приблизительно 100-кратно или более.

[00181] В некоторых вариантах осуществления анализируемое вещество не амплифицируют (т.е. число копий анализируемого вещества не увеличивают) перед измерением анализируемого вещества. Например, в случаях, когда анализируемое

30 вещество представляет собой ДНК или РНК, анализируемое вещество не реплицируют для увеличения числа копий анализируемого вещества. В определенных случаях анализируемое вещество представляет собой белок или низкомолекулярное соединение.

Специфические связывающие элементы

[00182] Как примут во внимание специалисты в данной области, связывающие

35 элементы определяют по анализируемому веществу, подлежащему анализу. Связывающие элементы для широкого спектра целевых молекул известны или могут быть легко найдены или разработаны с использованием известных способов. Например, когда целевое анализируемое вещество представляет собой белок, связывающие

40 элементы могут включать белки, в частности, антитела или их фрагменты (например, антигенсвязывающие фрагменты (Fab), фрагменты Fab', фрагменты F(ab')₂, рекомбинантные антитела, химерные антитела, одноцепочечные Fv («scFv»), одноцепочечные антитела, однодоменные антитела, такие как вариабельные домены тяжелых цепей («V_HH»; также известные как «фрагменты V_HH»), полученные от животных семейства Camelidae (V_HH и способы их получения описаны в Gottlin et al.,

45 Journal of Biomolecular Screening, 14:77-85 (2009)), рекомбинантные V_HH однодоменные антитела и фрагменты VNAR, Fv с дисульфидными связями («sdFv») и антиидиотипические («anti-Id») антитела, и функционально активные эпитопсвязывающие фрагменты любых указанных выше, полноразмерные поликлональные или

моноклональные антитела, антителоподобные фрагменты и т.д.), другие белки, такие как рецепторные белки, белок А, белок С или тому подобное. В случае, когда анализируемое вещество представляет собой низкомолекулярное соединение, такое как стероиды, билины, ретиноиды и липиды, первый и/или второй связывающий элемент
 5 может представлять собой каркасный белок (например, липокалины) или рецептор. В некоторых случаях связывающий элемент для белковых анализируемых веществ может представлять собой пептид. Например, когда целевое анализируемое вещество представляет собой фермент, подходящие связывающие элементы могут включать субстраты ферментов и/или ингибиторы ферментов, которые могут представлять собой
 10 пептид, низкомолекулярное соединение и т. п. В некоторых случаях, когда целевое анализируемое вещество представляет собой фосфорилированные частицы, связывающие элементы могут содержать фосфатсвязывающее средство. Например, фосфатсвязывающее средство может содержать металлические ионные аффинные среды, такие как те, что описаны в патенте США № 7070921 и патентной заявке США
 15 № 20060121544.

[00183] В определенных случаях, по меньшей мере один из связывающих элементов может представлять собой аптамер, такой как те, что описаны в патентах США №№ 5270163, 5475096, 5567588, 5595877, 5637459, 5683867, 5705337. Аптамеры нуклеиновых кислот (например, одноцепочечные молекулы ДНК или одноцепочечные молекулы
 20 РНК) можно разрабатывать для захвата фактически любой целевой молекулы. Аптамеры связывают целевые молекулы высоко специфическим, зависящим от конформации образом, типично с очень высокой аффинностью, хотя можно выбирать аптамеры с более низкой аффинностью связывания. Аптамеры могут различать целевые молекулы анализируемых веществ на основании очень небольших структурных
 25 различий, таких как присутствие или отсутствие метильной или гидроксильной группы, и определенные аптамеры могут различать D- и L-энантиомеры и диастереомеры. Аптамеры могут связывать небольшие молекулярные мишени, в том числе лекарственные средства, ионы металла и органические красители, пептиды, биотин и белки. Аптамеры могут сохранять функциональную активность после
 30 биотинилирования, мечения флуоресцеином и когда прикреплены к стеклянным поверхностям и микросферам.

[00184] Аптамеры нуклеиновых кислот представляют собой олигонуклеотиды, которые могут представлять собой одноцепочечные олигодезоксинуклеотиды, олигорибонуклеотиды или модифицированные олигодезоксинуклеотиды или
 35 олигорибонуклеотиды. Термин «модифицированный» охватывает нуклеотиды с ковалентно модифицированным основанием и/или сахаром. Например, модифицированные нуклеотиды включают нуклеотиды, имеющие сахара, которые ковалентно связаны с низкомолекулярными органическими группами, отличными от гидроксильной группы в 3'-положении и отличными от фосфатной группы в 5'-
 40 положении. Таким образом модифицированные нуклеотиды также могут включать 2'-замещенные сахара, такие как 2'-О-метил-; 2-О-алкил; 2-О-аллил; 2'-S-алкил; 2'-S-аллил; 2'-фтор-; 2'-галогено или 2-азидо-рибоза, карбоциклические аналоги сахаров а-аномерные сахара; эпимерные сахара, такие как арабиноза, ксилозы или ликсозы, пиранозные сахара, фуранозные сахара и седогептулоза.

[00185] Пептидные аптамеры можно разрабатывать для того, чтобы препятствовать белковым взаимодействиям. Пептидные аптамеры могут быть основаны на белковом каркасе, на который переменную пептидную петлю, тем самым накладывая ограничение на конформацию аптамера. В некоторых случаях каркасную часть пептидного аптамера

извлекают из бактериального тиоредоксина А (ТгхА).

[00186] Когда целевая молекула является углеводом, потенциально подходящие захватывающие компоненты (как определено в настоящем описании) включают, например, антитела, лектины и селектины. Как примут во внимание средние специалисты в данной области, любую молекулу, которая может специфически ассоциироваться с целевой молекулой, представляющей интерес, потенциально можно использовать в качестве связывающего элемента.

[00187] Для определенных вариантов осуществления, подходящие комплексы целевого анализируемого вещества/связывающего элемента могут включать, но не ограничиваясь этим, антитела/антигены, антигены/антитела, рецепторы/лиганды, лиганды/рецепторы, белки/нуклеиновые кислоты, ферменты/субстраты и/или ингибиторы, углеводы (в том числе гликопротеины и гликолипиды)/лектины и/или селектины, белки/белки, белки/низкомолекулярные соединения и т. д.

[00188] В конкретном варианте осуществления первый связывающий элемент можно прикреплять к твердому носителю через связь, которая может содержать какой-либо фрагмент, функционализацию или модификацию носителя и/или связывающего элемента, которая облегчает прикрепление связывающего элемента к носителю. Связь между связывающим элементом и носителем может содержать одну или несколько химических или физических (например, не специфическое прикрепление через Ван-дер-Ваальсовы силы, образование водородных связей, электростатические взаимодействия, гидрофобные/гидрофильные взаимодействия; и т. д.) связей и/или химических спейсеров, предусматривающих такую связь(связи).

[00189] В некоторых вариантах осуществления твердый носитель также может содержать защитный, блокирующий или пассивирующий слой, который может устранять или минимизировать не специфическое прикрепление не захватывающих компонентов (например, молекул анализируемых веществ, связывающих элементов) со связывающей поверхностью во время анализа, которое может вести к ложным положительным сигналам во время обнаружения или к утрате сигнала. Примеры материалов, которые можно использовать в некоторых вариантах осуществления для того, чтобы формировать пассивирующие слои, включают, но не ограничиваясь этим: полимеры, такие как поли(этиленгликоль), который препятствует не специфическому связыванию белков; встречающиеся в природе белки с этим свойством, такие как сывороточный альбумин и казеин; поверхностно-активные средства, например, цвиттер-ионные поверхностно-активные средства, такие как сульфобетаины; встречающиеся в природе липиды с длинными цепями; полимерные щетки и нуклеиновые кислоты, такие как ДНК спермы лосося.

[00190] В некоторых вариантах осуществления используют связывающие элементы, которые представляют собой белки или полипептиды. Как известно в данной области, любое число способов можно использовать для того, чтобы прикреплять полипептид к широкому спектру твердых носителей. Известен широкий спектр способов для того, чтобы добавлять реакционноспособные фрагменты на белки, например, способ, описанный в патенте США № 5620850. Кроме того, известны способы прикрепления белков к поверхностям, например, см. Heller, Acc. Chem. Res. 23:128 (1990).

[00191] Как изложено в настоящем описании, связывание между связывающими элементами и анализируемым веществом является специфическим, например, как если связывающий элемент и анализируемое вещество являются комплементарными частями пары связывания. В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент специфически связывается с анализируемым веществом. Под «специфически связывается»

или «специфичностью связывания» понимают, что связывающий элемент связывает молекулу анализируемого вещества со специфичностью, достаточной для того, чтобы различать молекулу анализируемого вещества и другие компоненты или контаминанты тестового образца. Например, связывающий элемент, в соответствии с одним из вариантов осуществления, может представлять собой антитело, которое специфически связывается с эпитопом на анализируемом веществе. Антитело, в соответствии с одним из вариантов осуществления, может представлять собой какое-либо антитело, способное специфически связываться с анализируемым веществом, представляющим интерес. Например, подходящие антитела включают, но не ограничиваясь этим, моноклональные антитела, биспецифические антитела, миниантитела, доменные антитела (dAb) (например, такие, как описано в Holt et al. (2014) *Trends in Biotechnology* 21:484-490) и, в том числе, однодоменные антитела sdAb, которые встречаются в природе, например, как у хрящевых рыб и верблюдовых, или которые являются синтетическими, например, нанотела, VHH или другая доменная структура), синтетические антитела (иногда обозначаемые как миметики антител), химерные антитела, гуманизированные антитела, гибридные антитела (иногда обозначаемые как «конъюгаты антител») и фрагменты каждого, соответственно. В качестве другого примера, молекула анализируемого вещества может представлять собой антитело и первый связывающий элемент может представлять собой антиген и второй связывающий элемент может представлять собой вторичное антитело, которое специфически связывается с целевым антителом, или первый связывающий элемент может представлять собой вторичное антитело, которое специфически связывается с целевым антителом, и второй связывающий элемент может представлять собой антиген.

[00192] В некоторых вариантах осуществления связывающий элемент может представлять собой химически запрограммированные антитела (срAb) (описанные в Rader (2014) *Trends in Biotechnology* 32:186-197), биспецифические срAb, антителорекрутирующие молекулы (ARM) (описанные в McEnaney et al. (2012) *ACS Chem. Biol.* 7:1139-1151), разветвленные захватывающие средства, такие как трехлигандное захватывающее средство (описанное в Millward et al. (2011) *J. Am. Chem. Soc.* 133:18280-18288), сконструированные связывающие белки, полученные из каркасов не антител, такие как монотела (полученные из десятого домена фибронектина типа III из фибронектина человека), аффитела (полученные из иммуноглобулинсвязывающего белка A), DARPIn (на основании повторяющихся модулей анкирина), антикарины (полученные из билин-связывающих белков липокалинов и липокалина 2 человека), и пептиды с цистеиновыми узлами (ноттины) (описанные в Gilbreth and Koide, (2012) *Current Opinion in Structural Biology* 22:1-8; Banta et al. (2013) *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 15:93-113), WW домены (описанные в Patel et al. (2013) *Protein Engineering, Design & Selection* 26(4): 307-314), перенацеленные лиганды рецепторов, аффитины (описанные в Béhar et al. (2013) 26:267-275) и/или Adhiron (описанные в Tiede et al. (2014) *Protein Engineering, Design & Selection* 27:145-155).

[00193] В соответствии с одним из вариантов осуществления, в котором анализируемое вещество представляет собой биологическую клетку (например, клетку млекопитающего, птицы, рептилии, другого позвоночного, насекомого, дрожжей, бактерии и т. д.), связывающие элементы могут представлять собой лиганды, имеющие специфическую аффинность к антигену клеточной поверхности (например, рецептору клеточной поверхности). В одном из вариантов осуществления связывающий элемент может представлять собой рецептор молекулы адгезии или его часть, которые обладают специфичностью связывания с молекулой клеточной адгезии, экспрессированной на

поверхности целевого типа клеток. При использовании рецептор молекулы адгезии связывается с молекулой адгезии на внеклеточной поверхности клетки-мишени, тем самым иммобилизуя или захватывая клетку, затем связанную клетку можно обнаруживать с использованием второго связывающего элемента, который может представлять собой то же, что первый связывающий элемент, или может связываться с другой молекулой, экспрессируемой на поверхности клетки.

[00194] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания между молекулами анализируемых веществ и связывающими элементами должна быть достаточной, чтобы оставаться связанными в условиях анализа, включая стадии промывания для того, чтобы удалять молекулы или частицы, которые связаны не специфически. В некоторых случаях, например, при обнаружении определенных биомолекул, константа связывания молекулы анализируемого вещества с ее комплементарным связывающим элементом может составлять между по меньшей мере приблизительно 10^4 и приблизительно 10^6 M^{-1} , по меньшей мере приблизительно 10^5 и приблизительно 10^9 M^{-1} , по меньшей мере приблизительно 10^7 и приблизительно 10^9 M^{-1} , больше приблизительно 10^9 M^{-1} или выше.

Поддающиеся обнаружению метки: маркеры и дающие сигнал вещества.

[00195] Способы, описанные в настоящем описании, могут включать специфический связывающий элемент, связанный с поддающейся обнаружению меткой, такой как маркер, чтобы анализировать анализируемое вещество. Встроенные маркер или метки по существу не препятствуют осуществлению схемы реакции. Например, встроенный маркер или метка не вредит константе связывания или взаимодействию между анализируемым веществом и его комплементарным связывающим элементом. Размер и число встроенных маркеров или меток могут быть связаны со скоростью захвата и скоростью считывания. Скорость захвата и скорость считывания можно увеличивать посредством увеличения размера и/или числа встроенных маркеров или меток. Встроенный маркер или метки не изменяют кинетику связывающего элемента, например, кинетику антитела, или схему реакции. Образцовые маркеры включают полимеры, такие как анионный полимер или катионный полимер (например, полипептид с суммарным положительным зарядом, такой как полигистидин или полилизин), где полимер составляет приблизительно 5-1000 остатков в длину; белок (например, глобулярный белок), который не реагирует перекрестно со связывающим элементом и/или не препятствует анализу, дендример, например, ДНК дендример; и заряженную частицу, например, бусину. Полимерный маркер может включать нуклеиновую кислоту, такую как дезоксирибонуклеиновая кислота или рибонуклеиновая кислота. Полимерный маркер может включать полимеры нуклеиновых оснований. В определенных случаях, маркер может представлять собой ДНК или РНК аптамер, где аптамер не связывается с анализируемым веществом. Полимерный маркер или частица (например, бусина) могут быть достаточно большими для того, чтобы генерировать воспроизводимый сигнал. Аптамеры могут составлять 20-220 оснований в длину, например, 20-60 оснований в длину. Размер частицы (например, бусины или дендримера) может находиться в диапазоне приблизительно от 1 нм приблизительно до 950 нм в диаметре, например, 10 нм-900 нм, 20 нм-800 нм, 30 нм-700 нм, 50 нм-600 нм, 80 нм-500 нм, 100 нм-500 нм, 200 нм-500 нм, 300 нм-500 нм, или 400 нм-500 нм в диаметре, например, 10 нм, 20 нм, 30 нм, 50 нм, 100 нм, 200 нм, 300 нм, 400 нм, 500 нм, 600 нм, 700 нм, 800 нм или 900 нм. В определенных случаях, бусину/частицу можно создавать из материала, который имеет суммарный отрицательный или положительный заряд, или который

можно обрабатывать так, чтобы иметь суммарный отрицательный или положительный заряд. Образцовые бусины/частицы включают те, которые выполняют из органических или неорганических полимеров. Органические полимеры включают полимеры, такие как полистирол, карбон, полиакриламид и т. д. Неорганические полимеры включают кремниевые или металлические бусины/частицы. В определенных случаях бусины/частицы могут не быть магнитными.

[00196] В определенных случаях маркер может представлять собой одноцепочечную ДНК или РНК. Предварительно одноцепочечную ДНК или РНК можно гибридизовать с молекулой зонда. В определенных случаях способ может включать анализ нескольких анализируемых веществ в одном образце. Вторые связывающие элементы, которые связываются с различными анализируемыми веществами в образце, могут содержать различные одноцепочечные ДНК или РНК, прикрепленные к ним в качестве маркеров, и различные одноцепочечные ДНК или РНК можно гибридизовать с различными зондами, которые дополнительно отличают различные одноцепочечные ДНК или РНК друг от друга. В других вариантах осуществления маркеры, прикрепленные к различным вторым связывающим элементам, могут иметь различные шпильчатые структуры (например, по длине шпильчатой структуры), которые можно различать. В еще одном другом варианте осуществления маркеры, прикрепленные к различным вторым связывающим элементам, могут иметь различные длины, которые можно различать, например, маркеры могут представлять собой двухцепочечные ДНК различной длины (например, 25 п. о., 50 п. о., 75 п. о., 100 п. о., 150 п. о., 200 п. о. или больше). В определенных случаях маркеры, прикрепленные к различным вторым связывающим элементам, могут иметь различные фрагменты полиэтиленгликоля (PEG) или могут представлять собой ДНК или РНК, дифференциально модифицированную с использованием PEG.

[00197] Следует отметить, что упоминание маркера или молекулы маркера охватывает один маркер или одну молекулу маркера, а также множество маркеров (все они могут быть идентичными). Маркер может иметь любые размер и геометрическую форму. В некоторых вариантах осуществления маркер может представлять собой наночастицу или нанобусину около 10 и 950 нм в диаметре, например, 20-900 нм, 30-800 нм, 40-700 нм, 50-600 нм, 60-500 нм, 70-400 нм, 80-300 нм, 90-200 нм, 100-150 нм, 200-600 нм, 400-500 нм, 2-10 нм, 2-4 нм или 3-4 нм в диаметре. Маркер может быть по существу сферическим, например, сферической бусиной или нанобусиной, или полусферическим. Маркер может представлять собой белок приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 50 кДа в размере, например, приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 0,8 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 1,0 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 1,5 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 2,0 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 5 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 50 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 100 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 150 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 200 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 250 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 300 кДа приблизительно до 400 кДа, приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 0,8 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 1,0 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 1,5 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 2,0 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 5 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 50 кДа

приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 100 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 150 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 200 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 250 кДа приблизительно до 300 кДа, приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 0,8 кДа
 5 приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 1,0 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 1,5 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 2,0 кДа приблизительно до 250 кДа в размере, приблизительно от 5 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 50 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 100 кДа приблизительно до 250
 10 кДа, приблизительно от 150 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 200 кДа приблизительно до 250 кДа, приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 0,8 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 1,0 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 1,5 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 2,0 кДа приблизительно до 200 кДа в размере, приблизительно
 15 от 5 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 50 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 100 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 150 кДа приблизительно до 200 кДа, приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 0,8 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 1,0 кДа приблизительно до 100
 20 кДа, приблизительно от 1,5 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 2,0 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 5 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 50 кДа приблизительно до 100 кДа, приблизительно от 0,5 кДа приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 0,8 кДа приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 1,0 кДа
 25 приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 1,5 кДа приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 2,0 кДа приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 5 кДа приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 50 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 90 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 80 кДа, приблизительно от 10 кДа приблизительно до 70 кДа,
 30 приблизительно от 10 кДа приблизительно до 60 кДа, приблизительно от 20 кДа приблизительно до 90 кДа, приблизительно от 20 кДа приблизительно до 80 кДа, приблизительно от 20 кДа приблизительно до 70 кДа, приблизительно от 20 кДа приблизительно до 60 кДа, приблизительно от 40 кДа приблизительно до 90 кДа, приблизительно от 40 кДа приблизительно до 80 кДа, приблизительно от 40 кДа
 35 приблизительно до 70 кДа или приблизительно от 40 кДа приблизительно до 60 кДа.

[00198] В некоторых вариантах осуществления маркер может представлять собой наночастицу или нанобусину. Как отмечено в настоящем описании, наночастицу можно обратимо (например, с возможностью отщепления) прикреплять ко второму
 связывающему элементу. В определенных аспектах наночастица может представлять
 40 собой нанобусину определенного диаметра. В определенных случаях способы, системы и устройства по настоящему раскрытию можно использовать для того, чтобы одновременно анализировать множество различных анализируемых веществ в образце. Для такого анализа можно использовать множество вторых связывающих элементов, каждый из которых специфически связывается с когнатным анализируемым веществом.
 45 Каждый из различных вторых связывающих элементов можно прикреплять к нанобусине отличающегося размера, что можно использовать для того, чтобы идентифицировать второй связывающий элемент. Например, различные маркеры нанобусин могут иметь различные диаметры, такие как 1 нм, 2 нм, 4 нм, 6 нм, 8 нм, 10 нм, 12 нм, 14 нм или

более, например, вплоть до 20 нм, 30 нм, 50 нм, 100 нм, 200 нм, 300 нм, 400 нм, 500 нм, 600 нм, 700 нм, 800 нм, 900 нм, 950 нм или 990 нм.

[00199] Образцовые наночастицы, которые можно использовать в качестве маркеров в данных способах, включают наночастицы золота или наночастицы полистирола с диаметром в диапазоне от 5 нм до 950 нм.

[00200] В определенных случаях маркер может представлять собой полимер, такой как нуклеиновая кислота. Присутствие маркера можно определять посредством обнаружения сигнала, характерного для маркера, такого как сигнал, связанный с размером или длиной полимерного маркера. Размер или длину полимерного маркера можно определять посредством измерения его времени пребывания в поре или канале, например, посредством измерения длительности временного блокирования тока.

[00201] Элементы, которые могут быть частью маркера или метки, составлять их полностью, быть связанными с ними или прикрепленными к ним, включают: наночастицу; частицу золота; частицу серебра; покрытие или осадок серебра, меди, цинка или другого металла; полимер; дрэг-маркер (как определено в настоящем описании); магнитную частицу; плавучую частицу; частицу металла; заряженный фрагмент; диэлектрофоретический маркер, диоксид кремния, с примесями (например, кварца, стекла и т. д.) или без них; поли(метилметакрилат) (PMMA); полиимид; нитрид кремния; золото; серебро; квантовую точку (в том числе квантовую точку CdS); углеродную точку; флуорофор; гаситель; полимер; полистирол; янус-частицу; рассеивающую частицу; флуоресцентную частицу; фосфоресцентную частицу; сферу; куб; изолятор; проводник; частицу со штриховым кодом или меткой; пористую частицу; твердую частицу; нанооболочку; наностержень; микросферу; анализируемое вещество, такое как вирус, клетка, паразит и организм; нуклеиновую кислоту; белок; молекулярный распознающий элемент; спейсер; PEG; дендример; модификатор заряда; магнитный материал; фермент; ДНК, содержащую последовательность аптамера; амплифицируемую ДНК; последовательность повтора ДНК; слияние или конъюгат поддающихся обнаружению элементов с молекулярными распознающими элементами (например, сконструированным связывающим элементом); аптамер против антитела; аптамер, направленный на антителосвязывающий белок; абсорбированное или адсорбированное поддающееся обнаружению соединение; гем; люциферин; фосфор; азидо или алкин (например, концевой или неконцевой алкин) или другой участник реакций клик-химии.

[00202] В некоторых вариантах осуществления маркер можно выбирать для обеспечения скорости захвата, которая достаточно высока, чтобы сделать возможным быстрый анализ образца. В некоторых вариантах осуществления скорость захвата маркера может составлять приблизительно 1 событие каждые 10 секунд, 1 событие каждые 5 секунд, 1 событие в секунду или более. В некоторых вариантах осуществления можно использовать линейные полимерные маркеры, такие как полимеры рибозы, полимеры дезоксирибозы, олигонуклеотиды, ДНК или РНК.

[00203] В определенных случаях, линейные полимерные маркеры, такие как, полимеры рибозы, полимеры дезоксирибозы, олигонуклеотиды, ДНК или РНК, можно не использовать, поскольку скорость захвата для этих маркеров может быть слишком низкой для определенных применений. Маркеры, которые имеют полусферическую, сферическую или по существу сферическую форму и, таким образом, уменьшают длительность анализа, можно использовать в применениях, где необходим более быстрый подсчет маркера. В определенных случаях размер сферического или полусферического маркера можно выбирать на основании скорости захвата, требуемой для анализа. Например, для более высокой скорости захвата можно выбирать

сферические или полусферические маркеры большего размера. В определенных случаях маркер может представлять собой сферический маркер, такой как наночастица/ нанобусина, которая имеет скорость захвата приблизительно в 10 раз, 30 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз или 1000 раз выше скорости захвата для линейного маркера, такого как ДНК маркер, при тех же условиях измерения.

[00204] В некоторых вариантах осуществления маркер можно конъюгировать с антителом, например, конъюгат антитела CPSP. В некоторых вариантах осуществления маркер можно конъюгировать с антителом с использованием спейсера, например, конъюгат антитела CPSP со спейсером. В некоторых вариантах осуществления маркер можно конъюгировать с олигонуклеотидом и антителом, например, конъюгат олигонуклеотид-антитело CPSP. В некоторых вариантах осуществления маркер можно конъюгировать с олигонуклеотидом и антителом с использованием спейсера, например, конъюгат олигонуклеотид-антитело CPSP со спейсером. В некоторых вариантах осуществления маркер можно конъюгировать с олигонуклеотидом, например, конъюгат олигонуклеотида CPSP.

[00205] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, могут включать специфический связывающий элемент, связанный с поддающейся обнаружению меткой, такой как дающее сигнал вещество, такое как хромогены, флуоресцентные соединения, ферменты, хемилюминесцентные соединения, радиоактивные соединения, частицы (при условии, что они обладают флуоресцентными свойствами) и т. п. Примеры меток, которые содержат фрагменты, которые дают свет, например, соединения акридиния, и фрагменты, которые дают флуоресценцию, например, флуоресцеин.

[00206] Любое подходящее дающее сигнал вещество, известное в данной области, можно использовать в качестве поддающейся обнаружению метки. Например, поддающаяся обнаружению метка может представлять собой радиоактивную метку (такую как ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho и ^{153}Sm), ферментативную метку (такую как пероксидаза хрена, щелочная пероксидаза, глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа и т. п. (если используют ферменты, то также следует добавлять соответствующий субстрат фермента)), хемилюминесцентную метку (такую как сложные эфиры акридиния, сложные тиозфиры или сульфонамиды; люминол, изолуминол, сложные эфиры фенантридиния и т.п.), флуоресцентную метку (такую как флуоресцеин (например, 5-флуоресцеин, 6-карбоксифлуоресцеин, 3'-карбоксифлуоресцеин, 5(6)-карбоксифлуоресцеин, 6-гексахлорфлуоресцеин, 6-тетрахлорфлуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат и т. п.)), родамин, фикобилипротеины, R-фикоэритрин, квантовые точки (например, селенид кадмия, покрытый сульфидом цинка), термометрическую метку или метку иммуно-ПЦР. Введение меток, процедуры мечения и обнаружение меток можно найти в Polak and Van Noorden, Introduction to Immunocytochemistry, 2-е изд., Springer Verlag, N.Y. (1997), и в Haugland, Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (1996), которая представляет собой комбинированный справочник и каталог, опубликованный в Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon. Флуоресцентную метку можно использовать в FPIA (см., например, патенты США №№ 5593896, 5573904, 5496925, 5359093 и 5352803, которые включены, таким образом, посредством ссылки в полном объеме). Соединение акридиния можно использовать в качестве поддающейся обнаружению метки в гомогенном хемилюминесцентном анализе (см., например, Adamczyk et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 16: 1324-1328 (2006); Adamczyk et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 4: 2313-2317 (2004); Adamczyk et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 14: 3917-3921 (2004); и Adamczyk et al., Org. Lett. 5: 3779-3782

(2003)).

[00207] В одном из аспектов, соединением акридиния является акридиний-9-карбоксамид. Способы получения акридиний-9-карбоксамидов описаны в Mattingly, J. *Biolumin. Chemilumin.* 6: 107-114 (1991); Adamczyk et al., *J. Org. Chem.* 63: 5636-5639 (1998);
 5 Adamczyk et al., *Tetrahedron* 55: 10899-10914 (1999); Adamczyk et al., *Org. Lett.* 1: 779-781 (1999); Adamczyk et al., *Bioconjugate Chem.* 11: 714-724 (2000); Mattingly et al., In *Luminescence Biotechnology: Instruments and Applications*; Dyke, K. V. Ed.; CRC Press: Boca Raton, стр. 77-105 (2002); Adamczyk et al., *Org. Lett.* 5: 3779-3782 (2003); и патентах США №№ 5468646, 5543524 и 5783699 (каждый включен в настоящий документ посредством
 10 ссылки в полном объеме в отношении их положений, касающихся того же).

[00208] Другим примером соединения акридиния является сложный ариловый эфир акридиний-9-карбоксилата. Примером сложного арилового эфира акридиний-9-карбоксилата формулы II является 10-метил-9-(феноксикарбонил)акридиния фторсульфонат (доступный в Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). Способы получения
 15 сложных ариловых эфиров акридиний-9-карбоксилата описаны в McCapra et al., *Photochem. Photobiol.* 4: 1111-21 (1965); Razavi et al., *Luminescence* 15: 245-249 (2000); Razavi et al., *Luminescence* 15: 239-244 (2000); и патенте США № 5241070 (каждый включен в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме в отношении их положений, касающихся того же). Такие сложные ариловые эфиры акридиний-9-карбоксилата
 20 представляют собой эффективные хемилюминесцентные индикаторы для пероксида водорода, образуемого при окислении анализируемого вещества по меньшей мере одной оксидазой относительно интенсивности сигнала и/или скорости сигнала.

Протекание хемилюминесцентной эмиссии для сложного арилового эфира акридиний-9-карбоксилата завершается быстро, т. е., менее 1 секунды, тогда как
 25 хемилюминесцентная эмиссия акридиний-9-карбоксамидов длится более 2 секунд. Однако сложный ариловый эфир акридиний-9-карбоксилата теряет свои хемилюминесцентные свойства в присутствии белка. Следовательно, его использование требует отсутствия белка во время генерации и обнаружения сигнала. Способы отделения или удаления белков в образце общеизвестны специалистам в данной области и включают, но не
 30 ограничиваясь этим, ультрафильтрацию, экстрагирование, преципитацию, диализ, хроматографию и/или расщепление (см., например, Wells, *High Throughput Bioanalytical Sample Preparation. Methods and Automation Strategies*, Elsevier (2003)). Количество белка, удаляемого или отделяемого от тестового образца, может составлять приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно
 35 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, приблизительно 75%, приблизительно 80%, приблизительно 85%, приблизительно 90% или приблизительно 95%.

Дополнительные подробности, касающиеся сложного арилового эфира акридиний-9-карбоксилата и его использования изложены в заявке на патент США № 11/697,835, поданной 9 апреля 2007 года. Сложные ариловые эфиры акридиний-9-карбоксилата
 40 можно растворять в любом подходящем растворителе, таком как дегазированный безводный N,N-диметилформамид (DMF) или водный холат натрия.

Расщепляемый линкер.

[00209] Маркеры, используемые в способах, описанных в настоящем описании, можно прикреплять к специфическому связывающему элементу с помощью обычного
 45 линкера. Расщепляемый линкер обеспечивает возможность удаления маркера. Обычный линкер может представлять собой расщепляемый линкер. Например, маркер можно прикреплять ко второму связывающему элементу через расщепляемый линкер. Комплекс первого связывающего элемента-анализируемого вещества-второго связывающего

элемента можно подвергать воздействию расщепляющего средства, которое опосредует расщепление расщепляемого линкера. Линкер можно расщеплять с помощью любого подходящего способа, включая воздействие кислот, оснований, нуклеофилов, электрофилов, радикалов, металлов, восстановителей или окислителей, света, температуры, ферментов и т.д. Подходящие линкеры можно адаптировать из стандартных химических блокирующих групп, как раскрыто в Greene & Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons. Дополнительные подходящие расщепляемые линкеры, используемые в твердофазном синтезе, раскрыты в Guillier et al. (*Chem. Rev.* 100:2092-2157, 2000). Линкер может быть расщепляемым кислотой, расщепляемым основанием или фоторасщепляемым. Окислительно-восстановительная реакция может быть частью схемы расщепления. Расщепляемый линкер может представлять собой заряженный полимер.

[00210] Линкер может представлять собой фоторасщепляемый линкер, химически расщепляемый линкер или термически расщепляемый линкер. Когда линкер представляет собой фоторасщепляемую группу, расщепляющим средством может быть свет подходящей длины волны, который разрушает или расщепляет фоторасщепляемую группу. Во многих вариантах осуществления длина волны света, используемого для того, чтобы расщеплять фоторасщепляемую линкерную группу, находится в диапазоне приблизительно от 180 нм до 400 нм, например, приблизительно от 250 нм до 400 нм или приблизительно от 300 нм до 400 нм. Предпочтительно свет, необходимый для того, чтобы активировать расщепление, не влияет на другие компоненты анализируемого вещества. Подходящие линкеры включают те, которые основаны на соединениях О-нитробензила и соединениях нитровератрила. Также можно использовать линкеры, основанные на химических свойствах бензоина (Lee et al., *J. Org. Chem.* 64: 3454-3460, 1999).

[00211] Альтернативно, когда расщепляемый линкер представляет собой химически расщепляемую группу, расщепляющее средство может представлять собой химический агент, способный расщеплять группу. Химически расщепляемый линкер можно расщеплять посредством расщепления на основе окисления/восстановления, расщепления, катализируемого кислотой, расщепления, катализируемого основанием, или нуклеофильного замещения. Например, когда линкерная группа представляет собой дисульфид, для отщепления маркера можно использовать дитиотреитол или бетамеркаптоэтанол. В других вариантах осуществления, где линкерная группа представляет собой участок рестрикции, средство представляет собой каталитическое средство, такое как фермент, который может представлять собой гидролитический фермент, рестрикционный фермент или другой фермент, который расщепляет линкерную группу. Например, рестрикционный фермент может представлять собой рестрикционный фермент I типа, II типа, IIS типа, III типа и IV типа.

[00212] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер представляет собой ферментативно-расщепляемую последовательность. В одном из аспектов какого-либо из вариантов осуществления в настоящем описании, ферментативно-расщепляемая последовательность представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты из 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов в длину. В одном из вариантов осуществления ферментативно-расщепляемая последовательность содержит последовательность по меньшей мере из 10 нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления ферментативно-расщепляемая последовательность содержит последовательность от 2 до 20 нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления ферментативно-расщепляемая последовательность содержит последовательность от 2 до 15 нуклеотидов. В одном из вариантов

осуществления ферментативно-расщепляемая последовательность содержит последовательность от 4 до 10 нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления ферментативно-расщепляемая последовательность содержит последовательность от 4 до 15 нуклеотидов.

5 [00213] Например, расщепляемый линкер может представлять собой акридиний, простые эфиры, такие как замещенный простой бензиловый эфир или его производные (например, простой бензилгидриловый эфир, простой инданиловый эфир и т.д.), которые можно расщеплять с помощью кислых или мягких восстановительных условий (например, пероксида водорода, чтобы получать акридон и сульфонамид), заряженный
10 полимер, созданный с использованием Р-элиминирования, где слабое основание может служить для отщепления продукта, ацетали, включая их тиааналоги, где отсоединение выполняют с помощью слабой кислоты, в частности, в присутствии захватывающего карбонильного соединения, фотолabile связи (например, простые или сложные эфиры О-нитробензоила, 7-нитроинданила, 2-нитробензгидрила и т. д.) или пептидные
15 линкеры, которые подвержены ферментативному гидролизу, в частности, когда фермент распознает конкретную последовательность, такую как пептид для фактора Ха или энтерокиназа. Примеры линкеров включают, но не ограничиваясь этим, дисульфидные линкеры, кислото-неустойчивые линкеры (включая диалкоксибензиловые линкеры), линкеры Зибера, индолы, линкеры, т-бутиловые линкеры Зибера, электрофильно-
20 расщепляемые линкеры, нуклеофильно-расщепляемые линкеры, фоторасщепляемые линкеры, расщепление при восстановительных условиях, окислительных условиях, расщепление через использование надежно связанных линкеров и расщепление посредством механизмов элиминирования.

[00214] Электрофильно-расщепляемые линкеры типично расщепляются протонами
25 и включают расщепления, чувствительные к кислотам. Подходящие линкеры включают модифицированные бензиловые системы, такие как тритил, сложные п-алкоксибензиловые эфиры и п-алкоксибензиламида. Другие подходящие линкеры включают трет-бутилоксикарбонильные (Вос) группы и ацетальную систему. Использование тиофильных металлов, таких как никель, серебро или ртуть, при
30 отщеплении тиацетала или других серусодержащих защитных групп, также можно рассматривать для получения подходящих линкерных молекул.

[00215] Для нуклеофильного отщепления можно использовать группы, такие как сложные эфиры, которые не стабильны в воде (т.е., могут быть отщеплены просто при щелочном pH), и группы, которые не устойчивы в присутствии неводных нуклеофилов.
35 Фторид-ионы можно использовать для расщепления связей кремний-кислород в таких группах, как триизопропилсилан (TIPS) или т-бутилдиметилсилан (TBDMS).

[00216] Можно использовать линкер, подверженный восстановительному расщеплению, например, с использованием восстановления дисульфидных связей. Каталитическую гидрогенизацию с использованием катализаторов на основе палладия
40 использовали для отщепления бензиловых и бензилоксикарбонильных групп.

[00217] Подходы, основанные на окислении, хорошо известны в данной области. Они включают окисление п-алкоксибензиловых групп и окисление серных и селеновых линкеров. Также можно использовать водный йод для расщепления дисульфидов и других линкеров на основе серы или селена.

45 [00218] Надежно связанными линкерами являются те, расщепление которых проходит в две стадии. В предпочтительной системе первая стадия представляет собой создание реакционноспособного нуклеофильного центра, после чего следует вторая стадия, которая включает внутримолекулярное замыкание кольца, которое ведет к

расщеплению. Например, левулиновые сложноэфирные связи можно обрабатывать гидразином или проводить фотохимическую реакцию для отщепления активного амина, который затем можно циклизовать для расщепления сложного эфира в другом месте в молекуле (Burgess et al., J. Org. Chem. 62:5165-5168, 1997).

- 5 [00219] Также можно использовать реакции элиминирования. Например, можно использовать катализируемое основанием элиминирование групп, таких как Fmoc и цианоэтил, и катализируемое палладием восстановительное элиминирование аллиловых систем.

10 Интегрированное цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство

[00220] В настоящем описании описаны системы, устройства и способ, которые относятся к интегрированному цифровому микрожидкостному и обнаруживающему анализируемому веществу устройству.

- 15 [00221] В некоторых вариантах осуществления интегрированное цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство может иметь два модуля: модуль подготовки образца и модуль обнаружения анализируемого вещества. В некоторых вариантах осуществления модуль подготовки образца и модуль обнаружения анализируемого вещества являются отдельными или отдельными и смежными. В некоторых вариантах осуществления модуль подготовки образца и модуль
- 20 обнаружения анализируемого вещества расположены совместно, совмещены или переплетены. Модуль подготовки образца может содержать серию или множество электродов для перемещения, слияния, разведения, смешивания, разделения капелек образцов и реактивов. Модуль обнаружения анализируемого вещества может содержать массив лунок, в которых обнаруживают сигнал, связанный с анализируемым веществом.
- 25 В определенных случаях, модуль обнаружения также может содержать серию или множество электродов для перемещения капельки подготовленного образца в массив лунок. В некоторых вариантах осуществления модуль обнаружения может содержать массив лунок в первой подложке (например, верхней подложке), которую располагают поверх второй подложки (например, нижней подложки), отделенной с помощью зазора.
- 30 В этих вариантах осуществления массив лунок находится в ориентации вверх дном. В некоторых вариантах осуществления модуль обнаружения может содержать массив лунок во второй подложке (например, нижней подложке), которую располагают под первой подложкой (например, верхней подложкой), отделенной с помощью зазора. В таких вариантах осуществления первая подложка и вторая подложка расположены
- 35 обращенными друг к другу. Капельку можно перемещать (например, посредством электрического приведения в движение) в массив лунок с использованием электрода (ов), присутствующего в первой подложке и/или второй подложке. В некоторых вариантах осуществления массив лунок, включая участок между лунками, может быть гидрофобным. В других вариантах осуществления серия или множество электродов
- 40 могут быть ограничены модулем подготовки образца, и капельку подготовленного образца (и/или капельку несмешиваемого текучего вещества) можно перемещать в модуль обнаружения с помощью другого средства.

- [00222] В некоторых вариантах осуществления модуль подготовки образца можно использовать для осуществления стадий иммунологического анализа. Какой-либо
- 45 формат иммунологического анализа можно использовать для того, чтобы генерировать поддающийся обнаружению сигнал, этот сигнал отражает присутствие анализируемого вещества, представляющего интерес, в образце и пропорционален количеству анализируемого вещества в образце. Образцовые иммунологические анализы описаны

в настоящем описании.

[00223] В определенных случаях модуль обнаружения содержит массив лунок, которые оптически опрашивают для того, чтобы измерять сигнал, связанный с количеством анализируемого вещества, присутствующего в образце. Массив лунок может иметь субфемтолитровый объем, фемтолитровый объем, субнанолиитровый объем, нанолиитровый объем, субмикролиитровый объем или микролиитровый объем. Например, массив лунок может представлять собой массив фемтолиитровых лунок, массив нанолиитровых лунок или массив микролиитровых лунок. В некоторых вариантах осуществления все лунки в массиве могут иметь по существу один и тот же объем.

Массив лунок может иметь объем вплоть до 100 мкл, например, приблизительно 0,1 фемтолиитра, 1 фемтолиитр, 10 фемтолиитров, 25 фемтолиитров, 50 фемтолиитров, 100 фемтолиитров, 0,1 пл, 1 пл, 10 пл, 25 пл, 50 пл, 100 пл, 0,1 нл, 1 нл, 10 нл, 25 нл, 50 нл, 100 нл, 0,1 микролиитра, 1 микролиитр, 10 микролиитров, 25 микролиитров, 50 микролиитров или 100 микролиитров.

[00224] В некоторых вариантах осуществления как модуль подготовки образца, так и модуль обнаружения могут присутствовать на единой базовой подложке, и как модуль подготовки образца, так и модуль обнаружения могут содержать серию или множество электродов для перемещения капелек жидкости. В некоторых вариантах осуществления такое устройство может содержать первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку располагают поверх первой подложки и отделяют от первой подложки с помощью зазора. Первая подложка может содержать первую часть (например, проксимальную часть), в которой располагают модуль подготовки образца, где капельку жидкости вводят в устройство, и вторую часть (например, дистальную часть), в направлении которой перемещают капельку жидкости, в этой второй части располагают

модуль обнаружения. Специалисту в данной области будет понятно, что использование «проксимального» в связи с «дистальным» и «первого» в связи со «вторым» являются относительными терминами и взаимозаменяемыми в отношении друг друга. В некоторых вариантах осуществления первая часть и вторая часть являются отдельными или отдельными и смежными. В некоторых вариантах осуществления первую часть и вторую часть располагают совместно, совмещают или переплетают. Первая подложка может содержать серию или множество электродов, наложенных на верхнюю поверхность первой подложки и идущих от первой части ко второй части. Первая подложка может содержать слой, расположенный на верхней поверхности первой подложки, который покрывает серию или множество электродов и идет от первой части ко второй части.

Первый слой можно создавать из материала, который представляет собой диэлектрический и гидрофобный материал. Примеры материала, который является диэлектрическим и гидрофобным, включают материал из политетрафторэтилена (например, Teflon®) или фторсурфактант (например, FluoroPel™). Первый слой можно располагать таким образом, чтобы обеспечивать по существу плоскую поверхность.

Массив лунок может быть расположен во второй части первой подложки и перекрывать часть серии или множества электродов, а также формировать модуль обнаружения.

Массив лунок может быть расположен в первом слое. В некоторых вариантах осуществления до или после изготовления массива лунок в первом слое, гидрофильный слой можно располагать поверх первого слоя во второй части первой подложки, чтобы предоставлять массив лунок, которые имеют гидрофильную поверхность. Пространство/зазор между первой и второй подложками можно заполнять воздухом или несмешиваемым текучим веществом. В некоторых вариантах осуществления пространство/зазор между первой и второй подложками можно заполнять воздухом.

[00225] В некоторых вариантах осуществления как модуль подготовки образца, так и модуль обнаружения можно изготавливать с использованием одной базовой подложки, но серия или множество электродов для перемещения капелек жидкости может присутствовать только в модуле подготовки образца. В таком варианте осуществления первая подложка может содержать серию или множество электродов, накладываемых на верхнюю поверхность первой подложки в первой части первой подложки, где серия или множество электродов не проходит во вторую часть первой подложки. В таких вариантах осуществления, серию или множество электродов располагают только в первой части. Первый слой диэлектрического/гидрофобного материала (например, Teflon), как описано выше, можно располагать на верхней поверхности первой подложки, и он может покрывать серию или множество электродов. В некоторых вариантах осуществления первый слой можно располагать только поверх первой части первой подложки. В других вариантах осуществления первый слой можно располагать поверх верхней поверхности первой подложки поверх первой части, а также второй части. Массив лунок может быть расположен в первом слое во второй части первой подложки, формируя модуль обнаружения, который не содержит серию или множество электродов, присутствующих под массивом лунок.

[00226] В определенных случаях первый слой может представлять собой диэлектрический слой, и второй слой гидрофобного материал можно располагать поверх диэлектрического слоя. Массив лунок может быть расположен в гидрофобном слое. До или после изготовления массива лунок в гидрофобном слое, гидрофильный слой можно располагать поверх гидрофобного слоя во второй части первой подложки.

[00227] В некоторых вариантах осуществления вторая подложка может проходить поверх первой и второй частей первой подложки. В таком варианте осуществления вторая подложка может быть по существу прозрачной, по меньшей мере в участке, перекрывающем массив лунок. В других случаях вторую подложку можно располагать разнесенным образом поверх первой части первой подложки и можно не располагать поверх второй части первой подложки. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления вторая подложка может присутствовать в модуле подготовки образца, но не в модуле обнаружения.

[00228] В определенных случаях вторая подложка может содержать проводящий слой, который формирует электрод. Проводящий слой можно располагать на нижней поверхности второй подложки. Проводящий слой можно покрывать первым слоем, выполненным из диэлектрического/гидрофобного материала, как описано выше. В определенных случаях, проводящий слой можно покрывать диэлектрическим слоем. Диэлектрический слой можно покрывать гидрофобным слоем. Проводящий слой и любой слой(слои), покрывающий его, можно располагать на нижней поверхности второй подложки, или он может присутствовать только на первой части второй подложки. В некоторых вариантах осуществления вторая подложка может проходить по первой и второй частям первой подложки. В таком варианте осуществления вторая подложка и какие-либо слои, расположенные на ней (например, проводящий слой, диэлектрический слой и т.д.), могут быть по существу прозрачными, по меньшей мере в участке, перекрывающем массив лунок.

[00229] В других случаях серию или множество электродов на первой подложке можно выполнять в виде копланарных электродов, а вторая подложка может не содержать электрод.

[00230] В определенных случаях электроды, присутствующие в первом слое и/или втором слое, можно изготавливать из по существу прозрачного материала, такого как

оксид индия олова, легированного фтором оксида олова (FTO), легированного оксида цинка и т.п.

[00231] В некоторых вариантах осуществления модуль подготовки образца и модуль обнаружения можно изготавливать на одной базовой подложке. В других вариантах осуществления модуль подготовки образца и модули обнаружения можно изготавливать на отдельных подложках, которые впоследствии можно соединять для того, чтобы формировать интегрированное микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство. В некоторых вариантах осуществления первую и вторую подложки можно разносить с использованием спейсера, который может быть расположен между подложками.

[00232] Устройства, описанные в настоящем описании, могут быть плоскими и могут иметь какую-либо геометрическую форму, такую как прямоугольник или квадрат, прямоугольник или квадрат со скругленными углами, круг, треугольник и т.п.

[00233] Капельная микрожидкостная техника относится к созданию и приведению в движение (такому как перемещение, слияние, разделение и т. д.) капелек жидкости через активные или пассивные силы. Примеры активных сил включают, но не ограничиваясь этим, электрическое поле. Образцовые способы с активными силами включают электросмачивание, диэлектрофорез, оптоэлектросмачивание, опосредованные электродом, опосредованные электрическим полем, электростатическое приведение в движение и т.п. или их сочетание. В некоторых примерах устройство может приводить в движение капельки жидкости по верхней поверхности первого слоя (или верхней поверхности второго слоя, когда имеет место) в зазоре через капельную микрожидкостную технику, такую как электросмачивание или через комбинацию электросмачивания и непрерывный поток текучего вещества капелек жидкости. В других примерах устройство может содержать микроканалы для того, чтобы доставлять капельки жидкости из модуля подготовки образца в модуль обнаружения. В других примерах устройство может быть основано на приведение в движение капелек жидкости по поверхности гидрофобного слоя в зазоре через капельную микрожидкостную технику. Электросмачивание может включать изменение свойств смачивания поверхности посредством наложения электрического поля на поверхность и воздействие на поверхностное натяжение между капелькой жидкости, присутствующей на поверхности, и поверхностью. Непрерывный поток текучего вещества можно использовать для того, чтобы перемещать капельки жидкости посредством внешнего источника давления, такого как внешний механический насос или интегрированные механические микронасосы, или комбинации капиллярных сил и электрокинетических механизмов. Примеры пассивных сил включают, но не ограничиваясь этим, Т-образное соединение и способы фокусировки потока. Другие примеры пассивных сил включают использование более плотных несмешиваемых жидкостей, таких как тяжелые масляные текучие вещества, которые можно сопрягать с капельками жидкости на поверхности первой подложки и вытеснять капельки жидкости с поверхности. Более плотная несмешиваемая жидкость может представлять собой какую-либо жидкость, которая плотнее воды и не смешивается с водой в существенной мере. Например, несмешиваемая жидкость может представлять собой углеводороды, галогенированные углеводороды, полярное масло, неполярное масло, фторированное масло, хлороформ, дихлорметан, тетрагидрофуран, 1-гексанол и т.д.

[00234] Пространство между первой и второй подложками может составлять вплоть до 1 мм в высоту, например, 0,1 мкм, 0,5 мкм, 1 мкм, 5 мкм, 10 мкм, 20 мкм, 50 мкм, 100 мкм, 140 мкм, 200 мкм, 300 мкм, 400 мкм, 500 мкм, от 1 мкм до 500 мкм, от 100 мкм до

200 мкм и т. д. Объем капельки, создаваемой и перемещаемой в устройствах, описанных в настоящем описании, может находиться в диапазоне приблизительно от 10 мкл приблизительно до 5 пл, таком как от 10 мкл до 1 пл, от 7,5 мкл до 10 пл, от 5 мкл до 1 нл, от 2,5 мкл до 10 нл или от 1 мл до 100 нл, 800-200 нл, от 10 до 0,5 мкл, например, 10 мкл, 1 мл, 800 нл, 100 нл, 10 нл, 1 нл, 0,5 нл, 10 пл или меньше.

[00235] На фиг. 1А проиллюстрировано образцовое интегрированное цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство 10. Устройство 10 содержит первую подложку 11 и вторую подложку 12, где вторую подложку 12 располагают поверх первой подложки 11 и отделяют от первой подложки с помощью зазора 13. Как проиллюстрировано на фиг. 1А, вторая подложка 12 той же длины, что и первая подложка 11. Однако в других образцовых устройствах первая подложка 11 и вторая подложка 12 могут быть разной длины. Вторая подложка может содержать или не содержать электрод. Первая подложка 11 содержит первую часть 15, где капельку жидкости, такую как капля образца, капля реактива и т.д., вводят на первую подложку 11. Первая подложка 11 содержит вторую часть 16, в направлении которой перемещают капельку жидкости. Первую часть 15 также можно обозначать как модуль подготовки образца и вторую часть 16 можно обозначать как модуль обнаружения анализируемого вещества. Первая подложка 11 содержит серию или множество электродов 17, расположенных на верхней поверхности первой подложки 11. Слой 18 диэлектрического/гидрофобного материала (например, Teflon, который является диэлектрическим и гидрофобным) располагают на верхней поверхности первой подложки и покрывают им серию или множество электродов 17. Массив лунок 19 располагают в слое 18 на второй части 16 первой подложки.

[00236] На фиг. 1В проиллюстрирован другой пример интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства 20, которое содержит первую подложку 21 и вторую подложку 22, где вторую подложку 22 располагают поверх первой подложки 20 и отделяют от верхней поверхности первой подложки с помощью зазора 23. Первая подложка 21 содержит первую часть 25, где жидкость вводят в первую подложку 21 и вторую часть 26, в направлении которой жидкость направляют для обнаружения сигнала, связанного с анализируемым веществом. Первая подложка 21 содержит серию или множество электродов 27, расположенных на верхней поверхности первой подложки. Слой 28 диэлектрического материала располагают на верхней поверхности первой подложки 21 и покрывают им серию или множество электродов 27. В этом образцовом устройстве серию или множество электродов 27 располагают только на первой части первой подложки 21. Вторая подложка 22 может содержать или не содержать электрод.

[00237] На фиг. 2А проиллюстрировано другое образцовое интегрированное цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство 30. Устройство 30 содержит первую подложку 31 и вторую подложку 32, где вторую подложку 32 располагают поверх первой подложки 31 и отделяют от верхней поверхности первой подложки с помощью зазора 33. Первая подложка 31 содержит первую часть 35, где капельки жидкости, такие как, капля образца, капля реактива и т.д., вводят на первую подложку 31. Первая подложка 31 содержит вторую часть 36, в направлении которой перемещают капельку жидкости. Первую часть также можно обозначать как модуль подготовки образца и вторую часть можно обозначать как модуль обнаружения. Первая подложка 31 содержит серию или множество электродов 37, расположенных на верхней поверхности первой подложки. Слой 38 диэлектрического материала располагают на верхней поверхности первой подложки и покрывают им

серию или множество электродов 37. Слой 34 гидрофобного материала накладывают на диэлектрический слой 38. Массив лунок 39 располагают в гидрофобном слое 34 на второй части первой подложки 31. Массив лунок может иметь гидрофильную или гидрофобную поверхность.

5 [00238] На фиг. 2В проиллюстрирован другой пример интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства 40, которое содержит первую подложку 41 и вторую подложку 42, где вторую подложку 42 располагают поверх первой подложки 40 и отделяют от верхней поверхности первой подложки с помощью зазора 43. Первая подложка содержит первую часть 45, где
10 жидкость вводят в первую подложку 41, и вторую часть 46, в направлении которой жидкость направляют для обнаружения сигнала, связанного с анализируемым веществом. Первая подложка 41 содержит серию или множество электродов 47, расположенных на верхней поверхности первой подложки. Слой 48 диэлектрического материала располагают на верхней поверхности первой подложки 41 и покрывают им
15 серию или множество электродов 47. В этом образцовом устройстве серию или множество электродов 47 располагают только на первой части 45 первой подложки 41. Диэлектрический слой 48 покрывает всю верхнюю поверхность первой подложки 41 и гидрофобный слой 44 покрывает всю верхнюю поверхность диэлектрического слоя. Массив лунок 49 располагают в гидрофобном слое 44, и массив лунок 49
20 располагают только в части гидрофобного слоя, перекрывающей вторую часть 46 первой подложки 41. В этом примере диэлектрический слой 48 показан идущим по всей верхней поверхности первой подложки 41. В других примерах диэлектрический слой и гидрофобный слой могут быть ограничены первой частью, и лунки могут быть расположены в гидрофильном слое, расположенном на второй части первой подложки.

25 [00239] В некоторых примерах жидкость можно вводить в зазор через средство приведения капельки в движение (не проиллюстрировано). В других примерах жидкость можно вводить в зазор через впуск, порт или канал текучего вещества. Дополнительные связанные компоненты устройства не проиллюстрированы на фиг. Такие фиг. могут содержать камеры, чтобы вмещать образец, буферы для промывания, связывающие
30 элементы, субстраты ферментов, текучие отходы и т.д. Реактивы для анализа могут содержаться во внешних резервуарах в качестве части интегрированного устройства, где предварительно определяемые объемы можно перемещать из резервуара на поверхность устройства, когда необходимо для конкретных стадий анализа. Дополнительно реактивы для анализа можно располагать на устройстве в форме
35 высушенных, печатных или лиофилизированных реактивов, где их можно хранить в течение продолжительных периодов времени без потери активности. Такие высушенные, печатные или лиофилизированные реактивы можно регидратировать до или во время анализа анализируемого вещества.

[00240] В некоторых примерах, первую подложку можно выполнять из гибкого
40 материала, такого как бумага (с электродами, напечатанными струйной печатью) или полимеры. В других примерах первую подложку можно выполнять из не гибкого материала, такого как, например, плата с печатной схемой, пластмасса или стекло или кремний. В некоторых примерах первую подложку выполняют из одного листа, который затем можно подвергать последующей обработке для того, чтобы создавать серию или
45 множество электродов. В некоторых примерах, множество серий или множество электродов можно изготавливать на первой подложке, которую можно резать для того, чтобы формировать множество первых подложек, на которые наложены серия или множество электродов. В некоторых примерах, электроды можно соединять с

поверхностью проводящего слоя через обычное адгезивное средство или припой. Вторую подложку можно создавать из любого подходящего материала, включая в качестве неограничивающих примеров гибкий материал, такой как бумага (с электродами, напечатанными струйной печатью, или без них), полимеры, плату с печатной схемой и т.п.

[00241] В некоторых примерах, электроды состоят из металла, смеси или сплава металлов, смеси или сплава металл-полупроводник или проводящего полимера. Некоторые примеры металлических электродов содержат медь, золото, индий, олово, оксид индия олова и алюминий. В некоторых примерах диэлектрический слой содержит изолирующий материал, который имеет низкую электрическую проводимость или способен поддерживать статическое электрическое поле. В некоторых примерах, диэлектрический слой можно создавать из фарфора (например, керамики), полимера или пластмассы. В некоторых примерах гидрофобный слой можно создавать из материала, обладающего гидрофобными свойствами, такого как, например, Teflon и обычные фторуглероды. В другом примере гидрофобный материал может представлять собой фторсурфактант (например, FluoroPel). В вариантах осуществления, содержащих гидрофильный слой, расположенный на диэлектрическом слое, он может представлять собой слой стекла, кварца, диоксида кремния, гидроксида металла или слюды.

[00242] Средний специалист в данной области примет во внимание, что массив (например, серия) электродов может включать определенное число электродов на единицу площади первой подложки, это число можно увеличивать или уменьшать, исходя из размера электродов и присутствия или отсутствия встречно-ребенчатых электродов. Электроды можно изготавливать с использованием различных процессов, включая фотолитографию, осаждение атомных слоев, лазерную разметку или травление, лазерную абляцию, флексографическую печать и струйную печать электродов.

[00243] В некоторых примерах конкретный маскирующий паттерн можно наносить на проводящий слой, расположенный на верхней поверхности первой подложки, после чего следует лазерная абляция обнаженного проводящего слоя для получения серии или множества электродов на первой подложке.

[00244] В некоторых примерах электрический потенциал, генерируемый с помощью серии или множества электродов, переносит капельки жидкости, сформированные на верхней поверхности первого слоя (или второго слоя, когда присутствует), покрывающего серию или множество электродов, по поверхности цифрового микрожидкостного устройства, чтобы поместить в массив лунок. Каждый электрод может быть способен независимо перемещать капельки по поверхности цифрового микрожидкостного устройства.

[00245] На фиг. 3А проиллюстрирован вид сбоку образцового интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства 100 с капелькой жидкости, перемещаемой в зазоре 170. Устройство 100 содержит первую подложку 110 и вторую подложку 120, где вторую подложку 120 располагают поверх первой подложки 110 и отделяют от верхней поверхности первой подложки с помощью зазора 170. Первая подложка 110 содержит первую часть 115, где капельку жидкости, такую как капелька образца, капелька реактива и т.д., вводят на первую подложку 110. Первая подложка 110 содержит вторую часть 130, в направлении которой перемещают капельку жидкости. Первую часть также можно обозначать как модуль подготовки образца и вторую часть можно обозначать как модуль обнаружения. Первая подложка 110 содержит серию или множество электродов 145, расположенных на верхней поверхности первой подложки. Слой 150 диэлектрического материала располагают на

верхней поверхности первой подложки и покрывают им серию или множество электродов 145. Слой 155 гидрофобного материала накладывают на диэлектрический слой 150. Массив лунок 160 располагают в гидрофобном слое 155 на второй части первой подложки 110. Массив лунок может иметь гидрофильную или гидрофобную поверхность. Как проиллюстрировано на фиг. 3А, капелька жидкости проиллюстрирована приводимой в движение из первой части 115 во вторую часть 130, содержащую массив лунок 160. Капельку жидкости 180, содержащую множество бусин или частиц 190, перемещают через первую часть 115 и по второй части 130 через активное направленное движение с использованием серии или множества электродов 145. Стрелка показывает направление движения капельки жидкости. Несмотря на то, что здесь не показано, поляризуемое масло можно использовать для того, чтобы перемещать капельку и закупоривать лунки. Несмотря на то, что здесь проиллюстрированы бусины/частицы, капелька может содержать молекулы анализируемых веществ вместо твердых носителей или в дополнение к ним.

[00246] На фиг. 3В проиллюстрирован вид сбоку образцового интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства 101 с капелькой 180, перемещаемой в зазор 170 из первой части 115 во вторую часть 130, которая содержит массив лунок 160. Устройство 101 содержит первую подложку 110 и вторую подложку 120, где вторую подложку 120 располагают поверх первой подложки 110 и отделяют от верхней поверхности первой подложки с помощью зазора 170. Первая подложка 110 содержит первую часть 115, где капельку жидкости, такую как, капелька образца, капелька реактива и т.д. вводят на первую подложку 110. Первая подложка 110 содержит вторую часть 130, в направлении которой перемещают капельку жидкости. Первую часть также можно обозначать как модуль подготовки образца и вторую часть можно обозначать как модуль обнаружения. Первая подложка 110 содержит серию или множество электродов 145, расположенных на верхней поверхности в первой части 115 первой подложки. Слой 150 диэлектрического материала располагают на верхней поверхности первой подложки, и покрывают им серию или множество электродов 145. Слой 155 гидрофобного материала накладывают на диэлектрический слой 150. Массив лунок 160 располагают в гидрофобном слое 155 на второй части первой подложки 110. Массив лунок может иметь гидрофильную или гидрофобную поверхность. Движение по поверхности первой части устройства происходит через электроды 145, и затем капельку 180 перемещают во вторую часть с использованием пассивного усилия текучей среды, такого как капиллярное движение через капиллярный элемент, сформированный с помощью 191 и 192. В некоторых примерах капиллярный элемент может включать гидрофильный материал для облегчения движения водной капельки от первой части ко второй части в отсутствие приложенного электрического поля, генерируемого с помощью серии или множества электродов. В некоторых примерах полосы гидрофобного материала можно располагать рядом с пространством гидрофильного капилляра. Полосы гидрофобного материала можно использовать для того, чтобы перемещать капельку несмешиваемого текучего вещества к массиву лунок в отсутствие цифровых микрожидкостных электродов. Некоторые примеры жидкостей, которые могут течь через гидрофобный капиллярный элемент, включая тяжелые маслянистые текучие вещества, такие как фторированные масла, можно использовать для того, чтобы содействовать движению капельки жидкости по массиву лунок. В других примерах капельки масла также можно использовать для того, чтобы удалять избыточные капельки.

[00247] В дополнение к перемещению текучих веществ на водной основе,

несмешиваемые текучие вещества, такие как несмешиваемые текучие вещества на органической основе, также можно перемещать через приведение в движение, опосредованное электричеством. Понятно, что приведение капельки в движение коррелирует с дипольным моментом и диэлектрической постоянной, которые взаимосвязаны, а также с проводимостью. В некоторых вариантах осуществления несмешиваемая жидкость может иметь молекулярный дипольный момент больше приблизительно 0,9 Д, диэлектрическую постоянную больше приблизительно 3 и/или проводимости больше приблизительно 10^{-9} См/м. Примеры перемещаемых несмешиваемых жидкостей и их характеристики рассмотрены в Chatterjee, et al. Lab on Chip, 6, 199-206 (2006). Примеры использования несмешиваемой жидкости в анализах анализируемых веществ, описанных в настоящем описании, включают содействие движению водной капельки, вытеснение водного текучего вещества, расположенного поверх лунок, вытеснение не осажденных бусин/частиц/молекул анализируемых веществ из лунок перед оптическим опросом лунок, закупоривание лунок и т.п. Некоторые примеры несмешиваемых текучих веществ на органической основе, которые можно перемещать в устройствах, описанных в настоящем описании, включают 1-гексанол, дихлорметан, дибромметан, THF и хлороформ. Также можно ожидать, что масла на органической основе, которые отвечают указанным выше критериям, можно перемещать при схожих условиях. В некоторых вариантах осуществления с использованием несмешиваемых капелек текучего вещества, зазор/пространство в устройстве можно заполнять воздухом.

[00248] На фиг. 4А проиллюстрирована капля жидкости 180, содержащая бусины или частицы 190, которую переместили во вторую часть интегрированного устройства с фиг. 3А и расположили поверх массива лунок 160. Капельку можно перемещать по массиву лунок непрерывно в линейном или возвратно-поступательном движении и можно останавливать над массивом лунок. Перемещение капельки и/или остановка капельки над массивом лунок облегчает осаждение частиц или бусин 190 в массиве лунок 160. Лунки имеют размеры, чтобы вмещать одну бусину/частицу. В устройстве, проиллюстрированном на фиг. 4А, капельку перемещают по массиву лунок с использованием серии или множества электродов 145. Несмотря на то, что здесь изображены бусины/частицы, капельки, содержащие молекулы анализируемых веществ, также можно перемещать схожим образом, и останавливать капельку, содержащую молекулы анализируемых веществ, над лунками в течение достаточного периода времени для того, чтобы сделать возможным диффузию молекул анализируемых веществ в лунки перед закупориванием лунок несмешиваемым текучим веществом. Лунки имеют размеры, чтобы вмещать одну бусину/частицу. Лунки также могут иметь размеры, чтобы вмещать одну молекулу анализируемого вещества на лунку.

[00249] На фиг. 4В проиллюстрирована капля жидкости 185, содержащая бусины или частицы 190, которую переместили во вторую часть интегрированного устройства с фиг. 3В и расположили поверх массива лунок без использования серии или множества электродов. На фиг. 4В капельку гидрофобной жидкости 195 (такой как несмешиваемое текучее вещество) используют для того, чтобы перемещать капельку жидкости по массиву лунок для того, чтобы содействовать осаждению бусин/частиц 190 в лунках 160. Направление стрелки показывает направлении, в котором перемещают капельку 185.

[00250] На фиг. 5 представлена гидрофобная капля текучего вещества 62 (например, поляризуемого текучего вещества), которую перемещают через первую часть 55 с использованием серии или множества электродов 57. Изображенное

устройство 50 содержит первую подложку 51 и вторую подложку 52, где вторую подложку 52 располагают поверх первой подложки 51 и отделяют от верхней поверхности первой подложки с помощью зазора 53. Первая подложка 51 содержит первую часть 55, где капельку жидкости, такую как капелька образца, капелька реактива и т.д. вводят на первую подложку 51. Первая подложка 51 содержит вторую часть 56, в направлении которой перемещают капельку жидкости. Первая подложка 51 содержит серию или множество электродов 57, расположенных на верхней поверхности в первой части 55 первой подложки. Слой 58 диэлектрического материала располагают на верхней поверхности первой подложки и покрывают им серию или множество электродов 57. Слой 54 гидрофобного материала накладывают на диэлектрический слой 58. Массив лунок 59 располагают в гидрофобном слое 54 на второй части первой подложки 51. Массив лунок может иметь гидрофильную или гидрофобную поверхность. Капиллярный элемент 60 формируют посредством нанесения двух полосок гидрофобного материала на первую 51 и вторую подложки 52. Гидрофобный капилляр содействует движению гидрофобной капельки текучего вещества 62 в массив лунок 59 в отсутствие серии или множества электродов во второй части 56. В других вариантах осуществления капиллярный элемент можно формировать посредством нанесения двух полосок гидрофильного материала на первой 51 и второй подложках 52. Гидрофильный материал содействует движению водной капельки в массив лунок 59 в отсутствие серии или множества электродов во второй части 56. В некоторых вариантах осуществления капиллярный элемент может содержать пару полосок гидрофильного материала, чередующихся с парой полосок гидрофобного материала. Водную капельку можно направлять в участок, в котором располагают пару гидрофильных полосок, тогда как капельку несмешиваемого текучего вещества можно направлять в участок, в котором располагают пару гидрофобных полосок.

[00251] На фиг. 6 изображен другой вариант осуществления интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. Устройство 600 содержит нижний слой 601, на котором формируют массив электродов 607. Массив электродов покрывают диэлектрическим слоем 608. Гидрофобный слой 609 располагают только в первой части 605 нижней подложки. Гидрофильный слой 610 располагают на второй части 606 нижней подложки 601. Массив лунок располагают во второй части в гидрофильном слое 610. Также изображена верхняя подложка 602, отделенная от нижней подложки с помощью зазора/пространства 603. Верхняя подложка 602 содержит диэлектрический слой 608, расположенный на нижней поверхности верхней подложки над первой частью нижней подложки. Верхняя подложка содержит гидрофильный слой 610, расположенный на нижней поверхности верхней подложки от второй части нижней подложки. Водная капелька 611 не смачивает гидрофобный слой, и по достижении гидрофильной второй части капелька 611 растекается по массиву лунок 619, тем самым содействуя движению водной фазы через пассивные капиллярные силы. Схожим образом, приведенную выше идею можно перевертывать для того, чтобы содействовать смачиванию и растеканию несмешиваемого текучего вещества на органической основе по лункам. В этом случае верхнюю и нижнюю подложку на второй части можно покрывать гидрофобным материалом/покрытием, тем самым позволяя несмешиваемому текучему веществу на органической основе течь по лункам через пассивные капиллярные силы.

[00252] Как используют в настоящем описании, цифровая микрожидкостная техника относится к использованию серии электродов для того, чтобы манипулировать капельками в микрожидкостном устройстве, например, перемещать капельки, разделять

капельки, сливать капельки и т.д. в небольшом пространстве. Как используют в настоящем описании, термины «капелька(и)» и «текучая капелька(и)» используют взаимозаменяемо, чтобы отослать к дискретному объему жидкости, который имеет приблизительно сферическую форму и ограничен по меньшей мере с одной стороны стенкой или подложкой микрожидкостного устройства. Приблизительно сферический в контексте капельки относится к геометрическим формам, таким как сферическая, частично уплощенная сфера, например, дискообразная, в форме пули, усеченная сфера, эллипсоид, полусферическая или яйцеобразная. Объем капельки в устройствах, описанных в настоящем описании, может находиться в диапазоне приблизительно от 10 мкл приблизительно до 5 пЛ, например, от 10 мкл до 1 пЛ, от 7,5 мкл до 10 пЛ, от 5 мкл до 1 нЛ, от 2,5 мкл до 10 нЛ или от 1 мЛ до 100 нЛ, например, 10 мкл, 5 мкл, 1 мкл, 800 нЛ, 500 нЛ или меньше.

[00253] В некоторых примерах массив лунок содержит множество отдельных лунок. Массив лунок может содержать множество лунок, число которых может находиться в диапазоне от 10 до 10^9 на 1 мм^2 . В определенных случаях можно изготавливать массив из приблизительно от 100000 до 500000 лунок (например, фемтолитровых лунок), покрывающий площадь приблизительно 12 мм^2 . Размеры каждой лунки могут составлять приблизительно 4,2 мкм в ширину $\times$ 3,2 мкм в глубину (объем приблизительно 50 фемтолитров), и она может быть способна удерживать одну бусину/частицу (диаметром приблизительно 3 мкм). При этой плотности, фемтолитровые лунки разносят на расстояние приблизительно 7,4 мкм друг от друга. В некоторых примерах можно изготавливать массив лунок, который содержит отдельные лунки диаметром от 10 нм до 10000 нм.

[00254] Размещение отдельных бусин/частиц/молекул анализируемых веществ в лунках допускает цифровое считывание или аналоговое считывание. Например, для малого числа положительных лунок ($< \sim 70\%$ положительных) можно использовать статистику Пуассона для того, чтобы количественно определять концентрацию анализируемого вещества в цифровом формате; для большого числа положительных лунок ($> \sim 70\%$) относительные интенсивности несущих сигнал лунок сравнивают с интенсивностью сигнала, генерируемого одной бусиной/частицей/молекулой анализируемого вещества, соответственно, и используют для того, чтобы генерировать аналоговый сигнал. Цифровой сигнал можно использовать для более низких концентраций анализируемого вещества, тогда как аналоговый сигнал можно использовать для более высоких концентраций анализируемого вещества. Можно использовать комбинацию цифрового и аналогового количественного определения, что может расширять линейный динамический диапазон. Как используют в настоящем описании, «положительная лунка» относится к лунке, которая имеет сигнал, связанный с присутствием бусины/частицы/молекулы анализируемого вещества, этот сигнал выше порогового значения. Как используют в настоящем описании, «отрицательная лунка» относится к лунке, которая может не иметь сигнал, связанный с присутствием бусины/частицы/молекулы анализируемого вещества. В некоторых вариантах осуществления сигнал от отрицательной лунки может быть на фоновом уровне, т.е. ниже порогового значения.

[00255] Лунка может иметь любую из множества геометрических форм, такую как цилиндрическая с плоской нижней поверхностью, цилиндрическая со скругленной нижней поверхностью, кубическая, кубовидная, усеченная коническая, перевернутая усеченная коническая или коническая. В определенных случаях, лунки могут содержать боковую стенку, которая может быть ориентирована для того, чтобы содействовать

приему и удерживанию микробусины или микрочастицы, присутствующие в каплях жидкости, которые перемещали по массиву лунок. В некоторых примерах, лунки могут содержать первую боковую стенку и вторую боковую стенку, где первая боковая стенка может быть напротив второй боковой стенки. В некоторых примерах первая боковая стенка ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок. Движение капелек может происходить в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке.

[00256] В некоторых примерах, массив лунок можно изготавливать с помощью одного или нескольких из формования, давления, тепла или лазера или их сочетания. В некоторых примерах массив лунок можно изготавливать с использованием наноимпринтной/наносферной литографии. Также можно использовать другие способы изготовления, хорошо известные в данной области.

[00257] На фиг. 7А-7В проиллюстрировано несколько образцовых ориентаций боковых стенок лунок. Как проиллюстрировано на фиг. 7А-В, лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки. На фиг. 7А проиллюстрировано вертикальное сечение, показывающее отдельные лунки 460 в массиве лунок. На фиг. 7А проиллюстрирована первая боковая стенка 401 и вторая боковая стенка 402. Первая боковая стенка находится под тупым углом относительно нижней поверхности 143 лунки, и вторая боковая стенка находится под острым углом относительно нижней поверхности 143 лунки. Стрелкой проиллюстрировано направление, в котором капелку жидкости перемещают по массиву. Эта ориентация боковых стенок лунок способствует приему и удерживанию бусин/частиц/молекул 490 анализируемых веществ.

[00258] На фиг. 7В верхняя часть 415 первой боковой стенки 410 ориентирована под тупым углом относительно дна 412 лунок и нижняя часть 416 первой боковой стенки 410 ориентирована перпендикулярно дну 412 лунок, и вторая боковая стенка 411 ориентирована перпендикулярно дну 412 лунок, где движение капелек жидкости происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке, где верхняя часть первой боковой стенки находится в отверстии лунок.

[00259] Интегрированные устройства, описанные в настоящем описании, можно изготавливать с помощью множества способов. В определенных случаях способы могут включать комбинацию лазерной абляции, нанесения покрытия распылением, с рулона на рулон, флексографическую печать и наноимпринтную литографию (NIL) для того, чтобы конструировать первую подложку, серию или множество электродов, диэлектрический слой и гидрофобный слой.

[00260] В некоторых примерах, множество валиков могут разворачивать первый рулон для того, чтобы двигать первую подложку в первое положение. Затем проводящий материал можно накладывать на первую подложку. На проводящий материал можно наносить паттерн в виде серии или множества электродов. В некоторых примерах печатное устройство, содержащее один или несколько наносящих валиков для того, чтобы наносить по меньшей мере одно из гидрофобного или диэлектрического материала по меньшей мере на один паттерн электродов на первой подложке. В некоторых примерах наносящие валики предназначены для того, чтобы наносить материал, препятствующий засорению, на первую подложку.

[00261] В некоторых примерах система дополнительно содержит объединяющее устройство для того, чтобы выравнивать первую подложку со второй подложкой. В некоторых примерах объединяющее устройство содержит два валика. Также некоторые

из раскрытых примеров включают отверждающую станцию для того, чтобы отверждать гидрофобный материал или диэлектрический материал. Некоторые из раскрытых примеров также включают скрепляющую станцию для того, чтобы скреплять по меньшей мере первую часть первой подложки по меньшей мере с первой частью второй подложки. Скрепленные части содержат паттерн электродов. Способ также включает ассоциирование первой подложки и второй подложки на разнесенном расстоянии.

Пространство между первой и второй подложками может составлять приблизительно от 0,01 мм до 1 мм в высоту, например, 0,1 мкм, 0,5 мкм, 1 мкм, 5 мкм, 10 мкм, 20 мкм, 50 мкм, 100 мкм, 140 мкм, 200 мкм, 300 мкм, 400 мкм, 500 мкм, от 1 мкм до 500 мкм, от 100 мкм до 200 мкм и т.д.

[00262] В некоторых примерах, способ включает тиснение первой подложки для того, чтобы создавать один или несколько выступов на первой подложке. В таких примерах выступы предназначены для разделения первой подложки и второй подложки на разнесенном расстоянии.

[00263] Устройствами по настоящему раскрытию можно управлять вручную или автоматически или полуавтоматически. В определенных случаях устройствами можно управлять с помощью процессора, который запускает программу для осуществления стадий, необходимых для генерации сигнала, связанного с анализируемым веществом, и обнаружения сигнала. Как используют здесь, фраза «сигнал, связанный с анализируемым веществом» или «сигнал, ассоциированный с анализируемым веществом» относится к сигналу, который отражает присутствие анализируемого вещества и который пропорционален количеству анализируемого вещества в образце. Сигнал может быть флуоресцентным, хемилюминесцентным, колориметрическим, турбидиметрическим и т.д. В определенных случаях, считывание может быть цифровым, например, число положительных счетов (например, лунок) сравнивают с числом отрицательных счетов (например, лунок) для получения цифрового подсчета.

[00264] На фиг. 8 представлена диаграмма первой образцовой системы или сборочного узла 500 для создания базовой подложки интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства. Первый образцовый сборочный узел 500 содержит серию или множество валиков, в том числе первый валик 502, второй валик 504 и третий валик 506, которые работают при синхронизированном вращении для того, чтобы двигать базовую подложку 508 через первый образцовый сборочный узел 500. Первый образцовый сборочный узел 500 может содержать валики в дополнение к валикам 502, 504, 506 с первого до третьего для того, чтобы перемещать базовую подложку 508 через сборочный узел с использованием способов с рулона на рулон. В других примерах можно использовать конвейеры, шкивы и/или какой-либо другой подходящий транспортировочный механизм (ы).

[00265] В первом образцовом сборочном узле 500 первый валик 502 вращают для того, чтобы разворачивать базовую подложку 508, которая, в некоторых примерах, представляет собой единый лист в свернутой конфигурации. Базовая подложка 508 содержит первый слой 510 и второй слой 512. В этом примере первый слой 510 содержит не проводящую гибкую подложку или полотно, например, такое как пластмасса, и второй слой 512 содержит проводящий материал. Проводящий материал второго слоя 512 может представлять собой, например, металл, такой как золото, серебро или медь или не металлический проводник, такой как проводящий полимер. В других примерах можно использовать другой металл(ы) или комбинацию(и) металла(ов) и/или проводящего полимера(ов). В некоторых примерах, базовая подложка 508 содержит

необязательный адгезивный слой 513, расположенный между не проводящим первым слоем 510 и проводящим вторым слоем 512. Например, адгезивный слой 513 может содержать хром, со слоем золота, расположенным поверх хромового адгезивного слоя 513, чтобы формировать проводящий второй слой 512. Таким образом, в базовой подложке 508 с фиг. 8 не проводящий первый слой 510 и проводящий второй слой 512 предварительно склеивают для того, чтобы формировать базовую подложку 508 перед разворачиванием с помощью первого валика 502.

[00266] В образцовой базовой подложке 508 с фиг. 8 не проводящий первый слой 510 имеет толщину меньше приблизительно 500 нм. Как описано далее, такая толщина позволяет перемещать базовую подложку 508 через образцовый первый сборочный узел 500 через множество валиков. Также, в некоторых примерах, толщина не проводящего первого слоя 510 больше толщины проводящего второго слоя 512. Например, толщина проводящего второго слоя 512 может составлять приблизительно 30 нм. В других примерах толщина проводящего второго слоя 512 меньше приблизительно 500 нм. В некоторых примерах толщину не проводящего первого слоя 510 и/или проводящего второго слоя 512 выбирают, например, исходя из материалов первого и/или второго слоев 510, 512 и/или эксплуатационной задачи, для которой средство приведения капельки в движение, сформированное из базовой подложки 508, подлежит использованию.

[00267] Первый валик 502 двигает базовую подложку 508 в станцию 514 лазерной абляции. Станция 514 лазерной абляции содержит маску 516, содержащую эталонный паттерн 518, который следует проецировать подложке на проводящий второй слой 512 базовой подложки 508. Эталонный паттерн 518, ассоциированный с маской 516, можно определять предварительно на основании характеристик, таких как разрешение (например, число электродов на единицу области базовой подложки 508, подлежащей абляции), размер электрода, конфигурация линий, определяющих паттерн электродов, переплетение электродов, зазоры или пространства между электродами и/или электрические проводники для соединения электродов с прибором, таким как источник мощности. В некоторых примерах, характеристики эталонного паттерна 518 выбирают на основании одного или нескольких эксплуатационных использований средства приведения капельки в движение, с которым будет ассоциирована базовая подложка 508 (например, для использования в биологических и/или химических анализах). Также, в некоторых примерах, эталонный паттерн 518 можно выполнять в конфигурации или меняющейся конфигурации, чтобы позволять станции 514 лазерной абляции формировать различные паттерны на базовой подложке 508. Дополнительно или альтернативно, в некоторых примерах маску 516 можно заменять на одну или несколько альтернативных масок.

[00268] Станция 514 лазерной абляции содержит линзу 520. Когда базовая подложка 508 достигает станции 514 лазерной абляции в результате вращения валиков (например, первого валика 502), часть 522 базовой подложки 508 проходит под линзой 520 или за нее. Часть 522, например, может представлять собой прямоугольную или квадратную секцию базовой подложки 508, имеющую площадь меньше площади базовой подложки 508 и содержащую проводящий второй слой 512. Линза 520 изображает или проецирует по меньшей мере часть эталонного паттерна 518 на проводящий второй слой 512, связанный с частью 522. Лазерный пучок 524 направляют на часть 522 через маску 516 и линзу 520 так, что лазерный пучок 524 избирательно проникает через проводящий второй слой 512, исходя из проецируемого эталонного паттерна 518. В некоторых примерах, лазерный пучок 524 также может проникать через не проводящий первый

слой 500 или часть (например, часть толщины не проводящего первого слоя 510), исходя из проецируемого эталонного паттерна 518. Сплошные части маски 516 блокируют лазерный пучок 524, а открытые части маски 516 позволяют лазерному пучку 524 проходить через маску 516 и вступать в контакт с базовой подложкой 508. Лазерный

5 пучок 524 может быть связан, например, с эксимерным лазером.

[00269] В результате воздействия лазерного пучка 524, облучаемый не проводящий первый слой 510 части 522 поглощает энергию, связанную с лазерным пучком 524.

Облучаемый не проводящий первый слой 510 подвергается фотохимической диссоциации, что ведет к избирательному разрушению структурных связей не проводящего первого
10 слоя 510 и удалению фрагментов не проводящего первого слоя 510 и частей проводящего второго слоя 512, наложенных на облучаемый не проводящий первый слой 510, в соответствии с эталонным паттерном 518. В некоторых примерах, глубину (например, интенсивность излучения), на которую лазерный пучок 524 проникает в базовую подложку 508, определяют предварительно на основании глубины (например, толщины)
15 не проводящего первого слоя 510 и/или проводящего второго слоя 512. В некоторых примерах, глубину проникновения лазерного пучка 524 можно корректировать для того, чтобы менять глубину, на которой лазерный пучок 524 удаляет проводящий второй слой 512 в результате фрагментирования подлежащего не проводящего первого слоя 510. В некоторых примерах эта корректировка является динамической, когда
20 работает образцовая система 500. Также, в некоторых примерах, базовую подложку 508 подвергают очистке после воздействия лазерного пучка 524 для того, чтобы удалять частицы и/или контаминанты поверхности.

[00270] Как проиллюстрировано на фиг. 8, после воздействия станции 514 лазерной абляции, часть 522 базовой подложки 508 содержит массив 526 электродов. Массив 526
25 электродов состоит из множества электродов, сформированных в проводящем втором слое 512. В результате воздействия лазерного пучка 524 и фрагментирования не проводящего первого слоя 510, части проводящего второго слоя 512 удаляют с базовой подложки 508. Удаленные части, связанные с массивом 526 электродов, основаны на эталонном паттерне 518. В некоторых примерах удаленные части совпадают с
30 открытыми частями маски 516.

[00271] Возвращаясь к фиг. 8, после того, как часть 522 подвергают лазерной абляции на станции 514 лазерной абляции для того, чтобы формировать массив 526 электродов, часть 522 перемещают, через вращение валиков 502, 504, 506 с первого по третий, в
35 принтер 528. В первом образцовом сборочном узле 500 принтер 528 содержит аппарат или прибор, способный наносить по меньшей мере один слой материала 530, имеющего гидрофобное и/или диэлектрическое свойство, на массив 526 электродов. В первом образцовом сборочном узле 500 принтер 528 может осаждать гидрофобный и/или диэлектрический материал 530 через способы осаждения, включая в качестве
40 неограничивающих примеров покрытие на основе полотна (например, через валики, связанные с принтером 528), покрытие через щелевую головку, нанесение покрытия центрифугированием, химическое паровое осаждение, физическое паровое осаждение и/или осаждение атомных слоев. Принтер 528 также может наносить другие материалы в дополнение к гидрофобному и/или диэлектрическому материалу 530 (например, покрытия против засорения, антикоагулянты). Также принтер 528 может наносить
45 один или несколько слоев материала(ов) различной толщины и/или покрывающие различные части базовой подложки 508.

[00272] Как описано выше, в первом образцовом сборочном узле 500, по меньшей мере один из валиков 502, 504, 506 с первого по третий продвигают базовую подложку

508 к принтеру 528 для нанесения гидрофобного и/или диэлектрического материала 530 на массив 526 электродов. В некоторых примерах, принтер 528 содержит множество совмещающих валиков 531 для того, чтобы содействовать точности подачи и совмещения базовой подложки 508 в качестве части работы принтера 528 при нанесении гидрофобного и/или диэлектрического материала 530, например, через способы покрытия валиком.

[00273] В первом образцовом сборочном узле 500 гидрофобный и/или диэлектрический материал 530 наносят на массив 526 электродов, чтобы полностью или по существу полностью изолировать массив 526 электродов.

[00274] В некоторых примерах, гидрофобный и/или диэлектрический материал 530 осаждают через принтер 528 по существу в жидкой форме. Для того чтобы создавать структурный или обработанный слой 532 на базовой подложке 508, чтобы поддерживать капельку, часть 522 перемещают через валики (например, валики 502, 504, 506 с первого по третий) через отверждающую станцию 534. В отверждающей станции 534

гидрофобный и/или диэлектрический материал обрабатывают и/или модифицируют для того, чтобы формировать первый обработанный слой 532. Обработка и/или модификация гидрофобного и/или диэлектрического материала может включать отверждающий материал. Например, в отверждающей станции 534 тепло подают для того, чтобы содействовать затвердеванию гидрофобного и/или диэлектрического материала 530. В некоторых примерах на часть 522 воздействуют ультрафиолетовым светом для того, чтобы отверждать гидрофобный и/или диэлектрический материал 530 и формировать обработанный слой 532, чтобы изолировать массив 526 электродов. В других примерах отверждение и/или модификацию гидрофобного и/или диэлектрического материала выполняют без источника тепла и/или фотонов. В некоторых примерах обработанный слой 532 поддерживает капельку, поскольку электрическое поле прикладывают (например, в связи с массивом 526 электродов) для того, чтобы манипулировать капелькой. Например, во время процесса электросмачивания, угол контакта капельки по отношению к обработанному слою 532 меняется в результате поданного напряжения, которое влияет на поверхностное натяжение капельки на обработанной поверхности 532. Электросмачивание является лишь образцовым, капельку также можно перемещать с использованием других сил.

[00275] После прохождения через отверждающую станцию 534, часть 522 подготавливают для того, чтобы она служила в качестве нижней подложки средства приведения капельки в движение и/или в качестве цифрового микрожидкостного чипа.

Поскольку базовая подложка 508 содержит не проводящий первый слой 510, скрепленный с проводящим вторым слоем 512, как раскрыто выше, дополнительное приклеивание, например, массива 526 электродов к не проводящему первому слою 510 не требуется. Такая конфигурация повышает эффективность получения базовой подложки 508 для средства приведения капельки в движение посредством уменьшения стадий обработки. Также, как описано выше, когда часть 522 в любом из станции 514 лазерной абляции, принтера 528 или отверждающей станции 534, другие части базовой подложки 508 параллельно перемещают через другие из соответствующих станций 514, 528, 534 первого образцового сборочного узла 500. Например, когда часть 522 находится в отверждающей станции 534, валики 502, 504, 506 с первого по третий непрерывно, периодически или аperiodически продвигают одну или несколько других частей базовой подложки 508 через, например, станцию 514 лазерной абляции и/или принтер 528. Таким образом, получения базовой подложки 508 для средства приведения капельки в движение достигают через по существу непрерывный, высокоскоростной автоматизированный

процесс.

[00276] После стадии отверждения, валик паттерна прокатывают по второй части базовой подложки для того, чтобы создавать массив лунок 540. Массив лунок 540 впоследствии можно покрывать гидрофильным материалом (не показано).

5 [00277] Несмотря на то, что базовую подложку 508 можно рассматривать как содержащую последовательные части, во время некоторых образцовых операций первого образцового сборочного узла 500, базовая подложка 508 остается в виде одного листа, поскольку последовательные части подвергаются обработке для того, чтобы
10 покрывать гидрофобного и/или диэлектрического материала 530. Таким образом, чтобы создавать одно или несколько средств приведения капельки в движение с использованием обработанной базовой подложки 508, базовую подложку 508, в некоторых примерах, режут (например, нарезают) для того, чтобы формировать отдельные блоки, содержащие массивы электродов 526, как дополнительно раскрыто далее. В некоторых примерах
15 перед нарезкой, базовую подложку 508, в том числе часть 522, сворачивают в свернутую конфигурацию, подобную начальной свернутой конфигурации базовой подложки 508 перед разворачиванием с помощью первого валика 502. Такое сворачивание можно выполнять посредством одного или нескольких валиков в качестве части процесса с рулона на рулон. В таких примерах базовую подложку 508 можно нарезать или иным
20 образом разделять в дальнейшем. В других примерах валики (например, второй и третий валики 504, 506), продвигают базовую подложку 508 для слияния с верхней подложкой.

[00278] На фиг. 9 проиллюстрирован второй образцовый сборочный узел 600 для создания образцовой верхней подложки средства приведения капельки в движение, имеющего один электрод. Второй образцовый сборочный узел 600 содержит серию или
25 множество валиков, в том числе первый валик 602, второй валик 604 и третий валик 606, которые работают в синхронном вращении для того, чтобы двигать верхнюю подложку 608 через второй образцовый сборочный узел 600. Второй образцовый сборочный узел 600 может содержать валики в дополнение к валикам 602, 604, 606 с первого до третьего для того, чтобы перемещать верхнюю подложку 608 через
30 сборочный узел 600.

[00279] Во втором образцовом сборочном узле 600 первый валик 602 вращают для того, чтобы разворачивать верхнюю подложку 608, которая, в некоторых примерах, представляет собой лист в свернутой конфигурации. Образцовая верхняя подложка 608 с фиг. 9 содержит первый слой 610 и второй слой 612. Как и в случае образцовой
35 базовой подложки 508, в этом примере, образцовый первый слой 610 верхней подложки 608 содержит не проводящий материал, такой как, например, пластмасса, и образцовый второй слой 612 содержит проводящий материал, такой как металл, содержащий, например, одно или несколько из золота, хрома, серебра, оксида индия олова или меди, и/или какой-либо другой подходящий металл(ы), проводящий полимер(ы) или
40 комбинацию(и) металла(ов) и/или проводящего полимера(ов). В некоторых примерах, проводящий второй слой 612 приклеивают к не проводящему первому слою через адгезивный слой (например, хром).

[00280] Во втором образцовом сборочном узле 600 валики 602, 604, 606 с первого до третьего вращают для того, чтобы продвигать верхнюю подложку 612 в принтер 614.
45 Принтер 614 покрывает проводящий второй слой 612 гидрофобным и/или диэлектрическим материалом 616 (например, Teflon® или парилен С или диэлектрик, такой как керамика). Принтер 614 по существу схож с принтером 528 первого образцового сборочного узла 500 с фиг. 8. Например, принтер 614 может наносить

гидрофобный и/или диэлектрический материал 616 на верхнюю подложку 608 через покрытие на основе полотна, покрытие через щелевую головку, нанесение покрытия центрифугированием, химическое паровое осаждение, физическое паровое осаждение, осаждение атомных слоев и/или другие способы осаждения. Принтер 614 может
 5 содержать совмещающие валики 617 для того, чтобы содействовать выравниванию верхней подложки 608 по отношению к принтеру 614 во время нанесения гидрофобного и/или диэлектрического материала 616 и/или других покрывающих материалов.

[00281] После нанесения покрытия гидрофобного и/или диэлектрического материала 616, второй валик 504 и третий валик 506 продвигают часть 618 в отверждающую
 10 станцию 620. Как раскрыто в связи с отверждающей станцией 534 с фиг. 8, отверждающая станция 620 второго образцового сборочного узла 600 содействует модификации (например, отверждению) гидрофобного материала посредством тепла для того, чтобы формировать обработанный слой 622. Обработанный слой 622 изолирует проводящий второй слой 612, который служит в качестве одного электрода верхней подложки 608,
 15 посредством покрывания проводящего второго слоя 612 полностью или по существу полностью. Таким образом, при покрывании второго слоя 612 части 618, часть верхней подложки 608, проводящую электрический потенциал, изолируют от капельки, которую можно вносить в средство приведения капельки в движение, которое содержит часть 618.

[00282] После прохождения через отверждающую станцию 620, часть 618
 20 подготавливают для того, чтобы она служила в качестве верхней подложки средства приведения капельки в движение. Поскольку верхняя подложка 608 содержит не проводящий первый слой 610, предварительно приклеенный к проводящему второму слою 612, дополнительное приклеивание, например, электрода к не проводящему
 25 первому слою 610 не требуется, что тем самым повышает эффективность получения верхней подложки 608 для средства приведения капельки в движение.

[00283] Во втором образцовом сборочном узле 600 валики 602, 604, 606 с первого до
 третьего вращают для того, чтобы продвигать верхнюю подложку 608 так, что части
 30 верхней подложки проходят через одно из принтера 614 или отверждающей станции 620 в по существу непрерывной, периодической и/или аperiodической последовательности в качестве части операции с рулона на рулон второго образцового сборочного узла 60. Таким образом, несмотря на то, что второй образцовый сборочный узел 600 описан в связи с частью 618, следует понимать, что последовательные части
 35 верхней подложки 608 подготавливают по существу таким же образом, как часть 618, в результате вращения валиков 602, 604, 606 с первого до третьего. Таким образом, предоставляют верхнюю подложку 308 с обработанным слоем 622 вдоль длины верхней подложки 608.

[00284] В образцовой верхней подложке 608 проводящий второй слой 612 служит
 электродом. Однако в некоторых примерах проводящий второй слой 612 подвергают
 40 лазерной абляции для того, чтобы формировать один или несколько массивов электродов. В таких примерах второй образцовый сборочный узел 600 содержит станцию лазерной абляции. Таким образом, перед нанесением гидрофобного материала 616, на верхнюю подложку 608 воздействуют лазерным пучком, который создает паттерн электродов в облучаемом проводящем втором слое 612. Также, в некоторых примерах,
 45 массив электродов формируют не на/в базовой подложке, а только на/в верхней подложке 608.

[00285] Во время работы второго образцового сборочного узла 600 верхняя подложка
 остается единым листом, когда последовательные части верхней подложки 608

покрывают гидрофобным материалом 616. В качестве части изготовления одного или нескольких средств приведения капельки в движение, верхнюю подложку 608 выравнивают с базовой подложкой. В некоторых примерах, после прохождения через отверждающую станцию 620, верхнюю подложку сворачивают в свернутую конфигурацию с помощью одного или нескольких валиков. В таких примерах, законченный рулон можно нарезать или иным образом резать и/или разделять на отдельные единицы, которые выравнивают на разнесенном расстоянии и скрепляют с индивидуальными нарезанными единицами базовой подложки для того, чтобы создавать средство приведения капельки в движение.

[00286] В других примерах, после прохождения через отверждающую станцию 620, валики (например, валики 602, 604, 606 с первого до третьего) продолжают продвигать верхнюю подложку 608 для того, чтобы соединять верхнюю подложку 608 с базовой подложкой через автоматизированную обработку с рулона на рулон. В таких примерах, чтобы подготавливать верхнюю подложку 608 для выравнивания с базовой подложкой 508, валики 602, 604, 606 с первого до третьего вращают с тем, чтобы переворачивать ориентацию верхней подложки относительно базовой подложки так, что обработанный слой базовой подложки обращен к обработанному слою 622 верхней подложки 608, когда базовую подложку 508 и верхнюю подложку 608 выравнивают в параллельной конфигурации.

[00287] Как показано на фиг. 10, третий образцовый сборочный узел 650 содержит третий валик 656 и четвертый валик 608, которые формируют пару соединяющих валиков, на которые базовую подложку 508 и верхнюю подложку 608 подают через соответствующий первый валик 652 и второй валик 654 третьего образцового сборочного узла 650. Когда вращают каждый из соединяющих валиков 656, 658, базовую подложку 658 и верхнюю подложку 658 выравнивают в параллельной конфигурации с предварительно определяемым разнесенным расстоянием или зазором.

[00288] Образцовый третий сборочный узел 650 содержит станцию 664 скрепления. Станция 664 скрепления соединяет или скрепляет базовую подложку 508 и верхнюю подложку 608 в качестве части изготовления средства приведения капельки в движение. Например, на станции 664 скрепления один или несколько адгезивов можно избирательно наносить на предварительно определяемую часть базовой подложки 508 и/или верхней подложки 608 (например, часть базовой подложки 508 и/или верхней подложки 608, определяющей периметр получаемого средства приведения капельки в движение) для того, чтобы создавать скрепление между базовой подложкой 508 и верхней подложкой 608, при этом сохраняя зазор 662. В некоторых примерах скрепление подложек 508, 608 на станции 664 скрепления включает формирование зазора 662 (например, перед нанесением адгезива).

[00289] Примеры адгезива(ов), который можно использовать на станции 664 скрепления, включают эпоксидные смолы, фольгу, ленты и/или отверждаемые ультрафиолетом адгезивы. В некоторых примерах, слои полимеров, таких как SU-8 и/или полидиметилсилоксан (PDMS), наносят на базовую подложку 508 и/или верхнюю подложку 608 для того, чтобы скреплять подложки. Также, в некоторых примерах, станция 664 скрепления обеспечивает отверждение адгезива(ов) через, например, ультрафиолетовый свет. На станции 664 скрепления можно применять дополнительные способы, включая, например, тепло (например, термоскрепление), давление, отверждение и т.д. Для того чтобы связывать базовую подложку 658 и верхнюю подложку 608.

[00290] В образцовом третьем сборочном узле 650, соединенную часть 660 можно избирательно резать, нарезать или иным образом разделять для того, чтобы

формировать одно или несколько средств приведения капельки в движение, как по существу представлено на фиг. 10 соединенной частью 660. Образцовый третий сборочный узел 650 содержит нарезающую станцию 666. Нарезающая станция 666 может представлять собой, например, режущее устройство, разделитель или, в более
 5 общем смысле, прибор для того, чтобы делить непрерывную соединенную часть 660 на дискретные единицы, соответствующие индивидуальным средствам приведения капельки в движение. Соединенную часть 660 можно резать на индивидуальные средства приведения капельки в движение на основании, например, паттерна электродов так, что каждое средство приведения капельки в движение содержит отпечаток массива
 10 электродов и других электродов, которые формируют с помощью паттерна электродов.

[00291] На фиг. 11А изображен вид сверху нижней подложки 70, на которой массив электродов присутствует в первой части 73 и второй части 74. Представлена нижняя подложка 72, после стадии 71 изготовления массива лунок на второй части. На фиг. 11В изображен вид сверху нижней подложки 80 с массивом электродов, расположенным
 15 только в первой части 83. Нижняя подложка 82 изображена после стадии 81, на которой массив лунок формируют во второй части 84.

[00292] Массив лунок можно изготавливать на диэлектрическом/гидрофобном слое, гидрофобном слое (если присутствует) или гидрофильном слое (если присутствует). В одном образцовом способе изготовления массива лунок на гидрофобном слое первой
 20 подложки используют тепловую или ультрафиолетовую наноимпринтную литографию. На фиг. 12А проиллюстрирован один образцовый способ изготовления массива лунок с использованием плоской наноимпринтной формы 770, чтобы прикладывать достаточное давление к гидрофобному слою 750 во второй части первой подложки 710 для того, чтобы формировать паттерн массива 760 лунок. В этом примере
 25 наноимпринтное штамповочное устройство может представлять собой плоский штамповочный элемент, контуры штампа которого соответствуют верхней поверхности второго слоя.

[00293] На фиг. 12В проиллюстрирован другой образцовый способ, в котором наноимпринтный валик 775 можно использовать для того, чтобы наносить паттерн
 30 массивов лунок на гидрофобный слой второй части первой подложки. Наноимпринтный валик позволяет отпечатывать паттерн на гидрофобном слое 750 первой подложки 710 посредством продвижения валика 775 в одном направлении. Поскольку валик продвигают в одном направлении, валик оставляет позади отпечаток паттерна массива 760 лунок, который соответствует паттерну отпечатка на валике. В одном из примеров
 35 валик 775 вращают в направлении против часовой стрелки, когда валик 775 отпечатывает паттерн на гидрофобном слое 750 первой подложки 710. Понятно, что валик или штамповочное устройство можно изменять для того, чтобы формировать лунки подходящего объема, например, фемтолитровый валик или штамповочное устройство можно использовать для формирования фемтолитровых лунок.

[00294] На фиг. 12С проиллюстрирован другой образцовый способ формирования паттерна массивов лунок на гидрофобном слое второй части первой подложки. В этом примере, лазер можно применять для того, чтобы выполнять абляцию верхней
 40 поверхности гидрофобного слоя 750. На стадии лазерной абляции можно создавать паттерн массива 760 лунок на втором слое. Некоторые примеры подходящих лазеров для абляции второго слоя имеют параметры фемтосекундных и пикосекундных лазеров. В некоторых примерах стадия лазерной абляции включает использование специальной маски, чтобы определять требуемый паттерн массива лунок. В некоторых примерах в лазере 775 используют фокусирующий элемент 777 (например, линзу), чтобы точно

нацеливаться и подвергать абляции паттерн. В некоторых примерах, после стадии лазерной абляции, массив лунок можно покрывать диэлектрическим и/или гидрофобным слоем.

[00295] На фиг. 12D проиллюстрирован еще один другой пример формирования паттерна массивов 760 лунок на диэлектрическом слое 740 второй части первой подложки 710. Как проиллюстрировано на фиг. 12D, в способе используют изготовление с рулона на рулон, чтобы отдельно изготавливать микрожидкостный компонент и массив лунок. В одном из примеров, первый рулон 725 содержит микрожидкостный компонент, который содержит первую подложку 710, где первая подложка содержит серию или множество электродов 745, и диэлектрический слой 740, расположенный поверх верхней поверхности первой подложки и покрывающих серию или множество электродов 745. Второй рулон 780 содержит подложку 750 с паттерном массива 760 лунок, уже содержащемся на подложке. В некоторых примерах паттерн массива 760 лунок, предварительно содержащийся на подложке 750, можно наносить через тепловую или УФ наноимпринтную литографию. В других примерах паттерн массива лунок можно предварительно наносить на подложку через лазерную абляцию. Как проиллюстрировано на фиг. 12D, запечатанный второй рулон 780 также может содержать гидрофобное покрытие, отпечатанное на подложке массива лунок. Отдельные рулоны разворачивают через валики 705 и 708 и затем подвергают процессу ламинирования, где две пленки можно ламинировать вместе посредством наложения подложки с лунками на подложку с микрожидкостными компонентами для того, чтобы формировать стопочную конфигурацию массива лунок и микрожидкостных компонентов.

[00296] Как описано в настоящем описании, «с рулона на рулон» может включать эквивалентный термин «с катушки на катушку» и работает посредством перемещения подложки через различные компоненты с высокими скоростями, включая, например, скорости в метры в секунду. Сборочные узлы «с рулона на рулон» облегчают разворачивание свернутой подложки, продвижение подложки через компоненты и сворачивание обработанной подложки в рулон.

[00297] Как отмечено ранее, модуль обнаружения, сформированный вторыми частями первой и второй подложек, используют для обнаружения сигнала, связанного с анализируемым веществом. В некоторых примерах, обнаружение анализируемого вещества или биологического образца, представляющего интерес, может происходить через обнаружение оптического сигнала. Например, излучение возбуждающего света (например, лазера) для того, чтобы измерять результат интенсивности сигнала. В других примерах желаемое анализируемое вещество можно обнаруживать посредством измерения оптического сигнала, исходящего из каждой камеры лунки и количественно определять посредством количественного определения результата. Например, число положительных счетов (например, лунок) сравнивают с числом отрицательных счетов (например, лунок) через цифровой анализ. Можно обнаруживать различные сигналы от лунок устройства. Образцовые сигналы включают флуоресцентные, хемилюминесцентные, колориметрические, турбидиметрические и т.д.

[00298] Устройства, описанные в настоящем описании можно использовать для того, чтобы генерировать сигнал, связанный с анализируемым веществом, и количественно определять сигнал. Образцовый способ изображен на фиг. 15. Устройство на фиг. 15 содержит верхнюю подложку 80 с массивом электродов 81. Верхнюю подложку располагают разнесенным образом от нижней подложки 82, которая содержит массив лунок 83 во второй части устройства. Капельку 84, содержащую частицы или бусины

или молекулы анализируемых веществ (не показано), можно перемещать в массив лунок 83 с использованием электродов 81. После достаточного периода времени для того, чтобы сделать возможным перемещение частиц или бусин или молекул анализируемых веществ в лунки, капельку 84 можно перемещать в камеру отходов/ абсорбционную площадку и т.п. Затем капельку буфера 85 можно перемещать в массив лунок для того, чтобы удалять какие-либо частицы или бусины, не осажденные в лунки. В некоторых случаях капелька буфера может толкать капельку 84 в камеру отходов. Капельку несмешиваемого текучего вещества 86 можно перемещать по массиву лунок и закупоривать лунки. Какая-либо избыточная капелька 86 может быть удалена перед оптическим опросом лунок.

[00299] На фиг. 16 изображен способ, в котором цифровые микрожидкостные электроды (например, электрод 145) располагают капельку 180, содержащую частицы/ бусины или молекулы 190 анализируемых веществ, на массиве лунок 160. После периода времени, достаточного для осаждения частиц/бусин/молекул анализируемых веществ в лунки, капельку смещают с помощью капельки несмешиваемой жидкости 195 (или несмешиваемой жидкости, как изложено в настоящем описании). Капелька несмешиваемой жидкости выполняет функцию перемещения капельки 180 с какими-либо бусинами/частицами/молекулами анализируемых веществ, которые не осаждены в лунки, от лунок и покрывания лунок.

[00300] На фиг. 17 изображен другой способ удаления каких-либо бусин, не осажденных в лунки. На фиг. 17 многие бусины 190 остаются поверх лунок после удаления капельки, содержащей бусины. Эти бусины смывают с использованием водной капельки 185. После удаления водной капельки, массив лунок содержит осажденные бусины. Затем несмешиваемое текучее вещество 195 перемещают поверх массива лунок для того, чтобы закупоривать лунки.

[00301] Можно использовать различные силы для того, чтобы содействовать движению частиц/бусин из капельки, расположенной поверх массива лунок, в лунки. Такие силы включают гравитацию, электрическую силу, магнитную силу и т. д. Постоянные магниты или электромагниты можно использовать в качестве источника магнитной силы. В некоторых вариантах осуществления магниты не располагают на интегрированном микрожидкостном и обнаруживающем чипе. Молекулы анализируемых веществ можно осаждать в лунки через диффузию.

Вариации способов и использования устройства.

[00302] Раскрытые способы определения присутствия или количества анализируемого вещества, представляющего интерес, которое присутствует в образце, и использование микрожидкостного устройства, могут представлять собой то, что описано выше. Способы и использование раскрытого микрожидкостного устройства также можно адаптировать с учетом других способов анализа анализируемых веществ. Примеры общеизвестных вариаций включают, но не ограничиваясь этим, иммунологический анализ, такой как иммунологический сэндвич-анализ (например, моноклонально-поликлональные иммунологические сэндвич-анализы, включая ферментативное обнаружение (иммуноферментный анализ (EIA) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), иммунологический анализ конкурентного ингибирования (например, прямой или обратный), способ иммунологического анализа с ферментативным усилением (EMIT), анализ конкурентного скрепления, резонансный перенос энергии биолюминесценции (BRET), одностадийный анализ обнаружения антител, гомогенный анализ, гетерогенный анализ, анализ захвата на лету и т. д. В некоторых случаях, описания, приведенные далее, могут перекрывать способ, описанный выше; в других

описания, приведенные далее, могут предусматривать альтернативы.

Иммунологический анализ.

[00303] Анализируемое вещество, представляющее интерес, и/или его пептиды или фрагменты можно анализировать с использованием иммунологического анализа.

5 Можно использовать любой иммунологический анализ. Иммунологический анализ может представлять собой, например, иммуноферментный анализ (ELISA), анализ конкурентного ингибирования, такой как прямые или обратные анализы конкурентного ингибирования, или анализ конкурентного связывания. В некоторых вариантах осуществления поддающуюся обнаружению метку (например, такую как одна или
10 несколько флуоресцентных меток один или несколько маркеров, прикрепленных с помощью расщепляемого линкера (который можно расщеплять химически или посредством фоторасщепления)) прикрепляют к иммобилизованному антителу и/или идентифицирующему антителу.

[00304] Можно использовать гетерогенный формат. Например, после получения
15 тестового образца от субъекта, получают первую смесь. Смесь содержит тестовый образец, который оценивают на анализируемое вещество, представляющее интерес, и первый специфический связывающий партнер, где первый специфический связывающий партнер и какое-либо анализируемое вещество, представляющее интерес, которое содержится в тестовом образце, формируют комплекс первого специфического
20 связывающего партнера и анализируемого вещества, представляющего интерес. Предпочтительно, первый специфический связывающий партнер представляет собой антитело против анализируемого вещества, представляющего интерес, или его фрагмент. Порядок, в котором добавляют тестовый образец и первый специфический связывающий партнер для того, чтобы формировать смесь, не является критическим. Предпочтительно,
25 первый специфический связывающий партнер иммобилизуют на твердой фазе. Твердая фаза, используемая в иммунологическом анализе (для первого специфического связывающего партнера и, необязательно, второго специфического связывающего партнера), может представлять собой какую-либо твердую фазу, известную в данной области, такую как, но не ограничиваясь этим, магнитная частица, бусина, нанобусина,
30 микробусина, наночастица, микрочастица, мембрана, каркасная молекула, пленка, фильтровальная бумага, диск или чип (например, микрожидкостный чип).

[00305] После формирования смеси, содержащей комплекс первого специфического связывающего партнера и анализируемого вещества, представляющего интерес, какое-либо несвязанное анализируемое вещество, представляющее интерес, удаляют из
35 комплекса с использованием какого-либо способа, известного в данной области. Например, несвязанное анализируемое вещество, представляющее интерес, можно удалять посредством промывания. Однако желательно первый специфический связывающий партнер присутствует в избытке относительно какого-либо анализируемого вещества, представляющего интерес, присутствующего в тестовом
40 образце, так что все анализируемое вещество, представляющее интерес, которое присутствует в тестовом образце, связывают с помощью первого специфического связывающего партнера.

[00306] После удаления какого-либо несвязанного анализируемого вещества, представляющего интерес, второй специфический связывающий партнер добавляют в
45 смесь для того, чтобы формировать комплекс первого специфического связывающего партнера, анализируемого вещества, представляющего интерес, и второго специфического связывающего партнера. Второй специфический связывающий партнер предпочтительно представляет собой средство против анализируемого вещества,

представляющего интерес, (такое как антитело), которое связывается с эпитопом на анализируемом веществе, представляющем интерес, который отличается от эпитопа на анализируемом веществе, представляющем интерес, связываемого первым специфическим связывающим партнером. Кроме того, также предпочтительно второй специфический связывающий партнер метят поддающейся обнаружению меткой или он содержит ее (например, поддающуюся обнаружению метку, маркер, прикрепленный расщепляемым линкером, и т.д.).

[00307] Использование иммобилизованных антител или их фрагментов может быть включено в иммунологический анализ. Антитела можно иммобилизовать на различных носителях, таких как магнитные частицы или частицы хроматографических матриц, латексные частицы или латексные частицы с модифицированной поверхностью, полимер или полимерная пленка, пластмасса или пластмассовая пленка, плоская подложка, микрожидкостная поверхность, куски материала твердой подложки и т.п.

Иммунологический сэндвич-анализ.

[00308] В иммунологическом сэндвич-анализе измеряют количество антигена между двумя слоями антител (т.е. иммобилизованного антитела (т.е. по меньшей мере одного иммобилизованного антитела) и идентифицирующего антитела (т.е. по меньшей мере одного идентифицирующего антитела)). Иммобилизованное антитело и идентифицирующее антитело связываются с различными эпитопами на антигене, например, анализируемом веществе, представляющем интерес. Желательно, связывание иммобилизованного антитела с эпитопом не мешает связыванию идентифицирующего антитела с эпитопом. Моноклональные или поликлональные антитела можно использовать в качестве иммобилизованного и идентифицирующего антител в иммунологическом сэндвич-анализе.

[00309] В целом, по меньшей мере два антитела используют для того, чтобы отделять и количественно определять анализируемое вещество, представляющее интерес, в тестируемом образце. Более конкретно, по меньшей мере два антитела связываются с определенными эпитопами анализируемого вещества, представляющего интерес, или фрагментом анализируемого вещества, представляющего интерес, формируя иммунный комплекс, который обозначают как «сэндвич». Одно или несколько антител можно использовать для захвата анализируемого вещества, представляющего интерес, в тестовом образце (эти антитела часто обозначают как «иммобилизованное» антитело или «иммобилизованные» антитела), и одно или несколько антител с поддающейся обнаружению меткой (например, флуоресцентной меткой, маркером, прикрепленным с помощью расщепляемого линкера, и т. д.), которые также связывают анализируемое вещество, представляющее интерес, (эти антитела часто обозначают как «идентифицирующее» антитело или «идентифицирующие» антитела) можно использовать для завершения сэндвича. В некоторых вариантах осуществления аптамер можно использовать в качестве второго связывающего элемента. В сэндвич-анализе связывание антитела с его эпитопом желательно не ухудшается за счет связывания какого-либо другого антитела в анализе с соответствующим ему эпитопом. Другими словами, антитела выбирают с тем, чтобы одно или несколько первых антител, приводимых в контакт с тестовым образцом, предположительно содержащим анализируемое вещество, представляющее интерес, не связывались со всеми или частью эпитопов, распознаваемых вторым или последующими антителами, тем самым препятствуя способности одного или нескольких вторых идентифицирующих антител связываться с анализируемым веществом, представляющим интерес.

[00310] В одном из вариантов осуществления тестовый образец, предположительно

содержащий анализируемое вещество, представляющее интерес, можно приводить в контакт по меньшей мере с одним иммобилизованным антителом (или антителами) и по меньшей мере одними идентифицирующими антителами, одновременно или последовательно. В формате сэндвич-анализа тестовый образец, предположительно

5 содержащий анализируемое вещество, представляющее интерес, (такое как анализируемое вещество, представляющее интерес, растворимое анализируемое вещество, представляющее интерес, фрагменты ассоциированного с мембраной анализируемого вещества, представляющего интерес, фрагменты растворимого анализируемого вещества, представляющего интерес, варианты анализируемого

10 вещества, представляющего интерес (ассоциированного с мембраной или растворимого анализируемого вещества, представляющего интерес), или какие-либо их сочетания)) сначала приводят в контакт с по меньшей мере одним иммобилизованным антителом, которое специфически связывается с конкретным эпитопом в условиях, которые допускают формирование комплекса антитела и анализируемого вещества,

15 представляющего интерес. Если используют больше чем одно иммобилизованное антитело, формируют комплекс множества иммобилизованных антител и анализируемого вещества, представляющего интерес. В сэндвич-анализе, антитела, предпочтительно, по меньшей мере одно иммобилизованное антитело, используют в избыточных молярных количествах относительно максимального количества

20 анализируемого вещества, представляющего интерес, или фрагмента анализируемого вещества, представляющего интерес, которое ожидают в тестовом образце.

[00311] Необязательно, перед контактом тестового образца по меньшей мере с одним первым иммобилизованным антителом, по меньшей мере одно иммобилизованное антитело может связываться с твердым носителем, который облегчает отделение

25 комплекса антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, от тестового образца. Можно использовать какой-либо твердый носитель, известный в данной области, включая в качестве неограничивающих примеров твердые носители, выполненные из полимерных материалов, в форме плоских подложек или бусин, и т.п. Антитело (или антитела) можно связывать с твердым носителем посредством адсорбции,

30 посредством образования ковалентных связей, используя химическое связывающее средство, или с помощью других средств, известных в данной области, при условии, что такое связывание не мешает способности антитела связывать анализируемое вещество, представляющее интерес, или фрагмент анализируемого вещества, представляющего интерес. Кроме того, в случае необходимости, можно получать

35 производное твердого носителя для того, чтобы создать способность вступать в реакцию с различными функциональными группами на антителе. Такое получение производных требует использования определенных связывающих средств, таких как, но не ограничиваясь этим, малеиновый ангидрид, N-гидроксисукцинимид, азидо, алкинил и 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид.

[00312] После приведения тестового образца, предположительно содержащего анализируемое вещество, представляющее интерес, в контакт с по меньшей мере одним иммобилизованным антителом, тестовый образец инкубируют для того, чтобы сделать

40 возможным формированием комплекса иммобилизованного антитела (или иммобилизованных антител) и анализируемого вещества, представляющего интерес. Инкубацию можно осуществлять при pH приблизительно от 4,5 приблизительно до 10,0, при температуре приблизительно от 2°C приблизительно до 45°C и в течение периода от по меньшей мере приблизительно одной (1) минуты приблизительно до

45 восемнадцати (18) часов, приблизительно от 2 до 6 минут или приблизительно от 3 до

4 минут.

[00313] После формирования комплекса иммобилизованного антитела (антител) и анализируемого вещества, представляющего интерес, комплекс приводят в контакт с по меньшей мере одним идентифицирующим антителом (в условиях, которые допускают формирование комплекса иммобилизованного антитела (антител), анализируемого вещества, представляющего интерес, и идентифицирующего антитела (антител)). Если комплекс иммобилизованного антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, приводят в контакт с больше чем одним идентифицирующим антителом, то формируют идентифицирующий комплекс иммобилизованного антитела (антител), анализируемого вещества, представляющего интерес, и идентифицирующего антитела (антител). Как и в случае иммобилизованного антитела, когда по меньшей мере одно идентифицирующее (и последующее) антитело приводят в контакт с комплексом иммобилизованного антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, необходим определенный период инкубации в условиях, схожих с теми, что описаны выше, для формирования комплекса иммобилизованного антитела (антител), анализируемого вещества, представляющего интерес, и идентифицирующего антитела (антител). Предпочтительно по меньшей мере одно идентифицирующее антитело содержит поддающуюся обнаружению метку (например, флуоресцентную метку, маркер, прикрепленный посредством расщепляемого линкера, и т. д.). Поддающуюся обнаружению метку можно связывать с по меньшей мере одним идентифицирующим антителом до, одновременно с, или после формирования комплекса иммобилизованного антитела (антител), анализируемого вещества, представляющего интерес, и идентифицирующего антитела (антител). Можно использовать любую поддающуюся обнаружению метку, известную в данной области, например, флуоресцентную метку, расщепляемый линкер, как рассмотрено в настоящем описании, и другие, известные в данной области.

[00314] Порядок, в котором тестовый образец и специфический связывающий партнер (ы) добавляют для того, чтобы формировать смесь для анализа, не является критическим. Если первый специфический связывающий партнер метят с возможностью обнаружения (например, флуоресцентной меткой, маркером, прикрепленным с использованием расщепляемого линкера, и т.д.), то формируют комплексы меченого с возможностью обнаружения первого специфического связывающего партнера и анализируемого вещества, представляющего интерес. Альтернативно, если используют второй специфический связывающий партнер и второй специфический связывающий партнер метят с возможностью обнаружения (например, флуоресцентной меткой, маркером, прикрепленным с использованием расщепляемого линкера, и т.д.), то формируют меченые с возможностью обнаружения комплексы первого специфического связывающего партнера, анализируемого вещества, представляющего интерес, и второго специфического связывающего партнера. Любой несвязанный специфический связывающий партнер, будь он меченым или не меченым, можно удалять из смеси с использованием любого способа, известного в данной области, такого как промывание.

[00315] Затем генерируют сигнал, отражающий присутствие анализируемого вещества, представляющего интерес, или его фрагмента. На основании параметров генерируемого сигнала, в образце можно определять количество анализируемого вещества, представляющего интерес. Необязательно, можно создавать калибровочную кривую, используя серийные разведения или растворы с известными концентрациями анализируемого вещества, представляющего интерес, посредством масс-спектропии, гравиметрических способов и других способов, известных в данной области.

[00316] В настоящем описании предоставлены способы измерения или обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, которое присутствует в биологическом образце. В таких способах, капельку образца, содержащую целевое анализируемое вещество, представляющее интерес, можно сливать с капелькой, содержащей бусины (такие как магнитные бусы), на которые прикрепляют первый специфический связывающий партнер, который специфически связывается с целевым анализируемым веществом, представляющим интерес, присутствующим в образце. Слиянием создают единую капельку, которую можно инкубировать в течение периода времени, достаточного для того, чтобы сделать возможным связывание первого специфического связывающего партнера с анализируемым веществом, представляющим интерес, которое присутствует в капельке образца. Необязательно, единую капельку можно перемешивать для того, чтобы содействовать смешиванию образца с первым специфическим связывающим партнером. Смешивания можно достигать посредством перемещения единой капельки назад и вперед, перемещения единой капельки вокруг над множеством электродов, разделения капельки и последующего слияния капелек или с использованием SAW и т.п. Затем единую капельку можно подвергать воздействию магнитной силы для того, чтобы удерживать бусины в определенном местоположении в устройстве, тогда как капельку можно удалять в камеру или площадку для отходов и заменять на капельку, содержащую второй связывающий элемент. Второй специфический связывающий партнер может быть меченым с возможностью обнаружения. Метка может представлять собой какую-либо метку, которую можно обнаруживать оптически. Например, метка может представлять собой флуоресцентную метку. Необязательную стадию промывания можно осуществлять перед добавлением второго связывающего элемента посредством перемещения капельки буфера для промывания в местоположение, в котором бусины удерживают с использованием силы, например, магнитной. Бусины можно ресуспендировать или не ресуспендировать в буфере для промывания. Если используют магнитные бусы, к магнитным бусам можно прикладывать магнитную силу, и буфер для промывания транспортируют в местоположение отходов. После периода времени, достаточного для связывания второго специфического связывающего партнера с анализируемым веществом, представляющим интерес, которое связано с первым связывающим элементом, капельку, содержащую второй специфический связывающий партнер, можно удалять, тогда как бусины удерживают в определенном местоположении. Бусины можно промывать с использованием капельки буфера для промывания. После стадии промывания, капельку, содержащую меченые бусины, которая имеет комплекс первого связывающего элемента, анализируемого вещества, представляющего интерес, и второго связывающего партнера, можно перемещать в модуль обнаружения (например, посредством устранения магнитной силы, если используют магнитные бусы). Как изложено в настоящем описании, иммунологический анализ можно осуществлять в модуле подготовки образца. Меченые бусины можно оставлять оседать в массиве лунок в модуле обнаружения. Бусины можно осаждать с использованием гравитационной силы или посредством приложения электрической или магнитной силы. После стадии промывания для того, чтобы удалять какие-либо бусины, не расположенные внутри лунок, лунки можно закупоривать с использованием гидрофобной жидкости.

Прямое конкурентное ингибирование.

[00317] В прямом конкурентном формате аликвоту меченого анализируемого вещества, представляющего интерес, (например, анализируемого вещества, имеющего флуоресцентную метку, маркер, прикрепленный с использованием расщепляемого

линкера, и т.д.) в известной концентрации используют для того, чтобы конкурировать с анализируемым веществом, представляющим интерес, в тестируемом образце за связывание с антителом к анализируемому веществу, представляющему интерес.

[00318] В прямом конкурентном анализе иммобилизованный специфический связывающий партнер (такой как антитело) можно последовательно или одновременно приводить в контакт с тестовым образцом и меченым анализируемым веществом, представляющим интерес, фрагментом анализируемого вещества, представляющего интерес, или его вариантом анализируемого вещества, представляющего интерес. Пептид анализируемого вещества, представляющего интерес, фрагмент анализируемого вещества, представляющего интерес, или вариант анализируемого вещества, представляющего интерес, можно метить какой-либо поддающейся обнаружению меткой, включая поддающуюся обнаружению метку, состоящую из маркера, прикрепленного с использованием расщепляемого линкера. В этом анализе антитело можно иммобилизовать на твердом носителе. Альтернативно антитело можно сопрягать с антителом, таким как антивидовое антитело, которое иммобилизовано на твердом носителе, таком как микрочастица или плоская подложка.

[00319] В настоящем описании предоставлены способы измерения или обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, которое присутствует в биологическом образце. В таких способах каплю образца, содержащую целевое анализируемое вещество, представляющее интерес, можно сливать с каплей, содержащей магнитные бусы, на которые прикрепляют первый специфический связывающий партнер, который специфически связывается с целевым анализируемым веществом, представляющим интерес, присутствующим в образце, и анализируемым веществом, меченым поддающейся обнаружению меткой (такой как флуоресцентная метка). Необязательно, единую каплю можно перемешивать для того, чтобы содействовать смешиванию образца с первым специфическим связывающим партнером и меченым анализируемым веществом. Смешивания можно достигать посредством перемещения единой капли назад и вперед, перемещения единой капли вокруг над множеством электродов, разделения капли и последующего слияния капелек или с использованием SAW и т.п. Затем единую каплю можно подвергать воздействию силы (такой как магнитная сила) для того, чтобы удерживать бусины в определенном местоположении в устройстве, тогда как каплю можно удалять в камеру или площадку для отходов и заменять каплей, содержащей второй связывающий элемент. Необязательную стадию промывания можно осуществлять посредством перемещения капли буфера для промывания в местоположение, в котором бусины удерживают с использованием магнитной силы. Бусины можно ресуспендировать или можно не ресуспендировать в буфере для промывания; силу прикладывают к бусинам (такую как магнитная сила, если используют магнитные бусы) и буфер для промывания транспортируют в местоположение отходов. После периода времени, достаточного для связывания первого специфического связывающего партнера с анализируемым веществом, представляющим интерес, каплю можно удалять, пока бусины удерживают в определенном местоположении. После необязательной стадии промывания, каплю, содержащую меченые бусины, которая имеет комплекс первого связывающего элемента и анализируемого вещества, представляющего интерес, можно перемещать в модуль обнаружения (например, посредством удаления магнитной силы, если используют магнитные бусы). Как изложено в настоящем описании, иммунологический анализ можно осуществлять в модуле подготовки образца. Меченые бусины можно оставлять, чтобы они оседали в массив лунок в модуле обнаружения. Бусины можно осаждать с

использованием гравитационной силы или посредством приложения силы, например, электрической или магнитной. После стадии промывания для того, чтобы удалять какие-либо бусины, не расположенные внутри лунок, лунки можно закупоривать с использованием гидрофобной жидкости.

- 5 [00320] Меченое анализируемое вещество, представляющее интерес, тестовый образец и антитело инкубируют в условиях, схожих с теми, что описаны выше в связи с форматом сэндвич-анализа. Тогда можно создавать комплексы антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, двух различных видов. В частности, один из создаваемых комплексов антитела и анализируемого вещества, представляющего
- 10 интерес, содержит поддающуюся обнаружению метку (например, флуоресцентную метку и т. д.), тогда как другой комплекс антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, не содержит поддающуюся обнаружению метку. Комплекс антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, можно, но не обязательно, отделять от остального тестового образца перед количественным
- 15 определением поддающейся обнаружению метки. Независимо от того, отделяют ли комплекс антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес, от остального тестового образца, после этого определяют количество поддающейся обнаружению метки в комплексе антитела и анализируемого вещества, представляющего интерес. Затем концентрацию анализируемого вещества, представляющего интерес (такого как
- 20 ассоциированное с мембраной анализируемое вещество, представляющее интерес, растворимое анализируемое вещество, представляющее интерес, фрагменты растворимого анализируемого вещества, представляющего интерес, варианты анализируемого вещества, представляющего интерес, (ассоциированного с мембраной или растворимого анализируемого вещества, представляющего интерес) или какие-
- 25 либо их сочетания) в тестовом образце можно определять, например, как описано выше.
- Обратный конкурентный анализ.

[00321] В обратном конкурентном анализе иммобилизованное анализируемое вещество, представляющее интерес, можно последовательно или одновременно приводить в контакт с тестовым образцом и по меньшей мере одним меченым антителом.

- 30 [00322] В настоящем описании предоставлены способы измерения или обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, которое присутствует в биологическом образце. В таких способах капельку образца, содержащую целевое анализируемое вещество, представляющее интерес, можно сливать с капелькой, содержащей первый специфический связывающий партнер, который специфически
- 35 связывается с целевым анализируемым веществом, представляющим интерес, которое присутствует в образце, и метят поддающейся обнаружению меткой (такой как флуоресцентная метка, ферментативная метка и т. д.), и магнитные бусы, к которым прикрепляют анализируемое вещество, представляющее интерес. Слиянием создают единую капельку, которую можно инкубировать в течение периода времени,
- 40 достаточного для того, чтобы сделать возможным связывание первого специфического связывающего партнера с анализируемым веществом, представляющим интерес, которое присутствует в капельке образца. Необязательно, единую капельку можно перемешивать для того, чтобы содействовать смешиванию образца с первым специфическим связывающим партнером. Смешивания можно достигать посредством перемещения
- 45 единой капельки назад и вперед, перемещения единой капельки вокруг над множеством электродов, разделения капельки и последующего слияния капелек или с использованием SAW и т.п. Затем единую капельку можно подвергать воздействию магнитной силы для того, чтобы удерживать бусины в определенном местоположении в устройстве,

тогда как капельку можно удалять в камеру или площадку для отходов и замещать капелькой, содержащей второй связывающий элемент. Необязательную стадию промывания можно осуществлять посредством перемещения капельки буфера для промывания в местоположение, в котором бусины удерживают с использованием магнитной силы. Бусины можно ресуспендировать или можно не ресуспендировать в буфере для промывания; магнитную силу прикладывают к магнитным бусам и буфер для промывания транспортируют в местоположение отходов. После периода времени, достаточного для связывания первого специфического связывающего партнера со связанным анализируемым веществом, представляющим интерес, магнитную силу можно устранять, и капельку, содержащую меченые бусины, которая имеет комплекс первого связывающего элемента, анализируемого вещества, представляющего интерес, можно перемещать в модуль обнаружения. Как изложено в настоящем описании, иммунологический анализ можно осуществлять в модуле подготовки образца. Меченые бусины можно оставлять оседать в массиве лунок в модуле обнаружения. Бусины можно осаждать с использованием гравитационной силы или посредством приложения электрической или магнитной силы. После стадии промывания для того, чтобы удалять какие-либо бусины, не расположенные внутри лунок, лунки можно закупоривать с использованием гидрофобной жидкости.

[00323] Анализируемое вещество, представляющее интерес, можно связывать с твердым носителем, таким как твердые носители, рассмотренные выше в связи с форматом сэндвич-анализа.

[00324] Имобилизованное анализируемое вещество, представляющее интерес, тестовый образец и по меньшей мере одно меченое антитело инкубируют в условиях, схожих с теми, что описаны выше в связи с форматом сэндвич-анализа. Затем создают комплексы анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела двух различных видов. В частности, иммобилизуют один из создаваемых комплексов анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела, и он содержит поддающуюся обнаружению метку (например, флуоресцентную метку и т.д.), тогда как другой комплекс анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела не иммобилизуют, и он содержит поддающуюся обнаружению метку. Не иммобилизованный комплекс анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела и остальной тестовый образец удаляют из присутствия иммобилизованного комплекса анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела способами, известными в данной области, такими как промывание. Когда удаляют не иммобилизованный комплекс анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела, определяют количество поддающейся обнаружению метки в иммобилизованном комплексе анализируемого вещества, представляющего интерес, и антитела после отщепления маркера. Затем можно определять концентрацию анализируемого вещества, представляющего интерес, в тестовом образце посредством сравнения количества поддающейся обнаружению метки, как описано выше.

Одностадийный иммунологический анализ или «захват на лету».

[00325] В иммунологическом анализе с захватом на лету, твердую подложку предварительно покрывают средством для иммобилизации. Захватывающее средство, анализируемое вещество и средство для обнаружения добавляют на твердую подложку вместе, после чего следует стадия промывания перед обнаружением. Захватывающее средство может связывать анализируемое вещество и содержит лиганд для средства для иммобилизации. Захватывающее средство и средства для обнаружения могут представлять собой антитела или какой-либо другой фрагмент, способный захватывать

или обнаруживать, как описано в настоящем описании, или известный в данной области. Лиганд может содержать пептидный маркер, и средство для иммобилизации может содержать антитело против пептидного маркера. Альтернативно, лиганд и средство для иммобилизации могут представлять собой какую-либо пару средств, способных к связыванию друг с другом с тем, чтобы использовать их в анализе захвата на лету (например, специфически связывающаяся пара и другие, такие как те, что известны в данной области). Можно измерять больше чем одно анализируемое вещество. В некоторых вариантах осуществления твердую подложку можно покрывать антигеном, и анализируемым веществом, подлежащим анализу, является антитело.

[00326] В определенных других вариантах осуществления в одностадийном иммунологическом анализе или «захвате на лету» используют твердый носитель (такой как микрочастица), предварительно покрытый средством для иммобилизации (таким как биотин, стрептавидин и т. д.) и по меньшей мере первым специфическим связывающим элементом и вторым специфическим связывающим элементом (которые выполняют функцию иммобилизованного и обнаруживающего реактивов, соответственно). Первый специфический связывающий элемент содержит лиганд для средства для иммобилизации (например, если средство для иммобилизации на твердом носителе представляет собой стрептавидин, лиганд на первом специфическом связывающем элементе может представлять собой биотин) и также связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. Второй специфический связывающий элемент содержит поддающуюся обнаружению метку и связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес. Твердый носитель и первый и второй специфические связывающие элементы можно добавлять в тестовый образец (последовательно или одновременно). Лиганд на первом специфическом связывающем элементе связывается со средством для иммобилизации на твердом носителе для того, чтобы формировать комплекс твердого носителя/первого специфического связывающего элемента. Какое-либо анализируемое вещество, представляющее интерес, которое присутствует в образце, связывается с комплексом твердого носителя/первого специфического связывающего элемента для того, чтобы формировать комплекс твердого носителя/первого специфического связывающего элемента/анализируемого вещества. Второй специфический связывающий элемент связывается с комплексом твердого носителя/первого специфического связывающего элемента/анализируемого вещества, и обнаруживают поддающуюся обнаружению метку. Перед обнаружением можно использовать необязательную стадию промывания. В некоторых вариантах осуществления в одностадийном анализе можно измерять больше чем одно анализируемое вещество. В определенных других вариантах осуществления можно использовать больше чем два специфических связывающих элемента. В определенных других вариантах осуществления можно добавлять множество поддающихся обнаружению меток. В определенных других вариантах осуществления можно обнаруживать множество анализируемых веществ, представляющих интерес.

[00327] Использование анализа захвата на лету можно осуществлять в различных форматах, как описано в настоящем описании и известно в данной области. Например, формат может представлять собой сэндвич-анализ, такой как описано выше, но альтернативно, может представлять собой конкурентный анализ, в нем можно использовать один специфический связывающий элемент или использовать другие известные вариации.

Комбинированный анализ (совместное покрытие микрочастиц с использованием Ag/Ab).

[00328] В комбинированном анализе твердую подложку, такую как микрочастица, совместно покрывают антигеном и антителом для захвата антитела и антигена из образца, соответственно. Твердый носитель можно совместно покрывать двумя или больше различными антигенами для того, чтобы захватывать два или больше различных антител из образца. Твердый носитель можно совместно покрывать двумя или больше различными антителами для того, чтобы захватывать два или больше различных антигенов из образца.

[00329] Дополнительно, в способах, описанных в настоящем описании, можно использовать блокирующие средства для того, чтобы предотвращать реакции специфического или неспецифического связывания (например, касательно НАМА) среди соединений в анализе. Когда средство (и, необязательно, какие-либо контроли) иммобилизуют на носителе, на носителе можно блокировать остающиеся сайты связывания средства. Можно использовать любой подходящий блокирующий реактив, известный специалистам в данной области. Например, можно использовать бычий сывороточный альбумин («BSA»), фосфатно-солевой буфер («PBS»), растворы казеина в PBS, Tween 20™ (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo.) или другое подходящее поверхностно-активное средство, а также другие блокирующие реактивы.

[00330] Как видно из настоящего раскрытия, способы и устройства, описанные в настоящем описании, включая вариации, можно использовать для диагностирования заболевания, нарушения или состояния у субъекта, который предположительно имеет заболевание, нарушение или состояние. Например, анализ образца можно использовать для обнаружения маркера заболевания, такого как маркер злокачественной опухоли, маркер кардиологического состояния, токсин, патоген, такой как вирус, бактерия, или их части. Способы и устройства также можно использовать для измерения анализируемого вещества, присутствующего в биологическом образце. Способы и устройства также можно использовать в скрининговых анализах крови для того, чтобы обнаруживать целевое анализируемое вещество. Скрининговые анализы крови можно использовать для того, чтобы осуществлять скрининг кровоснабжения.

Поверхностное акустическое волновое устройство, система и способы.

[00331] Системы, устройство и способы, связанные с интегрированным устройством подготовки образца поверхностными акустическими волнами (SAW) и обнаруживающим анализируемое вещество, предоставлены с помощью рассматриваемого раскрытия.

[00332] В одном из примеров устройство содержит компонент подготовки образца, например, подложку с поверхностью, который позволяет жидкости или текучим веществам распространяться через его поверхность посредством манипуляции акустическими силами. В том же примере устройство содержит компонент обнаружения анализируемого вещества, выполненный с возможностью принимать распространяемую жидкость и выполнять обнаружение анализируемого вещества в принимаемой жидкости.

[00333] «Поверхностные акустические волны (SAW)» и их грамматические эквиваленты, как используют в настоящем описании, в целом к распространению акустических волн в направлении вдоль поверхности. «Распространяющиеся поверхностные акустические волны» (TSAW) позволяют вводить поверхностные акустические волны в жидкость. В некоторых примерах введение может происходить в форме проникновения или рассеяния поверхностных акустических волн в жидкость. В некоторых примерах, поверхностные акустические волны представляют собой релеевские волны. Распространение поверхностных акустических волн можно осуществлять посредством прохождения поверхностных акустических волн через жидкость. Распространение поверхностных акустических волн можно проводить

многими различными путями и с использованием различных материалов, включая генерацию электрического потенциала с помощью преобразователя, такого как серия или множество электродов.

[00334] Паттерн электродов можно наносить на плоской подложке. В некоторых примерах плоская подложка может представлять собой пьезоэлектрический слой. В некоторых примерах электроды можно изготавливать на пьезоэлектрическом слое с использованием стандартной литографии и процессов обратной литографии/влажного травления. Можно варьировать структуру электродов, расстояние между электродами, число электродов (т.е., разрешение) на подложке. В некоторых примерах используют переплетающиеся (IDT) преобразователи или электроды. В некоторых примерах, компонент подготовки образца может содержать жидкость. В некоторых примерах может иметь место множество слоев. Различные слои могут иметь различную компоновку или конфигурацию рассеивающих структур для рассеяния поверхностных акустических волн. Как результат, движение капельки жидкости по различным слоям может различаться из-за различных присутствующих рассеивающих структур.

[00335] В некоторых примерах распространение SAW происходит, когда активируют один преобразователь или электрод. В других примерах, множество (например, пару) электродов, изготовленных на поверхности подложки, может генерировать две распространяющиеся SAW, которые распространяются по направлению друг к другу. В некоторых примерах активируют SAW смещение, когда на электроды подают радиочастотный (RF) диапазон. После активации, электроды или преобразователи создают электрический потенциал на поверхности подложки, при котором подложку подвергают механическому напряжению. Примерами механического напряжения являются непрерывное сжатие и расширение поверхности подложки. В результате этой непрерывной деформации подложки происходит распространение поверхностных акустических волн по поверхности.

[00336] Поверхностные акустические волны можно измерять в соответствии с амплитудой и частотой. Следовательно, частота и амплитуда электрического потенциала, генерируемого электродами, определяют амплитуду и частоту SAW.

[00337] Распространение SAW может происходить в линейном направлении. В некоторых примерах SAW могут распространяться вдоль продольной длины поверхности подложки. В других примерах, SAW могут распространяться вдоль ширины поверхности подложки. В других примерах распространение SAW может происходить при нелинейном направлении и движении. Поскольку текучее вещество является диссипативной системой, реакция на гармоническое воздействие через SAW не обязательно может быть гармонической.

[00338] Когда TSAW контактирует с жидкостью, жидкость поглощает часть энергии SAW и может отражать ее в форме продольных волн. Поглощение энергии преломленных акустических волн создает поток или распространение текучего вещества по поверхности подложки. Когда поверхностная акустическая волна распространяется по поверхности компонента подготовки образца, SAW может вступать в контакт с жидкостью. В результате, взаимодействие жидкости с SAW ведет к переносу SAW в жидкость. SAW манипулируют текучим веществом посредством «бесконтактной манипуляции», что обозначает распространение жидкости в компонент обнаружения посредством акустических волн, рассеивающихся или проникающих в текучее вещество. Как результат, происходит минимизация внешней контаминации биологического образца или анализируемого вещества.

[00339] В некоторых примерах образцовые действия по приведению текучего вещества

в движение включают перекачивание, смешивание, струйное течение и т.д. Как результат, жидкость распространяют вдоль поверхности компонента подготовки образца.

[00340] В некоторых примерах жидкость можно дозировать в виде капельки, подлежащей приведению в движение на поверхности компонента подготовки образца, перед активацией SAW электродов. Приведение капельки в движение можно использовать для расположения капелек и дозирования капелек на компоненте подготовки образца.

[00341] В других примерах, вместо микрожидкостной техники на основе капелек жидкости, можно использовать движимый SAW насос для того, чтобы перекачивать жидкость на открытую поверхность. В некоторых примерах текучее веществ можно перекачивать через закрытые каналы.

[00342] Жидкость может представлять собой какой-либо тестовый образец, содержащий или предположительно содержащий какое-либо анализируемое вещество, представляющее интерес. Как используют в настоящем описании, «анализируемое вещество», «целевое анализируемое вещество», «анализируемое вещество, представляющее интерес» относятся к анализируемому веществу, которое измеряют в способах и устройствах, описанных в настоящем описании. Капельки жидкости также могут относиться к частицам или бусинам в водном растворе. Образцы могут включать образцы биологических жидкостей, таких как, например, кровь, плазма, сыворотка, слюна, пот и т.д.

[00343] В некоторых примерах, жидкость можно располагать в виде отдельной частицы. В других примерах жидкость можно располагать в виде группы частиц (например, тысяч частиц). Капельки жидкости можно варьировать в соответствии с широким диапазоном масштабов расстояний, размеров (от нм до мм), а также геометрических форм.

[00344] На распространение поверхностных акустических волн также может влиять присутствие фоновых структур, паттерны которых располагают на поверхности платформы подготовки образца. Эти фоновые структуры могут управлять распространением звуковых акустических волн. Например, фоновые структуры могут управлять направлением, движением, скоростью SAW; таким образом, обеспечивая расширенную функциональность. Фоновые структуры можно изготавливать на подложке с использованием стандартной литографии, процессов обратной фотолитографии/влажного травления, тиснения/наноимпринтной литографии и микрообработки, модификации подложки давлением, теплом и лазером для того, чтобы формировать эти фоновые структуры. Эти фоновые структуры также могут принимать различные геометрические формы и размеры. В некоторых примерах фоновые структуры могут представлять собой столбики, конусы или отверстия, которые формируют решетку в подложке.

Поверхностный акустический волновой компонент подготовки образца.

[00345] «Компонент подготовки образца» и его грамматические эквиваленты, как используют в настоящем описании, в целом относятся к плоской поверхности, на которой изначально рассеивают капельки жидкости и где можно осуществлять стадии иммунологического анализа, как описано в настоящем описании. В некоторых примерах, подложку можно создавать из материалов с высоким акустическим отражением.

[00346] В некоторых примерах компонент подготовки образца содержит вышележащий слой, соединенный с подложкой. В некоторых примерах вышележащий слой съемно соединяют с подложкой. В других примерах, вышележащий слой перманентно соединяют с подложкой. Некоторые примеры включают создание

подложки из материала на полимерной или бумажной основе. Подложку на полимерной основе можно обрабатывать гидрофобным покрытием или при изготовлении можно добавлять гидрофобный слой поверх подложки на полимерной основе или с использованием другой подложки так, что подложка становится непроницаемой для

водного текучего вещества.

[00347] В некоторых примерах компонент подготовки образца также может содержать реактив для анализа, содержащийся на вышележащем слое. Компонент подготовки образца дополнительно содержит вышележащий слой, соединенный с подложкой.

[00348] В еще одном другом примере компонент подготовки образца может содержать серию рассеивающих структур, содержащихся на вышележащем слое. Примеры рассеивающих структур могут включать фоновые структуры, которые описаны более подробно далее.

[00349] В некоторых примерах, подложка может представлять собой пьезоэлектрический материал. Пьезоэлектрический слой можно создавать из композитного слоя, такого как монокристалл ниобата лития (LiNbO_3). Вышележащий слой дополнительно может содержать серию или множество электродов, или преобразователь. В некоторых примерах поверхностные акустические волны, генерируемые посредством электродов или IDT, также можно переносить в вышележащий слой.

[00350] В некоторых примерах вышележащий слой можно создавать из различных материалов, таких как пластмассы (например, PET, PC и т.д.).

[00351] В некоторых примерах, вышележащий слой можно изготавливать из материала с относительно высоким коэффициентом электромеханической связи. В некоторых примерах электроды можно изготавливать на пьезоэлектрических материалах. В одном из примеров LiNbO_3 можно использовать в качестве подложки для создания паттернов электродов в SAW микрожидкостных применениях. В другом примере кремний можно использовать в качестве материала подложки для создания паттернов электродов. Другие примеры материала, примененного для изготовления SAW-генерирующей подложки включают поликристаллический материал, микрокристаллический материал, нанокристаллический материал, аморфный материал или композитный материал. Другие примеры материала, примененного для изготовления SAW-генерирующей подложки, включают ферроэлектрический материал, пьезоэлектрический материал или магнитострикционный материал.

[00352] Как описано в настоящем описании, подложка представляет собой материал, способный генерировать поверхностные акустические волны и распространять акустические волны.

[00353] В дополнение к анализируемому веществу или биологическому образцу, подлежащему анализу, компонент подготовки образца также может содержать буферные или промывающие текучие вещества. В некоторых примерах, эти буферные или промывающие текучие вещества могут облегчать распространение жидкостей по компоненту подготовки образца и в компонент обнаружения. В других случаях эти текучие вещества можно использовать для того, чтобы смывать какую-либо остающуюся жидкость или биологические образцы, когда их расположили в массиве лунок. Примеры таких текучих веществ включают воздух, инертные газы, гидрофобные жидкости, гидрофильные жидкости, масла, растворители на органической основе и водные растворы высокой плотности. В определенных случаях устройство можно заполнять текучим наполнителем, который может представлять собой воздух, инертные газы,

гидрофобные жидкости, гидрофильные жидкости, масла, растворители на органической основе и водные растворы высокой плотности.

[00354] В некоторых примерах движение текучего вещества, вызываемое SAW, можно визуализировать посредством введения мелких красителей или частиц в капельку

5 жидкости.

[00355] Поверхность подготовки образца имеет поверхность, на которой жидкость можно распространять вдоль поверхности. Поверхность на поверхности подготовки образца может представлять собой какую-либо удобную поверхность плоской или не плоской конформации. Поверхность можно покрывать гидрофобным материалом для

10

того, чтобы содействовать движению жидкости вдоль поверхности. В некоторых примерах гидрофобный материал может включать октадецилтрихлорсилан (OTS). В других примерах на поверхность можно наносить паттерн для того, чтобы содействовать движению жидкости.

[00356] В некоторых примерах подложка поверхности подготовки образца может

15

быть эластической или гибкой. Подложка, на которой формируют поверхность, может быть эластической, чтобы поверхность могла деформироваться с тем, чтобы облегчать распространение поверхностных акустических волн по поверхности.

[00357] В некоторых вариантах осуществления поверхность подложки может содержать микрожидкостные каналы для того, чтобы содействовать распространению текучего вещества. В других вариантах осуществления микрожидкостный канал

20

располагают внутри подложки для того, чтобы передавать текучее вещество в подложку.

[00358] В некоторых примерах на верхней поверхности подложки компонента подготовки образца может быть предусмотрено закупоривающее покрытие. В определенных случаях, закупоривающее покрытие может предотвращать контаминацию жидкого содержимого поверхности. В других случаях, закупоривающее покрытие

25

может представлять собой жидкий непроницаемый слой. В других случаях, закупоривающее покрытие можно создавать из гибкого материала, такого как пластмасса, силикон или резина другого типа. В других случаях, закупоривающее

30

покрытие можно создавать из не гибкого материала, такого как стекло или другой не гибкий материал. В некоторых примерах закупоривающее покрытие может быть непроницаемым для тепла, ультрафиолетового света или другого электромагнитного излучения для того, чтобы предотвращать деформацию поверхности или жидкого содержимого, присутствующего на поверхности.

[00359] В некоторых примерах, подходящий спейсер может быть расположен между подложкой и закупоривающим покрытием. Под «подходящим спейсером», как

35

используют в настоящем описании, понимают элемент, расположенный между подложкой компонента подготовки образца и закупоривающим покрытием. В некоторых примерах, подходящий спейсер может облегчать перемещение капелек

40

жидкости между поверхностью и закупоривающим покрытием. В других примерах, подходящий спейсер может уменьшать связь между распространяющимися поверхностными акустическими волнами и поверхностью.

[00360] В первом образцовом компоненте подготовки образца первая подложка содержит материал с относительно высоким коэффициентом электромеханической связи, который имеет гибкую и деформируемую поверхность. Например, первая

45

подложка может представлять собой пьезоэлектрический материал или кремний.

[00361] В некоторых примерах, электроды располагают на поверхности или встраивают в пьезоэлектрический слой. Термин «электроды», как используют в этом контексте, относится к электрической схеме, содержащей электрод, серию или множество

электродов (например, больше чем один), преобразователь. Также можно наносить паттерн электродов на пьезоэлектрический слой. В некоторых примерах, электроды можно изготавливать на подложке с использованием стандартной литографии и процессов обратной фотолитографии/влажного травления. Можно варьировать
 5 структуру электродов, расстояние между электродами, число электродов (т.е. разрешение) на подложке. В некоторых примерах используют переплетающиеся (IDT) преобразователи или электроды. IDT определяют как комбинацию серии или множества электродов и пьезоэлектрического слоя, на котором находится серия или множество электродов. В некоторых примерах структуры электродов преобразователей формируют
 10 на пьезоэлектрическом слое. В других примерах, структуры электродов преобразователей встраивают в пьезоэлектрический слой.

[00362] В некоторых примерах, распространение поверхностных акустических волн происходит, когда активируют один преобразователь или электрод. В других примерах, множество (например, пара) электродов, изготовленных на поверхности подложки,
 15 может генерировать две распространяющиеся поверхностные акустические волны, которые распространяются по направлению друг к другу. В некоторых примерах, смещение поверхностных акустических волн активируют, когда радиочастотный (RF) диапазон подают на электроды. После активации электроды или преобразователи создают электрический потенциал на поверхности подложки, где материал подвергается
 20 механическому напряжению. Примеры механического напряжения представляют собой непрерывное сжатие и расширение поверхности подложки. В результате этой непрерывной деформации подложки происходит распространение поверхностных акустических волн по поверхности.

[00363] В некоторых примерах, длина волны поверхностных акустических волн
 25 зависит от шага преобразователя (IDT) или серии или множества электродов.

[00364] В одном из примеров, компонент подготовки образца может содержать серию фоновых структур, которые находятся на поверхности вышележащего слоя. Фоновые структуры могут управлять распространением акустических волн. Например, фоновые структуры могут управлять направлением, движением, скоростью
 30 поверхностных акустических волн. Фоновые структуры также могут иметь различные геометрические формы и размеры. В некоторых примерах фоновые структуры могут представлять собой столбики, конусы или отверстия, которые формируют решетку в подложке. Паттерн фоновых структур на поверхности вышележащего слоя можно определять предварительно на основании характеристик, таких как разрешение
 35 (например, число электродов на единицу площади поверхности), размер электрода, переплетение электродов и/или зазоры или пространство между электродами. В некоторых примерах, характеристики паттерна выбирают на основании одного или нескольких эксплуатационных использований средства приведения капельки в движение, с которым следует ассоциировать SAW компонент подготовки образца (например, для
 40 использования в биологических и/или химических анализах). В других конфигурациях паттерн электродов может иметь меняющуюся конфигурацию, чтобы сделать различные паттерны подходящими для различных применений. В некоторых примерах, увеличение размера или габаритов серии, или множества электродов или каждого индивидуального электрода также может снижать количество гидрофобного материала, наносимого
 45 между смежными электродами. Таким образом, признаки паттерна электродов позволяют максимизировать площадь поверхности SAW платформы. Кроме того, увеличенное переплетение серии или множества электродов/преобразователей способствует простоте, с которой жидкость распространяют по поверхности через

манипуляции ее электрическими потенциалами.

[00365] В первом образцовом компоненте подготовки образца, гидрофобный материал можно наносить на серию или множество электродов и поверхность подложки, чтобы сделать выплывающий слой непроницаемым для водных растворов. Как следствие гидрофобного материала, жидкость, приводимая в движение через капельку или насос для текучего вещества, находится в конфигурации шарика, образующего определенный угол контакта с гидрофобным слоем поверхности подложки. При работе, SAW акустические волны распространяются по поверхности, входя в жидкость, например, посредством проникновения или рассеяния в жидкость. Амплитуда или частота SAW акустической волны может управлять получаемой частотой и движением двигающейся жидкости.

[00366] В некоторых вариантах осуществления поверхностные акустические волны распространяются вдоль поверхности подложки и затем входят в выплывающий слой. После этого, поверхностные акустические волны продолжают распространяться, и их направляют фононные структуры, которые можно формировать в выплывающем слое.

[00367] В некоторых примерах, где SAW акустическую волну генерируют с помощью двух или больше электродов, это может вести к управлению направлением жидкости, которая сопряжена с получаемыми поверхностными акустическими волнами. Направление распространения жидкости может представлять собой линейное направление или не линейное направление. В некоторых примерах, распространение капельки жидкости может происходить катящимся движением. В других примерах, распространение капельки жидкости может происходить скользящим движением по поверхности. В некоторых примерах, где имеет место недостаток фононных структур на поверхности, распространение SAW и распространение получаемой капельки жидкости происходят в одном и том же направлении. В других примерах, где имеет место присутствие фононных структур на поверхности, распространение SAW и распространение получаемых капелек жидкости происходят в противоположных направлениях или различных направлениях.

[00368] В некоторых примерах, гидрофобный материал представляет собой политетрафторэтиленовый материал (например, Teflon®) или фторсурфактант (например, FluoroPel™), нанесенный на поверхность выплывающего слоя.

Компонент обнаружения анализируемого вещества.

[00369] В некоторых вариантах осуществления компонент обнаружения анализируемого вещества может содержать массив лунок, в которых молекулы, частицы, бусины или клетки можно изолировать для цели обнаружения анализируемого вещества или биологического образца. TSAW (распространяющиеся поверхностные акустические волны) создают акустическое течение по поверхности через каналы для текучих веществ, чтобы толкать текучее вещество (капельки или клетки) в направлении массив лунок.

[00370] Геометрическую форму и геометрию лунок можно менять в соответствии с требуемым типом процедуры или применения. В некоторых примерах лунки можно варьировать от глубоких камер до мелких камер. Лунки могут быть какой-либо из различных геометрических форм, таких как цилиндрическая с плоской нижней поверхностью, цилиндрическая со скругленной нижней поверхностью, кубическая, кубовидная, усеченная коническая, перевернутая усеченная коническая или коническая. В определенных случаях лунки могут содержать боковую стенку, которую можно ориентировать для того, чтобы содействовать приему и удерживанию микробусин или микрочастиц, присутствующих в каплях жидкости, которые перемещали по массиву лунок. В некоторых примерах, лунки могут содержать первую боковую стенку и вторую

боковую стенку, где первая боковая стенка может быть противоположной второй боковой стенке. В некоторых примерах первая боковая стенка ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок. Движение капелек может происходить в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке. Массив лунок может иметь субфемтолитровый объем, фемтолитровый объем, субнанолиитровый объем, нанолиитровый объем, субмикролиитровый объем или микролиитровый объем. Например, массив лунок может представлять собой массив фемтолиитровых лунок, массив нанолиитровых лунок или массив микролиитровых лунок.

В некоторых вариантах осуществления все лунки в массиве могут иметь по существу одинаковый объем. Массив лунок может иметь объем вплоть до 100 мкл, например, приблизительно 0,1 фемтолиитра, 1 фемтолиитр, 10 фемтолиитров, 25 фемтолиитров, 50 фемтолиитров, 100 фемтолиитров, 0,5 пл, 1 пл, 10 пл, 25 пл, 50 пл, 100 пл, 0,1 нл, 1 нл, 10 нл, 25 нл, 50 нл, 500 нл, 0,1 микролиитра, 1 микролиитр, 10 микролиитров, 25 микролиитров, 50 микролиитров или 100 микролиитров.

[00371] В определенных случаях, компонент подготовки образца и компонент обнаружения анализируемого вещества можно изготавливать из одной плоской поверхности с использованием, например, непрерывного производственного процесса с рулонной подачей. В таком примере компонент подготовки образца и цифровой компонент обнаружения анализируемого вещества могут быть расположены смежно друг с другом.

[00372] В некоторых примерах, компонент подготовки образца может содержать выпуск образца. Под «выпуском образца», как используют в настоящем описании, понимают трубчатый элемент, канал или трубу для введения жидкости в компонент подготовки образца. Например, выпуск образца может вводить биологический образец на поверхность подложки. В другом примере, выпуск образца может вводить биологический образец внутрь подложки.

[00373] В других примерах, компонент подготовки образца и цифровой компонент обнаружения анализируемого вещества могут быть расположены один поверх другого в стопочной конфигурации и разделены пространством для манипуляции каплями. В примере компонента подготовки образца, который расположен поверх компонента обнаружения анализируемого вещества в стопочной конфигурации или наоборот (компонент обнаружения анализируемого вещества расположен под компонентом подготовки образца), выпуск или канал может быть расположен между двумя компонентами. Выпуск или канал может направлять образец или анализируемое вещество между двумя компонентами.

[00374] Фононные структуры можно изготавливать или встраивать на вышележащем слое компонента подготовки образца. В определенных случаях, фононные структуры отпечатывают или тиснят на вышележащем слое. В таких примерах тиснение или отпечатывание фононных структур происходит за одну стадию. В других примерах может иметь место множество стадий. Отпечатывание или тиснение фононных структур может происходить посредством комбинации приложения давления, тепла или ультрафиолетового света в присутствии формы, маски или паттерна. В одном из примеров, давление, происходящее от формы в сторону вышележащего слоя, может вызывать деформацию поверхности вышележащего слоя.

[00375] После включения фононных структур в вышележащий слой, его можно отверждать в течение достаточного периода времени для того, чтобы сделать возможным затвердевание или деформацию фононных структур. Кроме того, фононные

структуры можно подвергать воздействию реактивов, которые модифицируют физические свойства фононных структур.

[00376] В некоторых примерах реактивы для обнаружения анализируемого вещества можно наносить печатью во время изготовления интегрированного подготавливающего образца и обнаруживающего анализируемое вещество устройства в дегидратированной форме. Регидратация реактивов происходит через использование образца или буфера.

[00377] В некоторых примерах, массив лунок содержит отдельные камеры лунок, где каждая камера лунки имеет первый конец и второй конец. В одном из примеров первый конец лунки может быть открытым, тогда как второй конец лунки закрыт. В других примерах, как первый конец лунок, так и второй конец камер лунок закрыт.

Закрывание первого конца камер лунок может происходить как через механизм постоянного закрывания, так и механизм временного закрывания. Под «постоянным», как используют в настоящем описании, понимают, что механизм закрывания предназначен для того, чтобы оставаться креплением камеры лунки. Под «временным»,

как используют в настоящем описании, понимают механизм закрывания, который можно удалять, не затрагивая структуру, целостность или жесткость механизма закрывания. В некоторых аспектах закрывание первого конца камеры лунки может быть через комбинацию механизма постоянного и временного закрывания. В одном из примеров механизм временного закрывания может представлять собой жидкость,

такую как масляное текучее вещество, которое может заполнять первый конец камеры лунки. В определенных примерах капля масла может заполнять первый конец лунки после предварительного размещения анализируемого вещества, биологического образца или поддающейся обнаружению метки, относящейся к анализируемому веществу, в лунке. В других примерах, капля масла может закрывать первый конец лунки независимо от присутствия анализируемого вещества или биологического образца в лунке.

[00378] Массив лунок имеет паттерн камер лунок (например, формирование лунок в массиве), подходящих для приема множества меток, бусин, меченых бусин, маркера и т.п. Паттерн массива лунок можно варьировать в соответствии с разрешением и пространством между камерами лунок.

[00379] В некоторых примерах паттерн массива лунок можно изготавливать с использованием наноимпринтной литографии. В других примерах паттерн массива лунок можно изготавливать через комбинацию любого из формования, давления, тепла или лазера.

[00380] Размер массива лунок можно варьировать. В некоторых примерах можно изготавливать массив лунок, который имеет отдельные камеры лунок диаметром 100 нм и с периодичностью 500 нм.

[00381] В некоторых примерах массив лунок может представлять собой то, что по существу описано в разделе, связанном с цифровой микрожидкостной техникой и модулем обнаружения.

[00382] В некоторых примерах обнаружение анализируемого вещества или биологического образца, представляющего интерес, может происходить через обнаружение оптического сигнала. Например, излучение возбуждающего света (например, лазера) для того, чтобы измерять результат интенсивности сигнала. В других примерах желаемое анализируемое вещество можно обнаруживать посредством измерения оптического сигнала, исходящего из каждой камеры лунки и количественно определять посредством количественного определения результата. Например, число положительных счетов (например, лунок) сравнивают с числом отрицательных счетов (например, лунок) для получения цифрового счета. Альтернативно или кроме того,

можно измерять сигнал, коррелирующий с концентрацией анализируемого вещества (аналог количественного определения). Можно обнаруживать различные сигналы от лунок устройства. Образцовые сигналы включают флуоресцентные, хемилюминесцентные, колориметрические, турбидиметрические и т.д.

5 Смежная конфигурация подготавливаемого образца и обнаруживающего анализируемое вещество устройства.

[00383] В некоторых вариантах осуществления массив лунок располагают на одном и том же вышележащем слое в качестве компонента подготовки образца. В некоторых примерах вышележащий слой и массив лунок могут быть расположены на первой
10 подложке. Первую подложку можно делить на первую часть, в которой изначально располагают капельки, подлежащие анализу, и вторую часть, в направлении которой капельки перемещают для обнаружения анализируемого вещества. Вышележащий слой может присутствовать на первой части первой подложки и массив лунок может быть расположен на второй части первой подложки. По существу, вышележащий слой,
15 который формирует компонент подготовки образца, и массив лунок, который формирует компонент обнаружения анализируемого вещества, могут находиться непосредственно смежно. Как используют в настоящем описании, термин «непосредственно смежно» относится к отсутствию компонента, разделяющего или делящего компонент подготовки образца и массив лунок. В примерах, где компонент подготовки образца и массив лунок
20 находятся непосредственно смежно друг с другом, распространение капелек жидкости по поверхности компонента подготовки образца незаметно переходит на поверхность массива лунок. В других примерах, массив лунок располагают опосредованно смежно с компонентом подготовки образца. Как используют в настоящем описании, термин «опосредованно смежно» относится к присутствию объекта или элемента, разделяющего
25 или делящего компонент подготовки образца.

[00384] В некоторых примерах, чтобы содействовать движению жидкости и усовершенствовать точность положения капелек в отдельных камерах лунок, на поверхность подложки компонента подготовки образца можно наносить паттерн или покрытие из гидрофильного материала. В других примерах, реактивы, такие как масла
30 и эмульсии, можно использовать для того, чтобы закупоривать массивы лунок.

[00385] На фиг. 13А проиллюстрирован вид сбоку компонента подготовки образца, расположенного смежно с компонентом обнаружения анализируемого вещества. Как показано на фиг. 13А, компонент подготовки образца содержит вышележащий слой 810. Вышележащий слой 810 содержит серию фоновых структур 830. Размер,
35 геометрическая форма и габариты фоновых структур можно варьировать. Как показано на фиг. 13А, компонент подготовки образца располагают непосредственно смежно с компонентом обнаружения анализируемого вещества, содержащим массив лунок 860. Когда эти компоненты располагают смежно друг с другом, жидкость, распространяемую по поверхности вышележащего слоя 810, можно собирать в
40 отдельных камерах лунок на массиве лунок 860. В этом конкретном примере канал 840 впуска образца располагают между вышележащим слоем 810 и покрытием 870. Вышележащий слой 810 и покрытие 870 разделяют с помощью пространства/зазора 850, определяющего пространство, где манипулируют каплями жидкости (например, сливают, разделяют, перемешивают и т.д.). Однако в других примерах канал впуска
45 образца не содержится. Размер, габариты и вариации канала впуска образца можно варьировать. Например, канал впуска образца может вводить текучее вещество на поверхность вышележащего слоя 810. В других примерах, канал впуска образца может вводить текучее вещество внутрь в вышележащий слой 810.

[00386] В некоторых примерах, закупоривающее покрытие можно предоставлять на поверхности компонента подготовки образца. В определенных случаях, закупоривающее покрытие может предотвращать контаминацию жидкого содержимого поверхности. В других случаях, закупоривающее покрытие представляет собой жидкий непроницаемый слой. В других случаях, закупоривающее покрытие выполняют из гибкого материала, такого как пластмассы, силикон или резина другого типа. В других случаях, закупоривающее покрытие выполняют из не гибкого материала, такого как стекло или другой не гибкий материал. В некоторых примерах, закупоривающее покрытие может быть непроницаемым для тепла, ультрафиолетового света или другого электромагнитного излучения для того, чтобы предотвращать деформацию поверхности или жидкого содержимого, присутствующего на поверхности компонента подготовки образца.

[00387] В некоторых примерах, можно предусмотреть тепловой сток для того, чтобы рассеивать тепло, образуемое при генерации поверхностных акустических волн на поверхности подложки.

Стопочная конфигурация подготавливаемого образца и обнаруживающего анализируемое вещество устройства.

[00388] В некоторых вариантах осуществления массив лунок (компонент обнаружения) располагают поверх компонента подготовки образца, отделенного пространством, где манипулируют каплями. В некоторых примерах, выпуск или канал может быть расположен между двумя компонентами. Выпуск или канал может направлять образец или анализируемое вещество между двумя компонентами.

[00389] В некоторых примерах, массив лунок можно отпечатывать или тиснить на первой подложке, и фоновая структура может быть представлена на вышележащем слое, расположенном разнесенным образом от первой подложки. Вышележащий слой может опираться на вторую подложку.

[00390] В некоторых примерах, стадию соединения первой подложки, которая содержит массив лунок, с вышележащим слоем, можно облегчать с использованием скрепляющего средства, адгезивного средства, ленты, клея, припоя или других фиксирующих средств, способных соединять массив лунок с вышележащим слоем. В других примерах, стадию соединения массива лунок с фоновыми структурами компонента подготовки образца можно выполнять через использование механических креплений, крепежей, болтов и других механических компонентов, таких как защелки. В других примерах, стадия соединения массива лунок с фоновыми структурами компонента подготовки образца может происходить через посадку и расположение массива лунок поверх фоновых структур компонента подготовки образца. В некоторых примерах, фоновые структуры подложки могут быть в параллельной ориентации относительно компонента массива лунок.

[00391] Расстояние между фоновыми структурами вышележащего слоя и массивом лунок можно варьировать в соответствии с типом применения, подлежащего осуществлению, размером капли жидкости, подлежащей приведению в движение на поверхности подложки, размером, геометрической формой и компоновкой фоновых структур, размером канала/выпуска образца и амплитудой поверхностных акустических волн, распространяющихся по поверхности.

[00392] На фиг. 13В проиллюстрирован вид сбоку стопочной конфигурации вышележащего слоя и компонента массива лунок. Как показано на фиг. 13В, вышележащий слой 810 содержит серию фоновых структур 830. Фоновые структуры 830 располагают в массиве повторяющихся структурных элементов. Размер,

геометрическая форма и габариты фоновых структур можно варьировать. В этом примере также присутствует массив лунок 860. В этом примере массив лунок 860 располагают непосредственно над вышележащим слоем. Как проиллюстрировано на фиг. 13В, отверстие лунок может находиться непосредственно напротив фоновых структур. В этом конкретном примере, канал 840 впуска образца располагают между массивом лунок и вышележащим слоем. Однако, в других примерах канал впуска образца не содержится. Размер, габариты и вариации канала впуска образца можно варьировать. Например, канал впуска образца позволяет вводить текучее вещество на поверхность вышележащего слоя 810. В других примерах, канал впуска образца позволяет вводить текучее вещество внутрь в вышележащий слой 810. Подложку 820, которая содержит массив лунок 860, располагают разнесенным образом от вышележащего слоя 810 и отделяют от вышележащего слоя 810 с помощью зазора/пространства 850.

[00393] Можно варьировать размер и/или геометрическая форма массива лунок, как показано на фиг. 13А-В. Например, массив лунок может быть по существу мелким или глубоким. На разрешение массива лунок влияет пространство между камерами лунки. Например, минимальное пространство между камерами лунок делает возможным более высокое число лунок для того, чтобы собирать большее число анализируемых веществ или биологических образцов. В некоторых примерах, массив лунок можно формировать через абляцию подложки. Паттерн массива лунок можно формировать с использованием специального паттерна или специальной маски, подвергая маску лазерной абляции.

Изготовление поверхностного акустического волнового подготавливающего образец и обнаруживающего устройства.

[00394] На фиг. 14А-14В проиллюстрированы образцовые способы отдельного изготовления SAW устройств, раскрытых в приведенных выше разделах. На фиг. 14А проиллюстрировано, что компонент подготовки образца и компонент массива лунок располагают смежно друг с другом посредством изготовления фоновых структур и массива лунок на одной базовой подложке. Вышележащий слой (например, см. фиг. 13А, вышележащий слой 810) помещают на линии 900 сборочного узла. Распространение вышележащего слоя вдоль линии 900 сборочного узла облегчает конвейерный ленточный механизм, в котором используют серию валиков. Валик 914 вышележащего слоя разматывают и подвергают воздействию в блоке 910 тиснения, который воздействует на материал интенсивным теплом, давлением или ультрафиолетовым светом для того, чтобы формировать фоновые структуры на вышележащем слое или встраивать их в вышележащий слой с использованием формы. Массив лунок создают с использованием лазерной абляции 924. После этого, вышележащий слой проходит через множество валиков в компонент 920 обработки поверхности, который модифицирует свойства вышележащего слоя. После этого вышележащий слой проходит через струйный принтер 930, который осаждает реактивы для анализа на вышележащий слой. В некоторых примерах, получаемые структуры можно подвергать стадии отверждения. В других примерах, получаемые структуры можно подвергать обработке поверхности для того, чтобы модифицировать их физические свойства, например, внедрение функционализированных реактивов, требуемых для протоколов анализа. Затем покрытие (например, фиг. 13А, покрытие 870) ламинируют 940 на вышележащий слой. Покрытие можно предоставлять в виде рулона 905, который разматывают и перемещают с использованием валиков. Перед размещением покрытия на вышележащем слое, подходящий спейсер помещают между вышележащим слоем и покрытием, чтобы сделать возможным перемещение капелек жидкости между двумя поверхностями.

Собранную структуру можно нарезать 950 для того, чтобы создавать индивидуальные устройства.

[00395] На фиг. 14В проиллюстрирован образцовый способ изготовления устройства, изображенного на фиг. 13В. Рулон 914 вышележащего слоя (например, см. фиг. 13В, вышележащий слой 810) подвергают процессу изготовления с использованием блока 910 тиснения, который подвергает вышележащий слой воздействию интенсивного тепла, давления или ультрафиолетового света для того, чтобы формировать повторяющиеся структурные элементы фоновых структур в присутствии формы. После этого, вышележащий слой проходит через компонент 920 обработки поверхности для того, чтобы модифицировать свойства поверхности вышележащего слоя. После этого, вышележащий слой проходит через струйный принтер 930, чтобы осаждать реактивы для анализа *in situ*. Для того чтобы формировать модуль обнаружения, содержащий массив лунок, рулон 906 первой подложки (например, см. фиг. 13В, подложка 820) подвергают лазерной абляции 924. В блоке 940 ламинирования как вышележащий слой, так и первую подложку, содержащую массив лунок, объединяют вместе и впоследствии скрепляют в разнесенной конфигурации. Как результат, вышележащий слой и подложку выравнивают вертикально в стопочной конфигурации. После этого подложку стопкой подвергают воздействию нарезающего компонента 950, например, чтобы создавать индивидуальные устройства.

[00396] Устройства и системы и способ, описанные в настоящем описании, которые распространяют приведение капельки в движение, также могут включать различные другие силы, которые влияют на приведение капельки в движение. Например, движение капелек по поверхностям может включать опосредованные электрическим полем силы, электростатическое приведение в движение (такое как электрическое приведение в движение), электросмачивание, диэлектрофорез, градиенты электрического поля или силы, опосредованные электродами. В вариантах осуществления, где комбинацию поверхностных акустических волн и цифровые микрочиповые электроды используют для манипуляции капельками, SAW устройства, описанные в настоящем описании, могут содержать серию или множество электродов.

[00397] Интегрированные устройства, описанные в настоящем описании, можно использовать для того, чтобы подготавливать различные образцы, такие как биологический образец, для обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес. В определенных случаях, устройство можно использовать для осуществления цифрового иммунологического анализа и обнаружения присутствия или отсутствия частиц/бусин, которое коррелирует с присутствием или отсутствием анализируемого вещества.

Наборы и картриджи.

[00398] Также в настоящем описании предусмотрен набор для использования при осуществлении описанных выше способов с использованием раскрытого устройства или без него. Набор может содержать инструкции для анализа анализируемого вещества с использованием раскрытого устройства. Инструкции, включенные в набор, можно прикреплять к упаковочному материалу, или они могут быть включены в виде вкладыша в упаковку. Инструкции могут представлять собой письменные или печатные материалы, но не ограничиваясь этим. Любая среда, способная хранить такие инструкции и передавать их конечному пользователю, предусмотрена этим раскрытием. Такие среды включают, но не ограничиваясь этим, электронные запоминающие среды (например, магнитные диски, ленты, картриджи, чипы), оптические среды (например, CD ROM) и т.п. Как используют в настоящем описании, «инструкции» могут включать адрес

интернет-сайта, который предоставляет инструкции.

[00399] Набор может содержать картридж, который содержит микрожидкостный модуль со встроенным обнаружением анализируемого вещества, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления микрожидкостная техника и обнаружение анализируемого вещества могут представлять собой отдельные компоненты для обратимой интеграции вместе или могут быть полностью или необратимо интегрированы в картридже. Картридж может быть одноразовым. Картридж может содержать один или несколько реактивов, которые можно использовать для практической реализации способов, раскрытых выше. Картридж может содержать один или несколько контейнеров, содержащих реактивы, в виде одной или нескольких отдельных композиций или необязательно в виде смеси, где позволяет совместимость реактивов. Картридж также может содержать другой материал(ы), который может быть желательным с точки зрения пользователя, такой как буфер(ы), разбавитель(и), стандарт(ы) (например, калибровочные стандарты и контроли) и/или какой-либо другой материал, который можно использовать при обработке образца, промывании или проведении какой-либо другой стадии анализа. Картридж может содержать один или несколько специфических связывающих элементов, описанных выше.

[00400] Альтернативно или дополнительно, набор может содержать калибровочный стандарт или контроль, например, очищенное и необязательно лиофилизированное анализируемое вещество, представляющее интерес, или в жидкой, гелевой или других формах на картридже или отдельно и/или по меньшей мере один контейнер (например, пробирку, микротитровальные планшеты или полоски) для использования с устройством и способами, описанными выше, и/или буфер, такой как буфер для анализа или буфер для промывания, любой из которых можно предоставлять в виде концентрированного раствора. В некоторых вариантах осуществления набор содержит все компоненты, т.е. реактивы, стандарты, буферы, разбавители и т.д., которые необходимы для того, чтобы осуществлять анализ. Инструкции также могут включать инструкции для создания калибровочной кривой.

[00401] Набор дополнительно может содержать эталонные стандарты для количественного определения анализируемого вещества, представляющего интерес. Эталонные стандарты можно использовать для создания калибровочных кривых для интерполяции и/или экстраполяции концентраций анализируемого вещества, представляющего интерес. Набор может содержать эталонные стандарты, которые варьируют в отношении уровня концентрации. Например, набор может содержать один или несколько эталонных стандартов с высоким уровнем концентрации, средним уровнем концентрации или низким уровнем концентрации. В отношении диапазонов концентраций для эталонного стандарта, это можно оптимизировать через анализ. Образцовые диапазоны концентраций для эталонных стандартов включают, но не ограничиваясь этим, например: приблизительно 10 фг/мл, приблизительно 20 фг/мл, приблизительно 50 фг/мл, приблизительно 75 фг/мл, приблизительно 100 фг/мл, приблизительно 150 фг/мл, приблизительно 200 фг/мл, приблизительно 250 фг/мл, приблизительно 500 фг/мл, приблизительно 750 фг/мл, приблизительно 1000 фг/мл, приблизительно 10 пг/мл, приблизительно 20 пг/мл, приблизительно 50 пг/мл, приблизительно 75 пг/мл, приблизительно 100 пг/мл, приблизительно 150 пг/мл, приблизительно 200 пг/мл, приблизительно 250 пг/мл, приблизительно 500 пг/мл, приблизительно 750 пг/мл, приблизительно 1 нг/мл, приблизительно 5 нг/мл, приблизительно 10 нг/мл, приблизительно 12,5 нг/мл, приблизительно 15 нг/мл, приблизительно 20 нг/мл, приблизительно 25 нг/мл, приблизительно 40 нг/мл,

приблизительно 45 нг/мл, приблизительно 50 нг/мл, приблизительно 55 нг/мл, приблизительно 60 нг/мл, приблизительно 75 нг/мл, приблизительно 80 нг/мл, приблизительно 85 нг/мл, приблизительно 90 нг/мл, приблизительно 95 нг/мл, приблизительно 100 нг/мл, приблизительно 125 нг/мл, приблизительно 150 нг/мл, приблизительно 165 нг/мл, приблизительно 175 нг/мл, приблизительно 200 нг/мл, приблизительно 225 нг/мл, приблизительно 250 нг/мл, приблизительно 275 нг/мл, приблизительно 300 нг/мл, приблизительно 400 нг/мл, приблизительно 425 нг/мл, приблизительно 450 нг/мл, приблизительно 465 нг/мл, приблизительно 475 нг/мл, приблизительно 500 нг/мл, приблизительно 525 нг/мл, приблизительно 550 нг/мл, приблизительно 575 нг/мл, приблизительно 600 нг/мл, приблизительно 700 нг/мл, приблизительно 725 нг/мл, приблизительно 750 нг/мл, приблизительно 765 нг/мл, приблизительно 775 нг/мл, приблизительно 800 нг/мл, приблизительно 825 нг/мл, приблизительно 850 нг/мл, приблизительно 875 нг/мл, приблизительно 900 нг/мл, приблизительно 925 нг/мл, приблизительно 950 нг/мл, приблизительно 975 нг/мл, приблизительно 1000 нг/мл, приблизительно 2 мкг/мл, приблизительно 3 мкг/мл, приблизительно 4 мкг/мл, приблизительно 5 мкг/мл, приблизительно 6 мкг/мл, приблизительно 7 мкг/мл, приблизительно 8 мкг/мл, приблизительно 9 мкг/мл, приблизительно 10 мкг/мл, приблизительно 20 мкг/мл, приблизительно 30 мкг/мл, приблизительно 40 мкг/мл, приблизительно 50 мкг/мл, приблизительно 60 мкг/мл, приблизительно 70 мкг/мл, приблизительно 80 мкг/мл, приблизительно 90 мкг/мл, приблизительно 100 мкг/мл, приблизительно 200 мкг/мл, приблизительно 300 мкг/мл, приблизительно 400 мкг/мл, приблизительно 500 мкг/мл, приблизительно 600 мкг/мл, приблизительно 700 мкг/мл, приблизительно 800 мкг/мл, приблизительно 900 мкг/мл, приблизительно 1000 мкг/мл, приблизительно 2000 мкг/мл, приблизительно 3000 мкг/мл, приблизительно 4000 мкг/мл, приблизительно 5000 мкг/мл, приблизительно 6000 мкг/мл, приблизительно 7000 мкг/мл, приблизительно 8000 мкг/мл, приблизительно 9000 мкг/мл, или приблизительно 10000 мкг/мл.

[00402] Любые специфические связывающие элементы, которые предоставлены в наборе, могут содержать метку, такую как флуорофор, фермент, дендример, бусина, наночастица, нанобусина, микрочастица, микробусина, полимер, белок, биотин/авидиновая метка или тому подобное, или набор может содержать реактивы для мечения специфических связывающих элементов или реактивы для обнаружения специфических связывающих элементов и/или для мечения анализируемых веществ или реактивы для обнаружения анализируемых веществ. При желании, набор может содержать один или несколько различных маркеров или меток. Набор также может содержать компоненты для того, чтобы вызывать расщепление, такие как опосредующий расщепление реактив. Например, опосредующий расщепление реактив может содержать восстанавливающее средство, такое как дитиотреитол (DTT) или трис(2-карбоксиэтил)фосфин) TCEP. Специфические связывающие элементы, калибровочные стандарты и/или контроли можно предоставлять в отдельных контейнерах или предварительно дозировать в подходящий формат или картридж для анализа.

[00403] Набор может содержать один или несколько специфических связывающих элементов, например, чтобы обнаруживать одно или несколько целевых анализируемых веществ в образце в мультиплексированном анализе. Число специфических связывающих элементов различных типов в наборе может находиться в широком диапазоне в зависимости от предполагаемого использования набора. Число специфических связывающих элементов в наборе может находиться в диапазоне от 1 приблизительно до 10, или выше. Например, набор может содержать от 1 до 10 специфических

связывающих элементов, от 1 до 9 специфических связывающих элементов, от 1 до 8 специфических связывающих элементов, от 1 до 7 специфических связывающих элементов, от 1 до 6 специфических связывающих элементов, от 1 до 5 специфических связывающих элементов, от 1 до 4 специфических связывающих элементов, от 1 до 3 специфических связывающих элементов, от 1 до 2 специфических связывающих элементов, от 2 до 10 специфических связывающих элементов, от 2 до 9 специфических связывающих элементов, от 2 до 8 специфических связывающих элементов, от 2 до 7 специфических связывающих элементов, от 2 до 6 специфических связывающих элементов, от 2 до 5 специфических связывающих элементов, от 2 до 4 специфических связывающих элементов, от 3 до 10 специфических связывающих элементов, от 3 до 9 специфических связывающих элементов, от 3 до 8 специфических связывающих элементов, от 3 до 7 специфических связывающих элементов, от 3 до 6 специфических связывающих элементов, от 3 до 5 специфических связывающих элементов, от 3 до 4 специфических связывающих элементов, от 4 до 10 специфических связывающих элементов, от 4 до 9 специфических связывающих элементов, от 4 до 8 специфических связывающих элементов, от 4 до 7 специфических связывающих элементов, от 4 до 6 специфических связывающих элементов, от 5 до 10 специфических связывающих элементов, от 5 до 9 специфических связывающих элементов, от 5 до 8 специфических связывающих элементов, от 5 до 7 специфических связывающих элементов, от 5 до 6 специфических связывающих элементов, от 6 до 10 специфических связывающих элементов, от 6 до 9 специфических связывающих элементов, от 6 до 8 специфических связывающих элементов, от 6 до 7 специфических связывающих элементов, от 7 до 10 специфических связывающих элементов, от 7 до 9 специфических связывающих элементов, от 7 до 8 специфических связывающих элементов, от 8 до 10 специфических связывающих элементов, от 8 до 9 специфических связывающих элементов или от 9 до 10 специфических связывающих элементов. Каждый из одного или нескольких специфических связывающих элементов может связываться с отличающимся целевым анализируемым веществом и каждый специфический связывающий элемент можно метить отличающейся поддающейся обнаружению меткой. Например, набор может содержать первый специфический связывающий элемент, который связывается с первым целевым анализируемым веществом, второй специфический связывающий элемент, который связывается со вторым целевым анализируемым веществом, третий специфический связывающий элемент, который связывается с третьим целевым анализируемым веществом, и т.д., и первый специфический связывающий элемент метят первой поддающейся обнаружению меткой, второй специфический связывающий элемент метят второй поддающейся обнаружению меткой, третий специфический связывающий элемент метят третьей поддающейся обнаружению меткой и т.д. В дополнение к одному или нескольким специфическим связывающим элементам, наборы дополнительно могут содержать один или несколько дополнительных компонентов анализа, таких как подходящие буферные среды и т.п. Наконец, наборы могут содержать инструкции для использования специфических связывающих элементов в способах обнаружения анализируемого вещества в соответствии с рассматриваемым изобретением, где эти инструкции для использования могут присутствовать в упаковке набора и/или на вкладыше в упаковку.

[00404] Необязательно, набор содержит компоненты контроля качества (например, панели чувствительности, калибровочные стандарты и положительные контроли). Получение реактивов для контроля качества хорошо известно в данной области и описано на вкладных листах в различные иммунодиагностические продукты. Элементы

панели чувствительности необязательно используют для того, чтобы устанавливать характеристики эффективности анализ, и дополнительно необязательно можно использовать индикаторы целостности реактивов в наборе и стандартизацию анализов.

[00405] Набор также необязательно может содержать другие реактивы, необходимые для проведения диагностического анализа или облегчения оценки контроля качества, такие как буферы, соли, ферменты, кофакторы ферментов, субстраты, обнаруживающие реактивы и т.п. Другие компоненты, такие как буферы и растворы для выделения и/или обработки тестового образца (например, реактивы для предварительной обработки), также могут входить в набор. Набор дополнительно может содержать один или несколько других контролей. Один или несколько компонентов набора могут быть лиофилизированными, и в этом случае набор дополнительно может содержать реактивы, подходящие для восстановления лиофилизированных компонентов. Один или несколько компонентов могут быть в жидкой форме.

[00406] Различные компоненты набора необязательно предоставляют в подходящих контейнерах, по мере необходимости. Набор дополнительно может содержать контейнеры для размещения или хранения образца (например, контейнер или картридж для образца мочи, слюны, плазмы, цереброспинальной жидкости или сыворотки, или подходящий контейнер для хранения, транспортировки или обработки ткани с тем, чтобы создавать тканевой аспират). Где это применимо, набор необязательно также может содержать реакционные сосуды, сосуды для смешивания и другие компоненты, которые облегчают подготовку реактивов или тестового образца. Набор также может содержать один или несколько приборов для сбора/регистрации образцом для содействия получению тестового образца, такого как различные устройства для взятия/переноса крови, такие как устройства для микропроб, микроиглы или другие минимально инвазивные безболезненные способы взятия крови; пробирка(и) для взятия крови; скальпели; пробирки для взятия крови из капилляров; другие способы взятия крови проколом одного кончика пальца; буккальные мазки, тампоны для носа/горла; игла 16 калибра или другого размера, круглое лезвие для взятия биопсии (например, 1-8 мм или другого подходящего размера), хирургический нож или лазер (например, в частности, ручной), шприцы, стерильный контейнер или канюля для получения, хранения или аспирации образцов тканей; или тому подобное. Набор может содержать один или несколько приборов для содействия при суставной аспирации, конической биопсии, пункционной биопсии, тонкоигольной аспирационной биопсии, чрескожной игольной аспирационной биопсии с визуализацией, бронхоальвеолярного лаважа, эндоскопической биопсии и лапароскопической биопсии.

[00407] Если маркер или поддающаяся обнаружению метка представляет собой или содержит по меньшей мере одно соединение акридиния, набор может содержать по меньшей мере один акридиний-9-карбоксамид, по меньшей мере один сложный ариловый эфир акридиний-9-карбоксилата или какое-либо их сочетание. Если маркер или поддающаяся обнаружению метка представляет собой или содержит по меньшей мере одно соединение акридиния, набор также может содержать источник пероксида водорода, такой как буфер, раствор и/или по меньшей мере один основной раствор. При желании, набор может содержать твердую фазу, такую как магнитная частица, бусина, мембрана, каркасная молекула, пленка, фильтровальная бумага, диск или чип.

[00408] При желании, набор дополнительно может содержать один или несколько компонентов, отдельно или в дополнительной комбинации с инструкциями, для анализа тестового образца на другое анализируемое вещество, которое может представлять собой биологический маркер, такой как биологический маркер состояния заболевания

или нарушения, такого как инфекционное заболевание, сердечно-сосудистое заболевание, метаболическое заболевание, заболевание щитовидной железы и т.д.

[00409] Настоящее изобретение имеет множество аспектов, проиллюстрированных следующими неограничивающими примерами.

ПРИМЕРЫ

Пример 1:

Изготовление дешевого DMF чипа.

[00410] Дешевые гибкие DMF чипы изготавливали с использованием флексографической печати с рулона на рулон (R2R) в сочетании с обратным процессом для создания паттерна электродов. Схема процесса изготовления изображена на фиг. 18. Рулон подложки из полиэтилентерефталата (PET) Melinex ST506 5,0 мил (1) использовали в качестве исходного материала для печати DMF электродов. Слой желтых чернил (Sun Chemical) флексографической печатью наносили (2) на PET подложку с использованием печатной пластины 1,14 мм толщиной (Flint MCO3) со скоростью 10 м/минута, используя объем переносимых чернил 3,8 мл/м² на сборочном узле валика Anilox. Негативное изображение DMF паттерна электродов является результатом стадии (3) флексографической печати. Перед осаждением металла чернила сушили два раза в печи с горячим воздухом (2×100°C). EVA R2R Metal Evaporator использовали для осаждения слоя металлического серебра на запечатанную PET подложку для того, чтобы формировать однородное покрытие серебром толщиной 80 нм (4). Подложку (5) с металлизированной чернильной пленкой подвергали обратному влажному процессу с использованием комбинации ацетона и ультразвука в ванне для обработки ультразвуком со скоростью 1 м/минута (6). Эта химическая/физическая обработка позволяет растворять слой серебра-чернил, при этом оставляя слой только из серебра intactным. Удаление слоя чернил-серебра вело к DMF отпечатанному паттерну электродов, состоящему из 80 исполнительных электродов (2,25×2,25 мм) с зазором (7) между электродами 50 или 140 мкм. В качестве QC проверки всего в 80-90 случайных чипах из одного рулона визуально проверяли вариацию ширины зазора и соединительного провода. Типичный выход чипов, которые определяли, как имеющие приемлемые спецификации зазора, близок к 100%. Отдельный изготовленный гибкий чип изображен на фиг. 19. Изготовленный гибкий чип имеет размеры 3"×2" и содержит электроды, резервуары, контактные площадки и провода.

[00411] Диэлектрическое покрытие наносили на электроды и резервуары с использованием ротационной трафаретной печати или глубокой печати. Для ротационной трафаретной печати использовали Henkel EDAC PF-455B в качестве диэлектрического покрытия посредством печати с использованием трафарета Gallus NF (400L) на скорости печати 2 м/минута и степени УФ отверждения 50%. Типичная толщина диэлектрика составляла 10-15 мкм. Для глубокой печати разрабатывали цилиндры, чтобы печатать диэлектрическими чернилами высокой вязкости, например, IPD-350 (Inkron), на скорости 2 м/минута с использованием объема чернил 50 мл/м². Типичная толщина диэлектрика для глубокой печати составляла 7-8 мкм. Финальный гидрофобный слой печатали с использованием покрытия Millidyne Avalon 87 или Cytonix FluoroPel PFC 804 UC и формных цилиндров (140-180 L) и скорости печати 8 м/минута, после чего следовало четыре последовательные стадии сушки в печи (4×140°C). Типичная гидрофобная толщина составляла 40-100 нм.

[00412] Альтернативно, для небольших партий отдельных чипов, диэлектрические и гидрофобные покрытия можно наносить с использованием химического парового осаждения (CVD) и нанесения покрытия центрифугированием, соответственно.

Пример 2:

Функциональное тестирование дешевого DMF чипа.

[00413] 3"×2" DMF нижний чип на PET основе, изготовленный, как описано выше в примере 1, тестировали на способность приводить в движение. На фиг. 20 изображен 3"×2" DMF чип (1) на PET основе, на котором располагают стеклянную подложку (3) 0,7 мм толщиной. Стеклянная подложка (3) содержит прозрачный электрод из оксида индия олова (ITO) на нижней поверхности стеклянной подложки и покрытие Teflon на ITO электроде. DMF чип содержит 80 серебряных исполнительных электродов с конструкцией электродов с прямыми краями и 50 мкм зазором между электродами вместе с 8 буферными резервуарами (см. пример 1, выше).

[00414] Нижние электроды покрывали слоем диэлектрика Parylene-C (толщиной 6-7 мкм) и финальным покрытием Teflon (50 нм толщиной) с использованием CVD и нанесения покрытия центрифугированием, соответственно. Приблизительно 50 мкл PBS буфера с 0,1% поверхностно-активного средства (2) пипетировали в четыре смежных резервуара на нижнем DMF чипе. Размеры капелек находились в диапазоне 700-1500 нл (одна или две капельки), и проводили проверку на вертикальное и горизонтальное латеральное движение (4), в дополнение к круглым замещающим паттернам, необходимым для смешивания. Приведения капельки в движение достигали с использованием напряжения 90 В rms. Приблизительно 90% исполнительных электродов на чипе тестировали и обнаруживали, что они полностью функциональны.

Пример 3:

Иммунологический анализ TSH на дешевом DMF чипе.

[00415] 3"×2" DMF чип на PET основе с наложенной стеклянной подложкой, как описано выше в примере 2, тестировали на его способность осуществлять иммунологический анализ на тиреостимулирующий гормон (TSH) с использованием хемилюминесцентного обнаружения. Ложные образцы, которые содержали калибровочный стандартный материал TSH, вносили в TBS буфер, содержащий блокирующее средство и поверхностно-активное средство. Тестировали три образца - 0, 4, 40 мкМЕ/мл. 2 мкл иммобилизованного антитела против TSH β , которым покрывали 5 мкм магнитные микрочастицы (3×10^8 частиц/мл), дозировали из резервуара с микрочастицами в середину DMF массива электродов. Магнитные микрочастицы отделяли от буфера с использованием неодимового магнитного стержня под DMF чипом (фиг. 21A) ($3 \times 1/2 \times 1/4$ " толщиной, относительная проницаемость $\mu_r = 1,05$, остаточная напряженность поля $B_r = 1,32$ Т). 5 мкл образца перемещали к массе микрочастиц, после чего следовало смешивание суспензии микрочастиц (фиг. 21B) поверх четырехэлектродной квадратной конфигурации в течение 5 минут. Микрочастицы отделяли от образца с помощью магнита, и супернатант перемещали в резервуар для отходов (фиг. 21C и 21D). 2 мкл идентифицирующего антитела против TSH 1 мкг/мл, конъюгированного с пероксидазой хрена (HRP), перемещали к массе микрочастиц и смешивали в течение 2 минут. Микрочастицы разделяли с помощью магнита и супернатант перемещали в резервуар для отходов. Микрочастицы, содержащие сэндвич-комплекс иммунологического анализа, промывали всего четыре раза с использованием 4×2 мкл PBS буфера для промывания, содержащего 0,1% поверхностно-активного средства. Буфер для промывания из каждой стадии промывания перемещали в отходы после завершения стадии. Хемилюминесцентный субстрат, состоящий из 1 мкл SuperSignal H₂O₂ и 1 мкл люминола (ThermoFisher Scientific), перемещали к массе микрочастиц, после чего следовало смешивание в течение 6 минут. Хемилюминесцентный

сигнал измеряли при испускании 427 нм (возбуждение 347 нм) с использованием интегрированного Hamamatsu H10682-110 PMT с источником постоянного тока 5 В. Строили график кривой доза-эффект в зависимости от относительной люминесценции (см. фиг. 21Е).

Пример 4:

Изготовление и конструкция DMF чипов с верхним электродом и массивом лунок.

Конструкция верхнего электрода:

[00416] Дешевые гибкие DMF чипы с верхним электродом, содержащие массив лунок, изготавливали с использованием глубокой печати и УФ импринтинга с рулона на рулон (R2R). Со ссылкой на фиг. 22, основная конструкция (1) содержит два набора массивов лунок, отпечатанных на гибкой подложке из полиэтилентерефталата (PET), которую использовали в качестве верхнего электрода для DMF чипа. Конструкция состояла из слоя оксида индия-олова (ITO)(3) 100 нм толщиной, напечатанного на PET подложке Melinex ST504 (2) (Solutia, OC50 ST504). Покрытие грунтовкой PEDOT:PSS (4) использовали для усовершенствования адгезии тисненого УФ резиста (5), который содержал финальные массивы лунок.

Изготовление верхнего электрода с рулона на рулон:

[00417] На фиг. 22В представлена схема процесса изготовления верхнего DMF электрода. Глубокую печать (8) использовали для нанесения слоя грунтовки PEDOT:PSS (7) 20 нм толщиной (Clevios VP AI4083), разбавленной изопропанолом для того, чтобы снизить вязкость, на 5 мил PET подложке Melinex ST504 (6). Размер рулона составлял 250 м × 200 мм × 125 мкм; скорость печати составляла 10 м/минута. Получаемый покрытый грунтовкой ITO электрод (9) переносили на вторую R2R печатную линию, где слой УФ резиста (10) наносили глубокой печатью (11) для того, чтобы формировать материал-предшественник для УФ тиснения (13). Контакт с формой наномассива, после чего следовало УФ отверждение, давал финальную R2R верхнюю электродную пленку (14), готовую для резания.

Конструкция лунки:

[00418] Конструкция лунки представлена на фиг. 23. Верхний чип, содержащий общий ITO электрод, конструировали для резания на полосы 3"×1,4" (15), каждая содержит два наноразмерных массива лунок (16), расположенных так, чтобы они совпадали с двумя внешними исполнительными электродами на нижнем чипе (17). Размещение верхнего электрода поверх нижнего чипа давало финальный сборочный узел DMF чипа (18). Каждый массив содержал приблизительно 60000 лунок (245×245).

[00419] Со ссылкой на фиг. 24А и 24В, два различных формата разнесения лунок использовали в начальной конструкции - гексагональный (19) и прямые ряды (20). Кроме того, две конструкции прокладки использовали для печати лунок (21) двух различных размеров 4,2 мкм в ширину × 3,0 мкм в глубину с шагом 8,0 мкм; 4,5 мкм × 3,2 мкм с шагом 8,0 мкм. Варьирование размера лунки и геометрии разнесения выполняли для того, чтобы оптимизировать последующую загрузку микрочастиц для бусин диаметром 2,7 мкм. QC после изготовления проводили на различных R2R партиях, чтобы проверять надлежащее разнесение лунок, размер и целостность. Если наблюдали деформированные лунки или разнесение лунок и/или размер был не правильным, изготавливали новую прокладку и массив печатали повторно. На фиг. 25 представлены оптические изображения на 200× увеличении для гексагональных массивов (22) и массивов с прямыми рядами (23).

Пример 5:

Сборочный узел DMF чипов с верхним электродом, содержащих массив лунок.

Сборочный узел пластмассового DMF чипа:

[00420] На фиг. 26 схематически представлен сборочный узел интегрированного DMF-луночного устройства из DMF чипа с верхним электродом и наноразмерным массивом лунок, как описано выше в примере 4. DMF чип собирают, помещая куски 2×2 90 мкм двусторонней ленты (24) (3М) на противоположных сторонах нижнего DMF чипа (25). Верхний электрод, содержащий встроенные массивы (26), располагают по центру над нижним чипом с тем, чтобы положение двух массивов совпадало с двумя подлежащими исполнительными электродами. Финальный собранный чип (27) имеет высоту зазора 180 мкм (лента 2×90 мкм).

Пример 6:

Иммунологический анализ TSH на дешевом DMF чипе с интегрированными лунками.

[00421] Описан иммунологический анализ TSH с использованием комбинации DMF, микроразмерного массива лунок и цифрового обнаружения флуоресцентного субстрата (фиг. 27A-27G). DMF чип (верхние и нижние электроды) предварительно загружали реактивами для иммунологического анализа (IA), как показано в (1) (фиг. 27A). Анализ осуществляют на DMF чип с использованием воздуха в качестве текучего наполнителя. Образец может представлять собой биологический образец, такой как цельная кровь, сыворотка, плазма, моча, мокрота, интерстициальная жидкость или схожая матрица. Захватывающие микрочастицы состоят из суспензии твердофазных магнитных

микрочастиц, покрытых антителами против TSH β с плотностью 2×10^7 - 2×10^8 частиц/мл. Приблизительно 1-2 мкл образца перемещают на DMF чип и объединяют с 1-2 мкл микрочастиц, после чего следует смешивание в зоне 1 (2) DMF чипа (фиг. 27B). Зона 1 состоит из 16 DMF электродов, зарезервированных для объединения, смешивания и промывания образца для того, чтобы формировать комплекс захвата TSH на магнитных микрочастицах. Время инкубации может находиться в диапазоне 1-10 минут, после чего следует 1-3 промывания в 1-2 мкл буфера для промывания (PBS, 0,1% поверхностно-активного средства) из резервуара буфера для промывания 1. Супернатант удаляют из IA комплекса с использованием магнита под DMF чипом и перемещая супернатант в резервуар для отходов 1.

[00422] Массу микрочастиц, содержащих захваченный антиген TSH на твердой фазе, ресуспендируют в 1-2 мкл конъюгата антитела против TSH β для обнаружения, который мечен биотином (комплекс стрептавидин- β -галактозидаза, в концентрации 40 пМ в PBS). Смесь оставляют для инкубации, при перемешивании на 4×4 электродах, в зоне 2 DMF массива электродов (3) в течение 1-10 минут (фиг. 27C). Магнит используют для того, чтобы захватывать магнитные микрочастицы, а супернатант удаляют в резервуар для отходов 1. Массу микрочастиц промывают 1-3 раза в 1-2 мкл буфера для промывания (PBS, 0,1% поверхностно-активное средство) из резервуара буфера для промывания 2. Супернатант удаляют из IA комплекса с использованием магнита под DMF чипом и перемещая супернатант в резервуар для отходов 2. Массу микрочастиц, содержащих сэндвич-комплекс иммунологического анализа, ресуспендируют посредством перемещения 1-2 мкл 100 мкМ субстрата для обнаружения (4) (резорифин- β -D-галактопиранозид, RGP) (фиг. 27D). Смесь инкубируют в течение 1-3 минут для того, чтобы сделать возможным ферментативный оборот RGP-флуоресцентного продукта, образуемого при ферментативном обороте RGP с помощью β -галактозидазы.

[00423] Смесь перемещают (5), как показано на фиг. 27E, в пятно на DMF чипе, который содержит массив фемтолитровых лунок (6), на нижней или верхней подложке. Размер фемтолитровой лунки слегка больше размера микрочастицы, используемой в анализе. Число лунок может находиться в диапазоне 1000-2000000. Микрочастицы

осаждают в лунках с использованием или гравитации (пассивная загрузка) или магнита (активная загрузка). Избыточный супернатант перемещают в резервуар для отходов 3.

[00424] Фемтолитровые лунки закупоривают посредством перемещения 1-5 мкл поляризуемого несмешиваемого текучего вещества (т.е. органического растворителя, масла и т.д.) в положение (7, 8) массива, как показано на фиг. 27F и 27G, используя электросмачивание на диэлектрике (EWOD), диэлектрофоретическую (DEP) силу(ы) или поверхностные акустические волны (SAW), тем самым закупоривая лунки. Некоторые примеры подходящих поляризуемых несмешиваемых текучих веществ включают силиконовое масло, фторсиликоновое масло, минеральное масло, 1-гексанол, THF, м-дихлорбензол, хлороформ и т. п. (S. Fan, et al., Lab On Chip, 9, 1236, 2009; D. Chatterjee, et al., Lab On Chip, 6, 199, 2006). Текучим наполнителем для всего анализа является воздух.

[00425] Общее число частиц в лунках определяют, освещая белым светом с использованием широкопольного микроскопа/CCD камеры, после чего следует визуализация при возбуждении/испускании 574 нм/615 нм (время экспозиции=3-10 секунд) для определения числа бусин, содержащих обнаруживаемую метку. Конечную концентрацию TSH определяют по калибровочной кривой с использованием калибровочных стандартов TSH. Цифровое количественное определение осуществляют с использованием уравнения Пуассона и соотношения положительных и отрицательных бусин.

Пример 7:

Верхняя загрузка наноразмерных лунок с использованием поляризуемого текучего вещества.

Основной формат иммунологического анализа:

[00426] 3'x2" DMF чип на PET основе можно использовать для проведения иммунологического сэндвич-анализа на основе ELISA, сопряженного с цифровым флуоресцентным обнаружением в массиве лунок. Со ссылкой на фиг. 28, образец (3), содержащий специфичный антиген, подлежащий анализу, смешивают с магнитными микрочастицами (2), покрытыми иммобилизованным антителом (1), и смешивают для того, чтобы сделать возможным иммунологический захват желаемого антигена. После промывания захваченный антиген (4) смешивают со вторым идентифицирующим антителом (5), меченым обнаруживаемым фрагментом (6). Смесь бусин, содержащую сэндвич-комплекс (7) иммунологического анализа, промывают снова для того, чтобы удалять несвязанное идентифицирующее антитело. Микрочастицы загружают в верхнюю подложку массива лунок посредством перемещения водной капельки в массив и применения магнита, чтобы затягивать бусины в лунки. Лунки закупоривают посредством перемещения капельки поляризуемого несмешиваемого текучего вещества по лункам с использованием DMF сил. CCD камера визуализирует массив для того, чтобы определять число положительных и отрицательных микрочастиц. Образец определяют количественно с использованием статистики Пуассона. Все стадии обработки иммунологического анализа осуществляют на DMF чипе с использованием воздуха в качестве текучего наполнителя.

Иммунологический анализ TSH - DMF:

[00427] 1-2 мкл иммобилизованного антитела против TSH, которым покрыты 2,7 мкм магнитные микрочастицы (3×10^8 частиц/мл), дозируют из резервуара микрочастиц на DMF чип в середину DMF массива электродов. Магнитные микрочастицы отделяют от буфера с использованием магнита, расположенного под DMF чипом, и перемещения

супернатанта в резервуар для отходов. 1 мкл водного образца берут из DMF резервуара образца и перемещают к массе микрочастиц, после чего следует стадия смешивания, где капельку перемещают по нескольким электродам в течение 1-5 минут. Микрочастицы отделяют от образца посредством применения нижнего магнита, после чего следует
 5 удаление супернатанта в резервуар для отходов. 1-2 мкл идентифицирующего антитела против TSH (0,5 мкг/мл), конъюгированного с β -галактозидазой (β -gal), перемещают к массе микрочастиц и смешивают в течение 2-5 минут. Микрочастицы разделяют с использованием нижнего магнита и супернатант перемещают в резервуар для отходов. Микрочастицы, содержащие сэндвич-комплекс иммунологического анализа, промывают
 10 всего четыре раза с использованием 4×2 мкл PBS буфера для промывания, содержащего 0,1% поверхностно-активное средство. Буфер для промывания из каждой стадии промывания перемещают в отходы после завершения стадии. 1 мкл 100 мкМ резорурфин- β -D-галактопиранозида (RGP) берут из резервуара RGP и перемещают к массе микрочастиц, после чего следует смешивание в течение 15-30 секунд. Теперь бусины
 15 готовы для осаждения в массив лунок.

Иммунологический анализ TSH - цифровое обнаружение массива:

[00428] Как показано на фиг. 29, базовые компоненты для DMF-направляемой верхней загрузки микрочастиц в массив включают чип нижних электродов на PET основе с серебряными электродами (8) 80 нм толщиной (зазор электродов < 100 мкм, 2,25 мм ×
 20 2,25 мм), диэлектрический/гидрофобный слой (9) 5-10 мкм толщиной, чип верхних ИТО электродов (10) на PET основе, который содержит массив лунок (14) (выполненных с возможностью удерживать не больше чем одну микрочастицу), и водную капельку (11), содержащую 2,7 мкм магнитные микрочастицы (12). Текучим наполнителем является воздух (13). Высота зазора между верхними и нижними электродами составляет
 25 приблизительно 180 мкм (от 2 кусков 90 мкм двусторонней ленты).

[00429] Транспортировку и закупоривание выполняют с использованием комбинации DMF сил (EWOD, DEP и/или электрически опосредованная сила) для того, чтобы перемещать водные и несмешиваемые текучие вещества, такие как силиконовое масло. Предварительно показано, что различные управляющие напряжения необходимы для
 30 того, чтобы перемещать как водные, так и масляные капельки на одном и том же DMF чипе (S-K Fan, et al., Lab on Chip, 9, 1236, 2009).

[00430] После добавления флуоресцентного субстрата RGP в водную капельку, содержащую комплекс иммунологического анализа (фиг. 30A), капельку перемещают в электрод, расположенный под массивом лунок, содержащим приблизительно 60000
 35 лунок (массив 245×245; диаметр 4,2 мкм; глубина 3,0 мкм; шаг 8,0 мкм), используя напряжение 20-50 В rms (1 КГц). Верхний магнит (15) используют для того, чтобы содействовать эффективной загрузке микрочастиц в лунки (фиг. 30B); общее время осаждения составляет 30-60 секунд. Водную капельку удаляют, когда верхний магнит перестают использовать, оставляя позади тонкий слой осажденных и связанных с
 40 поверхностью бусин (фиг. 30C). Капельку силиконового масла перемещают из резервуара с использованием напряжения 200-300 В (DC) и перемещают к электроду, расположенному под массивом (фиг. 30D), тем самым смывая любые микрочастицы, связанные с поверхностью, при этом закупоривая микрочастицы, содержащиеся в лунках. Осуществляют мониторинг флуоресценции, генерируемой при ферментативном
 45 обороте RGP в резорурфин, с помощью CCD камеры на 574/615 нм (возбуждение/испускание). Определяют соотношение «включенных» микрочастиц и «выключенных» микрочастиц. Концентрацию TSH в образце определяют посредством интерполяции по калибровочной кривой TSH.

[00431] Наконец, несмотря на то, что различные аспекты и признаки изобретения описаны в отношении различных вариантов осуществления и конкретных примеров в настоящем описании, и все их можно создавать или выполнять стандартно, понятно, что изобретение дает право защищать полный объем приложенной формулы

5 изобретения.

[00432] Понятно, что приведенное выше подробное описание и сопроводительные примеры являются лишь иллюстративными и их не следует рассматривать в качестве ограничения объема изобретения, который определяет лишь приложенная формула изобретения и ее эквиваленты.

10 [00433] Различные изменения и модификации в раскрытых вариантах осуществления будут видны специалистам в данной области. Такие изменения и модификации, включая, без ограничения, те, которые относятся к химическим структурам, заместителям, производным, промежуточным соединениям, синтезу, композициям, составам или способам использования изобретения, можно создавать, не отступая от его сущности

15 и объема.

Для полноты различные аспекты изобретения изложены в следующих нумерованных пунктах:

1. Цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит:

20 первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, первая подложка содержит множество электродов для того, чтобы генерировать электрические приводящие в движение силы на капельке жидкости; и

25 массив лунок, имеющий такие размеры, чтобы удерживать часть капельки жидкости, где по меньшей мере часть массива лунок располагают между одним или несколькими из множества электродов и зазором.

2. Устройство в соответствии с п. 1, в котором множество электродов располагают на поверхности первой подложки.

3. Устройство в соответствии с п. 1 или п. 2, которое дополнительно содержит первый 30 слой, расположенный на поверхности первой подложки и покрывающий множество электродов.

4. Устройство по любому одному из предыдущих пп., в котором первая подложка содержит первую часть, на которую капельку жидкости вводят, и вторую часть, в направлении которой перемещают капельку жидкости.

35 5. Устройство по п. 4, в котором множество электродов и первый слой проходят от первой части ко второй части первой подложки.

6. Устройство по п. 5, в котором массив лунок располагают во второй части первой подложки.

40 7. Устройство в соответствии с п. 4, в котором вторая подложка содержит первую часть и вторую часть, где первая часть расположена обращенной к первой части первой подложки, и вторая часть расположена обращенной к массиву лунок.

8. Устройство по п. 7, в котором вторая часть второй подложки по существу прозрачна для того, чтобы содействовать оптическому опросу массива лунок.

45 9. Устройство в соответствии с п. 3, которое дополнительно содержит второй слой, расположенный на поверхности первого слоя.

10. Устройство в соответствии с п. 9, в котором второй слой идет по первой и второй частям первой подложки.

11. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 9-10, в котором первый слой

представляет собой диэлектрический слой и второй слой представляет собой гидрофобный слой.

12. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 9-11, в котором массив лунок располагают во втором слое.

5 13. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 3, в котором массив лунок располагают в первом слое.

14. Устройство в соответствии с любым одним из предыдущих пп., в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

10 15. Устройство в соответствии с любым одним из предыдущих пп., в котором массив лунок содержит боковую стенку, которая ориентирована для того, чтобы содействовать приему и удержанию бусин или частиц, присутствующих в каплях, перемещаемых по массиву лунок.

16. Устройство в соответствии с п. 16, в котором массив лунок содержит первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где первая боковая стенка
15 ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и где вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке.

17. Устройство в соответствии с п. 15, в котором массив лунок имеет усеченную коническую форму с более узкой частью усеченной конической формы, в которой
20 предусмотрено отверстие массива лунок.

18. Устройство в соответствии с п. 15, в котором массив лунок содержит первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где верхняя часть первой боковой
25 стенки ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и нижняя часть боковой стенки ориентирована перпендикулярно дну лунок и где вторая боковая стенка ориентирована перпендикулярно дну лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке, где верхняя часть первой боковой стенки находится в отверстии лунок.

19. Цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество
30 устройство, которое содержит:

первую подложку и вторую подложку, определяющие устройство, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, где устройство содержит первую часть и вторую часть; где

35 первая часть, содержащая множество электродов для того, чтобы выполнять объединение первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющей интерес, из биологического образца и второй капли жидкости, содержащей по меньшей мере одну бусину; и

вторая часть, содержащая массив лунок, имеющих такие размеры, чтобы удерживать часть капли жидкости.

40 20. Устройство в соответствии с п. 19, в котором множество электродов располагают только в первой части устройства.

21. Устройство в соответствии с п. 19 или п. 20, в котором множество электродов располагают на поверхности первой подложки.

22. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 19-21, которое дополнительно
45 содержит первый слой, расположенный на поверхности первой подложки и покрывающий множество электродов.

23. Устройство по любому одному из пп. 19-22, в котором первая подложка содержит первую часть, на которую вводят каплю жидкости, и вторую часть, в направлении

которой перемещают капельку жидкости.

24. Устройство по п. 23, в котором множество электродов и первый слой проходят от первой части ко второй части первой подложки.

25. Устройство по п. 24, в котором массив лунок располагают во второй части первой подложки.

26. Устройство в соответствии с п. 23, в котором вторая подложка содержит первую часть и вторую часть, где первая часть расположена обращенной к первой части первой подложки и вторая часть расположена обращенной к массиву лунок.

27. Устройство по п. 26, в которой вторая часть второй подложки по существу прозрачна для того, чтобы содействовать оптическому опросу массива лунок.

28. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 19-27, в котором множество электродов выполнены с возможностью перемещать капельку, помещенную в зазор, в направлении второй части устройства, причем устройство содержит капиллярную часть, соединяющую по текучей среде первую часть со второй частью, где капилляр содержит гидрофильный материал для того, чтобы содействовать движению капельки от первой части ко второй части через капиллярную часть в отсутствие электрической силы.

29. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 22, в котором второй слой располагают на верхней поверхности первого слоя.

30. Устройство в соответствии с п. 29, в котором второй слой идет по первой подложке.

31. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 29-30, в котором первый слой представляет собой диэлектрический слой и второй слой представляет собой гидрофобный слой.

32. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 29-31, в котором множество лунок располагают во втором слое.

33. Устройство в соответствии с п. 22, в котором массив лунок располагают в первом слое.

34. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 19-33, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

35. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 19-34, в котором лунки содержат боковую стенку, которая ориентирована для того, чтобы содействовать приему и удержанию нанобусин или наночастиц, присутствующих в каплях, перемещаемых по массиву лунок.

36. Устройство в соответствии с п. 35, в котором лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где первая боковая стенка ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и где вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок, где движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке.

37. Устройство в соответствии с п. 36, в котором лунки имеют усеченную коническую форму с более узкой частью усеченной конической формы, в которой предусмотрено отверстие лунок.

38. Устройство в соответствии с п. 35, в котором лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, где верхняя часть первой боковой стенки ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и нижняя часть боковой стенки ориентирована перпендикулярно дну лунок и где вторая боковая стенка ориентирована перпендикулярно дну лунок, где движение капелек происходит в

направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке, где верхняя часть первой боковой стенки находится в отверстии лунок.

39. Поверхностное акустическое волновое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит:

- 5 первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, где устройство содержит первую часть и вторую часть, причем первая часть, содержащая вышележащий слой, связанный с генерирующим поверхностные акустические волны компонентом; и
- 10 вторую часть, содержащая множество лунок, расположенных на первой подложке или второй подложке.

40. Устройство в соответствии с п. 39, в котором вышележащий слой содержит фононные структуры на верхней поверхности вышележащего слоя.

41. Устройство в соответствии с п. 39 или п. 40, в котором вышележащий слой перекрывает пьезоэлектрический кристаллический слой.

- 15 42. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 39-40, в котором вторая подложка является по существу прозрачной.

43. Поверхностное акустическое волновое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит:

- 20 первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора,
- первую подложку, содержащую множество лунок, и
- вторую подложку, содержащую фононную структуру, где множество лунок и фононные структуры располагают напротив друг друга.

- 25 44. Устройство в соответствии с п. 43, в котором вторая подложка представляет собой вышележащий слой.

45. Устройство в соответствии с п. 43, в котором вышележащий слой располагают на второй подложке и фононную структуру располагают на вышележащем слое.

46. Устройство в соответствии с любым одним из пп. 43-45, в котором первая подложка, вторая подложка и вышележащий слой по существу прозрачны.

- 30 47. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ включает:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

- 35 (b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

(с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй капельки жидкости для того, чтобы создавать смесь;

- 40 (d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

(е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и

- 45 (f) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

48. Способ по п. 47, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

49. Способ по любому одному из пп. 47 или 48, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

50. Способ по любому одному из пп. 47 или 48, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

51. Способ по любому одному из пп. 47 по 50, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

52. Способ по любому одному из пп. 47 по 51, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

53. Способ по любому одному из пп. 47 по 52, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

54. Способ по любому одному из пп. 47 по 53, в котором энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу.

55. Способ по п. 54, в котором электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

56. Способ п. 54, в котором акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

57. Способ по любому одному из пп. 47 по 56, в котором первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или как первая капля жидкости, так и вторая капля жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

58. Способ по любому одному из пп. 47 по 55, который дополнительно включает манипулирование по меньшей мере частью смеси поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

59. Способ по любому одному из пп. 47 по 58, который дополнительно включает манипулирование по меньшей мере частью смеси поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

60. Способ по любому одному из пп. 47 по 59, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

61. Способ по п. 60, в котором электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси.

62. Способ по любому одному из пп. 47 по 61, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

63. Способ по любому одному из пп. 47 по 62, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

64. Способ по любому одному из пп. 47 по 62, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

65. Способ по любому одному из пп. 47 по 64, в котором капля жидкости представляет собой каплю гидрофобной жидкости.

66. Способ по любому одному из пп. 47 по 65, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

5 67. Способ по любому одному из пп. 47 по 65, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

68. Способ по любому одному из пп. 47 по 67, где способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофильную поверхность.

10 69. Способ по любому одному из пп. 47 по 67, где способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофобную поверхность.

70. Способ по любому одному из пп. 47 по 69, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

71. Способ по любому одному из пп. 47 по 70, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем.

72. Способ по п. 71, в котором загрузка включает приложение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в
20 одну или несколько лунок массива.

73. Способ по п. 72, который дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

74. Способ по п. 73, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы
25 перемещать каплю поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

75. Способ по п. 74, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую каплю по массиву лунок.

30 76. Способ по п. 75, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

77. Способ по п. 75, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

78. Способ по любому одному из пп. 75 или 76, в котором переменный ток имеет
35 частоту в радиочастотном диапазоне.

79. Способ по любому одному из пп. 47 по 78, где способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество
40 устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

80. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капле жидкости, причем способ включает:

(a) предоставление первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество,
45 представляющее интерес;

(b) предоставление второй капли жидкости, содержащей поддающуюся обнаружению метку, которая содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

(с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости и второй каплей жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок; и

5 (е) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

81. Способ по п. 80, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

82. Способ по любому из пп. 80 по 81, в котором энергия представляет собой
10 электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу.

83. Способ по п. 82, в котором электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией,
15 центрифугированием или всасыванием.

84. Способ п. 83, в котором акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

85. Способ по пп. 80 по 83, в котором первая капля жидкости представляет собой поляризуемую несмешиваемую жидкость, вторая капля жидкости представляет
20 собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

86. Способ по любому одному из пп. 80 по 83 и 85, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической
25 приводящей в движение силы.

87. Способ по любому одному из пп. 80 по 86, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

30 88. Способ по любому одному из пп. 80 по 87, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

89. Способ по любому одному из пп. 80 по 88, в котором смесь представляет собой
35 водную жидкость.

90. Способ по любому одному из пп. 80 по 88, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

91. Способ по любому одному из пп. 80 по 90, в котором капля жидкости представляет собой каплю гидрофобной жидкости.

40 92. Способ по любому одному из пп. 80 по 91, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

93. Способ по любому одному из пп. 80 по 91, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

94. Способ по любому одному из пп. 80 по 93, где способ осуществляют в устройстве,
45 содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофильную поверхность.

95. Способ по любому одному из пп. 80 по 93, где способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит

гидрофобную поверхность.

96. Способ по любому одному из пп. 80 по 95, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

5 97. Способ по любому одному из пп. 80 по 96, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одной поддающейся обнаружению меткой.

98. Способ по п. 97, который дополнительно включает удаление каких-либо поддающихся обнаружению меток, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

10 99. Способ по п. 98, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

100. Способ по п. 99, в котором удаление включает генерацию электрической
15 приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

101. Способ по п. 100, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

102. Способ по п. 101, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms)
20 напряжение 10 В или больше.

103. Способ по любому одному из пп. 100 или 101, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

104. Способ по любому одному из пп. с 80 по 103, где способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного
25 устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

105. Способ измерения анализируемого вещества, представляющего интерес, в
30 капельке жидкости, причем способ включает:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющей интерес;

(b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит специфический связывающий элемент, который
35 связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

(с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или
40 несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

(е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и

(f) измерение поддающейся обнаружению метки в лунках.

45 106. Способ по п. 105, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

107. Способ по любому одному из пп. 105 или 106, который дополнительно включает

добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

108. Способ по любому одному из пп. 105 или 106, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

109. Способ по любому одному из пп. 105 по 108, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

110. Способ по любому одному из пп. 105 по 109, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

111. Способ по любому одному из пп. 105 по 109, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

112. Способ по любому одному из пп. 105 по 109, в котором энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу.

113. Способ по п. 112, в котором электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

114. Способ п. 112, в котором акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

115. Способ по пп. со 105 по 114, в котором первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, причем смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капли жидкости, так и второй капли жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

116. Способ по любому одному из пп. со 105 по 112 и 115, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

117. Способ по любому одному из пп. со 105 по 116, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

118. Способ по любому одному из пп. со 105 по 117, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

119. Способ по п. 118, в котором электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси.

120. Способ по любому одному из пп. 105 по 119, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

121. Способ по любому одному из пп. 105 по 120, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

122. Способ по любому одному из пп. 105 по 121, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

123. Способ по любому одному из пп. 105 по 122, в котором капля жидкости

представляет собой капельку гидрофобной жидкости.

124. Способ по любому одному из пп. 105 по 123, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

125. Способ по любому одному из пп. 105 по 123, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

126. Способ по любому одному из пп. 105 по 124, где способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофильную поверхность.

127. Способ по любому одному из пп. 105 по 124, где способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофобную поверхность.

128. Способ по любому одному из пп. 105 по 128, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

129. Способ по любому одному из пп. 105 по 128, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем.

130. Способ по п. 129, в котором загрузка включает применение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива.

131. Способ по п. 130, который дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

132. Способ по п. 131, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

133. Способ по п. 132, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

134. Способ по п. 133, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

135. Способ по п. 134, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

136. Способ по любому одному из пп. 134 или 135, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

137. Способ по любому одному из пп. со 105 по 136, где способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

138. Способ по любому одному из пп. 105 по 137, в котором измерение включает определение общего числа твердых носителей в лунках массива.

139. Способ по п. 138, в котором измерение включает определение числа твердых носителей в лунках массива, которые содержат поддающуюся обнаружению метку.

140. Способ по п. 139, в котором измерение включает вычитание числа твердых носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, из общего числа твердых носителей в лунках массива для того, чтобы определять число твердых носителей в лунках массива, которые не содержат какую-либо поддающуюся

обнаружению метку.

141. Способ по п. 140, определяющий соотношение твердых носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, и числа твердых носителей, которые не содержат какую-либо поддающуюся обнаружению метку.

5 142. Способ загрузки лунки частицами, который включает:

(а) генерацию электрического поля с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку жидкости, содержащую микрочастицы, в массив лунок, в котором одна или несколько лунок массива лунок выполнены достаточного размера, чтобы загружать в них частицу;

10 (b) загрузку одной или нескольких лунок частицей; и

(с) генерацию электрического поля с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы закупоривать массив лунок.

15 143. Способ по п. 142, который дополнительно включает манипулирование капелькой жидкости поверх массива лунок с использованием электрического поля.

144. Способ по любому одному из пп. 142 или 143, который дополнительно включает манипулирование капелькой жидкости поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению капельки жидкости в массив лунок.

20 145. Способ по любому одному из пп. 142 по 144, в котором частица представляет собой магнитную бусину.

146. Способ по п. 142, в котором загрузка включает применение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению одной или нескольких магнитных бусин в одну или несколько лунок массива.

25 147. Способ по любому одному из пп. 142 по 146, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

148. Способ по любому одному из пп. 142 по 146, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

30 149. Способ по любому одному из пп. 142 по 148, в котором генерация электрического поля включает генерацию переменного тока.

150. Способ по п. 149, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

151. Способ по любому из пп. 149 или 150, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

35 152. Способ формирования цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, который включает:

разворачивание первого рулона, содержащего первую подложку для того, чтобы располагать первую часть первой подложки в первом положении;

40 формирование множества электродов на первой части первой подложки в первом положении; и

формирование массива лунок на второй части первой подложки во втором положении.

153. Способ по п. 152, который дополнительно включает:

45 разворачивание второго рулона для того, чтобы располагать вторую часть смежно с первой частью первой подложки во втором положении перед формированием массива лунок.

154. Способ по п. 152 по п. 153, который дополнительно включает:

разворачивание второго рулона, содержащего вторую подложку для того, чтобы

располагать третью часть третьей подложки в третьем положении; и

скрепление второй подложки с первой подложкой в третьем положении таким образом, который достаточен для того, чтобы располагать вторую подложку на расстоянии от первой подложки.

- 5 155. Способ формирования интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, который включает:
- разворачивание первого рулона, содержащего первую подложку для того, чтобы располагать первую часть первой подложки в первом положении;
- 10 формирование множества электродов на первой части первой подложки в первом положении;
- разворачивание второго рулона, содержащего вторую подложку для того, чтобы располагать вторую часть второй подложки во втором положении;
- формирование массива лунок на второй части во втором положении; и
- скрепление второй подложки с первой подложкой таким образом, который
- 15 достаточен для того, чтобы:
- располагать вторую подложку на расстоянии от первой подложки; и
- располагать вторую часть над первой частью или над третьей частью смежно с первой частью первой подложки,
- где массив лунок обращен к первой подложке.

- 20 156. Способ по любому одному из пп. 152 по 155, в котором формирование массива лунок включает использование тепловой или ультрафиолетовой наноимпринтной литографии, наноимпринтного валика, лазерной абляции, или посредством скрепления предварительно изготовленной подложки, содержащей массив лунок, в первой части первой подложки.

- 25 157. Способ по любому одному из пп. 152 по 156, который дополнительно включает воздействие на первую подложку интенсивным теплом, давлением или ультрафиолетовым светом для того, чтобы формировать фоновые структуры на, или в первой подложке с использованием формы.

158. Способ по любому одному из пп. 152 по 157, который дополнительно включает
- 30 нанесение гидрофобного и/или диэлектрического материала на электроды серии с использованием печатного устройства.

159. Способ по п. 158, в котором гидрофобный и/или диэлектрический материал содержит отверждающий материал.

160. Способ по п. 159, который дополнительно включает применение тепла или
- 35 ультрафиолетового света для того, чтобы отверждать нанесенный гидрофобный и/или диэлектрический материал.

161. Способ по любому одному из пп. 152 по 160, который дополнительно включает нарезание первой и второй подложек для того, чтобы генерировать скрепленные подложки, содержащие первую и вторую части.

- 40 162. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ включает:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

- (b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей специфический
- 45 связывающий элемент и меченое анализируемое вещество, где связывающий элемент иммобилизуют по меньшей мере на одном твердом носителе, специфический связывающий элемент специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и меченое анализируемое вещество представляет собой

анализируемое вещество, представляющее интерес, меченое поддающейся обнаружению меткой;

(с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости для того, чтобы создавать смесь; и

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

163. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капле жидкости, причем способ включает:

(a) предоставление первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капли жидкости, содержащей иммобилизованное анализируемое вещество и по меньшей мере один специфический связывающий элемент, где иммобилизованное анализируемое вещество представляет собой анализируемое вещество, представляющее интерес, иммобилизованное по меньшей мере на одном твердом носителе, по меньшей мере один специфический связывающий элемент специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и по меньшей мере один специфический связывающий элемент метят поддающейся

обнаружению меткой;

(с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель; и

(e) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

164. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капле жидкости, причем способ включает:

(a) предоставление первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капли жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

где первую и вторую капли жидкости предоставляют в цифровом микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве, которое содержит:

первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, причем первая подложка содержит множество электродов для того, чтобы генерировать электрические приводящие в движение силы на капле жидкости; и

массив лунок, предназначенный для того чтобы удерживать часть капли жидкости, где по меньшей мере часть массива лунок располагают между одним или несколькими из множества электродов и зазором;

(с) использование электрических приводящих в движение сил для того, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или

несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

(е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и

5 (f) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

165. Способ по п. 164, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

10 166. Способ по любому одному из пп. 164 или 165, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

167. Способ по любому одному из пп. 164 или 166, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

15 168. Способ по любому одному из пп. 164 по 167, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

169. Способ по любому одному из пп. 164 по 168, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент,
20 хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

170. Способ по любому одному из пп. 164 по 168, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

171. Способ по любому одному из пп. 164 по 170, в котором электрические приводящие в движение силы являются приведением капельки в движение,
25 электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованными электрическим полем, опосредованными электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

172. Способ по любому одному из пп. со 164 по 171, в котором первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости
30 представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

173. Способ по любому одному из пп. 164 по 171, который дополнительно включает
35 манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

174. Способ по любому одному из пп. 164 по 173, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного
40 элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

175. Способ по любому одному из пп. 164 по 174, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

176. Способ по п. 175, в котором электрические приводящие в движение силы и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по
45 меньшей мере части смеси.

177. Способ по любому одному из пп. 164 по 176, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния

подсмесей.

178. Способ по любому одному из пп. 164 по 176, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

179. Способ по любому одному из пп. 164 по 176, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

180. Способ по любому одному из пп. 164 по 179, в котором капелька жидкости представляет собой капельку гидрофобной жидкости.

181. Способ по любому одному из пп. 164 до 180, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

182. Способ по любому одному из пп. 164 по 180, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

183. Способ по любому одному из пп. 164 по 182, в котором подложка содержит гидрофильную поверхность.

184. Способ по любому одному из пп. 164 по 182, в котором подложка содержит гидрофобную поверхность.

185. Способ по любому одному из пп. 164 по 184, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

186. Способ по любому одному из пп. 164 по 185, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем.

187. Способ по п. 186, в котором загрузка включает применение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива.

188. Способ по п. 187, который дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

189. Способ по п. 188, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

190. Способ по п. 189, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

191. Способ по п. 190, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

192. Способ по п. 191, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

193. Способ по любому одному из пп. 191 или 192, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

194. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ включает:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(б) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит специфический связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

где первую и вторую капельки жидкости предоставляют в поверхностном акустическом волновом микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве, которое содержит:

первую подложку и вторую подложку, где вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, где устройство содержит первую часть и вторую часть, причем

первая часть, содержащая вышележащий слой, связанный с генерирующим
5 поверхностные акустические волны компонентом; и

вторая часть, содержащая множество лунок, расположенных на первой подложке или второй подложке,

(с) использование поверхностных акустических сил для того, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капли жидкости для того,
10 чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, где одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

(е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения
15 части смеси в массив лунок; и

(f) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

195. Способ по п. 194, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

20 196. Способ по любому одному из пп. 194 или 195, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

197. Способ по любому одному из пп. 194 или 196, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей
25 мере части смеси в массив лунок.

198. Способ по любому одному из пп. 194 по 197, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который специфически связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

199. Способ по любому одному из пп. 194 по 198, в котором поддающаяся
30 обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

200. Способ по любому одному из пп. 194 по 199, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

201. Способ по любому одному из пп. 194 по 200, в котором первая капля жидкости
35 представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капли жидкости, так и второй капли жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

202. Способ по любому одному из пп. 194 по 201, который дополнительно включает
40 манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

203. Способ по любому одному из пп. 194 по 202, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

45 204. Способ по п. 70, где способ дополнительно включает закупоривание массива лунок гидрофобной жидкостью.

205. Способ по п. 96, где способ дополнительно включает закупоривание массива лунок гидрофобной жидкостью.

206. Способ по п. 185, где способ дополнительно включает закупоривание массива лунок гидрофобной жидкостью.

(57) Формула изобретения

- 5 1. Цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит
 - первую подложку и вторую подложку, определяющие устройство, причем вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, причем устройство содержит первую часть и вторую часть,
 - 10 причем первая часть содержит множество электродов для того, чтобы выполнять объединение первой капли жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющей интерес, из биологического образца и второй капли жидкости, содержащей по меньшей мере одну бусину; и
 - вторая часть содержит массив лунок, имеющий такие размеры, чтобы удерживать часть капли жидкости.
- 15 2. Устройство по п. 1, в котором множество электродов располагают только в первой части устройства.
3. Устройство по п. 1 или 2, в котором множество электродов располагают на поверхности первой подложки.
- 20 4. Устройство по любому одному из пп. 1-3, которое дополнительно содержит первый слой, расположенный на поверхности первой подложки и покрывающий множество электродов.
5. Устройство по любому одному из пп. 1-4, в котором первая подложка содержит первую часть, на которую вводят каплю жидкости, и вторую часть, в направлении которой перемещают каплю жидкости.
- 25 6. Устройство по п. 5, в котором множество электродов и первый слой проходят от первой части ко второй части первой подложки.
7. Устройство по п. 6, в котором массив лунок располагают во второй части первой подложки.
- 30 8. Устройство по п. 5, в котором вторая подложка содержит первую часть и вторую часть, причем первая часть расположена обращенной к первой части первой подложки и вторая часть расположена обращенной к массиву лунок.
9. Устройство по п. 8, в котором вторая часть второй подложки по существу прозрачна для того, чтобы содействовать оптическому опросу массива лунок.
- 35 10. Устройство по любому одному из пп. 1-9, в котором множество электродов выполнены с возможностью перемещать каплю, помещенную в зазор, в направлении второй части устройства, причем устройство содержит капиллярную часть, соединяющую по текучей среде первую часть со второй частью, причем капилляр содержит гидрофильный материал для того, чтобы содействовать движению капли от первой части ко второй части через капиллярную часть в отсутствие электрической силы.
- 40 11. Устройство по п. 4, в котором второй слой располагают на верхней поверхности первого слоя.
12. Устройство по п. 11, в котором второй слой проходит над первой подложкой.
- 45 13. Устройство по любому одному из пп. 11, 12, в котором первый слой представляет собой диэлектрический слой и второй слой представляет собой гидрофобный слой.
14. Устройство по любому одному из пп. 11-13, в котором множество лунок располагают во втором слое.

15. Устройство по п. 4, в котором массив лунок располагают в первом слое.

16. Устройство по любому одному из пп. 1-15, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

17. Устройство по любому одному из пп. 1-16, в котором лунки содержат боковую стенку, которая ориентирована для того, чтобы содействовать приему и удержанию нанобусин или наночастиц, присутствующих в капельках, перемещаемых по массиву лунок.

18. Устройство по п. 17, в котором лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, причем первая боковая стенка ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и причем вторая боковая стенка ориентирована под острым углом относительно дна лунок, причем движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке.

19. Устройство по п. 18, в котором лунки имеют усеченную коническую форму с более узкой частью усеченной конической формы, в которой предусмотрено отверстие лунок.

20. Устройство по п. 17, в котором лунки содержат первую боковую стенку напротив второй боковой стенки, причем верхняя часть первой боковой стенки ориентирована под тупым углом относительно дна лунок и нижняя часть боковой стенки ориентирована перпендикулярно дну лунок и причем вторая боковая стенка ориентирована перпендикулярно дну лунок, причем движение капелек происходит в направлении, параллельном дну лунок, и от первой боковой стенки ко второй боковой стенке, причем верхняя часть первой боковой стенки находится в отверстии лунок.

21. Поверхностное акустическое волновое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит первую подложку и вторую подложку, причем вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, причем устройство содержит первую часть и вторую часть,

причем первая часть содержит вышележащий слой, связанный с генерирующим поверхностные акустические волны компонентом; и вторая часть содержит множество лунок, расположенных на первой подложке или второй подложке.

22. Устройство по п. 21, в котором вышележащий слой содержит фононные структуры на верхней поверхности вышележащего слоя.

23. Устройство по п. 21 или 22, в котором вышележащий слой перекрывает пьезоэлектрический кристаллический слой.

24. Устройство по любому одному из пп. 21, 22, в котором вторая подложка является по существу прозрачной.

25. Поверхностное акустическое волновое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит первую подложку и вторую подложку, причем вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора,

причем первая подложка содержит множество лунок и вторая подложка содержит фононную структуру, причем множество лунок и фононные структуры располагают напротив друг друга.

26. Устройство по п. 25, в котором вторая подложка представляет собой вышележащий слой.

27. Устройство по п. 25, в котором вышележащий слой располагают на второй подложке и фононную структуру располагают на вышележащем слое.

28. Устройство по любому одному из пп. 25-27, в котором первая подложка, вторая подложка и вышележащий слой по существу прозрачны.

29. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

5 (а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

10 (с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй капельки жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, причем одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

15 (е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и

(f) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

30. Способ по п. 29, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

31. Способ по любому одному из пп. 29 или 30, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

25 32. Способ по любому одному из пп. 29 или 30, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

33. Способ по любому одному из пп. 29-32, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

34. Способ по любому одному из пп. 29-33, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

35. Способ по любому одному из пп. 29-34, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

36. Способ по любому одному из пп. 29-35, в котором энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу.

37. Способ по п. 36, в котором электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

38. Способ по п. 36, в котором акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

45 39. Способ по любому одному из пп. 29-38, в котором первая капелька жидкости представляет собой поляризуемую несмешиваемую жидкость, вторая капелька жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или как первая капелька жидкости, так и вторая капелька жидкости

представляют собой поляризуемые жидкости.

40. Способ по любому одному из пп. 29-37, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

5 41. Способ по любому одному из пп. 29-40, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

42. Способ по любому одному из пп. 29-41, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

43. Способ по п. 42, в котором электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси.

44. Способ по любому одному из пп. 29-43, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

45. Способ по любому одному из пп. 29-44, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

20 46. Способ по любому одному из пп. 29-44, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

47. Способ по любому одному из пп. 29-46, в котором капля жидкости представляет собой каплю гидрофобной жидкости.

25 48. Способ по любому одному из пп. 29-47, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

49. Способ по любому одному из пп. 29-47, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

50. Способ по любому одному из пп. 29-49, причем способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофильную поверхность.

51. Способ по любому одному из пп. 29-49, причем способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофобную поверхность.

35 52. Способ по любому одному из пп. 29-51, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

53. Способ по любому одному из пп. 29-52, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем.

40 54. Способ по п. 53, в котором загрузка включает приложение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива.

55. Способ по п. 54, который дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

45 56. Способ по п. 55, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать каплю поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

57. Способ по п. 56, в котором удаление включает генерацию электрической

приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

58. Способ по п. 57, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

5 59. Способ по п. 57, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

60. Способ по любому одному из пп. 57 или 58, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

10 61. Способ по любому одному из пп. 29-60, причем способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

15 62. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

20 (b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей поддающуюся обнаружению метку, которая содержит связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

(с) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости и второй капелькой жидкости для того, чтобы создавать смесь;

25 (d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок; и
(е) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

63. Способ по п. 62, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

30 64. Способ по любому из пп. 62, 63, в котором энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу.

65. Способ по п. 64, в котором электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной 35 электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

66. Способ по п. 65, в котором акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

40 67. Способ по любому одному из пп. 62-65, в котором первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

45 68. Способ по любому одному из пп. 62-65 и 67, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

69. Способ по любому одному из пп. 62-68, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного

элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

70. Способ по любому одному из пп. 62-69, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

71. Способ по любому одному из пп. с 62 по 70, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

72. Способ по любому одному из пп. 62-70, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

73. Способ по любому одному из пп. 62-72, в котором капелька жидкости представляет собой капельку гидрофобной жидкости.

74. Способ по любому одному из пп. 62-73, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

75. Способ по любому одному из пп. 62-73, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

76. Способ по любому одному из пп. 62-75, причем способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофильную поверхность.

77. Способ по любому одному из пп. 62-75, причем способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофобную поверхность.

78. Способ по любому одному из пп. 62-77, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

79. Способ по любому одному из пп. 62-78, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одной поддающейся обнаружению меткой.

80. Способ по п. 79, который дополнительно включает удаление каких-либо поддающихся обнаружению меток, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

81. Способ по п. 80, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

82. Способ по п. 81, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

83. Способ по п. 82, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

84. Способ по п. 83, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

85. Способ по любому одному из пп. 82 или 83, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

86. Способ по любому одному из пп. 62-85, причем способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество

устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

87. Способ измерения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

- 5 (a) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;
- (b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;
- 10 (c) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй жидкости для того, чтобы создавать смесь;
- (d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, причем одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;
- 15 (e) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и
- (f) измерение поддающейся обнаружению метки в лунках.

88. Способ по п. 87, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым 20 веществом, представляющим интерес.

89. Способ по любому одному из пп. 87 или 88, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

90. Способ по любому одному из пп. 87 или 88, который дополнительно включает 25 добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

91. Способ по любому одному из пп. 87-90, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

30 92. Способ по любому одному из пп. 87-91, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

93. Способ по любому одному из пп. 87-91, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

35 94. Способ по любому одному из пп. 87-91, в котором энергия представляет собой электрическую приводящую в движение силу или акустическую силу.

95. Способ по п. 94, в котором электрическая приводящая в движение сила является приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной 40 электрическим полем, опосредованной электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

96. Способ по п. 94, в котором акустическая сила представляет собой поверхностную акустическую волну.

97. Способ по пп. 87-96, в котором первая капелька жидкости представляет собой 45 поляризуемую жидкость, вторая капелька жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

98. Способ по любому одному из пп. 87-94 и 97, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

5 99. Способ по любому одному из пп. 87-98, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

100. Способ по любому одному из пп. 87-99, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

10 101. Способ по п. 100, в котором электрическую приводящую в движение силу и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси.

102. Способ по любому одному из пп. 87-101, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

103. Способ по любому одному из пп. 87-102, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

20 104. Способ по любому одному из пп. 87-103, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

105. Способ по любому одному из пп. 87-104, в котором капля жидкости представляет собой каплю гидрофобной жидкости.

106. Способ по любому одному из пп. 87-105, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

25 107. Способ по любому одному из пп. 87-105, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

108. Способ по любому одному из пп. 87-106, причем способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофильную поверхность.

30 109. Способ по любому одному из пп. 87-106, причем способ осуществляют в устройстве, содержащем первую и вторую подложку, и по меньшей мере одна подложка содержит гидрофобную поверхность.

110. Способ по любому одному из пп. 87-109, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

111. Способ по любому одному из пп. 87-110, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем.

40 112. Способ по п. 111, в котором загрузка включает применение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива.

113. Способ по п. 112, который дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

45 114. Способ по п. 113, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать каплю поляризуемого текучего вещества в массив лунок, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

115. Способ по п. 114, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы

перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

116. Способ по п. 115, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

117. Способ по п. 116, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

118. Способ по любому одному из пп. 116 или 117, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

119. Способ по любому одному из пп. 87-118, причем способ осуществляют с использованием микрожидкостного устройства, цифрового микрожидкостного устройства (DMF), микрожидкостного устройства на основе поверхностных акустических волн (SAW), интегрированного DMF и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, интегрированного SAW и обнаруживающего анализируемое вещество устройства или роботизированной технологической установки для анализов.

120. Способ по любому одному из пп. 87-119, в котором измерение включает определение общего числа твердых носителей в лунках массива.

121. Способ по п. 120, в котором измерение включает определение числа твердых носителей в лунках массива, которые содержат поддающуюся обнаружению метку.

122. Способ по п. 121, в котором измерение включает вычитание числа твердых носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, из общего числа твердых носителей в лунках массива для того, чтобы определять число твердых носителей в лунках массива, которые не содержат какую-либо поддающуюся обнаружению метку.

123. Способ по п. 122, определяющий соотношение твердых носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, и числа твердых носителей, которые не содержат какую-либо поддающуюся обнаружению метку.

124. Способ загрузки лунки частицами, который содержит:

(а) генерацию электрического поля с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку жидкости, содержащую микрочастицы, в массив лунок, в котором одна или несколько лунок массива лунок выполнены достаточного размера, чтобы загружать в них частицу;

(b) загрузку одной или нескольких лунок частицей; и

(с) генерацию электрического поля с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок для того, чтобы закупоривать массив лунок.

125. Способ по п. 124, который дополнительно включает манипулирование каплей жидкости поверх массива лунок с использованием электрического поля.

126. Способ по любому одному из пп. 124 или 125, который дополнительно включает манипулирование каплей жидкости поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению капельки жидкости в массив лунок.

127. Способ по любому одному из пп. 124-126, в котором частица представляет собой магнитную бусину.

128. Способ по п. 124, в котором загрузка включает применение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению одной или нескольких магнитных бусин в одну или несколько лунок массива.

129. Способ по любому одному из пп. 124-128, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

130. Способ по любому одному из пп. 124-128, в котором массив лунок имеет

гидрофобную поверхность.

131. Способ по любому одному из пп. 124-130, в котором генерация электрического поля включает генерацию переменного тока.

132. Способ по п. 131, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

133. Способ по любому из пп. 131 или 132, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

134. Способ формирования цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, который содержит:

разворачивание первого рулона, содержащего первую подложку, для того, чтобы располагать первую часть первой подложки в первом положении;

формирование множества электродов на первой части первой подложки в первом положении; и

формирование массива лунок на второй части первой подложки во втором положении.

135. Способ по п. 134, который дополнительно включает разворачивание первого рулона для того, чтобы располагать вторую часть смежно с первой частью первой подложки во втором положении перед формированием массива лунок.

136. Способ по п. 134 или 135, который дополнительно включает:

разворачивание второго рулона, содержащего вторую подложку, для того, чтобы располагать третью часть третьей подложки в третьем положении; и

скрепление второй подложки с первой подложкой в третьем положении таким образом, который достаточен для того, чтобы располагать вторую подложку на расстоянии от первой подложки.

137. Способ формирования интегрированного цифрового микрожидкостного и обнаруживающего анализируемое вещество устройства, который содержит:

разворачивание первого рулона, содержащего первую подложку, для того, чтобы располагать первую часть первой подложки в первом положении;

формирование множества электродов на первой части первой подложки в первом положении;

разворачивание второго рулона, содержащего вторую подложку, для того, чтобы располагать вторую часть второй подложки во втором положении;

формирование массива лунок на второй части во втором положении; и

скрепление второй подложки с первой подложкой таким образом, который достаточен для того, чтобы

располагать вторую подложку на расстоянии от первой подложки и

располагать вторую часть над первой частью или над третьей частью смежно с первой частью первой подложки,

причем массив лунок обращен к первой подложке.

138. Способ по любому одному из пп. 134-137, в котором формирование массива лунок включает использование тепловой или ультрафиолетовой наноимпринтной литографии, наноимпринтного валика, лазерной абляции или посредством скрепления предварительно изготовленной подложки, содержащей массив лунок, в первой части первой подложки.

139. Способ по любому одному из пп. 134-138, который дополнительно включает воздействие на первую подложку интенсивным теплом, давлением или ультрафиолетовым светом для того, чтобы формировать фононные структуры на или

в первой подложке с использованием формы.

140. Способ по любому одному из пп. 134-139, который дополнительно включает нанесение гидрофобного и/или диэлектрического материала на электроды серии с использованием печатного устройства.

5 141. Способ по п. 140, в котором гидрофобный и/или диэлектрический материал содержит отверждающий материал.

142. Способ по п. 141, который дополнительно включает применение тепла или ультрафиолетового света для того, чтобы отверждать нанесенный гидрофобный и/или диэлектрический материал.

10 143. Способ по любому одному из пп. 134-142, который дополнительно включает нарезание первой и второй подложек для того, чтобы генерировать скрепленные подложки, содержащие первую и вторую части.

144. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

15 (a) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей связывающий элемент и меченое анализируемое вещество, причем связывающий элемент иммобилизуют по меньшей мере на одном твердом носителе, связывающий элемент связывается с
20 анализируемым веществом, представляющим интерес, и меченое анализируемое вещество представляет собой анализируемое вещество, представляющее интерес, меченное поддающейся обнаружению меткой;

(c) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй капельки жидкости для того,
25 чтобы создавать смесь; и

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, причем одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель.

145. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в
30 капельке жидкости, причем способ содержит:

(a) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей иммобилизованное анализируемое вещество и по меньшей мере один связывающий элемент, причем
35 иммобилизованное анализируемое вещество представляет собой анализируемое вещество, представляющее интерес, иммобилизованное по меньшей мере на одном твердом носителе, по меньшей мере один связывающий элемент связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес, и по меньшей мере один связывающий элемент метят поддающейся обнаружению меткой;

40 (c) использование энергии для того, чтобы прикладывать силу, чтобы манипулировать первой капелькой жидкости с использованием второй капельки жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, причем одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать
45 по меньшей мере один твердый носитель; и

(e) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

146. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес;

причем первую и вторую капельки жидкости предоставляют в цифровом микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве, которое содержит:

первую подложку и вторую подложку, причем вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, причем первая подложка содержит множество электродов для того, чтобы генерировать электрические приводящие в движение силы на капельке жидкости; и

массив лунок, имеющий такие размеры, чтобы удерживать часть капельки жидкости, причем по меньшей мере часть массива лунок располагают между одним или несколькими из множества электродов и зазором;

(с) использование электрических приводящих в движение сил для того, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капельки жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, причем одна или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

(е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и

(f) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

147. Способ по п. 146, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

148. Способ по любому одному из пп. 146 или 147, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

149. Способ по любому одному из пп. 146 или 148, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

150. Способ по любому одному из пп. 146-149, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

151. Способ по любому одному из пп. 146-150, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

152. Способ по любому одному из пп. 146-150, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

153. Способ по любому одному из пп. 146-152, в котором электрические приводящие в движение силы являются приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованными электрическим полем, опосредованными электродом, капиллярной силой, хроматографией, центрифугированием или всасыванием.

154. Способ по любому одному из пп. 146-153, в котором первая капля жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капля жидкости представляет

собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

155. Способ по любому одному из пп. 146-153, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием электрической приводящей в движение силы.

156. Способ по любому одному из пп. 146-155, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

157. Способ по любому одному из пп. 146-156, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

158. Способ по п. 157, в котором электрические приводящие в движение силы и магнитное поле прикладывают с противоположных направлений относительно по меньшей мере части смеси.

159. Способ по любому одному из пп. 146-158, который дополнительно включает смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

160. Способ по любому одному из пп. 146-158, в котором смесь представляет собой водную жидкость.

161. Способ по любому одному из пп. 146-158, в котором смесь представляет собой несмешиваемую жидкость.

162. Способ по любому одному из пп. 146-161, в котором капелька жидкости представляет собой капельку гидрофобной жидкости.

163. Способ по любому одному из пп. со 146 по 162, в котором массив лунок имеет гидрофильную поверхность.

164. Способ по любому одному из пп. 146-162, в котором массив лунок имеет гидрофобную поверхность.

165. Способ по любому одному из пп. 146-164, в котором подложка содержит гидрофильную поверхность.

166. Способ по любому одному из пп. 146-164, в котором подложка содержит гидрофобную поверхность.

167. Способ по любому одному из пп. 146-166, который дополнительно включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать смесь в массив лунок, чтобы загружать лунки.

168. Способ по любому одному из пп. 146-167, в котором одну или несколько лунок массива загружают по меньшей мере одним твердым носителем.

169. Способ по п. 168, в котором загрузка включает применение магнитного поля для того, чтобы содействовать движению по меньшей мере одного твердого носителя в одну или несколько лунок массива.

170. Способ по п. 169, который дополнительно включает удаление каких-либо твердых носителей, которые не загружают в лунку массива, после загрузки.

171. Способ по п. 170, в котором удаление включает генерацию электрической приводящей в движение силы с использованием множества электродов для того, чтобы перемещать капельку поляризуемого текучего вещества в массив лунок, чтобы перемещать по меньшей мере часть смеси на определенное расстояние от массива лунок.

172. Способ по п. 171, в котором удаление включает генерацию электрической

приводящей в движение силы с использованием электродов для того, чтобы перемещать водную промывающую капельку по массиву лунок.

173. Способ по п. 172, в котором генерация электрической приводящей в движение силы включает генерацию переменного тока.

5 174. Способ по п. 173, в котором переменный ток имеет среднеквадратическое (rms) напряжение 10 В или больше.

175. Способ по любому одному из пп. 173 или 174, в котором переменный ток имеет частоту в радиочастотном диапазоне.

10 176. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

(а) предоставление первой капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес;

(b) предоставление второй капельки жидкости, содержащей по меньшей мере один твердый носитель, который содержит связывающий элемент, который связывается с
15 анализируемым веществом, представляющим интерес;

причем первую и вторую капельки жидкости предоставляют в поверхностном акустическом волновом микрожидкостном и обнаруживающем анализируемое вещество устройстве, которое содержит:

20 первую подложку и вторую подложку, причем вторую подложку отделяют от первой подложки с помощью зазора, причем устройство содержит первую часть и вторую часть,

причем первая часть содержит вышележащий слой, связанный с генерирующим поверхностные акустические волны компонентом, и

25 вторая часть содержит множество лунок, расположенных на первой подложке или второй подложке,

(с) использование поверхностных акустических сил для того, чтобы манипулировать первой каплей жидкости с использованием второй капельки жидкости для того, чтобы создавать смесь;

(d) перемещение всей или по меньшей мере части смеси в массив лунок, причем одна
30 или несколько лунок массива выполнены достаточного размера для того, чтобы вмещать по меньшей мере один твердый носитель;

(е) добавление поддающейся обнаружению метки в смесь до или после перемещения части смеси в массив лунок; и

(f) обнаружение анализируемого вещества, представляющего интерес, в лунках.

35 177. Способ по п. 176, в котором по меньшей мере один твердый носитель содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

40 178. Способ по любому одному из пп. 176 или 177, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь перед перемещением по меньшей мере части смеси в массив лунок.

179. Способ по любому одному из пп. 176 или 178, который дополнительно включает добавление поддающейся обнаружению метки в смесь после перемещения по меньшей мере части смеси в массив лунок.

45 180. Способ по любому одному из пп. 176-179, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

181. Способ по любому одному из пп. 176-180, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное

соединение или радиоактивное соединение.

182. Способ по любому одному из пп. 176-181, в котором связывающий элемент представляет собой рецептор или антитело.

183. Способ по любому одному из пп. 176-182, в котором первая капелька жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, вторая капелька жидкости представляет собой поляризуемую жидкость, смесь представляет собой поляризуемую жидкость или каждая из как первой капельки жидкости, так и второй капельки жидкости представляют собой поляризуемые жидкости.

184. Способ по любому одному из пп. 176-183, который дополнительно включает манипулирование смесью поверх массива лунок с использованием капиллярного элемента, выполненного с возможностью содействовать движению смеси в массив лунок.

185. Способ по любому одному из пп. 176-184, в котором твердые носители представляют собой магнитные твердые носители.

186. Способ по п. 52, причем способ дополнительно включает закупоривание массива лунок гидрофобной жидкостью.

187. Способ по п. 78, причем способ дополнительно включает закупоривание массива лунок гидрофобной жидкостью.

188. Способ по п. 167, причем способ дополнительно включает закупоривание массива лунок гидрофобной жидкостью.

189. Цифровое микрожидкостное и обнаруживающее анализируемое вещество устройство, которое содержит:

первую подложку и вторую подложку, выровненные для образования зазора между ними, причем первая подложка содержит множество электродов для того, чтобы генерировать электрические приводящие в движение силы на капельке жидкости, расположенной в зазоре;

по меньшей мере один реактив, расположенный на по меньшей мере одной из первой подложки и второй подложки и выполненный с возможностью переноса капелькой жидкости; и

обнаруживающее анализируемое вещество устройство, сообщающееся по текучей среде с зазором и выполненное с возможностью подсчета отдельных молекул, причем множество электродов выполнены с возможностью перемещать капельку жидкости в направлении обнаруживающего анализируемое вещество устройства.

190. Устройство по п. 189, в котором обнаруживающее анализируемое вещество устройство содержит массив лунок, имеющих такие размеры, чтобы удерживать по меньшей мере часть капельки жидкости.

191. Устройство по п. 190, в котором первая подложка содержит первую часть, на которую капельку жидкости вводят, и вторую часть, в направлении которой перемещают капельку жидкости, причем массив располагают во второй части.

192. Устройство по п. 191, в котором по меньшей мере один из реактива и капельки жидкости содержит по меньшей мере один твердый носитель и в котором каждая из по меньшей мере поднабора лунок имеет размеры, достаточные для того, чтобы вмещать один из по меньшей мере одного твердого носителя.

193. Устройство по п. 190, в котором по меньшей мере одна из первой и второй подложек является по существу прозрачной для того, чтобы содействовать оптическому опросу лунок.

194. Устройство по п. 189, в котором реактив выбирают из группы, состоящей из поддающейся обнаружению метки, связывающего элемента, красителя, поверхностно-

активного средства и их комбинации.

195. Устройство по п. 194, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит по меньшей мере один связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

5 196. Устройство по п. 194, в котором поддающаяся обнаружению метка содержит хромоген, флуоресцентное соединение, фермент, хемилюминесцентное соединение или радиоактивное соединение.

197. Устройство по п. 194, в котором связывающий элемент содержит рецептор или антитело.

10 198. Устройство по п. 190, которое дополнительно содержит первый слой, расположенный на поверхности первой подложки и покрывающий множество электродов, и второй слой, расположенный на поверхности первого слоя, причем первый слой представляет собой диэлектрический слой, а второй слой представляет собой гидрофобный слой.

15 199. Устройство по п. 198, в котором каждую лунку располагают во втором слое.

200. Устройство по п. 199, в котором каждая лунка содержит гидрофильную поверхность.

201. Способ обнаружения анализируемого вещества, представляющего интерес, в капельке жидкости, причем способ содержит:

20 введение капельки жидкости, содержащей анализируемое вещество, представляющее интерес, в устройство, содержащее:

первую подложку и вторую подложку, выровненные для определения зазора между ними, причем первая подложка содержит множество электродов для того, чтобы генерировать электрические приводящие в движение силы на капельке жидкости, когда
25 она расположена в зазоре;

по меньшей мере один реактив, расположенный на по меньшей мере одной из первой подложки или второй подложки и выполненный с возможностью переноса капелькой жидкости; и

30 обнаруживающее анализируемое вещество устройство, сообщающееся по текучей среде с зазором и выполненное с возможностью подсчета отдельных молекул, причем множество электродов выполнены с возможностью перемещать капельку жидкости в направлении обнаруживающего анализируемое вещество устройства;

приведение в движение по меньшей мере одного электрода для перемещения капельки жидкости в направлении обнаруживающего анализируемое вещество устройства;

35 мечение представляющего интерес анализируемого вещества поддающейся обнаружению меткой; и

обнаружение поддающейся обнаружению метки.

202. Способ по п. 201, в котором по меньшей мере один из реактива и капельки жидкости содержит по меньшей мере один твердый носитель и в котором по меньшей мере один твердый носитель включает связывающий элемент, который связывается с анализируемым веществом, представляющим интерес.

203. Способ по п. 201, в котором капелька жидкости представляет собой смесь, содержащую первую жидкость, включающую анализируемое вещество, представляющее интерес, и вторую жидкость, включающую по меньшей мере один твердый носитель,

45 способ, дополнительно содержащий смешивание смеси посредством перемещения смеси назад и вперед, перемещения смеси по круговому паттерну, разделения смеси на две или больше подсмесей и слияния подсмесей.

204. Способ по п. 201, в котором электрическая приводящая в движение сила является

приведением капельки в движение, электрофорезом, электросмачиванием, диэлектрофорезом, электростатическим приведением в движение, опосредованной электрическим полем или опосредованной электродом.

5 205. Способ по п. 201, в котором элементы содержат лунки, и способ дополнительно содержит закупоривание по меньшей мере одной из лунок в массиве гидрофобной жидкостью.

206. Способ по п. 201, который дополнительно содержит измерение анализируемого вещества, представляющего интерес, причем измерение содержит:

10 выявление твердых носителей в массиве, которые содержат поддающуюся обнаружению метку; и

вычисление соотношения твердых носителей, которые содержат поддающуюся обнаружению метку, и твердых носителей, которые не содержат поддающуюся обнаружению метку.

15

20

25

30

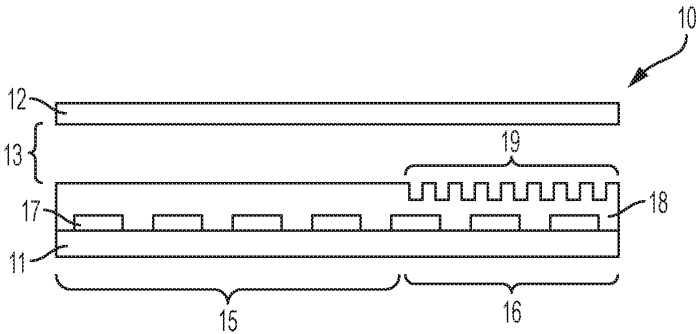
35

40

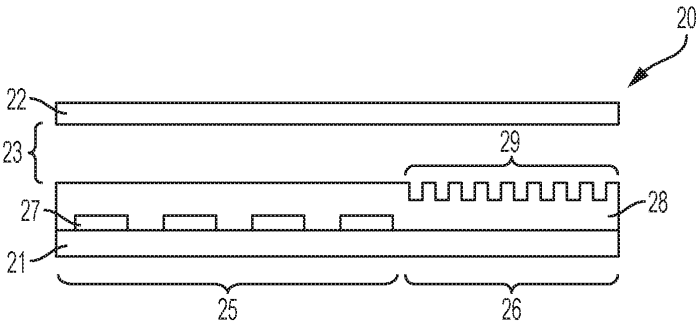
45

1

1/30

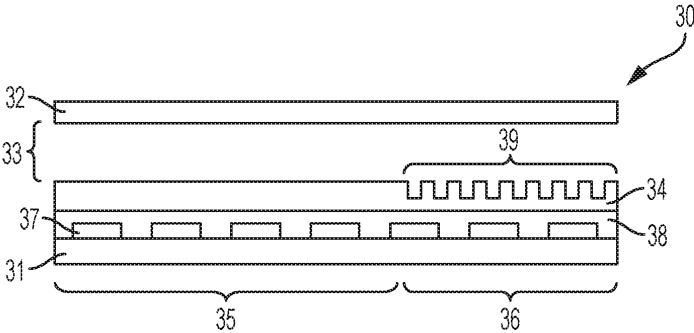


ФИГ. 1А

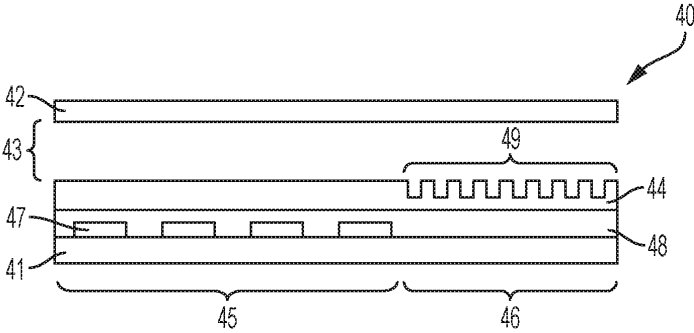


ФИГ. 1В

2

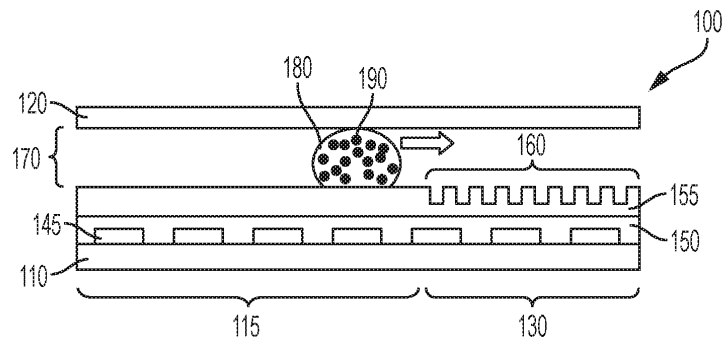


ФИГ. 2А

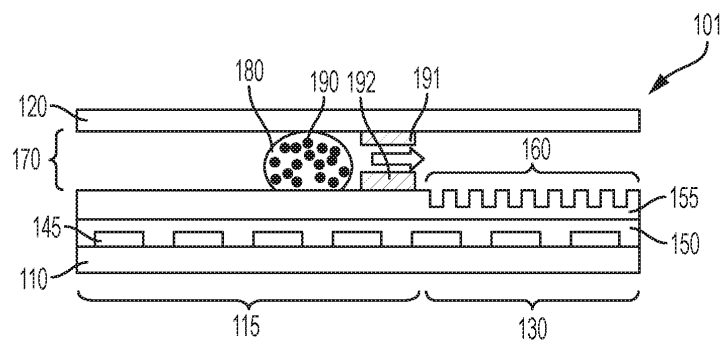


ФИГ. 2В

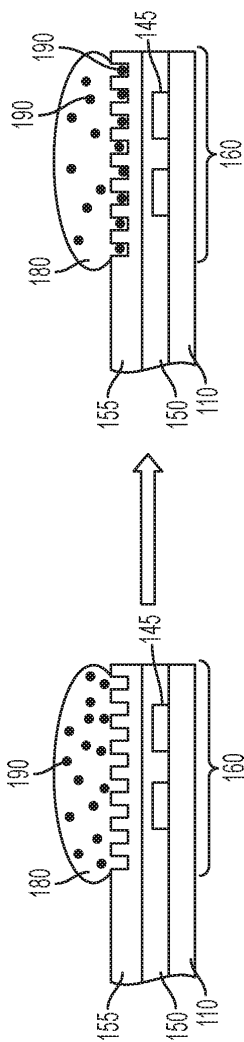
3/30



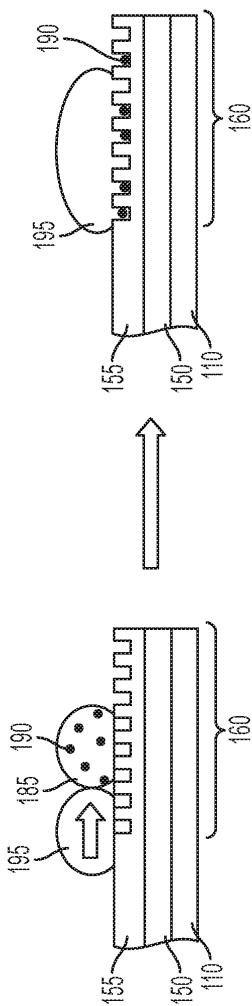
ФИГ. 3А



ФИГ. 3В

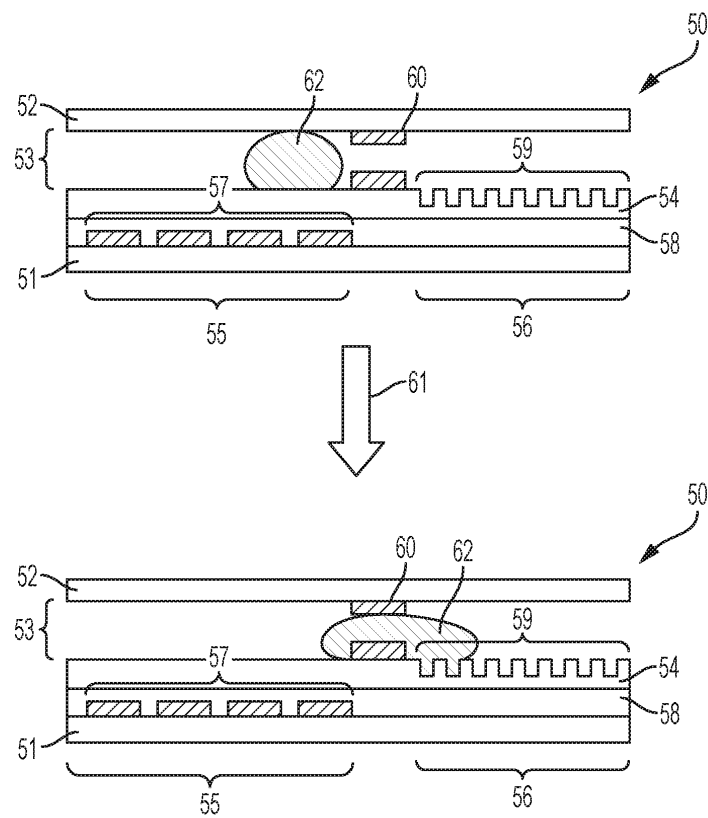


ФИГ. 4А



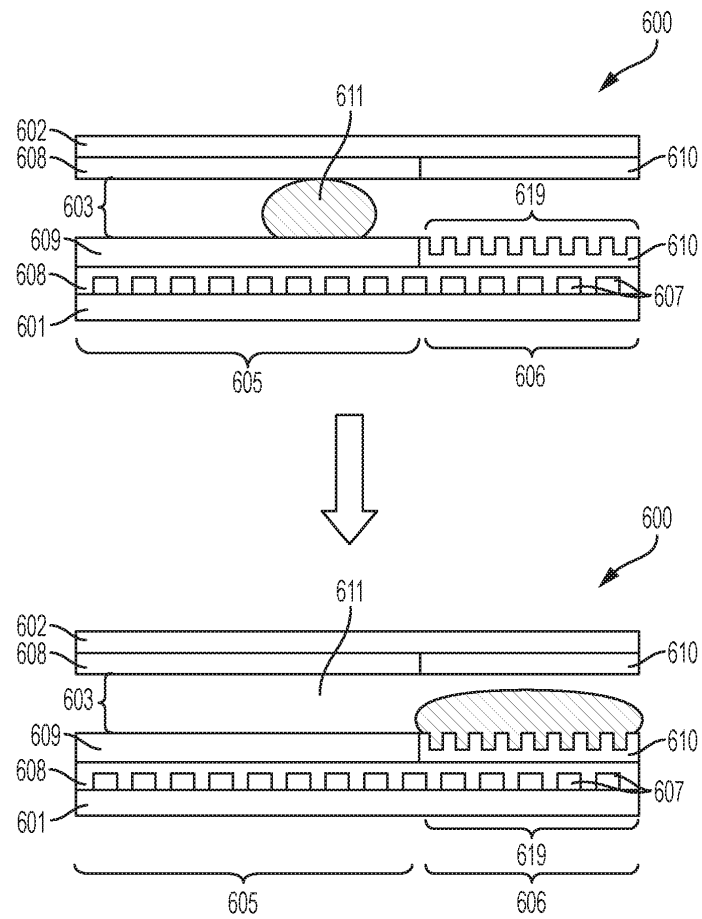
ФИГ. 4В

5/30



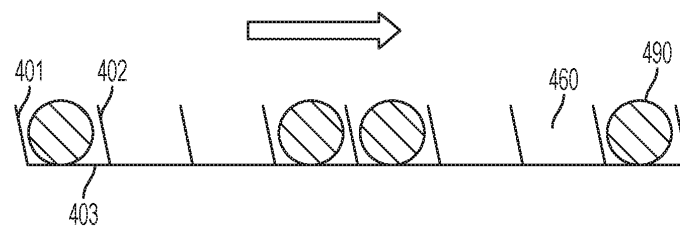
ФИГ. 5

6/30

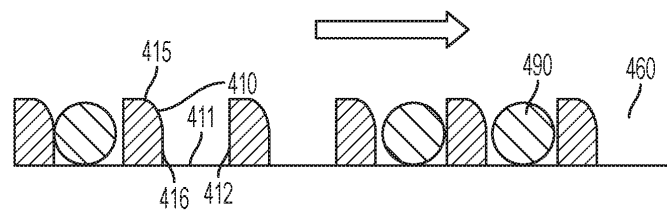


ФИГ. 6

7/30

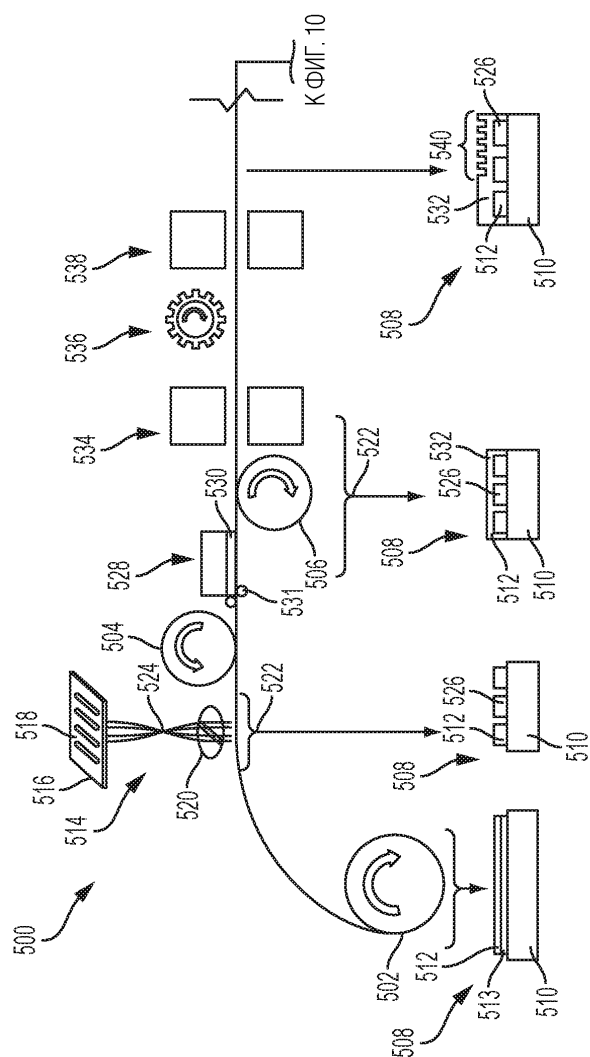


ФИГ. 7А

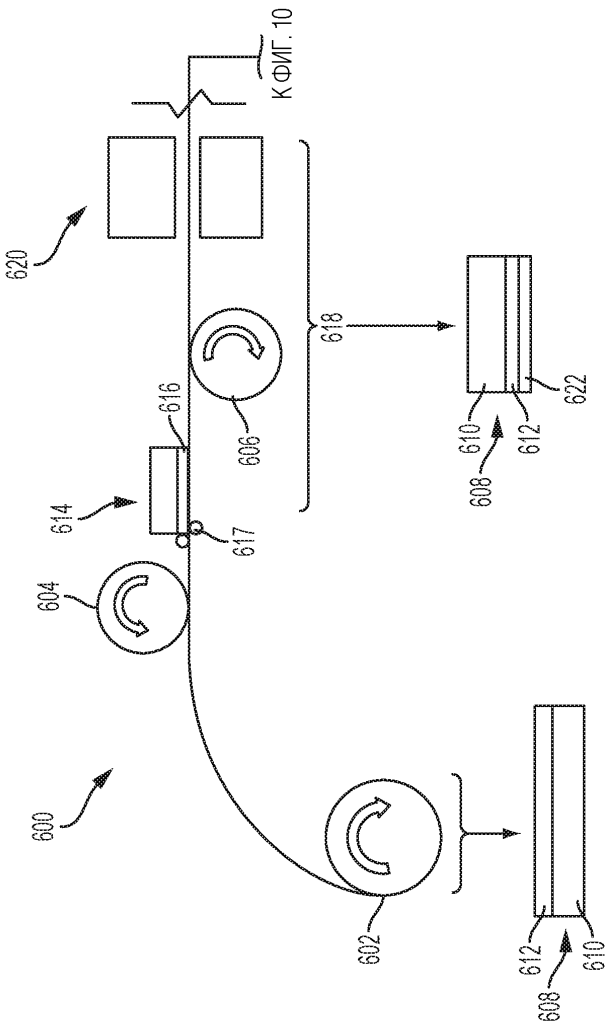


ФИГ. 7В

8/30

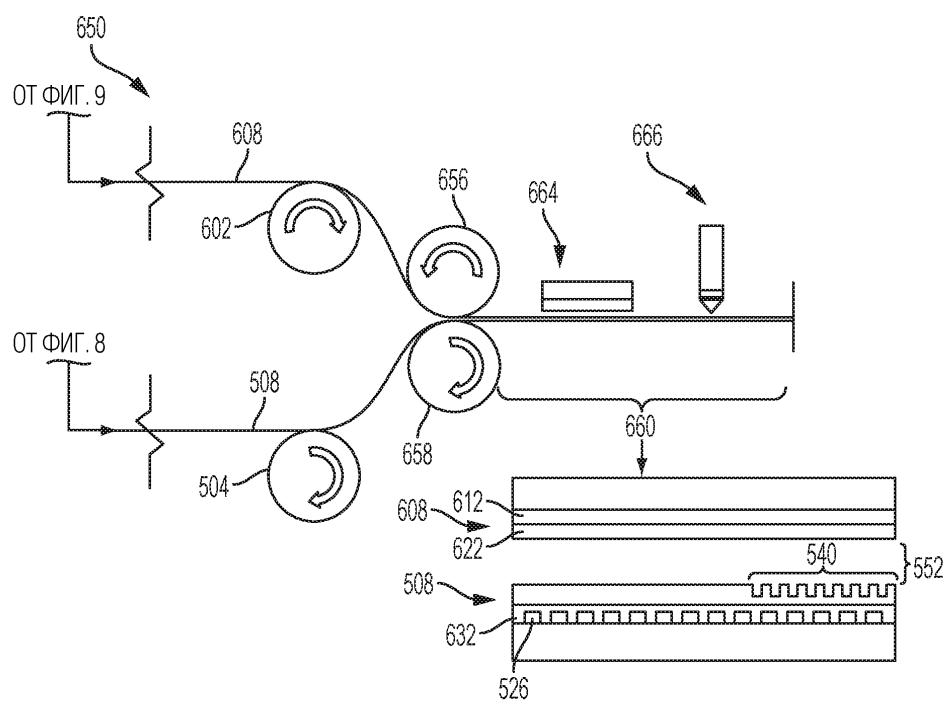


Φιν. 8



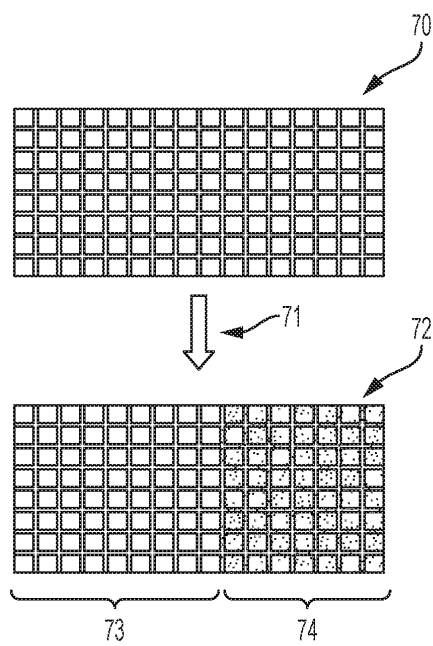
ФИГ. 9

10/30

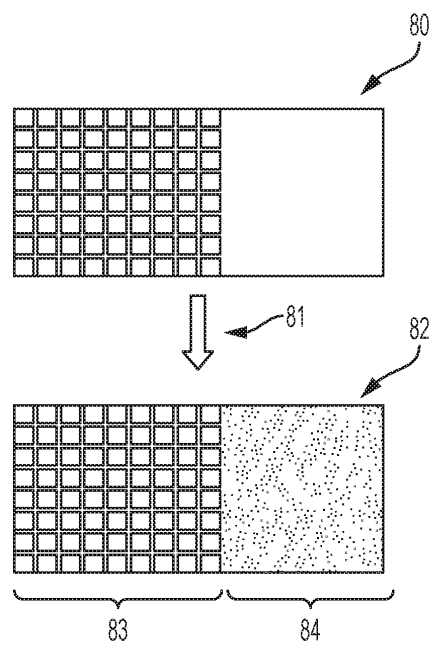


ФИГ. 10

11/30

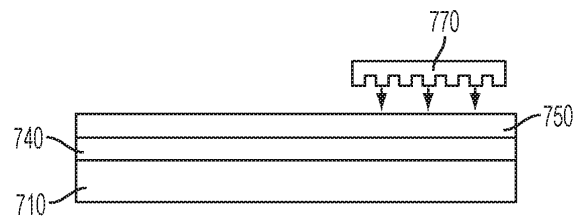


ФИГ. 11А

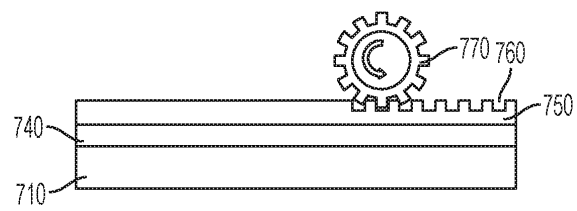


ФИГ. 11В

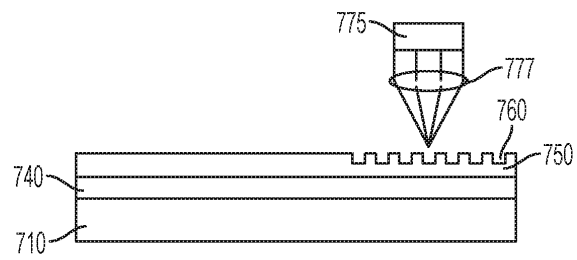
12/30



ФИГ. 12А

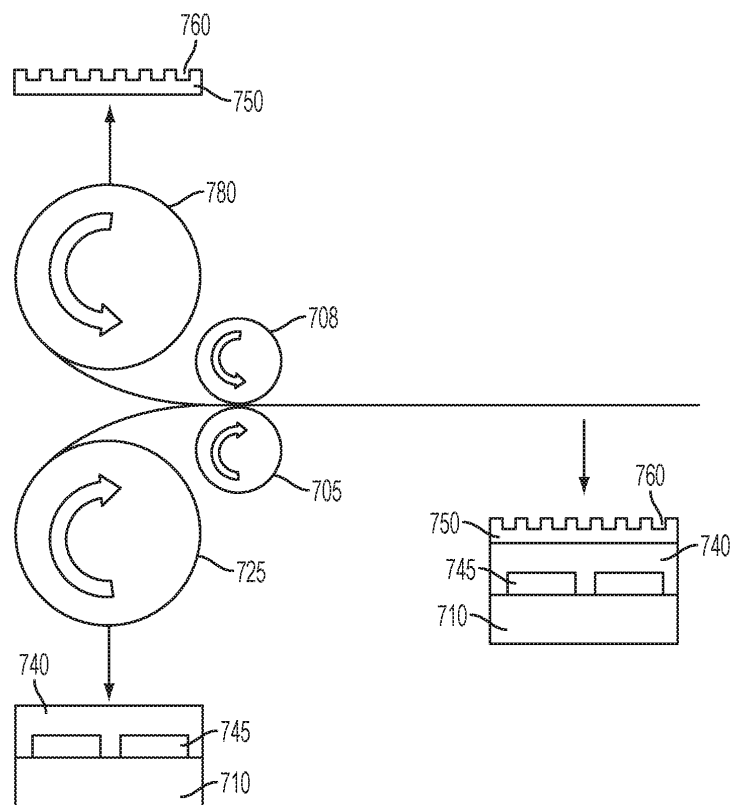


ФИГ. 12В



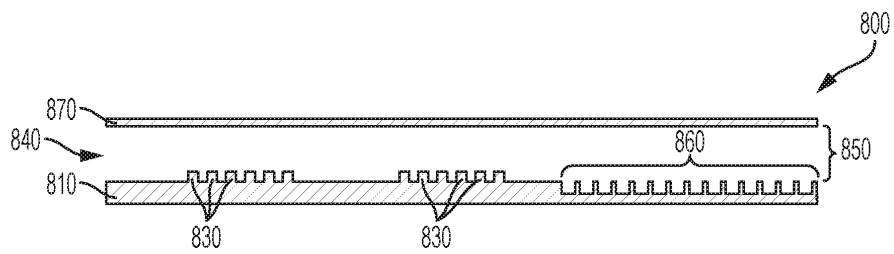
ФИГ. 12С

13/30

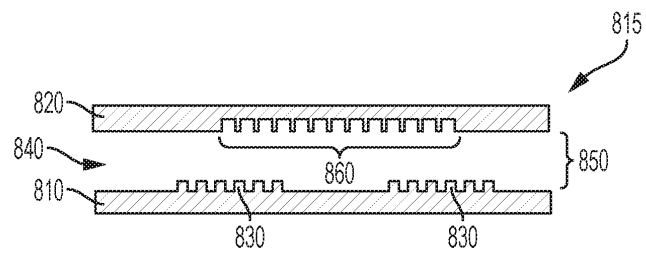


ФИГ. 12D

14/30

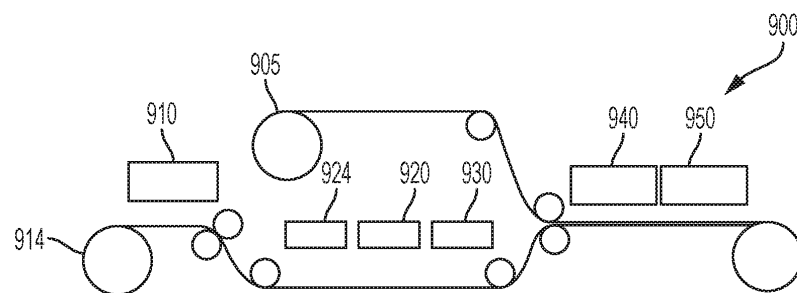


ФИГ. 13А

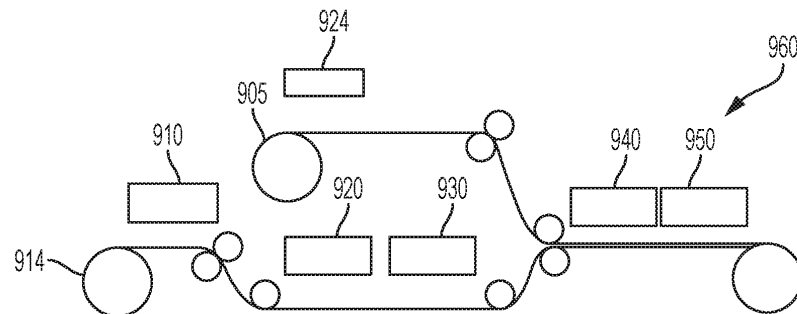


ФИГ. 13В

15/30

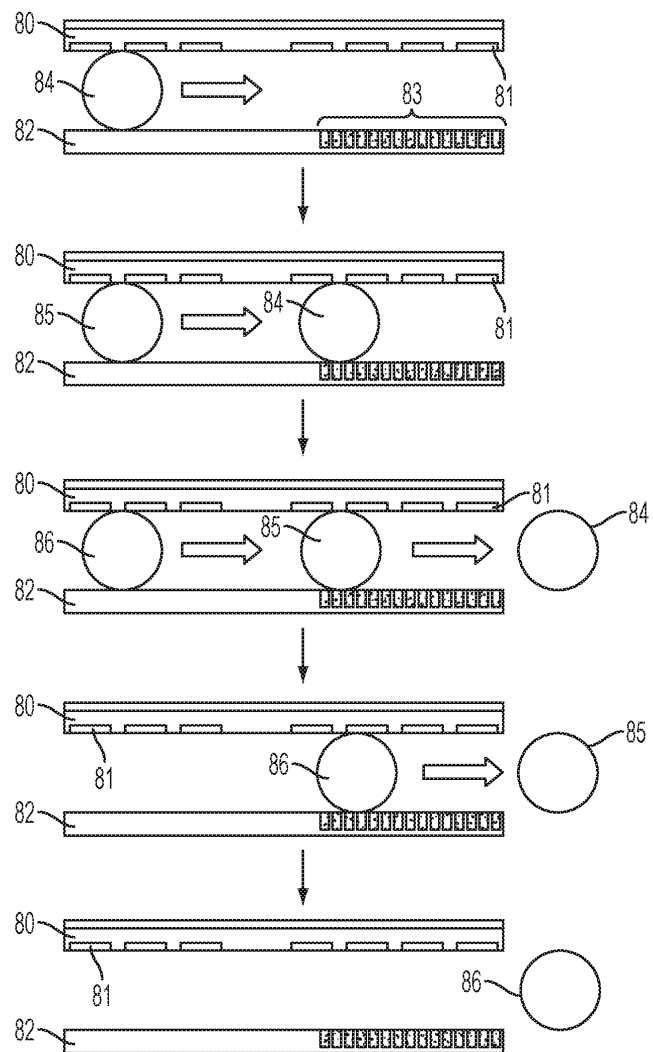


ФИГ. 14А



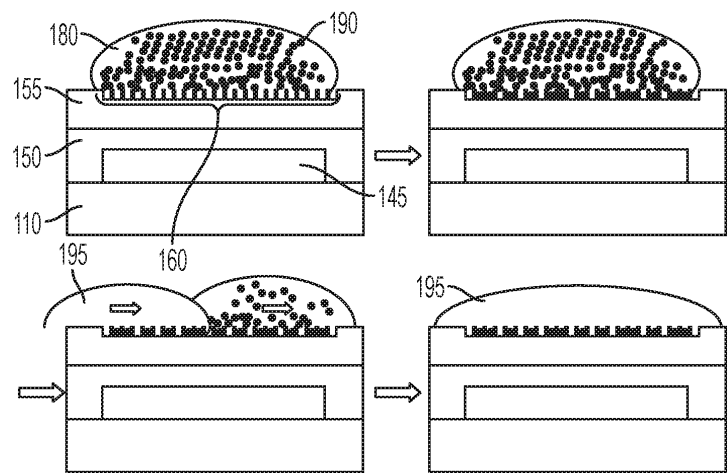
ФИГ. 14В

16/30

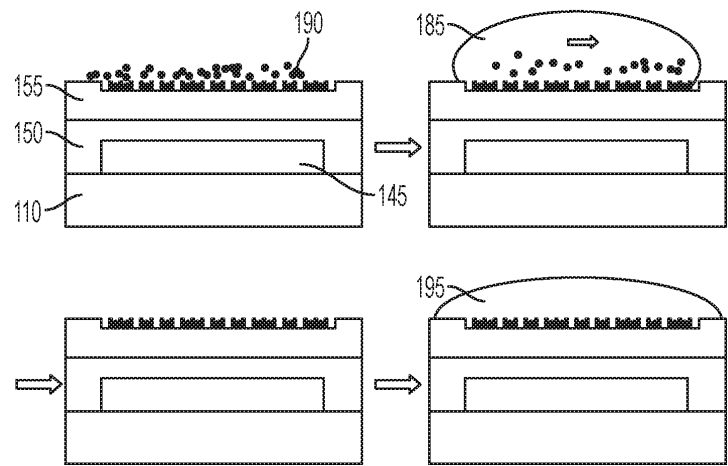


ФИГ. 15

17/30

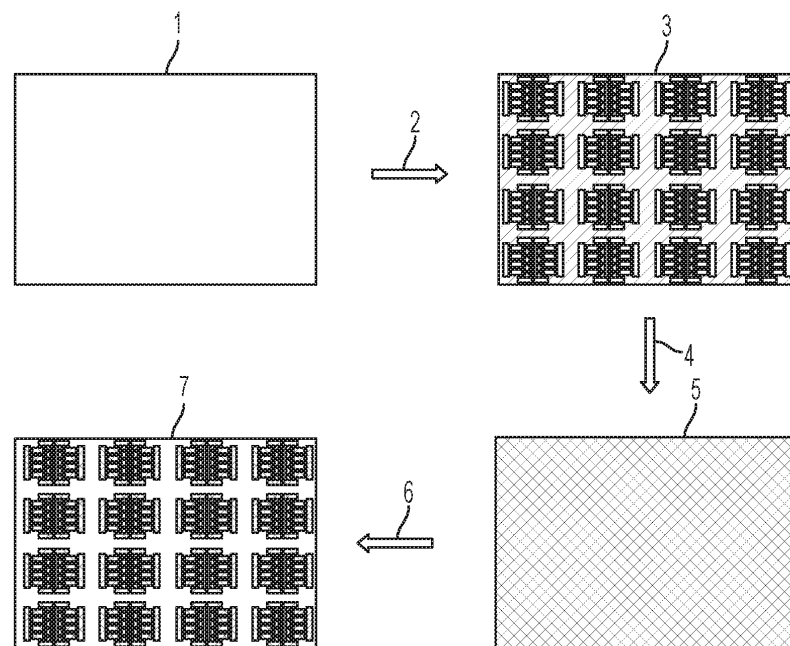


ФИГ. 16



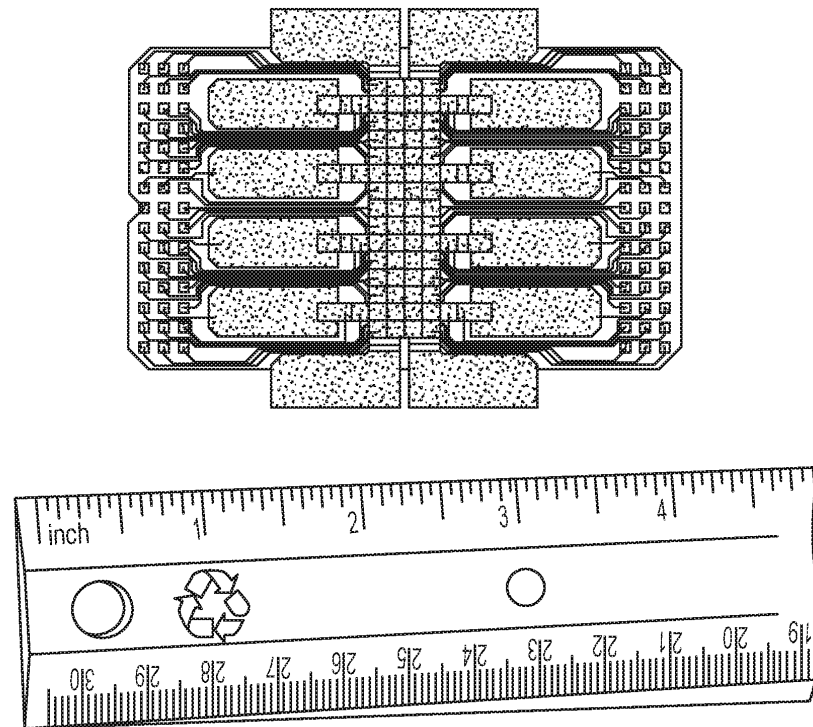
ФИГ. 17

18/30

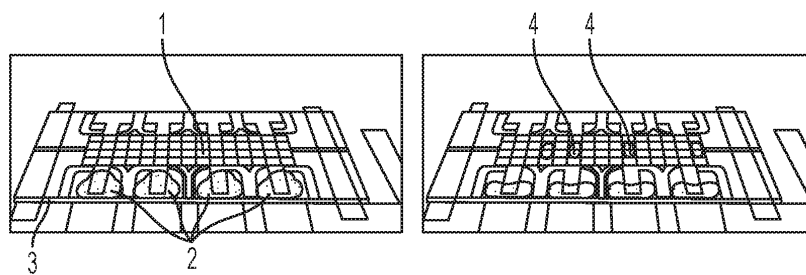


ФИГ. 18

19/30

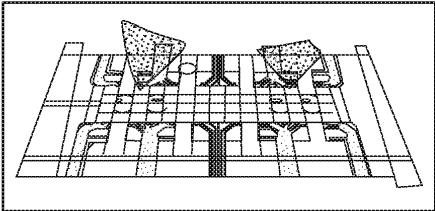


ФИГ. 19

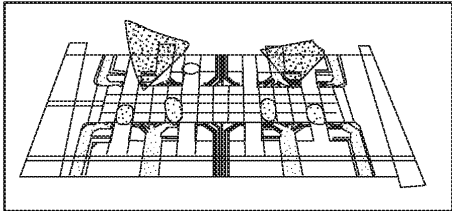


ФИГ. 20

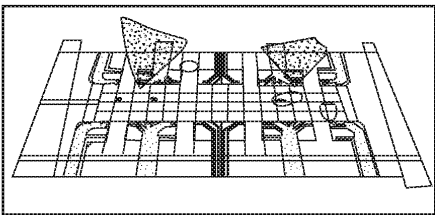
20/30



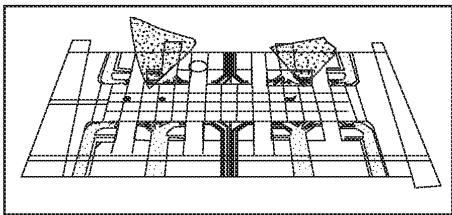
ФИГ. 21А



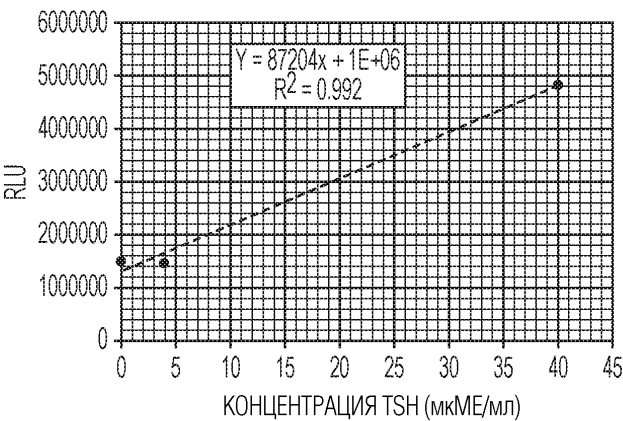
ФИГ. 21В



ФИГ. 21С



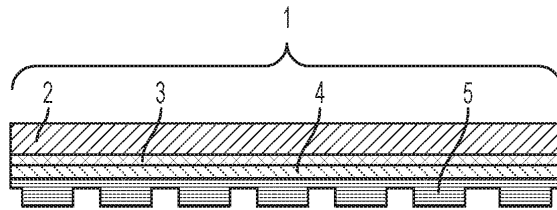
ФИГ. 21D



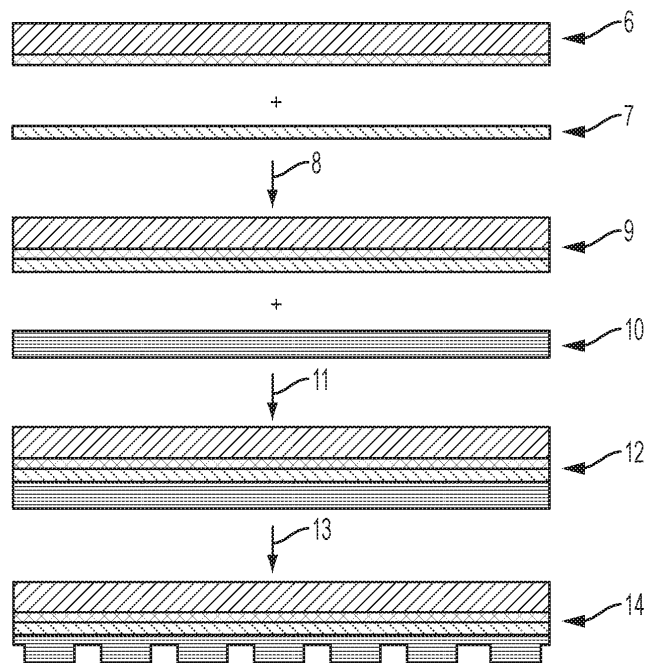
КОНЦ. TSH	x1	x2	x3	x4	УСРЕДНЕННОЕ
0	1523009	1540911	1832762	1173542	1517556
4	1624957	1345836			1485397
40	5181831	4508782			4845307

ФИГ. 21Е

21/30

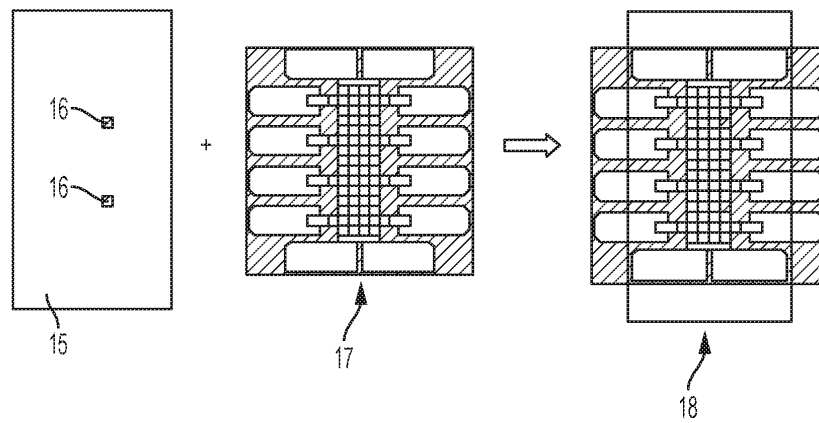


ФИГ. 22А

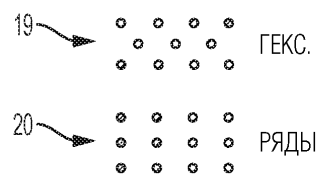


ФИГ. 22В

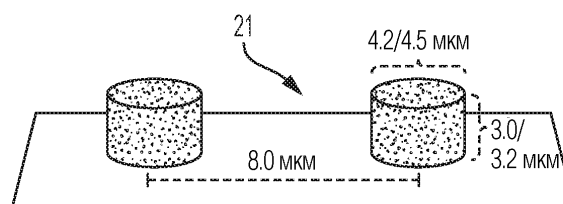
22/30



ФИГ. 23

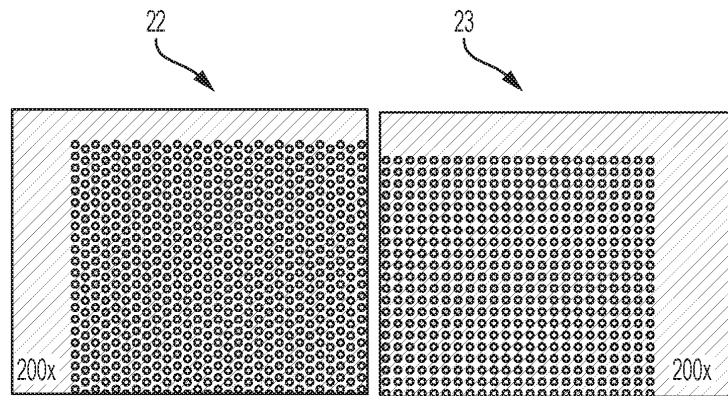


ФИГ. 24А

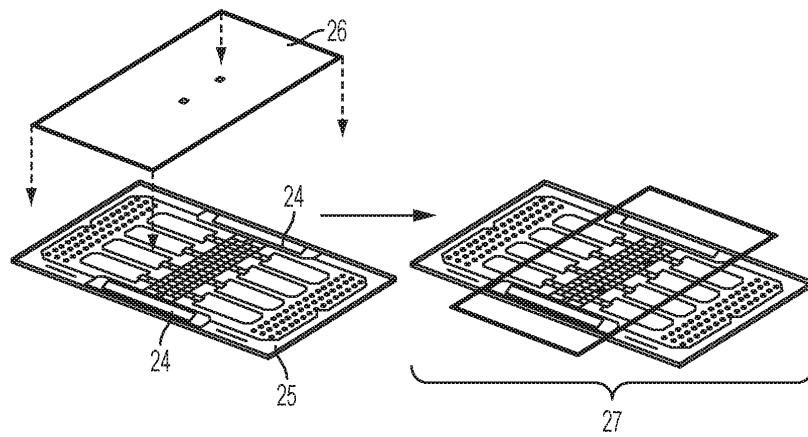


ФИГ. 24В

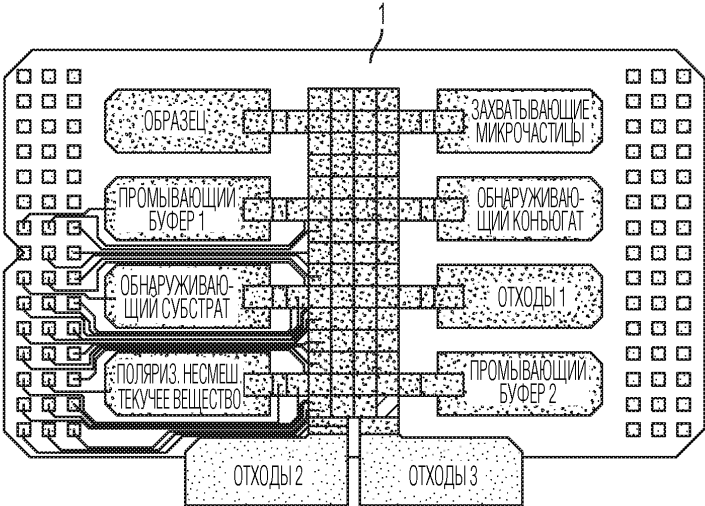
23/30



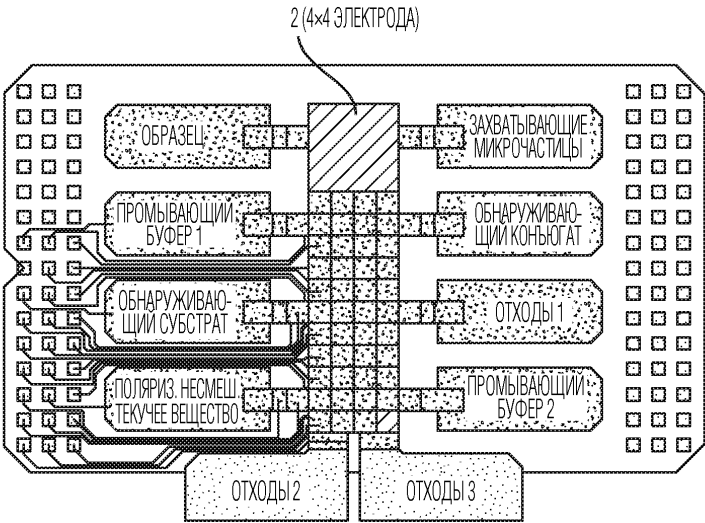
ФИГ. 25



ФИГ. 26

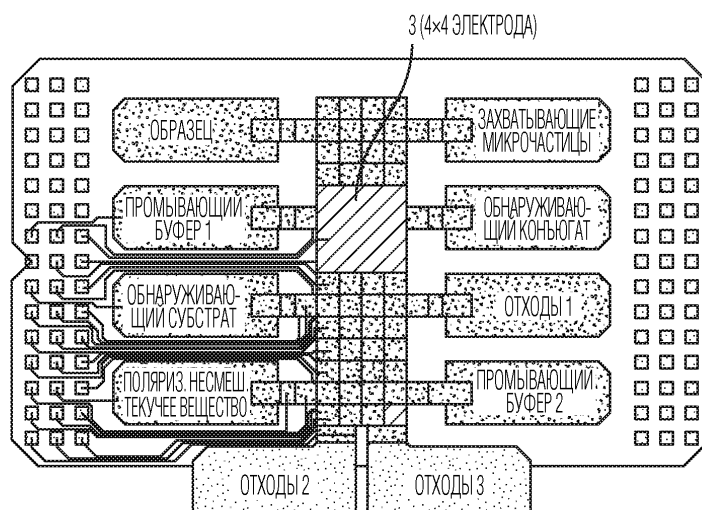


ФИГ. 27А

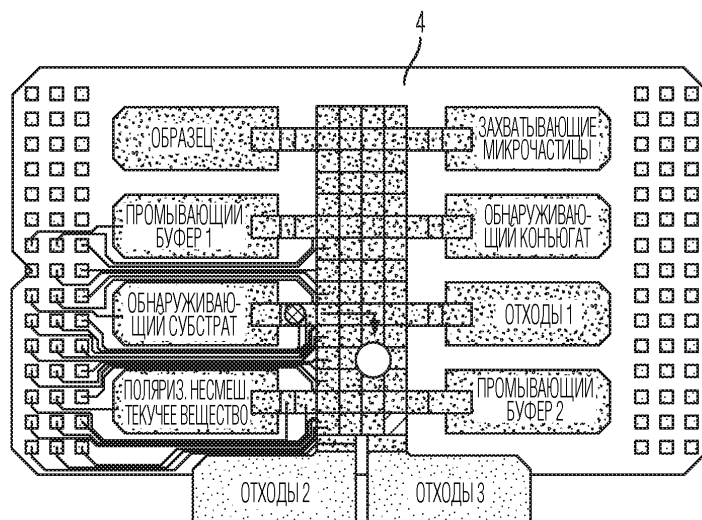


ФИГ. 27В

25/30

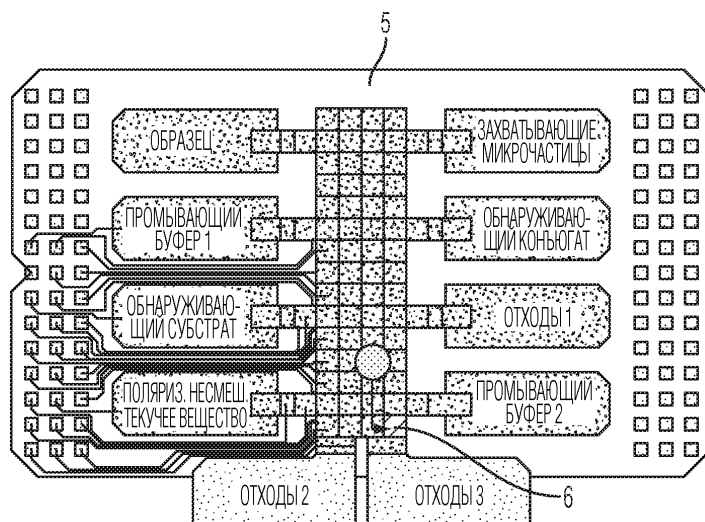


ФИГ. 27С

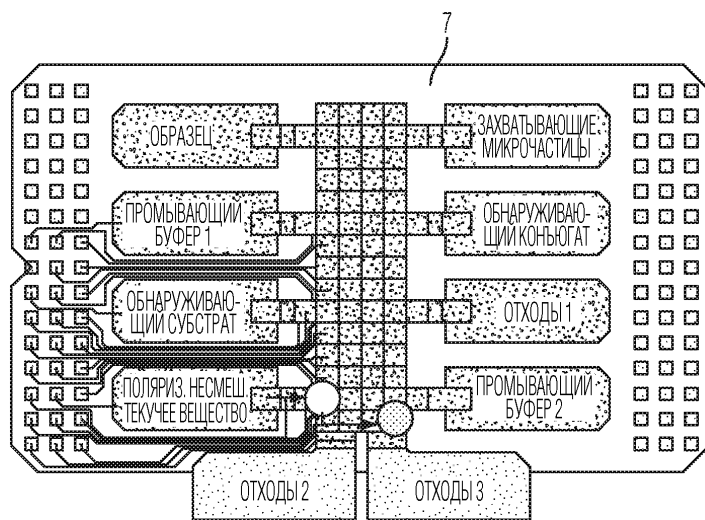


ФИГ. 27D

26/30

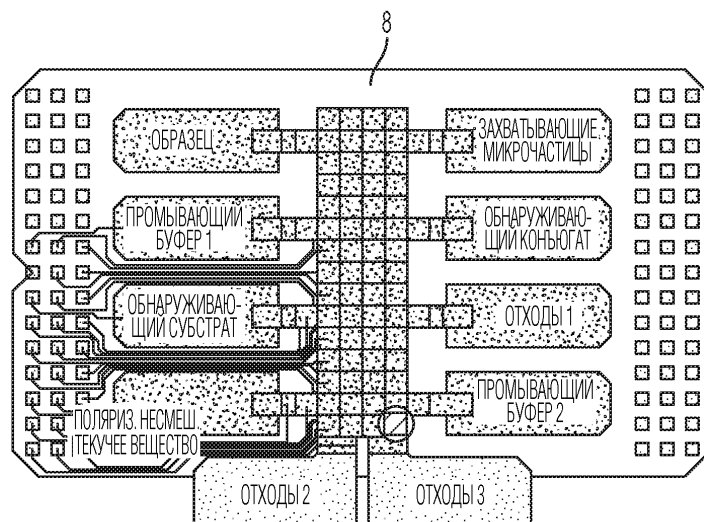


ФИГ. 27Е



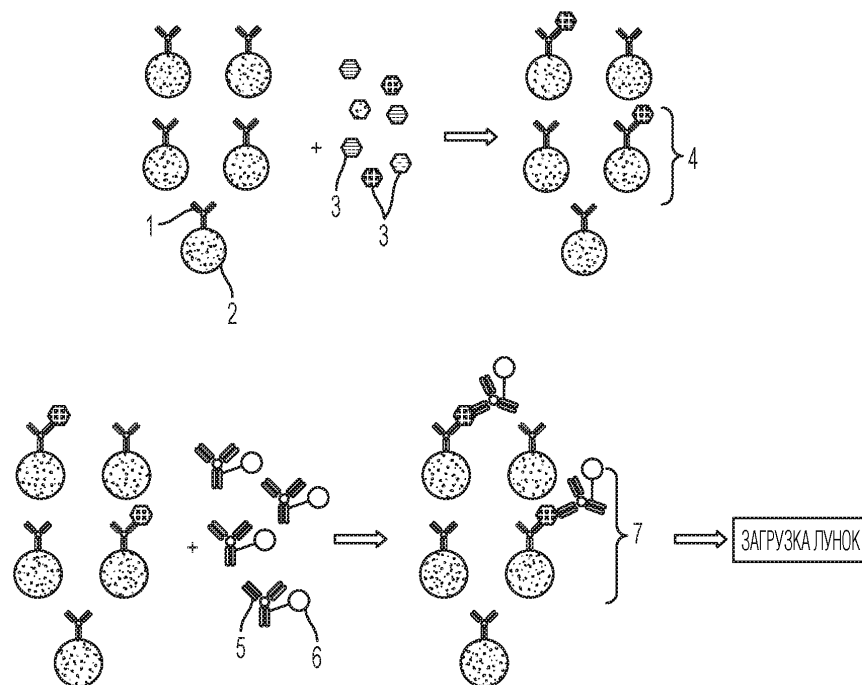
ФИГ. 27F

27/30



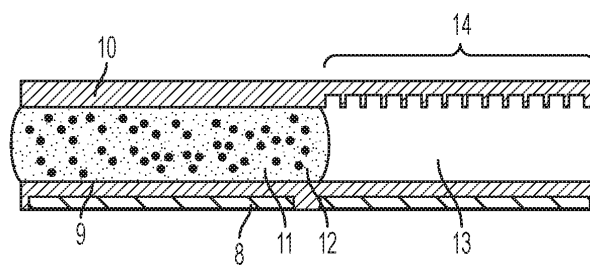
ФИГ. 27G

28/30



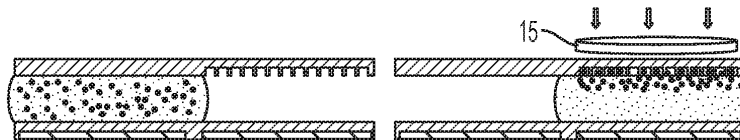
ФИГ. 28

29/30



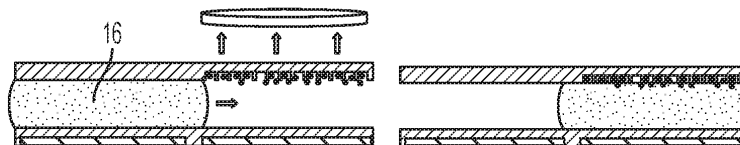
ФИГ. 29

30/30



ФИГ. 30А

ФИГ. 30В



ФИГ. 30С

ФИГ. 30D