



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011139195/13, 21.01.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.01.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

24.01.2010 PL P-390251;

24.01.2010 PL P-390250;

11.01.2011 PL P-393619

(43) Дата публикации заявки: 10.04.2013 Бюл. № 10

(45) Опубликовано: 10.05.2016 Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 2009235990 A1, 24.09.2009. WO
2009037361 A1, 26.03.2009. EA 008075 B1,
27.02.2007. WO 2001094635 A2, 13.12.2001.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 26.09.2011(86) Заявка РСТ:
PL 2011/050002 (21.01.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/090396 (28.07.2011)

Адрес для переписки:

190000, Санкт-Петербург, ул. Малая Морская,
15, офис 5, ВОХ-сервис 1125, ООО
"ПАТЕНТИКА"

(72) Автор(ы):

ХУРСКИЙ Кшиштоф (PL),

ГАРСТЕЦКИЙ Пётр (PL),

ИЗЫДОЖАК Марцин (PL),

ЯКЕЛА Славомир (PL),

КАМИНЬСКИЙ Томаш (PL),

КОРЧИК Пётр (PL),

МАУЛЬСКАЯ Сильвия (PL)

(73) Патентообладатель(и):

ИНСТИТУТ ХЕМИ ФИЗИЧНЕЙ

ПОЛЬСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (PL),

ПЗ КОРМЭЙ С.А. (PL)

(54) СИСТЕМА И СПОСОБ АВТОМАТИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ ЖИДКИХ СМЕСЕЙ И РАБОТЫ
С НИМИ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к системе для подачи жидкостей в микрофлюидную подсистему и к способу производства микрокапель в такой системе. Система (1) содержит микрофлюидную подсистему и подающую часть для подачи жидкостей в указанную микрофлюидную подсистему, включающую первый клапан (14, 29, 46) и первый флюидный канал (10, 25, 28) для соединения указанного первого клапана (14, 29, 46) с указанной микрофлюидной подсистемой и подачи первой жидкости, а также второй клапан

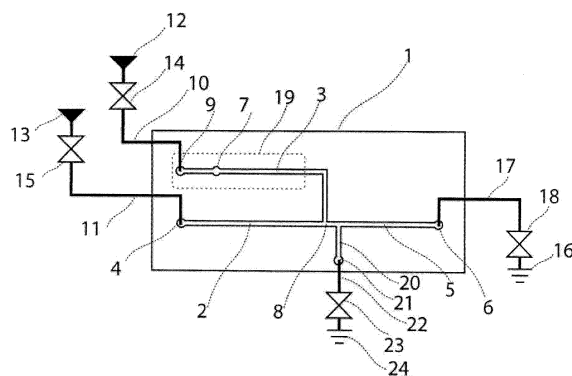
(15) и второй флюидный канал (11) для соединения указанного второго клапана (15) с указанной микрофлюидной подсистемой и подачи второй жидкости. Указанный первый клапан (14, 29, 46) и указанный второй клапан (15) выполнены с возможностью закрытия с временным разрешением не хуже 100 мс. Параметры указанных первого флюидного канала (10, 25, 28), второго флюидного канала (11), первого клапана (14, 29, 46) и второго клапана (15) выбраны таким образом, что

выполняются следующие условия. Гидравлическое сопротивление R_{out} указанного первого флюидного канала (10, 25, 28) или указанного второго флюидного канала (11) по меньшей мере в 10 раз выше, предпочтительно по меньшей мере в 100 раз выше, чем гидравлическое сопротивление R_{in} ввода указанного первого клапана (14, 29, 46) или второго клапана (15) соответственно, а

$$\begin{aligned} & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^4 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ \text{предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^3 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ \text{более предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^2 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ \text{наиболее предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1}, \end{aligned}$$

где индекс $i=1/2$ относится к первому/второму флюидному каналу, и где E_i - модуль Юнга материала, из которого изготовлен

соответствующий флюидный канал, L_i - длина соответствующего флюидного канала, A_i - площадь просвета соответствующего флюидного канала и σ_{R_i} - постоянная, характеризующая геометрию соответствующего флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_i флюидного канала $R_i = \sigma_{R_i} (L_i \mu / A_i^2)$, где μ - коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей соответствующий флюидный канал при измерениях R_i . Система обеспечивает автоматическое образование микрокапель и проведение реакций в микрокаплях, предполагающих меньший объем реакционных смесей и погрешность и спорность, аналогичную или лучшую, чем в автоматических микротитровальных системах или системах биохимического анализа крови. 2 н. и 31 з.п. ф-лы, 16 ил., 5 пр., 1 табл.



Фиг. 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2011139195/13, 21.01.2011**(24) Effective date for property rights:
21.01.2011

Priority:

(30) Convention priority:
24.01.2010 PL P-390251;
24.01.2010 PL P-390250;
11.01.2011 PL P-393619(43) Application published: **10.04.2013** Bull. № 10(45) Date of publication: **10.05.2016** Bull. № 13(85) Commencement of national phase: **26.09.2011**(86) PCT application:
PL 2011/050002 (21.01.2011)(87) PCT publication:
WO 2011/090396 (28.07.2011)Mail address:
190000, Sankt-Peterburg, ul. Malaja Morskaja, 15,
ofis 5, VOKH-servis 1125, OOO "PATENTIKA"

(72) Inventor(s):

KHURSKIY Kshishtof (PL),
GARSTETSKIY Petr (PL),
IZYDOZHAK Martsin (PL),
JAKELA Slavomir (PL),
KAMINSKIY Tomash (PL),
KORCHIK Petr (PL),
MAULSKAJA Silvija (PL)

(73) Proprietor(s):

INSTITUT KHEMI FIZICHNEJ POLSKOJ
AKADEMII NAUK (PL),
PZ KORMEJ S.A. (PL)(54) **SYSTEM AND METHOD FOR AUTOMATED FORMATION AND HANDLING OF LIQUID MIXTURES**

(57) Abstract:

FIELD: physics.

SUBSTANCE: group of inventions relates to a system for feeding fluids into microfluidic subsystem and a method of producing microdroplets in such a system. The system (1) comprises a microfluidic subsystem and a supply part for feeding liquids into said microfluidic subsystem, comprising a first valve (14, 29, 46) and a first fluidic duct (10, 25, 28) for connecting said first valve (14, 29, 46) to said microfluidic subsystem and feeding a first liquid, as well as a second valve (15) and a second fluidic duct (11) for connecting said second valve (15) to said microfluidic supply subsystem and feeding a second liquid. Said first valve (14, 29, 46) and said second valve (15) are adapted to be closed with time resolution not worse than 100 ms. Parameters of said first fluidic duct (10, 25, 28), second fluidic duct (11), first valve (14, 29, 46) and second valve (15) are selected so that

following conditions are satisfied. Hydraulic resistance R_{out} of said first fluidic duct (10, 25, 28) or said second fluidic duct (11) at least 10 times higher, preferably at least 100 times higher than hydraulic resistance R_{in} of input of said first valve (14, 29, 46) or second valve (15), respectively, and

$$\frac{L_i^2}{A_i} < 10^4 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1}$$

Preferably

$$\frac{L_i^2}{A_i} < 10^3 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1}$$

More preferably

$$\frac{L_i^2}{A_i} < 10^2 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1}$$

Most preferably

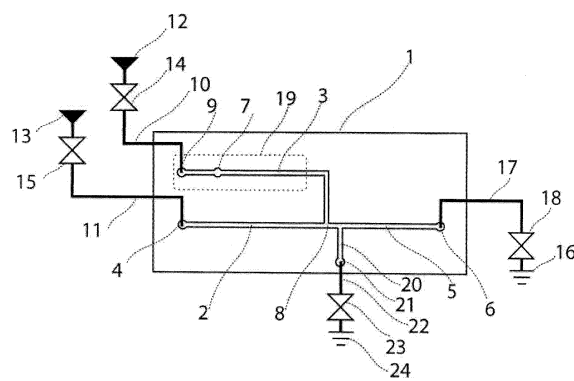
$$\frac{L_i^2}{A_i} < 10 Pa^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} Pa^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1},$$

where index $i = 1/2$ relates to first/second fluidic duct and where E_i is Young's modulus of material from which corresponding fluidic duct is made, L_i is length of respective fluidic duct, A_i is area of lumen of

corresponding fluidic duct and σ_{R_i} is a constant characterising geometry of corresponding fluidic duct in equation for hydraulic resistance R_i fluid channel $R_i = \sigma_{R_i} (L_i \mu / A_i^2)$, where μ is coefficient of dynamic viscosity of fluid filling corresponding fluidic duct when measuring R_i .

EFFECT: system provides automatic formation of microdroplets and enables to conduct reactions in microdroplets, offering smaller volume of reaction mixtures and precision and speed similar to or better than that offered by automated microtiter systems or systems for biochemical analysis of blood.

33 cl, 16 dwg, 5 ex, 1 tbl



Фиг. 1

R U 2 5 8 3 0 6 8 C 2

R U 2 5 8 3 0 6 8 C 2

Настоящее изобретение относится к системе для подачи жидкостей в микрофлюидную подсистему и к способу производства по требованию микрокапель в такой системе. В частности, настоящее изобретение относится к автоматическим системам и способам подачи жидкости в виде непрерывных потоков или для нанесения образцов жидкостей в виде серии отдельных капель, взвешенных в несмешивающейся жидкости и для измерения и переноса этих жидкостей в микрофлюидных системах. Кроме того, настоящее изобретение относится к системам и способам для образования микрокапель, содержащих жидкости из указанных непрерывных потоков или из указанных образцов жидкостей, и для смешивания этих микрокапель с целью образования смесей вводимых жидкостей внутри микрофлюидных подсистем. Настоящее изобретение также относится к микрофлюидным модулям, выполненным с возможностью использования преимуществ способа подачи жидкостей согласно настоящему изобретению. Системы, выполненные в соответствии с настоящим изобретением, могут быть использованы для осуществления одно- и многошаговых химических реакций внутри микрокапель и для измерения результата этих реакций как функции химического состава указанных микрокапель и их положения в микрофлюидных модулях. Системы, выполненные в соответствии с настоящим изобретением, предпочтительно могут быть эффективно использованы для оценки результатов химической и биохимической реакций, осуществленных на маленьких образцах растворов или биологических жидкостей. Системы, выполненные в соответствии с настоящим изобретением, также могут быть использованы для осуществления исследований в области микробиологии, эффективных в плане времени и стоимости.

Благодаря многочисленным научным статьям и патентным заявкам, относящимся к использованию микрофлюидных систем в химии, можно предсказать быстрое развитие микрожидкостных технологий. Наиболее перспективна идея использования микрокапель объемом от пиколитров до микролитров, образованных в микрометрических каналах, таких как мензурки. Как правило, микрофлюидные системы, которые осуществляют реакции внутри микрокапель, содержат множество микрофлюидных каналов, которые взаимосвязаны внутри микрофлюидного чипа и предоставляют возможность доставки по меньшей мере двух несмешиваемых жидкостей и образования микрокапель по меньшей мере одной жидкости в другой несмешиваемой жидкости. Кроме того, микрокапли могут быть перемещены в микрофлюидных каналах, смешаны, инкубированы в выбранных (постоянных или переменных) условиях и, наконец, отсортированы и извлечены из микрофлюидной системы.

Использование микрокапель в микроканалах как в микроскопических мензурках предоставляет некоторые преимущества [Х. Сонг, Д.Л. Чен, и Р.Ф. Исмаилов, Ang Chem Int Ed, 2006, 45, 7336-7536]: 1) отсутствие дисперсии времени пребывания элементов жидкости в канале, 2) эффективное и быстрое смешивание, 3) возможность регулировать кинетику реакций, 4) возможность проводить множественные реакции параллельно и 5) низкий расход реагентов. Эти особенности делают микрофлюидные микрокапельные системы потенциально ценным инструментом для химических анализов и синтезов, для биологии и микробиологии. Существующие отчеты по использованию микрокапельных микрофлюидных систем для обособления химических реакций включают патентные заявки по химическому синтезу [А. Гриффите и др., Комбинаторная химия, обособленная с помощью микрофлюидного контроля, патентная заявка США US 20060078893] и биохимическим реакциям [А. Се и др., Способ и устройство для быстрого анализа нуклеиновых кислот, патентная заявка США US 20080166720].

Одной из актуальных задач в развитии микрокапельных микрофлюидных чипов

является автоматизация, которая может позволить увеличить пропускную способность (число различных реакций, осуществляемых за единицу времени) и обеспечивает большую гибкость, в особенности индивидуальный контроль над химическим составом каждой микрокапли на экране. Задача заключается в разработке микрокапельных микрофлюидных чипов, обеспечивающих автоматическое образование микрокапель и проведение реакций в микрокаплях, предлагающих меньший объем реакционных смесей и погрешность и скорость аналогичную или лучшую чем та, которая предлагается автоматическими микротитровальными системами или автоматическими системами для биохимического анализа крови. Роботизированные микротитровальные станции работают с реагирующими объемами от микролитров и более и предлагают скорость заполнения резервуара с реагентами от доли Герца и ниже. Аналогично, роботизированные станции для биохимического анализа крови (или сыворотки крови) проводят реакции в объемах от десятков до сотен микролитров и предлагают скорости от десятков Герц и ниже. В обоих способах погрешность дозировки реагентов составляет несколько процентов (от объема) или ниже.

Разработка автоматических микрокапельных микрофлюидных чипов требует автоматизации ряда функций, в том числе образования микрокапель заданного объема и с заданным временем выброса в ответ на электронный сигнал от электронного блока управления, соединения микрокапель и смешивания их содержимого, инкубирования на заданном интервале при заданных условиях и считывания результатов реакции или инкубирования. Вероятно, первая задача заключается в разработке систем для автоматического образования микрокапель по требованию. Системы, обеспечивающие такое образование, должны содержать клапаны, которые могут точно вводить небольшие (в пределах нанолитров) объемы жидкостей. Во многих, особенно аналитических, задачах предпочтительно образование микрокапель из небольших образцов растворов реагентов, с целью уменьшения их расхода. Настоящее изобретение позволяет по требованию образовывать микрокапли из небольших образцов жидкостей. В дальнейшем термин "капля" будет относиться к образцу жидкости, вводимому в чип для последующего образования "микрокапель" из этого образца, причем указанные микрокапли имеют объем от 1 пкл до 100 мкл.

В литературе имеются несколько примеров образования микрокапель по требованию в микрофлюидных чипах. М.Унгер и др. (Science 288, 2000, 113-116) создал микроклапан, содержащий два перпендикулярных канала, находящиеся один над другим и разделенные тонкой эластичной мембраной. Приложение давления к одному из каналов изгибает мембрану и закрывает просвет второго канала. Это решение очень популярно в микрофлюидных способах и его модификации используются для внутреннего образования микрокапель, например, С.Халм (Lab Chip 9, 2009, 79-86), С.Цзен (Lab Chip 9, 2009, 1340-1343) или Дж.Галас (N. J. Phys 11, 2009, 075027).

В.Гровер (Sensors Actuators B 89, 2003, 315-323) описал отличный микроклапан, содержащий каналы и камеры, изготовленные из жесткого материала (как стекло), и мембрану, заключенную между жесткими основами. Чуреки (Lab Chip, 2010, 10, 512-518, польская патентная заявка Р-388565) модифицировал этот микроклапан для образования микрокапель по требованию в микрофлюидном чипе.

В приведенных выше примерах образования микрокапель по требованию внутри микрофлюидного чипа клапаны, регулирующие поток диспергируемой жидкости, встроены в чип. Изготовление встроенных микроклапанов увеличивает стоимость и время изготовления микрофлюидного чипа. Ввиду простоты использования микрофлюидных систем часто требуется или предпочтительно, чтобы микрофлюидные

чипы были одноразовыми. Подобное решение уменьшает или сводит на нет риск перекрестного загрязнения между различными реакциями. Таким образом, по экономическим причинам, будет выгодно, если микрофлюидные чипы будут по максимуму простыми. Следовательно, будет выгодно, если клапан, регулирующий

5 поток диспергируемой жидкости, будет расположен снаружи одноразового чипа. Настоящее изобретение Чуреки (Lab Chip, 2010, 10, 816-818, и неопубликованные польские патентные заявки Р-390250 и Р-390251) описывает систему с внешним клапаном, отличающуюся большим мертвым пространством, модифицированную включением капилляра большого гидравлического сопротивления. Эта система обеспечивает

10 образование микрокапель объемом от нанолитров до микролитров и позволяет избежать переполнения системы при закрытии клапана. Эти система и способ могут быть полезными в ряде применений. К примеру, эта система должна позволить образование микрокапель по требованию в большом числе из растворов, доставляемых из больших резервуаров. Также она может служить источником реагентов для, например,

15 автоматизированного процесса химического синтеза. Она также может служить как предпочтительный источник микрокапель раствора, используемого в большом числе различных аналитических экспериментов, в которых один (или более) распространенный раствор доставляется посредством клапана из большого резервуара, чтобы избежать необходимости пополнения микрофлюидных модулей этим раствором.

20 Система, представленная Чуреки (Lab Chip, 2010, 10, 816-818, и неопубликованные польские патентные заявки Р-390250 и Р-390251) и способ, требующие протекания диспергируемой жидкости через клапан, однако, не являются полезными в ряде применений, которые касаются небольших образцов жидкостей, таких как химический анализ или клиническая диагностика. Недостатки этого решения включают: 1) контакт

25 между раствором и клапаном, который делает смену раствора и промывку системы затруднительной и обуславливает риск перекрестного загрязнения между микрокаплями и 2) большой объем раствора (порядка миллилитров), требуемый для образования микрокапель. В другом примере, международной патентной заявке РСТ/GB82/00319, описана система, использующая внешние источники потоков жидкостей для образования

30 капель внутри микрофлюидного чипа. В этой системе, контроль потока жидкостей (т.е. использование шприцевых насосов и кранов) делает невозможной образование капель с погрешностью и скоростью, благодаря которой система могла бы конкурировать с имеющимися на данный момент роботизированными станциями. В другом способе, описанном в европейской заявке ЕР 1099483 А1, клапан, ограниченный капилляром,

35 отличающимся большим гидравлическим сопротивлением, используется для выпуска точных дозированных капель в атмосферу, окружающую кончик капилляра. В этом способе, как это было разработано для нанесения капель на подложки, во внимание не принималось соответствие капилляра в ответ на изменение давления и этот способ не определяет важных параметров при использовании подобных клапанов для

40 дозирования жидкостей в микрофлюидные чипы.

Предпочтительное решение должно обеспечивать размещение небольших образцов жидкостей в микрофлюидном чипе, или, если говорить в общем, в гидравлической субъединице, которая может быть гидравлически соединена с микрофлюидным чипом для образования микрокапель из этих образцов жидкостей, для соединения микрокапель,

45 создания реакционных смесей и для осуществления химических или биохимических реакций в смесях. В такой системе потоки образцов жидкостей в процессе образования микрокапель должны регулироваться потоком несмешиваемой жидкости-носителя. Аспирация образцов жидкостей в микрофлюидные системы и образование микрокапель

из этих образцов является одной из текущих задач в области микрофлюидики.

К примеру, Дж.Клоселл-Тормос (Lab Chip, 2010, 10, 1302-1307) представил систему для автоматической аспирации образцов с использованием многоканального клапана, обычно используемого в хроматографии. Образцы жидкости аспирировались из пластины резервуара в трубки, заполненные несмешиваемой непрерывной жидкостью. В. Триведи (Lab Chip, 2010, 10, 2433-2442) использовал соединение, фокусирующее потоки, для образования микрокапель из жидкости, находящейся в трубке. Ду (Lab Chip, 2009, 9, 2286-2292) создал систему, названную SlipChip, которая позволяет располагать капли в чипе посредством скольжения одной микрофлюидной пластины о другую микрофлюидную пластину. Чен (PNAS, 2008, vol. 105, 44, 16843-16848) представил систему, названную Chemistride, которая позволяет аспирировать образцы жидкостей в капли, обходя особые точки (например, при культуре клеток). Лиу (Lab on a Chip, 2009, 9, 2153-2162) модифицировал систему для аспирации небольших объемов. Сун (Lab Chip, 2010, 10, 2864-2868) представил автоматическую систему для аспирации образцов жидкости из трубок Эппендорф. Во всех способах аспирации образцов жидкости важно избежать попадания пузырьков газа в микрофлюидную систему.

На данный момент не существует системы или способа простого размещения небольших образцов жидкостей в микрофлюидной системе для последующего образования микрокапель по требованию из жидкости, содержащейся в этих образцах. Решение, представленное в настоящей заявке, обеспечивает такое простое размещение и последующее автоматическое образование микрокапель. Решение, являющееся объектом настоящего изобретения, обеспечивает введение образцов жидкостей в микрофлюидный чип различными способами и из различных источников, включающих трубку с образцами, диспергированными в несмешиваемой жидкости-носителе, ввод через пипетку или же напрямую в резервуар, выполненный в микрофлюидной системе.

Другое предпочтительное отличие настоящего изобретения - это модульность, которую оно предлагает. Микрофлюидные системы и подсистемы, изготовленные и снабженные жидкостями в соответствии с настоящим изобретением, могут рассматриваться как модули, которые могут быть гидравлически соединены при помощи трубок или стандартных гидравлических соединений. На сегодняшний день не существует решений модульных микрофлюидных систем для автоматического образования и обращения с микрокаплями, обеспечивающих индивидуальный контроль микрокапель. П.К.Йен и др. (Lab Chip, 2008, 8, 1374-1378, Lab Chip, 2009, 9, 3303-3305) представил модульную систему под названием SmartBuild Plug-n-Play Modular Microfluidic System, обеспечивающую соединение, разъединение и смешивание однофазных потоков. Система основывается на использовании платформы, с помощью которой модули могут быть соединены по принципу, аналогичному принципу в системах LEGO. Г.В.Кайгала и др. (Analyst, 2010, 135, 1606-1617) показал модульную систему для полимеразной цепной реакции. В.Триведи (Lab Chip, 2010, 10, 2433-2442) показал модульную систему для образования, соединения и спектрофотометрического распознавания капель, однако эта система не обеспечивает индивидуальный контроль химического состава и типа и интервала инкубирования.

Изобретатели настоящего изобретения неожиданно заметили, что существует возможность создать микрофлюидную систему, обеспечивающую размещение небольших образцов жидкостей, разделенных несмешиваемой жидкостью-носителем таким образом, чтобы избежать попадания пузырьков газа (например, воздуха). Микрофлюидная система, обеспечивающая подобное размещение, содержит дополнительный вход для ввода образцов из трубки или пипетки. Изобретатели также

обнаружили, что возможно создать систему, обеспечивающую аспирацию образца жидкости, окруженного несмешиваемой жидкостью-носителем, из изготовленного резервуара посредством приложения отрицательного давления к выходу микрофлюидной системы.

5 Настоящее изобретение, как подробно описано ниже, включает в себя также правила выбора подходящих материалов, из которых могут быть изготовлены гидравлические каналы, соединяющие клапаны с микрофлюидными чипами. Правильный выбор канала обуславливается требованиями для наименьшего времени, необходимого для запуска потока в канале, и гидравлической податливости канала, и основывается на геометрии
10 этих каналов и упругих свойствах (т.е. коэффициенте Пуассона и модуле Юнга) стенок каналов.

Похожим образом, неожиданно, изобретатели обнаружили, что существует возможность образовывать микрокапли объемом от нескольких нанолитров до нескольких микролитров с хорошей погрешностью в системах, в которых жидкости
15 подаются с помощью клапанов с существенно большим мертвым пространством (т.е. объемом, выбрасываемым из клапана до его закрытия).

Изобретатели обнаружили, что возможна реализация автоматических протоколов, содержащих шаги образования микрокапель по требованию из образцов, расположенных в чипе, и соединения этих микрокапель в реакционные смеси.
20 Неожиданно, система, выполненная в соответствии с настоящим изобретением, позволила соединение микрокапель существенно разных объемов (например, микрокапель объемом несколько нанолитров с микрокаплями объемом несколько микролитров), при помощи автоматической синхронизации притока этих микрокапель в микрофлюидное соединение. Способ согласно настоящему изобретению позволяет
25 синхронизировать поток микрокапель либо посредством подходящего выбора времени их выброса, либо при помощи дополнительного отклика датчиков расположения микрокапель электронному блоку управления.

Кроме того, было неожиданно обнаружено, что система, выполненная в соответствии с настоящим изобретением, позволяет регулировать время инкубирования реакционных
30 и инкубационных смесей на большом временном интервале, от долей секунды до часов. Кроме того, система, выполненная в соответствии с настоящим изобретением, обеспечивает осуществление последовательных измерений (например, спектрофотометрических) на отдельных микрокаплях, последовательно на подгруппе микрокапель, или же последовательно на всех микрокаплях в реакционных или
35 инкубационных смесях. Последовательности измерений, осуществляемых на отдельных микрокаплях, позволяют отслеживать интенсивности процессов, происходящих внутри микрокапель.

Система согласно настоящему изобретению, содержит микрофлюидную подсистему и подающую часть для подачи жидкостей в указанную микрофлюидную систему, при
40 этом подающая часть содержит первый клапан и первый флюидный канал для соединения указанного первого клапана с указанной микрофлюидной системой и подачи первой жидкости, и второй флюидный канал для соединения с указанной микрофлюидной системой и подачи второй жидкости, и отличается тем, что указанный первый клапан выполнен с возможностью закрытия с временным разрешением не хуже
45 100 мс, и параметры указанного первого флюидного канала выбраны таким образом, что величина X_1 [Па⁻¹], определяемая как

$$X_1 [\text{Pa}^{-1}] = (0.5 \cdot 10^{-9} + 1/E_1) (\alpha_{R1} L_1^2 / A_1)$$

меньше чем 10^4 Па^{-1} ,

где E_1 - модуль Юнга материала, из которого изготовлен указанный первый флюидный канал, L_1 - длина указанного первого флюидного канала, A_1 - площадь просвета указанного первого флюидного канала и σ_{R1} - постоянная, характеризующая геометрию указанного первого флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_1 указанного первого флюидного канала:

$$R_1 = \alpha_{R1} (L_1 \mu / A_1^2)$$

где μ - коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей указанный первый флюидный канал (10, 25, 28) при измерениях R_1 .

Предпочтительно, указанная подающая часть дополнительно содержит второй клапан для закрытия потока в указанном втором флюидном канале, при этом указанный второй клапан выполнен с возможностью закрытия с временным разрешением не хуже 100 мс, и параметры указанного второго флюидного канала выбраны таким образом, что величина $X_2 [\text{Па}^{-1}]$, определяемая как

$$X_2 [\text{Па}^{-1}] = (0.5 \cdot 10^{-9} + 1/E_2) (\alpha_{R2} L_2^2 / A_2)$$

меньше чем 10^4 Па^{-1} ,

где E_2 - модуль Юнга материала, из которого изготовлен указанный второй флюидный канал,

L_2 - длина указанного второго флюидного канала,

A_2 - площадь просвета указанного второго флюидного канала и

σ_{R2} - постоянная, характеризующая геометрию указанного второго флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_2 указанного второго флюидного канала:

$$R_2 = \alpha_{R2} (L_2 \mu / A_2^2)$$

где μ обозначает коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей указанный второй флюидный канал при измерении R_2 .

В предпочтительной реализации, величина $X_1 [\text{Па}^{-1}]$ или величина $X_2 [\text{Па}^{-1}]$ меньше чем 10^3 Па^{-1} , предпочтительно, меньше чем 10^2 Па^{-1} , еще более предпочтительно, меньше чем 10 Па^{-1} .

Предпочтительно, гидравлическая податливость C_{s1} связанная с упругостью указанного первого флюидного канала, или гидравлическая податливость C_{s2} , связанная с упругостью второго флюидного канала, не больше чем $10^{-16} \text{ м}^3/\text{Па}$, предпочтительно не больше чем $10^{-18} \text{ м}^3/\text{Па}$, еще более предпочтительно не больше чем $10^{-20} \text{ м}^3/\text{Па}$.

В предпочтительной реализации гидравлическое сопротивление R_{out} указанного первого флюидного канала или указанного второго флюидного канала больше, чем гидравлическое сопротивление R_{in} входа указанного первого клапана или второго клапана соответственно, предпочтительно больше в 10 раз, еще более предпочтительно больше в 100 раз.

В другой предпочтительной реализации гидравлическое сопротивление R_{out} указанного первого флюидного канала или второго флюидного канала больше, чем

гидравлическое сопротивление указанной микрофлюидной подсистемы, предпочтительно больше в 10 раз, еще более предпочтительно больше в 100 раз.

Предпочтительно, указанный первый флюидный канал или указанный второй флюидный канал изготовлен из материала, модуль Юнга которого больше чем 0,5 ГПа, предпочтительно, больше чем 10 ГПа, еще более предпочтительно, больше чем 100 ГПа, такого как металл, сталь, керамика, стекло или твердые полимеры.

Предпочтительно, по меньшей мере один из указанных клапанов выполнен с возможностью закрытия с временным разрешением не хуже, чем 10 мс.

Предпочтительно, по меньшей мере один из указанных клапанов является пьезоэлектрическим клапаном, мембранным клапаном или микроклапаном.

В предпочтительной реализации, система согласно настоящему изобретению, дополнительно содержит электрический регулятор по меньшей мере одного из указанных клапанов.

Система согласно настоящему изобретению предпочтительно содержит установку, выполненную с возможностью подачи в указанную микрофлюидную подсистему последовательности капель третьей жидкости, несмешиваемой с указанной первой жидкостью и указанной второй жидкостью, при этом указанная установка содержит вход для капель указанной третьей жидкости, соединенный с резервуаром низкого давления или разрежением таким образом, что открытие указанного клапана вызывает втягивание указанных капель указанной третьей жидкости из указанного входа в систему.

В другой предпочтительной реализации, система согласно настоящему изобретению, содержит установку для подачи в указанную микрофлюидную подсистему последовательности капель третьей жидкости, несмешиваемой с указанной первой жидкостью и второй жидкостью, взвешенной в указанной первой жидкости или указанной второй жидкости, содержащую вход для соединения с источником указанной последовательности капель указанной третьей жидкости.

Предпочтительно, указанный источник указанной последовательности капель является флюидным каналом или пипеткой.

Преимущество решения, в котором капли третьей жидкости втягиваются или подаются в систему, заключается в том, что оно позволяет значительно сократить объем жидкости, необходимый для проведения экспериментов. В случае подачи непрерывной жидкости, необходимо заполнить флюидные каналы этой жидкостью до точки, в которой происходит химическая реакция. Смена реагентов (в частности, третьей жидкости) требует очистки или промывки флюидных каналов. Если третья жидкость подается в систему в виде капель, которые перемещаются внутри системы за счет перемещения указанной первой или второй жидкости, такой необходимости нет. Это приводит к существенной экономии третьей жидкости (например, для проведения эксперимента необходимо несколько мкл вместо нескольких мл третьей жидкости), а также заметно улучшает производительность экспериментальной системы (возможно быстрое проведение последовательности экспериментов над различными жидкостями). Предпочтительно, система согласно настоящему изобретению содержит соединение указанного первого флюидного канала и указанного второго флюидного канала и дополнительно содержит клапан, соединенный через ввод с третьим флюидным каналом, идущим от указанного соединения до ввода, при этом указанный клапан соединен с резервуаром низкого давления или разрежением, так что открытие указанного клапана уменьшает гидравлическое сопротивление по меньшей мере в части указанного третьего флюидного канала.

Предпочтительно, система согласно настоящему изобретению дополнительно содержит по меньшей мере один датчик потока во флюидном канале, предпочтительно, фотодатчик, связанный с указанным электрическим регулятором, так что указанный клапан может быть открыт или закрыт в соответствии с сигналами от указанного датчика.

Предпочтительно, указанный датчик расположен и выполнен с возможностью распознавания и передачи указанному электрическому регулятору сигнала после такого распознавания о приближении головной части одной из указанных капель к указанному соединению указанного первого флюидного канала и указанного второго флюидного канала.

Предпочтительно, система согласно настоящему изобретению дополнительно включает по меньшей мере два дополнительных клапана, при этом первый из указанных клапанов соединен с источником давления выше, второго из указанных клапанов, соединенные с одной частью флюидного канала, так что открытие обоих указанных клапанов вызывает поток жидкости в указанной части флюидного канала в направлении от первого из указанных клапанов ко второму из указанных клапанов, и закрытие обоих указанных клапанов вызывает остановку потока жидкости в указанной части флюидного канала.

В наиболее предпочтительном варианте реализации, система согласно настоящему изобретению содержит две пары клапанов, при этом в каждой паре первый из указанных клапанов соединен с источником давления выше, второго из указанных клапанов, и указанные пары соединены с одной частью флюидного канала, так что открытие обоих клапанов в указанной первой паре при закрытии обоих клапанов в указанной второй паре вызывает поток жидкости в указанной части флюидного канала в одном направлении, и открытие обоих клапанов в указанной второй паре при закрытии обоих клапанов в указанной первой паре вызывает поток жидкости в указанной части флюидного канала в противоположном направлении.

Предпочтительно, указанная микрофлюидная подсистема содержит меандрическую часть флюидного канала для смешивания жидкостей.

Предпочтительно, система согласно настоящему изобретению содержит модуль для распознавания, предпочтительно спектрофотометрического распознавания, содержащий средства доставки пучка излучения во флюидный канал с жидкостью, предпочтительно, волновод, и датчик излучения, проходящего через указанную жидкость.

Предпочтительно выполнение указанной микрофлюидной подсистемы одноразовой.

Также предпочтительно, чтобы указанная подсистема содержала две или более соединяемые с возможностью разъединения части.

В другой предпочтительной реализации, указанный первый клапан, указанный второй клапан, указанный первый флюидный канал или указанный второй флюидный канал встроен в указанную микрофлюидную подсистему.

Настоящее изобретение также относится к способу производства микрокапель по требованию в системе, содержащей первый флюидный канал и второй флюидный канал, которые образуют соединение, при этом указанный способ содержит этапы:

- подачи первой жидкости в указанную микрофлюидную подсистему через первый клапан и первый флюидный канал,
- подачи второй жидкости в указанную микрофлюидную подсистему через второй флюидный канал

и отличается тем, что поток указанной первой жидкости регулируется таким образом, чтобы образовывать указанные микрокапли в указанном соединении первого и второго

флюидного канала.

Предпочтительно, параметры указанного первого флюидного канала (10, 15, 28) выбираются так, чтобы величина X_1 [Па^{-1}], определяемая как

$$X_1 [\text{Па}^{-1}] = (0,5 \cdot 10^{-9} + 1/E_1) (\alpha_{R1} L_1^2 / A_1)$$

была меньше 10^4 Па^{-1} ,

где E_1 - модуль Юнга материала, из которого изготовлен указанный первый флюидный канал, L_1 - длина указанного первого флюидного канала, A_1 - площадь просвета указанного первого флюидного канала и σ_{R1} - постоянная, характеризующая геометрию указанного первого флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_1 указанного первого флюидного канала:

$$R_1 = \sigma_{R1} (L_1 \mu / A_1^2)$$

где μ обозначает коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей указанный первый флюидный канал при измерениях R_1 .

Предпочтительно, предложенный способ содержит этап подачи второй жидкости в указанную микрофлюидную подсистему через второй клапан и второй флюидный канал, при этом параметры указанного второго флюидного канала выбираются так, что величина X_2 [Па^{-1}], определяемая как

$$X_2 [\text{Па}^{-1}] = (0,5 \cdot 10^{-9} + 1/E_2) (\alpha_{R2} L_2^2 / A_2)$$

меньше чем 10^4 Па^{-1} ,

где E_2 - модуль Юнга материала, из которого изготовлен указанный второй флюидный канал, L_2 - длина указанного второго флюидного канала, A_2 - площадь просвета указанного второго флюидного канала и σ_{R2} - постоянная, характеризующая геометрию указанного второго флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_2 указанного второго флюидного канала:

$$R_2 = \sigma_{R2} (L_2 \mu / A_2^2)$$

где μ обозначает коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей указанный второй флюидный канал при измерениях R_2 .

Предпочтительно, в способе согласно настоящему изобретению поток указанной второй жидкости регулируется таким образом, чтобы образовывать указанные микрокапли в указанном соединении первого и второго флюидного канала.

Предпочтительно, указанная вторая жидкость является непрерывной жидкостью и смачивает стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме.

В одной предпочтительной реализации, указанная первая жидкость не смачивает стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме и не смешивается с указанной второй жидкостью.

В этом случае, указанные микрокапли по требованию образуются в соответствии с потоком указанной первой и второй жидкости через соединение флюидных каналов, по которым протекают указанные жидкости.

В другой предпочтительной реализации, указанная первая жидкость является непрерывной жидкостью и смачивает стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме, и указанный способ дополнительно содержит этап подачи в систему третьей жидкости, не смачивающей стенки микроканалов в указанной микрофлюидной системе

и несмешиваемой с указанной первой жидкостью и указанной второй жидкостью.

Предпочтительно, указанная третья жидкость подается в виде капель через вход, ведущий во флюидный канал, и после перемещения капель во флюидный канал выпуск флюидного канала закрывается, и впуск флюидного канала открывается с целью
5 наполнения входа непрерывной жидкостью.

Особенно предпочтительно, способ согласно настоящему изобретению, содержит этап подачи в систему последовательности капель указанной третьей жидкости, распределенных в указанной первой или второй жидкости.

В этом случае, указанные микрокапли по требованию образуются в соответствии с
10 потоком указанной третьей жидкости и указанной первой или второй жидкости через соединение флюидных каналов, через которое указанные жидкости протекают.

В предпочтительной реализации, указанная первая жидкость и указанная вторая жидкость являются одной и той же жидкостью.

Предпочтительно, в способе согласно настоящему изобретению поток указанной
15 первой жидкости, указанной второй жидкости и также, в некоторых случаях указанной третьей жидкости регулируется при помощи открытия и закрытия указанного первого и второго клапана.

В этом случае, предпочтительно, моменты открытия и закрытия указанного первого и второго клапана синхронизированы.

В одной предпочтительной реализации, начала и концы временных интервалов, когда указанный первый клапан открыт, сдвинуты по отношению к началам и концам временных интервалов, когда указанный второй клапан закрыт.

В другой предпочтительной реализации, указанный второй клапан закрыт, когда указанный первый клапан открыт, и указанный второй клапан открыт, когда указанный
25 первый клапан закрыт.

Предпочтительно, в способе согласно настоящему изобретению временные сдвиги между руководящими импульсами, посылаемыми указанному первому и второму клапану с целью их открытия или закрытия, выбраны так, чтобы компенсировать или использовать электромеханическую инерцию указанных клапанов, так что временные
30 интервалы открытия или закрытия указанных клапанов синхронизированы.

В одной предпочтительной реализации, указанные руководящие импульсы являются прямоугольными импульсами.

В наиболее предпочтительном варианте реализации, предложенный способ кроме того содержит этап изготовления реакционных смесей, имеющих требуемые
35 концентрации реагентов, произведенные соединением указанных микрокапель реагентов, образованных по требованию, при этом указанные микрокапли имеют требуемые объемы.

Такие микрокапли, образованные по требованию, имеют объемы от 0,01 нл до 100 мкл.

40 Осуществление изобретения

Ниже мы опишем предпочтительные иллюстративные реализации настоящего изобретения со ссылками на следующие фигуры чертежей:

Фиг.1 показывает схему микрофлюидной системы для образования микрокапель, выполненную в соответствии с настоящим изобретением,

45 Фиг.2 показывает схематическое изображение разреза части микрофлюидной системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, содержащей вход для введения образцов жидкости,

Фиг.3 показывает схематическое изображение поперечного сечения части

микрофлюидной системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, содержащей вход, позволяющий вводить образцы жидкостей из трубки.

Фиг.4 показывает схематическое изображение поперечного разреза части микрофлюидной системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, содержащей вход и резервуар для введения образцов жидкостей.

Фиг.5 представляет собой схематическую диаграмму микрофлюидной системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, для образования микрокапель с заданным временем выброса и заданного объема из образцов жидкостей, ранее размещенных в указанной системе.

Фиг.6 схематически показывает последовательность сигналов, управляющих клапанами в системе, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, на протяжении процесса образования микрокапель при помощи контроля обеих несмешиваемых фаз.

Фиг.7 иллюстрирует графики объема микрокапель, образованных в системе, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, как функции от интервала, на котором клапан, регулирующий капельную жидкость, открыт, и сравнивает производительность системы, содержащей стальные капилляры с производительностью системы, содержащей силиконовые капилляры.

Фиг.8 показывает схематическую диаграмму системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, которая может быть использована для образования микрокапель из двух различных образцов жидкостей и соединения этих микрокапель.

Фиг.9 показывает схематическую диаграмму системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, которая может быть использована для осуществления двух стадий добавлений реагентов и наблюдения результата реакций внутри микрокапель.

Фиг.10 показывает схематическую диаграмму системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, обеспечивающей проход последовательности микрокапель через окно датчика и остановку любой из микрокапель в указанном окне.

Фиг.11 показывает схематическую диаграмму системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, которая может использоваться для осуществления множественных измерений над любой из микрокапель в последовательности микрокапель, проходящей вперед и назад через окно датчика.

Фиг.12 иллюстрирует графики зависимости объема микрокапель и стандартные отклонения объема этих микрокапель, образованных из жидкости, поданной из большого резервуара через клапан на частоте 100 Гц в показанном варианте реализации настоящего изобретения.

Фиг.13 иллюстрирует графики объема микрокапель и стандартные отклонения объема этих микрокапель, образованных из жидкости, поданной из большого резервуара через клапан на диапазоне частот их образования в показанном варианте реализации настоящего изобретения.

Фиг.14 иллюстрирует графики объемов микрокапель и построение линейной зависимости объема микрокапель от длины интервала, на котором открыты клапаны, регулирующие поток образцов, образованных в показанном варианте реализации настоящего изобретения, согласно которому микрокапли образуются из небольших образцов жидкости, размещенных на микрофлюидном чипе.

Фиг.15 схематически показывает системы для синхронного образования по требованию групп микрокапель из трех различных химических соединений и последующее соединение этих групп в смеси, а также график, отображающий концентрацию двух иллюстративных ингредиентов реакционных смесей.

Фиг.16 показывает схематическую иллюстрацию системы, выполненной в соответствии с настоящим изобретением, для определения кинетики химических реакций.

В настоящем изобретении микрокапли образованы в микрофлюидных системах, которые включают по меньшей мере два связанных канала для перемещения жидкостей.

5 В не ограничивающих примерах каналы имеют ширину и высоту в диапазоне от десятков микрометров, сотен микрометров до нескольких миллиметров.

В показанном варианте реализации настоящего изобретения, микрокапли образуются внутри микрофлюидного чипа 1. Чип 1 содержит канал 2, который направляет непрерывную жидкость, смачивающую стенки микрофлюидных каналов, и канал 3, который связан с каналом 2 и который направляет либо поток диспергируемой жидкости, несмешиваемой с непрерывной жидкостью и несмачивающей стенки микрофлюидных каналов, либо взвесь образцов несмачивающей жидкости, несмешиваемой со смачивающей, непрерывной жидкостью, взвешенной в указанной непрерывной жидкости.

15 Непрерывная жидкость вводится в чип посредством входа 4, в то время как микрокапли, образованные в системе, проходят через выходной канал 5 в выход 6.

В одном варианте системы и способа чип 1 не содержит дополнительного ввода 7 и жидкость, диспергируемая в микрокапли, доставляется из источника 12 через клапан 14 и флюидный канал 10 через ввод 9 и канал 3 к соединению 8. Во втором варианте системы и способа жидкость, диспергируемая в микрокапли, размещается в виде небольших образцов в чипе посредством ввода 7. После ввода образцов жидкости посредством ввода 7, этот ввод закрывается и образцы жидкости проталкиваются в соединение 8 при помощи потока непрерывной жидкости, введенной в систему из своего источника 12 посредством клапана 14, флюидного канала 10 и ввода 9.

25 Микрофлюидные чипы, пригодные для модулей в системах согласно настоящему изобретению могут быть изготовлены из различных материалов, отличающихся широким спектром упругих констант. В неограничивающих примерах чипы могут быть изготовлены из полидиметилсилоксана (ПДМС) или из поликарбоната (ПК).

Предпочтительно, жидкости подаются в микрофлюидные системы таким образом, что возможно регулировать впуск этих жидкостей в микрофлюидные системы с помощью электрических сигналов. В предпочтительной реализации настоящего изобретения, жидкости подаются в микрофлюидные чипы посредством флюидных каналов 10 и 11, которые направляют жидкости с постоянной скоростью потока от емкостей 12 и 13, находящихся под давлением. В предпочтительной реализации настоящего изобретения, электронно регулируемые клапаны 14 и 15 расположены на флюидных каналах между емкостями 12 и 13, находящимися под давлением, и капиллярами 10 и 11 соответственно. Предпочтительно, но не обязательно, выход микрофлюидной системы может быть соединен с атмосферным давлением 16 посредством флюидного соединения 17 и электронно регулируемого клапана 18.

40 Предпочтительно, жидкости, доставляемые во вводы 9 и 4, доставляются таким образом, что скорость потока является практически постоянной во времени на протяжении интервалов, на которых поток этих жидкостей активен. В предпочтительной реализации настоящего изобретения входы клапанов 14 и 15 соединены с резервуарами с жидкостями, находящимися под постоянным давлением, которое больше, чем давление в микрофлюидной системе 1. Кроме того, в такой предпочтительной реализации настоящего изобретения, выходы клапанов 14 и 15 соединены с флюидными каналами 10 и 11 и отличаются большим гидравлическим сопротивлением.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения объем микрокапель,

образуемых по требованию, регулируется длиной интервала t_{open} , на протяжении которого клапан 14, регулирующий поток жидкости, диспергируемой в микрокапли, является открытым.

В соответствии с настоящим изобретением, использование системы 1 для образования микрокапель с точным контролем над объемами этих микрокапель, имеющими типичную величину от нескольких нанолитров до нескольких микролитров, на частотах в диапазоне от долей Герц до сотен Герц требует подходящего выбора размеров флюидных каналов 10 и 11 и материалов, из которых эти каналы изготовлены.

Для правильного выбора размеров и типа флюидных каналов 10 и 11 для образования микрокапель наименьшего объема V_{min} погрешностью до ΔV и на частоте f , следует принять во внимание следующие критерии:

(1) Наименьший интервал, необходимый для активации потоков жидкостей в каналах 10 и 11

(2) Отношение гидравлических сопротивлений каналов 10 и 11 к 1) гидравлическому сопротивлению входов клапанов 14 и 15 и 2) гидравлическое сопротивление микрофлюидного чипа 1, и

(3) Гидравлические податливости каналов 10 и 11.

Любая жидкость, заполняющая канал (например, канал 10) обладает инерцией. Запуск потока такой жидкости в таком канале требует конечного времени, которое может быть вычислено из следующего соотношения:

$$t = r^2 / (\gamma_1^2 \nu)$$

где r - радиус просвета канала, $\gamma_1=2,4048$ - первый корень функции Бесселя первого рода, и ν это коэффициент кинематической вязкости жидкости. Для каналов не круговой, но компактной формы (например, прямоугольной с отношением ширины к высоте больше $\frac{1}{2}$ и меньше 2) поперечного сечения, в качестве приближения может быть использовано то же уравнение.

Для образования микрокапель на частоте f требуется, чтобы t имела меньшее значение, чем значение $1/f$ и, предпочтительно, чтобы t имела значение, намного меньшее, чем значение $1/f$. Это следует из того, что предпочтительные реализации настоящего изобретения содержат флюидные каналы, отличающиеся как можно меньшими поперечными сечениями. Это уравнение также предполагает, что жидкости большей вязкости, заполняющие канал, будут давать большее время релаксации, т.е. предпочтителен способ, согласно которому для контроля потока водных растворов низкой вязкости используется масло, идущее через клапан и канал.

К примеру, для флюидного канала, имеющего внутренний диаметр 1 мм, и для воды, заполняющей этот канал, время инерции $t=43,2$ мс ограничивает эффективную частоту образования микрокапель несколькими Герцами. В одной иллюстративной и предпочтительной реализации настоящего изобретения внутренний диаметр канала 10 может быть равным 200 мкм и давать время инерции для воды $t=1,73$ мс, которое позволяет системе образовывать микрокапли на частотах, равных десяткам Герц. В другой предпочтительной реализации настоящего изобретения диаметр канала 10 может быть равен 50 мкм и давать время инерции для воды $t=0,11$ мс, позволяя системе образовывать микрокапли на частотах, равных сотням Герц.

В предпочтительных реализациях настоящего изобретения клапан (например, клапан 14) может включать клапан, отличающийся большим мертвым пространством, т.е. отличающимся объемом, равным микролитрам или миллилитрам, выходящим через

выход клапана при срабатывании части клапана, закрывающей его. Чтобы избежать проникновения этого указанного мертвого пространства в микрофлюидный чип, гидравлическое сопротивление R_{out} канала 10, соединяющего клапан 14 с микрофлюидным чипом 1, должно быть намного больше, чем гидравлическое сопротивление R_{in} флюидного соединения между клапаном 14 и емкостью, в которой находится жидкость под давлением p_{valve} . В последующем описании мы предполагаем, что $R_{out}/R_{in} > 100$.

Гидравлическое сопротивление любого канала с постоянным поперечным сечением (т.е. поперечным сечением, не меняющимся по всей длине канала) может быть выражено как:

$$R = (\alpha_R L / A^2) \mu$$

где L - длина канала, A - площадь просвета канала, α_R - постоянная, зависящая от геометрии просвета и μ - это коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей канал. Величина α_R не зависит от параметров жидкости, заполняющей канал и специалистам известно, что, например, для круговой трубы $\alpha_R = 8\pi$. Значения для других поперечных сечений можно найти, например, в (Mortensen et al., Phys. Rev. E 71, 057301 (2005)).

В простом случае, когда оба флюидных соединения, идущих вверх и вниз от клапана, являются цилиндрическими каналами с длинами L_{in} и L_{out} соответственно и радиусами просветов r_{in} и r_{out} соответственно, отношение $R_{out}/R_{in} = (r_{in}/r_{out})^4 (L_{out}/L_{in})$. Кроме того, предполагая типичные значения $r_{in} = 1$ мм, $r_{out} = 100$ мкм и $L_{in} = 10$ мм, мы получим, что примерная наименьшая длина канала 10, соединяющего клапан 14 с микрофлюидным чипом 1 будет $L_{out} > 100$ мкм.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения, система для подачи жидкостей в микрофлюидный чип должна подавать эти жидкости со скоростями, не зависящими от каналов внутри микрофлюидного чипа. Микрофлюидные чипы могут содержать каналы различных поперечных сечений, с шириной от десятков микрометров до нескольких миллиметров. Поскольку микрофлюидные системы могут содержать каналы с микрометрическими поперечными сечениями, полезно предположить для оценки, что типичная микрофлюидная система будет представлять гидравлическое сопротивление схожее с гидравлическим сопротивлением капилляра с внутренним диаметром 100 мкм. Подобный капилляр представляет гидравлическое сопротивление на единицу длины схожее с тем, которым обладает капилляр, соединяющий клапан с микрофлюидным чипом. Ввиду этой оценки, длина флюидного канала 10 должна быть по меньшей мере в 100 раз большей, чем длина канала в микрофлюидном чипе. Предполагая, что типичная длина каналов в микрофлюидном чипе порядка десятков миллиметров, длина канала внутри капилляра 10 должна быть $L_{out} > 100$ см. В примерах реализаций настоящего изобретения микрофлюидные каналы шире (и выше), чем 200 мкм, и длина капилляра 10 L_{out} , внутренний диаметр которого 200 мкм, составляет порядка десятков сантиметров.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения микрофлюидная система для образования микрокапель по требованию содержит дополнительный выход 20, расположенный ниже соединения 8 и соединенный с вводом 21, флюидный канал 22 и клапан 23 с резервуаром атмосферного давления 24. Кроме того, выход 20 может быть

использован для уменьшения гидравлического сопротивления потоку между соединением 8 и резервуаром атмосферного давления 24 на протяжении процесса образования микрокапли. Процедура образования микрокапель по требованию, которая включает в себя открытие клапана 23 на протяжении интервала формирования микрокапли, может сделать отношение гидравлического сопротивления R_{out} капилляра 10 к гидравлическому сопротивлению ниже соединения 8 не зависящим от флюидных каналов внутри микрофлюидного чипа и, в частности, от выходного канала 5.

Точность распределения установленного объема жидкости в образованные микрокапли ограничена общей гидравлической податливостью - C - флюидного канала, который соединяет клапан с микрофлюидным чипом. Эта общая гидравлическая податливость C может быть выражена в виде суммы:

$$C = C_f + C_c,$$

где C_f представляет гидравлическую податливость, связанную со сжимаемостью жидкости, которая заполняет капилляр, а C_c представляет гидравлическую податливость, связанную с упругостью стенок капилляра.

Гидравлическая податливость - это физическая величина, описывающая упругую податливость капилляра и сжимаемость жидкости, заполняющей указанный капилляр. Если капилляр, поддерживаемый под давлением p_0 , заполнен жидкостью объема V_0 и если капилляр флюидно соединен с емкостью с той же жидкостью, поддерживаемой под давлением $p_1 = p_0 + \Delta p$, то дополнительный объем жидкости будет протекать в капилляр. Если затем флюидное соединение указанного капилляра с указанной емкостью, находящейся под давлением p_1 , будет закрыто и капилляр будет соединен со вторым резервуаром, находящимся под давлением p_0 , то объем жидкости ΔV будет протекать из капилляра в указанный второй резервуар. Численно объем ΔV может быть выражен следующим образом:

$$\Delta V = \Delta p [C_f + C_c].$$

Также следует отметить, что объем ΔV выталкивается из флюидного канала 10 или 11 после закрытия клапана 14 или 15 за удлиненный интервал времени Δt . Поскольку перепад давлений между сжимающимися стенками флюидного канала и сжатой жидкостью меньше либо равен Δp , скорость выброса жидкости после закрытия клапана 14 или 15 меньше либо равна скорости при открытом клапане. Таким образом, величина объема ΔV регулирует как погрешность введения заданного объема микрокапли посредством контроля интервала t_{open} , так и наименьший интервал между выталкиванием последовательности образованных микрокапель для объема ΔV из канала 10 или 11 и началом процесса образования новых микрокапель. В предпочтительных реализациях настоящего изобретения предполагается, что наибольший предел интервала между образованием последовательности микрокапель не должен быть больше, чем типичный интервал для образования микрокапли (t_{open}) или чем величина, обратная предполагаемой частоте (f) образования микрокапель.

Гидравлическая податливость C_f , связанная со сжимаемостью жидкости, зависит от типа жидкости, заполняющей капилляр. Численно величина гидравлической податливости C_f , связанной со сжимаемостью жидкости, может быть посчитана как $C_f = V_0 \cdot \beta_t$, где β_t представляет собой изотермический коэффициент сжатия жидкости, заполняющей капилляр.

В частности, ввиду большой изотермической сжимаемости газов, в предпочтительных

реализациях настоящего изобретения избегается присутствие пузырьков газа в капиллярах. Реализации настоящего изобретения позволяют размещать образцы жидкости во флюидных каналах и затем вызывать движение этих образцов жидкости посредством вбрасывания несмешиваемой непрерывной фазы в указанные флюидные каналы без введения пузырьков газа.

Величины изотермических коэффициентов сжатия большинства жидкостей при нормальных условиях схожи. К примеру, изотермический коэффициент сжатия воды при нормальных условиях составляет 5×10^{-10} [Па⁻¹], в то время как изотермический коэффициент сжатия большинства алканов и масел находится в промежутке от 5×10^{-10} [Па⁻¹] до 12×10^{-10} [Па⁻¹].

Гидравлическая податливость C_c , связанная с упругостью капилляра зависит как от свойств материала, из которого изготовлен капилляр, в частности, модуля Юнга (E) и коэффициента Пуассона (σ) этого материала, так и от геометрии капилляра, в частности, его длины (L), радиуса (r) просвета капилляра и ширины (h) стенки капилляра. Для толстостенных капилляров ($h > r$) гидравлическая податливость C_c может быть вычислена как

$$C_c = 2V_0(1+\sigma)/E.$$

в то время как для тонкостенных капилляров ($h < r$) та же податливость может быть вычислена как

$$C_c = 2V_0(r/h)/E$$

где V_0 - объем капилляра, $V_0 = \pi r^2 L$. Целью настоящего изобретения является уменьшение гидравлической податливости, и в дальнейшем мы будем рассматривать только толстостенные флюидные каналы (не показаны), включающие как каналы с круговой формой поперечного сечения, так и каналы с некруговой формой поперечного сечения (например, для микрофлюидных систем типична прямоугольная форма поперечного сечения каналов).

Подставляя выражения для податливостей C_c и C_f , мы получим выражение для объема ΔV , выталкиваемого из капилляра при уменьшении давления жидкости на величину Δp :

$$\Delta V = \Delta p V_0 \beta_f + 2 \Delta p V_0 (1+\sigma)/E = \Delta V_f + \Delta V_c$$

Из описанного выше очевидно, что объем ΔV , выталкиваемый из капилляра при уменьшении давления на Δp , складывается из объема ΔV_f , связанного со сжимаемостью жидкости, и объема ΔV_c , связанного с упругостью стенок капилляра.

В соответствии с настоящим изобретением, процесс образования микрокапли начинается с закрытия клапана 14, регулирующего поток в канале 10, и давление в канале 10 становится равно давлению (p_{chip}) в микрофлюидном чипе 1. При открытии клапана 14 жидкость начинает протекать через капилляр 10. С хорошим допущением можно сказать, что давление внутри капилляра 10 линейно меняется между значением (p_{valve}) на входе капилляра 10 и значением p_{chip} в конце указанного капилляра. Поскольку эффекты податливости пропорциональны локальному давлению, мы можем вычислить объем, вмещаемый всем каналом со средним изменением давления ($\Delta p/2$), где $\Delta p = p_{valve} - p_{chip}$. Капилляр вмещает дополнительный объем жидкости:

$$\Delta V = \Delta V_f + \Delta V_c,$$

где

$$\Delta V_f \sim (\Delta p/2) V_0 \beta_t$$

и

$$\Delta V_c \sim \Delta p V_0 (1 + \sigma)/E.$$

После успешного закрытия клапана 14, давление в капилляре снижается до значения p_{chip} и объем ΔV выталкивается из микрофлюидного чипа.

В следующем анализе мы предполагаем, что для поддержания точности в 1% при распределении заданного объема микрокапли, объем ΔV не должен превышать 1% от минимального объема V_{min} микрокапли, которая может быть образована в данной системе. Аналогично, для поддержания точности в 10% при распределении данного объема микрокапли, объем ΔV не должен превышать 10% от наименьшего объема V_{min} микрокапли, которая может быть образована в данной системе. В дальнейшем мы проанализируем вклад в общую гидравлическую податливость капилляра, связанный с упругостью капилляра. Если ограничение податливости C_c более жесткое, чем податливости C_f , связанной со сжимаемостью жидкости, то тогда податливость C_f определяет погрешность системы для образования микрокапель. Численно, значимость двух составляющих может быть оценена путем сравнения значения $(1/E_{min})$ со значением β_t , где E_{min} - это наименьшее значение модуля Юнга, требуемое для заданной точности при распределении объемов микрокапель. Если значение $1/E_{min}$ меньше, чем значение β_t , то наивысшая точность распределения объемов микрокапель ограничена изотермической сжимаемостью жидкости.

Следующий иллюстративный расчет требуемых размеров и упругих свойств капилляра будет произведен для трех различных наименьших объемов микрокапель, образуемых в системе: $V_{min}=1$ нл, 10 нл, и 100 нл. Для простоты мы будем предполагать, что изотермический коэффициент сжатия жидкости равен $\beta_t=1 \times 10^{-9}$ [Па⁻¹].

Предполагая, что требуемая погрешность при распределении объемов микрокапель равна 1%, мы получим наибольшие дозволённые значения объема, выталкиваемого из капилляра при закрытии клапана, следующим образом: $\Delta V_{max}=V_{min}/100=0,01$ нл, 0,1 нл и 1 нл.

Кроме того, ввиду того требования, что капилляр 10 должен обеспечивать короткое время инерции t (как описано выше), необходимое для запуска потока в этом капилляре, мы предполагаем, что радиус просвета этого капилляра равен 50 мкм. Ввиду того требования, что гидравлическое сопротивление капилляра должно быть намного больше гидравлического сопротивления микрофлюидного чипа 1, мы предполагаем, что длина L капилляра равна $L=5$ см.

Для упрощения вычислений, мы предполагаем, что коэффициент Пуассона равен 0,4 и получаем следующее приближенное отношение для наименьшего значения модуля Юнга, поддерживающего требуемую:

$$E_{min}=1,4 * V_0 * \Delta p / \Delta V_{max},$$

Для $\Delta p=500$ кПа мы получим:

$$E_{min}=27,489 \text{ ГПа (для } V_{min}=1 \text{ нл); } 1/E_{min}=0,04 \times 10^{-9} \text{ Па}^{-1}$$

$$E_{min}=2,749 \text{ ГПа (для } V_{min}=10 \text{ нл); } 1/E_{min}=0,36 \times 10^{-9} \text{ Па}^{-1}$$

$$E_{min}=0,275 \text{ ГПа (для } V_{min}=100 \text{ нл); } 1/E_{min}=3,6 \times 10^{-9} \text{ Па}^{-1}.$$

В другом примере, для $\Delta p=50$ кПа мы получим:

$E_{\min}=2,749$ ГПа (для $V_{\min}=1$ нл); $1/E_{\min}=0,36 \times 10^{-9}$ Па⁻¹

$E_{\min}=0,275$ ГПа (для $V_{\min}=10$ нл); $1/E_{\min}=3,6 \times 10^{-9}$ Па⁻¹

$E_{\min}=0,027$ ГПа (для $V_{\min}=100$ нл); $1/E_{\min}=36 \times 10^{-9}$ Па⁻¹.

В еще одном примере, для $\Delta p=5$ кПа мы получим:

$E_{\min}=0,275$ ГПа (для $V_{\min}=1$ нл); $1/E_{\min}=3,6 \times 10^{-9}$ Па⁻¹

$E_{\min}=0,027$ ГПа (для $V_{\min}=10$ нл); $1/E_{\min}=36 \times 10^{-9}$ Па⁻¹

$E_{\min}=0,003$ ГПа (для $V_{\min}=100$ нл); $1/E_{\min}=360 \times 10^{-9}$ Па⁻¹.

Результаты, приведенные выше, однозначно ограничивают диапазон материалов, из которых могут быть изготовлены капилляры (например, 10), соединяющие клапаны (например, 14) с микрофлюидным чипом (например, 1). В таблице ниже собраны иллюстративные упругие параметры некоторых распространенных материалов:

	Силикон Резина	Тефлон	Полиэтилен	Термопластик (PEEK)	Стекло	таль
Модуль Юнга E [ГПа]	0,002	0,5	2	3,6	50-90	10
Коэффициент Пуассона σ [-]	0,5	0,45	0,4	0,4	0,2-0,3	,3

На основании результатов, приведенных выше, следует, что в системах, в которые подается капельная жидкость из резервуаров, находящихся под давлением приблизительно 500 кПа, для образования микрокапель, меньших чем 1 нл с погрешностью 1% в объеме, необходимо использовать капилляры, изготовленные из стекла или стали, в то время как для образования микрокапель, меньших чем 10 нл, необходимо использовать капилляры, изготовленные из твердых полимеров (полиэтилен, термопластик (PEEK)), стекла или стали, и, аналогично, для образования микрокапель, объемом меньших чем 100 нл, с той же погрешностью, могут быть использованы те же материалы (твердые полимеры, стекло или сталь). Также из примеров выше очевидно, что упругие свойства капилляра будут оказывать существенное влияние на точность образования микрокапель, объемом больших чем 1 нл.

На основании результатов, приведенных выше, следует, что в системах, в которые подается капельная жидкость из резервуаров, находящихся под давлением приблизительно 50 кПа, для образования микрокапель, меньших чем 1 нл с погрешностью 1% в объеме, необходимо использовать капилляры, изготовленные из твердых полимеров (например, термопластик (PEEK)), стекла или стали, в то время как для образования микрокапель, меньших чем 10 нл или меньших чем 100 нл, необходимо использовать капилляры, изготовленные из полимеров (например, тефлон, полиэтилен, термопластик (PEEK)), стекла или стали. Также из примеров выше очевидно, что упругие свойства капилляра будут оказывать существенное влияние на точность образования микрокапель, объемом больших чем 1 нл.

Аналогично, в системах, в которые подается капельная жидкость из резервуаров, находящихся под давлением приблизительно 5 кПа, для образования микрокапель, меньше чем 1 нл или меньше чем 10 нл с погрешностью 1% в объеме, необходимо использовать капилляры, изготовленные из полимеров (например, тефлон, полиэтилен или термопластик (PEEK)), стекла или стали, в то время как для образования микрокапель, меньше чем 10 нл или меньше чем 100 нл, необходимо использовать капилляры, изготовленные из полимеров (например, тефлон, полиэтилен, термопластик (PEEK)), стекла или стали. Также из примеров выше очевидно, что упругие свойства капилляра будут оказывать существенное влияние на точность образования

микрокапель, объемом больших чем 1 нл.

Приведенные выше требования могут быть выражены в виде предпочтительных диапазонов полной гидравлической податливости флюидных каналов, соединяющих клапаны с микрофлюидными чипами. В частности, для давлений, прикладываемых к резервуару с жидкостью, порядка 10 кПа, для образования микрокапель наименьшим объемом $V_{\min}=1$ нл с погрешностью 1% заданного объема микрокапли, общая

гидравлическая податливость должна быть меньше, чем 10^{-18} м³/Па, в то время как для $V_{\min}\approx 10$ нл $C<10^{-17}$ м³/Па, и для $V_{\min}\approx 100$ нл $C<10^{-16}$ м³/Па. Аналогично, при $\Delta p\approx 100$ кПа, для $V_{\min}\approx 1$ нл $C<10^{-19}$ м³/Па, для $V_{\min}\approx 10$ нл $C<10^{-18}$ м³/Па, и для $V_{\min}\approx 100$ нл $C<10^{-17}$ м³/Па. Аналогично, при $\Delta p\approx 1000$ кПа, для $V_{\min}\approx 1$ нл $C<10^{-20}$ м³/Па, для $V_{\min}\approx 10$ нл $C<10^{-19}$ м³/Па, и для $V_{\min}\approx 100$ нл $C<10^{-18}$ м³/Па.

Кроме того, для целей обеспечения нормативов конструирования систем согласно настоящему изобретению полезно заметить, что объем, выдавливаемый из флюидного канала, за счет эффектов гидравлической податливости может быть приблизительно выражен как

$$\Delta V = \Delta p A L \beta,$$

где Δp - разница между давлением выше клапана (p_{valve}) и давлением в микрофлюидном чипе (p_{chip}), A - площадь поперечного сечения флюидного канала, соединяющего клапан с микрофлюидными каналами, L - длина указанного канала и β - приблизительная постоянная, представляющая податливость канала: $\beta = (\beta_t/2) + (1/\sigma)/E$. Поскольку значение β_t похоже для большинства жидкостей при нормальных условиях и поскольку величина $(1/\sigma)$ незначительно колеблется для широкого спектра материалов (1,3 для стали и 1,5 для силиконовой резины), мы для простоты в дальнейшем можем вычислить β как: $\beta = 0,5 \times 10^{-9} + 1/E$, где E выражена в [Па] и β выражена в [Па⁻¹]. Кроме того, практический интерес представляет только отношение ΔV к наименьшему объему V_{\min} микрокапли, образуемой по требованию. V_{\min} может быть выражен как

$$V_{\min} = t_{\text{open}} Q = t_{\text{open}} \Delta P / R = t_{\text{open}} \Delta p A^2 / \alpha_R \mu L.$$

Тогда отношение $\Delta V / V_{\min}$ может быть упрощено:

$$\Delta V / V_{\min} = (\beta \alpha_R L^2 / A) (\mu / t_{\text{open}}).$$

где β , α_R , L и A - набор параметров, характеризующих гидравлический канал, μ и t_{open} - набор параметров способа. В предпочтительных реализациях настоящего изобретения можно предполагать, что время t_{open} не больше 1 с, более предпочтительно, не больше 100 мс, или, еще более предпочтительно, не больше 10 мс. Коэффициент динамической вязкости может предполагаться меньшим, чем 100 мПа·с, или меньшим, чем 10 мПа·с или приблизительно равным 1 мПа·с для водных растворов.

Чтобы чрезмерно не ограничивать частоту образования микрокапель, отношение $\Delta V / V_{\min}$ должно быть, предпочтительно, меньше 1, и приведенные выше соображения могут быть собраны в простое условие для флюидного канала, соединяющего клапан с микрофлюидными каналами:

$$\beta \alpha_R L^2 / A = (0,5 \times 10^{-9} + 1/E) (\alpha_R L^2 / A) < X [\text{Па}^{-1}]$$

где $X = (\Delta V / V_{\min}) (t_{\text{open}} / \mu)$. Подставляя приведенные выше значения t_{open} и μ , мы получим

$X=10^4 \text{ Па}^{-1}$, предпочтительно, $X=10^3 \text{ Па}^{-1}$, более предпочтительно, $X=10^2 \text{ Па}^{-1}$ и еще более предпочтительно, $X=10 \text{ Па}^{-1}$.

Область 19, отмеченная на Фиг.1 пунктирной линией, обеспечивает введение в микрофлюидный чип 1 образцов жидкости. Схематическая диаграмма поперечного сечения этой области подробно изображена на Фиг.2. Предпочтительно, микрофлюидный чип 1 содержит канал 3, в который посредством ввода 9 подается непрерывная жидкость 26. Эта непрерывная жидкость предпочтительно подается посредством гидравлического канала 28 через клапан 29, управляемый электрическим регулятором (не показан), из емкости с указанной жидкостью, находящейся под давлением, при поддержании практически постоянной скорости потока 30 указанной жидкости, когда клапан 29 открыт. Предпочтительно, выход канала 3 соединен с другими флюидными каналами внутри микрофлюидного чипа таким образом, что возможно регулировать поток жидкостей через канал 3 при помощи, например, клапана 31, расположенного на гидравлическом канале 32, соединяющем указанный микрофлюидный чип с резервуаром атмосферного давления 33. Предпочтительно, канал 3 содержит дополнительный вход 7, который делает возможным введение конца пипетки 35 в микрофлюидный чип. В предпочтительной реализации настоящего изобретения гидравлические каналы микрофлюидного чипа сначала заполняются непрерывной смачивающей жидкостью 26 посредством, к примеру, входа 9. Затем поток этой непрерывной жидкости останавливается, например, посредством клапана 29. После этого конец пипетки 35 вводится во ввод 7. Предпочтительно, этот кончик пипетки содержит по меньшей мере один образец 36 жидкости, который является несмешиваемым с непрерывными жидкостями 26, 37 и взвешенным в указанной несмешиваемой непрерывной жидкости. Затем, при помощи клапанов, регулирующих выпуск (например, 31) жидкостей из канала 3, взвесь жидких образцов, находящихся в конце пипетки 35, перемещается в канал 4 таким образом, что после указанного перемещения образцы 36 расположены ниже ввода 7, как показано позицией 38. Предпочтительно, после перемещения образцов жидкости 36, 38 в канал 3, выпуск из канала 3 закрывается и впуск в канал 3 открывается для наполнения ввода 7 непрерывной жидкостью 26, чтобы избежать попадания каких-либо газообразных пузырьков. В предпочтительной реализации настоящего изобретения процесс перемещения образцов жидкости 36 из конца пипетки 35 в канал 3 может быть повторен до тех пор, пока в канале 3 не будет размещена требуемая последовательность образцов жидкости 38. Предпочтительно, после размещения требуемой последовательности образцов жидкости 38 в канале 3, ввод 7 туго закрывается, позволяя последовательности образцов 38 перемещаться с потоком непрерывной жидкости 26, который регулируется посредством электрических сигналов, поступающих от электрического регулятора (не показан), который управляет состоянием входного (например, 29) и выходного (например, 31) клапана.

В другой предпочтительной реализации настоящего изобретения конец пипетки 35 заменен на трубку, содержащую последовательность образцов жидкости, распределенных в несмешиваемой непрерывной жидкости. Перенос последовательности образцов жидкости из трубки в канал 3 осуществляется аналогично переносу из конца пипетки, как описано выше.

В другой предпочтительной реализации настоящего изобретения (Фиг.3) микрофлюидный чип 34 не содержит дополнительного входа для размещения образцов жидкости. В такой реализации трубка 39, содержащая образцы жидкости 36, взвешенные в несмешиваемой непрерывной жидкости 37, гидравлически последовательно соединена

между гидравлическим каналом 28 и микрофлюидным чипом 34.

В другой предпочтительной реализации настоящего изобретения (Фиг.4), область микрофлюидного чипа, обеспечивающая размещение образцов жидкости в указанном чипе, содержит вход 40 в виде резервуара. Предпочтительно, выход указанной области микрофлюидного чипа гидравлически соединен с по меньшей мере одним резервуаром 41, находящимся под давлением (меньшим, чем атмосферное), посредством гидравлического канала 42 и электронно-управляемого клапана 43. В предпочтительной реализации каналы микрофлюидного чипа вместе с резервуаром 40 сначала заполняются непрерывной жидкостью 44 посредством входа 45, и затем выпуск непрерывной жидкости останавливается при помощи электронно-управляемого клапана 46. Затем образец жидкости 47, который является несмешиваемым с указанной непрерывной жидкостью, размещается в резервуаре 40. Если образец полностью закрывает просвет соединения между резервуаром 40 и каналом 48, он втягивается в канал 48 посредством открытия клапана 43. Затем выпуск из микрофлюидного чипа останавливается, и резервуар перезаполняется непрерывной жидкостью 44 при помощи открытия клапана 46. Процесс размещения и переноса образца жидкости 47 в канал 48 к положению 49, схематически изображенный на Фиг.4, может быть повторен до тех пор, пока в канале 48 не будет размещена требуемая последовательность образцов жидкости.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения образцы жидкости, размещенные в микрофлюидном чипе, в дальнейшем используются как источники жидкости для образования микрокапель по требованию, т.е. для образования микрокапель с заданным временем выброса и заданного объема. В иллюстративной реализации (Фиг.5) образцы 50, размещенные через вход 52 в канале 51, позднее проталкиваются потоком непрерывной жидкости, впускаемой в чип посредством ввода 53. В этом примере канал 51, содержащий образцы жидкости 50, диспергируемой в микрокапли, ведет к гидравлическому соединению 54, соединяющему указанный канал с каналом 61, который проводит непрерывную жидкость от входа 55. При необходимости, в предпочтительной реализации на канале 51 выше соединения 54 размещается датчик 56. Датчик 56 сообщает электронному устройству (не показано на чертеже) о присутствии образца жидкости в определенном месте микрофлюидного чипа. В такой предпочтительной, но не ограничивающей реализации, датчик является оптическим датчиком или электрическим датчиком. В такой предпочтительной реализации, электронное устройство посылает набор сигналов клапанам, регулирующим выпуск жидкостей в чип, таким образом, чтобы продвинуть переднюю часть данного образца жидкости 63 к соединению 54. После продвижения передней части данного образца жидкости 63 к соединению 54, электронное устройство посылает набор электрических сигналов клапанам, которые регулируют поток взвешенных образцов 50 в канале 51 и поток непрерывной жидкости 64 в канале 61, для образования микрокапель 59 в выходном канале 60.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения, образование микрокапель включает втекание с эффективным фазовым сдвигом образца жидкости 63 в соединение 54 и выходной канал 60, а также непрерывной жидкости 64 в соединение 54 и выходной канал 60.

На Фиг.6 изображена иллюстративная схема электрических сигналов, регулирующих поток взвешенных образцов жидкости 50 и поток непрерывной жидкости 64, которая может быть использована для образования микрокапель с широким диапазоном заданных объемов этих микрокапель. В соответствии с настоящим изобретением, состояние клапанов, регулирующих приток жидкостей 50 и 64 в соединение 54,

определяется непрерывно меняющимися электрическими сигналами 65 и 66 (Фиг.7). Предпочтительно, сигналы 65 и 66 находятся не в фазе, что означает, что внутри интервала 69, когда сигнал 66, регулирующий поток диспергируемой в микрокапли жидкости 50, имеет ненулевое значение (клапан открыт), сигнал 65, регулирующий

5 поток непрерывной фазы 64, имеет нулевое значение (клапан закрыт). Предпочтительно, процесс образования микрокапли включает интервал 69, внутри которого образцы жидкости 50 находятся в потоке и образец 63, передняя часть которого находится в соединении 62, протекает в канал 60 и образует растущую микрокаплю. В заданном соотношении фаз, на протяжении интервала 67 поток непрерывной фазы 64

10 останавливается. После того, как конец образца жидкости 63 проник в канал 60 и был достигнут желаемый объем микрокапли, электронный блок запускает интервал 70, на протяжении которого поток диспергируемой жидкости 50 и 63 останавливается, и синхронный с ним интервал 68, на котором непрерывная фаза 64 протекает, отрезает образованную микрокаплю и несет ее вниз к выходному каналу 60. В предпочтительных

15 реализациях настоящего изобретения интервал 69 может быть сдвинут во времени по отношению к интервалу 67 с помощью временного сдвига 71 в начале интервала и с помощью временного сдвига 72 в конце интервала. Сдвиги 71 и 72 могут иметь положительные или отрицательные значения, или могут быть равны нулю. В предпочтительных реализациях возможно выбрать сдвиги 71 и 72 таким образом, чтобы

20 компенсировать или воспользоваться временной задержкой реакции клапанов в ответ на изменения значений управляющих сигналов 65 и 66 для того, чтобы изменение состояния клапанов, регулирующих две жидкости, притекающие в соединение 62, было синхронным.

Фиг.7 показывает иллюстративные значения объема микрокапель, образуемых в

25 системе, схожей с той, которая изображена на Фиг.5. В этой экспериментальной системе все микрофлюидные каналы имеют однородную квадратную форму поперечного сечения с номинальными размерами 200 на 200 мкм. В микрофлюидный чип подаются жидкости посредством соленоидных электромагнитных клапанов и посредством

30 капилляров, отличающихся большим гидравлическим сопротивлением. Давление, прикладываемое к резервуару с диспергируемой жидкостью, было установлено как 5 кПа. В одном эксперименте клапан был соединен с микрофлюидным чипом посредством стального капилляра со внутренним диаметром 200 мкм и длиной 100 см. Во втором эксперименте, капилляр был изготовлен из силиконовой резины, имел внутренний диаметр, равный 190 мкм, и длину, равную 74 см и представлял то же гидравлическое

35 сопротивление, что и стальной капилляр. Гидравлическая податливость стального капилляра была равна $C_k = 3,89 \times 10^{-19} \text{ м}^3/\text{Па}$, и податливость капилляра из силиконовой резины была $C_k = 3,15 \times 10^{-14} \text{ м}^3/\text{Па}$. Графики, изображенные на Фиг.7, однозначно показывают, что в то время, как система, выполненная в соответствии с настоящим

40 изобретением и оснащенная стальным капилляром, предлагает точный контроль над объемами микрокапель, вторая система, оснащенная капиллярами из силиконовой резины, не предлагает удовлетворительной точности.

Предпочтительно, когда использование системы (Фиг.5) включает образование длинной последовательности микрокапель в выходном канале 60 или во внешнем

45 гидравлическом канале, соединенном с микрофлюидным чипом посредством выхода 57, использовать дополнительный выходной канал 62, ведущий к выходу 58, флюидно соединенному с резервуаром атмосферного давления или давления, которое ниже, чем давление в микрофлюидном чипе. Открытие выпуска через ввод 58 делает сопротивление

микрофлюидного чипа практически не зависящим от содержимого канала 60, или любого другого гидравлического канала, соединенного с чипом посредством ввода 57. Предпочтительно, выпуск через ввод 58 открыт только на протяжении процесса образования микрокапель по требованию в соединении 62.

5 В предпочтительной реализации настоящего изобретения, микрокапли, образованные по требованию, в дальнейшем используются для образования реакционных или инкубационных смесей. Фиг.8 схематически показывает конструкцию иллюстративной микрофлюидной системы 83, которая может быть использована для образования реакционных смесей. Эта система содержит два соединения 73 и 74 для независимого
10 образования микрокапель по требованию из образцов, введенных в каналы 75 и 76. Будучи образованными, микрокапли протекают от соединений 73 и 74 к соединению 77, где микрокапли соединяются. Предпочтительно, хотя не обязательно, слияние микрокапель может быть стимулировано подводом энергии от источника энергии, расположенного ниже соединения 77, например, приложением либо постоянного либо
15 переменного электрического поля, направленного параллельно, перпендикулярно или под углом к потоку жидкости. К примеру, электрическое поле может быть образовано при помощи двух электродов 78 и 79. Предпочтительно слияние микрокапель для образования микрокапли большего размера, содержащей смесь растворов, для дальнейшей обработки, инкубирования, распознавания состава такой смеси или
20 дальнейшего перемещения в другие микрофлюидальные системы или флюидные каналы посредством ввода 80. Предпочтительно, каналы, ведущие микрокапли от соединений 73 и 74 к соединению 77, могут быть оснащены датчиками 81 и 82 присутствия микрокапель. Сигналы от таких датчиков могут быть использованы для контроля потока непрерывной жидкости таким образом, чтобы синхронизировать появление
25 микрокапель в соединении 77.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения и образования смесей растворов, как было описано выше, и распознавания результатов инкубирования или реакции, возможно флюидно соединить вместе некоторое число микрофлюидных модулей. В примере, представленном на Фиг.9, выход микрофлюидного чипа 83 соединен
30 с входом микрофлюидного модуля 84, который служит для смешивания содержимого микрокапель. После смешивания в модуле 84 микрокапля протекает в модуль 85, где она соединяется с дополнительными микрокаплями, образованными по требованию и содержащими дополнительные растворы. Далее, микрокапли протекают в модуль 86, где они снова смешиваются и затем протекают в модуль 87, содержащий датчик
35 содержимого микрокапель. В предпочтительном и не ограничивающем примере, смешивающие модули 84 и 86 могут содержать области меандрических каналов, которые ускоряют смешивание содержимого микрокапель. В не ограничивающем примере модуль 87, осуществляющий распознавание результата инкубирования или реакции внутри микрокапель, может содержать спектрофотометрический датчик, который
40 измеряет спектральную поглощательную способность или коэффициент пропускания или флуоресценцию микрокапель, проходящих через или остающихся в окне датчика. Предпочтительно, выход модуля 87 гидравлически соединен с резервуаром 88 атмосферного давления посредством электронно-управляемого клапана 89.

В модуле 85, который служит для титрования (или инкубирования) с
45 дополнительными микрокаплями дополнительного раствора, микрокапли, образованные в модуле 83 и смешанные в модуле 84, протекают через канал 90 и затем в соединение 91. Параллельно с этим, в соединении 92 образуются новые микрокапли дополнительного раствора, ранее расположенного в канале 93. В соединении 91

микрокапли из модуля 83 и 84 соединяются с микрокаплями, образованными в соединении 92. Синхронизация микрокапель может потребовать установки датчиков присутствия микрокапель в модуле 85. Соединение микрокапель в соединении 91 может быть стимулировано посредством приложения электрического поля. После соединения микрокапли протекают в смешивающий модуль 86 и модуль 87 распознавания.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения (Фиг.10) возможно переместить микрокапли, содержащие смеси растворов, в гидравлический канал 94, который гидравлически соединяет модули 95 и 96. Предпочтительно, но не обязательно, указанные микрокапли покрывают все поперечное сечение канала 94. Модуль 95 содержит по меньшей мере один вход, позволяющий непрерывной жидкости вливаться в канал 94 от источника с постоянной скоростью потока 97 посредством электронно-управляемого клапана 98. Модуль 96 содержит по меньшей мере одно гидравлическое соединение с резервуаром атмосферного давления 99 посредством электронно-управляемого клапана 100. Предпочтительно, канал 104 проходит через модуль 101 распознавания. В не ограничивающем примере, модуль 101 распознавания позволяет производить спектрофотометрические измерения содержимого микрокапель. В такой иллюстративной реализации, модуль 101 содержит пятно (т.е. окно 102 датчика), позволяющее свету проходить через (вдоль или поперек) микрокаплю. В предпочтительной реализации возможно осуществить распознавание как микрокапель, непрерывно проходящих через окно 102 датчика, так и микрокапель, которые были остановлены в окне 102 датчика за заданный интервал времени. Возможность перемещать последовательность микрокапель 104 вперед в канале 94 и остановить поток этих микрокапель на любой требуемый интервал времени позволяет осуществлять одиночные и множественные измерения любой микрокапли (например, 103) в последовательности 104. Также возможно осуществить измерения на всей последовательности 104 микрокапель и регулировать интервалы измерений каждой микрокапли (например, 103) в указанной последовательности.

В предпочтительном и не ограничивающем примере, модуль 101 обеспечивает прохождение света через просвет флюидного канала 94. В предпочтительной реализации свет доставляется в канал 94 посредством волновода. Аналогично, по меньшей мере часть света, проходящего через просвет канала 94 или выбрасываемого из микрокапли 103 внутри просвета канала 94, собирается и направляется в спектрофотометр.

В другой иллюстративной реализации возможно доставлять свет в просвет канала 94 без использования волноводов, и собирать по меньшей мере часть света, проходящего через указанный просвет или выбрасываемого из указанного просвета прямо на датчик, расположенный около канала 94. Предпочтительно, угол между светом, заходящим в просвет канала 94 и светом, собираемым датчиком выбирается так, чтобы оптимизировать разрешение и чувствительность распознавания. Предпочтительно, в случае измерения спектральной поглощательной способности и коэффициента пропускания угол равен нулю градусов. Предпочтительно, в случае измерения флуоресценции угол отличен от нуля и может быть равен 90 градусам.

Другая предпочтительная и не ограничивающая реализация настоящего изобретения схематически изображена на Фиг.11. В этой реализации последовательность микрокапель вводится в гидравлический канал 105, гидравлически соединяющий модули 106 и 107. Модуль 106 гидравлически соединен по меньшей мере с одним вводом, обеспечивающим введение непрерывной жидкости из источника 108 с постоянной скоростью потока посредством электронно-управляемого клапана 109, и по меньшей мере с одним вводом, обеспечивающим выведение жидкости из канала 105 в резервуар 110 атмосферного

давления посредством электронно управляемого клапана 115. В предпочтительной реализации, канал 105 содержит модуль 116, который служит для распознавания содержимого микрокапель. В не ограничивающем примере, модуль 116 обеспечивает спектрофотометрическое распознавание содержимого микрокапель, проходящих через канал 105 сквозь окно 117 датчика. В предпочтительном примере, последовательность 118 микрокапель, содержащих смеси растворов, многократно перемещается вперед и назад между областями 119 и 120 канала 105. Последовательность реакционных смесей 118 перемещается вперед и назад при помощи потока непрерывной фазы. Открытие клапанов 109 и 115 и закрытие клапанов 111 и 113 заставляет последовательность микрокапель 118 протекать от области 119 к области 120. Аналогично, открытие клапанов 111 и 113 и закрытие клапанов 109 и 114 заставляет последовательность 118 микрокапель протекать от области 120 к области 119.

Предпочтительно, но не обязательно, области 119 и 120 содержат датчики 121 и 122 присутствия микрокапель, соединенные с электрическим регулятором 124 посредством электрических соединений 123. Сигналы от датчиков 121 и 122 или сигналы от датчика 116 или как сигналы от датчиков 121 и 122, так и сигналы от датчика 116 помогают электронному блоку судить о положении последовательности 118 микрокапель и подавать подходящие сигналы клапанам 109, 111, 113 и 115 для выполнения перемещения последовательности микрокапель 118 между областями 119 и 120.

В предпочтительной реализации настоящего изобретения, распознавание содержимого микрокапель осуществляется при протекании микрокапель 118 через модуль 116 распознавания. Поток в канале 105 может быть остановлен в любой момент для задержания любой из данных микрокапель в окне 117 датчика на необходимый интервал. После перемещения микрокапель в область 120, закрытие клапанов 109 и 115 и открытие клапанов 111 и 113 заставляет микрокапли 118 протекать обратно в область 119 через модуль 116 распознавания. Предпочтительно, система содержит набор датчиков 121 и 122 присутствия микрокапель, которые посылают сигналы электрическому регулятору 124, чтобы он мог скоординировать положения клапанов 109, 111, 113 и 115.

Примеры применения изобретения.

Пример 1 - формирование микрокапель

В приведенной реализации настоящего изобретения, система, изображенная на Фиг.1, но без дополнительного входа 7, может служить для производства микрокапель по требованию, образуемых из жидкости, подаваемой от источника 12 через клапан 14 и гидравлический канал 10 во ввод 9, как предписывает настоящее изобретение.

Микрофлюидная подсистема, использованная в настоящем примере, содержит микрофлюидные каналы с квадратной формой поперечного сечения номинальных размеров 100 на 100 мкм. В примере, диспергируемая жидкость - это дистиллированная вода, которая не смачивает стенки микрофлюидных каналов, а непрерывная фаза, подаваемая от источника 13 через клапан 15 и флюидный канал 11 во ввод 4 - это 1% раствор поверхностного активного вещества Span 80 в гексадекане (Span 80 surfactant in hexadecane). В настоящем примере каждый из каналов 10 и 11 является стальным капилляром с длиной 2 м и внутренним диаметром 200 мкм. Давление, прикладываемое к резервуару с маслом равно 100 кПа и давление, прикладываемое к резервуару с водой равно 33,3 кПа. Частота системы для подачи жидкостей равна 100 Гц, т.е. каждые 10 мс в соединении 8 образуется микрокапля. Объем этих микрокапель регулируется длиной интервала t_{open} , на котором клапан 14 открыт и клапан 15 закрыт. График, изображенный на Фиг.12 показывает, что объем микрокапель линейно меняется от 0,45 нл до 4 нл при изменении t_{open} от 1 мс до 9 мс. Стандартное отклонение, посчитанное

для 10 микрокапель, образованных при одном значении t_{open} меньше, чем 1% заданного объема (Фиг.12).

В другом примере та же система для подачи жидкостей и те же жидкости используются для образования микрокапель в микрофлюидном модуле, аналогичному тому, который изображен на Фиг.1, но все каналы которого имеют номинальные размеры поперечного сечения 200 на 200 мкм. В этом примере давление, прикладываемое к резервуару с маслом, равно 250 кПа и давление, прикладываемое к резервуару с водой равно 70000 кПа. Система функционирует на частотах f , при f от 10 Гц до 100 Гц. Время t_{open} , на протяжении которого клапан 14 открыт и клапан 15 открыт, меняется с частотой и $t_{open}=(1/2)(1/f)$. График, изображенный на Фиг.13, показывает способность системы для образования микрокапель по требованию охватывать широкий диапазон объемов - от ~20 нл до 20 мкл, и что стандартное отклонение объема микрокапель, образованных для данного значения t_{open} , меньше чем 2% во всем диапазоне и меньше чем 1% в большей части диапазона (-20 нл до 1 мкл).

В другой иллюстративной реализации настоящего изобретения показано, как система, схожая с той, которая схематически изображена на Фиг.8, может быть использована для образования микрокапель жидкостей, поступающих из двух различных образцов, размещенных в каналах 75 и 76. В этом примере канал 75 имеет размеры поперечного сечения (400 на 400 мкм). Образец (~5 мкл), размещенный в канале 75, являлся водным раствором красных чернил. Образец проталкивался потоком непрерывной жидкости гексадекана в соединение 73 и использовался для образования микрокапель с объемами от 80 нл до 330 нл при помощи изменения t_{open} между 50 мс и 500 мс (Фиг.14). В этом же примере, канал 76 имеет поперечное сечение размерами (800 на 800 мкм). Образец (~100 мкл) водного раствора синих чернил размещался в этом канале 76. Этот образец проталкивался потоком непрерывной жидкости гексадекана в соединение 74 и использовался для образования микрокапель объемами от ~0,8 мкл до ~9,8 мкл при помощи изменения t_{open} между 150 мс и 2,8 с (Фиг.14). Микрокапли, образованные в каждом соединении, представляют ошибку в распределении их объемов, меньшую чем 1% от среднего объема.

Пример 2 - проверка химических составов реакционных смесей Приведенная реализация настоящего изобретения, изображенная на Фиг.15, может быть использована для осуществления быстрой проверки химических составов реакционных смесей. Система содержит три независимых соединения для образования микрокапель по требованию, в каждое из которых подается разный раствор. В этом примере жидкости, доставляемые в соединения, являлись чистой водой, водным раствором красных чернил и водным раствором синих чернил. Система регулировалась электронным блоком управления, который выполнял протокол синхронного образования микрокапель во всех трех соединениях таким образом, чтобы все возможные комбинации объемов этих трех типов микрокапель складывались в постоянный объем 1,5 мкл. Эти синхронизированные наборы образовывались на частоте 3 Гц и каждый набор соединялся в соединениях трех микрокапельных генераторов. Соединенная микрокапля содержала заданную комбинацию растворов и чистой воды. График, изображенный на Фиг.15, показывает варианты всех возможных комбинаций концентраций двух типов чернил при шаге в 10% от концентрации входящих потоков.

Пример 3 - анализ сыворотки крови на альбумин и билирубин

Приведенная реализация настоящего изобретения может содержать анализатор альбумина для определения концентрации альбумина в сыворотке крови человека или

животного. Подобный иллюстративный анализатор может использоваться в системе, содержащей два резервуара со сжатой рабочей непрерывной жидкостью, соединенных с микрофлюидным чипом посредством электронно-управляемых клапаном и флюидных каналов, которые соответствуют требованиям по гидравлическому сопротивлению и гидравлической податливости. Микрофлюидная система содержит модуль (например, 83), имеющий два канала, которые обеспечивают размещение образцов сыворотки крови и реагента для образования по требованию микрокапель, содержащих сыворотку крови и реагент, и для соединения этих микрокапель в микрокаплю большего размера, содержащую реакционную смесь. Система также может содержать модуль для смешивания (например, 84) и для спектрофотометрического считывания 87. Геометрия модуля 87 распознавания может быть выбрана таким образом, чтобы получить требуемый оптический путь через микрокаплю. В соответствии с настоящим изобретением, подходящее управление клапанами, доставляющими непрерывную жидкость в чип 83, может позволить образование микрокапель точно определенного и желаемого объема. Это обеспечивает точное определение относительной концентрации сыворотки крови и реагента в реакционной смеси. Это позволяет проверить концентрацию реагента в анализаторе. Кроме того, возможно образовывать множественные микрокапли того же или отличного объема из каждого образца (сыворотки крови или реагента), размещенного ранее в подходящих каналах модуля 83. Контроль над образованием микрокапель, их соединением, смешиванием и скоростью потока через модули 83, 84 и 87 позволяет настроить интервал между соединением микрокапель в реакционную смесь и спектрофотометрическим считыванием результата реакции. Таким образом, показанный анализатор обеспечивает определение концентрации альбумина в сыворотке крови посредством колориметрического измерения и для оптимизации анализа альбумина, т.е. природы и состава реагентов и интервала между смешиванием и измерением на оптимальную чувствительность и разрешение анализатора, необходима минимизация объема сыворотки крови и реагента, необходимого для осуществления проверки и минимизация времени инкубирования между соединением реагентов и считыванием результатов.

В другом примере та же микрофлюидная система может быть использована для размещения некоторого числа различных образцов сыворотки крови в модуле 83 и образца реагента для колориметрического анализа концентрации альбумина в том же модуле 83. После такого размещения, система может осуществлять анализы над различными образцами сыворотки крови.

В другом примере, та же система может быть использована для размещения образца сыворотки крови в модуле 83 и некоторого числа различных реагентов для различных одношаговых анализов сыворотки крови. После такого размещения система может осуществлять различные анализы одиночного образца сыворотки крови.

В другом примере возможно размещение некоторого числа образцов сыворотки крови и некоторого числа реагентов и проведение нескольких различных одношаговых колориметрических анализов последовательностей различных образцов сыворотки крови.

В другом примере возможно выполнение двухшаговых колориметрических анализов сыворотки крови. К примеру, возможно выполнение анализа билирубина. Анализ может быть выполнен в микрофлюидной системе, изображенной на Фиг.9. В этом примере возможно размещение образца сыворотки крови в модуле 83 и размещение образца первого реагента для двухшагового колориметрического анализа билирубина в модуле 85. Анализ включает шаги синхронного образования микрокапель сыворотки

крови из образца сыворотки крови и из раствора первого реагента из его образца в модуле 83. Затем эти микрокапли соединяются в модуле 83, смешиваются в модуле 84 и перемещаются в модуль 85. Реакционная смесь прибывает в соединение 91 синхронно с образованными по требованию микрокаплями раствора второго реагента, соединяется с этими микрокаплями второго реагента и перемещается в модуль 86 для смешивания. После заданного интервала времени микрокапля, содержащая смесь сыворотки крови и двух реагентов, протекает в модуль 87 для спектрофотометрического измерения результата реакции. Система позволяет производить множественные реакции на одиночных образцах сыворотки крови и реагентов, размещенных в модуле 83.

Подходящий контроль образования микрокапель, их соединения, скорости потока через смешивающие модули позволяют настроить 1) концентрацию всех компонентов конечных реакционных смесей и 2) интервалы между соединением сыворотки крови с первым реагентом и добавлением второго реагента и между добавлением второго реагента и спектрофотометрическим измерением. Подобный контроль позволяет выполнять колориметрический анализ концентрации билирубина в сыворотке крови и оптимизировать состав реакционной смеси и интервалы между добавлением реагентов и спектрофотометрическим измерением для минимизации времени и объема реакции и максимизации чувствительности и разрешения анализатора.

В другом примере возможно размещение числа различных образцов сыворотки крови в модуле 83 и автоматическое выполнение количества анализов числа различных образцов сыворотки крови. В другом примере возможно размещение числа образцов сыворотки крови в модуле 83 и числа образцов первого реагента в модуле 83 и числа образцов второго реагента в модуле 85 для автоматического выполнения последовательности различных двухшаговых колориметрических анализов числа различных образцов сыворотки крови.

В другом примере система, изображенная на Фиг.9, может быть использована для выполнения одношагового колориметрического анализа. В этом примере, микрокапля сыворотки крови, образованная в модуле 83, может быть соединена с микрокаплей реагента в том же модуле, затем смешана в модуле 84, перемещена через модуль 85 без добавления каких-либо дополнительных реагентов в модуль 86 и, наконец, в модуль 87 для спектрофотометрического измерения.

В другом примере, число образцов сыворотки крови может быть размещено в первом микрокапельном генераторе в модуле 83 и число реагентов для одношаговых анализов и число первых реагентов для двухшаговых анализов может быть размещено во втором микрокапельном генераторе в модуле 83, и число соответствующих вторых реагентов для двухшаговых анализов может быть размещено в модуле 85 для любой автоматической последовательности одно- и двухшаговых анализов числа различных образцов сыворотки крови.

Пример 4 - кинетические анализы

В другом примере система, схематически изображенная на Фиг.16, может быть использована для выполнения кинетических анализов. К примеру, образец сыворотки крови может быть размещен в модуле 125 и реагент для кинетического анализа концентрации α -Амилазы может быть размещен во втором микрокапельном генераторе в том же модуле 125. Эти микрокапли соединяются в том же модуле 125, смешиваются в модуле 126, протекают через модули 127 и 128 во флюидный канал, соединяющий модули 129 и 139, используемый для многократных измерений. После перемещения последовательности микрокапель 138, содержащих те же или различные концентрации сыворотки крови и реагента, во флюидный канал, соединяющий модули 129 и 139,

возможно использовать клапаны 130, 131, 132 и 133 для расположения и задержки любой микрокапли в последовательности в окне датчика 135 в модуле 134 распознавания для выполнения последовательности спектрофотометрических измерений любой микрокапли. Также возможно (при помощи клапанов 130, 131, 132 и 133) многократно
5 перемещать последовательность микрокапель 138 вперед и назад через окно 135 датчика с целью выполнения последовательности спектрофотометрических измерений всех частей микрокапель в последовательности 138.

Также возможно использование той же системы для образования последовательности реакционных смесей, каждая из которых имеет ту же или отличную концентрацию
10 сыворотки крови, и настройки интервала между смешиванием реагента с сывороткой крови и первым спектрофотометрическим измерением и интервалов между последовательными спектрофотометрическими измерениями каждой микрокапли в последовательности, осуществляемыми, когда последовательность микрокапель перемещается вперед и назад через модуль 134 распознавания. Система может
15 использовать датчики 136 и 137 присутствия микрокапель для контроля положения последовательности микрокапель 138 в канале, соединяющем модули 129 и 139.

Аналогично, система, изображенная на Фиг.16, может быть использована для выполнения двухшаговых кинетических анализов. К примеру, возможно анализировать концентрацию аланинаминотрансферазы в сыворотке крови. Образцы сыворотки крови
20 и первого реагента размещаются в модуле 125, и образцы второго реагента размещаются в модуле 127. Образованные по требованию микрокапли сыворотки соединяются с синхронно образованными микрокаплями первого реагента в модуле 125, соединенные микрокапли смешиваются в модуле 126 и затем, в модуле 127, эти смешанные микрокапли соединяются с образованными по требованию микрокаплями второго
25 реагента. Итоговые микрокапли смешиваются в модуле 128 и перемещаются в канал между модулями 129 и 139. Затем последовательность микрокапель 138 либо однократно перемещается через датчик 134 с задержкой каждой микрокапли в окне датчика 135 на промежуток времени, позволяющий получить число измерений, либо многократно перемещается вперед и назад через окно 135 датчика для выполнения
30 последовательности измерений каждой микрокапли в последовательности 138.

Аналогично, возможно использование той же системы для выполнения множественных реакций на микрокаплях, образованных из одиночных образцов сыворотки крови, первого и второго реагента, для оптимизации анализа для минимизации времени и объема реакции и максимизации разрешения и чувствительности
35 считывания. Аналогично, возможно размещение числа образцов сыворотки крови и числа реагентов для одношаговых кинетических анализов и первых реагентов для двухшаговых кинетических анализов в модуле 125 и числа вторых реагентов для двухшаговых кинетических анализов числа различных образцов сыворотки крови. В этом случае может быть предпочтительно использование датчиков 136 и 137 присутствия
40 микрокапель для подходящего управления потоком последовательности микрокапель 138 через датчик 135.

Аналогично, возможно размещение образцов, реагентов для одношаговых и двухшаговых фиксированных (одиночное измерение) анализов и реагентов для одношаговых и двухшаговых кинетических анализов и выполнение всех этих типов
45 анализов в автоматической последовательности. В предпочтительной, но не ограничивающей реализации, сначала из последовательности реакционных смесей образуются микрокапли для фиксированных анализов, а затем из последовательности реакционных смесей образуются смеси для кинетических анализов. В таком примере,

последовательность микрокапель 138 сначала перемещается вперед для выполнения фиксированных (одиночных) спектрофотометрических измерений первой части последовательности и первой последовательности спектрофотометрических измерений для кинетических анализов, и затем указанная последовательность микрокапель 138 перемещается обратно до того момента, когда будет возможно прохождение всех смесей для кинетического анализа с целью многократного измерения.

В других примерах система, рассмотренная выше, может быть использована для выполнения турбидиметрических анализов присутствия и концентрации антител и антигенов.

В других примерах, система, рассмотренная выше, может быть использована для выполнения фиксированных и кинетических анализов и измерений, выходящих за рамки клинической диагностики. К примеру, возможно использование систем, описанных выше, для оптимизации концентраций реакционных смесей и времени инкубирования и условий (т.е. температуры, освещенности) в химическом синтезе.

Пример 5 - микробиологические анализы на токсичность

В другом не ограничивающем примере, система, выполненная в соответствии с настоящим изобретением, может быть использована для определения токсичности химических соединений и, в частности, для определения минимальной ингибиторной концентрации (MIC) этих соединений. MIC - это наименьшая концентрация бактерицидного или бактериостатического агента, задерживающего рост микроорганизмов. В этом примере микрофлюидная система может содержать модуль, аналогичный модулю 125, но содержащий не два, а N соединений для образования по требованию микрокапель из различных источников или образцов, размещенных в модуле. В этом примере, система используется для синхронного образования N микрокапель заданного объема, каждая из которых содержит взвесь микроорганизмов, и растворов бактерицидных или бактериостатических агентов, культивирующей среды и растворов для колориметрического или флуоресцентного анализа культуры микроорганизмов. В предпочтительных не ограничивающих примерах, взвесь клеток имеет концентрацию 5×10^5 CFU (способных образовывать колонии единиц), среда включает в себя среду Мюллера-Хинтона или среду Лурия-Бертани или другую среду, преимущественную для штаммов микроорганизмов или для данного анализа на токсичность. Распознавание роста микроорганизмов может включать денситометрию посредством исследования поглощения или исследования интенсивности флуоресценции от маркера метаболизма (например, Аламар Блю). В таком примере N образованных по требованию микроклеток соединяются в инкубационную смесь, итоговая микрокапля смешивается в модуле, аналогичном модулю 126, и затем последовательность инкубационных смесей перемещается во флюидный канал, в котором она инкубируется в течение необходимого времени. Затем последовательность микрокапель перемещается через модуль распознавания для считывания роста (или уровня метаболизма) колонии микроорганизмов в микрокапле.

В другом примере, выполняются измерения последовательности инкубационных смесей, каждая из которых содержит различный набор концентраций бактерицидов и/или бактериостатов и может использоваться для определения токсичности смесей бактерицидов и/или бактериостатов и для определения эпигенетических взаимодействий между этими соединениями.

В другом не ограничивающем примере возможно использование системы, схожей с системой, схематически изображенной на Фиг.16, для образования последовательности инкубационных смесей, каждая из которых содержит заданную концентрацию числа

бактерицидов и/или бактериостатов, и для выполнения множественных измерений плотности колоний в микрокаплях или уровня метаболизма колоний в микрокаплях для наблюдения роста микробиальных колоний как функции от состава инкубационных смесей.

- 5 В другом примере возможно использование схожей системы для наблюдения скорости роста бактериальных колоний в зависимости от состава среды и оптимизации состава среды для наиболее быстрого роста выбранных штаммов микроорганизмов.

Формула изобретения

- 10 1. Система (1) для подачи жидкостей в микрофлюидную подсистему, содержащая микрофлюидную подсистему и подающую часть для подачи жидкостей в указанную микрофлюидную подсистему, содержащую
- первый клапан (14, 29, 46) и первый флюидный канал (10, 25, 28) для соединения указанного первого клапана (14, 29, 46) с указанной микрофлюидной подсистемой и
- 15 подачи первой жидкости, и
- второй клапан (15) и второй флюидный канал (11) для соединения указанного второго клапана (15) с указанной микрофлюидной подсистемой и подачи второй жидкости,
- отличающаяся тем, что
- 20 указанный первый клапан (14, 29, 46) и указанный второй клапан (15) выполнены с возможностью закрытия с временным разрешением не хуже 100 мс,
- и
- параметры указанных первого флюидного канала (10, 25, 28), второго флюидного канала (11), первого клапана (14, 29, 46) и второго клапана (15) выбраны таким образом,
- 25 что выполняются следующие условия:
- гидравлическое сопротивление R_{out} указанного первого флюидного канала (10, 25, 28) или указанного второго флюидного канала (11) по меньшей мере в 10 раз выше, предпочтительно по меньшей мере в 100 раз выше, чем гидравлическое сопротивление R_{in} ввода указанного первого клапана (14, 29, 46) или второго клапана (15)
- 30 соответственно,

а

$$\begin{aligned} & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^4 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ & \text{предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^3 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ & \text{более предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^2 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ & \text{наиболее предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1}, \end{aligned}$$

- 40 где индекс $i=1/2$ относится к первому/второму флюидному каналу, и где E_i - модуль Юнга материала, из которого изготовлен соответствующий флюидный канал, L_i - длина соответствующего флюидного канала, A_i - площадь просвета соответствующего флюидного канала и σ_{R_i} - постоянная, характеризующая геометрию соответствующего флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_i флюидного канала:

$$R_i = \sigma_{R_i} (L_i \mu / A_i^2)$$

где μ - коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей соответствующий флюидный канал при измерениях R_i .

2. Система по п. 1, отличающаяся тем, что указанный первый флюидный канал (10, 25, 28) и/или указанный второй флюидный канал (11) изготовлен из материала, выбранного из группы, включающей силиконовую резину, Тефлон, полиэтилен, термопластик (РЕЕК), стекло или сталь.

3. Система по п. 1, отличающаяся тем, что гидравлическая податливость, связанная с упругостью указанного первого флюидного канала (10, 25, 28) C_{c1} или указанного второго флюидного канала (11) C_{c2} , не больше чем 10^{-16} м³/Па, предпочтительно не больше чем 10^{-18} м³/Па, еще более предпочтительно не больше чем 10^{-20} м³/Па.

4. Система по п. 1, отличающаяся тем, что гидравлическое сопротивление R_{out} указанного первого флюидного канала (10, 25, 28) или второго флюидного канала (11) выше, чем гидравлическое сопротивление указанной микрофлюидной подсистемы, предпочтительно по меньшей мере в 10 раз выше, еще более предпочтительно по меньшей мере в 100 раз выше.

5. Система по п. 1, отличающаяся тем, что по меньшей мере один из указанных клапанов (14, 15, 29, 46) выполнен с возможностью закрытия с временным разрешением не хуже 10 мс.

6. Система по п. 1, отличающаяся тем, что по меньшей мере один из указанных клапанов (14, 15, 29, 46) включает пьезоэлектрический клапан, мембранный клапан или микроклапан.

7. Система по п. 1, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит электрический регулятор (124) по меньшей мере одного из указанных клапанов (14, 15, 29, 46).

8. Система по п. 7, отличающаяся тем, что она содержит установку для подачи в указанную микрофлюидную подсистему последовательности капель (47, 49) третьей жидкости, несмешиваемой с указанной первой жидкостью и указанной второй жидкостью, которая содержит вход (40) для капель (47) указанной третьей жидкости, соединенный с резервуаром низкого давления или разрежением таким образом, что открытие указанного клапана (43) вызывает втягивание указанных капель (47) указанной третьей жидкости из указанного входа (40) в систему.

9. Система по п. 8, отличающаяся тем, что она содержит установку для подачи в указанную микрофлюидную подсистему последовательности капель (36, 38) третьей жидкости, несмешиваемой с указанной первой жидкостью и указанной второй жидкостью, взвешенной в указанной первой жидкости или указанной второй жидкости, содержащую вход (7, 9) для соединения с источником (35, 39) указанной последовательности капель (36, 38) указанной третьей жидкости.

10. Система по п. 9, отличающаяся тем, что указанный источник последовательности капель является флюидным каналом (39) или пипеткой (35).

11. Система по п. 1, отличающаяся тем, что она содержит соединение (54) указанного первого флюидного канала (51) и указанного второго флюидного канала (61) и дополнительно содержит клапан, соединенный посредством ввода (58) с третьим флюидным каналом (60), идущим от указанного соединения (54) ко вводу (57), при этом указанный клапан соединен с резервуаром низкого давления или разрежением, так что открытие указанного клапана уменьшает гидравлическое сопротивление по меньшей мере в части указанного флюидного канала (60).

12. Система по пп. 8 и 9, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит по меньшей мере один датчик (56, 81, 82, 121, 122, 136, 137) потока во флюидном канале,

предпочтительно фотодатчик, связанный с указанным электрическим регулятором (124), так что указанный клапан (14, 15, 29, 46) выполнен с возможностью открытия или закрытия в соответствии с сигналами от указанного датчика (56, 81, 82, 121, 122, 136, 137).

5 13. Система по п. 12, отличающаяся тем, что указанный датчик (56) расположен и выполнен с возможностью распознавания и передачи указанному электрическому регулятору (124) сигнала после такого распознавания о приближении головной части одной из указанных капель (50) к указанному соединению (54) указанного первого флюидного канала (51) и указанного второго флюидного канала (61).

10 14. Система по п. 1, отличающаяся тем, что она содержит по меньшей мере два дополнительных клапана (98, 109, 113, 130, 132, 100, 111, 115, 131, 133), при этом первый из указанных клапанов (98, 109, 113, 130, 132) соединен с источником давления (97, 108, 112) выше второго из указанных клапанов (100, 111, 115, 131, 133), соединенного с той же частью флюидного канала (94) так, что открытие обоих указанных клапанов (98, 15 109, 113, 130, 132, 100, 111, 115, 131, 133) вызывает поток жидкости в указанной части флюидного канала (94) в направлении от первого из указанных клапанов (98, 109, 113, 130, 132) к второму из указанных клапанов (100, 111, 115, 131, 133), а закрытие обоих указанных клапанов (98, 109, 113, 130, 132, 100, 111, 115, 131, 133) вызывает остановку потока жидкости в указанной части флюидного канала (94).

20 15. Система по п. 14, отличающаяся тем, что она содержит две пары клапанов (109, 113, 130, 132, 111, 115, 131, 133), при этом в каждой паре первый из указанных клапанов (109, 113, 130, 132) соединен с источником давления (108, 112) выше второго из указанных клапанов (115, 111, 133, 131), и указанные пары клапанов соединены с одной частью флюидного канала, так что открытие обоих клапанов в указанной первой паре (109 и 25 115, 130 и 133) при закрытии обоих клапанов в указанной второй паре (113 и 111, 132 и 131) вызывает поток жидкости в указанной части флюидного канала в одном направлении, и открытие обоих клапанов в указанной второй паре (113 и 111, 132 и 131) при закрытии обоих клапанов в указанной первой паре (109 и 115, 130 и 133) вызывает поток жидкости в указанной части флюидного канала в противоположном 30 направлении.

16. Система (84, 86, 126, 128) по п. 1, отличающаяся тем, что указанная микрофлюидная подсистема содержит меандрическую часть флюидного канала для смешивания жидкостей.

35 17. Система по п. 1, отличающаяся тем, что она содержит модуль для распознавания (116, 134), предпочтительно для спектрофотометрического распознавания, содержащий средства доставки пучка излучения во флюидный канал с жидкостью, предпочтительно волновод, и датчик излучения, проходящего через указанную жидкость.

18. Система по п. 1, отличающаяся тем, что указанная микрофлюидная система является одноразовой.

40 19. Система по п. 1, отличающаяся тем, что указанная микрофлюидная подсистема содержит две или более соединяемые с возможностью разъединения части.

20. Система по п. 1, отличающаяся тем, что указанный первый клапан, указанный второй клапан, указанный первый флюидный канал или указанный второй флюидный канал встроен в указанную подсистему.

45 21. Способ производства микрокапель по требованию в системе, содержащей первый флюидный канал и второй флюидный канал, образующие соединение, который включает этапы:

- подачи первой жидкости в указанную микрофлюидную подсистему через первый

клапан и первый флюидный канал,

- подачи второй жидкости в указанную микрофлюидную подсистему через второй клапан и второй флюидный канал, причем

поток указанной первой жидкости регулируют открытием и закрытием указанного первого клапана и поток указанной второй жидкости регулируют открытием и закрытием указанного второго клапана, так что указанный второй клапан закрыт, когда указанный первый клапан открыт, и указанный второй клапан открыт, когда указанный первый клапан закрыт, чтобы образовывать указанные микрокапли в указанном соединении первого и второго флюидного канала,

отличающийся тем, что

параметры указанного первого флюидного канала, второго флюидного канала, первого клапана и второго клапана выбраны таким образом, что выполняются следующие условия:

гидравлическое сопротивление R_{out} указанного первого флюидного канала или указанного второго флюидного канала по меньшей мере в 10 раз выше, предпочтительно по меньшей мере в 100 раз выше, чем гидравлическое сопротивление R_{in} ввода указанного первого клапана или указанного второго клапана

а

$$\begin{aligned} & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^4 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ & \text{предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^3 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ & \text{более предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10^2 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1} \\ & \text{наиболее предпочтительно} \\ & \frac{L_i^2}{A_i} < 10 \text{Pa}^{-1} \alpha_{R_i}^{-1} \left(0.5 \cdot 10^{-9} \text{Pa}^{-1} + \frac{1}{E_i} \right)^{-1}, \end{aligned}$$

где индекс $i=1/2$ относится к первому/второму флюидному каналу, и где E_i - модуль Юнга материала, из которого изготовлен соответствующий флюидный канал, L_i - длина соответствующего флюидного канала, A_i - площадь просвета соответствующего флюидного канала и σ_{R_i} - постоянная, характеризующая геометрию соответствующего флюидного канала в уравнении для гидравлического сопротивления R_i флюидного канала:

$$R_i = \sigma_{R_i} (L_i \mu / A_i^2)$$

где μ - коэффициент динамической вязкости жидкости, заполняющей соответствующий флюидный канал при измерениях R_i .

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что используют систему, которая содержит первый флюидный канал и второй флюидный канал, в которой указанный первый флюидный канал (10, 25, 28) и/или указанный второй флюидный канал (11) изготовлен из материала, выбранного из группы, включающей силиконовую резину, Тефлон, полиэтилен, термопластик (ПЕЕК), стекло или сталь.

23. Способ по п. 21 или 22, отличающийся тем, что указанная вторая жидкость является непрерывной жидкостью и смачивает стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанная первая жидкость не смачивает стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме и является несмешиваемой с указанной второй жидкостью.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанные микрокапли образованы по требованию благодаря потоку указанной первой и второй жидкости через соединение флюидных каналов, по которым протекают указанные жидкости.

5 26. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанная первая жидкость является непрерывной жидкостью и смачивает стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме, а указанный способ дополнительно включает этап подачи в систему третьей жидкости, не смачивающей стенки микроканалов в указанной микрофлюидной подсистеме и не являющейся смешиваемой с указанной первой жидкостью и указанной второй жидкостью.

10 27. Способ по п. 26, отличающийся тем, что указанная третья жидкость подана в виде капель через ввод, проходящий во флюидный канал, и после переноса капель в этот флюидный канал выпуск из флюидного канала закрывают и впуск во флюидный канал открывают с целью заполнения ввода непрерывной жидкостью.

15 28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что он включает этап подачи в систему последовательности капель указанной третьей жидкости, распределенной в указанной первой или второй жидкости.

20 29. Способ по любому из пп. 24-28, отличающийся тем, что начала и концы интервалов, на которых указанный первый клапан открыт, смещены во времени по отношению к началам и концам интервалов времени, на которых указанный второй клапан закрыт.

25 30. Способ по п. 29, отличающийся тем, что временные сдвиги между управляющими импульсами, посланными указанному первому и второму клапану с целью их открытия или закрытия, выбраны так, чтобы компенсировать или использовать электромеханическую инерцию указанных клапанов так, что временные интервалы, на которых указанные клапаны открыты или закрыты, по существу синхронизированы.

31. Способ по п. 30, отличающийся тем, что указанные управляющие импульсы являются прямоугольными импульсами.

30 32. Способ по п. 31, отличающийся тем, что он также содержит этап производства реакционных смесей, имеющих требуемую концентрацию реагентов, путем соединения указанных микрокапель реагентов, образованных по требованию и имеющих требуемые объемы.

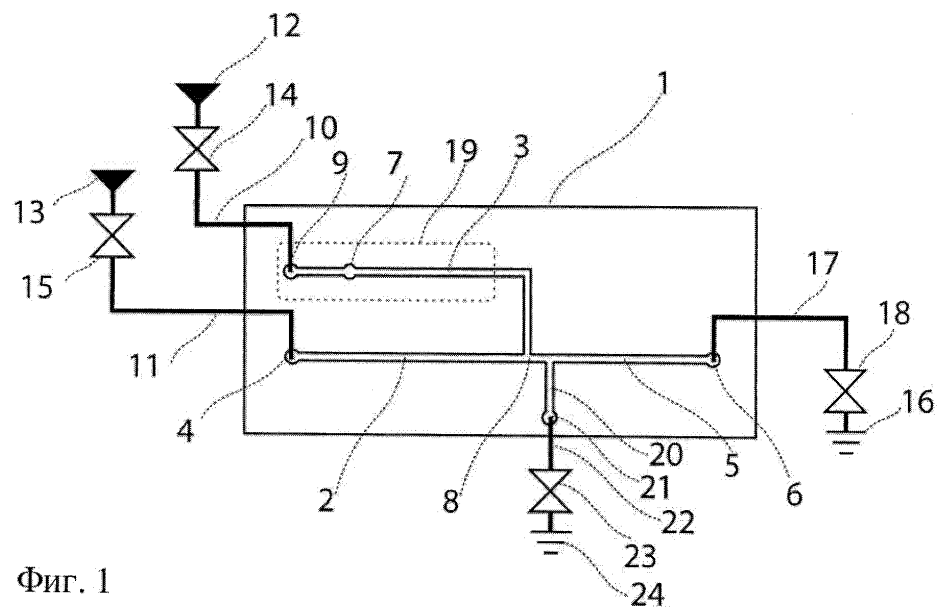
33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что микрокапли, образованные по требованию, имеют объем от 0,01 нл до 10 мл.

35

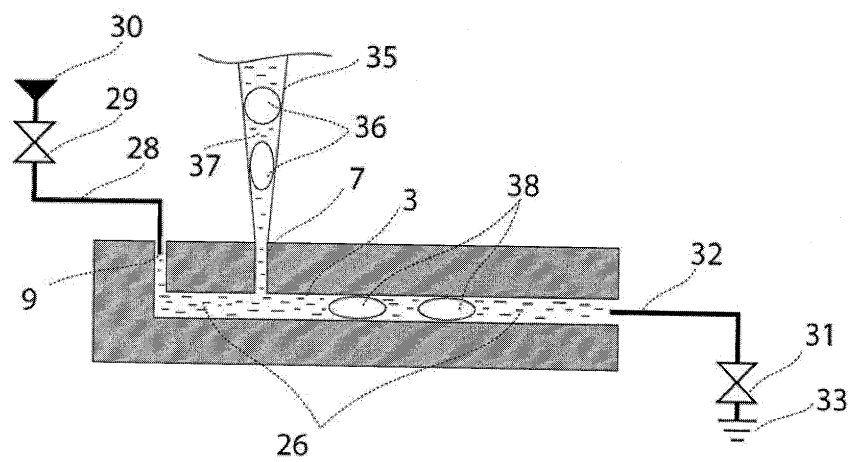
40

45

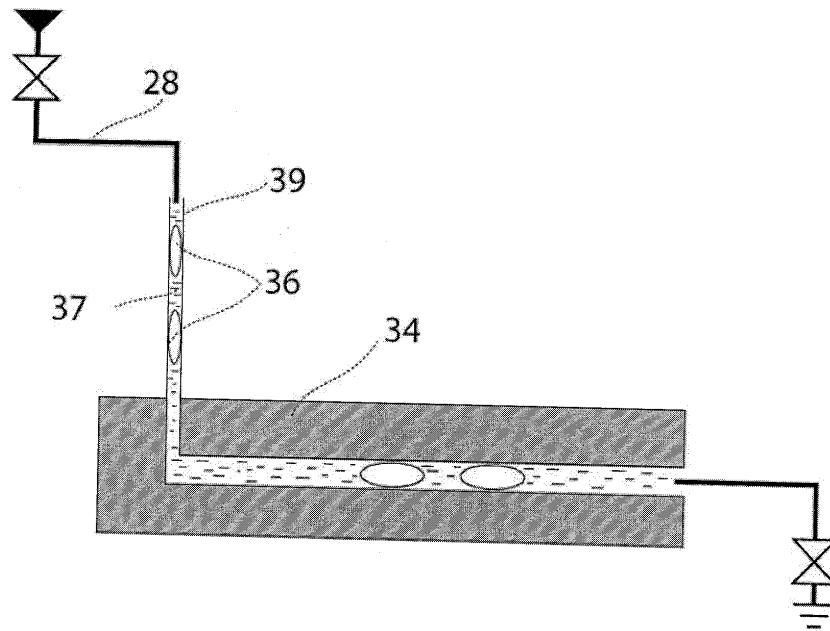
1 / 9



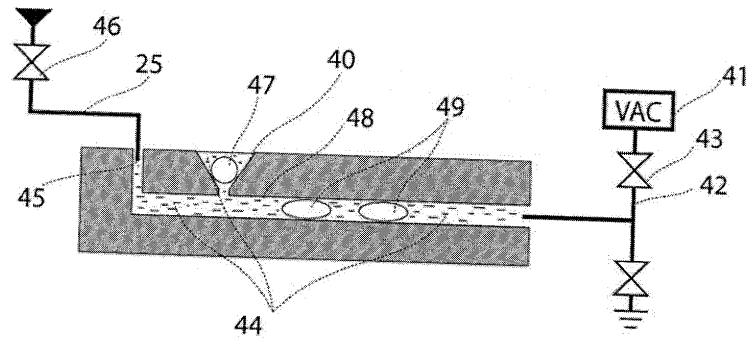
Фиг. 1



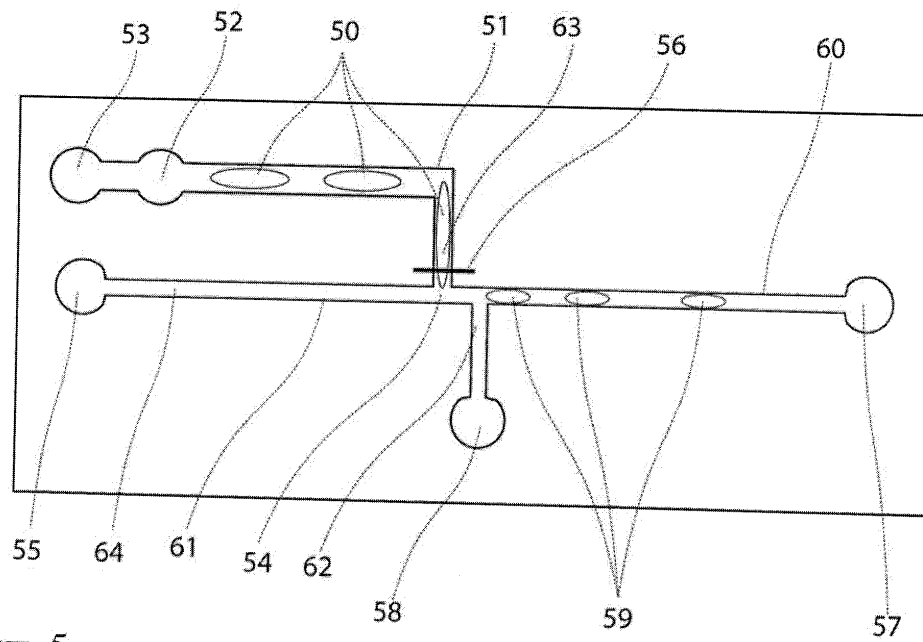
Фиг. 2



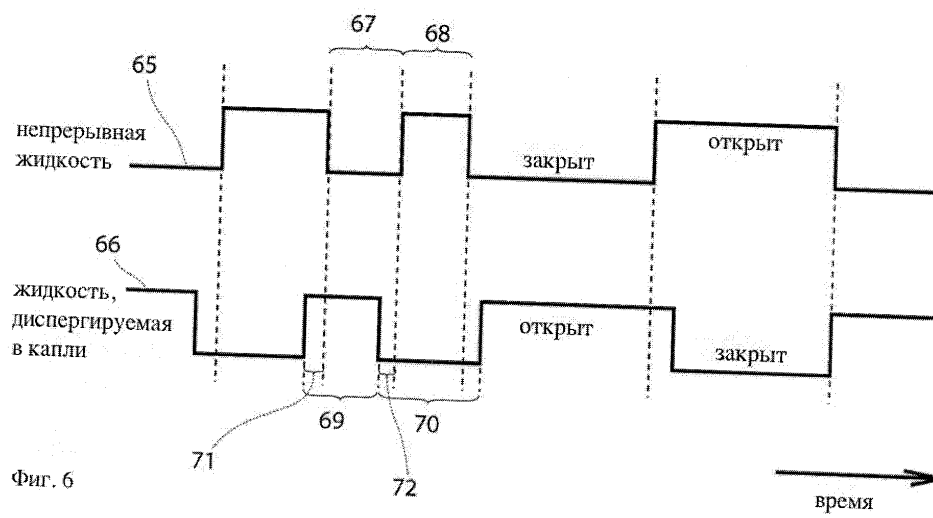
Фиг. 3



Фиг. 4

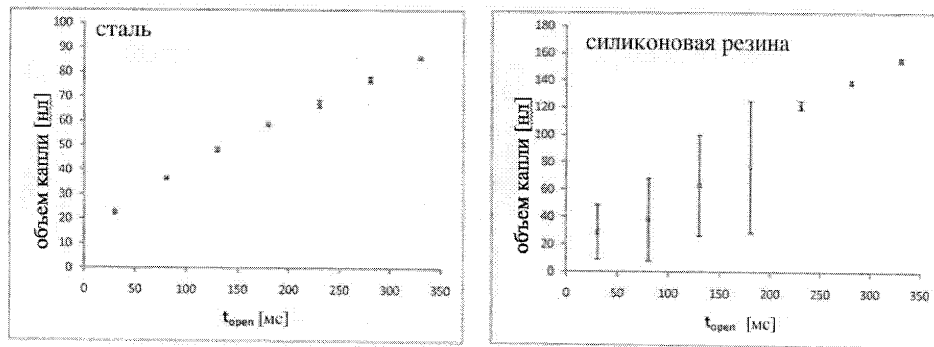


Фиг. 5

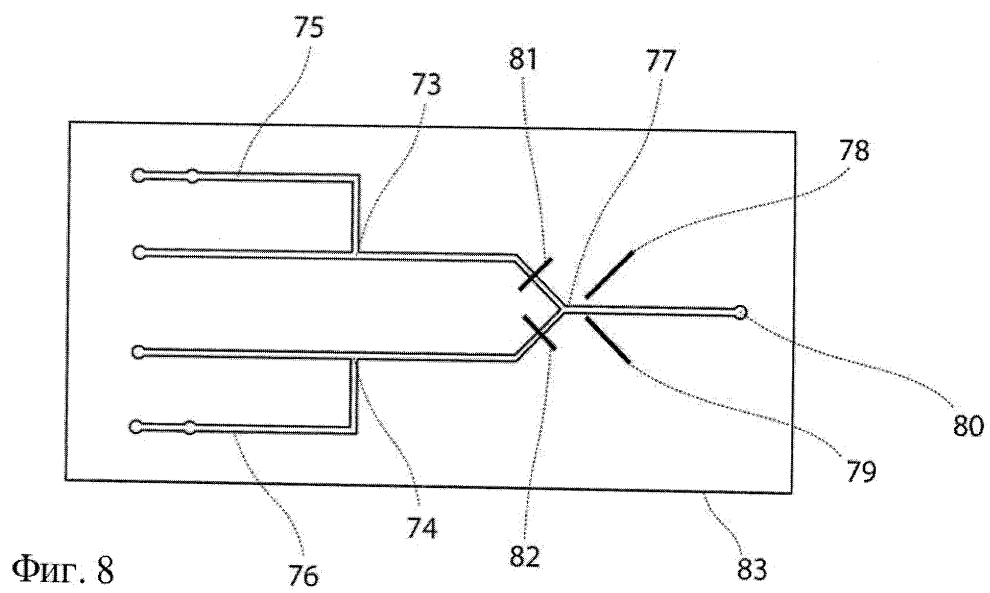


Фиг. 6

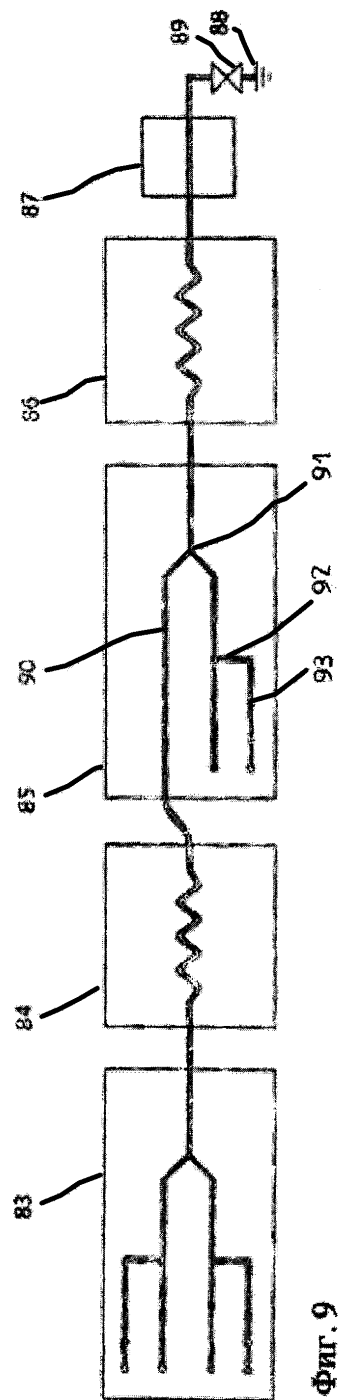
4 / 9



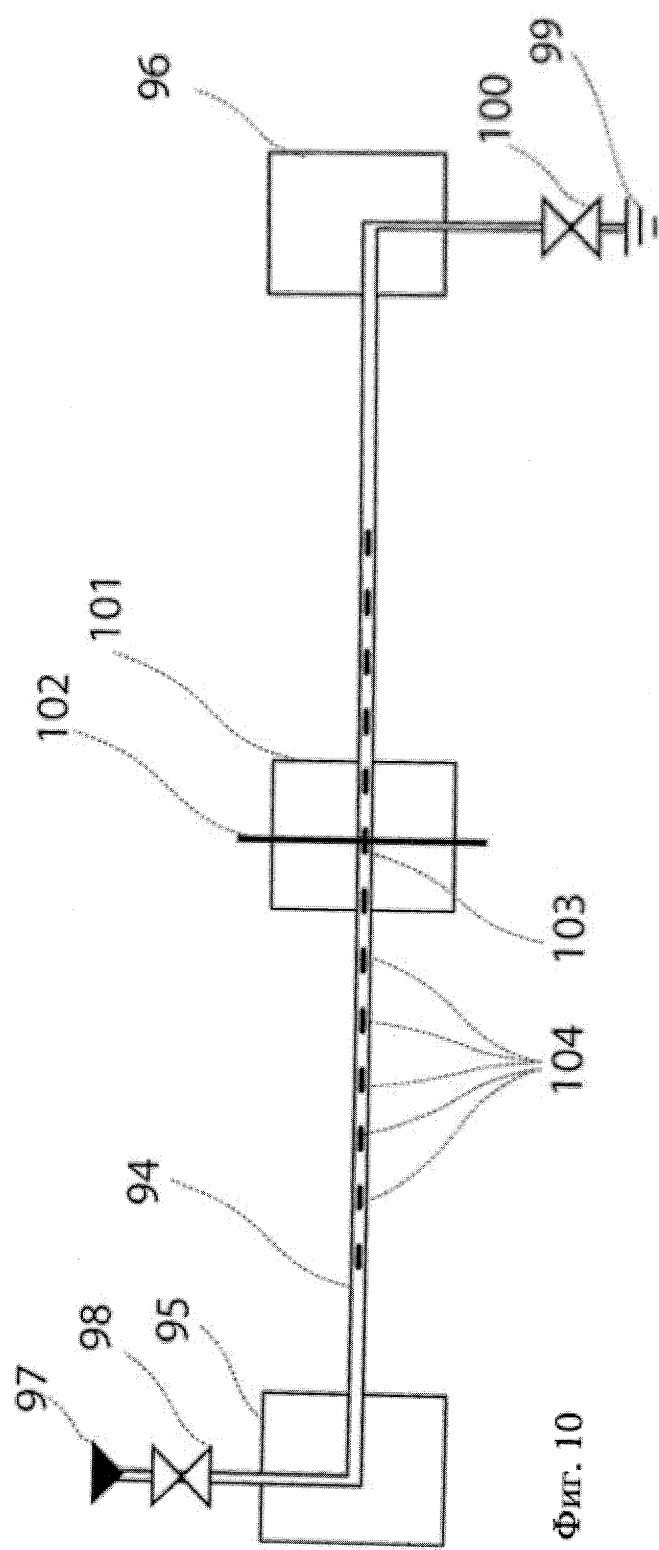
Фиг. 7



Фиг. 8

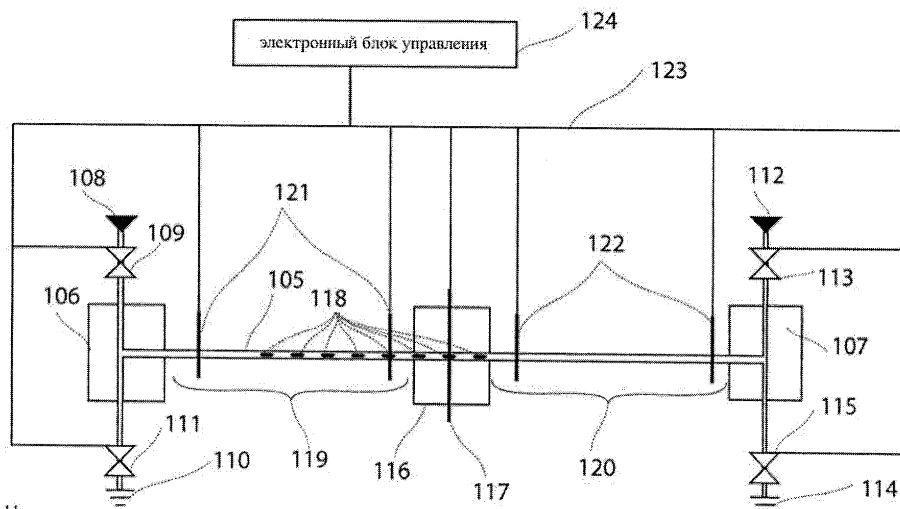


6 / 9

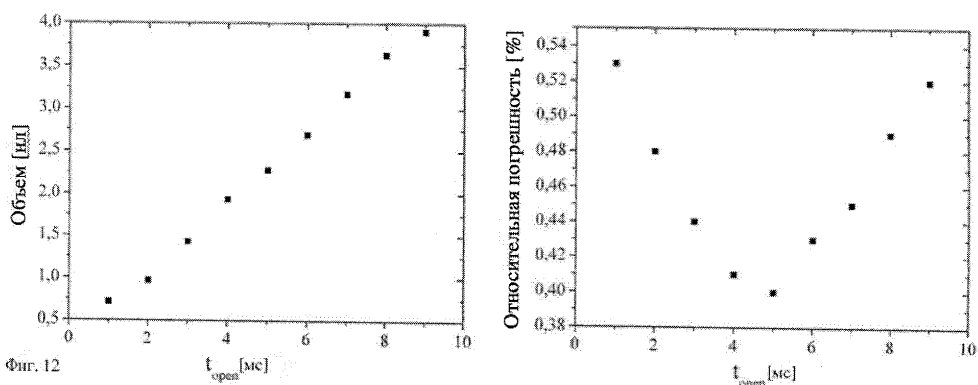


Фиг. 10

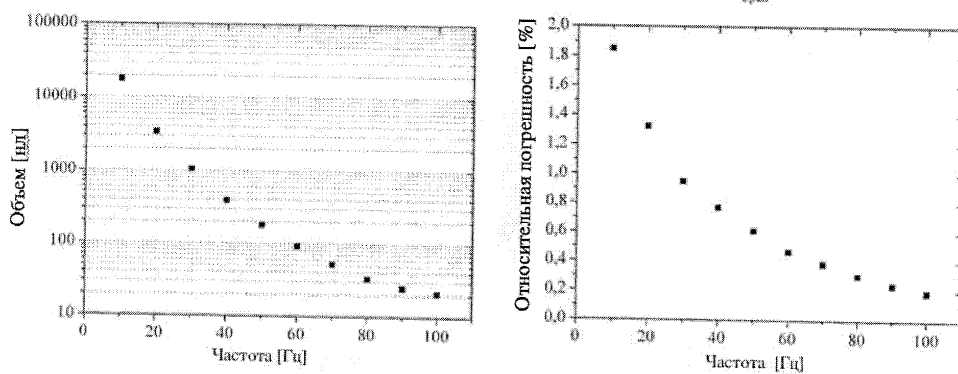
7 / 9



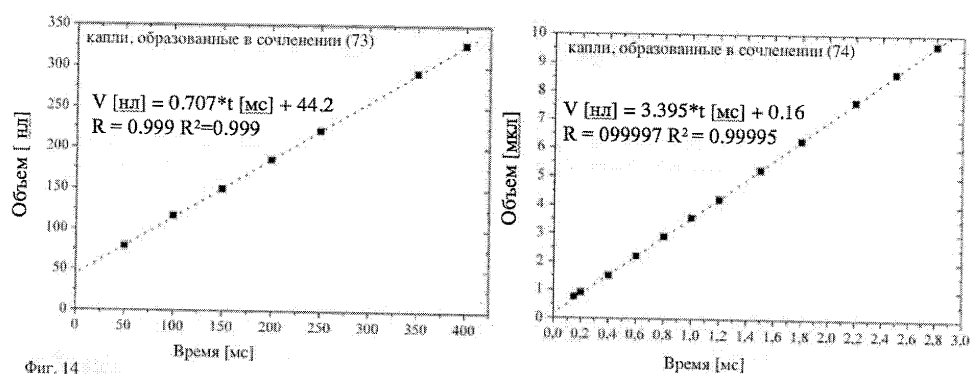
Фиг. 11



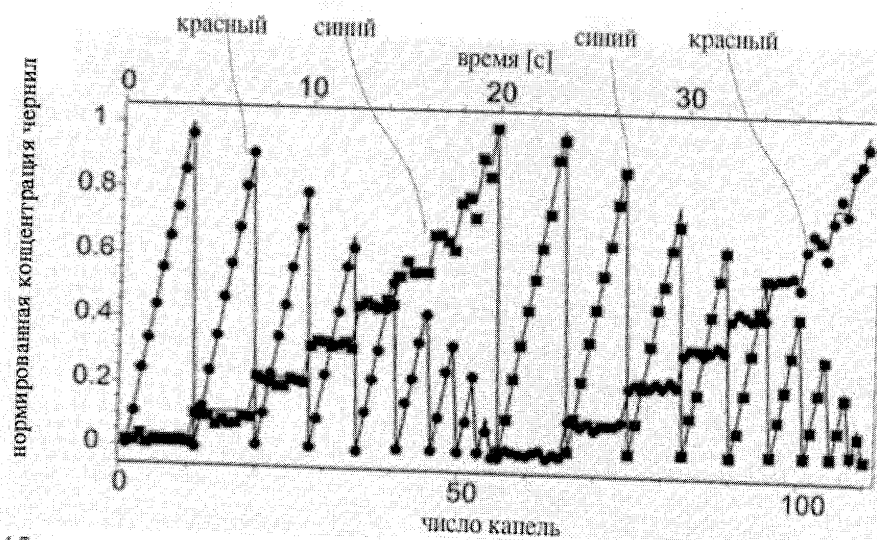
Фиг. 12



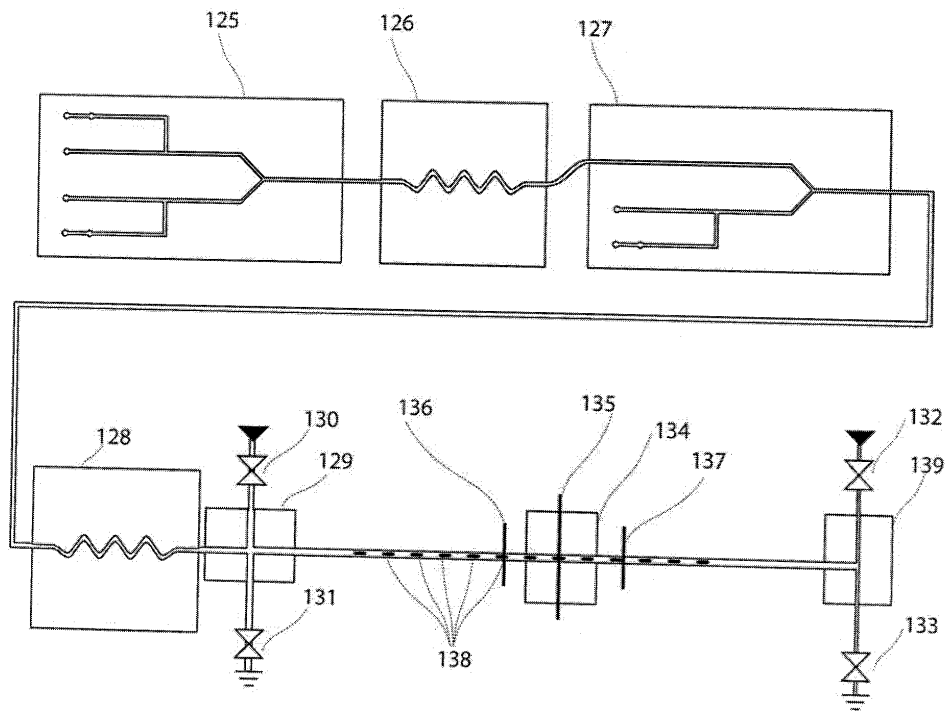
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16