



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112014032727-0 B1



(22) Data do Depósito: 27/06/2013

(45) Data de Concessão: 14/12/2021

(54) Título: MÉTODO E SISTEMA PARA REALIZAR OPERAÇÕES DE GOTÍCULA EM UMA GOTÍCULA EM UM ATUADOR DE GOTÍCULAS PARA REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DE BOLHAS

(51) Int.Cl.: G01N 1/00; B01D 57/02; B01L 3/00.

(30) Prioridade Unionista: 01/08/2012 US 61/678,263; 27/06/2012 US 61/664,980; 29/06/2012 US 61/666,417.

(73) Titular(es): ILLUMINA FRANCE.

(72) Inventor(es): CYRIL DELATTRE; ARNAUD RIVAL; VIJAY SRINIVASAN.

(86) Pedido PCT: PCT US2013048319 de 27/06/2013

(87) Publicação PCT: WO 2014/004908 de 03/01/2014

(85) Data do Início da Fase Nacional: 26/12/2014

(57) Resumo: MÉTODO E SISTEMA PARA REALIZAR OPERAÇÕES DE GOTÍCULA EM UMA GOTÍCULA EM UM ATUADOR DE GOTÍCULAS PARA REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DE BOLHAS. A presente invenção refere-se ao fato de que, durante as operações de gotícula em um atuador de gotícula, bolhas frequentemente se formam no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula e interrompem as operações de gotículas. A presente invenção fornece métodos e sistemas para executar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula compreendendo manter contato substancialmente consistente entre a gotícula e um aterramento elétrico enquanto conduzindo múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula e/ou reduzir o acúmulo de cargas elétricas no vão de operações de gotícula durante múltiplas operações de gotícula. Os métodos e sistemas reduzem ou eliminam a formação de bolhas no fluido de enchimento do vão de operações de gotícula, permitindo assim a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula.

"MÉTODO E SISTEMA PARA REALIZAR OPERAÇÕES DE GOTÍCULA EM UMA GOTÍCULA EM UM ATUADOR DE GOTÍCULAS PARA REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DE BOLHAS"

PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Em adição aos pedidos de patente citados aqui, cada um dos quais é incorporado aqui por referência, este pedido de patente está relacionado e reivindica prioridade para o Pedido de Patente Provisória US. No. 61/664.980, depositado em 27 de junho de 2012, intitulado "Methods of Providing a Reliable Ground Connection to Droplets in a Droplet Actuator and Thereby Reduce or Eliminate Air Bubble Formation"; Pedido de Patente Provisória US. No. 61/666.417, depositado em 29 de junho de 2012, intitulado "Reduction of Bubble Formation in a Droplet Actuator"; e Pedido de Patente Provisória US. No. 61/678.263 depositado em 1 de agosto de 2012, intitulado "Techniques and Droplet Actuator Designs for Reducing Bubble Formation"; cujas descrições são aqui incorporadas por referência.

CAMPO DA TÉCNICA

[002] A presente invenção refere-se a métodos e sistemas para reduzir ou eliminar a formação de bolhas em atuadores de gotículas, permitindo assim a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[003] Um atuador de gotícula inclui tipicamente um ou mais substratos configurados para formar uma superfície ou abertura para conduzir operações de gotícula. Os um ou mais substratos estabelecem uma superfície ou abertura de operações de gotícula para conduzir operações de gotícula e podem também incluir eletrodos dispostos para conduzir as operações de gotícula. O substrato de operações de gotícula ou a abertura entre os substratos pode ser revestido ou preenchido com um fluido de enchimento que é imiscível com o líquido que forma as

gotículas. A formação de bolhas no fluido de enchimento em um atuador de gotícula pode interferir na funcionalidade do atuador de gotículas. Há uma necessidade por técnicas para impedir que se formem bolhas indesejadas no fluido de enchimento em um atuador de gotículas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[004] Um método para executar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotículas é fornecido, o método inclui: (a) fornecer um atuador de gotícula incluindo um substrato superior e um substrato inferior separados para formar um vão de operações de gotícula, onde o atuador de gotícula inclui ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula dispostos para conduzir operações de gotícula; (b) encher a vão de operações de gotícula do atuador de gotículas com um fluido de enchimento; (c) fornecer uma gotícula na vão de operações de gotícula; (d) conduzir múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula, onde a gotícula é transportada através do fluido de enchimento no vão de operações de gotícula; e (e) manter contato substancialmente consistente entre a gotícula e um aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula; onde o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico permite a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula. Em certas modalidades, o método inclui ainda aquecer a gotícula na vão de operações de gotícula, particularmente aquecer a gotícula na vão de operações de gotícula a ao menos sessenta por cento do ponto de ebulição. Em outras modalidades, a gotícula é aquecida a uma temperatura mínima de sessenta e cinco graus Celsius. Em outras modalidades, a gotícula é aquecida dentro de vinte graus Celsius do ponto e ebulição. Em certas modalidades, conduzir as múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento no vão de operações de

gotícula inclui conduzir ao menos 10, ao menos 100, ao menos 1.000, ou ao menos 100.000 operações de gotícula. Em outras modalidades, conduzir as múltiplas operações de gotícula sem a interrupção pela formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula inclui completar um ensaio ou completar múltiplos ciclos de uma reação em cadeia da polimerase. Em outras modalidades, a gotícula inclui múltiplas gotículas no vão de operações de gotícula, e o contato substancialmente consistente é mantido entre múltiplas gotículas e o aterramento elétrico enquanto conduzindo múltiplas operações de gotícula nas múltiplas gotículas na vão de operações de gotícula. Em outra modalidade, o fluido de enchimento é um fluido de enchimento eletricamente condutor.

[005] Em outras modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui aterrar o substrato superior do atuador de gotícula ao aterramento elétrico e manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o substrato superior. Em outras modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui texturizar a superfície do substrato superior. Em outras modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui ajustar a altura da vão de operações de gotícula, particularmente reduzir a altura da vão de operações de gotícula. Em algumas modalidades, a altura da vão de operações de gotícula pode ser ajustada com uma mola. Em certas modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui mover o aterramento elétrico em direção à gotícula. Em certas

modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui mover o aterramento elétrico em direção à gotícula. Em certas modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui combinar a gotícula com outra gotícula.

[006] Em certas modalidades, o método para realizar as operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula inclui ainda: (i) aquecer a gotícula em uma zona da vão de operações de gotícula; e (ii) dispor o aterramento elétrico coplanar aos eletrodos de operações de gotícula na zona para manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula na vão de operações de gotícula.

[007] Em outras modalidades, os eletrodos de operações de gotícula são dispostos em um ou em ambos os substratos inferior e/ou superior. Em outras modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula na vão de operações de gotícula inclui fornecer eletrodos de operações de gotícula em várias disposições, incluindo um arranjo de sobreposição, um arranjo interdigitado, ou um arranjo triangular.

[008] Em certas modalidades, o método para realizar as operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula inclui ainda: (i) delimitar a vão de operações de gotícula com uma parede lateral e uma parede lateral oposta para criar um canal de operações de gotícula; (ii) dispor os eletrodos de operações de gotícula na parede lateral; (iii) dispor um ou mais eletrodos de aterramento ao longo da parede lateral oposta; e (iv) conectar um ou mais eletrodos de aterramento

ao aterramento elétrico; onde o contato substancialmente consistente com o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula não é afetado pela gravidade. Em algumas modalidades, a parede lateral inclui um primeiro trilho e a parede lateral oposta inclui um segundo trilho, onde o primeiro trilho e o segundo trilho são estruturas tridimensionais (3D) alongadas que estão dispostas em paralelo entre si. O método pode incluir ainda deslocar as posições dos eletrodos de operações de gotícula e a posição de um ou mais eletrodos de aterramento. O método pode também incluir um ou mais eletrodos de aterramento como uma tira contínua. O método pode incluir ainda dispor opostamente cada eletrodo de operações de gotícula a cada um ou mais dos eletrodos de aterramento.

[009] Em outras modalidades, o método de realizar as operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula inclui ainda: (i) delimitar a vão de operações de gotícula com uma parede lateral e uma parede lateral oposta para criar um canal de operações de gotícula; (ii) dispor os eletrodos de operações de gotícula na parede lateral; (iii) dispor um ou mais eletrodos de aterramento ao longo do substrato inferior; e (iv) conectar um ou mais eletrodos de aterramento ao aterramento elétrico; onde o contato substancialmente consistente com o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula não é afetado pela gravidade. Em algumas modalidades, a parede lateral inclui um primeiro trilho e a parede lateral oposta inclui um segundo trilho, onde o primeiro e o segundo trilho são estruturas tridimensionais (3D) alongadas que são dispostas em paralelo entre si.

[010] Em certas modalidades, o método para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula inclui ainda: (i) aplicar uma tensão para transportar a gotícula de um eletrodo inativado para um eletrodo ativado; e (ii) reduzir as cargas elétricas no vão de operações de gotícula enquanto a gotícula é

transportada para o eletrodo ativado; onde a formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula é reduzida ou eliminada. Em outras modalidades, o método inclui ainda aquecer a gotícula no vão de operações de gotícula. Em certas modalidades, as cargas elétricas podem ser reduzidas através do ajuste de uma altura do vão de operações de gotícula, particularmente reduzir a altura do vão de operações de gotícula, ou texturizar a superfície do substrato superior.

[011] Em outras modalidades, o método para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula inclui ainda: (i) aplicar uma tensão para transportar a gotícula de um eletrodo inativado para um eletrodo ativado; e (ii) reduzir a descarga de cargas elétricas à medida que a gotícula é transportada para o eletrodo ativado; onde a formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula é reduzida ou eliminada. Em outras modalidades, o método inclui ainda aquecer a gotícula no vão de operações de gotícula. Em certas modalidades, a descarga de cargas elétricas pode ser reduzida através do ajuste de uma altura do vão de operações de gotícula, particularmente reduzir a altura do vão de operações de gotícula, ou texturizar a superfície do substrato superior.

[012] Em certas modalidades, um método para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula é fornecido, incluindo: (a) fornecer um atuador de gotículas incluindo um substrato superior e um substrato inferior separados para formar uma vão de operações de gotícula, onde atuador de gotículas inclui ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula dispostos para conduzir as operações de gotícula no mesmo; (b) encher a vão de operações de gotícula do atuador de gotículas com um fluido de enchimento; (c) fornecer uma gotícula na vão de operações de gotícula; (d) aquecer a gotícula para dentro de vinte graus Celsius de ebulição para produzir uma gotícula aquecida; (e) conduzir múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula aquecida na vão de operações de

gotícula, onde a gotícula aquecida é transportada através do fluido de enchimento na abertura de operações de gota; e (f) reduzir o acúmulo de cargas elétricas na vão de operações de gotícula à medida que a gotícula aquecida é transportada através do fluido de enchimento na vão de operações de gotícula; onde o acúmulo reduzido de cargas elétricas na vão de operações de gotícula permite a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula.

[013] Os sistemas para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula são também fornecidos. Em algumas modalidades, o sistema inclui um processador para executar código e uma memória em comunicação com o processador, e código armazenado na memória que faz com que o processador ao menos: (a) forneça uma gotícula no vão de operações de gotícula de um atuador de gotícula, onde o atuador de gotícula inclui um substrato superior e um substrato inferior separados para formar a abertura de operações de gotícula, e onde o atuador de gotícula inclui ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula dispostos para conduzir operações de gotícula neste; (b) encher a vão de operações de gotícula do atuador de gotículas com um fluido de enchimento; (c) aquecer a gotícula em uma zona da vão de operações de gotícula para dentro de vinte graus Celsius de ebulição para produzir uma gotícula aquecida; (d) conduzir múltiplas operações de gotícula na gotícula aquecida na vão de operações de gotícula, onde a gotícula aquecida é transportada através do fluido de enchimento na zona do vão de operações de gotícula; e (e) manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e um aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula aquecida na zona da vão de operações de gotícula; onde o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico permite a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas no fluido de

enchimento na zona da vão de operações de gotícula. Em algumas modalidades, o código faz com que o processador conduza múltiplas operações de gotícula sem a interrupção pela formação de bolhas no fluido de enchimento na zona da vão de operações de gotícula inclui conduzir ao menos 10, ao menos 100, ao menos 1.000, ou ao menos 100.000 operações de gotícula. Em modalidades adicionais, o código faz ainda com que o processador complete um ensaio ou complete múltiplos ciclos de uma reação em cadeia da polimerase sem a interrupção pela formação de bolhas no fluido de enchimento na zona da vão de operações de gotícula.

[014] Em certas modalidades do sistema para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotículas, o código faz ainda com que o processador aterre o substrato superior do atuador de gotículas ao aterramento elétrico, onde manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o substrato superior enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula aquecida na zona da vão de operações de gotícula. Em algumas modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para ajustar a altura da vão de operações de gotícula, particularmente reduzir a altura da vão de operações de gotícula. Em algumas modalidades, o dispositivo para ajustar a altura da vão de operações de gotícula inclui uma mola. Em outras modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para texturizar a superfície do substrato superior da vão de operações de gotícula. Em algumas modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para mover o aterramento elétrico em direção à gotícula. Em outras modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento

elétrico inclui dispositivo para dispor o aterramento elétrico coplanar aos eletrodos de operações de gotícula na zona. Em certas modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para combinar a gotícula com outra gotícula.

[015] Em outras modalidades do sistema para realizar as operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotículas, os eletrodos de operações de gotícula são dispostos em um ou ambos dentre o substrato inferior e/ou superior. Em outras modalidades do sistema, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula aquecida na zona da vão de operações de gotícula inclui fornecer os eletrodos de operações de gotícula em várias disposições. Incluindo um arranjo de sobreposição, um arranjo interdigitado, ou um arranjo triangular. Em certas modalidades, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para diminuir uma distância entre os eletrodos de operações de gotícula adjacentes.

[016] Em outras modalidades do sistema, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para: (i) delimitar a vão de operações de gotícula com uma parede lateral e uma parede lateral oposta para criar um canal de operações de gotícula; (ii) dispor os eletrodos de operações de gotícula na parede lateral; (iii) dispor um ou mais eletrodos de aterramento ao longo do substrato inferior; e (iv) conectar um ou mais eletrodos de aterramento ao aterramento elétrico; onde o contato substancialmente consistente com o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula não é afetado pela gravidade. Em algumas modalidades, a parede lateral inclui um primeiro trilho e a parede lateral oposta inclui um segundo trilho, onde o primeiro trilho e o segundo trilho são estruturas tridimensionais (3D) alongadas que estão

dispostas em paralelo entre si. Em outras modalidades do sistema, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para deslocar as posições dos eletrodos de operações de gotícula para as posições de um ou mais eletrodos de aterramento. Em outras modalidades do sistema, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para dispor um ou mais eletrodos de aterramento como uma tira contínua. Em outras modalidades do sistema, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para dispor opostamente cada eletrodo de operações de gotícula a cada um ou mais dos eletrodos de aterramento.

[017] Em outras modalidades do sistema, manter o contato substancialmente consistente entre a gotícula aquecida e o aterramento elétrico inclui dispositivo para: (i) delimitar a vão de operações de gotícula com uma parede lateral e uma parede lateral oposta para criar um canal de operações de gotícula; (ii) dispor os eletrodos de operações de gotícula na parede lateral; (iii) dispor um ou mais eletrodos de aterramento ao longo do substrato inferior; e (iv) conectar um ou mais eletrodos de aterramento ao aterramento elétrico; onde o contato substancialmente consistente com o aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula no vão de operações de gotícula não é afetado pela gravidade. Em algumas modalidades, a parede lateral inclui um primeiro trilho e a parede lateral oposta inclui um segundo trilho, onde o primeiro trilho e o segundo trilho são estruturas tridimensionais (3D) alongadas que são dispostas em paralelo entre si.

[018] Em outra modalidade, um sistema para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula é fornecido, incluindo um processador para executar código e uma memória em comunicação com o processador, o sistema inclui código armazenado na memória que faz com que o

processador ao menos: (a) forneça uma gotícula na vão de operações de gotícula de um atuador de gotícula, onde o atuador de gotícula inclui um substrato superior e um substrato inferior separados para formar a vão de operações de gotícula, e onde o atuador de gotícula inclui ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula dispostos para conduzir operações de gotícula neste; (b) encher a vão de operações de gotícula do atuador de gotículas com um fluido de enchimento; (c) fornecer uma gotícula na vão de operações de gotícula; (d) aquecer a gotícula para dentro de vinte graus Celsius de ebulição para produzir uma gotícula aquecida; (e) conduzir múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula aquecida no vão de operações de gotícula, onde a gotícula é transportada através do fluido de enchimento no vão de operações de gotícula; e (f) reduzir o acúmulo de cargas elétricas no vão de operações de gotícula à medida que a gotícula aquecida é transportada através do fluido de enchimento no vão de operações de gotícula; onde o acúmulo reduzido de cargas elétricas no vão de operações de gotícula permite a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula.

[019] Um meio legível por computador armazenando instruções executáveis por processador para executar um método para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula é também fornecido, o método inclui: (a) fornecer um atuador de gotícula incluindo um substrato superior e um substrato inferior separados para formar um vão de operações de gotícula, e onde o atuador de gotícula inclui ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula dispostos para conduzir operações de gotícula neste; (b) encher a abertura de operações de gotícula do atuador de gotícula com um fluido de enchimento; (c) fornecer uma gotícula no vão de operações de gotícula; (d) conduzir múltiplas operações de gotícula na gotícula no vão de operações de gotícula, onde a gotícula é transportada através do fluido de enchimento no vão de operações de gotícula; e (e) manter o

contato substancialmente consistente entre a gotícula e um aterramento elétrico enquanto conduzindo as múltiplas operações de gotícula na gotícula no vão de operações de gotícula; onde o contato substancialmente consistente entre a gotícula e o aterramento elétrico permite a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem a interrupção pela formação de bolhas no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula.

[020] Em outra modalidade, um meio legível por computador armazenando instruções executáveis por processador para executar um método para realizar operações de gotícula sobre uma gotícula em um atuador de gotícula é também fornecido, o método inclui: (a) fornecer um atuador de gotícula incluindo um substrato superior e um substrato inferior separados para formar um vão de operações de gotícula, e onde o atuador de gotícula inclui ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula dispostos para conduzir operações de gotícula neste; (b) encher a abertura de operações de gotícula do atuador de gotícula com um fluido de enchimento; (c) fornecer uma gotícula no vão de operações de gotícula; (d) aquecer a gotícula para dentro de vinte graus Celsius para ebulição para produzir uma gotícula aquecida; (e) conduzir múltiplas operações de gotícula na gotícula aquecida no vão de operações de gotícula, onde a gotícula aquecida é transportada através do fluido de enchimento no vão de operações de gotícula; e (f) reduzir o acúmulo de cargas elétricas no vão de operações de gotícula à medida que a gotícula aquecida é transportada através do fluido de enchimento do vão de operações de gotícula; onde o acúmulo reduzido de cargas elétricas no vão de operações de gotícula permite completar as múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula.

[021] Um atuador de gotícula é também fornecido, incluindo: (a) um substrato superior e um substrato inferior separados para formar um vão de

operações de gotícula, onde a abertura de operações de gotícula é preenchida com um fluido de enchimento; (b) uma parede lateral e uma parede lateral oposta delimitando a vão de operações de gotícula, criando assim um canal de operações de gotícula; (c) um arranjo de eletrodos de operações de gotícula na parede lateral; e (d) um arranjo de um ou mais eletrodos de aterramento ao longo da parede lateral oposta, onde um ou mais eletrodos de aterramento são conectados a um aterramento elétrico; onde múltiplas operações de gotícula podem ser conduzidas em uma ou mais gotículas na vão de operações de gotícula enquanto mantendo o contato substancialmente consistente entre as uma ou mais gotículas e os um ou mais eletrodos de aterramento, permitindo assim a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento na vão de operações de gotícula, e onde as múltiplas operações de gotícula não são afetadas pela gravidade. Em algumas modalidades, a parede lateral inclui um primeiro trilho e a parede lateral oposta inclui um segundo trilho, onde o primeiro trilho e o segundo trilho são estruturas tridimensionais alongadas (3D) que são dispostas em paralelo entre si.

[022] Essas e outras modalidades são descritas mais completamente abaixo.

DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[023] As Figuras 1A, 1B, 1C e 1D ilustram vistas laterais de uma parte de um atuador de gotículas e um processo de operações de gotícula no qual a gotícula perde contato com o eletrodo de aterramento ou de referência do substrato superior.

[024] A Figura 2 ilustra uma vista lateral do atuador de gotículas no momento no tempo do processo de operações de gotícula no qual a gotícula perde contato com o substrato superior e bolhas.

[025] As Figuras 3A e 3B ilustram vistas laterais de exemplos de um atuador de gotículas que incluem uma região na qual a altura da vão de operações

de gotícula é reduzida para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[026] As Figuras 4A e 4B ilustram vistas laterais de exemplos de um atuador de gotícula que incluem uma região na qual a superfície do substrato superior é texturizada para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[027] As Figuras 5A e 5B ilustram vistas laterais de um atuador de gotícula que inclui um conjunto de sondas de aterramento ajustáveis para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[028] As Figuras 6A e 6B ilustram uma vista lateral e uma vista superior, respectivamente, de um atuador de gotícula que inclui um aterramento ou referência que é coplanar aos eletrodos de operações de gotícula para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[029] As Figuras 7A e 7B ilustram vistas laterais de um atuador de gotícula cuja altura de abertura de operações de gotícula é ajustável, onde a altura do vão de operações de gotícula pode ser reduzida, se necessário, para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[030] As Figuras 8A e 8B ilustram vistas laterais de atuadores de gotículas que utilizam condutividade elétrica no fluido de enchimento para ajudar a gotícula a descarregar na gotícula.

[031] A Figura 9 ilustra uma vista lateral de um atuador de gotícula que inclui um fio terra no vão de operações de gotícula para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[032] A Figura 10 ilustra uma vista lateral de um atuador de gotícula que utiliza gotículas 2X maiores ou gotículas maiores para ajudar as gotículas a estarem em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[033] As Figuras 11, 12A, 12B, 12C e 12D ilustram vistas de cima de

exemplos de arranjos de eletrodo que utilizam eletrodos de operações de gotícula interdigitados para suavizar o transporte de gotículas de um eletrodo interdigitado para o próximo.

[034] As Figuras 13A e 13B ilustram vistas de cima de exemplos de arranjos de eletrodos que utilizam eletrodos de operações de gotícula triangulares para suavizar o transporte de gotículas de um eletrodo triangular para o próximo.

[035] As Figuras 14A e 14B ilustram uma vista lateral e uma vista de cima para baixo, respectivamente, de um atuador de gotícula no qual os eletrodos de operações de gotícula são personalizados para aumentar a velocidade das operações de gotícula.

[036] As Figuras 15 a 22B ilustram várias vistas de um atuador de gotícula que inclui um canal de operações de gotícula, onde as paredes laterais do canal de operações de gotícula inclui arranjos de eletrodo para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula.

[037] A Figura 23 ilustra uma vista lateral de um atuador de gotícula no momento no tempo do processo de operações de gotícula no qual a gotícula perde contato com o substrato superior e cones de Taylor são formados.

[038] A Figura 24 ilustra um diagrama de bloco funcional de um exemplo de um sistema microfluídico que inclui um atuador de gotícula.

DEFINIÇÕES

Como usados aqui, os seguintes termos têm os significados indicados.

[039] “Ativar”, com relação a um ou mais eletrodos, significa efetuar uma mudança no estado elétrico de um ou mais eletrodos que, na presença de uma gotícula, resulta em uma operação de gotícula. A ativação de um eletrodo pode ser executada usando corrente alternada ou contínua. Qualquer tensão adequada pode ser usada. Por exemplo, um eletrodo pode ser ativado usando uma tensão que é maior do que aproximadamente 150 V, ou maior do que 200 V, ou maior do que

aproximadamente 250 V, ou de aproximadamente 275 V a aproximadamente 1000 V, ou aproximadamente 300 V. Quando a corrente alternada é usada, qualquer frequência adequada pode ser empregada. Por exemplo, um eletrodo pode ser ativado usando corrente alternada tendo uma frequência de aproximadamente 1 Hz a aproximadamente 10 MHz, ou de aproximadamente 10 Hz a aproximadamente 60 Hz, ou de aproximadamente 20 Hz a aproximadamente 40 Hz, ou aproximadamente 30 Hz.

[040] “Bolha” significa uma bolha gasosa no fluido de enchimento de um atuador de gotícula. Em alguns casos, as bolhas podem ser intencionalmente incluídas em um atuador de gotícula, tal como aqueles descritos na Publicação de Patente US. No. 20100190263, intitulado “Bubble Techniques for a Droplet Actuator”, publicada em 29 de julho de 2010, cuja descrição inteira é incorporada aqui por referência. A presente invenção refere-se a bolhas indesejáveis que são formadas como um efeito colateral de vários processos dentro de um atuador de gotícula, tal como evaporação ou hidrólise de uma gotícula em um atuador de gotícula. Uma bolha pode ser ao menos parcialmente delimitada por fluido de enchimento. Por exemplo, a bolha pode ser completamente circundada por fluido de enchimento ou pode ser delimitada por fluido de enchimento e um ou mais superfícies do atuador de gotícula. Como outro exemplo, uma bolha pode ser delimitada por fluido de enchimento, uma ou mais superfícies do atuador de gotícula, e/ou uma ou mais gotículas no atuador de gotícula.

[041] “Gotícula” significa um volume de líquido em um atuador de gotícula que é ao menos parcialmente delimitado por um fluido de enchimento. As gotículas podem, por exemplo, ser aquosas ou não aquosas ou podem ser misturas ou emulsões incluindo componentes aquosos e não aquosos. As gotículas podem tomar uma ampla variedade de formas; exemplos não limitantes incluem a forma geralmente de disco, de tarugo, esfera truncada, elipsoide, esférica, esfera

parcialmente comprimida, hemisférica, ovoide, cilíndrica, combinações de tais formas, e várias formas formadas durante as operações de gotícula, tal como combinação ou divisão ou formadas como um resultado de contato de tais formas com uma ou mais superfícies de um atuador de gotícula. Para exemplos de fluidos em gotícula que podem ser submetidos a operações de gotícula usando a abordagem da invenção, ver Pedido de Patente Internacional No. PCT/US 06/47486, intitulado “Droplet-Based Biochemistry”, depositado em 11 de dezembro de 2006. Em várias modalidades, uma gotícula pode incluir uma amostra biológica, tal como sangue integral, fluido linfático, soro, plasma, suor, lágrima, saliva, escarro, fluido cérebro-espinhal, fluido amniótico, fluido seminal, excreção vaginal, fluido seroso, fluido sinovial, fluido pericardial, fluido peritoneal, fluido pleural, transudados, exudados, fluido cístico, bile, urina, fluido gástrico, fluido intestinal, amostras fecais, líquidos contendo única célula ou múltiplas células, líquidos contendo organelas, tecidos fluidizados, organismos fluidizados, líquidos contendo organismos multicelulares, esfregaços biológicos e lavagens biológicas. Ademais, uma gotícula pode incluir um reagente, tal como água, água deionizada, soluções salinas, soluções ácidas, soluções básicas, soluções detergentes e/ou tampões. Outros exemplos de teores de gotículas incluem reagentes, tal como um reagente para um protocolo bioquímico, tal como um protocolo de amplificação de ácido nucleico, um protocolo de ensaio baseado em afinidade, um protocolo de ensaio enzimático, um protocolo de sequenciamento, e/ou um protocolo para análises de fluidos biológicos. Uma gotícula pode incluir uma ou mais esferas.

[042] “Atuador de gotícula” significa um dispositivo para manipular gotículas. Para exemplos de atuadores de gotícula, ver Pamula e outros, Patente US No. 6.911.132, intitulado “Apparatus for Manipulating Droplets by Electrowetting-Based Techniques”, emitida em 28 de junho de 2005; Pamula e outros, Pedido de Patente US. No. 11/343.284, intitulado “Apparatuses and Methods for Manipulating

Droplets on a Printed Circuit Board”, depositado em 30 de janeiro de 2006; Pollack e outros, Pedido de Patente Internacional No. PCT/US2006/047486, intitulado “Droplet-Based Biochemistry”, depositado em 11 de dezembro de 2006; Shenderov, Patentes US. No. 6.773.566, intitulado “Electrostatic Actuators for Microfluidics and Methods for Using Same”, emitida em 10 de agosto de 2004 e 6.565.727, intitulada “Actuators for Microfluidics Without Moving Parts”, emitida em 24 de janeiro de 2000; Kim e/ou Shah e outros, Pedidos de Patente US. Nos. 10/343.261, intitulado “Electrowetting-driven Micropumping”, depositado em 27 de janeiro de 2003, 11/275.668 intitulado “Method and Apparatus for Promoting the Complete Transfer of Liquid Drops from a Nozzle”, depositado em 23 de janeiro de 2006, 11/460.188 intitulado “Small Object Moving on Printed Circuit Board”, depositado em 23 de janeiro de 2006, 12/465.935, intitulado “Method for Using Magnetic Particles in Droplet Microfluidics”, depositado em 14 de maio de 2009, e 12/513.157 intitulado “Method and Apparatus for Real-time Feedback Control of Electrical Manipulation of Droplets on Chip”, depositado em 30 de abril de 2009; Velez, Patente US. No. 7.547.380 intitulado “Droplet Transportation Devices and Methods Having a Fluid Surface”, emitida em 16 de junho de 2009; Sterling e outros, Patente US. No. 7.163.612 intitulado “Method, Apparatus and Article for Microfluidic Control via Electrowetting, for Chemical, Biochemical and Biological Assays and the Like”, emitido em 16 de janeiro de 2007; Becker e Gascoyne e outros, Patentes US. Nos. 7.641.779, intitulada “Methods and Apparatus for Programmable Fluidic Processing”, emitida em 5 de janeiro de 2010, e 6.977.033, intitulada “Method and Apparatus for Programmable Fluidic Processing”, emitida em 20 de dezembro de 2005; Dece e outros, Patente US. No. 7.328.979, intitulada “System for Manipulation of a Body of Fluid” emitida em 12 de fevereiro de 2008; Yamakawa e outros, Publicação de Patente US. No. 20060039823 intitulada “Chemical Analysis Apparatus”, publicada em 23 de fevereiro de 2006; Wu, Publicação de Patente Internacional No.

WO/2009/003184 intitulada “Digital Microfluidics Based Apparatus for Heat-Exchanging Chemical Processes”, publicada em 31 de dezembro de 2008; Fouillet e outros, Publicação de Patente US. No. 20090192044, intitulada “Electrode Addressing Method”, publicada e 30 de julho de 2009; Fouillet e outros, Patente US. No. 7.052.244 intitulada “Device for Displacement of Small Liquid Volumes Along a Micro-Catenary Line by Electrostatic Forces”, emitida em 30 de maio de 2006; Marchand e outros, Publicação de Patente US. No. 20080124252 intitulada “Droplet Microreactor”, publicada em 29 de maio de 2008; Adachi e outros, Publicação de Pedido de Patente No. 20090321262 intitulada “Liquid Transfer Device”, publicada em 31 de dezembro de 2009; Roux e outros, Publicação de Pedido de Patente US. No. 20050179746, intitulada “Device for Controlling the Displacement of a Drop Between two or Several Solid Substrates”, publicada em 18 de agosto de 2005; Dhindsa e outros, “Virtual Electrowetting Channels: Electronic Liquid Transport with Continuous Channel Functionality”, Lab Chip, 10: 832 – 836 (2010); cujas descrições inteiras são incorporadas aqui por referência, junto com seus documentos de prioridade. Certos atuadores de gotículas incluirão um ou mais substratos dispostos com uma vão de operações de gotícula entre eles e os eletrodos associados com (por exemplo, em camada, acoplados, e/ou embutidos) os um ou mais substratos e dispostos para conduzir uma ou mais operações de gotícula. Por exemplo, certos atuadores de gotículas incluirão um substrato base (ou inferior), eletrodos de operações de gotícula associados com o substrato, uma ou mais camadas dielétricas em cima do substrato e/ou eletrodos, e opcionalmente uma ou mais camadas hidrofóbicas em cima do substrato, as camadas dielétricas e/ou os eletrodos formando uma superfície de operações de gotícula. Um substrato superior pode ser também fornecido, que é separado da superfície de operações de gotícula por uma abertura, geralmente chamada de um vão de operações de gotícula. Vários arranjos de eletrodos nos substratos superior e/ou inferior são discutidos nas

patentes e pedidos citados acima e certos novos arranjos de eletrodos são discutidos na descrição da invenção. Durante as operações de gotícula, é preferencial que as gotículas permaneçam em contato contínuo ou contato frequente com um eletrodo de aterramento ou de referência. Um eletrodo de aterramento ou de referência pode estar associado com o substrato superior voltado para a abertura, o substrato inferior voltado para a abertura, e/ou na abertura. Quando os eletrodos são fornecidos em ambos os substratos, os contatos elétricos para acoplar os eletrodos a um instrumento de atuador de gotícula para controlar ou monitorar os eletrodos pode estar associado com uma ou mais placas. Em alguns casos, os eletrodos em um substrato são eletricamente acoplados ao outro substrato de modo que somente um substrato esteja em contato com o atuador de gotícula. Em uma modalidade, um material condutor (por exemplo, um epóxi, tal como MASTER BOND™ Polymer System EP79, disponível a partir de Master Bond, Inc., Hackensack, NJ) fornece a conexão elétrica entre os eletrodos em um substrato e caminhos elétricos nos outros substratos, por exemplo, um eletrodo de aterramento em um substrato superior pode ser acoplado a um caminho elétrico em um substrato inferior por tal material condutor. Quando múltiplos substratos são usados, um espaçador pode ser fornecido entre os substratos para determinar a altura da abertura entre eles e definir reservatórios. A altura do espaçador pode, por exemplo, ser de aproximadamente 5 μm a aproximadamente 600 μm , ou aproximadamente 100 μm a aproximadamente 400 μm , ou aproximadamente 200 μm a aproximadamente 350 μm , ou aproximadamente 250 μm a aproximadamente 300 μm , ou aproximadamente 275 μm . O espaçador pode, por exemplo, ser formado de uma camada de projeções para formar os substratos superior ou inferior, e/ou um material inserido entre os substratos superior e inferior. Uma ou mais aberturas podem ser fornecidas nos um ou mais substratos para formar um caminho de fluido através do qual o líquido pode ser entregue no vão de operações de gotícula. As

uma ou mais aberturas podem em alguns casos ser alinhadas para interação com um ou mais eletrodos, por exemplo, alinhadas de modo que o líquido que flui através da abertura entre em suficiente proximidade com um ou mais eletrodos de operações de gotícula para permitir que uma operação de gotícula seja efetuada pelos eletrodos de operações de gotícula usando o líquido. Os substratos base (inferior) e superior podem, em alguns casos, ser formados como um componente integral. Um ou mais eletrodos de referência podem ser fornecidos nos substratos base (ou inferior) e/ou superior e/ou na abertura. Exemplos de arranjos de eletrodo de referência são fornecidos nas patentes e pedidos de patentes citados acima. Em várias modalidades, a manipulação de gotículas por um atuador de gotícula pode ser mediada por eletrodo, por exemplo, mediada por umedecimento eletrônico ou mediada por dieletoforese ou mediada por força de Coulomb. Exemplos de outras técnicas para controlar as operações de gotícula que podem ser usadas nos atuadores de gotícula da invenção incluem o uso de dispositivos que induzem a pressão fluídica hidrodinâmica, tal como aqueles que operam com base nos princípios mecânicos (por exemplo, bombas de seringa externa, bombas de membrana pneumática, bombas de membrana vibratória, dispositivos a vácuo, forças centrífugas, bombas piezelétricas/ultrassônicas e forças acústicas); princípios elétricos ou magnéticos (por exemplo, fluxo eletro-osmótico, bombas eletrocinéticas, plugues ferrofluídicos, bombas eletrohidrodinâmicas, atração ou repulsão usando forças magnéticas e bombas magnetohidrodinâmicas); princípios termodinâmicos (por exemplo, expansão de volume induzida por geração de bolhas/mudança de fase); outros tipos de princípios de umedecimento de superfície (por exemplo, umedecimento eletrônico, e umedecimento optoeletrônico, bem como gradientes de tensão de superfície induzidos de forma química, térmica, estrutural e radioativa); gravidade; tensão de superfície (por exemplo, ação capilar); forças eletrostáticas (por exemplo, fluxo eletro-osmótico); fluxo centrífugo (substrato disposto em um

disco compacto e rotacionado); forças magnéticas (por exemplo, fluxo que causa íons oscilantes); forças magnetohidrodinâmicas; e vácuo ou pressão diferencial. Em certas modalidades, combinações de duas ou mais das técnicas anteriores podem ser empregadas para conduzir uma operação de gotícula em um atuador de gotícula da invenção. Similarmente, um ou mais dos anteriores podem ser usados para entregar líquido em um vão de operações de gotícula, por exemplo, a partir de um reservatório em outro dispositivo ou a partir de um reservatório externo do atuador de gotícula (por exemplo, um reservatório associado com um substrato de atuador de gotícula e um caminho de fluxo a partir do reservatório para a abertura de operações de gotícula). As superfícies de operações de gotícula de certos atuadores de gotículas da invenção podem ser feitas a partir de materiais hidrofóbicos ou podem ser revestidas ou tratadas para torná-las hidrofóbicas. Por exemplo, em alguns casos, alguma parte ou todas as superfícies de operações de gotícula podem ser derivatizadas com materiais ou produtos químicos de baixa energia de superfície, por exemplo, por deposição ou usando síntese in situ usando compostos tal como compostos poli- ou per-fluorados em solução ou monômeros polimerizáveis. Exemplos incluem TEFLON® AF (disponíveis a partir de DuPont, Wilmington, DE), membros da família cytop de materiais, revestimentos na família FLUOROPEL® de revestimentos hidrofóbicos e superhidrofóbicos (disponíveis a partir de Cytonix Corporation, Beltsville, MD), revestimentos de silano, revestimentos de fluorosilano, derivados de fosfonato hidrofóbico (por exemplo, aqueles vendidos por Aculon, Inc.), e revestimentos eletrônicos NOVEC™ (disponíveis a partir de 3M Company, St. Paul, MN), outros monômeros fluorados para deposição de vapor químico assistido a plasma (PECVD), e organosiloxano (por exemplo, SiOC) para PECVD. Em alguns casos, a superfície de operações de gotícula pode incluir um revestimento hidrofóbico tendo uma espessura na faixa de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 1.000 nm. Ademais, em algumas modalidades, o substrato

superior do atuador de gotícula inclui um polímero orgânico eletricamente condutor, que é então revestido com um revestimento hidrofóbico ou de outra forma tratado para tornar a superfície de operações de gotícula hidrofóbica. Por exemplo, o polímero orgânico eletricamente condutor que é depositado em um substrato plástico pode ser poli(3,4-etilenodioxitiofeno) poli(estirenosulfonato) (PEDOT:PSS). Outros exemplos de polímeros orgânicos eletricamente condutores e camadas condutoras são descritos por Pollack e outros, International Patent Application No. PCT/US2010/040705, intitulado “Droplet Actuator Devices and Methods”, cuja descrição é incorporada aqui por referência. Um ou ambos os substratos podem ser fabricados usando uma placa de circuito impresso (PCB), vidro, vidro revestido com óxido de índio e estanho (ITO), e/ou materiais semicondutores como o substrato.

Quando o substrato é vidro revestido com ITO, o revestimento de ITO é preferencialmente uma espessura na faixa de aproximadamente 20 a aproximadamente 200 nm, preferencialmente aproximadamente 50 a aproximadamente 150 nm, ou aproximadamente 75 a aproximadamente 125 nm, ou aproximadamente 100 nm. Em alguns casos, o substrato superior e/ou inferior inclui um substrato PCB que é revestido com um dielétrico, tal como um dielétrico de poli-imida, que pode, em alguns casos, ser também revestido ou de outra forma tratado para tornar a superfície de operações de gotícula hidrofóbica. Quando o substrato inclui um PCB, os seguintes materiais são exemplos de materiais adequados: MITSUI™ BN-300 (disponível a partir de MITSUI Chemicals America, Inc., San Jose CA); ARLON™ 11N (disponível a partir de Arlon, Inc., Santa Ana, CA); NELCO® N4000-6 e N5000-30/32 (disponível a partir de Park Electrochemical Corp., Melville, NY); ISOLA™ FR406 (disponível a partir de Isola Group, Chandler, AZ), especialmente IS620; família de fluoropolímeros (adequados para detecção por fluorescência uma vez que tenha baixa fluorescência de fundo); família de poli-imida; poliéster; polietileno naftalato; policarbonato; poliéter éter cetona; polímero de cristal

líquido; copolímero de ciclo-olefina (COC); polímero de ciclo-olefina (COP); aramida; reforço de aramida não tecido THERMOUNT® (disponível a partir de DuPont, Wilmington, DE); fibra da marca NOMEX® (disponível a partir de DuPont, Wilmington, DE); e papel. Vários materiais são também adequados para uso como o componente dielétrico do substrato. Exemplos incluem: dielétrico depositado a vapor, tal como PARYLENE™ C (especialmente em vidro), PARYLENE™ N, e PARYLENE™ HT (para alta temperatura, ~300° C) (disponível a partir de Parylene Coating Services, Inc., Katy, TX); revestimentos de TEFLON® AF; cytop, máscaras de solda, tal como máscaras de solda fotográficas líquidas (por exemplo, em PCB) como TAIYO™ série PSR4000, TAIYO™ série PSR e AUS (disponíveis a partir de Taiyo America, Inc. Carson City, NV) (boas características térmicas para aplicações envolvendo controle térmico), e PROBIMER™ 8165 (boas características térmicas para aplicações envolvendo controle térmico (disponíveis a partir de Huntsman Advanced Materials Americas Inc., Los Angeles, CA); máscara de solda de filme seco, tal como aquela na linha de máscara de solda de filme seco VACREL® (disponível a partir de DuPont, Wilmington, DE); filme dielétrico, tal como filme de poli-imida (por exemplo, filme de poli-imida KAPTON®, disponível a partir de DuPont, Wilmington, DE), polietileno, e fluoropolímeros (por exemplo, FEP), politetrafluoroetileno; poliéster, polietileno naftalato, copolímero de ciclo-olefina (COC); copolímero de ciclo-olefina (COP); qualquer outro material de substrato PCB listado acima; resina de matriz preta; e polipropileno. A tensão e a frequência de transporte de gotícula podem ser selecionadas para desempenho com reagentes usados em protocolos de ensaio específico. Os parâmetros de projeto podem ser variados, por exemplo, número e localização de reservatórios em atuador, número de conexões de eletrodo independente, tamanho (volume) de reservatórios diferentes, localização de zonas de lavagem de ímãs/esferas, tamanho de eletrodo, distância intereletrodos, e altura da abertura (entre os substratos superior e inferior)

podem ser variados para uso com reagentes específicos, protocolos, volumes de gotículas, etc. Em alguns casos, um substrato da invenção pode ser derivatizado com materiais ou produtos químicos de baixa energia de superfície, por exemplo, usando deposição ou síntese in situ usando compostos poli- ou per-fluorados em solução ou monômeros polimerizáveis. Exemplos incluem revestimentos TEFLON® AF e revestimentos FLUOROPEL® para revestimento por imersão ou aspersão, outros monômeros fluorados para deposição de vapor químico assistido a plasma (PECVD), e organosiloxano (por exemplo, SiOC) para PECVD. Adicionalmente, em alguns casos, alguma parte ou toda a superfície de operações de gotícula pode ser revestida com uma substância para reduzir o ruído de fundo, tal como fluorescência de fundo a partir de um substrato PCB. Por exemplo, o revestimento de redução de ruído pode incluir uma resina de matriz preta, tal como as resinas de matriz preta disponíveis a partir de Toray Industries, Inc., Japão. Os eletrodos de um atuador de gotícula são tipicamente controlados por um controlador ou um processador, que é fornecido como parte de um sistema, que pode incluir funções de processamento, bem como armazenamento de dados e software e capacidades de entrada e saída. Os reagentes podem ser fornecidos no atuador de gotículas no vão de operações de gotícula ou em um reservatório fluidamente acoplado à vão de operações de gotícula. Os reagentes podem estar na forma líquida, por exemplo, gotículas, ou podem ser fornecidos em uma forma reconstituível na vão de operações de gotícula ou em um reservatório fluidamente acoplado a vão de operações de gotícula. Os reagentes reconstituíveis podem ser tipicamente combinados com líquidos para reconstituição. Um exemplo de reagentes reconstituíveis adequados para uso com a invenção inclui aqueles descritos por Meathrel e outros, Patente US. No. 7.727.466, intitulada “Disintegratable films for diagnostic devices”, cedida em 1 de junho de 2010.

[043] “Operação de gotícula” significa qualquer manipulação de uma

gotícula em um atuador de gotícula. Uma operação de gotícula pode, por exemplo, incluir: carregar uma gotícula no atuador de gotícula; dispensar uma ou mais gotículas a partir de uma gotícula fonte; dividir ou separar uma gotícula em duas ou mais gotículas; transportar uma gotícula de uma localização para outra em qualquer direção; casar ou combinar duas ou mais gotículas em uma única gotícula; diluir uma gotícula; misturar uma gotícula; agitar uma gotícula; deformar uma gotícula; reter uma gotícula na posição; incubar uma gotícula; aquecer uma gotícula; vaporizar uma gotícula; resfriar uma gotícula; descartar uma gotícula; transportar uma gotícula de um atuador de gotícula; outras operações de gotícula descritas aqui; e/ou qualquer combinação das anteriores. Os termos “casar”, “casamento”, “combinar”, “combinação” e similares são usados para descrever a criação de uma gotícula a partir de duas ou mais gotículas. Dever-se-ia entender que quando tal termo é usado em relação a duas ou mais gotículas, qualquer combinação de operações de gotícula que são suficientes para resultar na combinação das duas ou mais gotículas sobre uma gotícula pode ser usada. Por exemplo, “casar a gotícula A com a gotícula B” pode ser conseguido transportando-se a gotícula A em contato com uma gotícula estacionária B, transportar a gotícula B em contato com a gotícula estacionária A, ou transportar as gotículas A e B em contato entre si. Os termos “dividir” e “separar” não são destinados a implicar qualquer resultado particular com relação ao volume das gotículas resultantes (isto é, o volume das gotículas resultantes pode ser o mesmo ou diferente) ou número de gotículas resultantes (o número de gotículas resultantes pode ser 2, 3, 4, 5 ou mais). O termo “misturação” refere-se a operações de gotícula que resultam na distribuição mais homogênea de um ou mais componentes dentro de uma gotícula. Exemplos de operações de gotícula de “carregamento” incluem carregamento por microdiálise, carregamento assistida a pressão, carregamento robótico, carregamento passivo, e carregamento por pipeta. As operações de gotícula podem ser mediadas por eletrodo. Em alguns casos, as operações de

gotícula são ainda facilitadas pelo uso de regiões hidrofílicas e/ou hidrofóbicas em superfícies e/ou por obstáculos físicos. Para exemplos de operações de gotícula, ver as patentes e pedidos de patentes citados acima sob a definição de “atuador de gotículas”. Técnicas de imagiologia e sensoramento por impedância ou capacitância podem, às vezes, ser usadas para determinar ou confirmar o resultado de uma operação de gotícula. Exemplos de tais técnicas são descritos por Sturmer e outros, Publicação de Patente Internacional No. WO/2008/101194, intitulada “Capacitance Detection in a Droplet Actuator”, publicada em 21 de agosto de 2008, cuja descrição inteira é incorporada aqui por referência. Genericamente falando, as técnicas de sensoramento ou imagiologia podem ser usadas para confirmar a presença ou ausência de uma gotícula em um eletrodo específico. Por exemplo, a presença de uma gotícula dispensada no eletrodo de destino seguindo a operação de dispensa de gotícula confirma que a operação de dispensa de gotícula foi eficaz. Similarmente, a presença de uma gotícula em um ponto de detecção em uma etapa apropriada em um protocolo de ensaio pode confirmar que um conjunto anterior de operações de gotícula produziu com sucesso uma gotícula para detecção. O tempo de transporte de gotícula pode ser muito rápido. Por exemplo, em várias modalidades, o transporte de uma gotícula de um eletrodo para o próximo pode exceder aproximadamente 1 segundo, ou aproximadamente 0,1 segundo, ou aproximadamente 0,01 segundo, ou aproximadamente 0,001 segundo. Em uma modalidade, o eletrodo é operado em modo AC, mas é comutado para o modo DC para imagiologia. É útil que a condução de operações de gotícula para a área ocupada de gotícula seja similar à área de umedecimento eletrônico; em outras palavras, gotículas 1x, 2x, 3x são operadas utilmente controladas usando 1, 2 e 3 eletrodos, respectivamente. Se a área ocupada da gotícula é maior do que o número de eletrodos disponíveis para conduzir uma operação de gotícula em um dado tempo, a diferença entre o tamanho da gotícula e o número de eletrodos deveria

tipicamente não ser maior do que 1; em outras palavras, uma gotícula 2x é utilmente controlada usando 1 eletrodo e uma gotícula 3x é utilmente controlada usando 2 eletrodos. Quando as gotículas incluem esferas, é útil que o tamanho da gotícula seja igual ao número de eletrodos controlando a gotícula, por exemplo, transportando a gotícula.

[044] “Fluido de enchimento” significa um fluido associado com um substrato de operações de gotícula de um atuador de gotícula, fluido que é suficientemente imiscível com uma fase de gotícula para submeter a fase de gotícula a operações de gotícula mediadas por eletrodo. Por exemplo, a vão de operações de gotícula de um atuador de gotículas é tipicamente preenchida com um fluido de enchimento. O fluido de enchimento pode, por exemplo, ser um óleo de baixa viscosidade, tal como óleo de silicone, ou fluido de enchimento à base de hexadecano. O fluido de enchimento pode preencher a abertura inteira do atuador de gotícula ou pode revestir uma ou mais superfícies do atuador de gotícula. Os fluidos de enchimento podem ser condutores ou não condutores. Os fluidos de enchimento podem, por exemplo, ser dopados com tensoativos ou outros aditivos. Por exemplo, os aditivos podem ser selecionados para melhorar as operações de gotícula e/ou reduzir a perda de reagente ou substâncias alvo a partir de gotículas, formação de microgotículas, contaminação cruzada entre as gotículas, contaminação de superfícies de atuador de gotícula, degradação de materiais de atuador de gotícula, etc. A composição do fluido de enchimento, incluindo a dopagem com tensoativo, pode ser selecionada quanto ao desempenho com reagentes usados nos protocolos de ensaio específicos e interação eficaz ou não interação com materiais de atuador de gotícula. Exemplos de fluidos de enchimento e formulações de fluido de enchimento para uso com a invenção são fornecidos por Srinivasan e outros, Publicação de Patente Internacional Nos. WO/2010/027894, intitulada “Droplet Actuators, Modified Fluids and Methods”, publicada em 11 de

março de 2010, e WO/2009/021173, intitulada “Use of Additives for Enhancing Droplet Operations”, publicada em 12 de fevereiro de 2009; Sista e outros, Publicação de Patente Internacional No. WO/2008/098236, intitulada “Droplet Actuator Devices and Methods Employing Magnetic Beads”, publicada em 14 de agosto de 2008; e Monroe e outros, Publicação de Patente US. No. 20080283414, intitulada “Electrowetting Devices”, depositada em 17 de maio de 2007; cujas descrições inteiras são incorporadas aqui por referência, bem como as outras patentes e pedidos de patentes citados aqui.

[045] “Reservatório” significa um invólucro ou invólucro parcial configurado para manter, armazenar, ou fornecer líquido. Um sistema atuador de gotícula da invenção pode incluir reservatórios em cartucho e/ou reservatório fora de cartucho. Os reservatórios em cartucho podem ser (1) reservatórios em atuador, que são reservatórios na vão de operações de gotícula ou na superfície de operações de gotícula; (2) reservatórios fora de atuador, que são reservatórios no cartucho de atuador de gotícula, mas fora do vão de operações de gotícula, e não em contato com a superfície de operações de gotícula; ou (3) reservatórios híbridos que têm regiões em atuador e regiões fora de atuador. Um exemplo de um reservatório fora de atuador é um reservatório no substrato superior. Um reservatório fora de atuador está tipicamente em comunicação fluídica com uma abertura ou caminho de fluxo disposto para fluir líquido a partir do reservatório fora de atuador para a vão de operações de gotícula, tal como para um reservatório em atuador. Um reservatório fora de cartucho pode ser um reservatório que não é parte do cartucho de atuador de gotícula, mas que flui líquido para alguma parte do cartucho de atuador de gotícula. Por exemplo, um reservatório fora de cartucho pode ser parte de um sistema ou estação de atracação ao qual o cartucho de atuador de gotícula é acoplado durante a operação. Similarmente, um reservatório fora de cartucho pode ser um recipiente de armazenamento de reagente ou seringa que é usada para

forçar o fluido para um reservatório em cartucho ou para um vão de operações de gotícula. Um sistema usando um reservatório fora de cartucho incluirá tipicamente um dispositivo de passagem de fluido onde o líquido pode ser transferido do reservatório fora de cartucho para um reservatório em cartucho ou para um vão de operações de gotícula.

[046] Os termos “superior”, “inferior”, “sobre”, “sob”, e “em” são usados por toda a descrição com relação às posições relativas de componentes do atuador de gotícula, tal como posições relativas de substratos superior e inferior do atuador de gotícula. Estará claro que o atuador de gotícula é funcional independente de sua orientação no espaço.

[047] Quando um líquido em qualquer forma (por exemplo, uma gotícula ou um corpo contínuo, se em movimento ou estacionário) é descrito como estando “em” ou “sobre” um eletrodo, arranjo, matriz ou superfície, tal líquido poderia estar ou em contato direto com o eletrodo/arranjo/matriz/superfície, ou poderia estar em contato com uma ou mais camadas ou filmes que são interpostos entre o líquido e o eletrodo/arranjo/matriz/superfície. Em um exemplo, o fluido de enchimento pode ser considerado como um filme entre tal líquido e o eletrodo/arranjo/matriz/superfície.

[048] Quando uma gotícula é descrita como estando “em” ou “carregada em” um atuador de gotícula, dever-se-ia entender que a gotícula é disposta no atuador de gotícula de uma maneira que facilita o uso do atuador de gotícula para conduzir uma ou mais operações de gotícula na gotícula, a gotícula é disposta no atuador de gotícula de uma maneira que facilita o sensoriamento de uma propriedade ou um sinal a partir da gotícula, e/ou a gotícula foi submetida a uma operação de gotícula no atuador de gotícula.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[049] Durante operações de gotícula em um atuador de gotículas, bolhas frequentemente se formam no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula

e interrompem as operações de gotícula. Sem desejar se limitar a uma teoria particular, os inventores observaram que durante as operações de gotícula, a formação de bolhas pode ocorrer quando a gotícula perde contato com um eletrodo de aterramento ou de referência do atuador de gotícula. Ademais, a formação de bolhas parece ocorrer à medida que a gotícula começa a ganhar contato novamente com o eletrodo de aterramento ou de referência após perder o contato. As cargas elétricas que causam a formação de bolhas podem se acumular na gotícula através da camada de fluido de enchimento que é criada quando a gotícula perde contato com o eletrodo de aterramento ou de referência. À medida que a gotícula ganha contato novamente com a superfície superior após perder contato com esse fluido de enchimento, a camada afina e a carga é descarregada. Essa descarga pode ser a causa das bolhas. As Figuras 1A, 1B, 1C, 1D e 2 ilustram o problema de formação de bolhas durante uma operação de transporte de gotícula em um atuador de gotícula de umedecimento eletrônico.

[050] As Figuras 1A, 1B, 1C e 1D ilustram vistas laterais de uma parte de um atuador de gotícula 100 e um processo de operações de gotícula no qual a gotícula perde contato com o eletrodo de aterramento ou de referência do substrato superior. Neste exemplo, o atuador de gotícula 100 inclui uma superfície inferior 110 e um substrato superior 112 que são separados por um vão de operações de gotícula 114. O substrato inferior 110 inclui um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 116 (por exemplo, eletrodos de umedecimento eletrônico). Os eletrodos de operações de gotícula 116 estão no lado do substrato inferior 110 que está voltado para a abertura de operações de gotícula 114. O substrato superior 112 inclui uma camada condutora 118. A camada condutora 118 está no lado do substrato superior 112 que está voltado para a abertura de operações de gotícula 114. Em um exemplo, a camada condutora 118 é formada de óxido de estanho e índio (ITO), que é um material que é eletricamente condutor e substancialmente transparente à luz. A

camada condutora 118 fornece um plano de aterramento ou de referência com relação aos eletrodos de operações de gotícula 116, onde as tensões (tensões de umedecimento eletrônico) são aplicadas aos eletrodos de operações de gotícula 116. Outras camadas (não mostradas), tais como camadas hidrofóbicas e camadas dielétricas, podem estar presentes no substrato inferior 110 e no substrato superior 112.

[051] A abertura de operações de gotícula 114 do atuador de gotícula 100 é tipicamente preenchida com um fluido de enchimento 130. O fluido de enchimento pode, por exemplo, incluir um ou mais óleos, tal como óleo de silicone ou fluido de enchimento à base de hexadecano. Uma ou mais gotículas 132 no vão de operações de gotícula 114 podem ser transportadas via as operações de gotícula ao longo dos eletrodos de operações de gotícula 116 e através do fluido de enchimento 130.

[052] As Figuras 1A, 1B, 1C e 1D mostram uma sequência de eletrodo para transportar uma gotícula 132, por exemplo, a partir de um eletrodo de operações de gotícula 116A para um eletrodo de operações de gotícula 116B. Inicialmente e com relação à Figura 1A, o eletrodo de operações de gotícula 116A é ligado e o eletrodo de operações de gotícula 116B é desligado. Então, a gotícula 132 é mantida em cima do eletrodo de operações de gotícula 116A.

[053] Com relação agora à Figura 1B, o eletrodo de operações de gotícula 116A é desligado e o eletrodo de operações de gotícula 116B é ligado e a gotícula 132 começa a se mover do eletrodo de operações de gotícula 116A para o eletrodo de operações de gotícula 116B. A Figura 1B mostra a gotícula 132 começando a se deformar, enquanto um dedo do fluido começa a puxar do eletrodo de operações de gotícula 116A para o eletrodo de operações de gotícula 116B.

[054] Com o eletrodo de operações de gotícula 116A permanecendo desligado e o eletrodo de operações de gotícula 116B permanecendo ligado, a

Figura 1C mostra o momento no tempo no qual mais do volume de gotícula 132 é transferido do eletrodo de operações de gotícula 116A para o eletrodo de operações de gotícula 116B, enquanto o volume de fluido é espalhado através tanto do eletrodo de operações de gotícula 116A quanto do eletrodo de operações de gotícula 116B de uma maneira que faça com que a gotícula 132 perca contato com o substrato superior 112 e mais particularmente, perca contato com a camada condutora 118.

[055] Com o eletrodo de operações de gotícula 116A permanecendo ligado e o eletrodo de operações de gotícula 116B permanecendo ligado, a Figura 1D mostra o momento no tempo no qual o volume inteiro de gotícula 132 está em cima do eletrodo de operações de gotícula 116B e assim a gotícula 132 ganhou novamente contato com a camada condutora 118 do substrato superior 112.

[056] A Figura 2 ilustra uma vista lateral do atuador de gotícula 100 no momento no tempo do processo de operações de gotícula no qual a gotícula 132 se aproxima do contato novamente com o substrato superior 112 e bolhas 215 se formam.

[057] Os inventores observaram que as bolhas podem aparecer em baixa temperatura, mesmo temperatura ambiente; entretanto, a formação de bolhas é mais prevalente e problemática em temperaturas elevadas, tal como maiores do que aproximadamente 80° C, maiores do que 90° C, ou maiores do que 95° C. Os inventores observaram que as bolhas podem aparecer em baixa temperatura, mesmo temperatura ambiente; entretanto, a formação de bolhas é mais prevalente e problemática em temperaturas elevadas, tal como maiores do que aproximadamente 60% do ponto de ebulição da gotícula, ou maiores do que aproximadamente 70% do ponto de ebulição da gotícula, ou maiores do que aproximadamente 80% do ponto de ebulição da gotícula, ou maiores do que aproximadamente 90% do ponto de ebulição da gotícula, ou maiores do que aproximadamente 95% do ponto de ebulição da gotícula.

[058] A Figura 2 mostra uma zona de aquecimento opcional 210 que está associada com o atuador de gotícula 100. À medida que a gotícula, tal como a gotícula 132, é transportada através da zona de aquecimento 210, a gotícula é aquecida e bolhas se formam durante as operações de gotícula.

[059] Em uma modalidade, técnicas e projetos da invenção melhoram a confiabilidade da conexão de aterramento elétrico a gotículas em um atuador de gotícula para reduzir ou eliminar a formação de bolhas no atuador de gotícula, permitindo assim a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem a interrupção de formação de bolhas. Em uma modalidade, conduzir as múltiplas operações de gotícula compreende conduzir ao menos dez operações de gotícula sem a interrupção pela formação de bolhas no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula. Em outras modalidades, conduzir as múltiplas operações de gotícula compreende conduzir ao menos 100, ao menos 1.000, ou ao menos 100.000 operações de gotícula sem a interrupção pela formação de bolhas no fluido de enchimento no vão de operações de gotícula.

7.1. Técnicas de Aterramento de Gotícula

[060] As Figuras 3A e 3B ilustram vistas laterais de exemplos de um atuador de gotícula 300 que inclui uma região na qual a altura do vão de operações de gotícula é reduzida para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula. Com relação à Figura 3A, o atuador de gotícula 300 inclui um substrato inferior 310 e um substrato superior 312 que são separados por um vão de operações de gotícula 314. O substrato inferior 310 inclui um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 316 (por exemplo, eletrodos de umedecimento eletrônico). O substrato superior 312 inclui uma camada condutora 318, tal como uma camada ITO. A camada condutora 318 fornece um plano de aterramento ou referência com relação aos eletrodos de operações de gotícula 316, onde as tensões (por exemplo, tensões de umedecimento eletrônico)

são aplicadas aos eletrodos de operações de gotícula 316. Adicionalmente, a Figura 3A mostra uma camada dielétrica 320 em cima da camada condutora 318 do substrato superior 312. A abertura de operações de gotícula 314 do atuador de gotícula 300 é preenchida com um fluido de enchimento 330. Uma zona de aquecimento 340 está associada com o atuador de gotícula 300. À medida que uma gotícula, tal como uma gotícula 332, é transportada através da zona de aquecimento 340, a gotícula é aquecida.

[061] Neste exemplo, o atuador de gotícula 300 inclui uma região de transição de altura de abertura 345 na qual a altura do vão de operações de gotícula 314 é reduzida na zona de aquecimento 340 para ajudar a gotícula 332 a estar em contato confiável com a camada condutora 318, que é o aterramento ou referência do atuador de gotícula 300. Como a altura da abertura é reduzida na zona de aquecimento 340, a gotícula 332 é mais provável de manter contato com a camada condutora 318 por todo o processo de operações de gotícula, reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas.

[062] Na Figura 3A, que é uma implementação exemplificada, a superfície do substrato superior 312 que está voltada para a abertura de operações de gotícula 314 tem uma característica escalonada para conseguir a altura de abertura reduzida na zona de aquecimento 340. A camada condutora 318 e a camada dielétrica 320 seguem substancialmente a topografia do substrato superior 312. Na Figura 3B, que é outra implementação exemplificada, a espessura da camada dielétrica 320 é variada para conseguir a altura de abertura reduzida na zona de aquecimento 340. A espessura da camada dielétrica 320 é aumentada na zona de aquecimento 340.

[063] As Figuras 4A e 4B ilustram vistas laterais de exemplos de atuador de gotícula 300 que incluem uma região na qual a superfície do substrato superior 312 é texturizada para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com a camada

condutora 318, que é o aterramento ou referência. Por exemplo, nesta modalidade do atuador de gotícula 300, a camada dielétrica 320 é texturizada para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com a camada condutora 318. No exemplo mostrado na Figura 4A, a camada dielétrica 320 tem uma textura 410 que é uma textura de dente de serra. No exemplo mostrado na Figura 4B, a textura 410 da camada dielétrica 320 é formada por um arranjo de cristas, projeções ou protusões. Em um exemplo, substancialmente a área de superfície inteira da camada dielétrica 320 inclui a textura 410. Em outro exemplo, somente a área da camada dielétrica 320 na zona de aquecimento 340 inclui a textura 410.

[064] Em outro exemplo, agulhas ou fios (não mostrados) podem se estender a partir da superfície superior 312 para a abertura de operações de gotícula 314. Em ainda outro exemplo, a própria camada condutora 318 pode incluir cristas, projeções, ou protusões (não mostradas) que se estendem através da camada dielétrica 320 e para a abertura de operações de gotícula 314, onde as cristas, projeções ou protusões mantêm contato com a gotícula durante as operações de gotícula, reduzindo ou eliminando assim bolhas, permitindo então a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas.

[065] A texturização pode tomar qualquer forma ou configuração. A textura 410, por exemplo, pode ser uma ou mais cavidades que se estendem externamente para a abertura 314. A texturização 410 pode ser criada de forma aleatória ou uniforme para reduzir a formação de bolhas. A texturização pode ter uma altura aleatória ou extensão para a altura 314, tal que as características de texturização adjacentes (por exemplo, cavidades, cristas, ou dentes) possam ter diferentes alturas de ápice e/ou formas. Alternativamente, a texturização pode ter características uniformes, tal que todas as características sejam substancialmente similares. A texturização pode também incluir depressões, crateras, ou vales que se estendem para a superfície superior.

[066] As Figuras 5A e 5B ilustram vistas laterais do atuador de gotícula 300 que inclui um conjunto de sondas de aterramento ajustáveis para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com a camada condutora 318, que é o aterramento ou referência. Aqui, o aterramento elétrico pode ser movido ou deslizado para manter contato substancial com a gotícula. Como a Figura 5A ilustra, o atuador de gotícula 300 pode incluir uma placa 510 que inclui ainda um conjunto de sondas 512. A placa 510 e as sondas 512 são formadas de material eletricamente condutor e são eletricamente conectadas ao aterramento elétrico do atuador de gotícula 300. As sondas 512 são, por exemplo, um conjunto sondas pontuais cilíndricas ou um conjunto de placas dispostas paralelas ou aletas que se projetam a partir da placa 510. As aberturas são fornecidas no substrato superior 312 para ajustar as sondas 512 através delas de uma maneira deslizável. Como as sondas 512 são ajustadas no substrato superior 312 de uma maneira deslizante, a posição das pontas das sondas 512 pode ser ajustada com relação à abertura de operações de gotícula 314. Por exemplo, a placa 510 pode ser acionada por mola.

[067] Em operação, quando a placa 510 é empurrada em direção ou contra o substrato superior 312, as pontas das sondas 512 se estendem de forma deslizante para a abertura de operações de gotícula 314 e mantêm contato com a gotícula durante as operações de gotícula. Ao fazer isso, uma conexão de aterramento é mantida confiavelmente com a gotícula durante as operações de gotícula, reduzindo ou eliminando assim bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas. Entretanto, quando desejado, a placa 510 pode ser levantada para longe do substrato superior 312 de modo que as pontas das sondas 512 se retraem do vão de operações de gotícula 314.

[068] Em uma modalidade, a placa 510 e as sondas 512 são fornecidas nas regiões aquecidas somente o atuador de gotícula. Em outra modalidade, a placa 510

e as sondas 512 são fornecidas tanto em regiões aquecidas quanto em regiões não aquecidas do atuador de gotícula.

[069] O aterramento elétrico pode ser movido ou deslizado usando atuadores pneumáticos, hidráulicos e/ou elétricos. Qualquer um desses atuadores podem estender o aterramento elétrico para contatar a gotícula. Quando a extensão não é mais necessária, o aterramento elétrico pode ser retraído para longe da gotícula. Um controlador do atuador de gotícula pode controlar um atuador, controlando assim uma posição do aterramento elétrico.

[070] As Figuras 6A e 6B ilustram uma vista lateral e uma vista de cima, respectivamente, de um exemplo de atuador de gotícula 300 que inclui um aterramento ou referência que é coplanar aos eletrodos de operações de gotícula 316 para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula 300. Neste exemplo, na parte do atuador de gotícula 300 que está na zona de aquecimento 340, o espaçamento entre os eletrodos de operações de gotícula 316 é aumentado para permitir que o plano de aterramento ou referência 610 seja implementado no mesmo plano dos eletrodos de operações de gotícula 316 no substrato inferior 310. Por exemplo, o plano de aterramento ou referência 610 é um arranjo de traços de fiação que substancialmente circundam cada um dos eletrodos de operações de gotícula 316. O plano de aterramento ou referência 610 é eletricamente conectado ao aterramento elétrico do atuador de gotícula 300. Dessa forma, enquanto uma gotícula, tal como a gotícula 332, transita de um eletrodo de operações de gotícula 316 para o próximo, uma conexão de aterramento da gotícula ao terra é mantida, reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas.

[071] Em um exemplo, o plano de aterramento ou referência 610 é implementado de acordo com a Figura 1A do Pedido de Patente US. No.

20060194331, intitulado “Apparatuses and methods for manipulating droplets on a printed circuit board”, publicado em 31 de agosto de 2006, cuja descrição inteira é incorporada aqui por referência.

[072] Enquanto a presença do plano de aterramento ou referência 610 consome mais área de superfície do que a abordagem biplanar (isto é, camada condutora 318 somente), o plano de aterramento ou referência 610 pode ser limitado às regiões de aquecimento do atuador de gotícula. No exemplo mostrado nas Figuras 6A e 6B, o atuador de gotícula 300 inclui tanto a camada condutora 318 quanto o plano de aterramento ou referência 610 nas regiões aquecidas. Entretanto, em outro exemplo, o atuador de gotícula 300 inclui somente o plano de aterramento ou referência 610 nas regiões aquecidas e camada condutora 318 nas regiões não aquecidas. Em ainda outro exemplo, o atuador de gotícula 300 inclui o plano de aterramento ou referência 610 por todo o substrato inferior 310 e não há camada condutora 318 em qualquer parte do substrato superior 312.

[073] As Figuras 7A e 7B ilustram vistas laterais de um exemplo de atuador de gotículas 300 cuja altura de abertura de operações de gotícula é ajustável. Ou seja, a altura do vão de operações de gotícula 314 pode ser reduzida, se necessário, para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com a camada condutora 318, que é o aterramento ou referência. Em um exemplo, uma força de mola existe entre o substrato inferior 310 e o substrato superior 312. Por exemplo, múltiplas molas 710 são fornecidas no vão de operações de gotícula 314. A altura da abertura pode ser reduzida comprimindo o substrato inferior 310 e o substrato superior 312 levemente juntos. Ou seja, ao manter o substrato inferior 310 estacionário e ao aplicar força ao substrato superior 312, ao manter o substrato superior 312 estacionário e ao aplicar força ao substrato inferior 310, ou ao aplicar força a ambos simultaneamente. A força pode ser aplicada durante o aquecimento de uma gotícula, ou enquanto as gotículas estão em uma região aquecida, de modo a reduzir a altura da abertura e assegurar

que a gotícula mantenha contato com a camada condutora 318 do substrato superior 312, reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas.

[074] As Figuras 8A e 8B ilustram vistas laterais de exemplos de atuador de gotícula 300 que utilizam condutividade elétrica no fluido de enchimento para descarregar na gotícula. Em um exemplo, a Figura 8A mostra que a abertura de operações de gotícula 314 do atuador de gotícula 300 é preenchida com um fluido de enchimento 810 que é eletricamente condutor. Fornecer um fluido de enchimento eletricamente condutor permite que a gotícula descarregue mesmo quando não está em contato com o substrato superior 312. Um exemplo de fluido eletricamente condutor é um ferrofluido, tal como um ferrofluido à base de óleo de silicone. Outros exemplos de ferrofluidos são conhecidos na técnica, tal como os descritos na Patente US. No. 4.485.024, intitulada "Process for producing a ferrofluid, and a composition thereof", emitida em 27 de novembro de 1984; e Patente US. No. 4.356.098, intitulada "Stable ferrofluid compositions and method of making same", emitida em 26 de outubro de 1982; cujas descrições inteiras são incorporadas aqui por referência.

[075] Em outro exemplo, a Figura 8B mostra que a abertura de operações de gotícula 314 do atuador de gotícula 300 é preenchida com um fluido de enchimento 820 que contém partículas eletricamente condutoras. As partículas eletricamente condutoras no fluido de enchimento permitem que a gotícula descarregue mesmo quando não está em contato com o substrato superior 312. Exemplos de partículas eletricamente condutoras são conhecidos na técnica, tal como os descritos na Publicação de Patente No. 20070145585, intitulada "Conductive particles for anisotropic conductive interconnection", publicada em 8 de junho de 2007, cuja descrição inteira é incorporada aqui por referência.

[076] A Figura 9 ilustra uma vista lateral de um exemplo de atuador de

gotícula 300 que inclui um fio terra 910 no vão de operações de gotícula 314 para descarregar na gotícula. O fio terra 910 é eletricamente conectado ao aterramento elétrico do atuador de gotícula 300. O fio terra 910 é, por exemplo, formado de cobre, alumínio, prata, ou ouro. O fio terra 910 no fluido de enchimento se estende através da gotícula e permite assim que a gotícula descarregue mesmo quando não está em contato com o substrato superior 312. Em um exemplo, o fio terra 910 existe sem a presença de camada condutora 318 e então sozinho serve como o eletrodo de aterramento ou de referência do atuador de gotícula 300. Em outro exemplo, o fio terra 910 existe em combinação com a camada condutora 318 e juntos servem como o eletrodo de aterramento ou de referência do atuador de gotícula 300. Em ainda outro exemplo, o fio terra 910 existe nas regiões aquecidas somente do atuador de gotícula. Em ainda outro exemplo, o fio terra 910 existe tanto em regiões aquecidas quanto em regiões não aquecidas no atuador de gotícula.

[077] Exemplos de líquido se movendo ao longo de um fio são conhecidos na técnica, tal como os descritos na Patente US. No. 7.052.244, intitulada "Device for displacement of small liquid volumes along a micro-catenary line by electrostatic forces", emitida em 10 de maio de 2006; cuja descrição inteira é incorporada aqui por referência.

[078] A Figura 10 ilustra uma vista lateral do atuador de gotícula 300 que utiliza gotículas 2X ou maiores para ajudar as gotículas a estarem em contato confiável com a camada condutora 318, que é o aterramento ou referência. Por exemplo, antecipadamente à zona de aquecimento 340, duas ou mais gotículas 1X 332 podem ser combinadas usando operações de gotícula para formar, por exemplo, gotículas 2X ou 3X 332. As gotículas 2X ou 3X 332 são então transportadas para a zona de aquecimento 340. As operações de gotícula na zona de aquecimento 340 são então conduzidas usando as gotículas 2X ou 3X 332. Dessa forma, o contato confiável entre as gotículas 2X ou 3X 332 e a camada

condutora 318 é mantido, reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas.

[079] Em outras modalidades, a viscosidade da gotícula pode ser aumentada para ajudar a manter o contato com a camada condutora 318 do substrato superior 312. Se a viscosidade de gotícula é maior, é mais provável deslocar óleo em contato com a superfície superior 312. Ademais, o movimento da gotícula será mais lento, e a gotícula será distorcida menos durante as operações de gotícula, ajudando a manter o contato com a camada condutora 318. Em ainda outras modalidades, a viscosidade do fluido de enchimento pode ser diminuída, o que ajuda a gotícula a ficar em contato com o substrato superior 312.

7.2. Eletrodos de operações de gotícula para transporte de gotícula aprimorado

[080] A Figura 11 ilustra uma vista de cima de um exemplo de um arranjo de eletrodo 1100 que utiliza eletrodos de operações de gotícula interdigitados para suavizar o transporte de gotículas de um eletrodo interdigitado para o próximo. “Suavizar” significa executar operações de gotícula com menos deformação de gotícula do que quando eletrodos interdigitados não são fornecidos. Por exemplo, o arranjo de eletrodo 1100 inclui um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 1110. As bordas de cada um dos eletrodos de operações de gotícula 1110 incluem interdigitações 1112. Os eletrodos de operações de gotícula 1110 são projetados de modo que as interdigitações 1112 de um eletrodo de operações de gotícula 1110 sejam ajustadas juntas com as interdigitações 1112 de um eletrodo de operações de gotícula 1110, como mostrado na Figura 11. Exemplos de eletrodos de operações de gotícula interdigitados são conhecidos na técnica, tal como aqueles descritos na Figura 2 da Patente US. No. 6.565.727, intitulada “Actuators for microfluidics without moving parts”, emitida em 20 de maio de 2003, cuja descrição inteira é incorporada

aqui por referência.

[081] Os eletrodos de operações de gotícula 1110 que incluem interdigitações 1112 têm o efeito de suavizar o transporte da gotícula do eletrodo de operações de gotícula para o próximo eletrodo. Isso ocorre devido à sobreposição entre as superfícies dos eletrodos. Como um resultado, durante as operações de gotícula, a gotícula é mais provável de permanecer em contato com o eletrodo de aterramento ou de referência do substrato superior (por exemplo, camada condutora 318 do substrato superior 312), reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações sem a interrupção por formação de bolhas. No exemplo mostrado na Figura 11, as interdigitações são claramente rasas, significando que elas não se estendem para a parte base do eletrodo adjacente.

[082] As Figuras 12A, 12B, 12C e 12D ilustram vistas superiores de outros exemplos de arranjos de eletrodo que utilizam eletrodos de operações de gotícula interdigitados para suavizar o transporte de gotículas de um eletrodo interdigitado para o próximo. Nesses exemplos, as interdigitações se estendem ao menos na metade da parte base do eletrodo adjacente. Em um exemplo, um arranjo de eletrodo 1200 da Figura 12A inclui um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 1205. Estendendo-se a partir de um lado de cada eletrodo de operações de gotícula 1205 está uma interdigitação 1210. O lado de cada eletrodo de operações de gotícula 1205 que é oposto à interdigitação 1210 inclui um corte 1215. Neste exemplo, a interdigitação 1210 é um dedo de forma retangular alongada e, então, o corte 1215 é uma região de corte de forma retangular alongada. Quando disposta em uma linha, a interdigitação 1210 de um eletrodo de operações de gotícula 1205 é ajustada no corte 1215 do eletrodo de operações de gotícula adjacente 1205, como mostrado na Figura 12A.

[083] Em outro exemplo, um arranjo de eletrodo 1220 da Figura 12B inclui um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 1205. Entretanto, neste exemplo,

cada eletrodo de operações de gotícula 1205 inclui duas interdigitações 1210 e dois cortes correspondentes 1215. Novamente, quando dispostas em uma linha, as duas interdigitações 1210 de um eletrodo de operações de gotícula 1205 são ajustadas nos dois cortes 1215 do eletrodo de operações de gotícula adjacente 1205, como mostrado na Figura 12B.

[084] Em ainda outro exemplo, um arranjo de eletrodo 1240 da Figura 12C inclui um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 1245. Estendendo-se a partir de um lado de cada eletrodo de operações de gotícula 1245 está uma interdigitação 1250. O lado de cada eletrodo de operações de gotícula 1245 que é oposto à interdigitação 1250 inclui um corte 1255. Neste exemplo, a interdigitação 1250 é um dedo de forma triangular alongada e, então, o corte 1255 é uma região de corte de forma triangular alongada. Quando disposta em uma linha, a interdigitação 1250 de um eletrodo de operações de gotícula 1245 é ajustada no corte 1255 do eletrodo de operações de gotícula adjacente 1245, como mostrado na Figura 12C.

[085] Em ainda outro exemplo, um arranjo de eletrodos 1260 da Figura 12D inclui um arranjo dos eletrodos de operações de gotícula 1245. Entretanto, neste exemplo, cada eletrodo de operações de gotícula 1245 inclui duas interdigitações 1250 e dois cortes correspondentes 1255. Novamente, quando dispostas em uma linha, as duas interdigitações 1250 de um eletrodo de operações de gotícula 1245 são ajustadas nos dois cortes 1255 do eletrodo de operações de gotícula adjacente 1245, como mostrado na Figura 12D.

[086] Os eletrodos de operações de gotícula 1205 e os eletrodos de operações de gotícula 1245 não estão limitados a somente uma ou duas interdigitações e cortes e não estão limitados às formas mostradas nas Figuras 12A, 12B, 12C e 12D. Os eletrodos de operações de gotícula 1205 e os eletrodos de operações de gotícula 1245 podem incluir qualquer número e quaisquer formas de

interdigitações e cortes. Um aspecto principal dos arranjos de eletrodo mostrados nas Figuras 12A, 12B, 12C e 12D é que eles incluem interdigitações que se estendem ao menos metade da parte base do eletrodo de operações de gotícula adjacente. Por exemplo, as interdigitações se estendem ao menos 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou mais através da parte base do eletrodo de operações de gotícula adjacente. A parte base significa a parte do eletrodo que não é a própria interdigitação.

[087] As Figuras 13A e 13B ilustram vistas de cima de exemplo de arranjos de eletrodos que utilizam eletrodos de operações de gotícula triangulares para suavizar o transporte de gotículas de um eletrodo triangular para o próximo. A Figura 13A mostra um arranjo de eletrodos 1300 que inclui uma linha de eletrodos de operações de gotícula triangulares 1310. Durante as operações de gotícula, o maior benefício é alcançado quando a gotícula 332 viaja na direção que é afastada do ápice do eletrodo de operações de gotícula triangular de origem 1310 e em direção ao ápice do eletrodo de operações de gotícula triangular de destino 1310. Então, em uma região aquecida de um atuador de gotícula, o transporte de gotícula ao longo dos eletrodos de operações de gotícula triangulares 1310 pode ser em uma direção. Entretanto, fora da região aquecida, os eletrodos de operações de gotícula triangulares 1310 poderiam ser usados para transporte em qualquer direção. Alternativamente, os eletrodos de operações de gotícula triangulares 1310 podem ser fornecidos somente na região aquecida. Ademais, os eletrodos de operações de gotícula triangulares 1310 podem ser fornecidos em um ciclo, como mostrado na Figura 13B, de modo a transportar em ambas as direções.

[088] As Figuras 14A e 14B ilustram uma vista lateral e uma vista de cima para baixo, respectivamente, do atuador de gotícula 300 no qual os eletrodos de operações de gotícula 316 são personalizados para aumentar a velocidade das operações de gotícula. Cada eletrodo de operações de gotícula 316 tem um

comprimento L e uma largura W, onde o comprimento L é a dimensão do eletrodo de operações de gotícula 316 que coincide com a direção de viagem da gotícula. Tipicamente, a largura W e o comprimento L dos eletrodos de operações de gotícula são aproximadamente iguais. Entretanto, neste exemplo, o comprimento L é menor do que a largura W. Em um exemplo, o comprimento L é aproximadamente metade da largura W. Nesse arranjo de eletrodo, a distância de viagem através de cada eletrodo de operações de gotícula 316 é reduzida e assim a velocidade das operações de gotícula é aumentada. Ao aumentar a velocidade das operações de gotícula, a gotícula é mais provável de manter o contato com a camada condutora 318 por todo o processo de operações de gotícula, reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo assim a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas.

7.3. Canais de operações de gotícula

[089] Em uma modalidade, a abertura de operações de gotícula de um atuador de gotícula é delimitada com paredes laterais (por exemplo, uma parede lateral e uma parede lateral oposta) para criar um canal de operações de gotícula.

[090] A Figura 15 ilustra uma vista isométrica de um atuador de gotícula 1500 que inclui um canal de operações de gotícula, onde as paredes laterais do canal de operações de gotícula incluem arranjos de eletrodos para ajudar a gotícula a estar em contato confiável com o aterramento ou referência do atuador de gotícula. O atuador de gotícula 1500 inclui um substrato inferior 1510 e um substrato superior 1512 que são separados por uma abertura 1514.

[091] Com relação agora à Figura 16, que é uma vista isométrica do substrato inferior 1510 somente, o substrato inferior 1510 ainda inclui um primeiro trilho 1520 e um segundo trilho 1522. O primeiro trilho 1520 e o segundo trilho 1522 são estruturas tridimensionais (3D) alongadas que são dispostas em paralelo entre si. Há um espaço s entre o primeiro trilho 1520 e o segundo trilho 1522. O primeiro

trilho 1520 e o segundo trilho 1522 têm uma altura h . O espaço s entre o primeiro trilho 1520 e o segundo trilho 1522 forma um canal de operações de gotícula 1524. Mais particularmente, o lado do primeiro trilho 1520 que está voltado para o canal de operações de gotícula 1524 e o lado do segundo trilho 1522 que está voltado para o canal de operações de gotícula 1524 fornecem superfícies de operações de gotícula. Consequentemente, um arranjo de eletrodos de operações de gotícula 1530 é fornecido na superfície do primeiro trilho 1520 que está voltado para o canal de operações de gotícula 1524. Similarmente, um arranjo de eletrodos de aterramento e de referência 1532 é fornecido na superfície do segundo trilho 1522 que está voltado para o canal de operações de gotícula 1524. Como um resultado, as operações de gotícula podem ser conduzidas ao longo do canal de operações de gotícula 1524 usando os eletrodos de operações de gotícula 1530 e os eletrodos de aterramento ou de referência 1532. O espaço s e a altura h do canal de operações de gotícula 1524 são configurados tal que uma gotícula (por exemplo, gotícula 332) de um certo volume possa ser manipulada ao longo do canal de operações de gotícula 1524.

[092] Com relação agora à Figura 17, que é uma vista transversal de uma parte do atuador de gotícula 1500 tomada ao longo da linha A-A da Figura 15, há uma abertura entre o substrato superior 1512 e as superfícies mais superiores do primeiro trilho 1520 e do segundo trilho 1522 que permite que o volume total entre o substrato inferior 1510 e o substrato superior 1512 seja preenchido com o fluido de enchimento 330.

[093] Em operação e com relação às Figuras 15, 16, e 17, como as operações de gotícula são conduzidas entre os eletrodos de operações de gotícula 1530 e os eletrodos de aterramento ou de referência 1532, que são dispostos nas paredes laterais do primeiro trilho 1520 e do segundo trilho 1522, respectivamente, a gravidade não entra em cena (como mostrado na Figura 2) para fazer com que a gotícula 332 perca contato com o aterramento durante qualquer fase das operações

de gotícula. Dessa forma, o contato confiável entre a gotícula 332 e, por exemplo, os eletrodos de aterramento ou de referência 1532 é mantido, reduzindo ou eliminando assim as bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem a interrupção por formação de bolhas.

[094] O atuador de gotícula 1500 e mais particularmente o canal de operações de gotícula 1524 não estão limitados aos arranjos de eletrodos mostrados nas Figuras 15, 16 e 17. Outros arranjos de eletrodos podem ser usados no canal de operações de gotícula 1524, exemplos dos quais são descritos abaixo com relação às Figuras 18 a 22B.

[095] Em um exemplo, como as Figuras 15, 16 e 17 mostram eletrodos de operações de gotícula 1530 do primeiro trilho 1520 e eletrodos de aterramento ou de referência 1532 do segundo trilho 1522 alinhados substancialmente opostos entre si, a Figura 18 ilustra uma vista de cima para baixo de uma parte do substrato inferior 1510 no qual os eletrodos de operações de gotícula 1530 e os eletrodos de aterramento ou de referência 1532 são escalonados ou deslocados entre si.

[096] Em outro exemplo, a Figura 19 ilustra uma vista de cima para baixo de uma parte do substrato inferior 1510 no qual a linha de múltiplos eletrodos de operações de gotícula 1532 é substituída com um eletrodo de aterramento ou de referência contínuo 1532.

[097] Em ainda outro exemplo, a Figura 20 ilustra uma vista de cima para baixo de uma parte do substrato inferior 1510 no qual os eletrodos de operações de gotícula 1530 e os eletrodos de aterramento ou de referência 1532 são alternados ao longo tanto do primeiro trilho 1520 quanto do segundo trilho 1522. Adicionalmente, neste arranjo, cada eletrodo de operações de gotícula 1530 em uma parede lateral é oposto a um eletrodo de aterramento ou de referência 1532 na parede lateral oposta.

[098] Em ainda outro exemplo, a Figura 21 ilustra uma vista de cima para

baixo de uma parte do substrato inferior 1510 no qual os eletrodos de aterramento ou de referência 1532 (ou um eletrodo de aterramento ou de referência contínuo 1532) são fornecidos ao longo tanto do primeiro trilho 1520 quanto do segundo trilho 1522, e os eletrodos de operações de gotícula 1530 são fornecidos no piso do canal de operações de gotícula 1524. Mais detalhes dessa configuração são mostrados com relação às Figuras 22A e 22B. Ou seja, a Figura 22A ilustra uma vista isométrica do substrato inferior 1510 mostrado na Figura 21 e a Figura 22B ilustra uma vista transversal de uma parte do substrato inferior 1510 tomada ao longo da linha A-A da Figura 22A. Novamente, as Figuras 22A e 22B mostram eletrodos de operações de gotícula 1530 dispostos no piso do canal de operações de gotícula 1524 ao invés de nas paredes laterais do canal de operações de gotícula 1524.

[099] Com relação agora às Figuras 15 a 22B, em uma modalidade, um ou mais canais de operações de gotícula 1524 são fornecidos em regiões aquecidas somente de um atuador de gotículas e usados para manter o contato confiável de gotículas com o aterramento, reduzindo ou eliminando assim bolhas, permitindo então a conclusão de múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas. Em outra modalidade, um ou mais canais de operações de gotícula 1524 são fornecidos tanto em regiões aquecidas quanto em regiões não aquecidas de um atuador de gotícula.

7.4. Cones de Taylor e Formação de Bolhas

[0100] Em um líquido, assume-se amplamente que quando o potencial crítico ϕ_0^* foi alcançado e qualquer aumento adicional destrói o equilíbrio, o corpo líquido adquire uma forma cônica chamada de cone de Taylor. Por exemplo, quando o pequeno volume de líquido é exposto a um campo elétrico, a forma do líquido começa a deformar a partir da forma causada pela tensão na superfície somente. À medida que a tensão é aumentada, o efeito do campo elétrico se torna mais proeminente e se aproxima de exercer uma quantidade similar de força na gotícula

como faz a tensão na superfície, uma forma de cone começa a se formar com os lados convexos e uma ponta arredondada. Um exemplo de cones de Taylor se formando em um atuador de gotículas é descrito abaixo na Figura 23.

[0101] A Figura 23 ilustra uma vista lateral do atuador de gotícula 300 no momento no tempo do processo de operações de gotícula no qual a gotícula 332 perde contato com o substrato superior 312 e cones de Taylor são formados. Por exemplo, um Detalhe A da Figura 23 mostra um ou mais cones de Taylor 2310 formados entre a gotícula 332 e o substrato superior 312 do atuador de gotícula 300.

[0102] Como previamente descrito, observou-se que a formação de bolhas pode ocorrer quando a gotícula perde contato com o substrato superior. Mais particularmente, a formação de bolhas parece ocorrer à medida que a gotícula começa a ganhar contato novamente com o substrato superior após perder contato. Esse contato é feito através de um cone de Taylor ou “jato de cone” que é um dedo fino de líquido extraído da interface de gotícula por causa do alto campo elétrico que está presente entre a gotícula e o substrato superior. Como um cone de Taylor é muito pequeno e localizado, as cargas que vão através do cone de Taylor são também muito localizadas e o filme de fluido de enchimento entre a gotícula e o substrato pode se tornar muito fino, resultando em divisão do fluido de enchimento ou efeito de joule e então se formam bolhas, particularmente em temperaturas elevadas.

[0103] De modo a reduzir ou eliminar a formação de bolhas devido aos cones de Taylor, certas soluções podem ser implementadas. Em um exemplo, se o contato da gotícula com o eletrodo de aterramento é novamente feito em uma grande área, isto é, maior do que a área coberta por um cone de Taylor (por exemplo, aproximadamente 10 μm), nenhuma bolha se formará. Em outro exemplo, a forma, a frequência, e/ou a magnitude do sinal elétrico podem ser controladas de uma maneira que não resulte em cones de Taylor sendo formados e assim nenhuma

bolha sendo formada. Por exemplo, a frequência precisa ser ao menos a frequência de cone, tal como ao menos aproximadamente 10 kHz.

7.5. Sistemas

[0104] A Figura 24 ilustra um diagrama de bloco funcional de um exemplo de um sistema microfluídico 2400 que inclui um atuador de gotícula 2405. A tecnologia microfluídica digital conduz operações de gotícula em gotículas discretas em um atuador de gotícula, tal como o atuador de gotícula 2405, por controle elétrico de sua tensão de superfície (umedecimento elétrico). As gotículas podem ser colocadas entre dois substratos do atuador de gotícula 2405, um substrato inferior e um substrato superior separados por um vão de operações de gotícula. O substrato inferior pode incluir um arranjo de eletrodos eletricamente endereçáveis. O substrato superior pode incluir um plano de eletrodo de referência feito, por exemplo, de tinta condutiva ou óxido de índio e estanho (ITO). O substrato inferior e o substrato superior podem ser revestidos com um material hidrofóbico. As operações de gotícula são conduzidas no vão de operações de gotícula. O espaço em torno das gotículas (isto é, a abertura entre os substratos inferior e superior) pode ser preenchido com um fluido inerte imiscível, tal como óleo de silicone, para impedir a evaporação das gotículas e para facilitar seu transporte dentro do dispositivo. Outras operações de gotícula podem ser efetuadas variando-se os padrões de ativação de tensão; exemplos incluem combinação, divisão, misturação, e dispensação das gotículas.

[0105] O atuador de gotícula 2405 pode ser projetado para encaixar em um deque de instrumento (não mostrado) do sistema microfluídico 2400. O deque de instrumento pode manter o atuador de gotícula 2405 e alojar outras características de atuador de gotícula, tal como, mas não limitadas a um ou mais ímãs e um ou mais dispositivos de aquecimento. Por exemplo, o deque de instrumento pode alojar um ou mais ímãs 2410, que podem ser ímãs permanentes. Opcionalmente, o deque

de instrumento pode alojar um ou mais eletroímãs 2415. Os ímãs 2410 e/ou os eletroímãs 2415 são posicionados em relação ao atuador de gotícula 2405 para imobilização de esferas magneticamente responsivas. Opcionalmente, as posições dos ímãs 2410 e/ou dos eletroímãs 2415 podem ser controladas por um motor 2420. Adicionalmente, o deque de instrumento pode alojar um ou mais dispositivos de aquecimento 2425 para controlar a temperatura dentro, por exemplo, de certas zonas de reação e/ou lavagem do atuador de gotícula 2405. Em um exemplo, os dispositivos de aquecimento 2425 podem ser barras de aquecimento que são posicionadas em relação ao atuador de gotícula 2405 para fornecer controle térmico desse.

[0106] Um controlador 2430 do sistema microfluídico 2400 é eletricamente acoplado a vários componentes de hardware da invenção, tal como o atuador de gotícula 2405, eletroímãs 2415, motor 2420, e dispositivos de aquecimento 2425, bem como um detector 2435, um sistema de sensoriamento de impedância 2440, e quaisquer outros dispositivos de entrada e/ou saída (não mostrados). O controlador 2430 controla a operação geral do sistema microfluídico 2400. O controlador 2430 pode, por exemplo, ser um computador de propósito geral, computador de propósito especial, computador pessoal, ou outro aparelho de processamento de dados programável. O controlador 2430 serve para fornecer capacidades de processamento, tal como armazenamento, interpretação, e/ou execução de instruções de software, bem como controle da operação geral do sistema. O controlador 2430 pode ser configurado e programado para controlar dados e/ou aspectos de energia desses dispositivos. Por exemplo, em um aspecto, com relação ao atuador de gotícula 2405, o controlador 2430 controla a manipulação de gotícula ativando/desativando os eletrodos.

[0107] O detector 2435 pode ser um sistema de imagiologia que é posicionado em relação ao atuador de gotícula 2405. Em um exemplo, o sistema de

imagiologia pode incluir um ou mais diodos de emissão de luz (LEDs) (isto é, uma fonte de iluminação) e um dispositivo de captura de imagem digital, tal como uma câmera de dispositivo de carga acoplada (CCD).

[0108] O sistema de sensoriamento de impedância 2440 pode ser qualquer circuito para detectar a impedância em um eletrodo específico do atuador de gotícula 2405. Em um exemplo, o sistema de sensoriamento de impedância 2440 pode ser um espectômetro de impedância. O sistema de sensoriamento de impedância 2440 pode ser usado para monitorar a carga capacitiva de qualquer eletrodo, tal como qualquer eletrodo de operações de gotícula, com ou sobre uma gotícula nele. Para exemplos de técnicas de detecção de capacitância, ver Sturmer e outros, Publicação de Patente Internacional No. WO/2008/101194, intitulada "Capacitance Detection in a Droplet Actuator", publicada em 21 de agosto de 2008; e Kale e outros, Publicação de Patente Internacional No. WO/2002/080822, intitulada "System and Method for Dispensing Liquids", publicada em 17 de outubro de 2002; cujas descrições inteiras são incorporadas aqui por referência.

[0109] O atuador de gotícula 2405 pode incluir o dispositivo de rompimento 2445. O dispositivo de rompimento 2445 pode incluir qualquer dispositivo que promove o rompimento (lise) de materiais, tal como tecidos, células e esporos em um atuador de gotícula. O dispositivo de rompimento 2445 pode, por exemplo, ser um mecanismo de sonicação, um mecanismo de aquecimento, um mecanismo de cisalhamento mecânico, um mecanismo de batimento de esferas, características físicas incorporadas no atuador de gotículas 2405, um mecanismo de geração de campo elétrico, um mecanismo de ciclagem térmica, e qualquer combinação desses. O dispositivo de rompimento 2445 pode ser controlado pelo controlador 2430.

[0110] Está claro que vários aspectos da invenção podem ser incorporados como um método, sistema, meio legível por computador, e/ou produto de programa de computador.

[0111] Aspectos da invenção podem tomar a forma de modalidades de hardware, modalidades de software (incluindo suporte lógico inalterável, software residente, microcódigo, etc.), ou modalidades combinando aspectos de software e hardware que podem geralmente ser chamados aqui de um “circuito”, “módulo” ou “sistema”. Ademais, os métodos da invenção podem tomar a forma de um produto de programa de computador em um meio de armazenamento utilizável por computador tendo código de programa utilizável por computador incorporado no meio.

[0112] Qualquer meio utilizável por computador pode ser utilizado para aspectos de software da invenção. O meio legível por computador ou utilizável por computador pode ser, por exemplo, mas não limitado a, sistema, aparelho, dispositivo ou meio de propagação eletrônico, magnético, óptico, eletromagnético, infravermelho ou semicondutor. O meio legível por computador pode incluir modalidades transitórias e/ou não transitórias. Exemplos mais específicos (uma lista não completa) do meio legível por computador incluiriam alguns ou todos os seguintes: uma conexão elétrica tendo um ou mais fios, um disquete de computador portátil, um disco rígido, uma memória de acesso aleatório (RAM), uma memória somente de leitura (ROM), uma memória somente de leitura programável apagável (EPROM ou memória flash), uma fibra óptica, uma memória somente de leitura de disco compacto portátil (CD-ROM), um dispositivo de armazenamento óptico, um meio de transmissão tal como aqueles que suportam Internet e intranet, ou um dispositivo de armazenamento magnético. Nota-se que o meio legível por computador ou utilizável por computador poderia até ser papel ou outro meio adequado mediante o qual o programa é impresso, à medida que o programa pode ser eletronicamente capturado, via, por exemplo, digitalização óptica do papel ou outro meio, então compilado, interpretado, ou de outra forma, processado de uma maneira adequada, se necessário, e então armazenado em uma memória de

computador. No contexto deste documento, um meio legível por computador ou utilizável por computador pode ser qualquer meio que pode conter, armazenar, comunicar, propagar, ou transportar o programa para uso por ou em conjunto com o sistema, aparelho ou dispositivo de execução de instrução.

[0113] O código de programa para executar as operações da invenção pode ser escrito em uma linguagem de programação orientada a objeto tal como Java, Smalltalk, C++ ou similares. Entretanto, o código de programa para executar as operações da invenção pode ser também escrito em linguagens de programação procedimental convencionais, tal como linguagem de programação “C” ou linguagens de programação similares. O código de programa pode ser executado por um processador, circuito integrado de aplicação específica (ASIC), ou outro componente que executa o código de programa. O código de programa pode ser simplesmente chamado de um aplicativo de software que é armazenado em memória (tal como o meio legível por computador discutido acima). O código de programa pode fazer com que o processador (ou qualquer dispositivo controlador por processador) produza uma interface gráfica de usuário (“GUI”). A interface gráfica de usuário pode ser visualmente produzida em um dispositivo de tela, ainda a interface gráfica de usuário pode também ter características audíveis. O código de programa, entretanto, pode operar em qualquer dispositivo controlador por processador, tal como um computador, servidor, assistente pessoal digital, telefone, televisão, ou qualquer dispositivo controlador por processador utilizando o processador e/ou o processador de sinal digital.

[0114] O código de programa pode executar local e/ou remotamente. O código de programa, por exemplo, pode ser inteira ou parcialmente armazenado em memória local do dispositivo controlador por processador. O código de programa, entretanto, pode também ser ao menos parcialmente remotamente armazenado, acessado, e transferido para o dispositivo controlador por processador. Um

computador do usuário, por exemplo, pode executar inteiramente o código de programa ou somente executar parcialmente o código de programa. O código de programa pode ser um pacote de software autônomo que está ao menos parcialmente no computador do usuário e/ou é parcialmente executado em um computador remoto ou inteiramente em um computador ou servidor remoto. No último caso, o computador remoto pode ser conectado ao computador do usuário através de uma rede de comunicações.

[0115] A invenção pode ser aplicada independente do ambiente de rede. A rede de comunicação pode ser uma rede a cabo operando no domínio de radiofrequência e/ou no domínio de Protocolo de Internet (IP). A rede de comunicações, entretanto, pode também incluir uma rede de computação distribuída, tal como a Internet (às vezes alternativamente conhecida como “Rede Mundial”), uma intranet, uma rede de área local (LAN), e/ou uma rede de área ampla (WAN). A rede de comunicações pode incluir cabos coaxiais, fios de cobre, linhas de fibra óptica, e/ou linhas coaxiais híbridas. A rede de comunicações pode até incluir partes sem fio utilizando qualquer parte do espectro eletromagnético e qualquer padrão de sinalização (tal como a família de padrões IEEE 802, GSM/CDMA/TDMA ou qualquer padrão celular, e/ou a banda ISM). A rede de comunicações pode até incluir partes de linha de energia, nas quais os sinais são comunicados via fiação elétrica. A invenção pode ser aplicada a qualquer rede de comunicações sem fio/por fio, independente dos componentes físicos, configuração física, ou padrão(ões) de comunicações.

[0116] Certos aspectos da invenção são descritos com relação a vários métodos e etapas de método. Entende-se que cada etapa de método pode ser implementada pelo código de programa e/ou por instruções de máquina. O código de programa e/ou as instruções de máquina podem criar meios para implementar as funções/ações especificadas nos métodos.

[0117] O código de programa pode também ser armazenado em uma memória legível por computador que pode direcionar o processador, computador, ou outro aparelho de processamento de dados programável a funcionar de uma maneira particular, tal que o código de programa armazenado na memória legível por computador produza ou transforme um artigo de fabricação incluindo meios de instrução que implementam vários aspectos das etapas de método.

[0118] O código de programa pode também ser carregado em um computador ou outro aparelho de processamento de dados programável para fazer com que uma série de etapas operacionais sejam executadas para produzir um processo implementado por processador/computador tal que o código de programa forneça etapas para implementar várias funções/ações especificadas nos métodos da invenção.

Notas de conclusão

[0119] A descrição detalhada anterior das modalidades refere-se aos desenhos em anexo, que ilustram modalidades específicas da invenção. Outras modalidades tendo diferentes estruturas e operações não abandonam o escopo da presente invenção. O termo “a invenção” ou similar é usado com relação a certos exemplos específicos dos muitos aspectos alternativos ou modalidades da invenção apresentada nesta especificação, e nem seu uso nem sua ausência é destinado a limitar o escopo da invenção do requerente ou das reivindicações. Esta especificação é dividida em seções para conveniência do leitor somente. Os títulos não deveriam ser interpretados como limitantes do escopo da invenção. As definições são destinadas como uma parte da descrição da invenção. Entende-se que vários detalhes da presente invenção podem ser mudados sem abandonar o escopo da presente invenção. Ademais, a descrição anterior é para o propósito de ilustração somente, e não para o propósito de limitação.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para realizar operações de gotícula numa gotícula (332) em um atuador de gotículas (300), compreendendo:

(a) proporcionar um atuador de gotículas (300) compreendendo um substrato superior (312, 1512) e um substrato inferior (310, 1510) separados para formar um vão de operações de gotícula (314, 1514), em que o atuador de gotícula (300) compreende ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula (316, 1530) arranjados para conduzir as operações de gotícula na mesma;

(b) encher o vão de operações de gotícula (314, 1514) do atuador de gotículas (300) com um fluido de enchimento (330);

(c) proporcionar uma gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314, 1514); e

(d) realizar várias operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314, 1514), em que a gotícula (332) é transportada através do fluido de enchimento (330) no vão de operações de gotícula (314, 1514);

CARACTERIZADO por:

(e) ajustar uma altura do vão de operações de gotícula para impedir perda de contato entre a gotícula (332) e um aterramento elétrico (318, 610, 1532) durante a realização das várias operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314, 1514);

em que impedir perda de contato entre a gotícula (332) e o aterramento elétrico (318, 610, 1532) permite a conclusão das múltiplas operações de gotícula sem interrupção por formação de bolhas no fluido de enchimento (330) no vão de operações de gotícula (314, 1514).

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender ainda o aquecimento da gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314, 1514), preferencialmente até um dente: pelo menos sessenta por

cento do ponto de ebulição da gotícula (332) em graus Celsius, uma temperatura mínima de setenta e cinco graus Celsius, e dentro de vinte graus Celsius do ponto de ebulição da gotícula (332).

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por o substrato superior (312) do atuador de gotícula (300) ser aterrado no aterramento elétrico (318) e em que perda de contato é impedida entre a gotícula (332) e o substrato superior (312) durante a realização das múltiplas operações gotículas sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314).

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender a superfície do substrato superior (312) ser texturizada, pelo que perda de contato é impedida entre a gotícula (332) e o aterramento elétrico (318) durante a realização das múltiplas operações gotículas sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314).

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que ajustar a altura do vão de operações de gotícula (314) compreende:

- i) reduzir a altura do vão de operações de gotícula (314); ou
- ii) ajustar a altura do vão de operações de gotícula (314) com uma mola; ou
- iii) mover o aterramento elétrico (318) na direção da gotícula (332);

de modo que perda de contato entre a gotícula (332) e o aterramento elétrico (318) é impedido durante a realização das múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314).

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que os eletrodos de operações de gotícula (316) são arranjados em um ou ambos dentre o substrato inferior e/ou o substrato superior (310, 312).

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender ainda:

- (i) aquecer a gotícula (332) em uma zona do vão de operações de gotícula

(314, 1514); e em que

(ii) o aterramento elétrico (610, 1532) é arranjado de modo coplanar aos eletrodos de operações de gotícula (316, 1530) na zona de modo que perda de contato entre a gotícula (332) e o aterramento elétrico (610, 1532) é impedido durante a realização das múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314, 1514).

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o fluido de enchimento (330) é um fluido de enchimento eletricamente condutor.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender ainda a fusão da gotícula (332) com uma outra gotícula (332) para impedir perda de contato com o aterramento elétrico (318) durante a realização das múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314).

10. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender ainda proporcionar os eletrodos de operações de gotícula (316) em uma dentre um arranjo de sobreposição, um arranjo interdigitado, e um arranjo triangular para impedir perda de contato com o aterramento elétrico (318) durante a realização das múltiplas operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (314) usando os eletrodos de operações de gotícula (316).

11. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender ainda.

(i) ligar o vão de operações de gotícula (1514) com uma parede lateral (1522) e uma parede lateral oposta (1522) para criar um canal de operações de gotícula (1524);

(ii) dispor os eletrodos de operações de gotícula (1530) na parede lateral (1522);

(iii) dispor um ou mais eletrodos de aterramento (1532) ao longo da parede

lateral oposta (1522) ou ao longo do substrato inferior (1510); e

(iv) conectar o um ou mais eletrodos de aterramento (1532) ao aterramento elétrico,

em que o contato com o aterramento elétrico (1532) durante a realização das várias operações de gotícula sobre a gotícula (332) no vão de operações de gotícula (1514) não é afetado pela gravidade.

12. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a parede lateral (1520) compreende um primeiro trilho e a parede lateral oposta (1522) compreende um segundo trilho, em que o primeiro trilho e o segundo trilho são estruturas alongadas tridimensionais (3D) que estão dispostas em paralelo uma com a outra.

13. Método, de acordo com a reivindicação 11, **CARACTERIZADO** por o um ou mais eletrodos de aterramento (1532) serem dispostos:

i) ao longo da parede lateral oposta (1522) e compreendem ainda deslocar as posições dos eletrodos de operações das gotículas (1530) e a posição do um ou mais eletrodos de aterramento (1532); ou

ii) ao longo da parede lateral oposta (1522) e em que o um ou mais eletrodos de aterramento (1532) são uma tira contínua; ou

iii) ao longo da parede lateral oposta (1522) e compreendem ainda dispor opostamente cada eletrodo de operações de gotícula (1530) a cada um ou mais eletrodos de aterramento (1532).

14. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda:

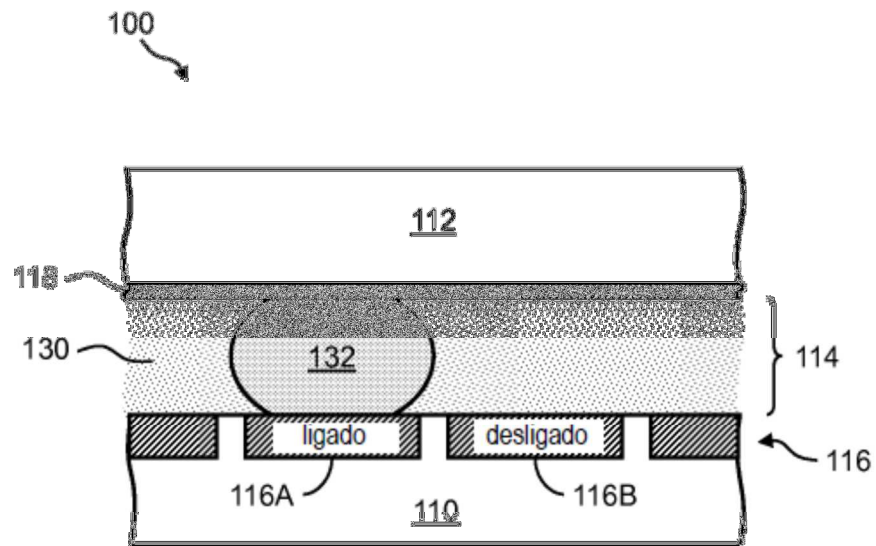
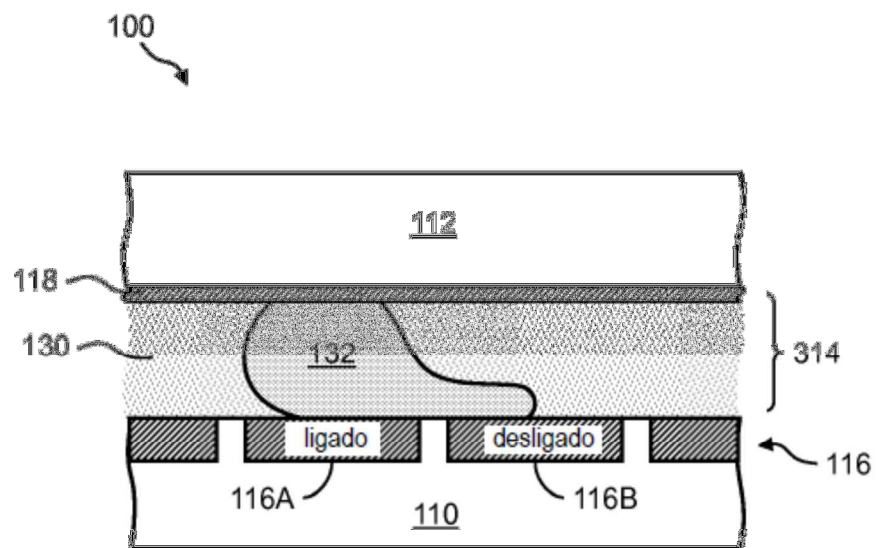
(i) aplicar uma tensão para transportar a gotícula (332) a partir de um eletrodo inativado (316, 1530) para um eletrodo ativado (316, 1530); e

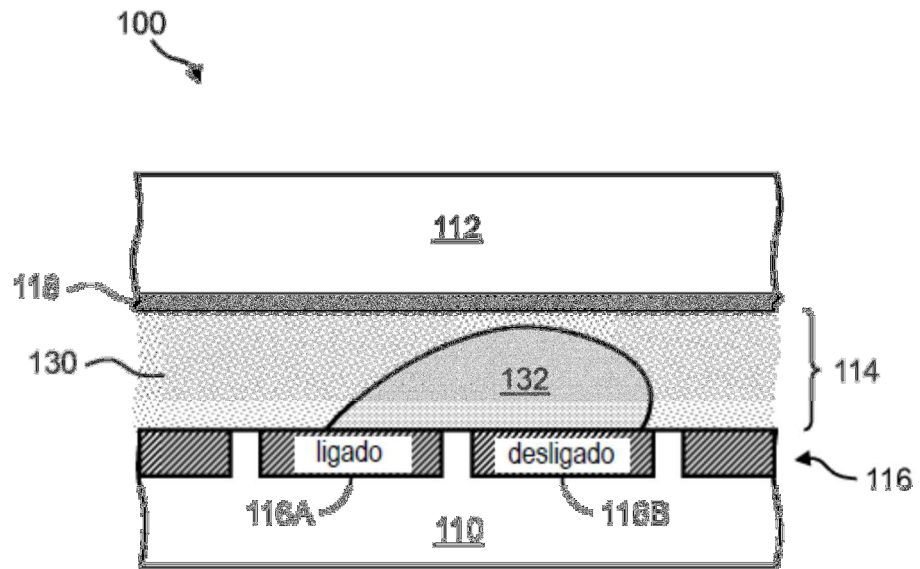
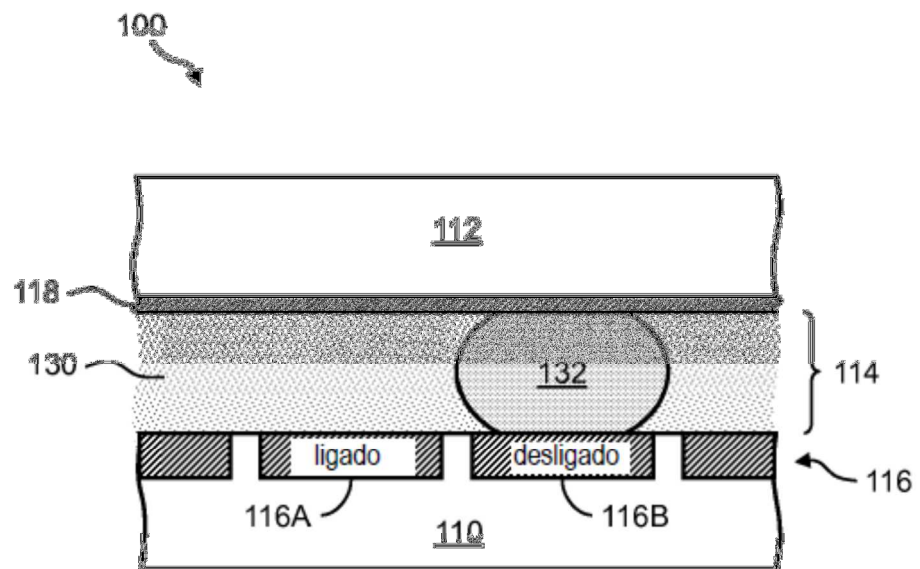
(ii) reduzir cargas elétricas no vão de operações de gotícula (314, 1514) ou reduzir descarga de cargas elétricas impedindo perda de contato entre a gotícula

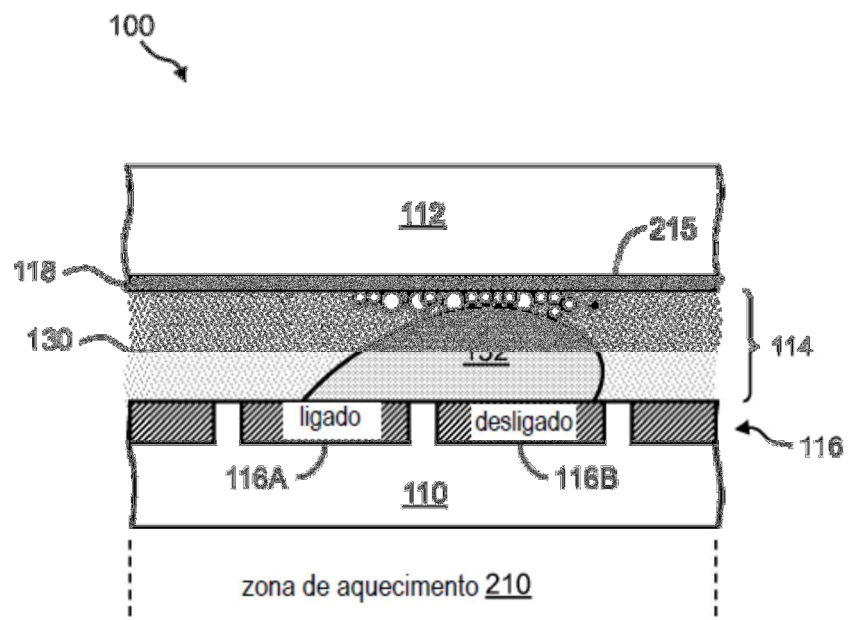
(332) e o aterramento elétrico conforme a gotícula (332) é transportada para o eletrodo ativado (316, 1530);

em que a formação de bolhas no fluido de enchimento (330) no vão de operações de gotícula (314, 1514) é reduzida ou eliminada.

15. Sistema para realizar operações de gotícula em uma gotícula (332) em um atuador de gotículas (300), **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um processador para executar um código e uma memória em comunicação com o processador, em que o atuador de gotículas compreende um substrato superior (312, 1512) e um substrato inferior (310, 1510) separados para formar um vão de operações de gotícula (314, 1514), e em que o atuador de gotículas compreende ainda um arranjo de eletrodos de operações de gotícula (316, 1530) disposto para realizar operações de gotícula no mesmo, o sistema compreendendo código armazenado na memória que faz com que o processador pelo menos realize o método tal como definido em qualquer uma das reivindicações precedentes.

**Figure 1A****Figure 1B**

**Figure 1C****Figure 1D**

**Figure 2**

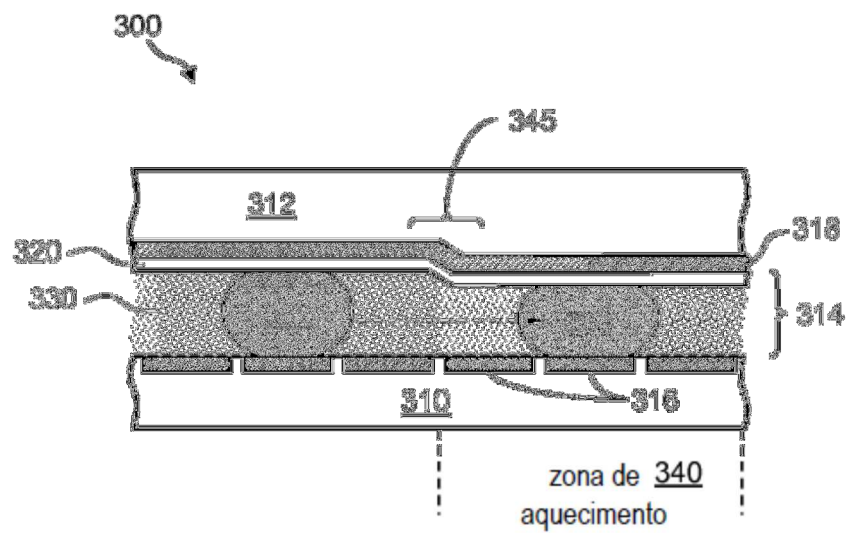


Figure 3A-

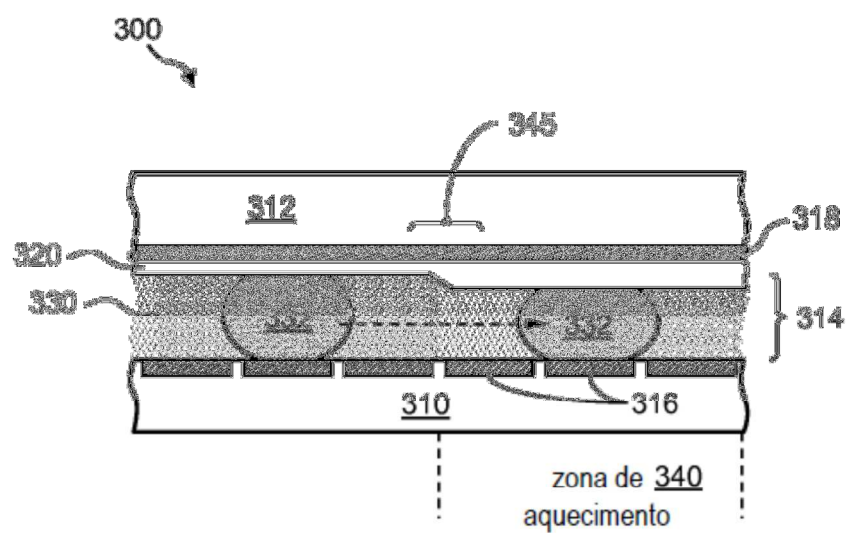
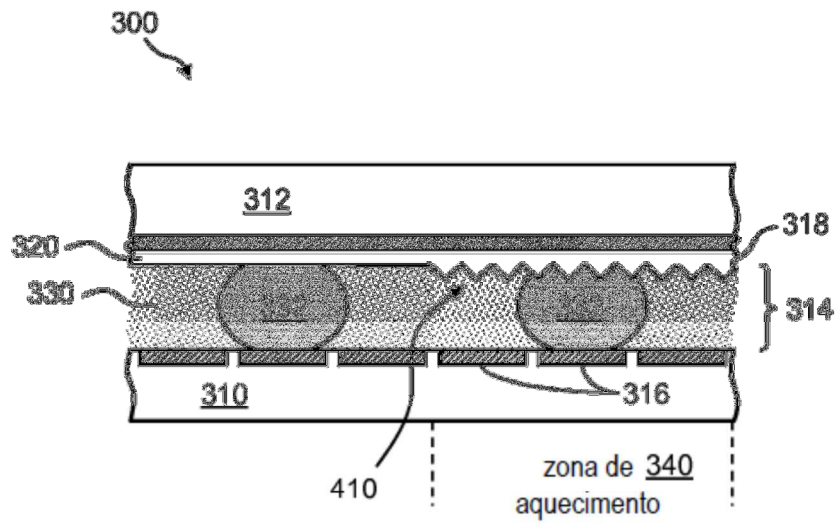
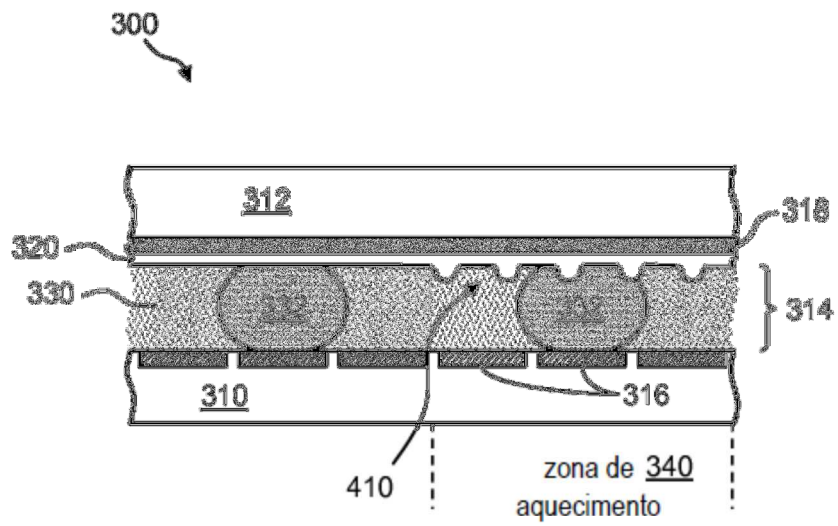


Figure 3B

**Figure 4A****Figure 4B**

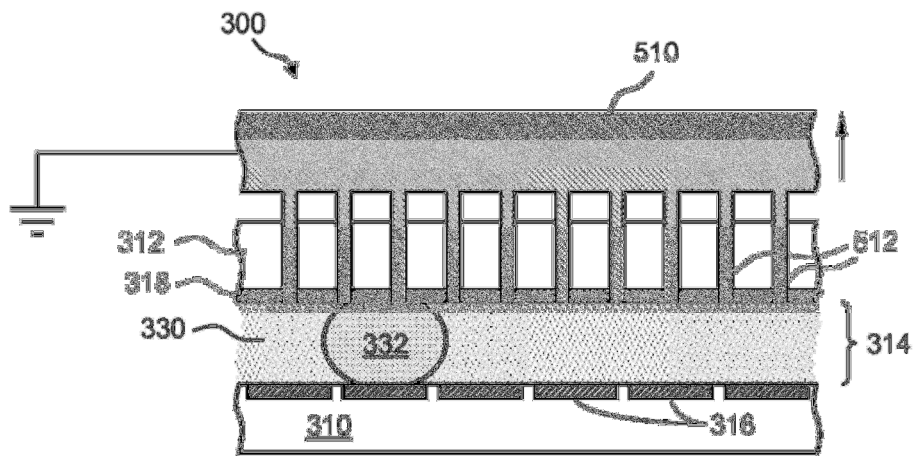


Figure 5A

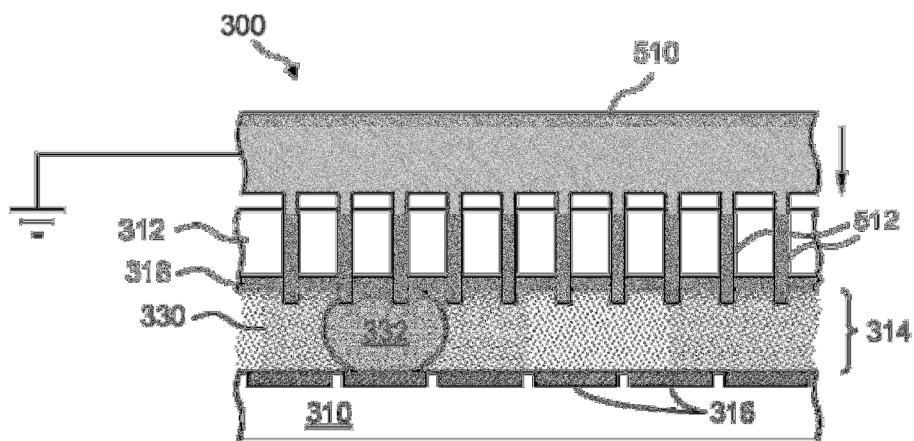
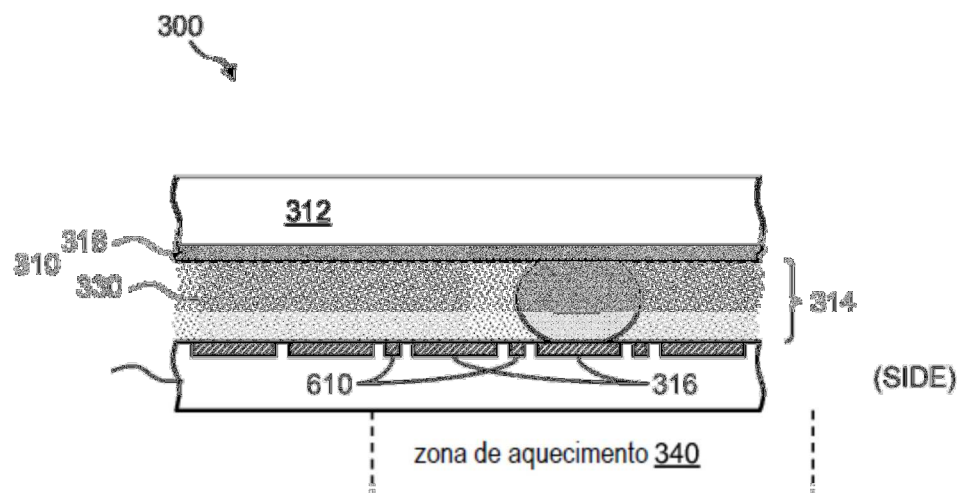
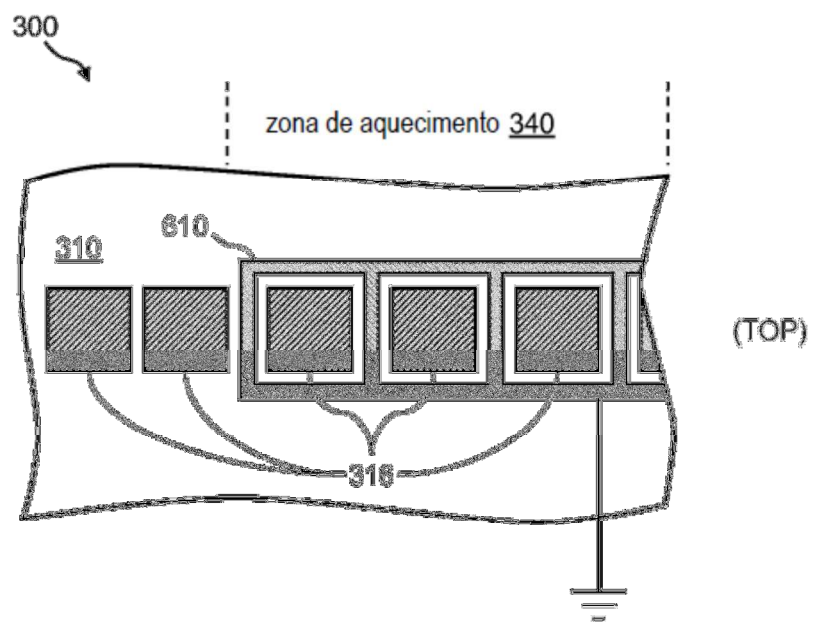
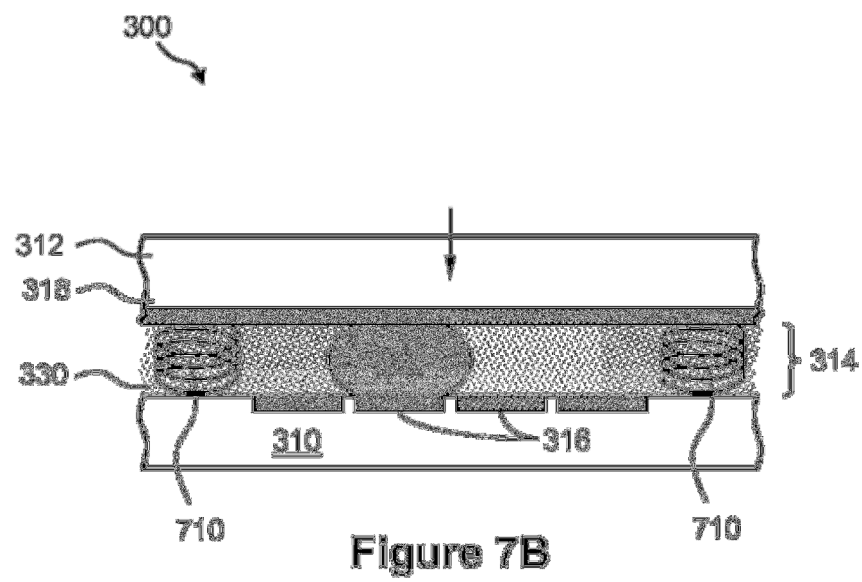
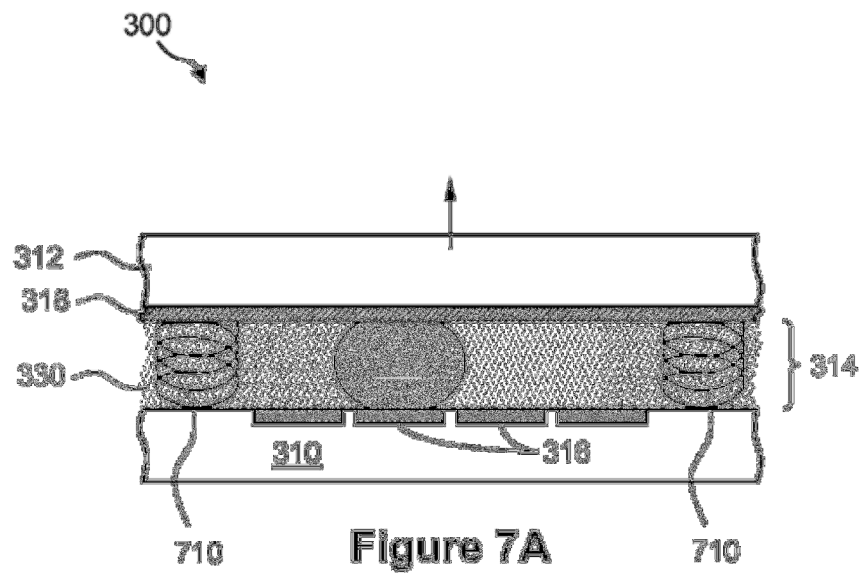


Figure 5B

**Figure 6A****Figure 6B**



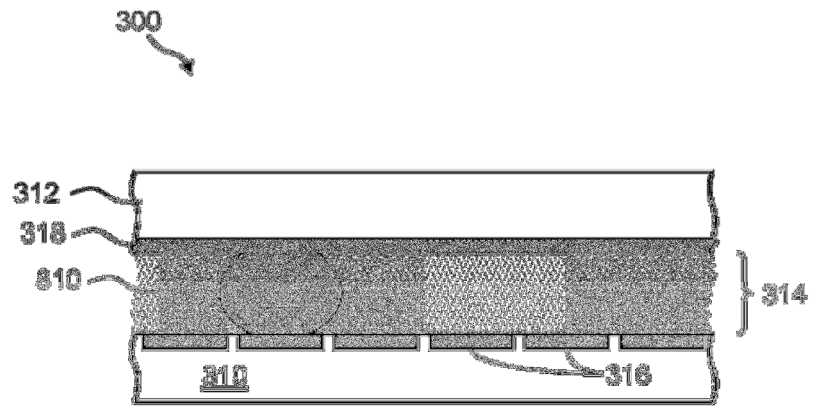


Figure 8A

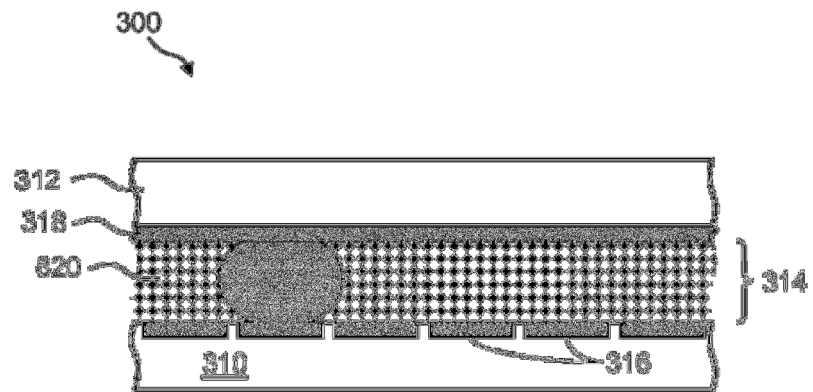
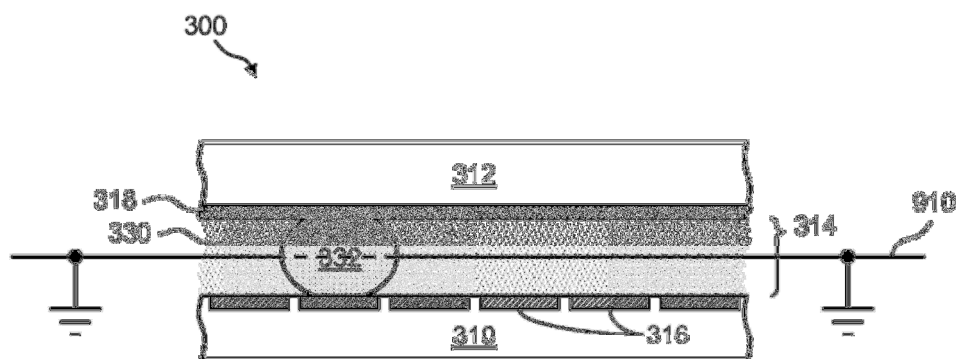
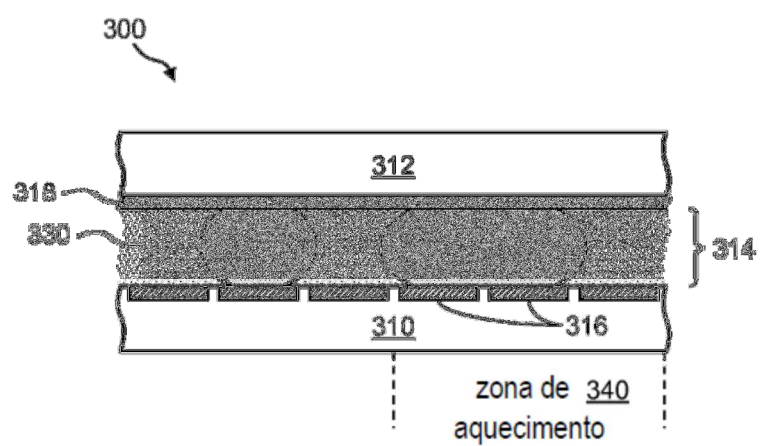
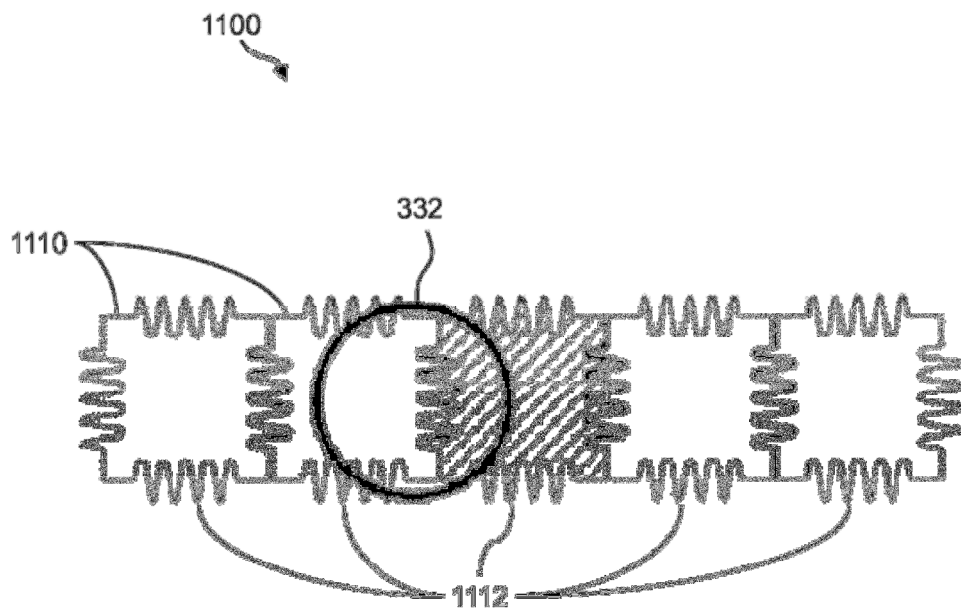
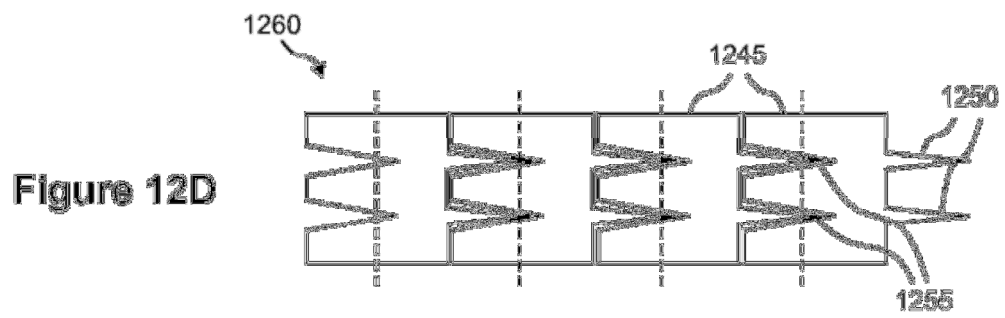
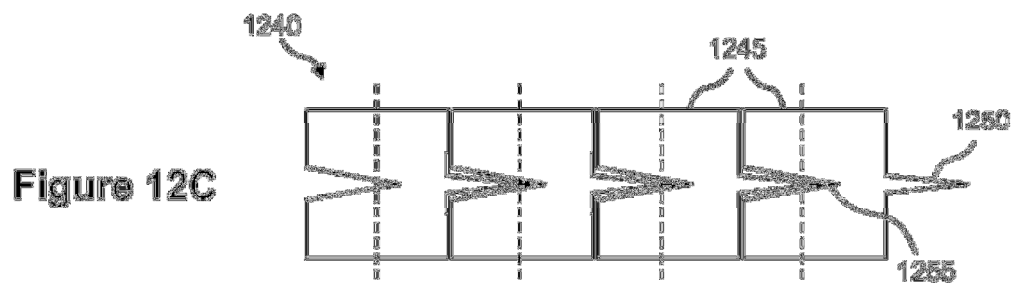
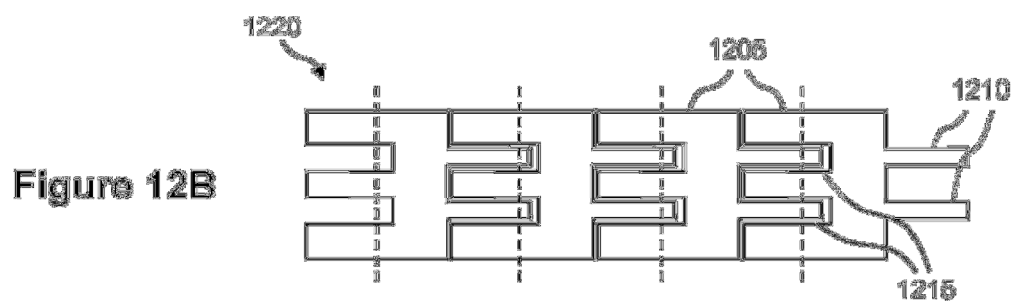
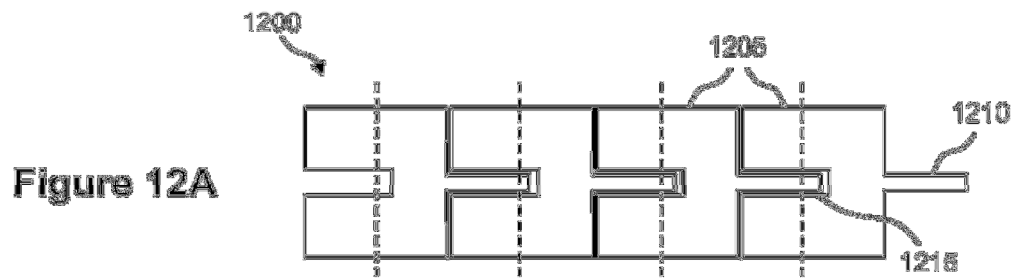
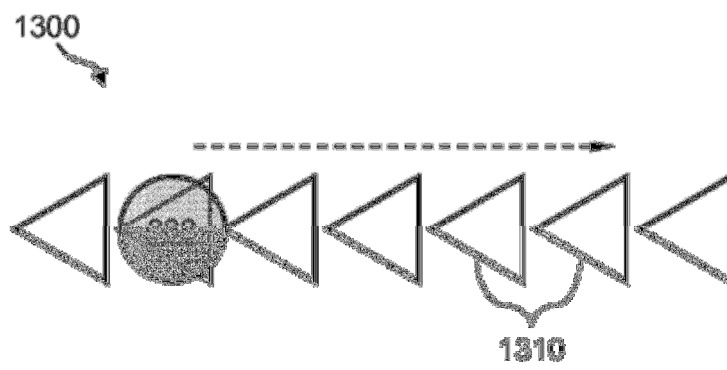
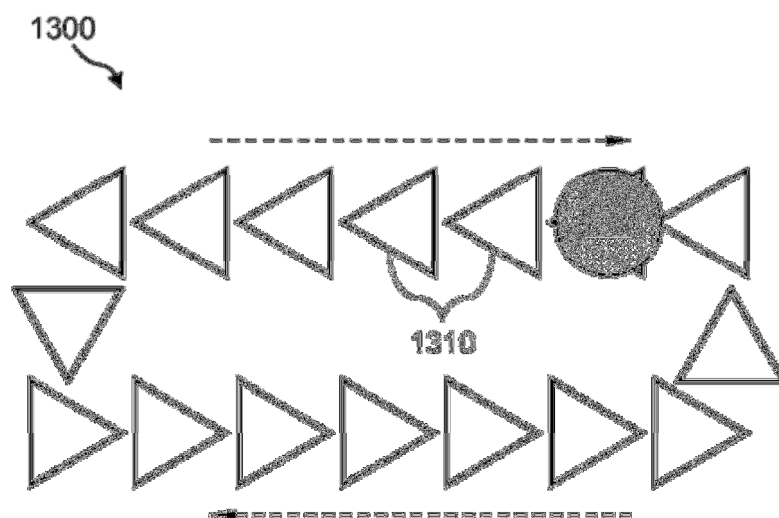


Figure 8B

**Figure 9****Figure 10**

**Figure 11**



**Figure 13A****Figure 13B**

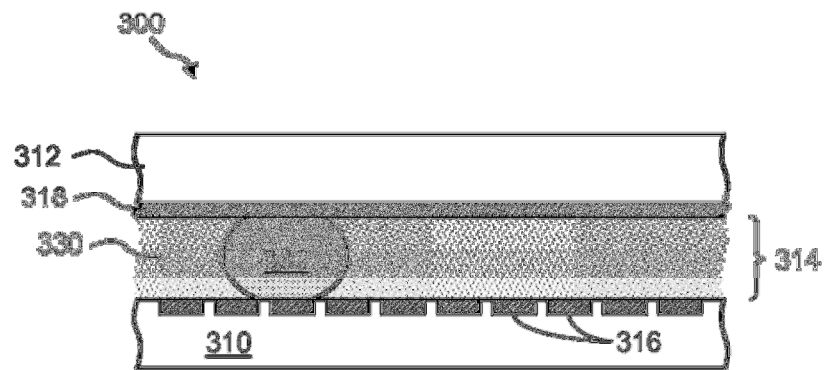


Figure 14A

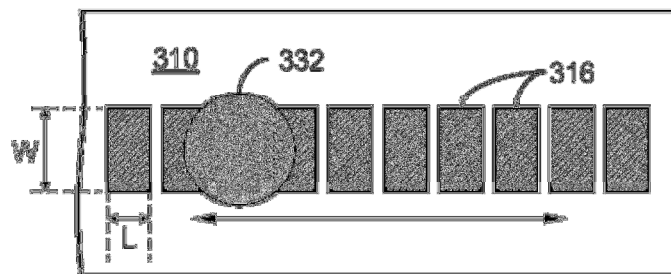
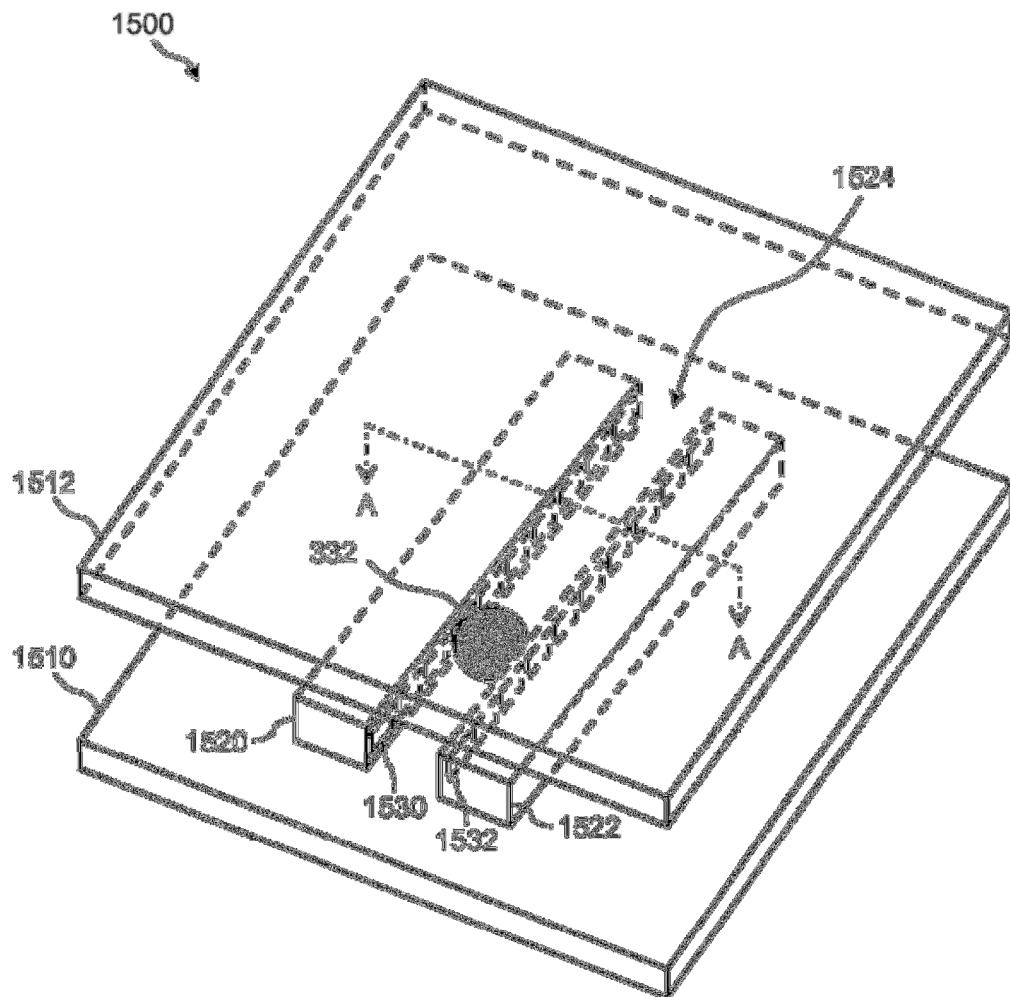
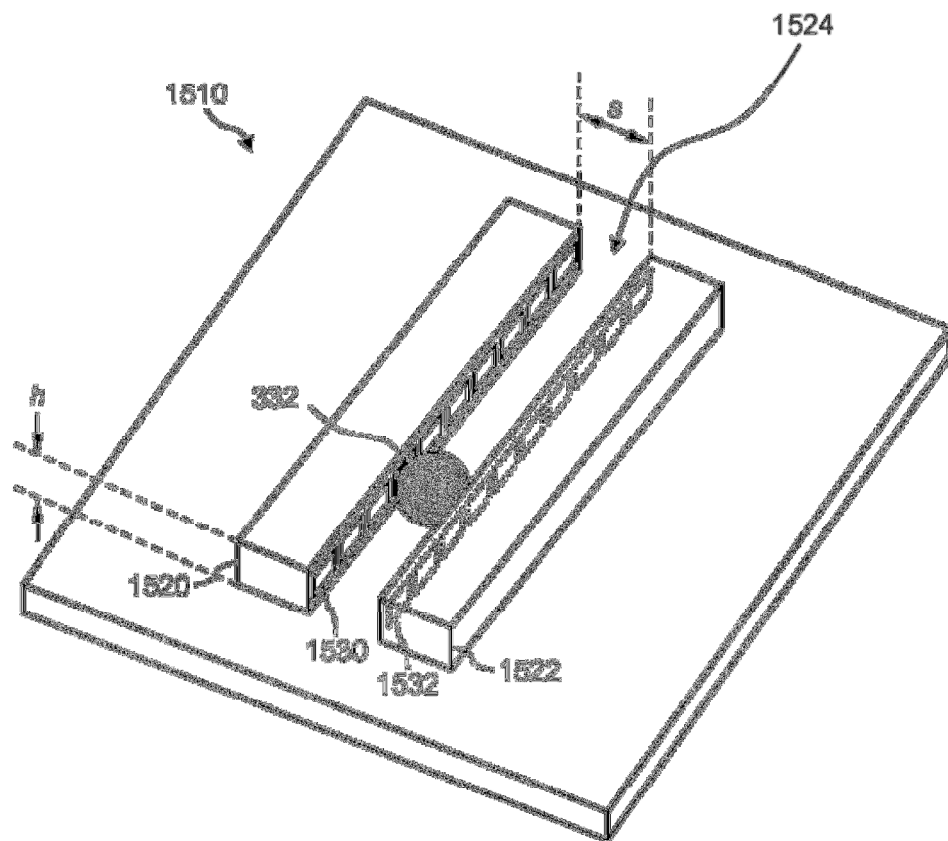
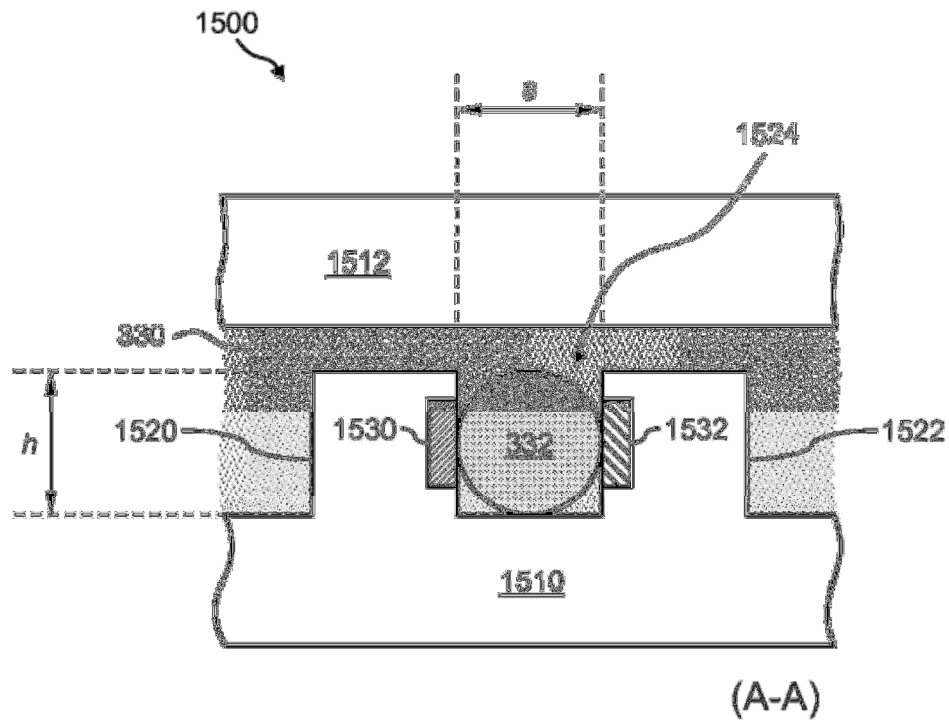
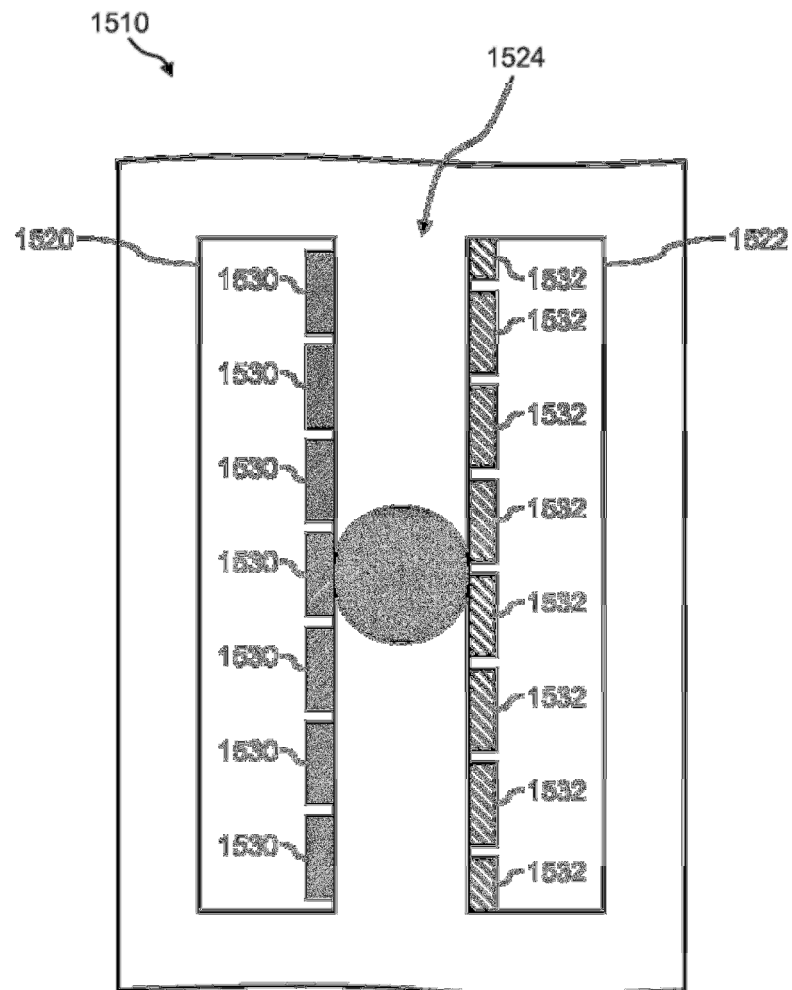


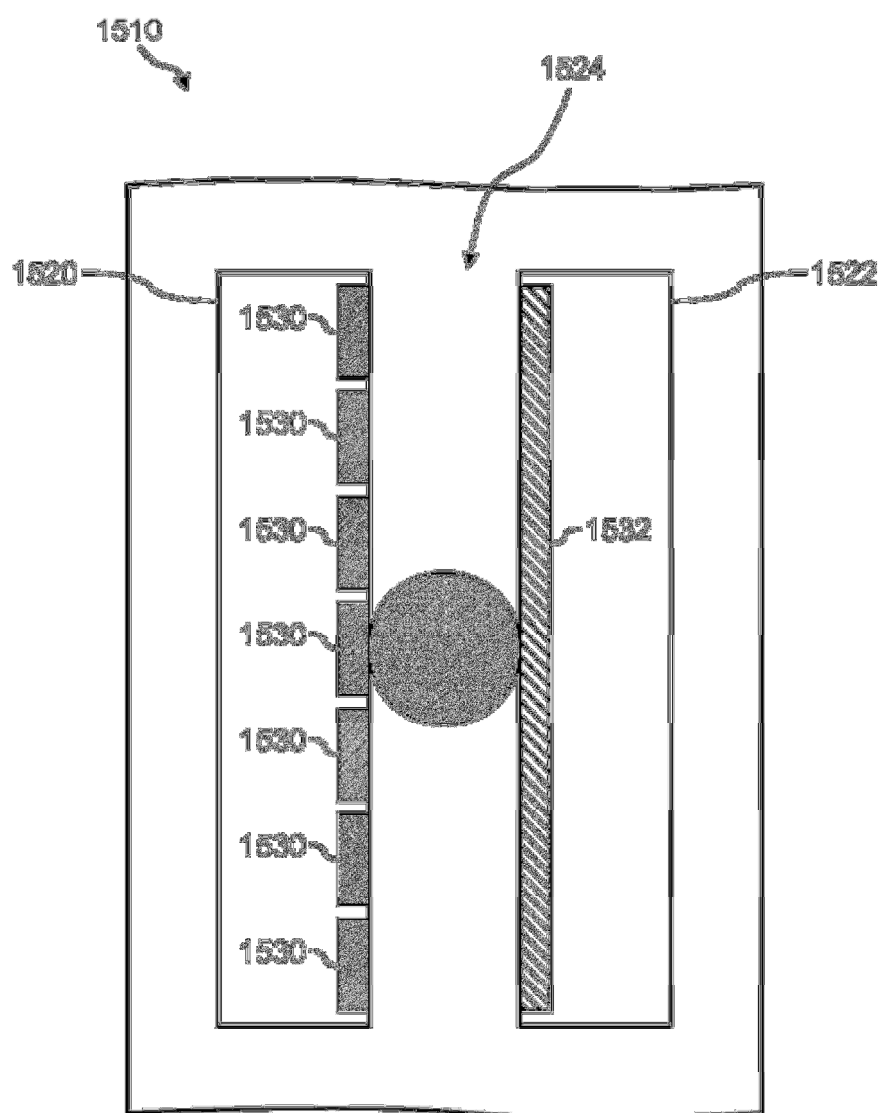
Figure 14B

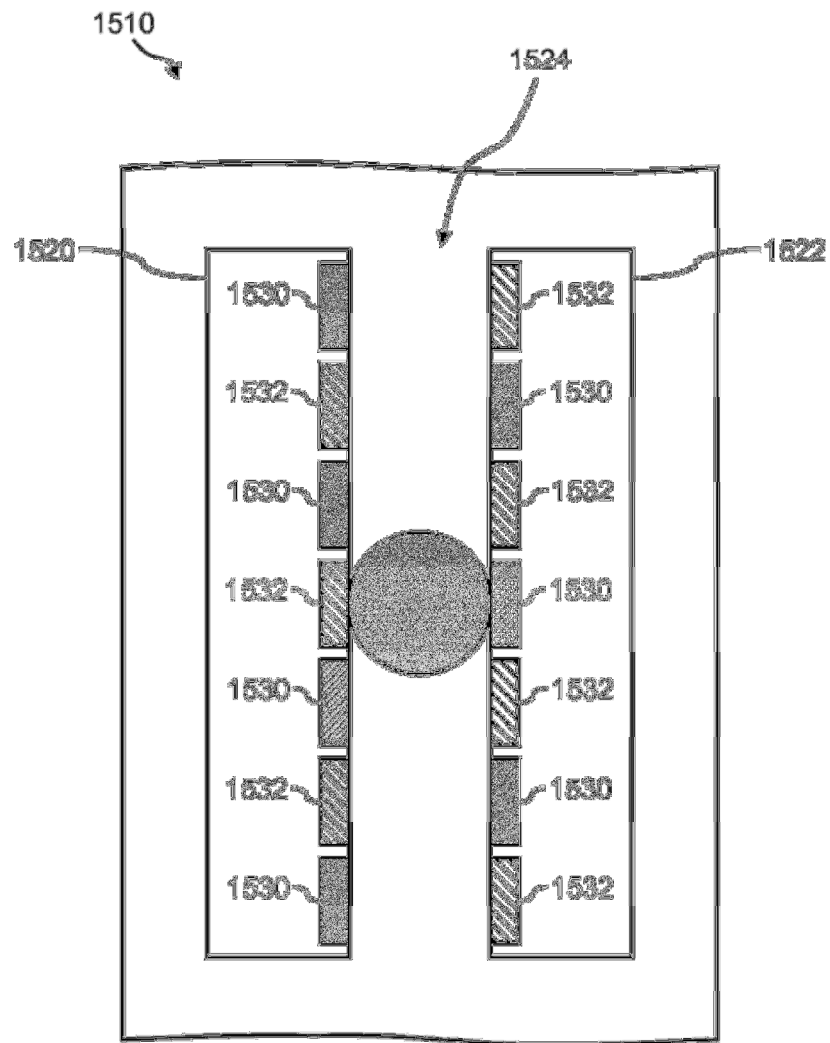
**Figure 15**

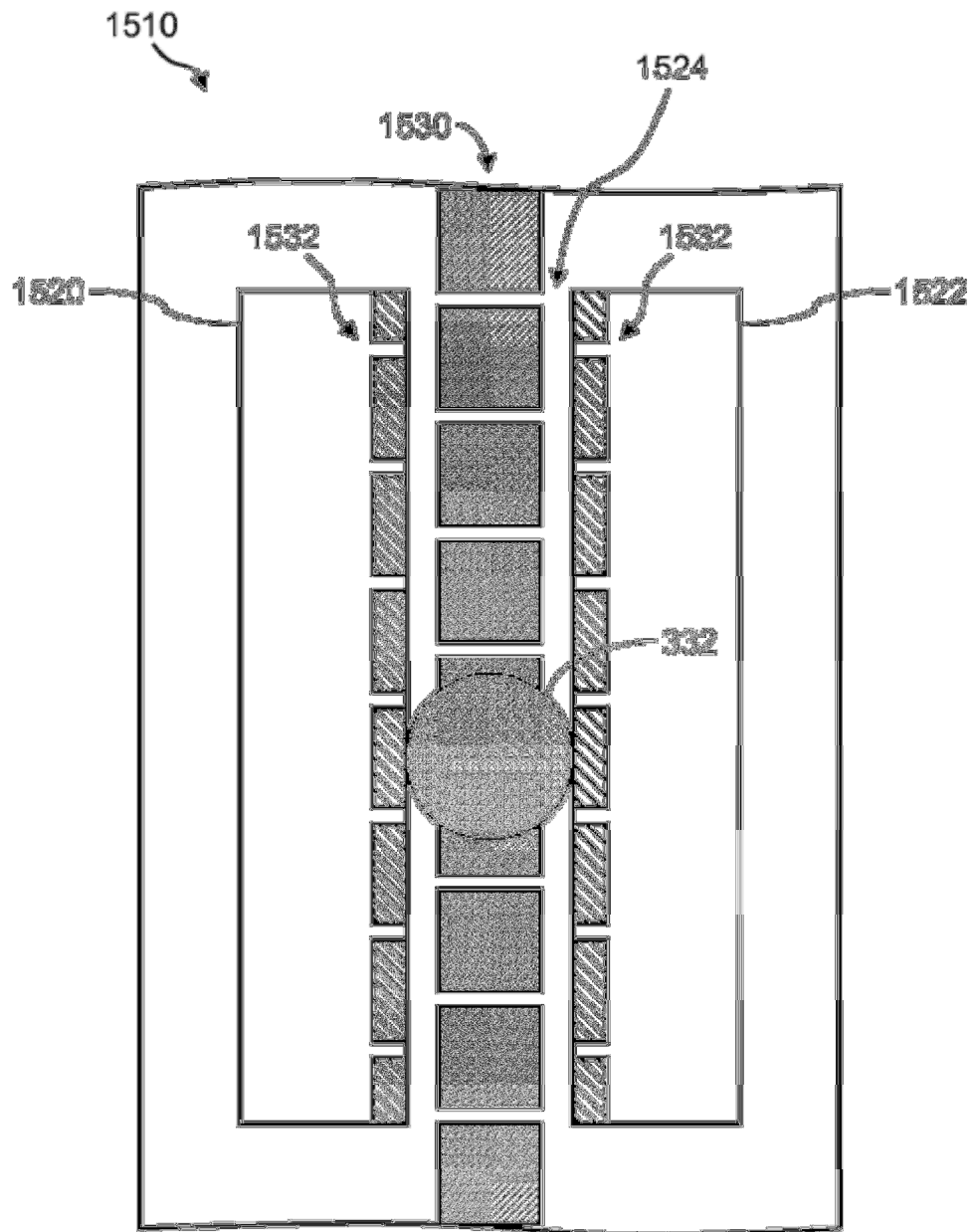
**Figure 16**

**Figure 17**

**Figure 18**

**Figure 19**

**Figure 20**

**Figure 21**

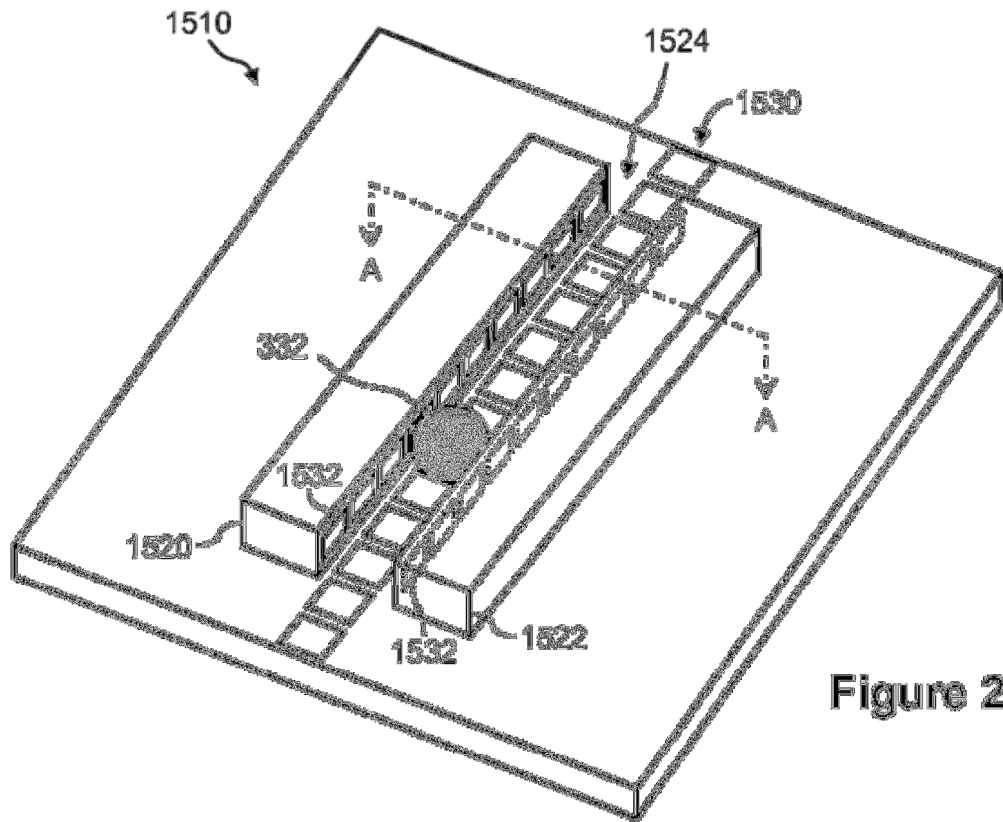


Figure 22A

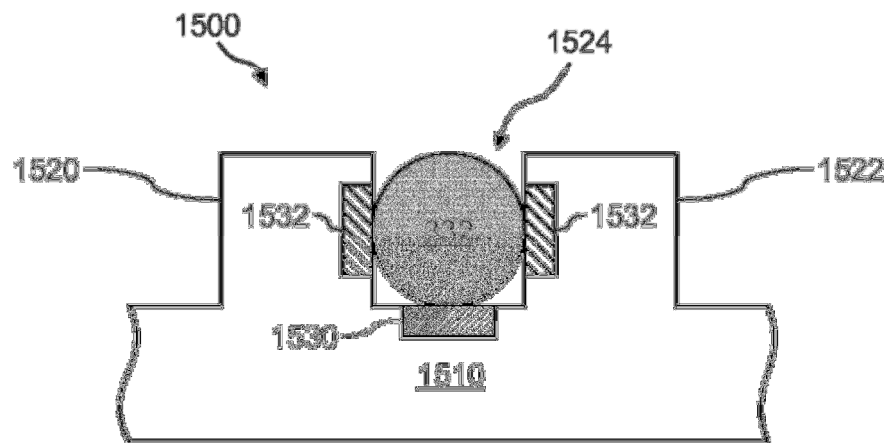
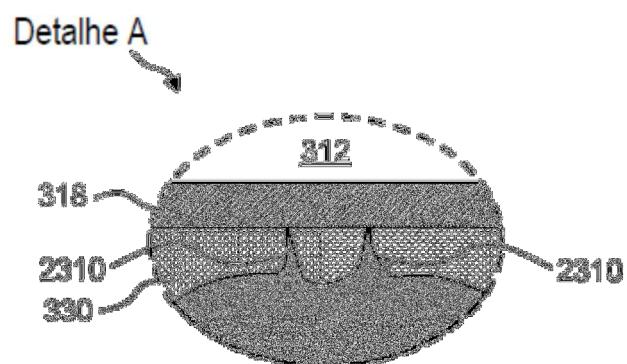
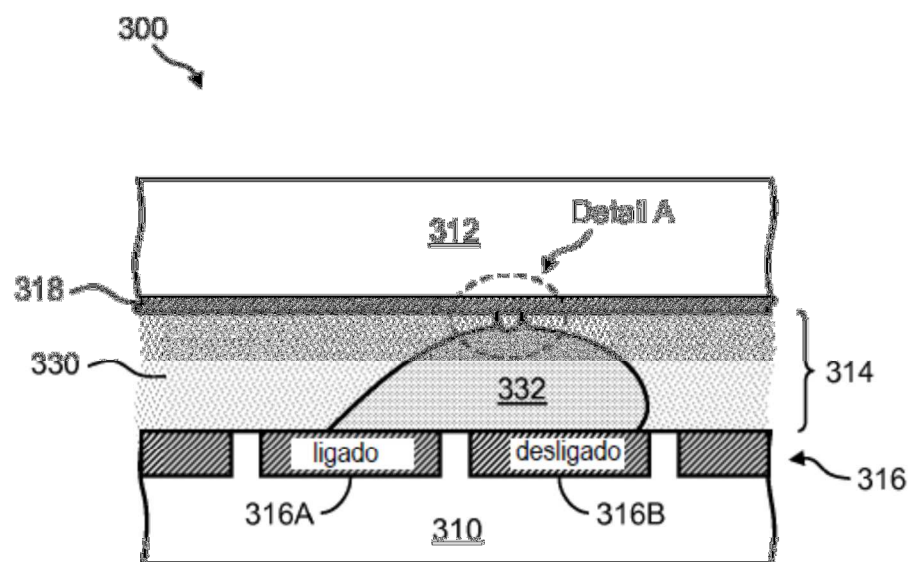
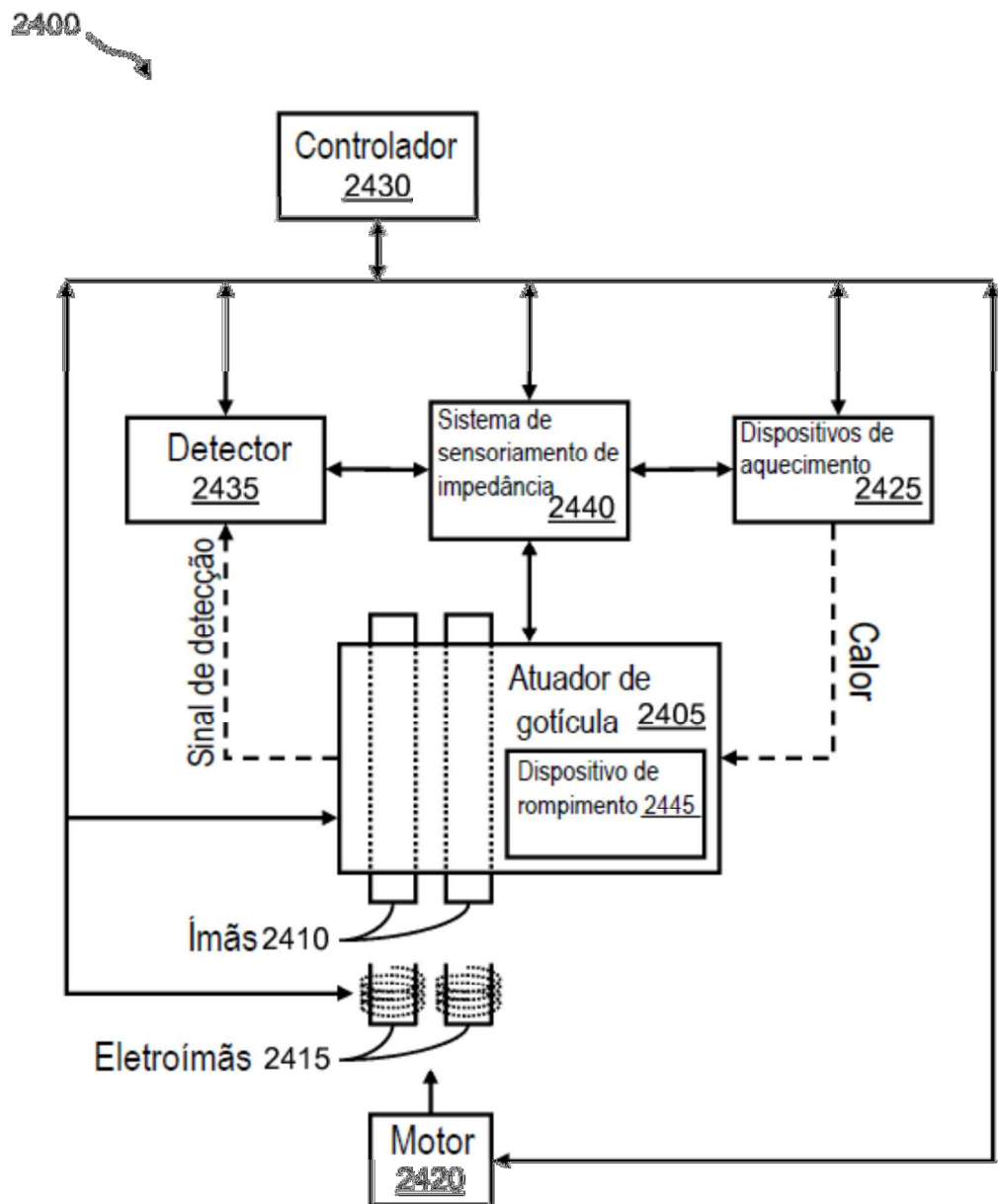


Figure 22B
(A-A)

**Figure 23**

**Figure 24**