

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 979 183**

51 Int. Cl.:

B03C 5/02 (2006.01)

G01N 15/10 (2014.01)

G01N 15/14 (2014.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.07.2006 E 21161552 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2024 EP 3851196**

54 Título: **Método y aparato para la manipulación y/o detección de partículas**

30 Prioridad:

19.07.2005 IT BO20050481

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.09.2024

73 Titular/es:

**MENARINI SILICON BIOSYSTEMS S.P.A. (100.0%)
Via G. di Vittorio, 21 B/3
40013 Castel Maggiore (BO), IT**

72 Inventor/es:

**MEDORO, GIANNI y
MANARESI, NICOLO'**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 979 183 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método y aparato para la manipulación y/o detección de partículas

Campo de la invención

5 La presente invención se relaciona con un método y un aparato para la manipulación y/o detección de partículas. La invención encuentra aplicación principalmente en la implementación de protocolos biológicos en células individuales.

Antecedentes de la invención

10 La patente No. PCT/WO 00/69565 a nombre de G. Medoro describe un aparato y un método para la manipulación de partículas mediante el uso de jaulas de potencial dielectroforético cerradas. El método descrito enseña cómo controlar la posición de cada partícula independientemente de todas las demás en un espacio bidimensional. La fuerza utilizada para atrapar las partículas en suspensión es la dielectroforesis negativa. El control individual de las operaciones de manipulación se realiza programando elementos de memoria y circuitos asociados a cada elemento de una matriz de electrodos integrados en un mismo sustrato. Sigue una importante limitación por las dimensiones de cada trampa, limitada por la necesidad de integrar en el espacio correspondiente a un electrodo individual la electrónica necesaria para la programación. Además, descrito en G. Medoro et al., 3, 317-325 (2003) IEEE Sensors Journal es un aparato para la manipulación de celdas con base en el uso de electrodos alargados paralelos, cuyo control no requiere el uso de transistores integrados en el sustrato en sí. La forma y distribución espacial de los electrodos alargados permite la creación de trampas de forma cilíndrica, mediante las cuales es posible atrapar grupos de partículas. Sigue una limitación importante debido a la imposibilidad de la manipulación independiente de partículas individuales.

20 Otros métodos para la manipulación de partículas con base en dielectroforesis no permiten el control independiente de una multiplicidad de partículas, como describen T. Schnelle et al., Biochim. Biophys. Acta 1157, 127 - 140 (1993). Sigue una limitación importante en las aplicaciones que requieren el estudio de la interacción entre una multiplicidad de células.

25 Otros métodos con base en dielectroforesis requieren el contacto directo entre las células y el sustrato, ya que hacen uso de la fuerza de dielectroforesis positiva (PDEP). En particular, se describe en J. Suehiro, J. Phys. D: Appl. Phys., 31, 3298-3305 (1998) un método que prevé la creación de trampas capaces de atraer al sustrato una partícula mediante fuerzas de dielectroforesis positiva (PDEP). En consecuencia, la partícula se adhiere al sustrato, desde el cual puede desprenderse y empujarse hacia una nueva región mediante una distribución adecuada de fuerza de dielectroforesis negativa (NDEP). Además del riesgo de causar daños irreparables a las células, siguen algunas limitaciones importantes, tal como por ejemplo la imposibilidad de utilizar soluciones fisiológicas con alta conductividad eléctrica o la imposibilidad de operar con microesferas de poliestireno, ya que en ambos casos no existen las condiciones necesarias para activar la fuerza de dielectroforesis positiva.

35 Asimismo, la patente No. US 6,294,063 a nombre de Becker et al. describe un método y aparato para la manipulación de paquetes de material biológico sólido, líquido o gaseoso mediante una distribución de fuerzas programables. También en este caso el contacto con una superficie de reacción es un requisito indispensable para el funcionamiento del método y aparato. Pero la mayor limitación está relacionada con la necesidad de una serie de señales de control ($n \times m$) correspondientes al número de electrodos ($n \times m$) si se desea utilizar un sustrato pasivo (y por tanto uno menos costoso). Con el fin de aumentar el número de electrodos del orden de varios cientos o miles es necesario utilizar un sustrato activo, como se explica en P.R.C. Gascoyne et al., Lab Chip, 2004, 4, 299-309, que incluye transistores para direccionar individualmente los electrodos $n \times m$ y generar localmente las señales de control. De esta forma, el número de señales de entrada al chip puede mantenerse dentro de límites aceptables.

45 Otro método conocido para la manipulación de partículas líquidas (gotas) es la electrohumectación en dieléctrico (EWOD), descrito en T.B. Jones, Journal of Micromechanics and Microengineering, 15 (2005) 1184-1187. En este caso, un campo eléctrico ejercido por electrodos hechos sobre un sustrato permite la propulsión de una gota rodeada por una fase gaseosa en una dirección controlada por la secuencia de electrodos energizados. Los dispositivos con base en este principio se pueden obtener incluyendo una tapa (también recubierta con un dieléctrico), como se enseña en las solicitudes de patente No. US 2004/0058450A1 y US 2004/0055891 a nombre de Pamula et al., o también simplemente un cable denominado "cadena", que establece el contacto eléctrico con las gotas en la parte superior del sustrato. J. Berthier et al., NSTI Nanotech 2005, www.nsti.org, vol. 1 de 2005. De una manera similar a lo que se ha discutido anteriormente con respecto al uso de dielectroforesis, con el fin de manipular partículas en una matriz bidimensional completa a través de EWOD, las realizaciones informadas en la técnica conocida recurren al uso de señales de entrada correspondientes al número de electrodos de la matriz o al uso de un sustrato activo con transistores.

55 Una fuerza adicional para la manipulación de partículas es la fuerza de fricción viscosa generada por flujos electrohidrodinámicos (EHD), tales como flujos electrotérmicos (ETF) o electroósmosis de AC. En N.G. Green, A. Ramos y H. Morgan, J. Phys. D: Appl. Phys. 33 (2000), los flujos de EHD se utilizan para desplazar partículas. Por ejemplo, la patente No. PCT WO 2004/071668 A1 describe un aparato para concentrar partículas sobre los electrodos, aprovechando los flujos electrohidrodinámicos antes mencionados.

Se conocen otros métodos para las partículas de manipulación individuales en un espacio bidimensional. Estos, sin embargo, implican el uso de las denominadas pinzas ópticas u optoelectrónicas, es decir, fuentes de luz externas programables. El resultado es un sistema engorroso y costoso, que es una característica indeseable en muchas aplicaciones. En particular A. T. Ohta y col., Tech. Cavar. del Solid-State Sensor, Actuator and Microsystems. Workshop, 216-219, (2004) describe una posible implementación de dichas técnicas. El documento US2004/055891 a nombre de Pamula et al., divulga un dispositivo en el que están dispuestos electrodos individuales en una configuración bidimensional.

Las limitaciones de la técnica conocida se superan mediante la presente invención, que permite la manipulación independiente de una multiplicidad de partículas en un espacio bidimensional, con o sin contacto dependiendo de las fuerzas utilizadas. La implementación del método de acuerdo con la invención no requiere el uso de circuitos electrónicos o elementos de memoria integrados en el sustrato. Diferentes realizaciones del método y aparato de acuerdo con la presente invención permiten la manipulación de partículas en una matriz bidimensional de $n \times m$ de tamaño arbitrario, con un número de señales de control del orden de $n + m$, o bien n , o incluso con menos de diez señales de control, reduciendo, de acuerdo con diferentes compromisos, el paralelismo y flexibilidad de movimiento de las partículas, y en consecuencia el número de pasos para realizar una serie de desplazamientos (parámetro que obviamente está ligado al tiempo de ejecución).

Aunque los métodos de la invención se pueden realizar con sustratos sin transistores, es posible, sin embargo, beneficiarse del uso de sustratos activos para reducir las dimensiones generales de los elementos individuales de la matriz que constituyen el aparato de acuerdo con la invención en comparación con la técnica conocida o para reducir el número total de señales de control externas.

Además de la posibilidad de manipulación de celdas, la presente divulgación que no forma parte de la invención enseña cómo combinar manipulación y detección integrando dichas operaciones en el mismo sustrato o interconectando sensores y actuadores realizados en diferentes sustratos dependiendo de la tecnología usada.

Resumen de la invención

La presente invención se relaciona con un método y aparato para la manipulación de partículas (en un sentido amplio, como se describe a continuación) por medio de campos de fuerza no uniformes variables en el tiempo. Los campos de fuerza pueden ser de dielectroforesis positiva o dielectroforesis negativa, electroforesis o cualquier movimiento electrohidrodinámico, caracterizado por un conjunto de puntos de equilibrio estables para las partículas (sólidas, líquidas o gaseosas). El mismo método es adaptable a la manipulación de gotas (partículas líquidas), aprovechando efectos conocidos por la comunidad científica internacional bajo el nombre de "electrohumectación sobre dieléctrico" (EWOD). El objetivo de la presente invención es actuar sobre el control de la posición de cada partícula presente en la muestra, con el fin de desplazar dichas partículas de forma independiente entre sí desde una posición inicial hasta cualquier elemento perteneciente al conjunto de las posiciones finales en un espacio dado dentro de una microcámara del dispositivo.

En una primera realización del método, cada punto de equilibrio en una matriz homogénea de elementos puede contener una partícula o un grupo de partículas. Cada uno de dichos puntos de equilibrio puede unirse sin distinción a cualquiera de los puntos de equilibrio adyacentes, permitiendo que las partículas arrastradas compartan la cuenca de atracción de las mismas. Este control se realiza actuando exclusivamente sobre las señales compartidas por todos los elementos pertenecientes a una misma fila o columna, utilizadas para distribuir las tensiones necesarias para la generación de las fuerzas. Cada ruta puede descomponerse en una sucesión de pasos elementales constituidos por la unión de cuencas de atracción adyacentes, permitiendo así que cada partícula sea guiada desde la posición inicial hasta un destino final. Forman el objeto de la presente invención también algunas implementaciones prácticas del método por medio de aparatos constituidos por $n + m + 2$ señales de control y por $n + 2m + 2$ señales de control para matrices de tamaño $n \times m$.

En una segunda realización del método, el control se hace actuando exclusivamente sobre las señales digitales utilizadas para controlar un desviador asociado a cada elemento de la matriz, a través del cual distribuir las tensiones necesarias para la generación de las fuerzas. El objeto de la presente invención es también un aparato constituido por $n + m$ señales digitales para el control de la distribución de los dos voltajes necesarios para la generación de las fuerzas en una matriz $n \times m$.

El objeto de la presente invención es además un dispositivo que de manera ventajosa pone a disposición algunos de los métodos antes mencionados, constituidos por una matriz de electrodos, a los que se les aplican potenciales variantes en el tiempo, con o sin transistores o elementos de memoria.

El objeto de la presente invención es también una familia de aparatos para identificación y/o cuantificación y/o caracterización de partículas por medio de medidor de impedancia y/o sensores ópticos. La combinación de sensores y actuadores es particularmente útil para la automatización de operaciones complejas pero mejora en cualquier caso ventajas para posicionar las partículas para ser individualizadas exactamente en las regiones de mayor sensibilidad para los sensores (que pueden estar integrados pero también externos), mejorando así considerablemente la sensibilidad de la medición.

Descripción de la invención

5 En lo que sigue, el término "partículas" se utilizará para indicar entidades micrométricas o nanométricas, ya sean naturales o artificiales, tal como células, componentes subcelulares, virus, liposomas, niosomas, microesferas y nanoesferas, o incluso entidades más pequeñas, tal como macromoléculas, proteínas, ADN, ARN, etc., así como gotas de líquido inmiscible con el medio de suspensión, por ejemplo aceite en agua o agua en aceite, o incluso gotas de líquido en gas (tal como agua en el aire) o burbujas de gas en un líquido (tal como aire en el agua).

Breve descripción de las figuras

- La Figura 1 muestra el principio de generación de campos de fuerza mediante matrices de electrodos.
- La Figura 2 muestra la combinación de los efectos debidos a la energización de electrodos direccionables.
- 10 La Figura 3 muestra una matriz de elementos direccionables para la creación de jaulas de dielectroforesis.
- La Figura 4 muestra la sección transversal de un dispositivo sin transistores con electrodos anidados direccionables.
- La Figura 5 muestra un dispositivo para la implementación del método de manipulación sin transistores, con base en la combinación de los efectos asociados a solo dos electrodos direccionables.
- 15 La Figura 6 muestra una porción de las tres máscaras necesarias para la implementación del prototipo de aparato con solo dos electrodos direccionables y una imagen del prototipo.
- La Figura 7 muestra la secuencia de los pasos elementales para el desplazamiento de una partícula mediante un paso hacia la derecha en un dispositivo sin transistores con solo dos electrodos direccionables y los resultados experimentales.
- 20 La Figura 8 muestra la secuencia de los pasos elementales para el desplazamiento de una partícula mediante un paso hacia abajo en un dispositivo sin transistores con solo dos electrodos direccionables.
- La Figura 9 muestra los resultados experimentales de la manipulación de una partícula a lo largo de una ruta genérica en un dispositivo sin transistores con solo dos electrodos direccionables.
- La Figura 10 muestra la secuencia de las fases de los voltajes para realizar los pasos de manipulación hacia la derecha o hacia abajo en un dispositivo con solo dos electrodos direccionables.
- 25 La Figura 11 muestra un dispositivo para la implementación del método de manipulación sin transistores, con base en la combinación de los efectos asociados a la energización de cuatro electrodos direccionables.
- La Figura 12 muestra la secuencia de los pasos elementales para el desplazamiento de una partícula mediante un paso hacia la derecha, abajo, derecha e izquierda en un dispositivo sin transistores con cuatro electrodos direccionables.
- 30 La Figura 13 muestra un dispositivo para la implementación del método de manipulación sin transistores, con base en la combinación de los efectos asociados a la energización de tres electrodos direccionables.
- La Figura 14 muestra la secuencia de los pasos elementales para el desplazamiento de una partícula mediante un paso hacia la derecha en un dispositivo sin transistores con tres electrodos direccionables.
- 35 La Figura 15 muestra la secuencia de los pasos elementales para el desplazamiento de una partícula mediante un paso hacia abajo en un dispositivo sin transistores con tres electrodos direccionables.
- La Figura 16 muestra la secuencia de las fases de los voltajes para realizar los pasos de manipulación hacia la derecha o hacia abajo con tres electrodos direccionables.
- La Figura 17 muestra una porción de las tres máscaras necesarias para la implementación del prototipo de aparato con tres electrodos direccionables y una imagen del prototipo.
- 40 La Figura 18 muestra un dispositivo para la implementación del método de manipulación sin elementos de memoria, con un solo electrodo direccionable.
- La Figura 19 muestra la secuencia de los pasos elementales para el desplazamiento de una partícula mediante un paso hacia la derecha sin programación de elementos de memoria, con un solo electrodo direccionable.
- 45 La Figura 20 muestra una matriz de elementos direccionables no cubiertos por las reivindicaciones para aparcar partículas dentro de jaulas y pasillos de dielectroforesis para transportar dichas partículas desde un elemento hasta otro de la matriz.

- La Figura 21 muestra una matriz de elementos direccionables no cubiertos por las reivindicaciones para aparcar partículas dentro de jaulas y pasillos de dielectroforesis, en un pequeño número, para transportar dichas partículas desde un elemento hasta otro de la matriz.
- 5 La Figura 22 muestra un posible uso del método para el transporte selectivo de partículas desde una primera microcámara hasta una segunda microcámara.
- La Figura 23 muestra un primer aparato para la implementación del método de manipulación sin transistores, en el que están presentes los pasillos y celdas de estacionamiento no cubiertos por las reivindicaciones.
- La Figura 24 muestra un segundo aparato para la implementación del método no cubierto por las reivindicaciones de manipulación sin transistores, con pasillos y celdas de estacionamiento.
- 10 La Figura 25 muestra la secuencia de las fases de los voltajes para la realización de los pasos fundamentales del funcionamiento del aparato no cubierto por las reivindicaciones con pasillos y celdas de estacionamiento.
- La Figura 26 muestra una implementación del método no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas con dos carriles que se cierran en círculo.
- 15 La Figura 27 muestra la secuencia de los pasos no cubierto por las reivindicaciones necesarios para el intercambio de una partícula entre dos carriles en el caso de una matriz de electrodos cuadrados.
- La Figura 28 muestra la secuencia de los pasos no cubierto por las reivindicaciones necesarios para el intercambio de una partícula entre dos carriles en el caso de una matriz de electrodos hexagonales.
- La Figura 29 muestra un aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas con carriles y sin transistores, con base en 9 señales de control.
- 20 La Figura 30 muestra un aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas con carriles y sin transistores, con base en 7 señales de control.
- La Figura 31 muestra un aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas con carriles y cámaras independientes, sin transistores.
- 25 La Figura 32 muestra un aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas con carriles, una matriz matricial completamente programable y cámaras separadas, sin transistores.
- La Figura 33 muestra el punto de intercambio para el pasaje de una partícula entre un carril vertical y un carril horizontal del aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas de la Figura 32.
- La Figura 34 muestra la secuencia de pasos necesarios para el intercambio de una partícula entre un carril vertical de un determinado grupo y elemento y un carril horizontal del aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas de la Figura 32.
- 30 La Figura 35 muestra el funcionamiento, durante el intercambio entre un transportador vertical y un transportador horizontal de un determinado grupo y elemento, por un transportador vertical perteneciente a un elemento diferente del mismo grupo, del aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas de la Figura 32.
- 35 La Figura 36 muestra una porción del aparato no cubierto por las reivindicaciones para la manipulación de partículas de la Figura 32 en las inmediaciones de la matriz matricial completamente programable.
- La Figura 37 muestra la secuencia de pasos necesarios para el pasaje de una partícula desde la matriz matricial completamente programable hasta un carril de residuos no cubiertas por las reivindicaciones.
- La Figura 38 muestra el punto de intercambio para el pasaje de una partícula desde la matriz matricial completamente programable hasta el carril auxiliar no cubierto por las reivindicaciones.
- 40 La Figura 39 muestra la compuerta de intercambio para el pasaje de una partícula desde el carril auxiliar hasta carril de residuos de largo no cubierta por las reivindicaciones.
- La Figura 40 muestra la compuerta de intercambio para el pasaje de una partícula desde la matriz matricial completamente programable hasta carril de salida no cubierta por las reivindicaciones.
- 45 La Figura 41 muestra el carril de salida del aparato para la manipulación de partículas de la Figura 32 no cubierto por las reivindicaciones.
- La Figura 42 muestra un tramo circunferencial del circuito que rodea el área activa de un chip que constituye el aparato para la manipulación de partículas de la Figura 32 no cubierto por las reivindicaciones.

La Figura 43 muestra un aparato para la manipulación de partículas sin transistores y con sensores medidores de impedancia.

La Figura 44 muestra un aparato para la manipulación y detección y/o identificación de partículas formadas por un electrodo de rejilla y una matriz de sensores ópticos.

5 La Figura 45 muestra el resultado de un experimento de manipulación y detección obtenido mediante un dispositivo prototipo formado por un electrodo de rejilla y un sensor óptico externo.

La Figura 46 muestra un aparato para la manipulación y detección y/o identificación de partículas mediante sensores ópticos de contacto y luz transmitida.

10 La Figura 47 muestra un aparato para la manipulación y detección y/o identificación de partículas mediante sensores ópticos de contacto y luz transmitida que hace uso de microlentes para incrementar la sensibilidad de la medida.

La Figura 48 muestra un aparato para la manipulación y detección y/o identificación de partículas por medio de sensores ópticos en el que la medición se realiza midiendo porciones de la matriz en secuencia de tiempo.

15 La Figura 49 muestra la secuencia de pasos para realizar el intercambio no cubierto por las reivindicaciones entre una celda de aparcado (o un transportador) y un transportador, en el caso de organización lógica de las celdas de aparcado (transportadores) en cuatro dimensiones, para las celdas de aparcado seleccionadas (el transportador) y para las celdas de aparcado no seleccionadas (transportadores).

Descripción detallada

20 El objetivo de la presente invención es la implementación de un método y un aparato para la manipulación de partículas. Por "manipulación" se entiende, en particular, una de las siguientes operaciones y/o combinaciones de las mismas:

1. selección, que consiste en el aislamiento de una partícula determinada de una muestra que contiene una multiplicidad de partículas;
2. reordenamiento, que consiste en la disposición de las partículas en un orden diferente al de partida;
- 25 3. unión, que consiste en seleccionar dos o más partículas y acercarlas hasta que se fuercen entre sí, con el fin de ponerlas en contacto o fusionarlas o incluirlas una dentro de la otra;
4. separación, que consiste en separar las partículas que inicialmente estuvieron en contacto unas con otras.

30 El método se basa en el uso de un campo de fuerza no uniforme (F) a través del cual atraer partículas individuales o grupos de partículas hacia posiciones de equilibrio estable (CAGE). Dicho campo puede ser, por ejemplo, un campo de dielectroforesis (DEP), ya sea un campo de dielectroforesis negativa (NDEP) o dielectroforesis positiva (PDEP), un campo electroforético (EF) o ya sea un campo de movimiento electrohidrodinámico (EHD), o de nuevo electrohumectación en dieléctrico (EWOD).

La detección puede referirse a uno de los siguientes aspectos o una combinación de los mismos:

1. recuento de partículas individuales o cuantificación
2. identificación y/o caracterización
- 35 3.ubicación

En esta conexión se aprovecha principalmente la medición de la variación de impedancia y/o la medición de la variación de intensidad/absorbancia de la luz.

Generación de fuerzas

40 Existen diferentes métodos para la generación de fuerzas de desplazamiento de partículas, de acuerdo con la técnica conocida, mediante matrices de electrodos (EL) realizados sobre un sustrato. Típicamente se utiliza una tapa (LID), que puede ser, a su vez, un electrodo, que delimita una microcámara, dentro de la cual las partículas (BEAD) se encuentran típicamente en suspensión líquida. Algunos esquemas para las diversas fuerzas se muestran en la Figura 1. En el caso de DEP, los voltajes aplicados son voltajes periódicos en fase (V_{phip}) indicados con el símbolo de adición (+) y voltajes periódicos de oposición de fase (V_{phin}) designados por el símbolo de la resta (-). Por "voltajes de oposición de fase" se entienden los voltajes que están desfasadas 180° . El campo genera una fuerza que actúa sobre las partículas, atraídas hacia puntos de equilibrio (CAGE). En el caso de DEP negativo (NDEP), es posible obtener jaulas de fuerza cerradas, de acuerdo con la técnica conocida (Figura 1a), si la tapa (LID) es un electrodo conductor. En este caso, el punto de equilibrio (CAGE) se obtiene en cada electrodo conectado a V_{phin} (-) si los electrodos adyacentes están conectados a la fase opuesta V_{phip} (+) y si la tapa (LID) está conectada a la fase V_{phin} (-). Dicho punto de equilibrio (CAGE) normalmente se establece en el líquido a una distancia de los electrodos, de modo que las

50

partículas (BEAD) están, en estado estacionario, en levitación. En el caso de DEP positiva (PDEP), el punto de equilibrio (CAGE) se encuentra normalmente en la superficie sobre la que se forman los electrodos (Figura 1b), y las partículas (BEAD) están, en estado estable, en contacto con ellos. Para PDEP no es necesario tener más electrodos en la tapa, porque los puntos de equilibrio de PDEP corresponden a los máximos del campo eléctrico. Para manipular partículas formadas por gotas de líquido inmiscible en el medio de suspensión y más pesadas que este (por ejemplo, agua en aceite), se puede utilizar ventajosamente la dielectroforesis negativa (NDEPDR) (Figura 1c) obtenida mediante un sustrato (SUB) con electrodos (EL), recubiertos por una capa dieléctrica (D) y por una capa hidrófoba (HPB). Se puede usar una matriz de electrodos para electroforesis, para atraer partículas cargadas hacia los electrodos con polaridad opuesta. Para los movimientos EHD, las configuraciones de electrodos generan flujos que empujan las partículas hacia puntos de mínimo del flujo. Para EWOD (Figura 1d), en general se usa una tapa (LID) que contiene un electrodo recubierto con dieléctrico, y la matriz de electrodos es energizada por señales en oposición de fase con respecto a la tapa en los puntos en los que se desea atraer las partículas (típicamente gotas de líquido en el aire). Los electrodos en los que la partícula no debe estar presente se dejan, en desplazamiento, flotando. Para EWOD, al manipular gotas en el aire, en la parte superior de la matriz de electrodos también es posible utilizar una serie de cables (Figura 1e) como alternativa a la tapa.

Con el fin de describir los métodos y aparatos, por razones de simplicidad, en lo que sigue, el uso de jaulas cerradas usando NDEP como fuerza de actuación se considera puramente a modo de ejemplo, de ninguna manera limita el alcance de la presente invención (por lo tanto, es necesario usar una tapa protectora que funcionará como electrodo). Es evidente para los expertos en el sector cómo es posible generalizar los métodos y aparatos descritos a continuación para el uso de diferentes fuerzas de actuación y diferentes tipos de partículas.

Generación de control sobre el movimiento de las partículas mediante la combinación lógica de los efectos de fuerza activados por medio de filas y columnas

Con el fin de generar un punto de equilibrio estable para la fuerza de dielectroforesis negativa, es suficiente, de acuerdo con la técnica conocida, disponer de un primer electrodo (EL) para ser alimentado mediante una señal (V_{phin}) en fase con la tapa (LID) y uno o más electrodos (L1) que rodean completamente el primer electrodo, alimentados mediante una señal en oposición de fase (V_{phip}). Esta configuración (ilustrada en la Figura 2a) genera un mínimo para el campo eléctrico, correspondiente a un punto de equilibrio estable (CAGE) para la fuerza de dielectroforesis negativa. Dicho punto de equilibrio se pierde si se invierte la fase de la señal aplicada a esta primera matriz de electrodos (L1), como se ilustra en la Figura 2b. Si se tiene disponible una segunda matriz de electrodos (L2), de manera que cada electrodo perteneciente a la segunda matriz (L2) rodee a un electrodo perteneciente a la primera matriz (L1), se obtendrá que el punto de equilibrio se pierde si se invierte la fase de ambas señales aplicadas a la primera matriz de electrodos (L1) y a la segunda matriz de electrodos (L2), como se ilustra en la Figura 2f, en todos los demás casos, la jaula puede tener una dimensión y forma que depende sobre los voltajes aplicados. En particular, en la Figura 2c y la Figura 2d se tienen dos jaulas idénticas mientras que en la Figura 2e se tiene una jaula de mayores dimensiones, pero centrada en la misma posición. En consecuencia, si consideramos una multiplicidad de bloques (BLOCK_{i, j}) cada uno compuesto por un electrodo (EL) y una o más matrices de electrodos que lo rodean (L1, L2), se encontrará que, de acuerdo con la configuración de voltajes aplicados a los electrodos L1 y L2 de dos bloques adyacentes genéricos, pueden surgir las siguientes situaciones:

- un punto separado de equilibrio estable para cada bloque, cuya configuración de campo de fuerza se indicará con $F_{i,j}$;
- un solo punto de equilibrio estable compartido por los dos bloques, cuya configuración de campo de fuerza se indicará con $F_{i,j}$;

Esta propiedad puede aprovecharse para la implementación de métodos para la manipulación de partículas de acuerdo con la presente invención con una serie de ventajas importantes en comparación con la técnica conocida, como se ilustra a continuación.

Método para la manipulación de partículas en una matriz homogénea sin transistores.

Una realización del método de acuerdo con la presente invención se ilustra en la Figura 3. Una matriz homogénea de grupos genéricos (BLOCK_{i, j}) de electrodos proporciona una matriz de jaulas de atracción definidas por puntos de equilibrio estable (CAGE_{i, j}), cada uno de los cuales puede atrapar una sola partícula (BEAD) o un grupo de partículas. Cada elemento (o bloque) del arreglo (BLOCK_{i, j}) está conectado eléctricamente a dos grupos de voltajes ($V_{\text{row}_i}[p]$, $V_{\text{col}_j}[q]$, $p = 1 \dots u$, $q = 1 \dots v$) distribuidos en la matriz, respectivamente, en filas y columnas y conectados eléctricamente a los bloques que comparten la misma fila o columna. El número total de señales de fila se designa con u , mientras que el número total de señales de columna se designa con v .

Se definirá como distancia entre dos bloques BLOCK_{i, j} y BLOCK_{h, k} la distancia $d = |i-h| + |j-k|$ en uniforme -o norma de Manhattan- calculada sobre los índices de los bloques. Se definirá como "bloques adyacentes" los bloques que están a una distancia 1.

Las mismas señales V_{row_i} [p], V_{col_j} [q] se utilizan tanto para la creación de las jaulas como para el control de la posición de las jaulas. A través de estas señales se distribuyen de hecho los voltajes necesarios para la activación del campo de fuerza de la dielectroforesis que tienen las siguientes propiedades:

- 5 1. siempre existe una configuración de potenciales aplicados a las señales de la matriz de modo que cada jaula de atracción esté cerrada y sea distinta de todas las demás;
2. para cada par de bloques adyacentes siempre existe una configuración de potenciales que se van a aplicar a las señales de entrada al par de manera que sea posible unir única y exclusivamente las cuencas de atracción del par de bloques;
- 10 3. para cada par de bloques adyacentes siempre existe una secuencia de potenciales que se van a aplicar a las señales de entrada del torque de tal manera que, si solo una de las dos jaulas de atracción está llena, es posible desplazar la partícula ingresada desde una posición a la adyacente;
4. para cada par de bloques adyacentes, siempre existe una secuencia de potenciales que se aplicarán a las señales de entrada del par de modo que, si ambas jaulas de atracción están llenas, es posible desplazar ambas partículas a la misma posición.

15 Los voltajes que se van a utilizar son en general, pero no exclusivamente, ondas periódicas (ya sean ondas sinusoidales o bien ondas cuadradas) de valor medio cero, elegidas entre un conjunto de voltajes de fase diferente; a modo de ejemplo no limitativo, es posible utilizar solo dos fases, que se diferencian 180° entre sí.

20 Es evidente que uniendo de dos en dos los centros de atracción de los bloques adyacentes es posible mover una partícula desde una posición inicial genérica hasta cualquier posición final o llevar a una misma posición dos o más partículas elegidas entre todas las partículas presentes en la muestra, sin afectar a las partículas fuera de la ruta de las partículas en movimiento.

El mismo método se puede aplicar al caso genérico de la manipulación simultánea de varias partículas con algunas restricciones. A modo de ejemplo no limitativo, se dan las restricciones para la manipulación simultánea de solo dos partículas arrastradas en dos jaulas diferentes ubicadas en dos bloques genéricos:

- 25 1. Si un primer bloque y un segundo bloque no están en la misma fila o columna o en filas y columnas adyacentes, las partículas arrastradas en los dos bloques pueden manipularse simultáneamente independientemente de la dirección y el sentido, siempre que no haya partículas arrastradas en los bloques correspondientes o adyacentes a la fila del primer bloque y columna del segundo bloque o a la columna del primer bloque y fila del segundo bloque;
- 30 2. si los dos bloques están en la misma columna, pero a una distancia de al menos tres filas, pueden manipularse simultáneamente en la dirección vertical independientemente del sentido;
3. si los dos bloques están en la misma columna pero a una distancia de al menos dos filas de distancia, pueden manipularse simultáneamente en la dirección horizontal siempre que el sentido sea el mismo.
4. si los dos bloques están en la misma fila pero a una distancia de al menos tres columnas, pueden manipularse simultáneamente en la dirección horizontal independientemente del sentido;
- 35 5. si los dos bloques están en la misma fila pero a una distancia de al menos dos columnas de separación, pueden manipularse simultáneamente en la dirección vertical siempre que el sentido sea el mismo.

Es evidente que también se pueden manipular más de dos partículas simultáneamente, de acuerdo con la presente invención, respetando para cada par de partículas las limitaciones enumeradas anteriormente.

40 Sin embargo, debe señalarse cómo, aunque es posible manipular de forma independiente dos o más partículas que satisfacen las limitaciones mencionadas anteriormente, su movimiento simultáneo puede tener efectos secundarios en otras jaulas de la matriz. Por ejemplo, manipulando simultáneamente de la manera deseada una primera partícula en el bloque $BLOCK_i, j$ y una segunda partícula en el bloque $BLOCK_h, k$, también se impone un movimiento obligado sobre las partículas de los bloques $BLOCK_h, j$ y $BLOCK_i, k$. Para superar este problema es posible actuar de diferentes formas, dependiendo de la aplicación, mediante varios algoritmos de secuenciación y serialización de los desplazamientos, y dependiendo del conocimiento o no de la posición de todas las partículas.

45 Como ejemplo se da un caso de particular interés: la recuperación de una multiplicidad de partículas de una población heterogénea mucho mayor. En este caso, se inyecta una muestra con partículas que se colocan al azar en la matriz. Dichas partículas se pueden seleccionar, por ejemplo, al microscopio, y una vez determinada la posición de las de interés se plantea el problema de enviarlas hacia una compuerta (por ejemplo, comunicando con una segunda microcámara de recuperación), desde la cual se puede hacer que fluya fuera del chip. En este caso, una solución simple y eficiente, que no requiere el conocimiento de la posición de todas las partículas sino solo de las que se van a seleccionar, es la siguiente (en la hipótesis de que la compuerta se coloca en el lado derecho y en la parte inferior de la microcámara):

1. Se crean canales virtuales verticales (columna de enrutamiento) en las columnas adyacentes sobre la derecha hasta la posición de cada partícula que se va a seleccionar (columna de selección), liberándolas de posibles partículas que se desplazan hasta la columna más a la derecha (columna de descarga o residuos).
- 5 2. Se crea un canal virtual horizontal (fila de enrutamiento) en la compuerta de la microcámara de recuperación, liberándola de partículas, como se hace para las columnas.
3. Se desplazan todas las partículas que se van a recuperar sobre la columna de enrutamiento adyacente a cada partícula.
4. El índice de columna de la partícula que se va a recuperar más lejos de la fila de enrutamiento se inserta en un conjunto lógico de columnas de desplazamiento.
- 10 5. El índice de fila de la partícula que se va a recuperar más lejos de la fila de enrutamiento se define como índice de fila de desplazamiento.
6. Las jaulas en las columnas que pertenecen a los conjuntos de columnas de desplazamiento y a la fila de desplazamientos de fila se desplazan hacia abajo en un escalón, hacia la fila de enrutamiento.
7. Se incrementa el índice de fila de desplazamiento.
- 15 8. Si la nueva fila de fila de desplazamiento contiene partículas que se van a recuperar, el índice de columna de la nueva partícula se inserta en el conjunto de columnas de desplazamiento.
9. Si la nueva fila de fila de desplazamiento tiene un índice menor que el correspondiente a la fila de enrutamiento, el procedimiento vuelve al paso 6.
- 20 O, alternativamente, después del paso 3, el procedimiento es el siguiente: 4'. Comenzando desde la fila más alejada de la fila de enrutamiento, las jaulas de todas las columnas de enrutamiento se desplazan simultáneamente paso a paso hacia abajo (es decir, hacia la fila de enrutamiento), independientemente de si contienen partículas o no. De esta manera, todas las partículas serán, al final del escaneo de toda la matriz (correspondiente a un número de pasos igual al número de filas), trasladadas a la fila de enrutamiento.
- 25 En este punto, todas las partículas que se seleccionarán están, en posiciones de columna conocidas, en la fila de enrutamiento.
10. Toda la fila de enrutamiento se desplaza hacia la derecha, hasta que todas las partículas hayan pasado la compuerta que se comunica con la microcámara de recuperación.
11. Se hace que las partículas de la microcámara de recuperación fluyan fuera del chip.
- 30 Dicho método debe complicarse levemente con operaciones preliminares en el caso de que la distancia entre columnas de partículas que se van a recuperar no siempre sea mayor a 2, o en el caso de que al inicio del procedimiento existan partículas en la fila de enrutamiento que tienen que ser recuperadas. Por razones de simplicidad, se omite la descripción de dichas operaciones en la medida en que sean evidentes para un experto en el sector. Estadísticamente, la necesidad de realizar estas operaciones preliminares es más improbable si el número de partículas que se van a recuperar es despreciable con respecto al número de columnas.
- 35 Debe observarse que, en general, operando en paralelo como se describió anteriormente, el número de pasos que se van a tomar para la recuperación de las partículas no es significativamente mayor que el número de pasos necesarios con una matriz de electrodos totalmente programables.

Aparato para la manipulación de partículas en una matriz homogénea sin transistores.

- 40 El objeto de la presente invención es también un aparato para obtener las configuraciones de campo necesarias para la manipulación de partículas individuales de acuerdo con el método descrito anteriormente. A modo de ejemplo no limitativo, se proporcionan posibles realizaciones, ambas con base en el uso de un sustrato sin transistores y sin elementos de memoria.

Aparato para la manipulación de partículas con $n+m+2$ señales de control

- 45 Las Figuras 4 y 5 son, respectivamente, una vista en sección transversal y una vista en planta superior de una primera realización del aparato de acuerdo con la presente invención. Una matriz homogénea de grupos (BLCOK_{i, j}) de electrodos forma una matriz de tamaño $n \times m$. Cada bloque (BLOCK_{i, j}) está constituido por un electrodo central (EL_{i, j}) conectado a una señal común a toda la matriz (Vcore) y dos electrodos concéntricos (ring_{i, j_1}, ring_{i, j_2}) conectados a dos voltajes diferentes (Vrow_i, Vcol_j) distribuidos en la matriz, respectivamente, en filas y columnas como se ilustra en la Figura 5. Una señal adicional (Vlid) se conecta a la tapa (LID), constituida por un solo electrodo
- 50 (ITO) (ilustrado solo en la Figura 4). Por lo tanto, el dispositivo requiere en conjunto $n + m + 1 + 1$ señales para el control de $n \times m$ jaulas de atracción, cada una de las cuales puede atrapar una sola partícula (BEAD) o un grupo de

partículas. Es evidente que una matriz cuadrada ($n=m$) minimiza el número de señales de control con respecto al número de bloques que constituyen la matriz $n \times m$.

5 Aplicando desde el exterior un voltaje periódico en fase (V_{phip}) a todas las señales V_{row_i} y V_{col_j} y un voltaje periódico en oposición de fase (V_{phin}) a la señal común V_{core} y la señal V_{lid} conectada a la tapa (LID), una jaula de atracción ($\text{CAGE}_{i,j}$) se activa en cada bloque ($\text{BLOCK}_{i,j}$) separado y distinto de todos los demás en la matriz. La partícula (BEAD) atrapada en un bloque genérico ($\text{BLOCK}_{i,j}$) puede desplazarse hacia cualquiera de las jaulas adyacentes mediante una secuencia apropiada de voltajes aplicados a las señales de control. A modo de ejemplo que no limita en modo alguno el alcance de la invención, la Figura 7 muestra la secuencia de los pasos (a, b, c, d, e) utilizados para desplazar una partícula desde el bloque genérico ($\text{BLOCK}_{i,j}$) hacia el bloque adyacente a la derecha ($\text{BLOCK}_{i,j+1}$); los voltajes aplicados a las señales involucradas en los diversos pasos que constituyen dicha operación se indican en la Figura 10 (movimiento de secuencia $_x$), mientras que la posición de la partícula en condiciones transitorias después de cada paso se indica en la Figura 7 (b, c', d', e', a"). Se ilustra en la Figura 7 (bp, cp', dp', ep', ap"), la secuencia de imágenes de un experimento que corresponde a las configuraciones (b, c', d', e', a") obtenidas mediante un dispositivo prototipo.

15 Asimismo, la Figura 8 muestra la secuencia de desplazamiento de una partícula en dirección vertical, desde el bloque genérico ($\text{BLOCK}_{i,j}$) hacia el bloque adyacente hacia abajo ($\text{BLOCK}_{i+1,j}$). Los voltajes aplicados a las señales involucradas en los distintos pasos que constituyen dicha operación se indican en la Figura 10 (movimiento de secuencia $_y$), mientras que la posición de la partícula en condiciones de estado estacionario después de cada paso se indica en la Figura 8 (b, c', d', e', a"). En ciertos casos, es posible utilizar una secuencia reducida, constituida por un subconjunto de los pasos elegidos entre las secuencias mostradas en la Figura 7 y Figura 8. Opcionalmente, para cada una de las direcciones posibles, es posible utilizar una secuencia constituida por pasos diferentes a los descritos a modo de ejemplo no limitativo en las Figuras 7 y 8.

25 Es evidente que cualquier ruta que comience desde una posición genérica en la matriz y termine en cualquier otra posición de la matriz se puede dividir en la sucesión de los pasos elementales ilustrados en las Figuras 7 y 8 y en los pasos análogos en la dirección opuesta. Un ejemplo práctico de dicho concepto se ilustra en la Figura 9, que muestra la sucesión de los pasos elementales para desplazar una microesfera de poliestireno desde la posición inicial ($\text{BLOCK}_{i,j}$) hacia el destino ($\text{BLOCK}_{i+1,j+4}$) siguiendo una ruta genérica .

30 La implementación del aparato de acuerdo con la presente invención se puede obtener aprovechando diferentes tecnologías de acuerdo con la técnica conocida. A modo de ejemplo, de ninguna manera limitando el alcance de la presente invención en la Figura 6a-c, se muestran las máscaras necesarias para una posible realización del aparato mediante técnicas fotolitográficas de acuerdo con la técnica conocida y se muestra en la Figura 6d una imagen del prototipo. Tres máscaras y dos niveles de metal son suficientes para la implementación. La distancia mínima (PITCH) entre los centros de dos bloques adyacentes es 5 veces el paso entre las metalizaciones de la superficie. En este dispositivo, el paso (PITCH) es de 100 μm ; esto significa que la tecnología necesaria para la fabricación debe permitir la producción de electrodos cuyo paso mínimo sea de 20 μm . Para la producción de los electrodos se pueden utilizar metales nobles (oro, platino, etc.), o también óxidos conductores, que son particularmente útiles en el caso donde dichos óxidos sean transparentes (óxido de indio y estaño-ITO). Para la producción del sustrato se pueden utilizar aislantes (vidrio, policarbonato, etc.), o bien semiconductores (silicio, etc.), en cuyo caso se requiere un óxido de pasivación para aislar eléctricamente el sustrato del primer nivel metálico. Para la fabricación de la cubierta (LID), se puede utilizar un sustrato aislante siempre que esté equipado con un electrodo que también puede estar fabricado con metales u óxidos conductores, que son particularmente útiles en el caso de que dichos óxidos conductores sean parcial o totalmente transparentes. Asimismo, se puede obtener semitransparencia utilizando un metal no transparente en forma de rejilla.

45 Es evidente para los expertos en el sector que se pueden utilizar otras geometrías diferentes de las descritas en la presente patente a modo de ejemplo para la producción del aparato de acuerdo con la presente invención. A modo de ejemplo no limitativo, se pueden citar electrodos con geometrías circulares, hexagonales, rectangulares, etc. Asimismo, es evidente que se pueden utilizar otros materiales, distintos de los referidos en la presente patente, para la producción del aparato de acuerdo con la presente invención. A modo de ejemplo no limitativo se pueden citar materiales como el aluminio, titanio, tantalio, oro, etc.

50 Aparato para la manipulación de partículas con $4n+4m+2$ señales de control

La Figura 11 es una vista en planta superior de un aparato en el que se utilizan cuatro señales para cada fila y cuatro señales para cada columna, más una señal global V_{core} común a todos los bloques (distribuida en la presente memoria por columna) y una señal V_{lid} . Los electrodos anulares externos e internos de cada bloque, se dividen en dos, vertical y horizontalmente, respectivamente. Alternativamente conectados a los electrodos de cada bloque hay solo dos de las señales de cuatro filas y solo dos de las señales de cuatro columnas. Las señales de fila y las señales de columna normalmente están todas conectadas a V_{phip} y generan una configuración de campo (F_i), con una jaula de atracción ($\text{CAGE}_{i,j}$), para cada bloque. Conectando a V_{phin} siete señales elegidas apropiadamente entre las señales de control por filas y columnas, es posible generar una segunda configuración (F_{ii}), que une las jaulas de atracción de dos bloques adyacentes. Como se ilustra en la Figura 12, por lo tanto, es posible desplazar una partícula (BEAD) hacia la derecha (R), hacia la izquierda (L), hacia abajo (D) o hacia arriba (U), sin alterar la posición de las

otras partículas posiblemente arrastradas en jaulas cercanas, simplemente aplicando la configuración de campo (F_{ii}) y luego la configuración de campo inicial (F_i) nuevamente.

5 En comparación con la realización con $n+m$ fases, esta realización presenta la ventaja de requerir solo dos configuraciones de campo para cada desplazamiento elemental, y la desventaja de requerir un número de señales de control cuatro veces mayor.

Aparato para la manipulación de partículas con $n+2m+2$ señales de control

10 La Figura 13 es la vista en planta superior de un aparato en el que una matriz homogénea de bloques ($BLOCK_{i,j}$) forma una matriz de tamaño $n \times m$. Cada bloque ($BLOCK_{i,j}$) está compuesto por: un electrodo central ($EL_{i,j}$) conectado a una señal común a toda la matriz (V_{core}); un electrodo en forma de L ($elle_j$) conectado a señales distribuidas en la matriz de acuerdo con las columnas (V_{enable_j}); y dos electrodos, uno en forma de segmento vertical ($wallx_i$) y el otro en forma de segmento horizontal ($wally_i$) conectados a dos señales diferentes ($V_{row_i}[x]$, $V_{row_i}[y]$) distribuidas en la matriz de acuerdo con filas y dispuestos radialmente en el exterior (con respecto al electrodo central) del electrodo $elle_j$. Una señal adicional (V_{lid}) se conecta a la tapa (LID), constituida por un solo electrodo (ITO). Por lo tanto, el dispositivo requiere en conjunto $n+2m+1+1$ señales para controlar $n \times m$ jaulas de atracción, siendo cada jaula capaz de atrapar una sola partícula (BEAD) o un grupo de partículas. Es posible mostrar que una matriz rectangular donde $n=2m$ minimiza el número de señales de control con respecto al número de bloques que constituyen la matriz ($n \times m$).

20 Aplicando desde el exterior un voltaje periódico en fase (V_{phip}) a todas las señales $V_{row_i}[x]$, $V_{row_i}[y]$ y V_{enable_j} y un voltaje periódico en oposición de fase (V_{phin}) a la señal común V_{core} y a la señal V_{lid} conectado a la cubierta (LID), se activa una jaula de atracción ($CAGE_{i,j}$) en cada bloque ($BLOCK_{i,j}$) separada y distinta de todos los demás en la matriz. La partícula (BEAD) atrapada en cada bloque genérico ($BLOCK_{i,j}$) puede desplazarse hacia cualquiera de las jaulas adyacentes mediante una secuencia apropiada de voltajes aplicados a las señales de control. A modo de ejemplo que no limita en modo alguno el alcance de la invención, la Figura 14 muestra la secuencia de los pasos (a, b, c, d) utilizados para desplazar una partícula del bloque genérico ($BLOCK_{i,j}$) al bloque adyacente a la derecha ($BLOCK_{i,j+1}$); los voltajes aplicados a las señales involucradas en los diversos pasos de dicha operación se indican en la Figura 16 (secuencia $move_x$), mientras que la posición de la partícula en condiciones transitorias después de cada paso se indica en la Figura 14b', c'. Asimismo, la Figura 15 muestra la secuencia de los pasos (a, b, c, d) utilizados para desplazar una partícula del bloque genérico ($BLOCK_{i,j}$) hacia el bloque adyacente hacia abajo ($BLOCK_{i+1,j}$). Los voltajes aplicados a las señales involucradas en los diversos pasos que componen dicha operación se indican en la Figura 16 ($move_y$), mientras que la posición de la partícula en condiciones de estado estacionario después de cada paso se indica en la Figura 15b', c'. En ciertos casos, se puede utilizar una secuencia reducida, formada por un subconjunto de los pasos elegidos de la secuencia ilustrada en la Figura 14 y la Figura 15. Opcionalmente, para cada una de las posibles direcciones, se puede utilizar una secuencia que consiste en pasos diferentes de los que se muestran a modo de ejemplo no limitativo en la Figura 14 y la Figura 15.

35 Es evidente que cualquier ruta que comience desde una posición genérica en la matriz y termine en cualquier otra posición de la matriz se puede dividir en la sucesión de los pasos elementales ilustrados en la Figura 14 y en la Figura 15, y en los pasos análogos en la dirección opuesta.

40 La implementación de los aparatos descritos anteriormente se puede obtener aprovechando diferentes tecnologías de acuerdo con la técnica conocida. A modo de ejemplo que no limita en modo alguno el alcance de la presente invención, en la Figura 17 (a-c) se muestran las máscaras necesarias para una posible implementación del aparato mediante técnicas fotolitográficas de acuerdo con la técnica conocida, y en la Figura 17d se muestra una imagen del prototipo. Tres máscaras y dos niveles de metal son suficientes para la implementación. La implementación del aparato de acuerdo con la presente invención puede obtenerse aprovechando diferentes tecnologías de acuerdo con la técnica conocida. El paso (PITCH), es decir, la distancia entre los centros de dos bloques adyacentes, en este dispositivo es de 100 μm . Para los electrodos se pueden utilizar metales nobles (oro, platino, etc.) o también óxidos conductores, que son particularmente útiles en el caso de que dichos óxidos sean transparentes (óxido de indio y estaño-ITO). Para el sustrato se pueden utilizar aislantes (vidrio, policarbonato, etc.) o también semiconductores (silicio, etc.), en cuyo caso se requiere un óxido de pasivación para aislar eléctricamente el sustrato desde el primer nivel de metal.

Método para la manipulación de partículas en una matriz homogénea sin elementos de memoria.

50 Una realización adicional del método de acuerdo con la presente invención utiliza una matriz de jaulas de atracción ($CAGE_{i,j}$), en las que cada bloque ($BLOCK_{i,j}$) está conectado eléctricamente a dos grupos de señales ($V_{row_i}[p]$, $V_{col_j}[q]$) distribuidos en la matriz, respectivamente, en filas y columnas. Algunas de estas señales se utilizan para la distribución de los voltajes (V_{phin}, V_{phip}) necesarios para la creación de las jaulas (CAGE), mientras que otras son señales digitales que se utilizan para el control de la fase que se va a aplicar a los electrodos. En este caso, la posición de los puntos de equilibrio estático ($CAGE_{i,j}$) se controla mediante circuitos electrónicos, que determinan para cada bloque si la jaula de atracción está aislada o conectada a jaulas adyacentes.

Aparato para la manipulación de partículas en una matriz homogénea sin elementos de memoria.

El objeto de la presente invención es también un aparato para la producción de las configuraciones de campo necesarias para la manipulación de partículas individuales de acuerdo con el método descrito anteriormente. A modo de ejemplo, se muestra una posible realización con base en el uso de sustratos activos, en la que, sin embargo, cada bloque carece de elementos de memoria, a diferencia de lo que se informa en la técnica conocida.

5 La Figura 18 es una vista en planta superior de una posible realización. Una matriz homogénea de bloques (BLOCK_{i,j}) forma una matriz de jaulas de atracción de tamaño n×m. Cada bloque (BLOCK_{i,j}) está constituido por un electrodo central (EL_{i,j}) conectado a una señal común a toda la matriz (V_{phin}) y un electrodo (ring_{i,j}) conectado a la salida de un multiplexor, que recibe en la entrada dos señales diferentes (V_{phin}, V_{phip}) y cuya salida depende de la combinación lógica de señales de control digital de fila (row_i) y señales de control digital de columna (col_j) de acuerdo con la siguiente tabla de valores lógicos:

	row i=0	Row i=1	
col j=0	V _{phip}	V _{phip}	
col j=1	V _{phip}	V _{phin}	

15 Una señal adicional (V_{lid}) está conectada a la tapa (LID), no mostrada, constituida por un solo electrodo (ITO). Por lo tanto, el dispositivo requiere en conjunto dos señales análogas (V_{phin} y V_{phip}) y señales digitales n+m para controlar n×m jaulas de atracción, cada una de las cuales puede atrapar una sola partícula (BEAD) o un grupo de partículas. Es evidente que una matriz cuadrada (n=m) minimiza el número de señales de control con respecto al número de bloques que constituyen la matriz (n×m).

20 Aplicando un valor lógico 0 a todas las señales fila i y col j y un voltaje periódico en oposición de fase (V_{phin}) con respecto a la señal V_{lid} conectada a la cubierta (LID), una jaula de atracción (CAGE_{i, j}) se activa en cada bloque (BLOCK_{i,j}) separado y distinto de todos los demás en la matriz. La partícula (BEAD) atrapada en cada bloque genérico (BLOCK_{i,j}) puede desplazarse hacia cualquiera de las jaulas adyacentes mediante una secuencia apropiada de valores lógicos aplicados a las señales de control. A modo de ejemplo que no limita en modo alguno el alcance de la invención, la Figura 19 muestra la secuencia de los pasos (a, b, c,) utilizados para desplazar una partícula desde bloque genérico (BLOCK_{i,j}) hacia el bloque adyacente a la derecha (BLOCK_{i,j+1}); la secuencia de los valores lógicos aplicados a las señales fila i, col j y col j+1 es la siguiente:

	(a)	(b)	(c)	(a')
col j	0	1	0	0
col j+1	0	1	1	0
30 row i	0	1	1	0

La posición de la partícula en condiciones transitorias después de cada paso se indica en la Figura 19b', c', a'.

Es evidente que el método se aplica de manera similar para cualquier dirección. Además, cualquier ruta que comience desde una posición genérica en la matriz y termine en cualquier otra posición de la matriz puede descomponerse en la sucesión de los pasos elementales constituidos por desplazamientos de una sola posición. La implementación del aparato de acuerdo con la presente invención se puede obtener aprovechando diferentes tecnologías de fabricación de circuitos microelectrónicos de acuerdo la técnica conocida.

Método para la manipulación de partículas con carriles y celdas de aparcamiento

Una realización adicional del método se ilustra esquemáticamente en la Figura 20. El método utiliza un conjunto de puntos de equilibrio estable que son estáticos para la fuerza (F) que actúa sobre las partículas, ubicados dentro de bloques (BLOCK_{i,j}), cuya función es la de atrapar de forma estable una partícula, y un conjunto de puntos de equilibrio estable que se mueven a lo largo de carriles en dirección horizontal (HRCH1-HRCHM) o dirección vertical (VRCH1-VRCHN). Cada uno de estos bloques (BLOCK_{i, j}) se puede configurar para arrastrar la partícula o empujarla dentro de la cuenca de atracción de uno de los puntos de equilibrio estable que se mueve a lo largo de los carriles. Esto se puede obtener aprovechando uno de los métodos descritos de acuerdo con la presente invención, por ejemplo, uniendo el punto de equilibrio estable del bloque a uno de los puntos de equilibrio estable de los carriles. Es evidente que cada una de las partículas presentes en la muestra puede, en consecuencia, ser aparcada dentro de los bloques o bien puede ser desplazada desde un bloque a cualquier otro aprovechando uno o más carriles, en la dirección más conveniente. La partícula puede, de hecho, entrar en un carril en movimiento y, de la misma forma, la partícula puede salir de estos carriles para entrar en un nuevo bloque, o cambiar la dirección del movimiento, pasando a un nuevo carril. Es evidente para los expertos en el sector que cada partícula puede pasar desde un bloque a cualquier otro utilizando el método de acuerdo con la presente invención. La ventaja de esta técnica consiste en una reducción del número total de señales dedicadas al control de toda la matriz, como se ilustra en los aparatos que se describen a continuación. Asimismo, la Figura 21 muestra una segunda realización del método con un número reducido de rutas horizontales. Es evidente que también en este caso cada partícula puede pasar desde un bloque a otro aprovechando

la única ruta horizontal (HRCH1). Esta técnica permite una reducción adicional en el número de señales requeridas y aumenta la superficie útil para proporcionar jaulas. A modo de ejemplo que no limita en modo alguno el alcance de la presente invención, la Figura 22 muestra una posible aplicación del método. Dentro de una microcámara (CHW) está presente una matriz de bloques (BLOCK_{i, j}) cuya función es la descrita anteriormente. La microcámara divide la matriz en dos partes: una parte (MCH) proporcionada para la contención de la muestra que se va a procesar, la otra (RCH) proporcionada para la contención de la muestra procesada. Por ejemplo, este esquema podría usarse para seleccionar solo una partícula retenida en la primera microcámara ((MCH) y recuperarla de la segunda microcámara (RCH). Cada bloque (BLOCK_{i,j}) está funcionalmente conectado a un pasillo vertical (VRCHJ), cuya dirección y sentido de movimiento es coherente dentro de toda la matriz y termina en un solo pasillo horizontal (HRCH1), cuya dirección y sentido de movimiento se elige de modo que las partículas transportadas puedan ser trasladadas desde la primera microcámara (MCH) hasta la segunda microcámara (RCH) y luego acumularse en una sola área a través de un pasillo final (VRCHR). La selección de una partícula de entre los n×m retenidos inicialmente en la primera microcámara se puede realizar, por ejemplo, trasladadas al carril correspondiente y transportándola a la segunda microcámara (RCH), inicialmente libre de partículas, de la que la partícula seleccionada se puede extraer.

15 Aparato para la manipulación de partículas con carriles y celdas de aparcamiento sin transistores

El objeto de la presente invención es también un aparato para la producción de las configuraciones de campo necesarias para la manipulación de partículas de acuerdo con el método descrito anteriormente, con base en el uso de bloques de aparcamiento y carriles. A modo de ejemplo no limitativo, se muestra una posible realización con base en el uso de sustratos pasivos, en la que cada bloque carece de elementos de memoria o transistores.

20 La Figura 23 es una vista en planta superior de una primera realización del aparato de acuerdo con la presente invención. Una matriz homogénea de bloques (BLOCK_{i, j}) forma una matriz de jaulas de atracción capaces de atrapar una partícula de manera estable. Cada bloque (BLOCK_{i,j}) está compuesto por: un electrodo central, conectado a una señal de control (V_{caje_j}) común a todos los bloques de la misma columna (o incluso a toda la matriz); un conjunto de electrodos conectados a una señal (V_{pj}) común a toda la matriz y correspondiente a V_{phip}; un electrodo conectado a una señal de control (V_{col_j}) común a todos los bloques de la misma columna; y, finalmente, un electrodo conectado a una señal de control (V_{row_i}) común a todos los bloques de una misma fila. Actuando sobre la fase aplicada a las señales V_{caje_j}, V_{col_j} y V_{row_i}, el punto de equilibrio estable de la fuerza que atrapa la partícula puede desplazarse desde el bloque (BLOCK_{i,j}) hacia un pasillo (VRCHJ) o desde el pasillo hacia el bloque. Cada pasillo está formado por una serie de electrodos conectados a señales comunes a todo el pasillo (V_{1_j}, V_{2_j} y V_{3_j}). Actuando sobre la fase aplicada a estas señales es posible crear y desplazar como se desee puntos de equilibrio estable para la fuerza F a lo largo de todo el pasillo. Asimismo, el aparato puede disponer de uno o más pasillos orientados en sentido horizontal (HRCH), controlados por tres señales comunes a todo el pasillo (V_{h₁}, V_{h₂} y V_{h₃}), cuyo funcionamiento es en conjunto similar al de los pasillos orientados verticalmente (VRCHJ). La Figura 25 muestra los voltajes aplicados a las señales involucradas en los diversos pasos que constituyen la secuencia de salida de un bloque (CHACCIJ), para el desplazamiento por una posición a lo largo del pasillo vertical (CONVEYV), para la entrada al pasillo horizontal (HCHACC), y para correr a lo largo del pasillo horizontal (CONVEYH). Es evidente que con el fin de invertir el sentido de desplazamiento a lo largo del pasillo horizontal o pasillo vertical basta con invertir la secuencia de las fases con respecto a la ilustrada en la Figura 25.

40 La Figura 24 muestra la vista en planta superior de una realización adicional del aparato para la manipulación de carriles y celdas de aparcamiento de acuerdo con la presente invención. El funcionamiento es en conjunto similar al de la realización descrita anteriormente, pero permite obtener una mayor densidad de jaulas de atracción por unidad de superficie en la medida en que, para cada columna de bloques BLOCK_{ij}, los n electrodos al potencial V_{pj} se reemplazan por un solo electrodo en forma de peine al potencial V_{pj}.

45 El número de señales de control para ambas implementaciones sin transistores del aparato con carriles y celdas de aparcamiento, para una matriz de n×m bloques con un número de pasillos horizontales y verticales independientes iguales a g y f respectivamente, es $2n+m+3(g+f)+2$. Si la señal V_{caje_j} se comparte entre todas las columnas, el número de señales cae a $n+m+3(f+g)+2$. Típicamente (como se ilustra en los ejemplos), $f = m$, pero también es posible compartir el mismo carril vertical entre dos columnas de jaulas, en cuyo caso $f = m/2$. El número de canales horizontales se puede elegir según se desee. A mayor número de canales horizontales, mayor flexibilidad, pero menor área útil para las jaulas y mayor número de señales de control requeridas.

50 En la práctica, en el ejemplo descrito anteriormente, las celdas de aparcamiento están organizadas lógicamente en un espacio bidimensional (fila, columna), y cada una tiene acceso a un carril vertical cuando las señales de cada una de las dimensiones (fila y columna) se activan, en la secuencia apropiada. De acuerdo con la presente invención, también es posible lograr diferentes compromisos entre el número de señales de control y la superficie necesaria para el traslado de una jaula desde una celda de aparcamiento a un carril, organizando lógicamente las celdas de aparcamiento mencionadas en varias dimensiones superior a dos. De hecho, la superficie dedicada al traslado de la celda de aparcamiento al carril es proporcional al número de dimensiones lógicas (esta área se considera desperdiciada). La ventaja es que el número de celdas de aparcamiento corresponde al producto del número de señales de control por cada dimensión. A modo de ejemplo, 10,000 celdas de aparcamiento pueden requerir 100 filas y 100 columnas, es decir, 200 señales de control, en el caso de dos dimensiones o bien $22*3 = 66$ señales de control, en el caso de tres dimensiones, o $10*4=40$ señales de control, para organización en cuatro dimensiones. La disposición

espacial de las celdas de aparcamiento puede permanecer obviamente bidimensional, sea cual sea la organización lógica.

El traslado de la jaula desde la celda de estacionamiento al carril se realiza en general mediante una secuencia adecuada de activación de las señales de control. La secuencia se elige para empujar desde la celda de aparcamiento al carril solo la jaula que corresponda a la ubicación deseada, mientras que todas las demás jaulas en las celdas de aparcamiento dan como máximo unos pocos pasos en la dirección del carril, pero invierten luego la sensación de desplazamiento sin completar el traslado, y al final volver a la posición original. La Figura 49 muestra el ejemplo de una posible secuencia de activación de los electrodos (EL), para llevar partículas (BEAD) desde una celda de aparcamiento (CAGE) a un transportador (conv), en el caso de una organización lógica en cuatro dimensiones (d1, d2, d3, d4). El subrayado de cada señal "di" simboliza el hecho de que la celda corresponde a una dimensión seleccionada. En consecuencia, las señales di son programables tanto para la fase negativa (activación, indicada por un sombreado) como para la fase positiva (vacía). En este caso, la jaula de señales es programable, y el número de jaulas de señales diferentes debe corresponder al número de señales de direccionamiento (D1) de la primera dimensión d1. De esta manera, el movimiento de la partícula (BEAD) desde la jaula de partida es repetible y determinista, como se ilustra en la Figura 49. El número de celdas de aparcamiento direccionables con dimensiones D es igual al producto del número de señales de aparcamiento de cada dimensión, es decir, $D_1 \times D_2 \times \dots \times D_D$, mientras que el número de señales de control necesarias asciende a $2 \times D_1 + D_2 + \dots + D_D$.

La implementación del aparato de acuerdo con la presente invención puede obtenerse explotando diferentes tecnologías de acuerdo con la técnica conocida. A modo de ejemplo, se pueden citar técnicas fotolitográficas. Tres niveles metálicos son ideales para minimizar la resistencia de las rutas, en la medida en que en este caso para las líneas de filas y columnas no es necesario tener transición entre un nivel y otro (se evitan los caminos y las resistencias asociadas). Sin embargo, dos metalizaciones son suficientes en el caso donde también se utilicen para las señales de fila y columna. Los pasos horizontal y vertical (PITCH), es decir, la distancia entre los centros de dos bloques adyacentes ya sea horizontal o verticalmente, en este dispositivo es igual, respectivamente, a cinco veces o dos veces el paso entre los metales de la superficie adyacente. Para la obtención de los electrodos se pueden utilizar metales nobles (oro, platino, etc.) o también óxidos conductores, que son particularmente útiles en la medida en que dichos óxidos sean transparentes (óxido de indio y estaño - ITO). Para la fabricación del sustrato se pueden utilizar aislantes (vidrio, policarbonato, etc.) o ya sea semiconductores (silicio, etc.). Para realizar la cubierta (LID) se puede utilizar un sustrato aislante provisto con un electrodo, que también se puede obtener mediante metales u óxidos conductores, que son particularmente útiles cuando dichos óxidos conductores son parcial o totalmente transparentes. Es evidente para los expertos en el sector que se pueden utilizar otras geometrías diferentes de las descritas en la presente patente a modo de ejemplo para la producción del aparato de acuerdo con la presente invención.

En general, los aparatos con matrices de electrodos regulares (es decir, aquellos sin anillos o similares) son preferibles en el uso con la fuerza EWOD.

Aparato para la manipulación de partículas con carriles y celdas de aparcamiento con transistores y/o elementos de memoria

A modo de ejemplo no limitativo, se muestra una posible realización adicional con base en el uso de sustratos activos, en los que se usan transistores y/o elementos de memoria.

Aparato para la manipulación de partículas con circuitos acondicionadores para carriles

Cada una de las señales (Vh_1, Vh_2, Vh_3) utilizadas para suministrar los electrodos de los pasillos orientados horizontalmente (HRCH), y cada una de las señales (V1_j, V2_j y V3_j) utilizadas para suministrar los electrodos de los pasillos orientados verticalmente (VRCHJ) pueden conectarse a señales comunes a todo el aparato (Vphin, Vphip) a través de circuitos electrónicos que forman multiplexores. Dichos multiplexores pueden programarse mediante señales digitales o mediante elementos de memoria direccionables individualmente. La realización del circuito que implementa este esquema se puede obtener de acuerdo con uno cualquiera de los métodos conocidos por las personas expertas en el sector. Esta técnica permite una reducción en el número total de señales necesarias para conducir y/o programar todo el aparato.

Aparato para la manipulación de partículas con circuitos de acondicionamiento para aparcamiento de celdas

Asimismo, cada una de las señales (Vcage_j, Vcol_j, Vrow_i) utilizadas para suministrar los electrodos de las celdas de aparcamiento pueden conectarse a señales comunes a todo el aparato (Vphin, Vphip) a través de circuitos electrónicos que forman los multiplexores. Dichos multiplexores pueden programarse mediante señales digitales o mediante elementos de memoria direccionables individualmente. La realización del circuito que implementa este esquema se puede obtener de acuerdo con cualquiera de los métodos conocidos por las personas con conocimientos ordinarios en el sector. Esta técnica permite una reducción en el número total de señales necesarias para conducir y/o programar todo el aparato.

Método para la manipulación de partículas con carriles

En una realización adicional del método, los puntos de equilibrio están limitados, en grupos, a moverse de forma sincrónica, a lo largo de rutas preestablecidas denominadas "carriles". Los puntos de intercambio entre los grupos permiten que las partículas pasen de un grupo a otro, es decir, que cambien de carril. A pesar de estas limitaciones adicionales, el método permite en cualquier caso manipulaciones de partículas individuales y, después de una serie de pasos, el desplazamiento de una sola partícula, dejando inalterada la posición de todas las demás.

Un ejemplo del principio de funcionamiento del método se ilustra en la Figura 26. Dos carriles, que están cerrados en un círculo, son suficientes. En el primer carril (C_STORE), conducido por NS fases S_1, S_{NS} , repetidas NIS veces, se pueden introducir partículas, posiblemente incluso en un orden aleatorio. Trasladando una o más partículas al segundo carril (C_TMP), impulsado por NT fases T_1, T_{NT} , repetidas NIT veces, es posible reordenar las partículas en el primer carril. El número mínimo de fases para cada carril es 3. En consecuencia, con 6 fases es posible controlar una distribución arbitraria de partículas. El intercambio entre dos carriles se puede obtener con una secuencia de pasos como se ilustra en la Figura 27a-e, que muestra una partícula (BEAD) en una jaula de atracción (CAGE) en un primer carril (CON_1) mientras se lleva al punto de intercambio con el otro carril [Figura 27c], cambiando la programación de los electrodos (EL). Al alejar [Figura 27d] la jaula del primer carril cuando hay una jaula en el punto de intercambio en el segundo carril (CON_2), la partícula pasa a este último. La Figura 28 muestra una secuencia similar en el caso de una matriz de electrodos hexagonales. Esta realización es particularmente adecuada para usar con la fuerza EWOD. Sin embargo, es posible obtener el intercambio entre carriles utilizando configuraciones de electrodos más complejas, aprovechando uno de los métodos descritos para los propósitos de la presente invención.

En una forma de realización adicional, se utiliza un solo carril para hacer que todas las partículas se desplacen con el fin de reposicionar una partícula determinada en una posición determinada. Es evidente que dicho método se aplica al caso genérico de un número de carriles, sin considerar, sin embargo, ningún intercambio entre carriles. En este caso, es útil que los carriles no estén limitados entre sí.

Aparato para la manipulación de partículas con carriles sin transistores

Aparato para la manipulación de partículas con 9 señales de control

La Figura 29 muestra una realización preferencial de un aparato para la manipulación de partículas con carriles, sin el uso de transistores. NCV carriles circulares verticales VC_1, VC_NCV forman cada uno jaulas NI (CAGES), mediante 3 fases, V1, V2 y V3. Dichas fases se conectan repetidamente en cada iteración $I_1 \dots I_{NI}$ de un grupo de 3 electrodos. Dichas fases son comunes a todos los carriles. Un segundo carril circular horizontal (HCONV), accionado por tres fases H1, H2 y H3, comprende NCV puntos de intercambio con los transportadores verticales, activos en la fase V1+H1, de modo que es posible trasladar simultáneamente el contenido de las jaulas NCV desde los carriles verticales al carril horizontal. Dichos carriles verticales y horizontales se obtienen en una primera microcámara (MCH). Un tercer carril (RCONV), accionado por las fases R1, R2 y R3, se obtiene en una segunda microcámara (RCH), separada del primero por un diafragma (CHW). Dicho tercer carril comprende un punto de intercambio activo durante la fase H2+R2.

Este aparato es particularmente adecuado, por ejemplo, para aislar partículas individuales, por ejemplo, celdas suspendidas en un líquido. Se pueden inyectar una multitud de partículas en la primera microcámara (MCH). Se inyecta un líquido sin partículas en la segunda microcámara (RCH). Se pueden seleccionar y transportar una o más partículas de interés desde los carriles verticales de la primera microcámara (MCH) al carril horizontal y desde aquí al tercer carril en la segunda microcámara. Desde aquí se puede hacer que las partículas fluyan y se recuperen por separado.

Aparato para la manipulación de partículas con 7 señales de control

La realización del aparato se puede simplificar aún más, para el aislamiento de partículas individuales, limitando el tercer carril (RCONV) a moverse de forma sincrónica con los carriles verticales para compartir las fases V1, V2 y V3 de los mismos, como se ilustra en la Figura 30. En este caso, sin embargo, se debe agregar una fase (THR) para controlar el traslado desde el transportador horizontal (HCONV) al tercer transportador (RCONV). El número total de fases se reduce así a 7. A pesar de las limitaciones de este aparato con el uso de solo carriles, debe tenerse en cuenta que el número de pasos para llevar una partícula individual desde un punto de la primera microcámara (MCH) a un punto de la segunda microcámara (RCH) es, en una primera aproximación, aproximadamente igual al número de pasos de un aparato que permite el movimiento independiente de todas las partículas.

Aparato para la manipulación de partículas con carriles y cámaras independientes

En la Figura 31 se muestra una realización preferencial del aparato para la gestión de partículas de un tipo diferente. En este caso, cada carril vertical se obtiene en una microcámara separada y se controla mediante señales separadas. Por ejemplo, en diferentes cámaras verticales se pueden inyectar diferentes partículas. Así, es posible trasladar de forma ordenada, sobre el carril horizontal (HCONV), partículas de diferentes tipos, o bien es posible hacer que partículas de un tipo interactúen con partículas de un segundo tipo provenientes de una segunda microcámara.

Aparato para la manipulación de partículas con carriles con transistores y/o elementos de memoria

Cada una de las señales utilizadas para alimentar los electrodos de los pasillos (C_STORE, C_TEMP, VC_i, HCONV, RCONV) puede conectarse a señales comunes a todo el aparato (V_{phin}, V_{phip}) a través de circuitos electrónicos que

forman multiplexores. Dichos multiplexores pueden programarse mediante señales digitales o mediante elementos de memoria direccionables individualmente. La realización del circuito que implementa este esquema se puede obtener de acuerdo con cualquiera de los métodos conocidos por las personas expertas en el sector. Esta técnica permite la reducción del número total de señales necesarias para activar y/o programar todo el aparato.

5 Aparato para la manipulación de partículas con carriles y matriz completamente programable

En una realización adicional, la tecnología del aparato de la Figura 23, implementada, de acuerdo con técnicas similares a las utilizadas en los aparatos de las Figuras 29, 30, 31 ya descritas, se utiliza para obtener el aparato complejo ilustrado en la Figura 32, que permite optimizar las posibilidades y tiempos de manipulación de las partículas y al mismo tiempo contener el número de señales de control necesarias. De acuerdo con lo que se ilustra en la Figura 10 32, este aparato de acuerdo con la invención está dividido por un diafragma (CHW) hecho de material polimérico en dos microcámaras (MCH, RCH).

La primera microcámara (MCH) está sustancialmente constituida por:

15 a. una primera multiplicidad y una segunda multiplicidad de carriles circulares verticales (definibles también como "transportadores") (es decir, los que forman un circuito cerrado, aunque alargado) VC1 1 ... VC1_NCV y VC2_1 ... VC2_NCV, cada uno formando NI jaulas (CAGES), mediante tres fases V1, V2 y V3, conectadas repetidamente en cada iteración I_1 ... I_NI de un grupo de tres electrodos;

20 b. un primer carril circular horizontal y un segundo carril circular horizontal HCONV_UP, HCONV_DOWN (o incluso simplemente un carril lineal, es decir, con electrodos dispuestos para formar una porción de la matriz en una línea recta en lugar de en un circuito), accionados por cuatro fases H1, H2, H3 y H4 que comprenden NCV puntos de intercambio con los carriles verticales (transportadores), activos en la fase V2+H3, de manera que es posible trasladar simultáneamente el contenido de una o más jaulas desde los carriles verticales al primer carril horizontal;

25 c. un tercer carril circular horizontal (o simplemente lineal) HCONV_AUX, accionado por cuatro fases AUX1, AUX2, AUX3 y AUX4, que comprende puntos de intercambio NCAUX1 con el transportador o un carril horizontal superior HCONV_UP y un número idéntico NCAUX2 de puntos de intercambio con el transportador o carril horizontal inferior HCONV_DOWN, situados en posiciones correspondientes entre sí;

30 d. una matriz matricial de electrodos completamente programable, por ejemplo, una matriz cuadrada de 5 x 5 electrodos, cada uno controlado individualmente a través de fases especiales dedicadas, o una vez más utilizando electrodos de un tipo completamente activo, como en la técnica conocida, cada uno equipado con elementos de memoria programables y transistores, para formar en uso una matriz matricial de jaulas de atracción programables individualmente;

e. un primer carril de descarga vertical circular VCW_UP y un segundo carril de descarga vertical circular VCW_DOWN accionado por 3 fases de forma sustancialmente similar a lo ya descrito para los carriles verticales VC1_i y VC2_j, que tienen la función de eliminar partículas no deseadas de la matriz;

35 f. un carril de descarga vertical circular largo VCW_LONG, que tiene una dimensión aproximadamente el doble que los carriles verticales VC1_i y VC2_j, que también es accionado por tres fases de una manera sustancialmente similar a lo que ya se ha descrito para los carriles verticales VC1_i y VC2_j, establecido en la porción de la microcámara MCH en el lado opuesto a la matriz.

40 La segunda microcámara (RCH) está sustancialmente constituida por un carril de salida RCONV, accionado por las cuatro fases R1, R2, R3 y R4, para transportar las partículas que salen de la matriz de interés a la segunda microcámara, mediante una discontinuidad del diafragma hecho de material polimérico CHW que constituye un pasaje de comunicación entre las dos microcámaras. Además, se proporciona un carril de retroalimentación horizontal HCONV_FB, accionado por cuatro fases FB1, FB2, FB3 y FB4, que se encuentran sustancialmente en la misma línea recta identificada por el carril horizontal auxiliar, mediante el cual es posible traer una partícula de la salida del carril RCONV, y por lo tanto desde la microcámara RCH, hacia la matriz, una vez más a través del pasaje antes mencionado 45 en el diafragma CHW.

En una realización particular, los carriles circulares verticales son 400, dispuestos en 20 grupos de 20 elementos. Dado que la primera microcámara MCH está dividida fundamentalmente por los carriles horizontales en dos mitades, una superior y una inferior, los carriles verticales son 200 en la mitad superior y 200 en la mitad inferior. Por lo tanto, la estructura es completamente simétrica.

50 Cada carril individual puede desplazar una partícula y girarla usando un protocolo de tres fases. En cualquier caso, es posible extraer de un carril una partícula de interés utilizando uno de los NCV puntos de intercambio (controlables), ubicados inmediatamente encima del carril horizontal HCONV_UP para los carriles verticales hacia arriba e inmediatamente debajo del carril horizontal HCONV_DOWN para los carriles verticales hacia abajo. Cada punto de intercambio está definido por un par de electrodos, denominados, respectivamente, "elemento" y "grupo" (Figura 32). 55 Dado que los electrodos de grupo y los electrodos de elemento son 20, el número de intercambios direccionables es 400, igual al número de carriles verticales. La señal de fase especial es la misma para cada carril dentro de un grupo,

por lo que el comportamiento de la señal de fase especial y de las señales de un electrodo de grupo es el mismo para cada transportador del grupo. No se aplica lo mismo a los electrodos de elementos. Siempre es posible, de esta manera, trasladar una partícula de interés de un transportador vertical a un transportador horizontal para transportarla hasta la matriz programable y posiblemente al punto de salida, sin cargar ninguna otra partícula en el transportador horizontal. El cambio de dirección, es decir, el traslado desde un carril vertical a un carril horizontal es posible gracias a un electrodo guiado por una fase especial (Figura 33). Usualmente, dicho electrodo se encuentra en la misma fase que la señal de la Fase 2, pero en el caso de una partícula de interés, cuando todas las demás señales de la Fase 2 permanecen negativas (es decir, activas) también la señal especial se vuelve negativa (Figura 34), dejando así que la celda sea trasladada a través del punto de contacto si el electrodo de elemento y el electrodo de grupo están activos. Cuando, en cambio, la señal del elemento no está en la fase negativa (lo que es cierto para los otros 19 carriles no involucrados en el intercambio), la operación es la ilustrada en la Figura 35. De esta manera, las partículas pueden unirse a los transportadores hacia arriba y hacia abajo. La operación ilustrada en la Figura 35 es además útil cuando se desea modificar el orden de las partículas dentro de un mismo carril vertical, en la medida en que posibilita el depósito temporal de una partícula en el electrodo de grupo externo al carril vertical, y luego vuelva a colocarlo en el propio carril vertical.

De manera similar a lo ilustrado anteriormente en la descripción del aparato con carriles y celdas de aparcamiento sin transistores, también en este caso del aparato con carriles y matrices programables es posible adoptar una organización lógica de los transportadores no en dos dimensiones (como se describe anteriormente) pero en dimensiones D. A modo de ejemplo, se puede hacer referencia una vez más a la Figura 49, descrita anteriormente, como representación del traslado de una partícula (BEAD) desde el extremo de un transportador vertical (jaula) a un transportador horizontal (conv). Para las personas expertas en el sector está claro cómo es posible generalizar la secuencia de operaciones para realizar los intercambios de carriles verticales al carril horizontal solo para el carril seleccionado, es decir, solo para aquél para el cual todos los D (= 4, en el ejemplo) se seleccionan señales de intercambio de cada dimensión.

Con los carriles horizontales (HCONV_UP, HCONV_DOWN), las partículas de interés se pueden trasladar a la matriz matricial completamente programable, en la que es posible realizar operaciones complejas, tal como por ejemplo la división de grupos de partículas. Esto es particularmente útil, por ejemplo, cuando la densidad media de celdas por jaula en la muestra inyectada es igual o mayor que uno. En este caso, la probabilidad de tener una sola celda en la jaula disminuye y, en consecuencia, es probable que las celdas de interés formen parte de un grupo. La presencia de la matriz matricial completamente programable permite la segregación en diferentes jaulas de las celdas que forman parte de un grupo.

En la realización preferencial, una matriz matricial es un cuadrado de 5 x 5 electrodos completamente programables, como se ilustra en la Figura 36, que muestra la interacción relativa del mismo con los transportadores horizontales y el transportador auxiliar.

Por medio de la matriz matricial es posible seleccionar y retener las partículas de interés, mientras que, después de la segregación en jaulas separadas, las otras se pueden alejar después de ser trasladadas a los carriles de descarga. Los puntos de intercambio entre la matriz y los carriles de descarga funcionan como los otros puntos de intercambio, pero sin los electrodos de dos elementos y grupos (Figura 37).

El carril auxiliar HCONV_AUX se puede utilizar como soporte de los dos carriles horizontales HCONV_UP y HCONV_DOWN, por ejemplo, en el caso de cualquier mal funcionamiento por obstrucción de partículas, etc. En una realización preferida del aparato, entre los tres carriles horizontales se proporcionan 12 puntos de intercambio, realizados con un doble punto de intercambio, como se ilustra en la Figura 38.

El carril auxiliar también se puede utilizar para eliminar las partículas no deseadas, particularmente durante el paso de puesta en marcha del aparato. La Figura 39 muestra el extremo izquierdo del carril auxiliar, donde es posible trasladar las partículas en los carriles de descarga largos a través de un punto de intercambio individual.

Ubicados a la salida de la matriz matricial (Figura 40) están el carril de descarga hacia arriba VCW_UP y el carril de descarga hacia abajo VCW_DOWN. El carril de salida RCONV es un carril de 4 fases, que transporta las celdas de interés fuera de la microcámara MCH y dentro de la microcámara RCH. Para tener el mayor número posible de jaulas, la ruta hacia el punto de salida avanza en zigzag (Figura 41) a lo largo de la microcámara RCH. Cuando las partículas están en el carril de salida, pueden volver a introducirse en la matriz por medio del carril de retroalimentación horizontal HCONV_FB. Este último divide el carril de salida de forma simétrica, identificando en efecto un medio carril de salida superior y un medio carril de salida inferior. Cabe señalar que dichos medios carriles son completamente independientes del punto de vista operativo, por lo que es posible utilizar incluso uno solo de ellos.

El área activa del aparato está rodeada por un anillo (Figura 42), a su vez formado por dos anillos concéntricos de electrodos en fase positiva, seguidos de un anillo de electrodos en fase positiva alternando con electrodos falsos (por ejemplo, electrodos flotantes), que a su vez son seguidos por dos anillos de electrodos en fase positiva. Los electrodos falsos están alineados con las columnas de los transportadores.

Cabe señalar que la realización que se acaba de describir permite ventajosamente combinar la sencillez de programación y gestión (número de fases para el control de los carriles hacia abajo) con la precisión (posibilidad de realizar manipulaciones complejas de las partículas de interés dentro de la matriz, teniendo la posibilidad de intervenir de forma independiente en cada una de las jaulas individuales que lo constituyen).

5 Aparato para el reconocimiento y recuento de partículas

A cada uno de los métodos para la manipulación de partículas, tanto con matrices homogéneas como con celdas y carriles de parqueo o incluso con solo carriles se puede agregar una parte para la detección de partículas para distinguir, reconocer, caracterizar, o el recuento de celdas/partículas. La distinción o reconocimiento se puede obtener de acuerdo con la técnica conocida de diferentes maneras:

- 10 1. distinguir/reconocer diferentes partículas/celdas que tiene el mismo comportamiento reactivo con las fuerzas F impresas, pero que afectan de forma diferente la lectura de los sensores; por ejemplo, partículas con un índice diferente de transparencia afecta de manera diferente la lectura de la intensidad de luz de un fotodiodo;
- 15 2. distinguir/reconocer partículas/celdas que tiene un comportamiento diferente reactivo con las fuerzas F impresas, pero el mismo comportamiento para el sensor; por ejemplo, celdas de diferentes dimensiones pueden tener una tasa diferente de desplazamiento, y por lo tanto es posible reconocerlos monitorizando el tiempo utilizado para pasar desde un bloque (BLOCK_{i, j}) al adyacente (BLOCK_{i, j+1});
3. distinguir/reconocer partículas/celdas que tiene un comportamiento diferente reactivo con las fuerzas F impresas y en cualquier caso un comportamiento diferente para el sensor.

20 El reconocimiento se puede combinar con un método para el recuento de celdas obtenido combinando el efecto de las fuerzas (F), a través del cual posicionar cada celda (o grupo de celdas) en un punto que corresponde a un elemento en una matriz de sensores, y la capacidad de identificar la presencia de cada celda (o grupo de celdas) por medio de dichos sensores. De esta forma es posible, además del reconocimiento, también el recuento de partículas de cada tipo.

25 En cada realización de aparatos para la manipulación de partículas de acuerdo con la presente invención, tanto con matrices homogéneas como con celdas y carriles de parqueo o también con solo carriles, es consecuentemente posible agregar una parte para la detección de partículas.

Diferentes realizaciones son posibles de manera que la detección se hace a través de medición de impedancia o sensores ópticos, De particular interés es la posibilidad de detectar las partículas incluso sin un sustrato activo, es decir, sin transistores

30 Aparato para la manipulación de partículas sin transistores con sensores de medición de impedancia

Por lo tanto, es posible monitorizar la perturbación impuesta por la presencia de una partícula en el campo eléctrico que se crea entre elementos adyacentes de una matriz de electrodos con el fin de individualizar, cuantificar y/o calificar la presencia de partículas. En el caso de matrices homogéneas, se puede realizar una medición de la presencia de una (o más) partículas y posiblemente su (su) caracterización mediante la medición de la impedancia entre las rutas normalmente utilizadas para transportar las señales de fila y las señales de columna.

35 Con referencia a la Figura 5, se puede entender cómo la impedancia entre, por ejemplo, V_{row_i} y V_{col_j} se ve notablemente afectada por la presencia o ausencia y por el tipo de partículas posiblemente arrastradas en la jaula CAGE_{i, j}, y ligeramente afectada por la posible presencia de partículas en las jaulas circundantes.

40 Se puede realizar una medición similar en el caso de un aparato con carriles y celdas de aparcamiento. Con referencia a la Figura 23, se puede entender cómo la impedancia entre, por ejemplo, V_{row_i} y V_{col_j} , se ve notablemente afectada por la presencia o ausencia y por el tipo de partículas posiblemente arrastradas en la jaula del bloque BLOCK_{i,j}, y solo ligeramente afectada por la posible presencia de partículas en las jaulas circundantes.

Por supuesto, es posible agregar rutas de filas y columnas específicamente para la detección, sin tener que multiplexar la activación y la detección.

45 La Figura 43 muestra un esquema de lectura para detectar la impedancia de las intersecciones individuales (Z_{cage_ij}) entre líneas genéricas de señales de fila (R_i) y señales de columna (C_j), sin sufrir la influencia del acoplamiento entre filas adyacentes (Z_{row}) y columnas (Z_{col}), que de otro modo harían imposible la detección, en la medida en que su valor sea típicamente dominante con respecto a Z_{cage_ij} . Este esquema de lectura se puede obtener con un sistema electrónico con componentes externos al chip microfabricado y, por lo tanto, compatible con el uso de sustratos sin transistores, pero también se puede integrar en el chip en el caso de que se disponga de transistores.

50 Un estímulo de entrada (V_{in}), con valor medio cero, se aplica selectivamente a una fila (R_i), habilitando solo sus multiplexores MR_i . Los otros multiplexores de fila $MR_1 \dots MR_{i-1}$, $MR_{i+1} \dots MR_m$ conectan las filas restantes a tierra. Solo una columna (C_j) correspondiente a la coordenada de la impedancia de intersección (Z_{cage_ij}) que se va a medir,

se multiplexa en el suelo virtual (Vvgnnd) de un amplificador de transimpedancia, cuya salida (Vout) es inversamente proporcional a la desconocida impedancia:

$$V_{out} = - V_{in} * Z_r / Z_{cage_ij}$$

5 Por lo tanto, dicho voltaje de salida (Vout) se puede utilizar para derivar Z_{cage_ij} , con V_{in} y Z_r conocidos. La salida Vout, en general, puede ser procesada, posiblemente junto con la entrada V_{in} , por un bloque de procesamiento de la señal (PROC), de tipo analógico o digital, para producir una o más salidas adicionales -analógicas o digitales- (OUT), que representan la medida de la impedancia y, por lo tanto, de la presencia o no o también del tipo de partícula en el punto de medida.

10 A modo de ejemplo, se cita el caso donde la entrada (V_{in}) es una senoide a una frecuencia conocida. En este caso, procesando la salida del amplificador (Vout) junto con V_{in} es fácilmente posible obtener con técnicas conocidas una medición precisa de Z_{cage_ij} . Por ejemplo, en el bloque para procesar la señal (PROC) se pueden utilizar posiblemente técnicas de filtrado tales como el filtrado de amplificador en bloqueo.

15 Una vez más, a modo de ejemplo, se cita la posibilidad de aplicar un voltaje de entrada (V_{in}) formado por la suma de un número de sinusoides a diferentes frecuencias. Debido a la superposición de los efectos, al separar las componentes espectrales del voltaje de salida (Vout) mediante filtros analógicos o digitales en el bloque de procesamiento (PROC), es posible detectar simultáneamente, en todas las frecuencias que componen la entrada (V_{in}), la impedancia (Z_{cage_ij}) de la jaula direccionada por los multiplexores de fila y columna (MRI) (MCj).

20 Para acelerar la operación de lectura es posible leer en paralelo todas las columnas, replicando el amplificador y el bloque de procesamiento para cada columna. En este caso, no es necesario utilizar ningún multiplexor de columna (MCj).

Método y aparato para la detección de partículas con sensores de medición de impedancia

25 De acuerdo con la presente invención, se puede proporcionar un aparato de detección también independientemente del uso del chip como actuador. En este caso, generalmente es posible aumentar la resolución espacial de los puntos de detección (en el límite obteniendo una resolución igual al paso de la metalización superior), obteniendo una imagen del medidor de impedancia de la muestra que permite la resolución de celdas individuales.

30 Es particularmente útil el estudio de la morfología de los tejidos formados por grupos de celdas para evaluar la rugosidad, la humedad u otros parámetros útiles para aplicaciones cosméticas o para estudios dermatológicos. En este caso, la medida de impedancia no implica el uso de fuerzas y puede efectuarse entre electrodos adyacentes dispuestos de manera regular en un espacio bidimensional colocando el tejido en contacto con el sustrato sobre el que se ubica la matriz de electrodos.

35 El objeto de la presente invención es un aparato que implementa esta técnica mediante una matriz de bloques de electrodos, cada uno constituido por al menos un electrodo conectado a señales de fila y al menos un electrodo conectado a señales de columna, de manera que la impedancia entre dichos electrodos se puede evaluar midiendo la impedancia entre fila y columna. Una posible partícula ubicada en la vecindad de cada intersección de fila y columna puede detectarse de esta manera midiendo la impedancia entre la fila y la columna.

40 A modo de ejemplo que no significa límites al alcance de la presente invención, se proporciona una posible implementación de dicho aparato que es particularmente útil cuando las filas se forman sobre un sustrato (SUB) mientras que las columnas se forman sobre la cubierta (LID) enfrentadas y establecidas a una distancia del primer sustrato, o viceversa. De esta manera, de hecho, es posible proporcionar electrodos rectangulares paralelos iguales a la longitud total del aparato dispuestos horizontalmente sobre el sustrato (SUB), para obtener señales de fila, y dispuestos en la cubierta (LID), para obtener señales de columna. De esta manera, la medición se realiza evaluando la impedancia entre cada fila y columna para determinar la presencia de un conjunto de partículas entre el electrodo de fila y el electrodo de columna en la intersección entre las dos señales. El aparato resultante se puede obtener con un solo nivel de metalización en el sustrato (SUB) y un nivel de metalización en la cubierta (LID).

45 Aparato para la manipulación de partículas sin transistores con sensores ópticos y electrodos transparentes

50 Una posibilidad adicional de detección de las partículas está constituida por el uso de sensores ópticos debajo del dispositivo, combinado con el uso de electrodos transparentes (tales como óxido de indio y estaño-ITO). En este caso, cuando el dispositivo se ilumina desde arriba, las partículas son detectadas por las variaciones de potencia óptica que inciden en la matriz de detección externa, debajo del dispositivo. Como se ilustra en la Figura 44, el sistema de detección subyacente puede estar constituido por una matriz de sensores ópticos (pixel), por ejemplo, fotodiodos o CCD, en los que la distancia entre elementos adyacentes de la matriz de sensores es $1/N$ veces la distancia entre dos bloques adyacentes (BLOCK_{i,j}), con $N = 1$ entero. La principal característica de esta técnica radica en la posibilidad de alinear las partículas que se van a detectar con los elementos (pixel) del sensor, mejorando la sensibilidad de las medidas y obteniendo una correspondencia biúnica entre partícula y elemento sensor. Esta técnica garantiza, de hecho, que cada partícula se pueda ubicar única y exclusivamente en el área del sensor de un solo elemento de la matriz de sensores.

Como alternativa, es posible utilizar una matriz de sensores externos colocados a una distancia del dispositivo de actuación, en los que la luz reflejada desde arriba o transmitida desde abajo es transportada y enfocada por una serie de lentes hacia el sensor, sin embargo, los elementos (píxeles) de los cuales están alineados ópticamente con los bloques de la matriz.

5 Aparato para la manipulación de partículas sin transistores con sensores ópticos y electrodos no transparentes

Una posibilidad adicional de detección de las partículas está constituida por el uso de sensores ópticos (OPTISENS) debajo del dispositivo, combinado con el uso de electrodos no transparentes. En este caso, los agujeros de potencial (CAGE) se pueden obtener en la proximidad del sustrato, en las regiones no recubiertas con el metal de los electrodos. En la Figura 44 se muestra como un caso particular una realización simple del aparato, en la que la matriz de electrodos (EL) está constituida por un solo electrodo en forma de cuadrícula cuadrada (obviamente son posibles otras formas geométricas, como rectángulos, círculos, hexágonos o triángulos). En este caso, se obtienen bloques (BLOCK_{i, j}), constituidos (Figura 44a) por regiones no recubiertas con el metal del electrodo, donde se proporcionan puntos de equilibrio estable (CAGE_{i, j}). De esta manera, si el sustrato es transparente, es posible aplicar, debajo del aparato (Figura 44b), un sensor (OPTISENS) constituido por una matriz de elementos fotosensibles (píxel) para la detección de la presencia de partículas ingresadas en cada de los puntos de equilibrio estable. A este respecto, es preferible que los elementos (píxel) de la matriz de sensores estén alineados ópticamente con la matriz de puntos de equilibrio estable (CAGE_{i,j}), en los que la distancia entre elementos adyacentes de la matriz de sensores es 1/N veces la distancia entre dos bloques adyacentes (BLOCK_{i, j}), con N = 1 entero. Este aparato es particularmente útil para contar las partículas contenidas en una muestra líquida. En este caso, la realización se limita a la alineación de las partículas (BEAD) con los elementos (píxel) de la matriz de sensores.

En la Figura 45, puramente a modo de ejemplo, que de ninguna forma limita el alcance de la presente invención, se muestran los resultados de un experimento realizado mediante un prototipo obtenido a partir de un sustrato de vidrio transparente con un electrodo constituido por: una rejilla metálica suministrada con una señal sinusoidal (V_{phip}); una tapa de cubierta, cuya cara inferior es conductora y transparente (suministrada con una señal en oposición de fase V_{phin}); un sensor externo, que detecta la luz captada por la parte inferior del dispositivo mediante las lentes de un microscopio; y una fuente de luz que irradia el dispositivo desde arriba. En este caso, asociado ópticamente a cada elemento de la matriz de puntos de equilibrio estable (CAGE_{i,j}) hay una multiplicidad de píxeles del sensor. En el caso de que se utilice un sensor externo, como se describió anteriormente, no es imprescindible que el sustrato (SUB) sea transparente ya que es posible utilizar la imagen recogida desde arriba, irradiando el dispositivo con luz reflejada.

Con referencia a la parte inferior de la Figura 46, la señal (LINT) proveniente de cada píxel del sensor se convierte en una señal digital mediante un comparador hardware/software que compara la señal proveniente del sensor con un umbral (LLINE) correctamente fijado de manera que el valor lógico LDIG = 0 (negro) corresponde a la ausencia de cualquier partícula en la celda (BLOCK_{i,j}), mientras que el valor lógico LDIG = 1 (blanco) corresponde a la presencia de una partícula en la celda (BLOCK_{i, j}). En la Figura 45a se ilustra una imagen ampliada del dispositivo, en la que los bloques (BLOCK_{i, j}) y las microesferas (BEAD) atrapadas en los puntos de equilibrio estable (CAGE_{i, j}) son claramente visibles, mientras que en la Figura 45b se ilustra la señal procesada correspondiente a la misma parte del dispositivo. En el ejemplo mostrado, el procesamiento consiste en una inversión de los niveles de gris, seguido de un desenfoque y un umbral. A partir de la imagen resultante se puede obtener fácilmente un recuento automático. Se pueden obtener resultados similares utilizando un sensor de contacto que recoge la luz desde abajo, como se ilustra en la Figura 46, o integrado dentro del propio sustrato. La ventaja del uso de sensores de contacto radica en el hecho de que no se requiere el uso de lentes de microscopio. El resultado es un aparato de dimensiones reducidas y, por tanto, portátil.

Es evidente para los expertos en el sector que existen muchas otras posibilidades de integración de sensores, que generalmente también son más simples si es posible usar un sustrato activo con transistores, que se puede usar para acoplar una matriz de sensores ópticos y medidores de impedancia a las jaulas de atracción.

Con el fin de mejorar el rendimiento debido al uso de sensores ópticos se pueden utilizar microlentes (MICROLENSE), que por ejemplo se pueden proporcionar en la parte superior de la cubierta (LID) para transmitir la luz sobre la partícula atrapada. En la Figura 47 se ilustra un ejemplo de esta idea, en la que se muestra esquemáticamente cómo el uso de microlentes puede mejorar la sensibilidad de la medición (recolectando la luz que de otra manera terminaría fuera de la región sensible) y aumentar el contraste entre los diferentes niveles de señal asociados a la presencia o ausencia de una partícula (transportando todos los rayos de luz al centro de fuerza de la jaula, donde se posiciona la partícula). Además, es evidente para los expertos en el sector que los efectos de lentes, platos parabólicos, prismas, espejos, filtros o polarizadores pueden combinarse para irradiar el aparato.

Como una alternativa al uso de una matriz bidimensional de sensores ópticos (píxel), es posible utilizar (Figura 48) una matriz unidimensional (SENSHEAD) con elementos sensores (píxel) alineados ópticamente con una fila (o con una columna) de la matriz de puntos de equilibrio estable (CAGE_{i, j}), en la que la distancia entre elementos adyacentes de la matriz de sensores es 1/N veces la distancia entre dos bloques adyacentes (BLOCK_{i,j}) en la misma fila (o columna), con N=1 entero. Para adquirir información sobre la presencia/ausencia de partículas en toda la matriz, se efectúa una adquisición en secuencia de tiempo para cada fila (o columna) de la matriz, desplazando por un paso

(PITCH), después de cada adquisición, la matriz de sensores (píxel) con respecto a la matriz de bloques o viceversa en la dirección (HEADIR) paralela a las columnas (o a las filas).

5 En la Figura 48 se muestra puramente a modo de ejemplo que no son maneras de limitar el alcance de la presente invención una posible realización de esta idea. En este caso, es el dispositivo el que se mueve, mientras que el sensor (SENSHEAD), el condensador de luz (CONDENSOR), la óptica de precisión (OPTIC), los posibles filtros (FILTER) y la fuente de luz (LSOURCE) permanecen fijos.

10 Finalmente, es posible utilizar un único elemento fotosensible para realizar un escaneo en secuencia de tiempo de toda la matriz. En este caso, después de cada adquisición, se efectúa un desplazamiento del sensor (SENSHEAD) en la dirección paralela a las filas, por una distancia igual al paso entre elementos de la fila. A continuación, al final de cada fila se efectúa un desplazamiento del sensor en la dirección paralela a las columnas, en una distancia igual al paso entre elementos de la columna. Luego se escanea una fila más, procediendo de la misma manera hasta completar toda la matriz.

15 Finalmente, es evidente que el método de adquisición y/o los aparatos descritos anteriormente se pueden aplicar a todos los métodos y/o aparatos que forman el objeto de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas, lo cual es particularmente útil cuando el uso de sensores se combina con la manipulación de partículas o celdas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la manipulación de partículas (BEAD) mediante al menos un matriz bidimensional de bloques (BLOCK_{i,j}) de electrodos, que comprende los pasos de:

5 i. generar una primera configuración de campo de fuerza (F_i), que presenta al menos un primer punto (CAGE_{i,j}) y al menos un segundo punto (CAGE_{i,j+1}) de equilibrio estable para dichas partículas (BEAD), siendo dichos puntos colocados, respectivamente, en un primer bloque (BLOCK_{i,j}) y en un segundo bloque (BLOCK_{i,j+1}) de dicha matriz inmediatamente adyacente al primero, y siendo tal que al menos una partícula (BEAD) queda atrapada en dicho primer punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j});

10 ii. generar al menos una segunda configuración de campo de fuerza (F_{ii}) de manera que una partícula (BEAD) sea empujada dentro de una cuenca de atracción de dicho al menos un segundo punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j+1}); y

iii. generar nuevamente dicha primera configuración de campo de fuerza (F_i), de manera que dicha partícula (BEAD) sea atraída hacia el segundo punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j+1});

15 caracterizándose dicho método porque cada dicho bloque (BLOCK_{i, j}) de electrodos de la matriz está conectado eléctricamente a los dos grupos de voltajes ((Vrow_i [p], Vcol_j [q]) distribuidos en la matriz, respectivamente, en filas y columnas y conectadas eléctricamente a los bloques de electrodos que comparten una misma fila o columna, siendo generada dicha primera configuración (F_i) y dicha segunda configuración (F_{ii}) de campo de fuerza mediante al menos dos configuraciones diferentes de primeros voltajes (Vrow_i [p] y Vcol_j [q]) aplicados a los electrodos del primer bloque de la matriz (BLOCK_{i, j}) y de segundos voltajes (Vrow_i [p] y Vcol_j +1 [q]) aplicados a los electrodos del segundo bloque de la matriz (BLOCK_{i, j} +1).

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una ejecución iterativa de los pasos i) a iii) en una pluralidad de dichos bloques de electrodos de dicha matriz dispuestos uno al lado del otro de dos en dos para desplazar al menos una partícula (BEAD). presente en al menos uno de dichos grupos de electrodos (BLOCK_{i,j}) a lo largo de rutas constituidas por una sucesión de dichos bloques adyacentes de electrodos.

25 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado porque cada bloque de electrodos (BLOCK_{i,j}) de la matriz está constituido por: al menos un primer conjunto de electrodos conectados a voltajes (V_{phip}, V_{phin}) mediante señales de filas (Vrow_i [p]); al menos un segundo conjunto de electrodos conectados a voltajes (V_{phip}, V_{phin}) mediante señales de columna (Vcol_j[q]); y al menos un electrodo conectado a tensiones (V_{phip}, V_{phin}) mediante una señal (V_{core}) común a todos los bloques de electrodos de la matriz y de manera que cada par de bloques adyacentes de electrodos (BLOCK_{i,j} y BLOCK_{i,j+1}) puede asumir dicha al menos una segunda configuración de campo de fuerza (F_{ii}) mientras que todos los demás bloques de electrodos de la matriz mantienen dicha primera configuración (F_i), mediante modificación de los voltajes aplicados a través de dichas señales de fila (Vrow_i [p]) y señales de columna (Vcol_j[q]) conectadas a dicho par de bloques adyacentes (BLOCK_{i,j} y BLOCK_{i,j+1}) de electrodos.

35 4. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado porque cada bloque de electrodos (BLOCK_{i,j}) de la matriz está constituido por al menos un primer conjunto de electrodos conectados a voltajes (V_{phip}, V_{phin}) mediante circuitos electrónicos. (MUX_{i,j} y AND_{i,j}) controlados mediante un primer conjunto de señales digitales de fila (row_i) y señales de columna (col_j) y por al menos un electrodo conectado a voltajes (V_{phip}, V_{phin}) mediante un segundo conjunto de señales (V_{core}) comunes a todos los bloques de electrodos (BLOCK_{i,j}) de la matriz de manera que cada par de bloques adyacentes de electrodos (BLOCK_{i,j} y BLOCK_{i,j+1}) puedan asumir dicha segunda configuración de campo de fuerza (F_{ii}) mientras que todos los demás bloques de electrodos de la matriz mantienen dicha primera configuración (F_i), mediante modificación de los voltajes aplicados a dicho par de bloques adyacentes (BLOCK_{i,j} y BLOCK_{i,j+1}) de electrodos a través de dicho primer conjunto de señales de fila (row_i) y señales de columna (col_j), que se conectan a los circuitos electrónicos (MUX_{i,j} y AND_{i,j}) de dichos bloques (BLOCK_{i,j} y BLOCK_{i,j+1}) de electrodos.

50 5. Método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque se lleva a cabo una detección y/o caracterización y/o cuantificación y/o reconocimiento de células o partículas (BEAD) en suspensión acuosa o agregadas en tejidos, que comprende una medición de impedancia entre al menos un primer electrodo conectado a al menos una primera señal de fila y al menos un segundo electrodo adyacente a dicho primer electrodo, estando conectado dicho segundo electrodo a al menos una primera señal de columna, en donde dicha medición entre dichos al menos dos electrodos adyacentes se fabrican evaluando la impedancia entre dicha primera señal de fila y dicha primera señal de columna.

55 6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque se realiza en al menos una de dichas partículas (BEAD) ubicada en al menos uno de dichos puntos (CAGE_{i,j}; CAGE_{i,j+1}) de equilibrio estable para dichas partículas (BEAD).

7. Un aparato para la manipulación de partículas (BEAD), caracterizado porque comprende:

- i. una matriz bidimensional de electrodos que forman una matriz de bloques (BLOCK_{i,j}) de electrodos, estando dispuestos los bloques en filas y columnas, comprendiendo cada bloque: un primer conjunto de electrodos configurado para conectarse a señales de columna (Vcol_j[q]) común a todos los primeros conjuntos de la misma columna de bloques; un segundo conjunto de electrodos configurado para conectarse a señales de fila (Vrow_i[p]) comunes a todos los segundos conjuntos de la misma fila de bloques; y un tercer conjunto de electrodos se configura para conectarse a señales comunes a todos los bloques de electrodos (BLOCK_{i,j}) de la matriz de electrodos;
- 5 mientras que el aparato está configurado para aplicar desde el exterior un voltaje periódico en fase a todas las señales de fila (Vrow_i) y señales de columna (Vcol_j) y un voltaje periódico en fase opuesta a dichas señales común a todos los bloques de electrodos (BLOCK_{i,j}),
- 10 de tal manera que para cada par formado por un primer bloque (BLOCK_{i,j}) de electrodos y por un segundo bloque (BLOCK_{i,j+1}) de electrodos adyacente al primer bloque, el aparato genera al menos una primera configuración (F_i) y una segunda configuración (F_{ii}) de campo de fuerza obtenida aplicando dos configuraciones diferentes de dos voltajes (Vphin, Vphip) a las señales de fila (Vrow_i [p]) y señales de columna (Vcol_j [q] y Vcol_{j+1} [q]); siendo diseñada dicha primera configuración (F_i) de campo de fuerza para crear al menos un primer punto (CAGE_{i,j}) y al
- 15 menos un segundo punto (CAGE_{i,j+1}) de equilibrio estable para dichas partículas (BEAD), siendo dichos puntos posicionados, respectivamente, en dicho primer bloque (BLOCK_{i,j}) y en dicho segundo bloque (BLOCK_{i,j+1}) de electrodos de la matriz; y siendo diseñada dicha segunda configuración (F_{ii}) de campo de fuerza para empujar dicha partícula (BEAD) posiblemente atrapada en dicho primer punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j}) hacia una cuenca de atracción de dicho al menos un segundo punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j+1}).
- 20 8. El aparato de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque dicho primer conjunto de electrodos de cada dicho bloque (BLOCK_{i,j}) comprende al menos un primer electrodo (ring_{i,j_1}) conectado a una señal de columna (Vcol_j) común a todos los conjuntos de la misma columna; dicho segundo conjunto de electrodos de cada bloque comprende al menos un segundo electrodo (ring_{i,j_2}) conectado a una señal de fila (Vrow_i) común a todos los conjuntos de la misma fila; y dicho tercer conjunto de electrodos de cada bloque comprende al menos un tercer
- 25 electrodo (EL_{i,j}) conectado a una señal común (Vcore), en el que dicho tercer electrodo (EL_{i,j}) está rodeado por dicho primer electrodo (ring_{i,j_1}) y dicho tercer electrodo (EL_{i,j}) y dicho primer electrodo (ring_{i,j_1}) están rodeados por dicho segundo electrodo (ring_{i,j_2});
9. El aparato de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque dicho primer conjunto de electrodos de cada dicho bloque (BLOCK_{i,j}) comprende al menos un primer electrodo (elle_j) conectado a una señal de columna (Venable_j) común a todos los conjuntos de la misma columna; dicho segundo conjunto de electrodos de cada bloque comprende al menos un segundo electrodo (wallx_i) conectado a una señal de fila (Vrow_i[x]) común a todos los grupos de una misma fila; y dicho tercer conjunto de electrodos de cada bloque comprende al menos un tercer
- 30 electrodo (EL_{i,j}) conectado a una señal común (Vcore); en el que dicho segundo conjunto de electrodos de cada bloque comprende además al menos un cuarto electrodo (wally_i) conectado a una señal de fila (Vrow_i[y]) común a todos los conjuntos de una misma fila; y donde dicho tercer electrodo (EL_{i,j}) está flanqueado en dos direcciones adyacentes por dicho primer electrodo (elle_j), y dicho primer electrodo (elle_j) está flanqueado por dicho segundo electrodo (wallx_i) y dicho cuarto electrodo (wally_i).
- 35 10. El aparato de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque dicho primer conjunto de electrodos de cada dicho bloque (BLOCK_{i,j}) se distingue en electrodos con índice de columna par e índice de columna impar, mientras que dicho segundo conjunto de electrodos de cada dicho bloque (BLOCK_{i,j}) se distingue en electrodos con índice de fila par e índice de fila impar; en el que dicho tercer conjunto de cada bloque comprende al menos un tercer electrodo (EL_{i,j}) conectado a una señal común (Vcore); y en el que dicho primer conjunto comprende al menos un primer electrodo conectado a una señal de columna (Vcol_i [D1]) común a los bloques de la misma columna con índice de columna par o a una señal de columna (Vcol_i [D2]) común a los bloques de la misma columna con índice de columna
- 40 impar; y al menos un segundo electrodo conectado a una señal de columna (Vcol_i [U1]) común a los bloques de una misma columna con índice de columna par o a una señal de columna (Vcol_i [U2]) común a los bloques de una misma columna con índice de columna impar; y en el que dicho segundo conjunto comprende al menos un cuarto electrodo conectado a una señal de fila (Vrow_i[R1]) común a los bloques de la misma fila con índice de fila par o a una señal de fila (Vrow_i[R2]) común a los bloques de la misma fila con índice de fila impar y al menos un quinto electrodo
- 45 conectado a una señal de fila (Vrow_i[L1]) común a los bloques de la misma fila con índice de fila par o a una señal de fila (Vrow_i[L2]) común a los bloques de la misma fila con índice de fila impar.
- 50 11. El aparato para la manipulación de partículas (BEAD), de acuerdo con la reivindicación 7, en el que:
- i. comprendiendo cada bloque: un primer conjunto de al menos un primer electrodo (EL_{i,j}) conectado a una señal común a todos los bloques; y un segundo conjunto de al menos un segundo electrodo (ring_{i,j}) conectado a una señal de salida de un circuito (MUX_{i,j}), accionado por al menos un segundo circuito (AND_{i,j});
- 55 ii. medios para generar al menos dos voltajes diferentes (Vphin, Vphip); y
- III. medios para generar señales de fila (row_i) comunes a todos los bloques (BLOCK_{i,j}) de la misma fila y señales de columna (col_j) comunes a todos los bloques (BLOCK_{i,j}) de la misma columna para accionar dichos circuitos

(AND_{i,j})) y mediante el cual se selecciona el voltaje (V_{phin}, V_{phip}) a conectar a dicho al menos un segundo electrodo (ring_{i,j}) de cada bloque (BLOCK_{i,j});

5 donde para cada par formado por un primer bloque (BLOCK_{i,j}) y un segundo bloque (BLOCK_{i,j+1}) adyacente al primer bloque dichos medios de generación de señales determinan la creación de al menos una primera configuración (F_i) y una segunda configuración (F_{ii}) de campo de fuerza aplicando dos configuraciones diferentes de valores a las señales de fila (V_{row_i}) y de columna (V_{col_j} y V_{col_j+1}) de manera que dicha primera configuración (F_i) de campo de fuerza presente al menos un primer punto (CAGE_{i,j}) de equilibrio estable y al menos un segundo punto (CAGE_{i,j+1}) de equilibrio estable para dichas partículas (BEAD), estando dichos puntos posicionados, respectivamente, en dicho primer bloque (BLOCK_{i,j}) y en dicho segundo bloque (BLOCK_{i,j+1}) de la matriz, y siendo tal que dicha segunda configuración (F_{ii}) de campo de fuerza está diseñada para empujar dicha partícula (BEAD) que posiblemente esté atrapada en dicho primer punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j}) en una cuenca de atracción de dicho al menos un segundo punto de equilibrio estable (CAGE_{i,j+1}).

12. El aparato de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizado porque dicho primer conjunto de electrodos de cada dicho bloque (BLOCK_{i,j}) comprende al menos un primer electrodo (EL_{i,j}) conectado a una señal común a todos los bloques constituidos por uno (V_{phin}) de dichos diferentes voltajes; y porque dicho segundo conjunto de electrodos comprende al menos un segundo electrodo (ring_{i,j}) conectado a la señal de salida de un circuito que constituye un desviador (MUX_{i,j}), de manera que sólo una de dos señales diferentes (V_{phin}, V_{phip}) en la entrada al desviador se puede conectar en la salida del desviador de acuerdo con el valor de la señal de salida de un circuito adicional (AND_{i,j}), que realiza una función lógica entre los valores de las señales de fila (row_i) y las señales de columna (col_j); y en el que dicho primer electrodo (EL_{i,j}) está rodeado por dicho segundo electrodo (ring_{i,j}).

13. El aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, caracterizado porque comprende al menos dos microcámaras y porque presenta una disposición de dichos electrodos de dicha matriz de electrodos de tal manera que es posible desplazar dichas partículas (BEAD) de una microcámara a la otra y viceversa accionando dichos electrodos con señales apropiadas.

25 14. El aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, caracterizado porque dichos electrodos están hechos sobre un sustrato sustancialmente plano (SUB); y porque comprende un electrodo adicional (ITO) hecho sobre un sustrato adicional (LID) colocado a una distancia de y frente a dicho primer sustrato (SUB), estando dicho electrodo adicional (ITO) conectado eléctricamente a una señal eléctrica adicional.

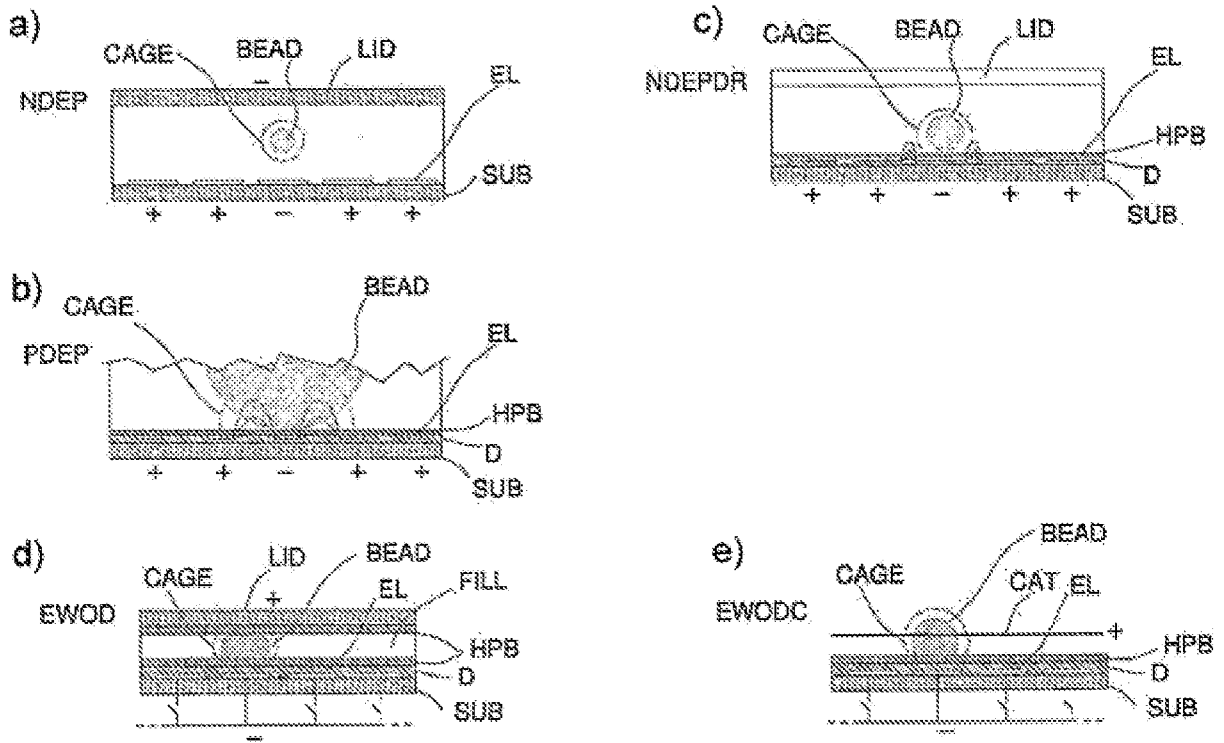


Fig. 1

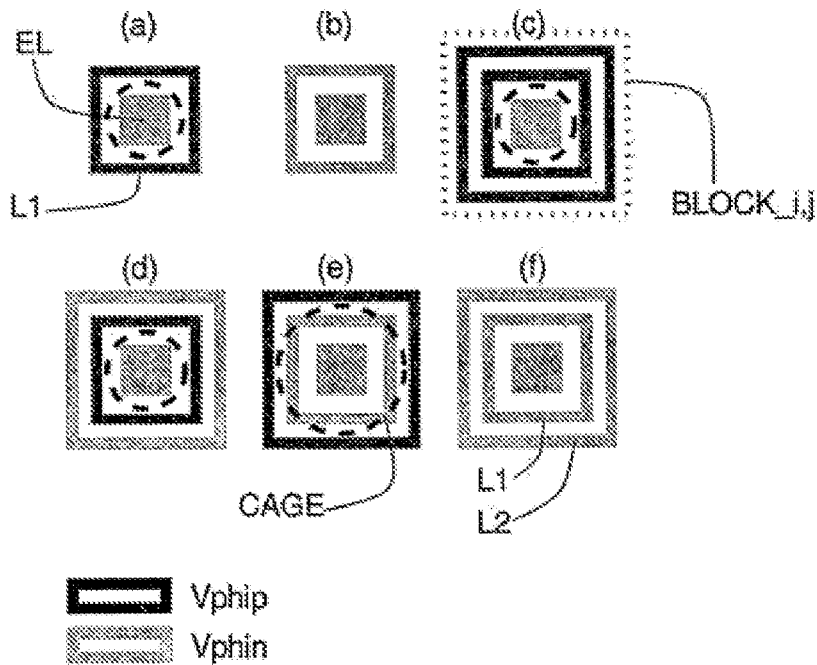


Fig. 2

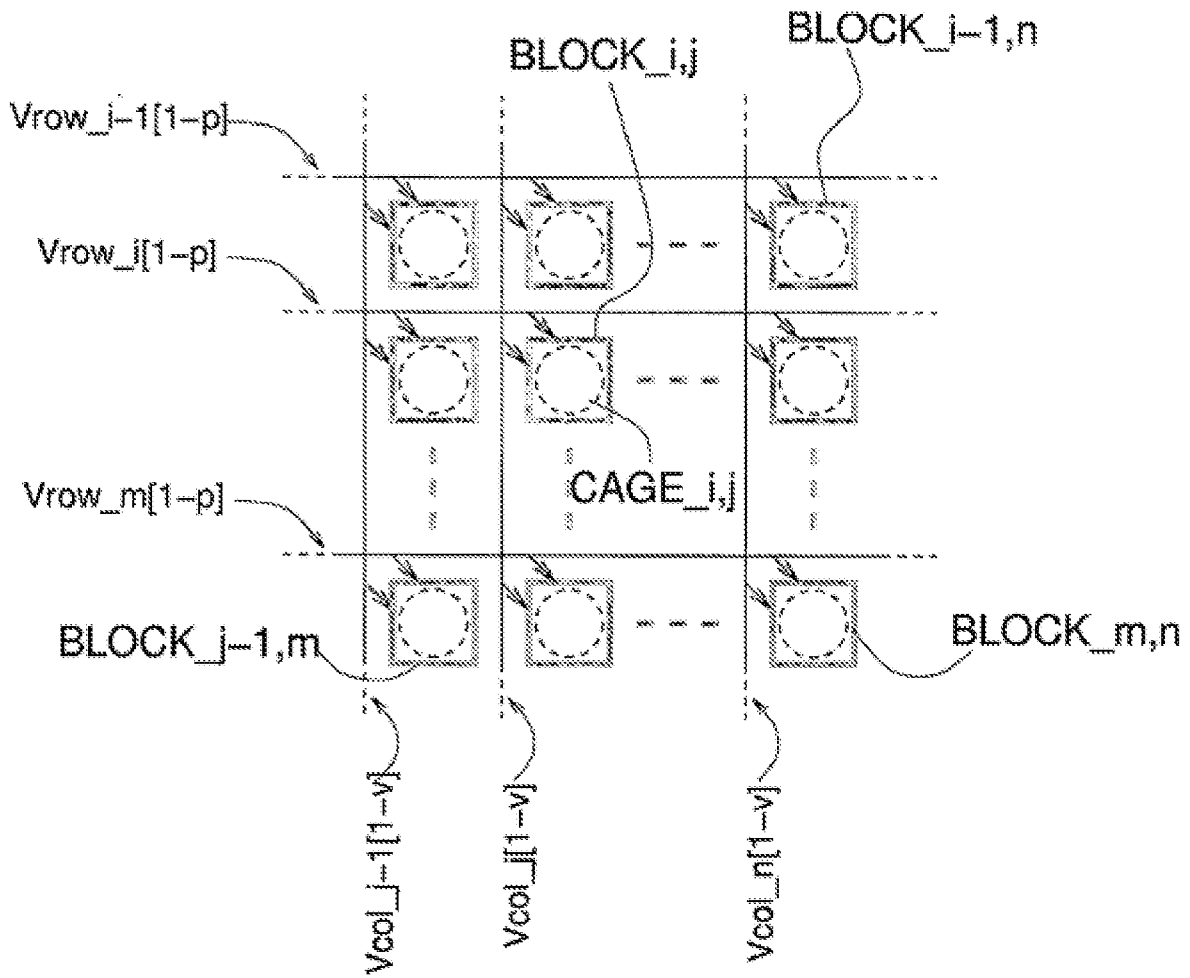


Fig. 3

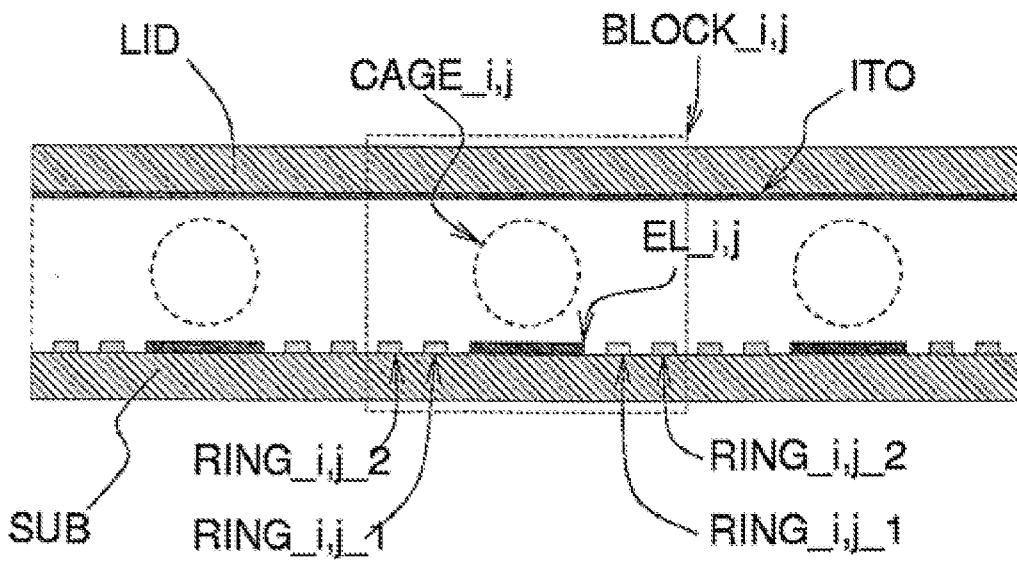


Fig. 4

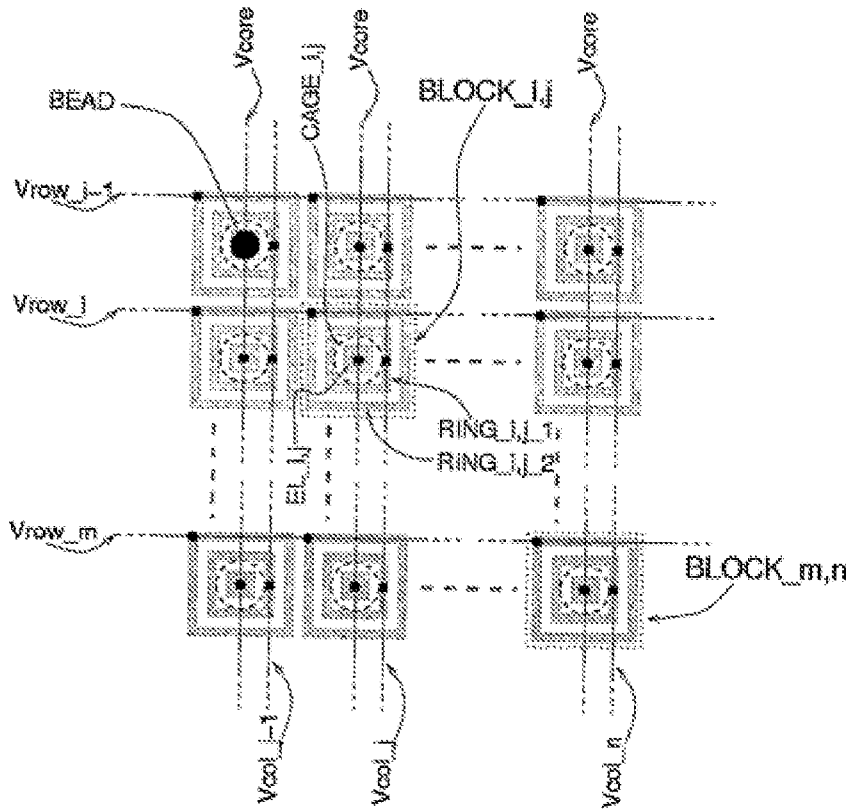


Fig. 5

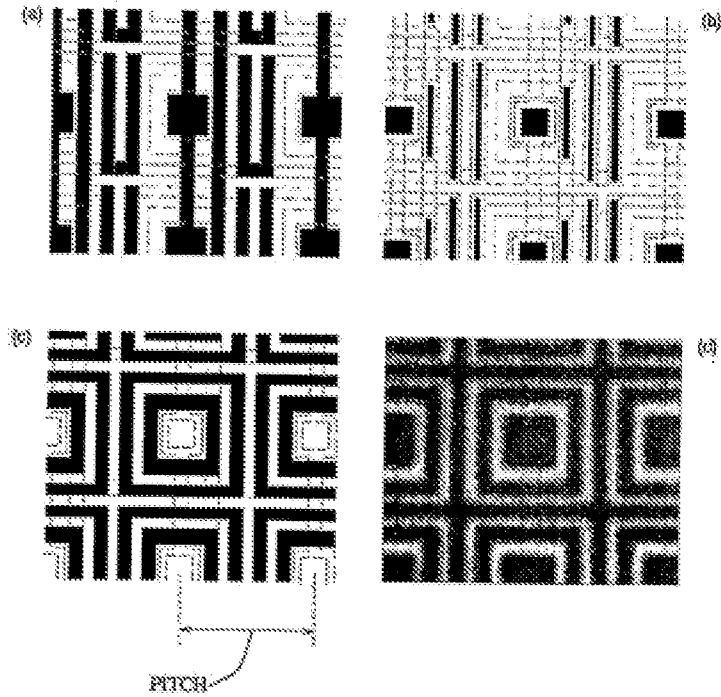


Fig. 6

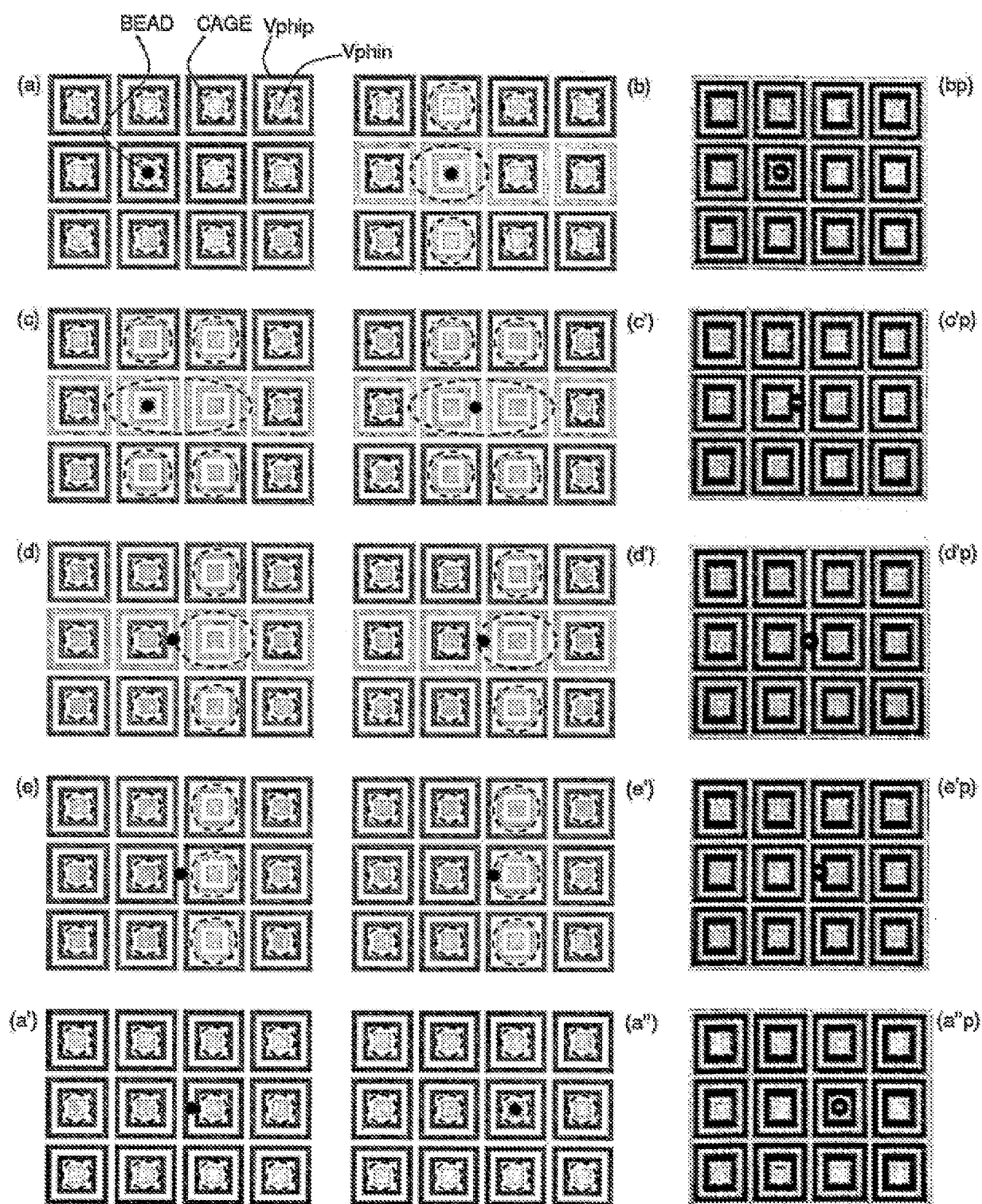


Fig. 7

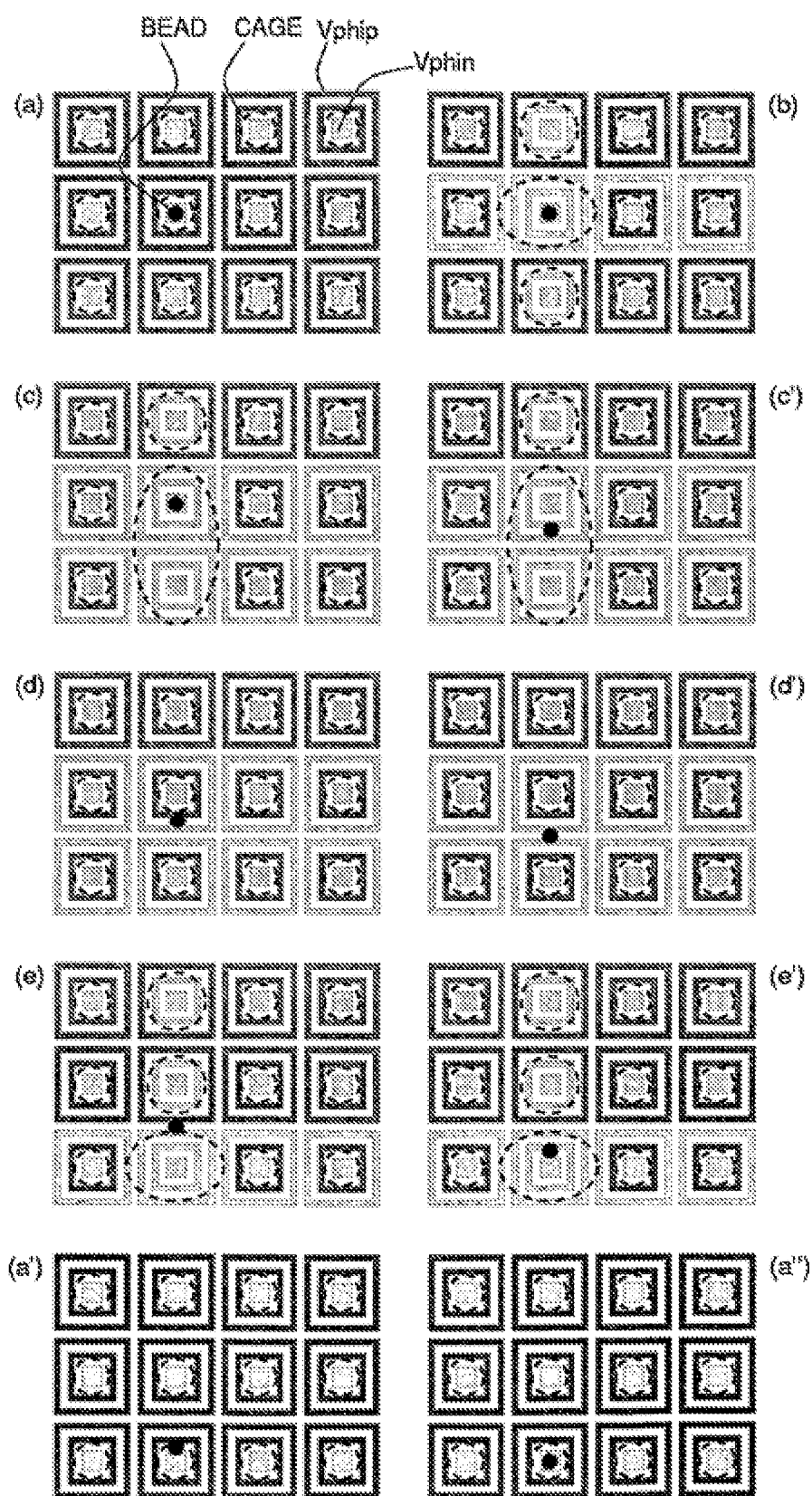


Fig. 8

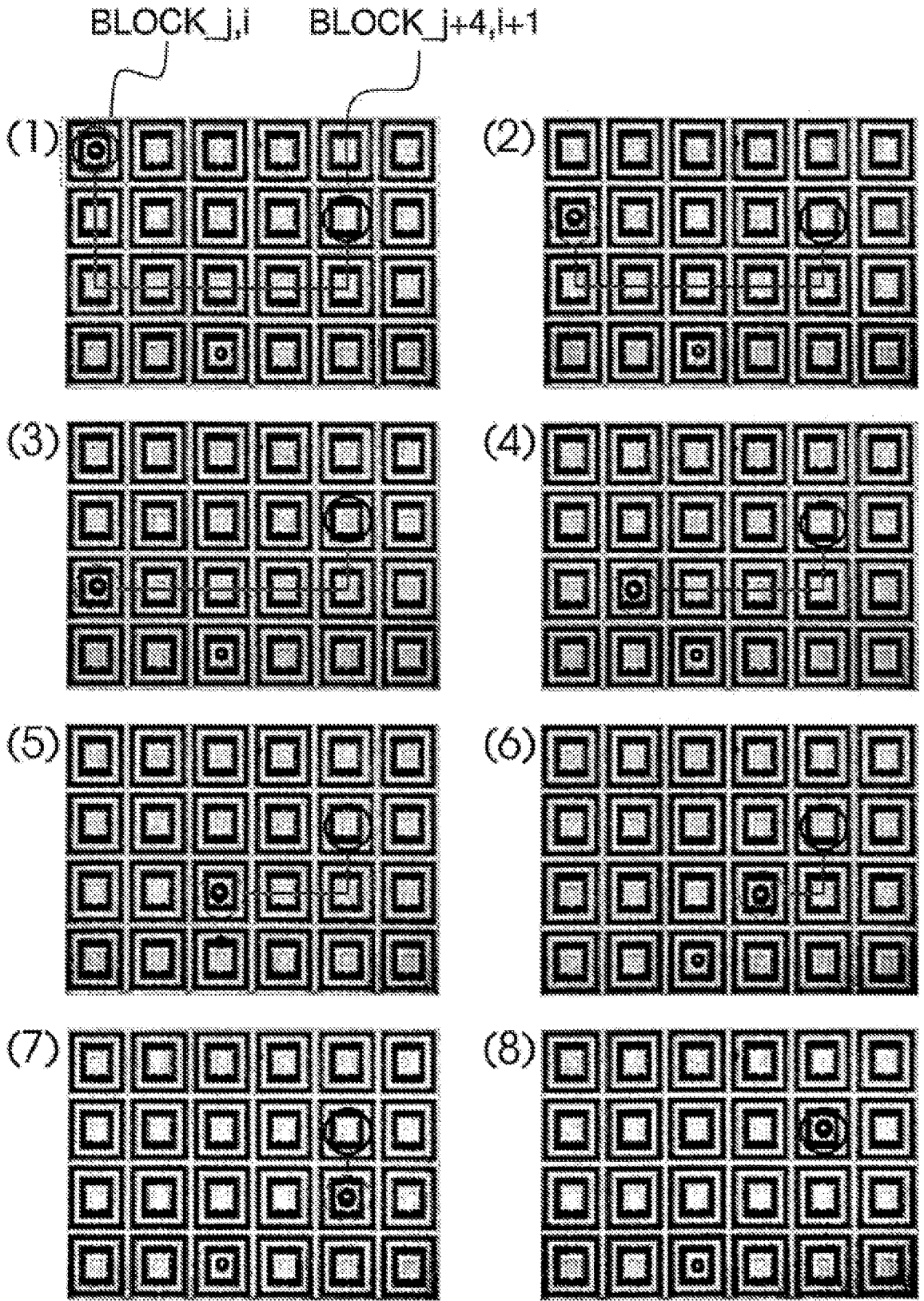


Fig. 9

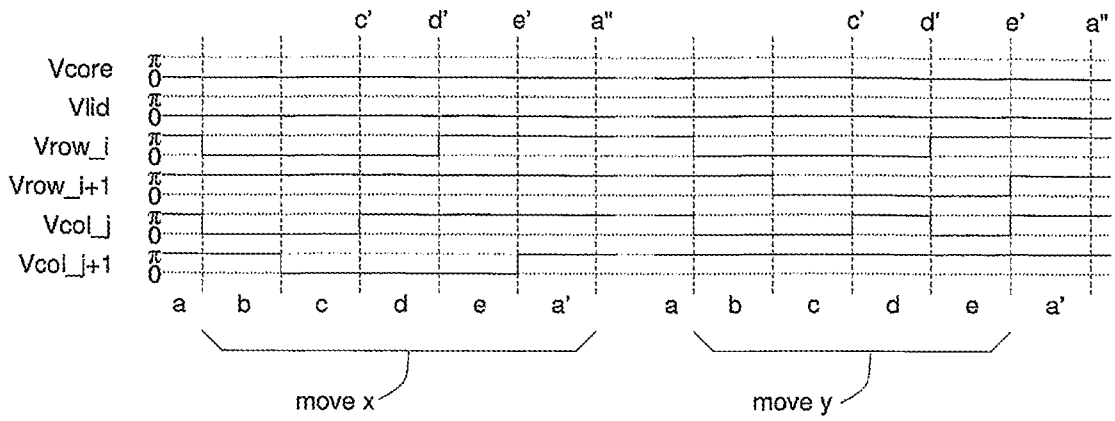


Fig. 10

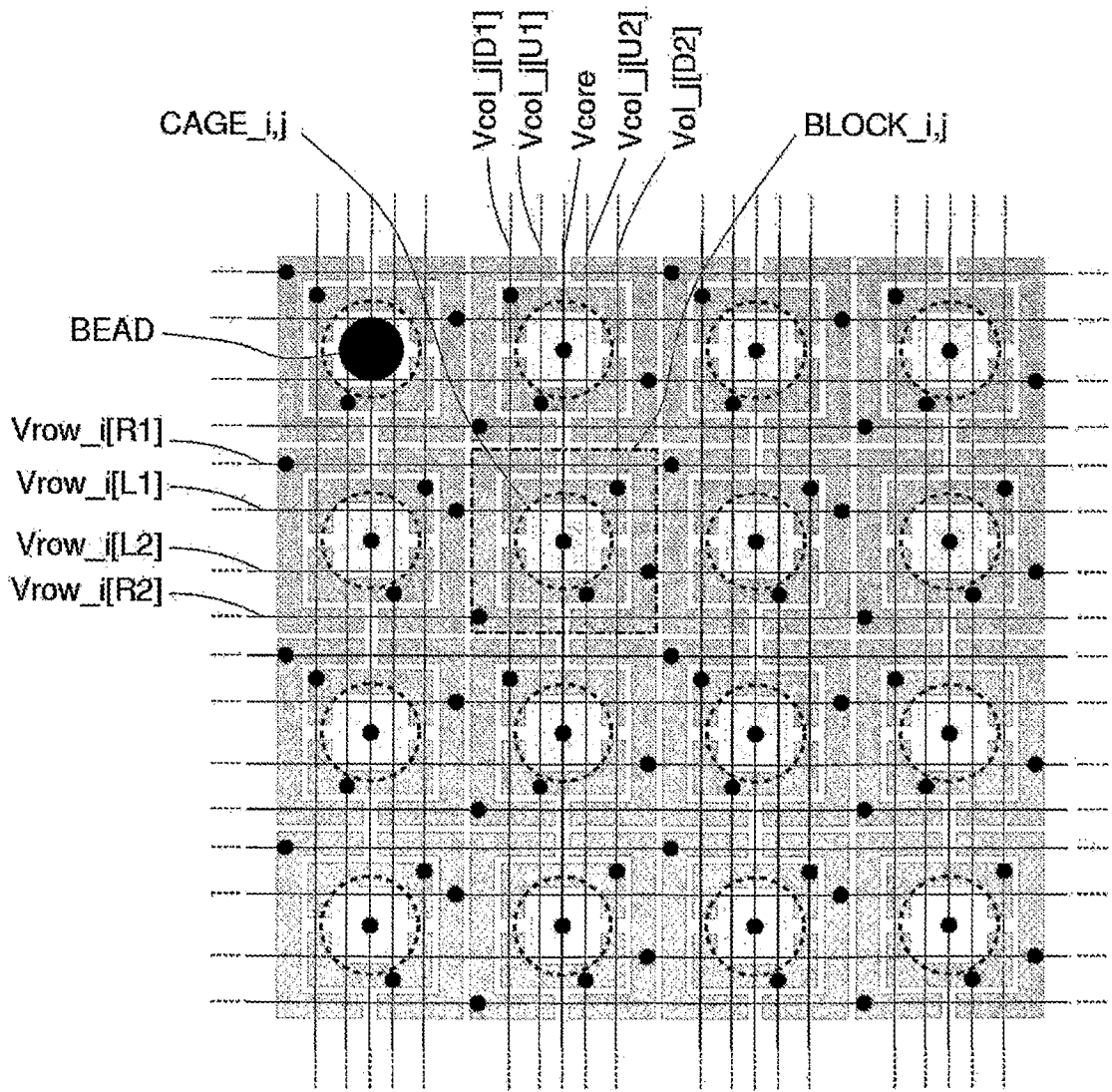


Fig. 11

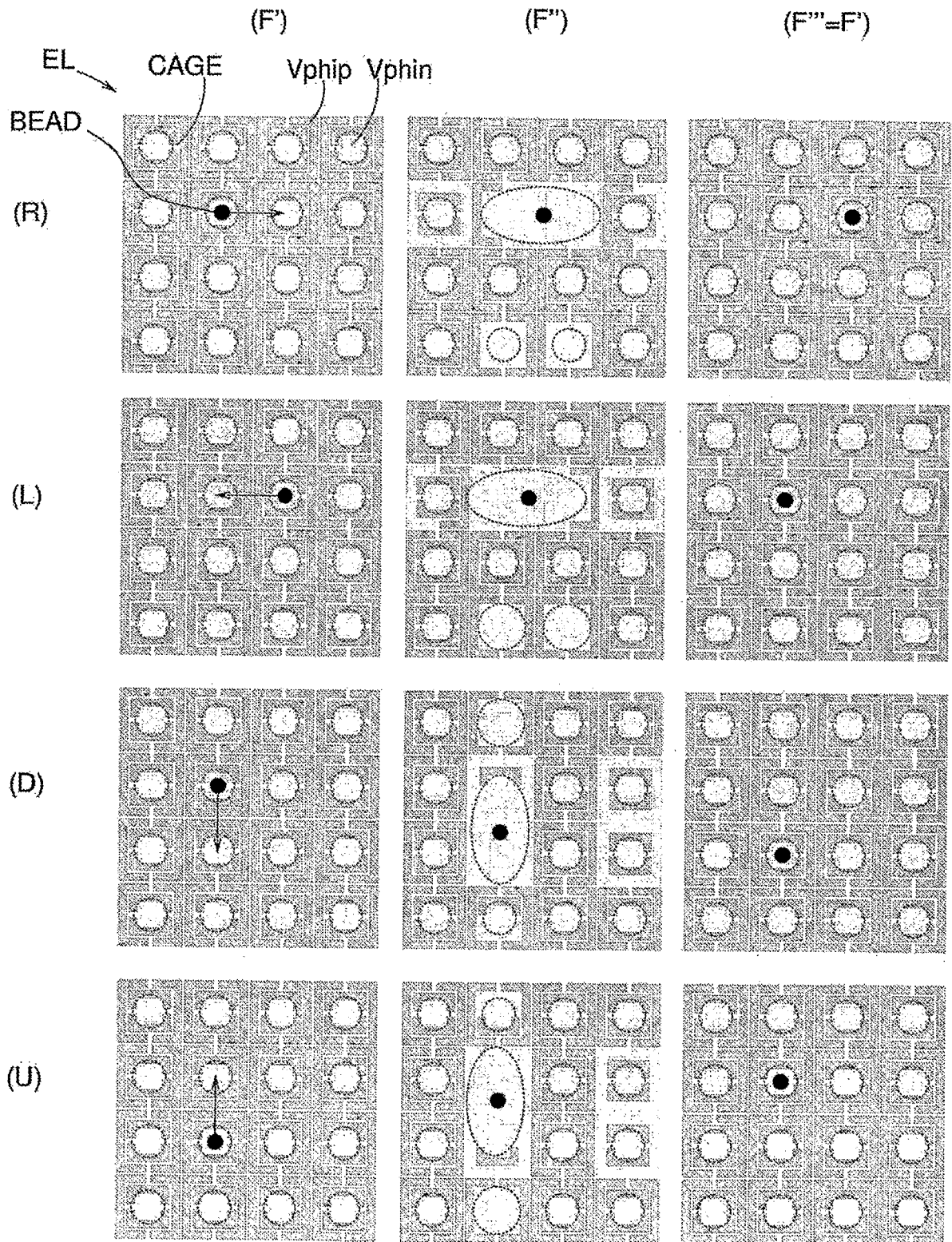


Fig. 12

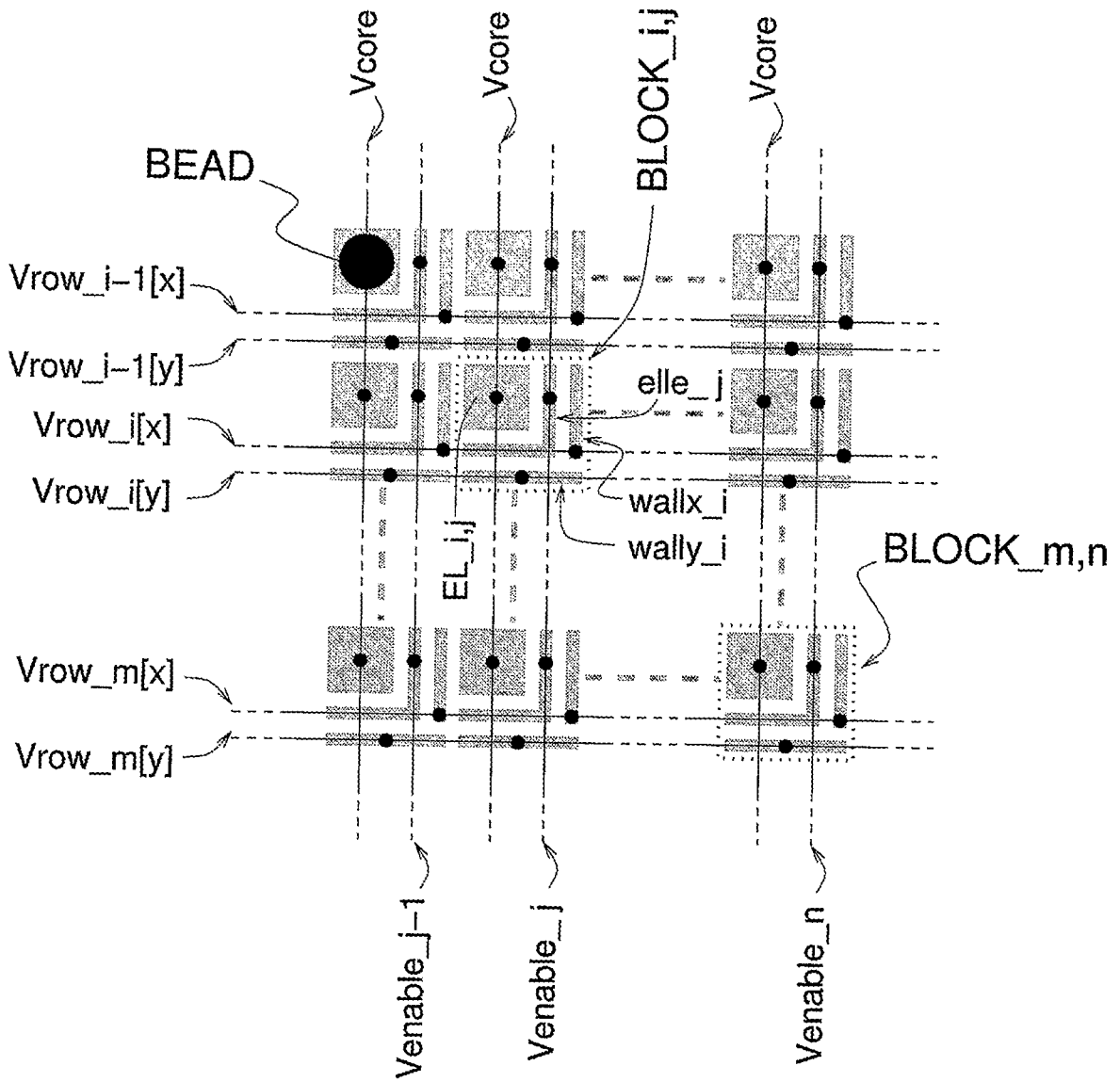


Fig. 13

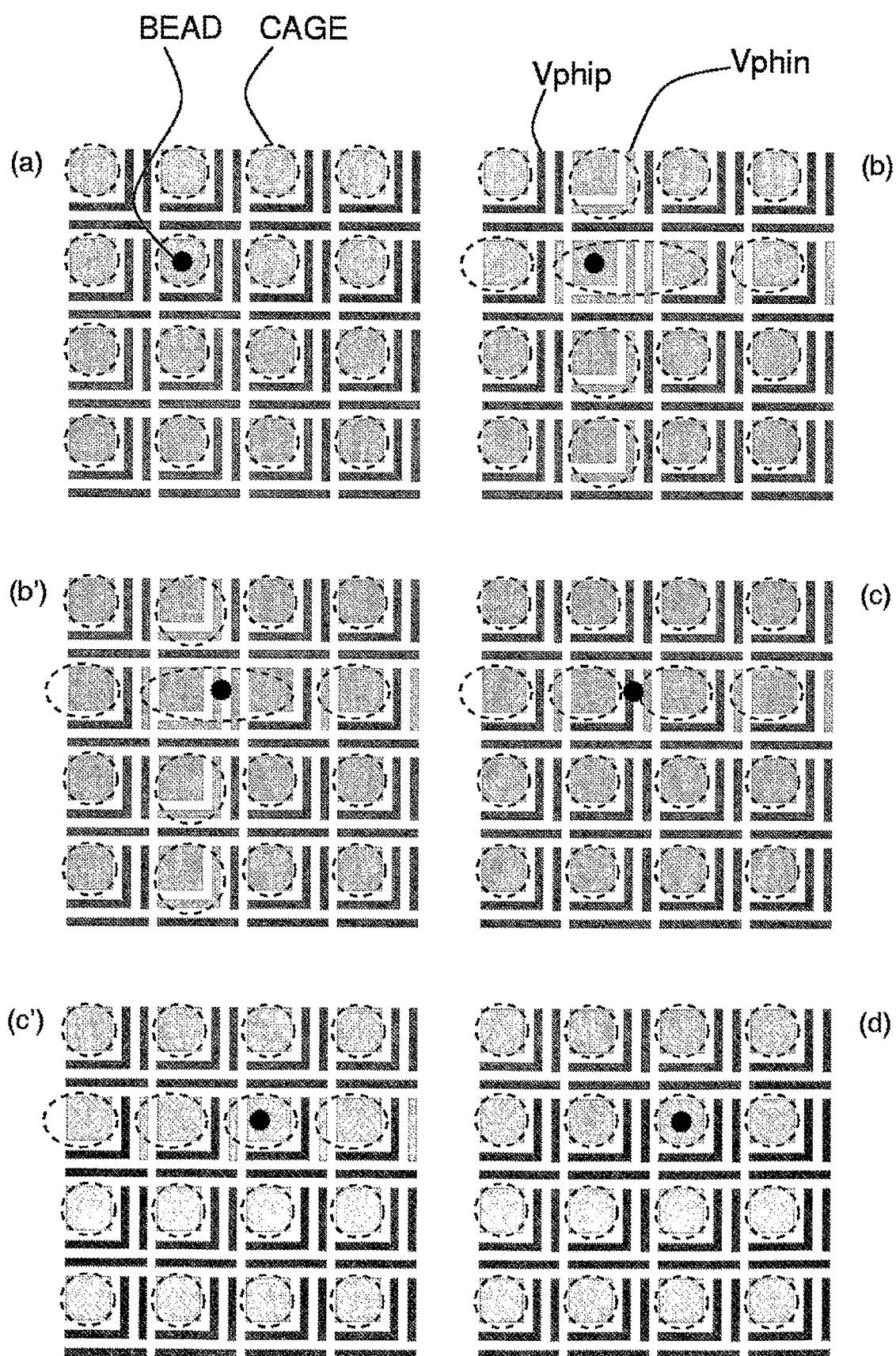


Fig. 14

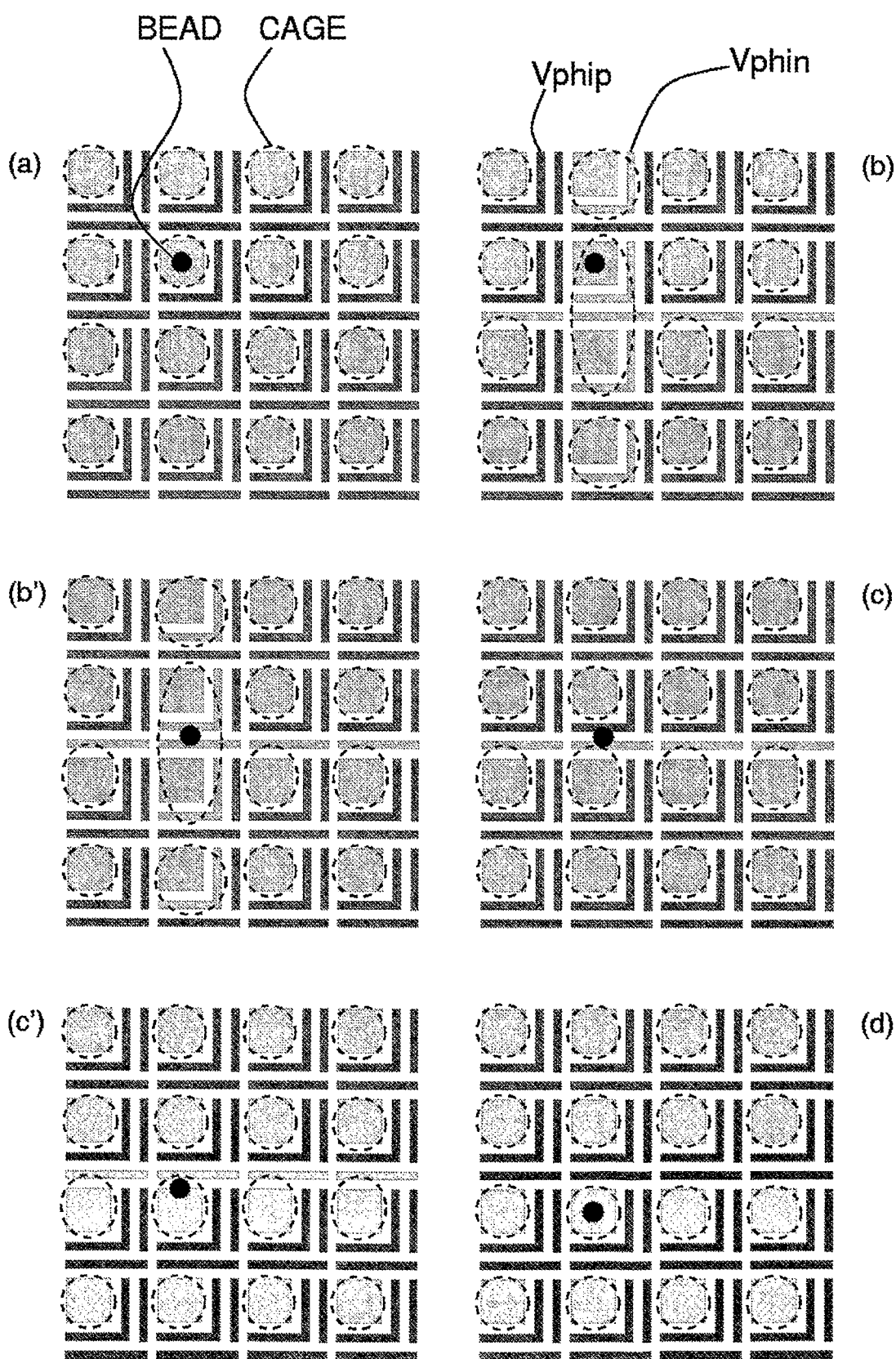


Fig. 15

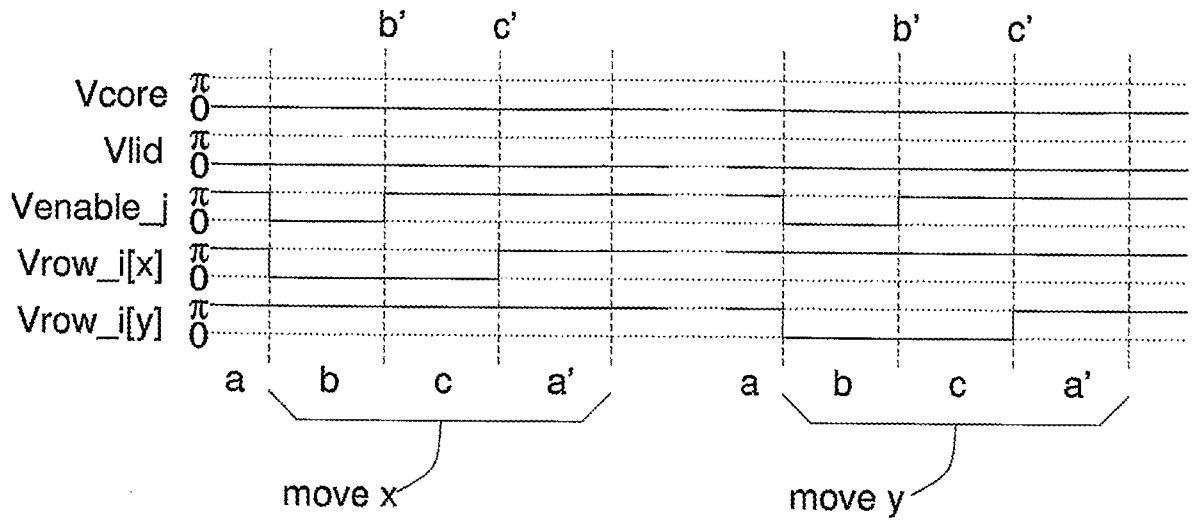


Fig. 16

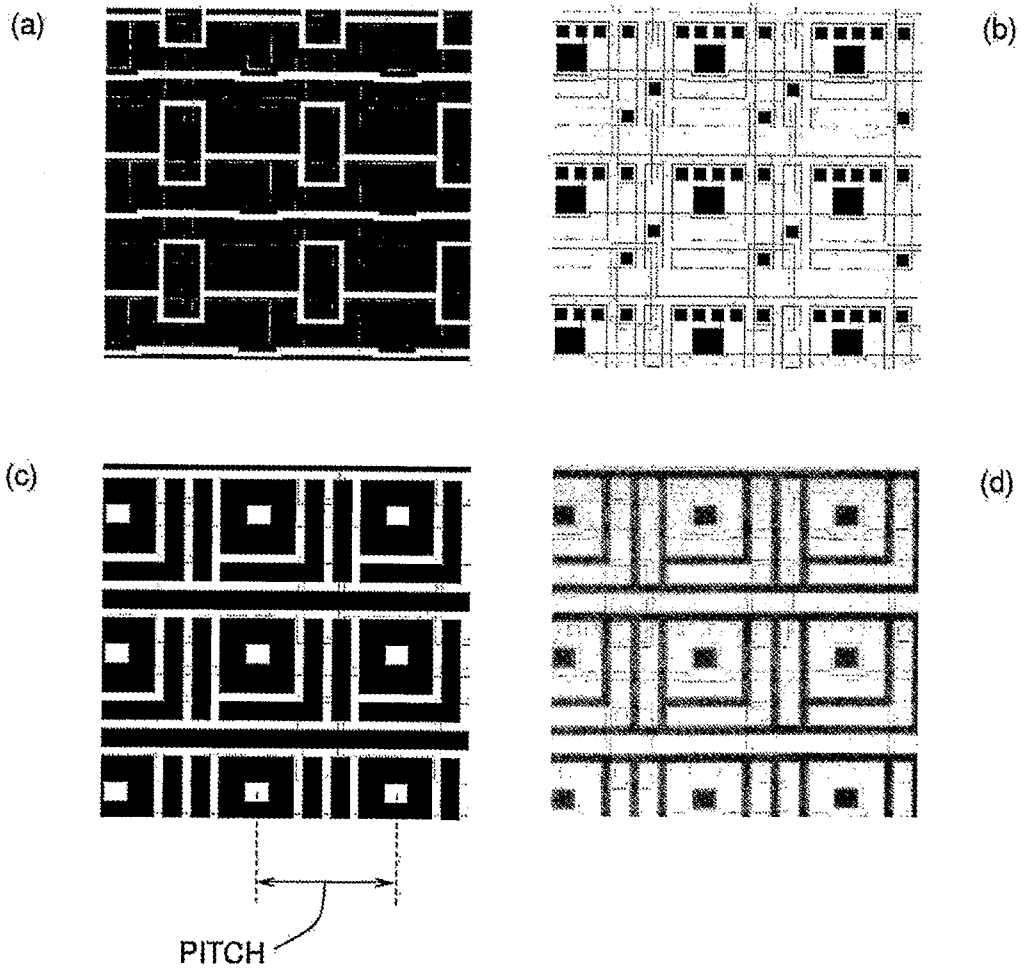


Fig. 17

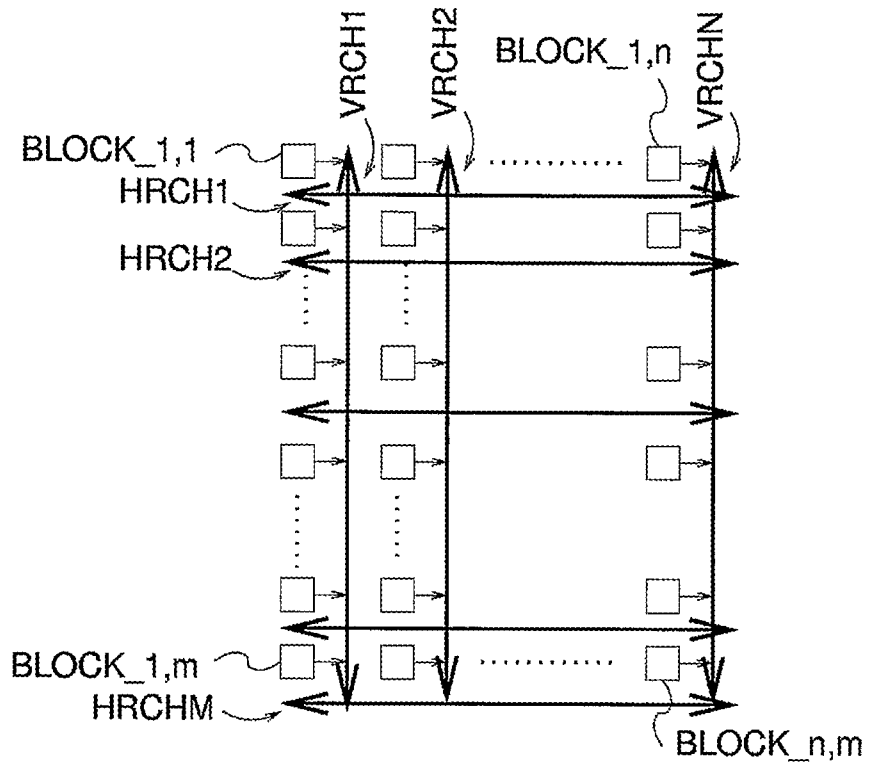


Fig. 20

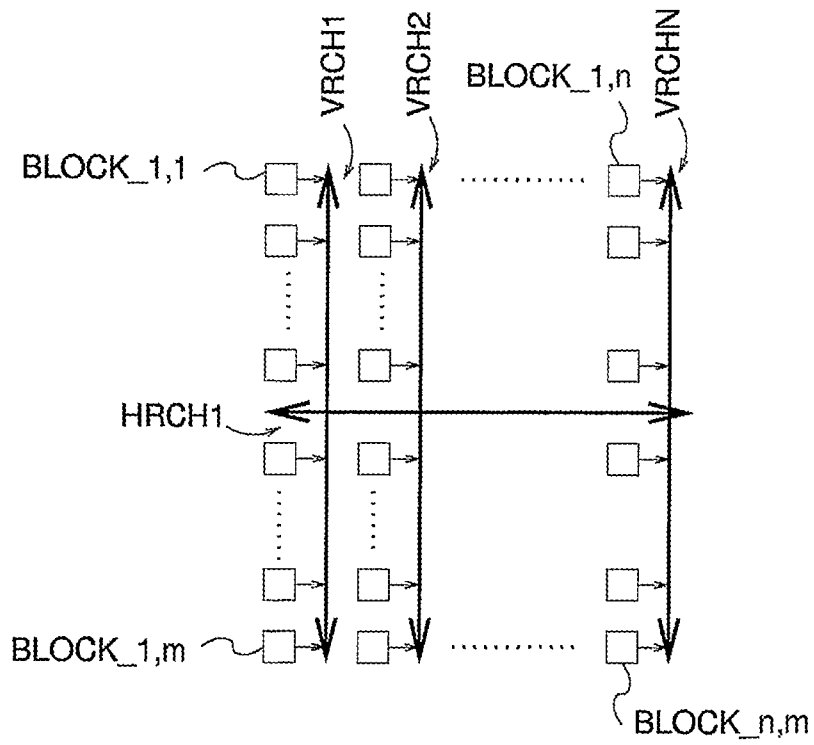


Fig. 21

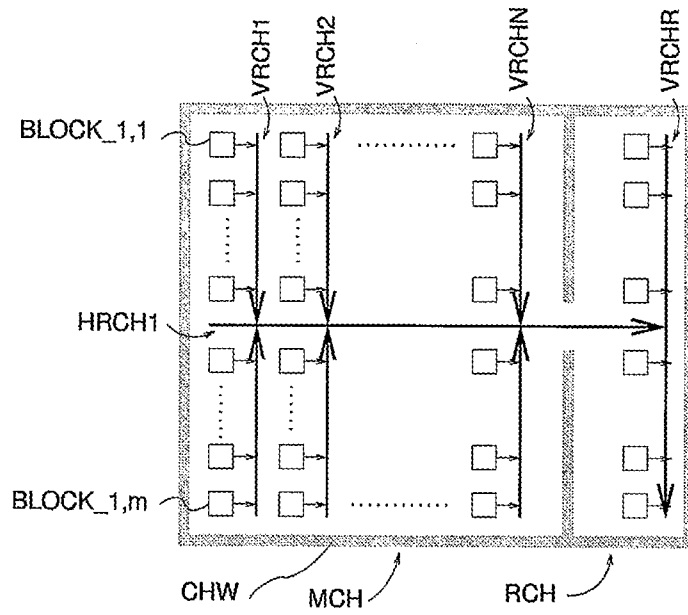


Fig. 22

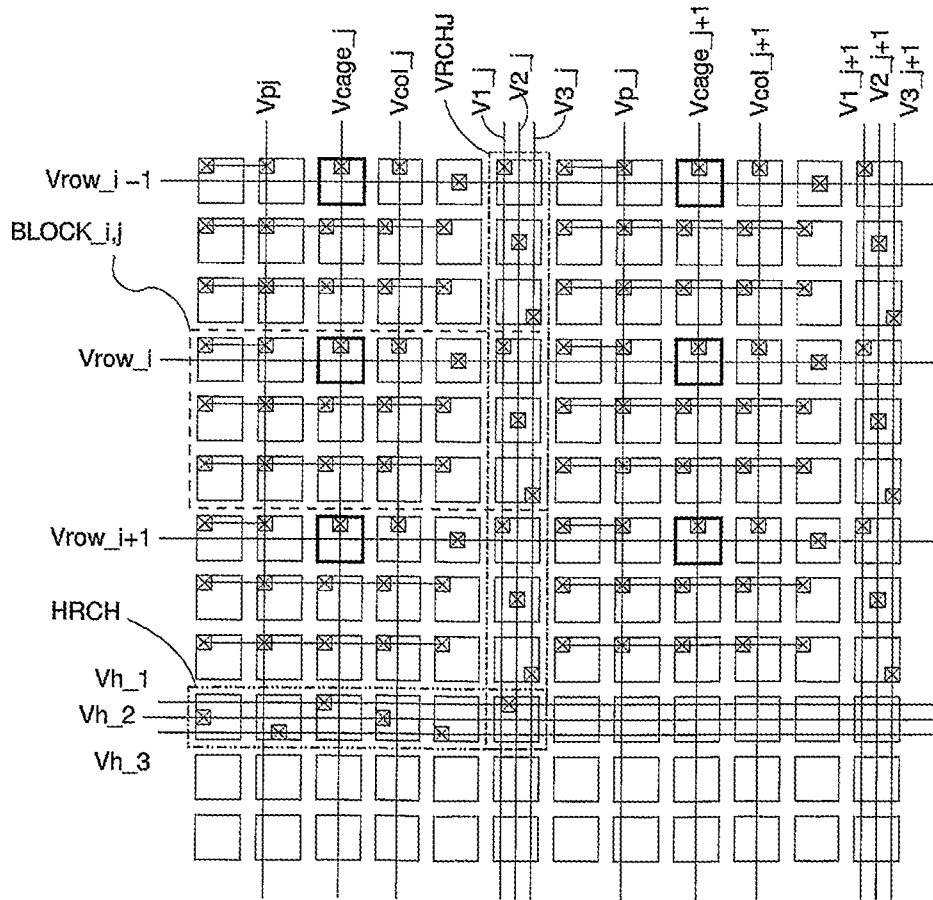


Fig. 23

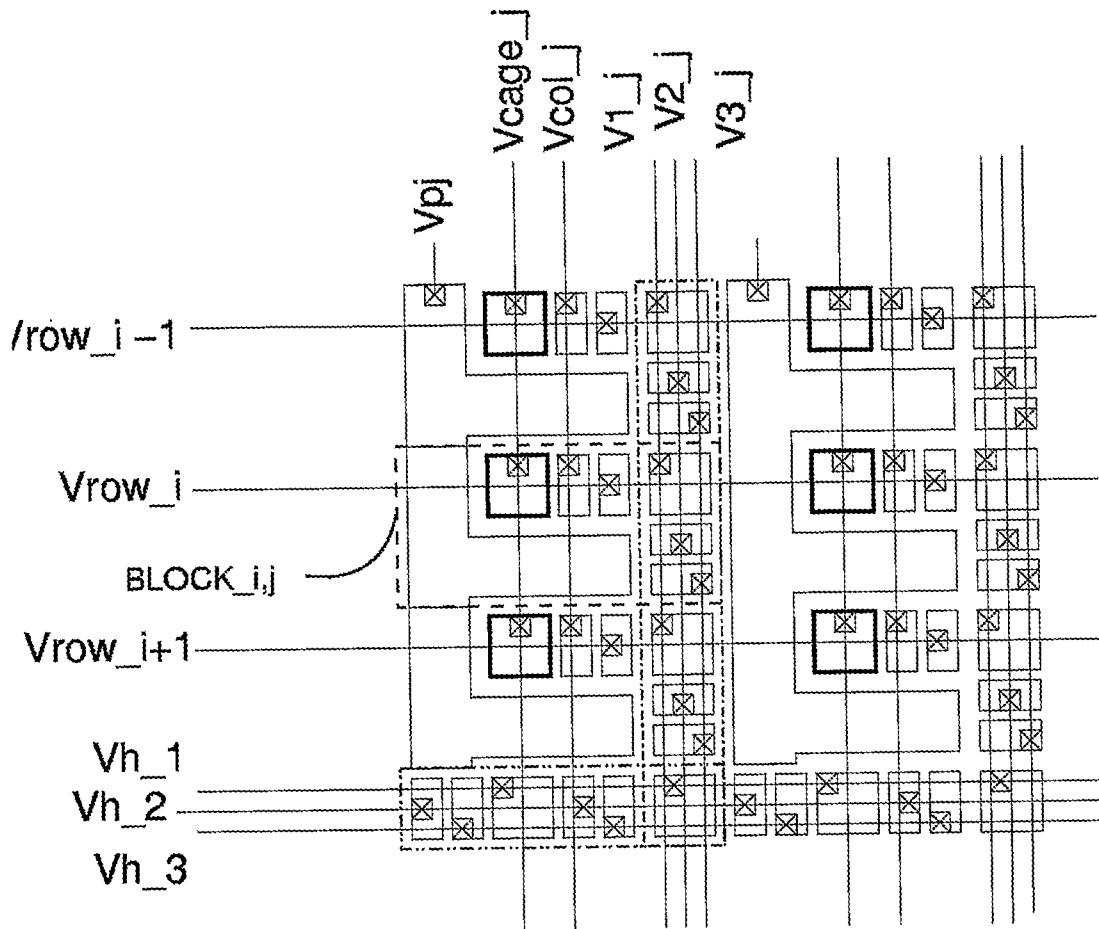


Fig. 24

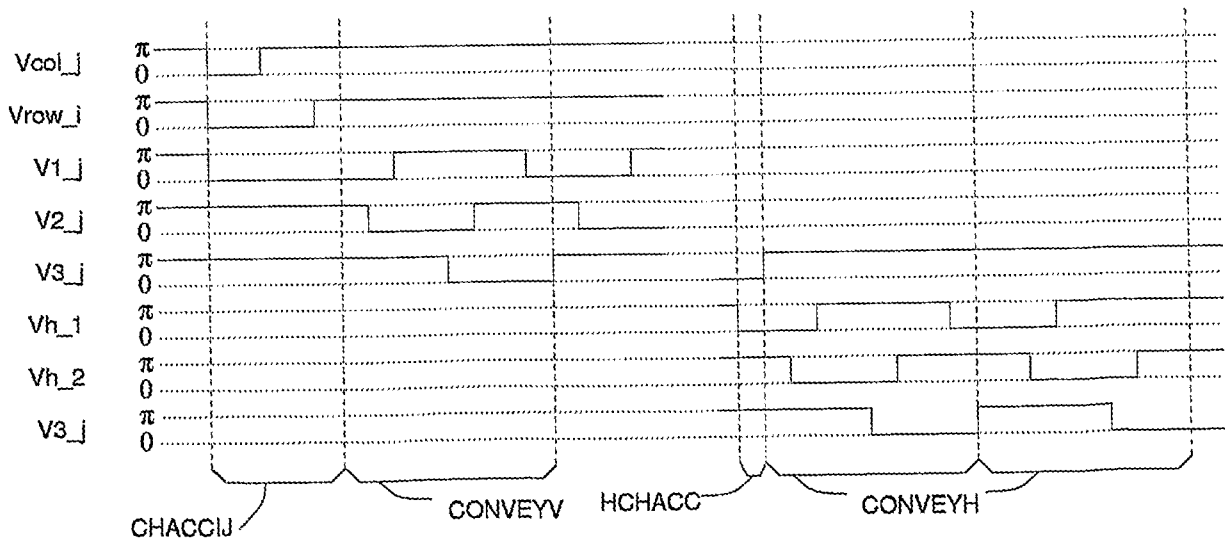


Fig. 25

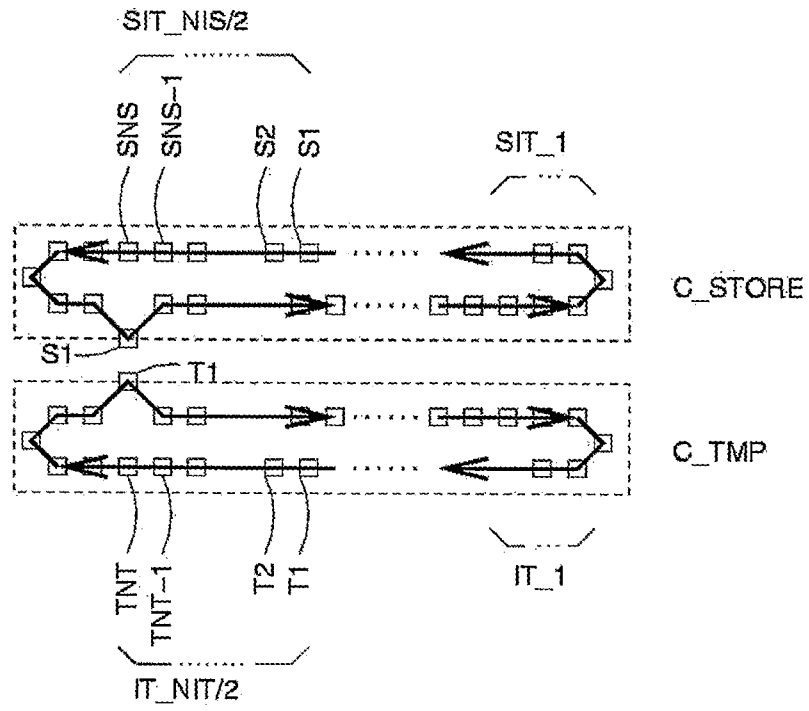


Fig. 26

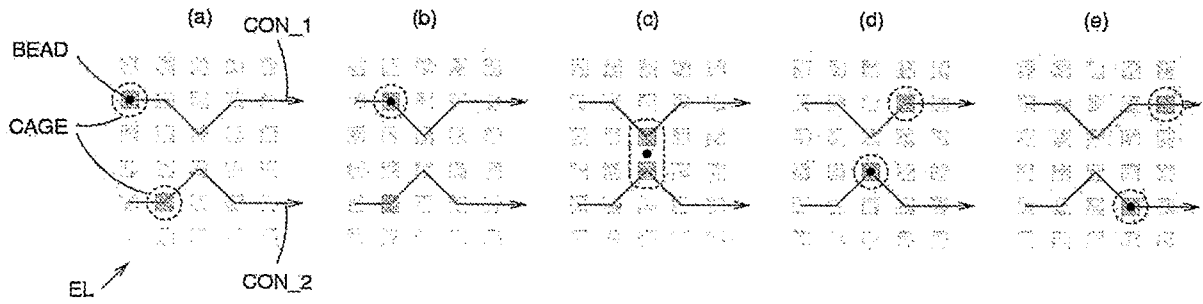


Fig. 27

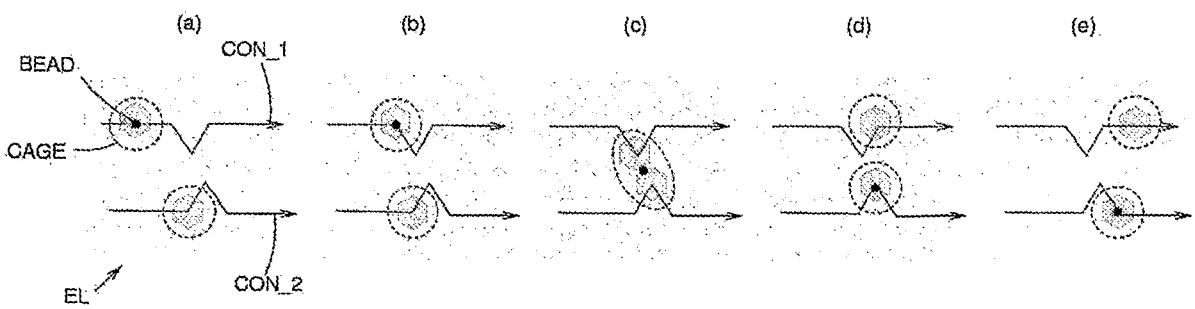


Fig. 28

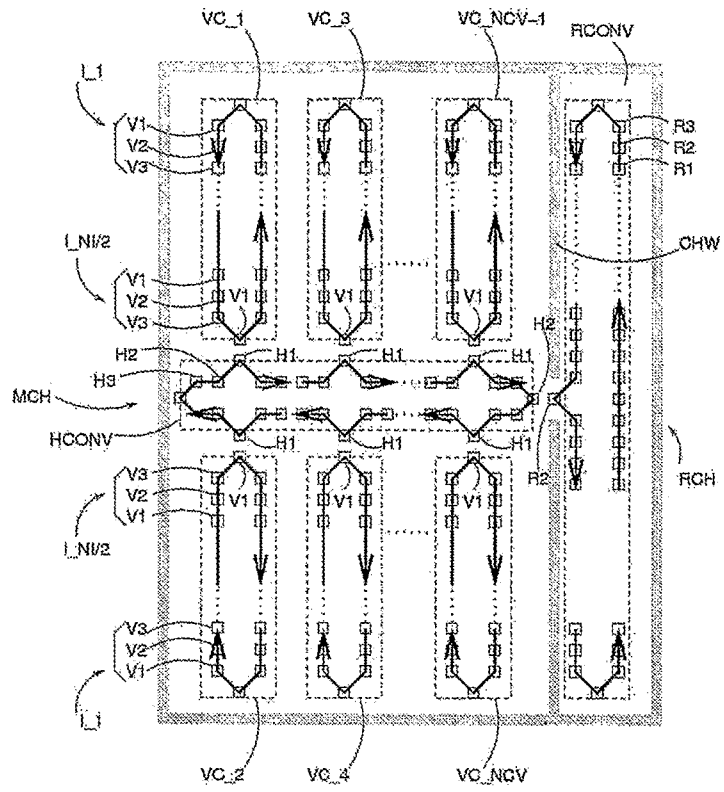


Fig. 29

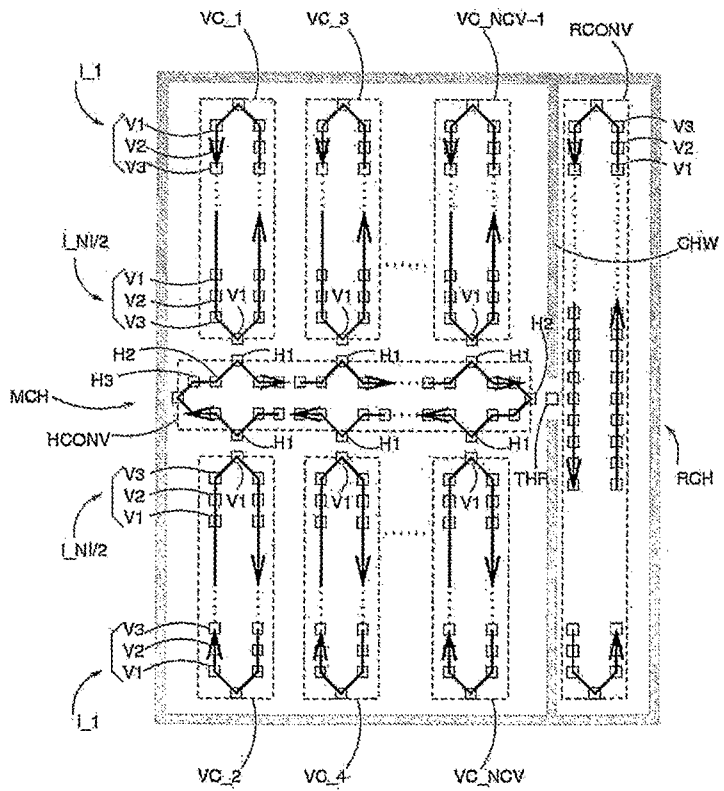


Fig. 30

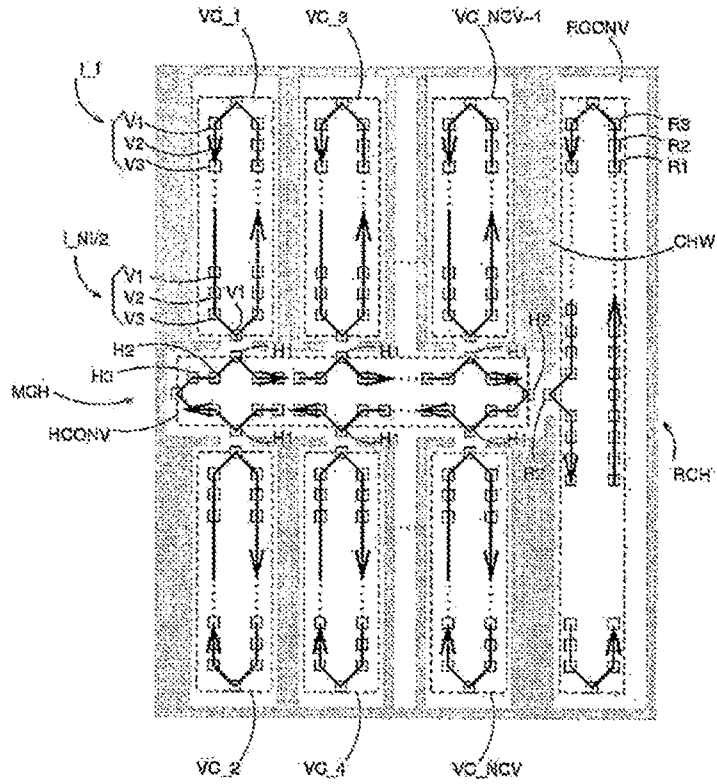


Fig. 31

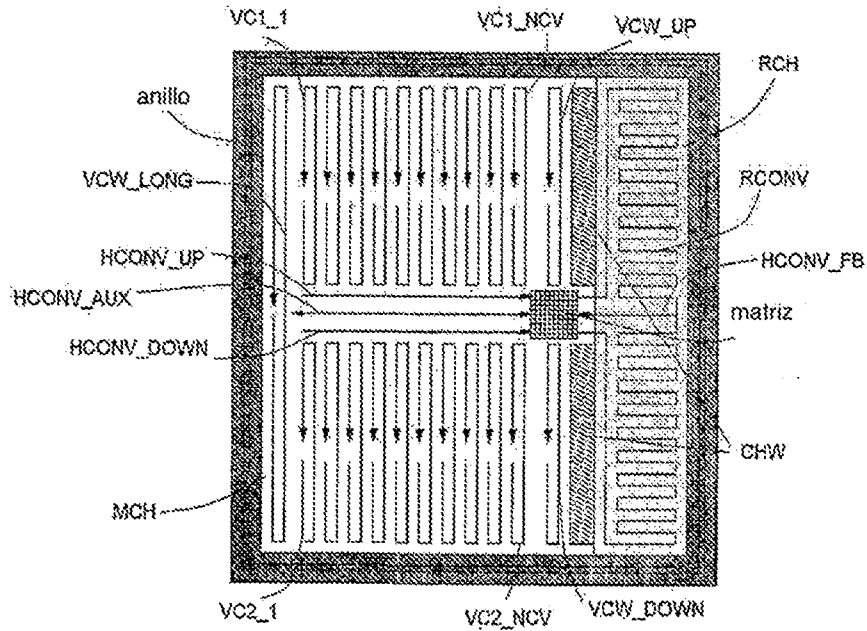


Fig. 32

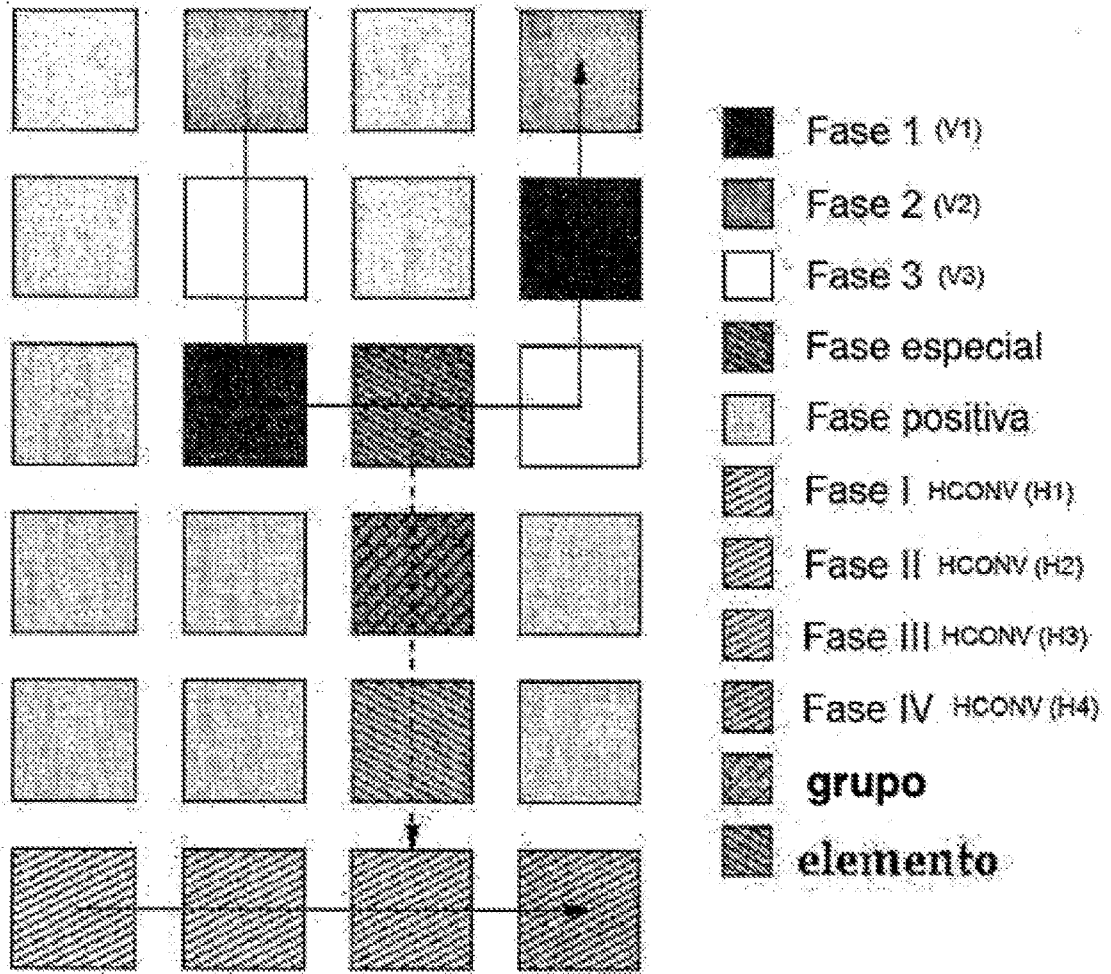


Fig. 33

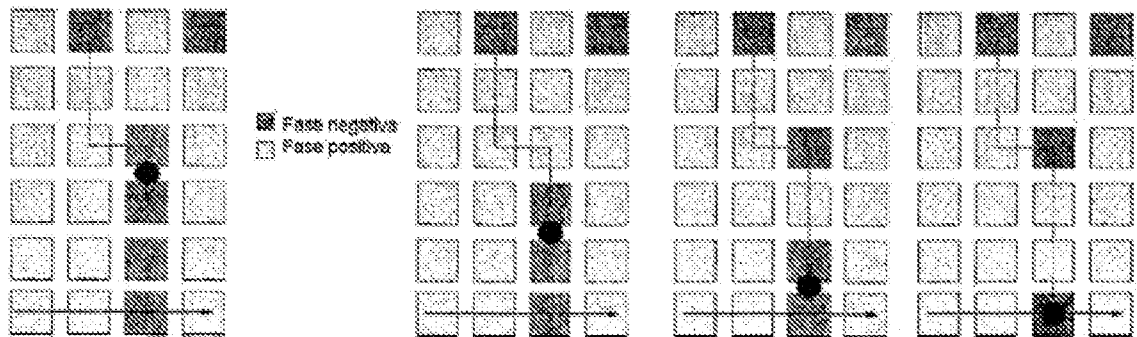


Fig. 34

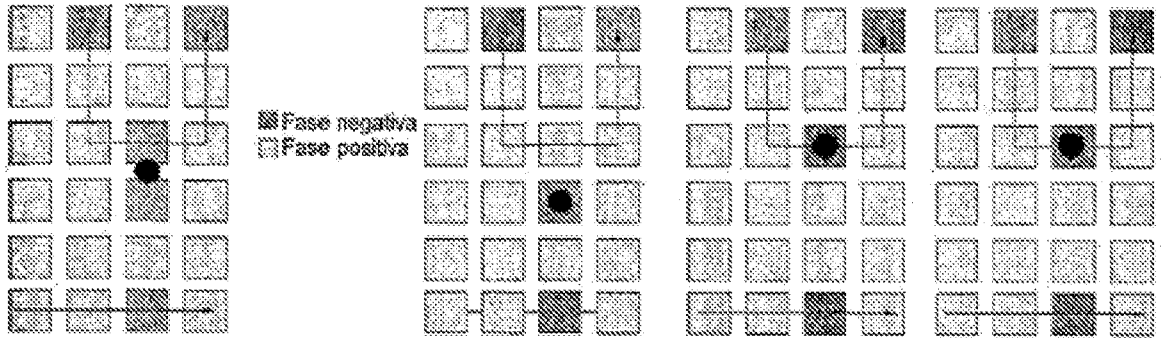


Fig. 35

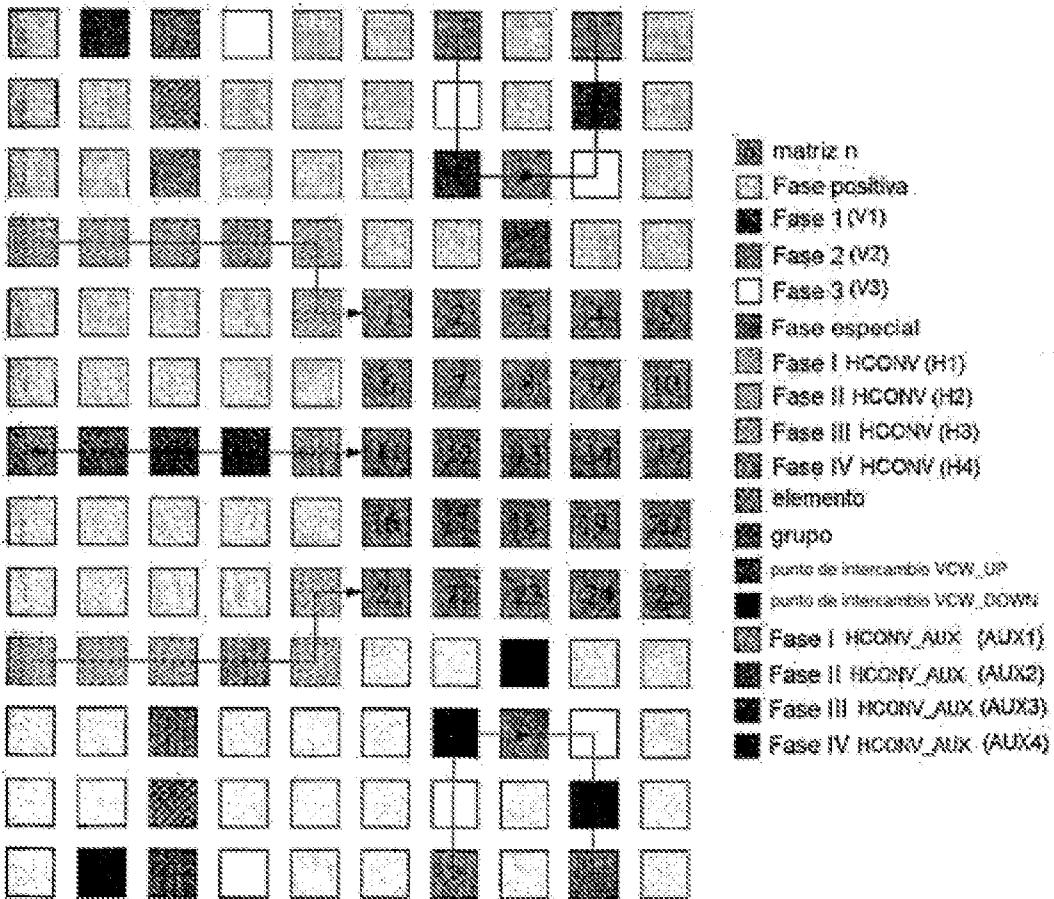


Fig. 36

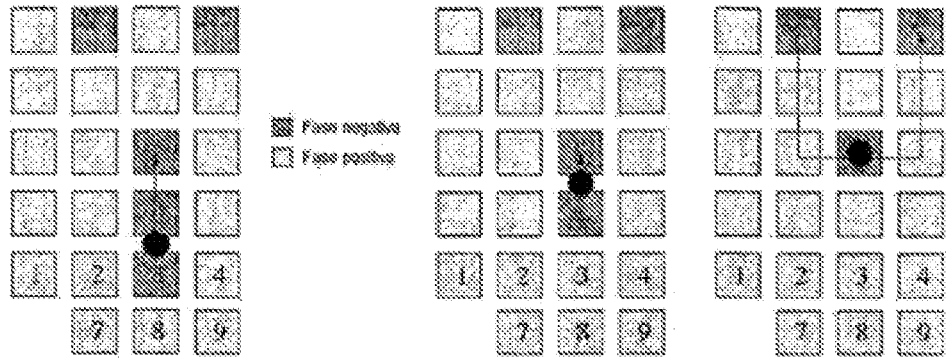


Fig. 37

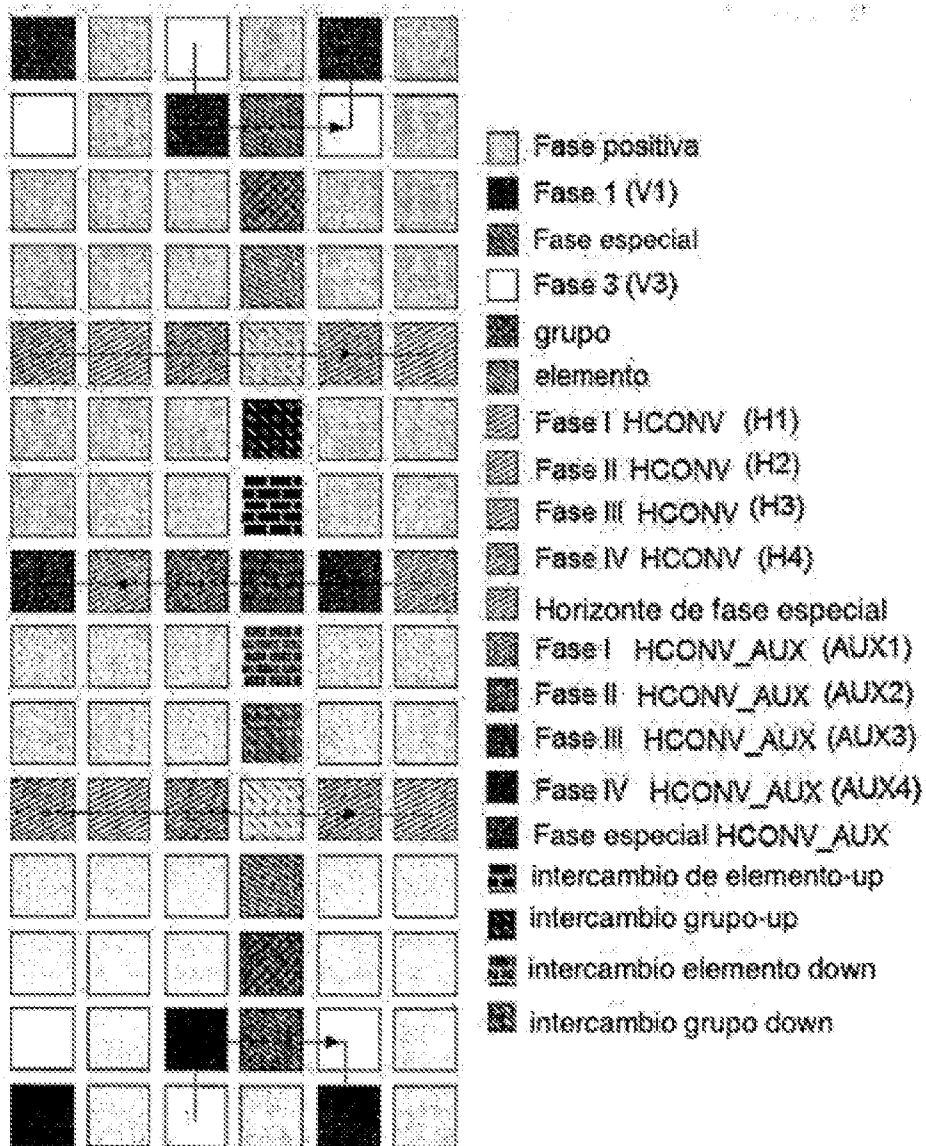


Fig. 38

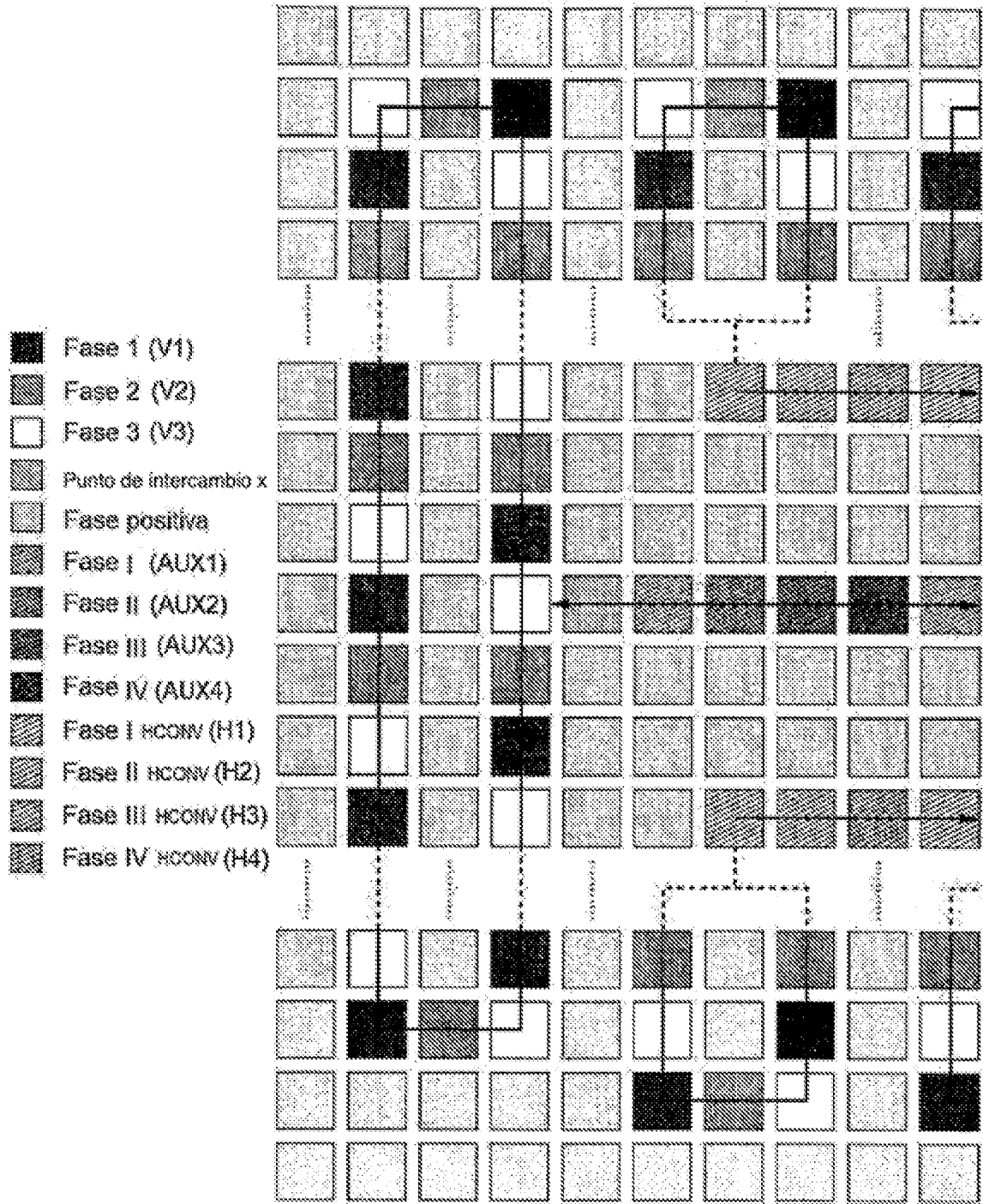


Fig. 39

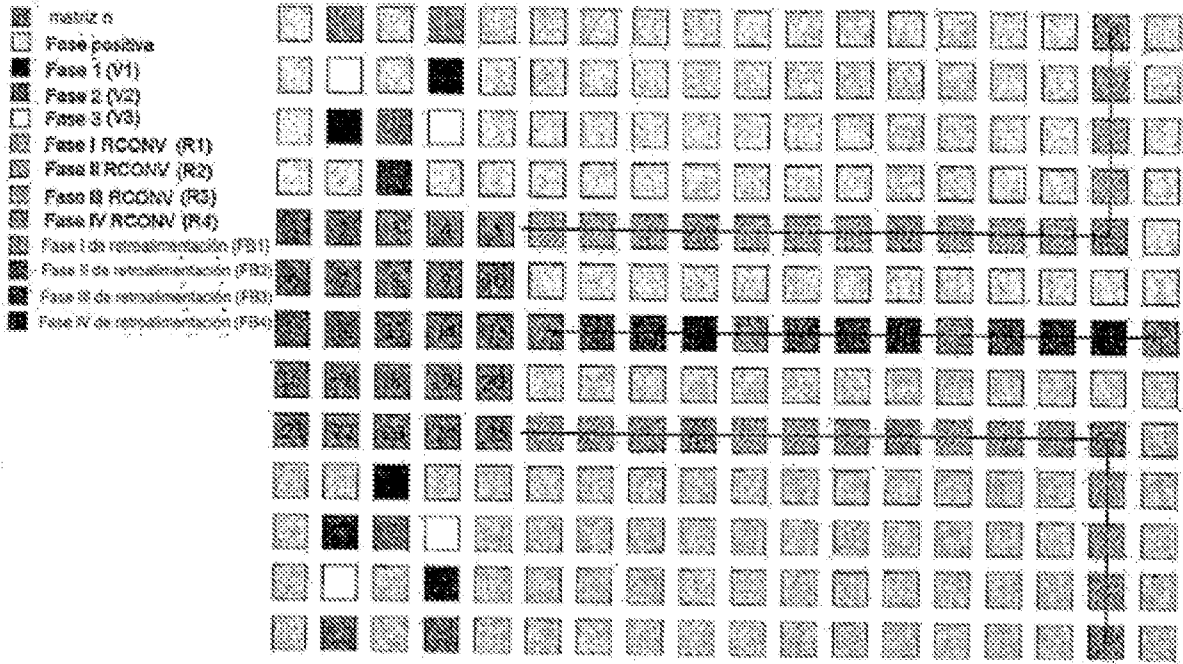


Fig. 40

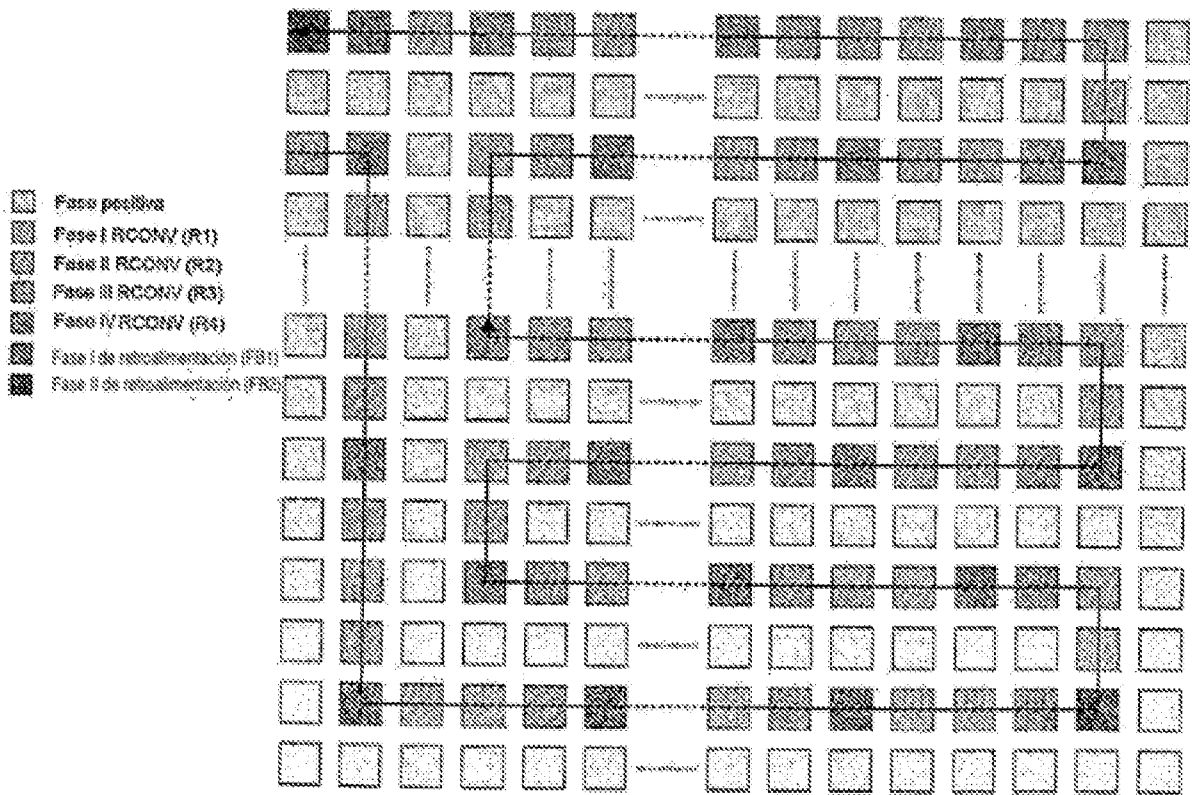


Fig. 41

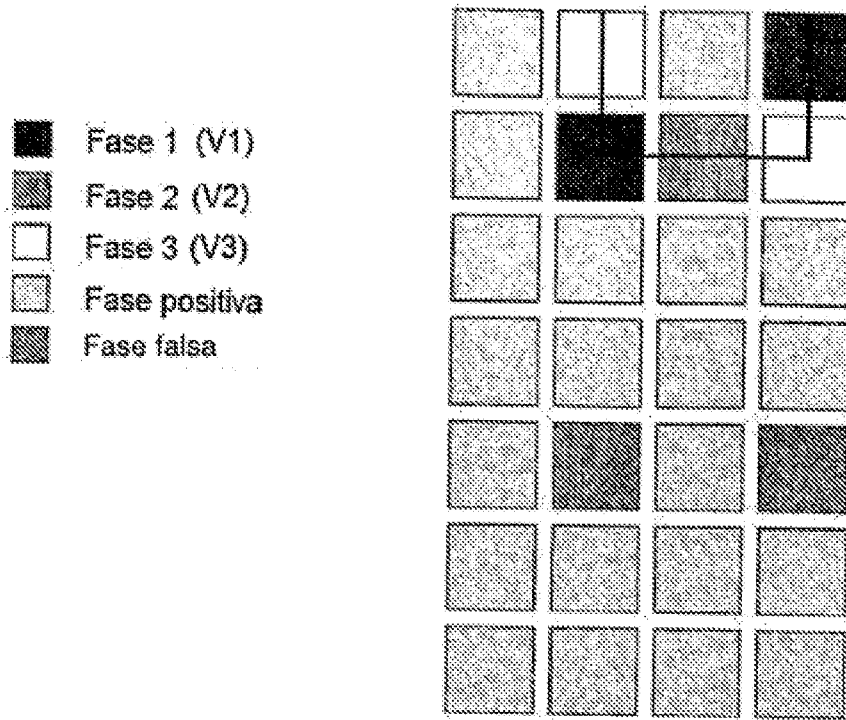


Fig. 42

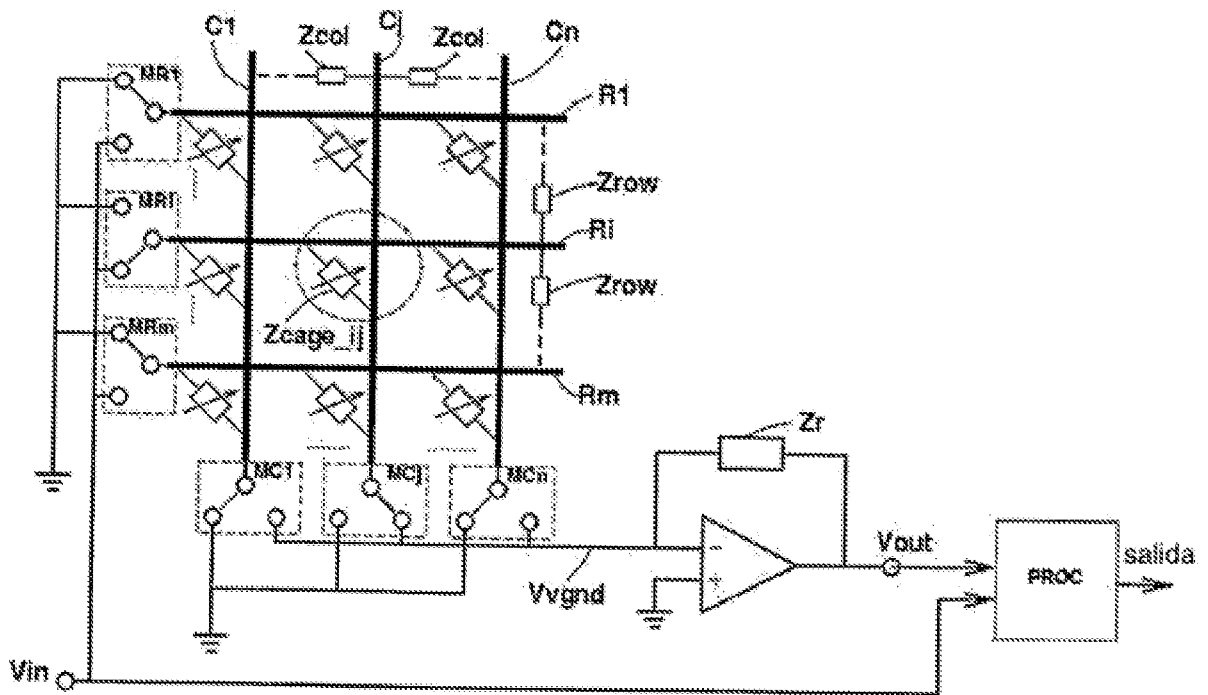


Fig. 43

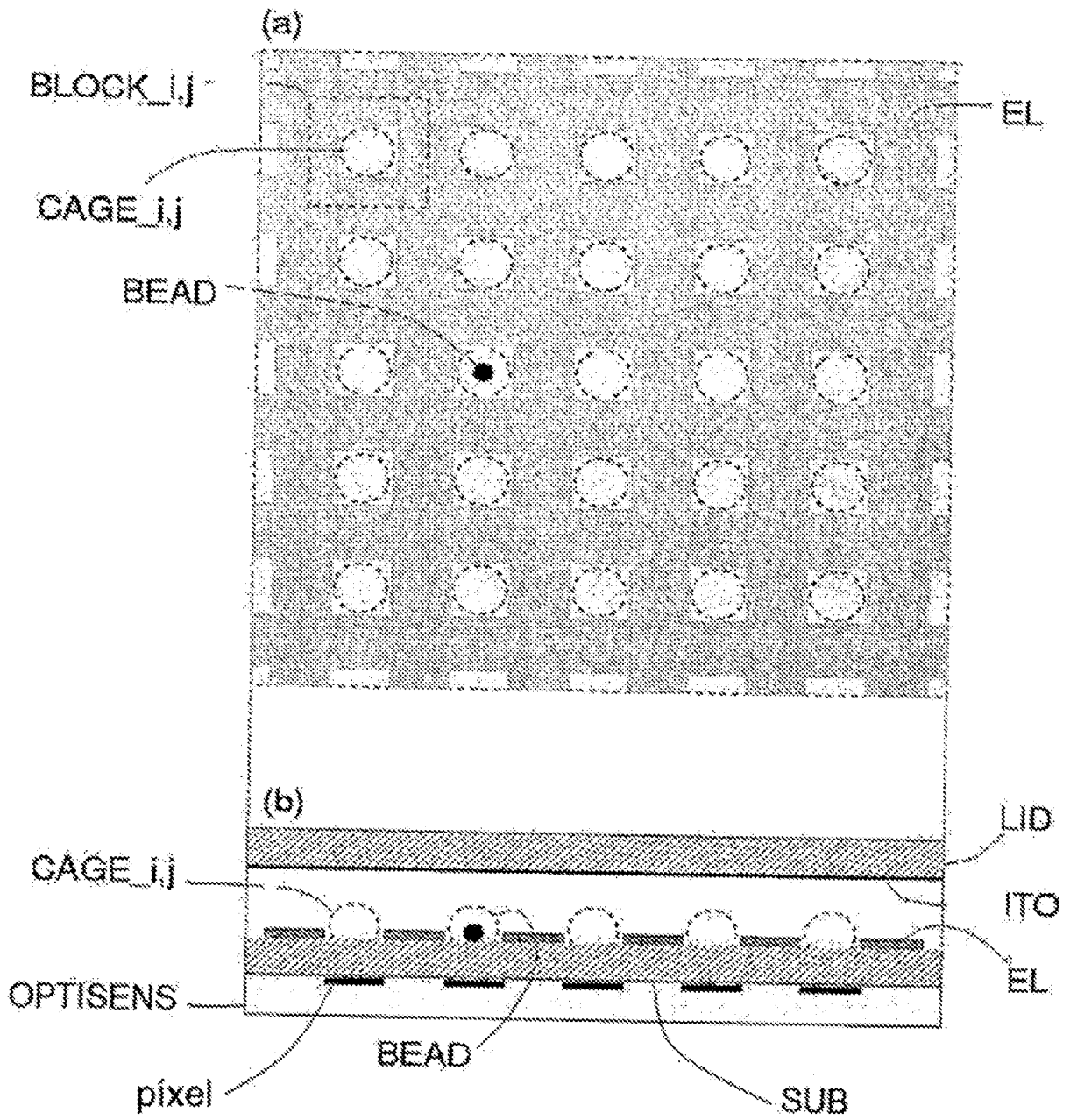


Fig. 44

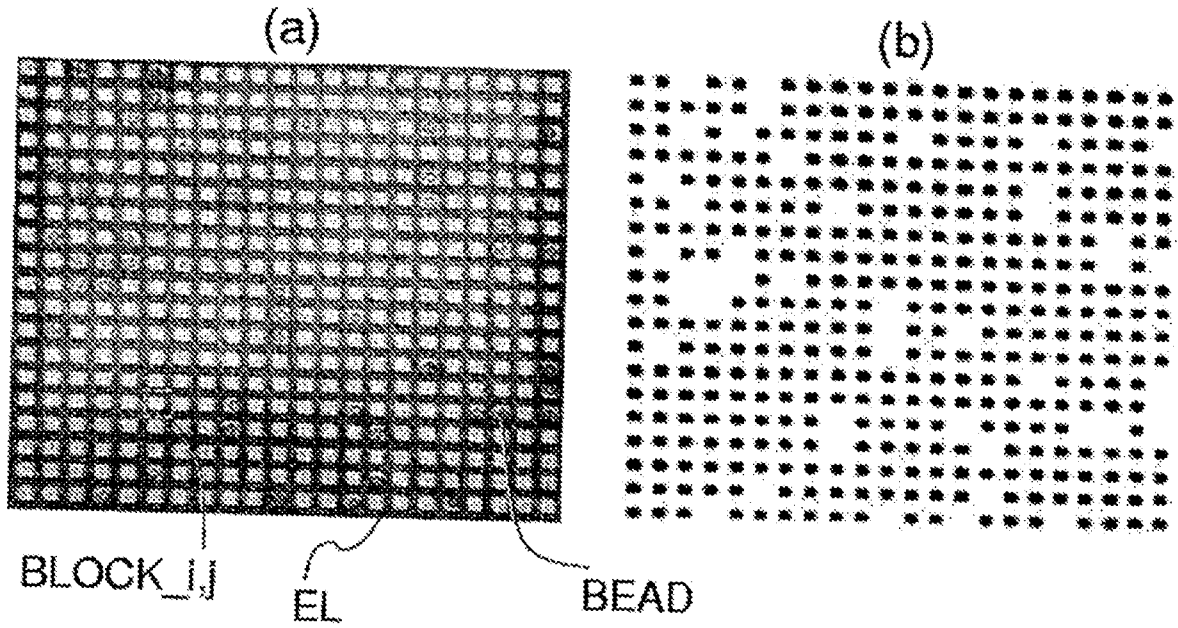


Fig. 45

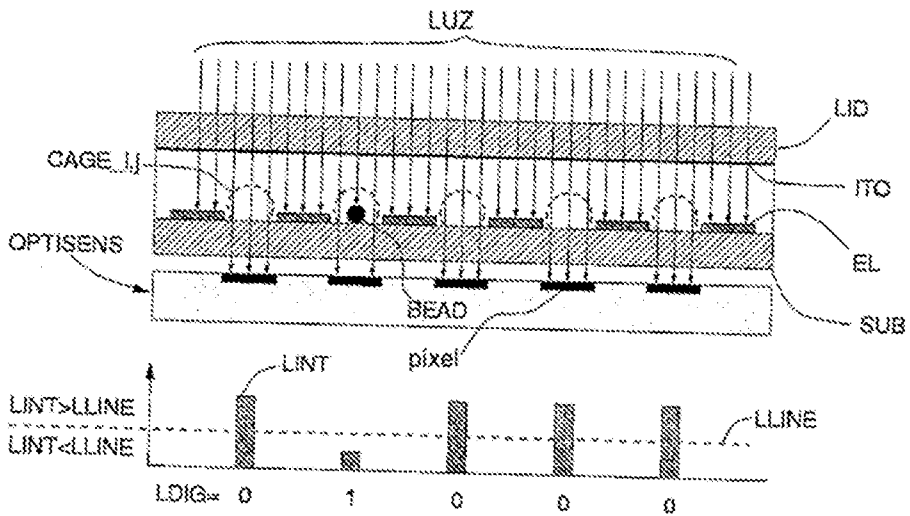


Fig. 46

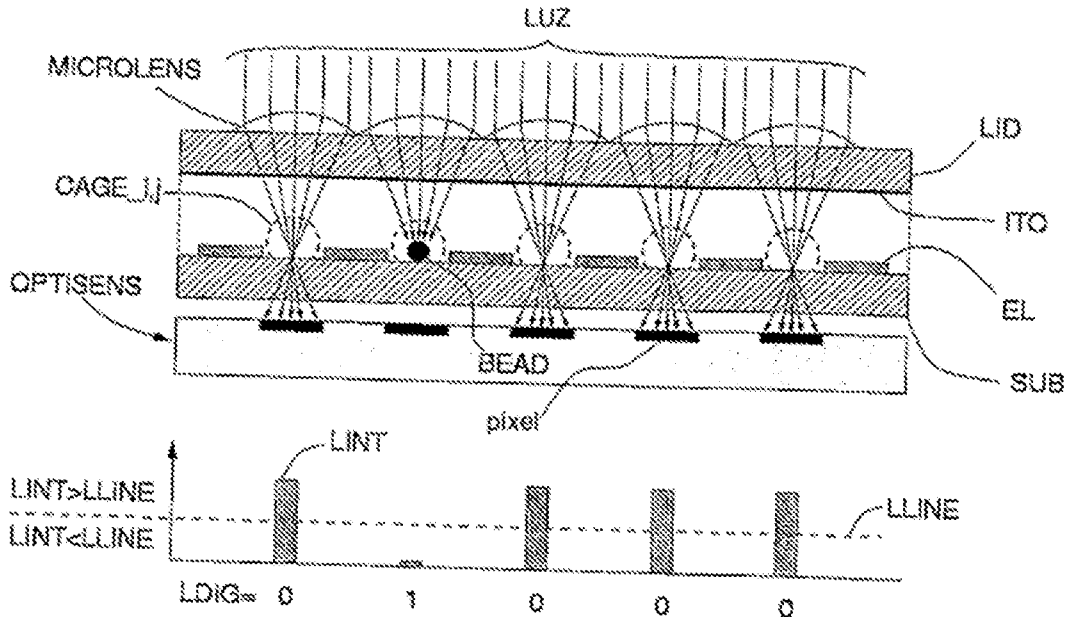


Fig. 47

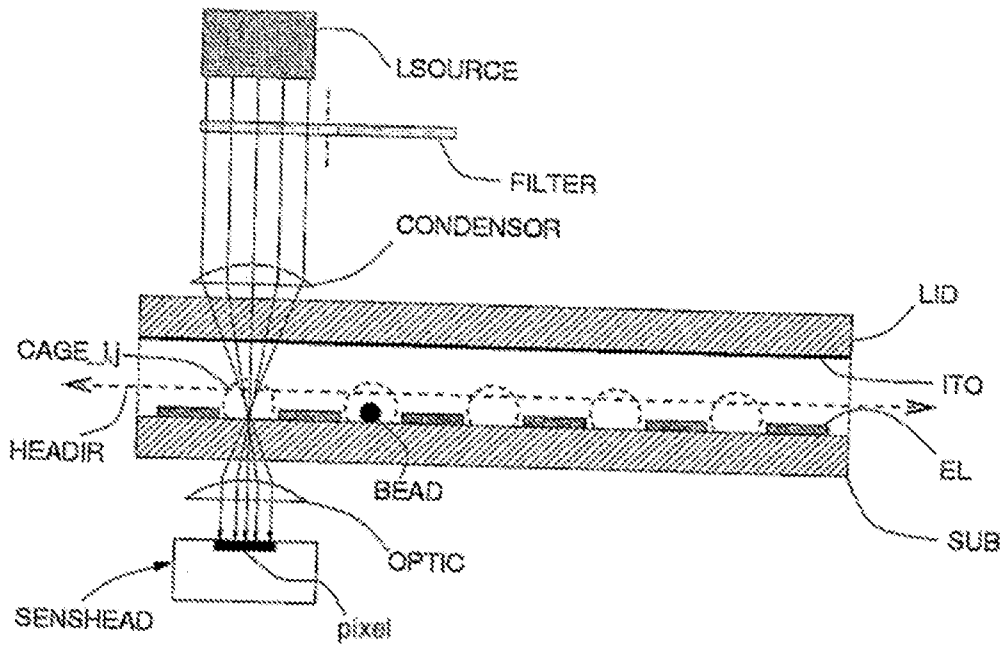


Fig. 48

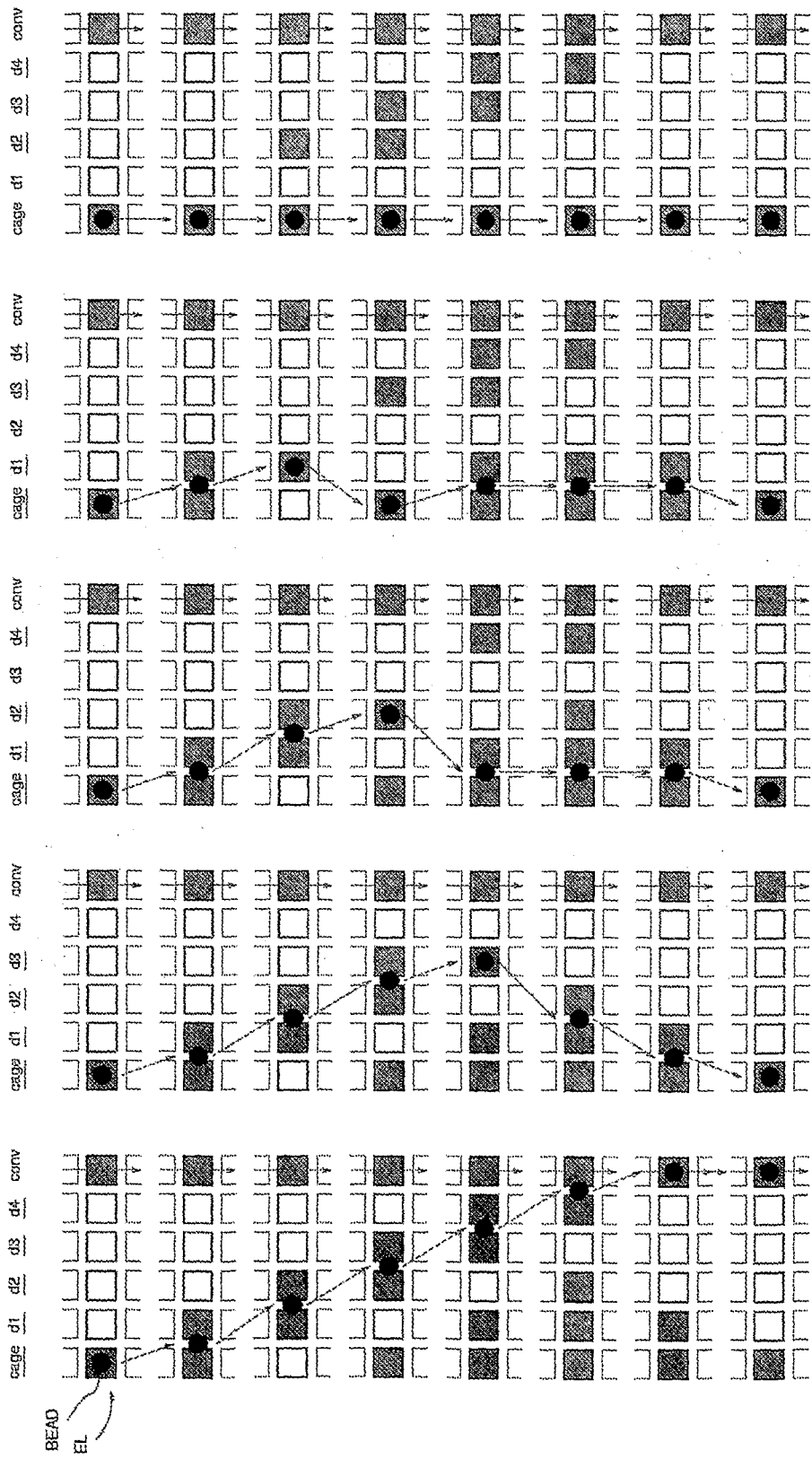


Fig. 49