



(19)  
**Bundesrepublik Deutschland**  
**Deutsches Patent- und Markenamt**

(10) **DE 10 2005 056 356 B4 2010.04.08**

(12)

## Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2005 056 356.2**  
 (22) Anmeldetag: **25.11.2005**  
 (43) Offenlegungstag: **13.07.2006**  
 (45) Veröffentlichungstag  
 der Patenterteilung: **08.04.2010**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **B01L 3/00 (2006.01)**  
**B01J 19/00 (2006.01)**  
**B81B 1/00 (2006.01)**  
**G01N 33/50 (2006.01)**  
**G01N 33/543 (2006.01)**  
**G01N 33/48 (2006.01)**

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(30) Unionspriorität:  
**93136297 25.11.2004 TW**

(73) Patentinhaber:  
**Industrial Technology Research Institute,  
 Chutung, Hsinchu, TW**

(74) Vertreter:  
**PATENTANWÄLTE CHARRIER RAPP & LIEBAU,  
 86152 Augsburg**

(72) Erfinder:  
**Wu, Bi-Chu, Cyonglin, Hsinchu, TW; Young,  
 Gin-Shu, Cyonglin, Hsinchu, TW**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
 gezogene Druckschriften:

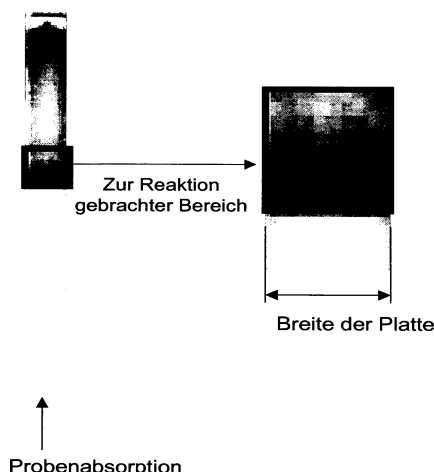
<b>DE</b>	<b>199 40 750</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>196 48 695</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>102 58 840</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>102 44 154</b>	<b>A1</b>

<b>DE</b>	<b>102 22 478</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>100 01 116</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>43 41 862</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>37 39 046</b>	<b>A1</b>
<b>US</b>	<b>2004/00 23 399</b>	<b>A1</b>
<b>US</b>	<b>58 00 781</b>	<b>A</b>
<b>US</b>	<b>57 64 356</b>	
<b>US</b>	<b>57 44 366</b>	
<b>EP</b>	<b>12 01 304</b>	<b>A2</b>
<b>EP</b>	<b>09 92 287</b>	<b>A2</b>
<b>EP</b>	<b>08 03 288</b>	<b>A2</b>
<b>WO</b>	<b>99/46 045</b>	<b>A1</b>
<b>WO</b>	<b>99/44 740</b>	<b>A1</b>
<b>WO</b>	<b>99/30 166</b>	<b>A1</b>
<b>WO</b>	<b>93/22 053</b>	<b>A1</b>
<b>WO</b>	<b>01/68 238</b>	<b>A2</b>
<b>WO</b>	<b>01/47 638</b>	<b>A2</b>

(54) Bezeichnung: **Verwendung eines Mikrofluidchips mit einer Probesteststruktur für die quantitative Analyse**

(57) Hauptanspruch: Verwendung eines Mikrofluidchips mit einer Probesteststruktur (1) zur quantitativen Analyse, wobei die Probesteststruktur (1) aufweist:  
 eine Probeneinlassöffnung (2) zum Eingeben einer Testprobe;  
 einen Analyterfassungsbereich (3), der mit der Probeneinlassöffnung (2) gekoppelt ist und aus mindestens einem Mikrofluidkanal (4) besteht, in dem beginnend an einem Reaktionsstartpunkt (41) eine Substanz immobilisiert ist, die in der Lage ist, mit dem Analyten zu reagieren, und wobei eine Fluidantriebsvorrichtung (51) vorhanden ist, die in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Flusses der Testprobe durch den Analyterfassungsbereich (3) zu kontrollieren,  
 eine Skala (6) zum Ablesen des Mikrofluidkanals (4), der reagiert hat, wobei der Mikrofluidkanal (4) des Analyterfassungsbereichs in gekrümmter Form vorliegt,  
 wobei auf die Menge des Analyten aus der Länge des Teils des Mikrofluidkanals (4) geschlossen wird, in dem der

Analyt ab dem Reaktionsstartpunkt (41) mit der immobilisierten Substanz reagiert hat und wobei die echte Menge des Analyten durch eine Nachschlagetabelle oder...



## Beschreibung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Mikrofluidchips mit einer Probesteststruktur für die quantitative Analyse ohne Verwendung eines Instruments.

**[0002]** Viele Anwendungen eines klinischen biochemischen Tests konzentrieren sich auf den Nachweis der spezifischen biochemischen Substanzen oder Pathogene, die die Gesundheit oder Krankheit eines Patienten oder die Wirkungen einer medizinischen Behandlung widerspiegeln. Der Nachweis von biologischen und chemischen Substanzen kann jedoch auch auf die Prüfung auf Arzneimittelmisbrauch, auf industrielle Herstellungsprozesse, auf die Erfassung von Umweltverschmutzung und auf den Test von Pflanzen- und Tierproben angewendet werden.

**[0003]** Die Testprobe für den Test hängt von der Anwendung ab. Die Arzneimittelprüfung oder der Test von Tierproben kann Fluide vom Menschen oder von Tieren verwenden, wie z. B. Blut, Urin, Speichel oder Serum. Ein industrieller Herstellungsprozeß oder eine Umwelterfassung kann flüssige Proben vom Herstellungsprozeß und/oder von der Umgebung verwenden. In der vorliegenden Erfindung wird die verwendete Flüssigkeit oder das verwendete Körperfluid Testprobe genannt. Die unter Verwendung des Streifens oder Biochips nachzuweisenden verschiedenen spezifischen Komponenten werden Analyten genannt. Der Analyt in der Testprobe kann eine chemische Substanz, ein Protein, ein Ligand, eine Nukleinsäure oder ein pathogener Virus oder Bakterien sein.

**[0004]** In Abhängigkeit von den für den Test erforderlichen Ergebnissen sind zwei Arten von Anwendungen möglich: ein qualitativer Test oder ein quantitativer Test. Der qualitative Test versucht einfach, die Existenz des Analyten festzustellen. Wenn der Analyt in einer Menge über einem speziellen Niveau vorhanden ist, wird entweder ein positives oder negatives Ergebnis erhalten. Rezeptfreie Schwangerschaftsteststreifen versuchen beispielsweise festzustellen, ob die Menge des menschlichen Choriongonadotropins (hCG) in der Urinprobe über einem bestimmten Wert liegt. Wenn das hCG beispielsweise über 25 mIU/ml liegt, wird das Testergebnis vom Streifen als positiv betrachtet, ein qualitatives Ergebnis. Ein quantitativer Test bestimmt die spezielle Menge des Analyten in der Testprobe. Bei einem Cholesterintest spiegelt beispielsweise der erhaltene Zahlenwert die tatsächliche Konzentration von Cholesterin im Blut in (mg/dl) wider.

**[0005]** Biotests werden unter Verwendung von flüssigen Reagenzien oder unter Verwendung von trockenen Streifen durchgeführt. Wenn ein flüssiges Reagenz verwendet wird, ist häufig ein großes Instru-

ment erforderlich, beispielsweise die Bioanalysatoren, die für Blut- und Urintests in großen Krankenhäusern verwendet werden. Tests mit trockenen Streifen können entweder allein oder mit Unterstützung eines tragbaren Instruments durchgeführt werden. Der vorstehend erwähnte Schwangerschaftstest verwendet einen Streifen, der Ergebnisse liefert, die ohne Verwendung irgendeines Instruments direkt vom Streifen abgelesen werden können. Der Heimglucosetest ist andererseits ein Beispiel für einen Test mit trockenem Streifen, der ein tragbares Meßgerät erfordert, um die Ergebnisse abzulesen.

**[0006]** Um Analyten ohne Verwendung eines Instruments zu testen, ist eine Struktur mit der Fähigkeit, quantitative Ergebnisse zu liefern, erforderlich. Die Fähigkeit, Vor- und Nachverarbeitungsfunktionen zu integrieren, wäre ein am meisten erwünschtes Merkmal ebenso wie die Verwendung einer vereinfachten Prozedur für nicht-professionelle Benutzer.

**[0007]** Die WO99/46045 A1 beschreibt die Entwicklung einer Probenströmungssteuerungsvorrichtung und stellt Verteilerkanäle und Einstromkanäle mit Querschnittsbereichen einer solch geringen Größe und Querschnittsfläche dergestalt bereit, dass der Flüssigkeitstransport darin durch Kapillarkräfte erfolgt.

**[0008]** Die WO93/22053 A1 offenbart in [Fig. 8](#), [Fig. 9](#) Strömungswege, die verbreitet sind, was im Normalfall ungünstig ist. Es wird die Änderung in den optischen Eigenschaften gemessen.

**[0009]** Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, die Verwendung eines Mikrofluidchips mit einer Probesteststruktur für die quantitative Analyse anzugeben, durch die eine quantitative Erfassung eines Analyten ermöglicht wird.

**[0010]** Diese Aufgabe wird durch die Verwendung eines Mikrofluidchips mit einer Probesteststruktur gemäß Anspruch 1 gelöst, wobei die Menge des Analyten durch die Länge des Teils des Mikrofluidkanals angegeben wird, in dem der Analyt mit den immobilisierten Substanzen reagiert hat.

**[0011]** Der Reaktionsstartpunkt der Probesteststruktur bezeichnet den Startpunkt der Anordnung der immobilisierten Substanzen im Analyterfassungsbereich. Die Art der verwendeten immobilisierten Substanzen hängt von dem Analyten ab, der mit den immobilisierten Substanzen zur Reaktion gebracht werden soll. Der Reaktionsmechanismus kann eine chemische Reaktion oder eine Bindungspaarreaktion sein. Im Fall einer Bindungspaarreaktion können geeignete Paare von Analyten/immobilisierten Substanzen umfassen, sind jedoch nicht begrenzt auf Antikörper/Antigene, Rezeptoren/Liganden, Proteine/Nukleinsäuren, Nukleinsäuren/Nukle-

insäuren, Enzyme/Substrate und/oder Inhibitoren, Kohlenhydrate (einschließlich Glycoproteinen und Glycolipiden)/Lectine, Kohlenhydrate und andere Bindungspartner, Proteine/Proteine; und Protein/kleine Moleküle.

**[0012]** Die immobilisierten Substanzen werden am Analytenerfassungsbereich angebracht, bevor die Testprobe in den Analyt erfassungsbereich gelangt. Die Substanzen können am Analyt erfassungsbereich früh, während des Chipherstellungsprozesses, oder später, während des Benutzeranwendungsprozesses, angebracht werden. Die an Magnetkügelchen befestigten immobilisierten Substanzen können beispielsweise unmittelbar, bevor die Analyten auf den Erfassungsbereich aufgebracht werden, zum Analyt erfassungsbereich geliefert werden.

**[0013]** Durch Steuern der Geschwindigkeit des Flusses der Probe und/oder Stören der Probe im Analyt erfassungsbereich werden die Gelegenheiten für den Kontakt zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen erhöht. Die immobilisierten Substanzen im Mikrofluidkanal reagieren nacheinander mit dem Analyten in der Probe. Wenn die Reaktion beendet ist, konzentrieren sich die immobilisierten Substanzen, die mit dem Analyten reagiert haben, am vorderen Abschnitt des Mikrofluidkanals. Diejenigen Substanzen, die nicht mit dem Analyten reagiert haben, folgen in der Rückseite des Kanals. Mit zweckmäßiger Markierung entweder vor oder nach der Reaktion kann der Abschnitt des Kanals mit der Reaktion identifiziert und seine Länge gemessen werden. Je länger die Länge des Mikrofluidkanals mit der Reaktion in diesem ist, desto höher ist die Menge des Analyten in der Testprobe.

**[0014]** In der vorliegenden Erfindung stellt die Länge des zur Reaktion gebrachten Mikrofluidkanals denjenigen Teil des Mikrofluidkanals dar, in dem der Analyt mit den immobilisierten Substanzen reagiert hat. Die Länge des zur Reaktion gebrachten Mikrofluidkanals, in dem die Reaktion stattfindet, beginnt ab dem Reaktionsstartpunkt im Mikrofluidkanal.

**[0015]** Die immobilisierten Substanzen sind in der Lage, mit einem festen Träger zu kombinieren, der entweder ein Teil der Oberfläche des Mikrofluidkanals sein kann oder an der Oberfläche des Mikrofluidkanals befestigt sein kann. Der feste Träger wird beispielsweise mit einer spezifischen funktionalen Gruppe teilweise oder vollständig modifiziert. Der an der Oberfläche des Mikrofluidkanals befestigte feste Träger kann aus Nitrocellulose, Latex, Nylon, Polystyrol oder der Kombination davon ausgewählt sein. Ein weiteres Beispiel eines an der Oberfläche des Mikrofluidkanals befestigten festen Trägers können Kügelchen, Teilchen, Magneteilchen, Glasfaser oder die Kombination davon sein. Der an der Oberfläche des Mikrofluidkanals befestigte feste Träger kann

auch eine Schicht aus porösen Materialien sein. Ein Beispiel von immobilisierten Substanzen und eines festen Trägers könnten Antikörper sein, die zumindest an einen Teil des Mikrofluidkanals mit den spezifischen funktionalen Gruppen gebunden sind. Ein weiteres Beispiel von immobilisierten Substanzen und eines festen Trägers könnte ein Antikörper sein, der an porösen Materialien innerhalb der Wände des Mikrofluidkanals befestigt ist.

**[0016]** Der Analyt erfassungsbereich besteht aus mindestens einer Art von immobilisierter Substanz in der Testprobe, um mindestens eine Art von Analyt zu erfassen. Jeder der Mikrofluidkanäle ist beispielsweise mit einem Reaktionsstartpunkt versehen und eine Art von immobilisierten Substanzen ist darin angeordnet. Zwei Mikrofluidkanäle sind beispielsweise mit zwei Reaktionsstartpunkten versehen und in diesen sind entweder dieselben oder verschiedene Arten von immobilisierten Substanzen angeordnet, um die Mengen desselben Analyten zu vergleichen oder die Mengen von zwei Arten von Analyten zu messen.

**[0017]** In der Teststruktur ist der Mikrofluidkanal gekrümmt. Eine Vielzahl von Formen eines gekrümmten Mikrofluidkanals können verwendet werden, einschließlich, jedoch nicht begrenzt auf spiral-, serpentin-, zickzack-, bogenförmig und dergleichen. Die gekrümmte Form des Mikrofluidkanals erstreckt sich auf der Länge des Analyt erfassungsbereichs, ohne einen längeren Chip zu erfordern. Die Querschnitts-abmessung des Kanals kann quadratisch, rechteckig, halbkreisförmig, kreisförmig usw. sein.

**[0018]** Der Analyt erfassungsbereich kann mit einer Vielzahl von Mikrofluidkanälen parallel, in Reihe oder der Kombination davon konstruiert sein.

**[0019]** In der vorliegenden Teststruktur kann die Fluidantriebsvorrichtung eine aktive Fluidantriebsvorrichtung, eine passive Fluidantriebsvorrichtung oder die Kombination davon sein. Eine aktive Fluidantriebsvorrichtung ist eine gespeiste Vorrichtung zum Kontrollieren der Geschwindigkeit des Flusses der Probe durch den Mikrofluidkanal. Die aktive Fluidantriebsvorrichtung ist mit zumindest einem Teil des Analyt erfassungsbereichs gekoppelt und ist in der Lage, die Geschwindigkeit des Flusses über die Zeit zu verändern, so daß der Analyt nacheinander mit den nicht-reaktiven immobilisierten Substanzen im Mikrofluidkanal reagiert. In einem Beispiel ist die aktive Fluidantriebsvorrichtung eine Pumpe. Die Pumpe kann eine Pumpe auf dem Chip wie z. B. die Mikropumpe, die durch einen Photolithographieprozeß hergestellt wird, oder eine Pumpe außerhalb des Chips sein. Die Art von Pumpe kann eine Spritzenpumpe, eine peristaltische Pumpe oder ein Mechanismus sein, der das Gas im Kanal zusammenziehen kann, wobei er es durch elektrische Leistung, mechanische Leistung, einen manuellen Vorgang, eine che-

mische Reaktion, die einen Gasverbrauch verursacht, die physikalische Änderung des Kammervolumens, Niederdruck- oder Hochdruckkammer-Anschluß usw. vorwärts schiebt.

**[0020]** In der vorliegenden Erfindung ist die passive Fluidantriebsvorrichtung in der Lage, eine Kapillarkapillare zu erzeugen, um den Fluidfluß in dem Mikrofluidkanal des Analytnerfassungsbereichs anzutreiben. Die hydrophile/hydrophobe Eigenschaft der Mikrofluidkanalmaterialien kann beispielsweise die automatische Vorwärtsgeschwindigkeit steuern, so daß der Analyt die Möglichkeit hat, nacheinander mit den immobilisierten Substanzen zu reagieren, die im Mikrofluidkanal aufgereiht sind. Die Vorwärtsgeschwindigkeit der Probe in einem Mikrofluidkanal, der aus dem hydrophilsten Material besteht, wäre beispielsweise schneller als in jenem, der aus einem weniger hydrophilen Material besteht.

**[0021]** Der Mikrofluidkanal des Analytnerfassungsbereichs umfaßt ferner ein passives Fluidmodulationselement, das in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Flusses einzustellen und/oder das Fluid im Mikrofluidkanal zu stören, um die Gelegenheit für einen Kontakt zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen zu erhöhen. Passive Modulationselemente umfassen, sind jedoch nicht begrenzt auf die lokale Modifikation der Abmessungen oder Formen des Mikrofluidkanals; eine teilweise oder vollständige Modifikation der inneren Oberfläche eines Abschnitts des Mikrofluidkanals unter Verwendung von Materialien, die aus hydrophilen Materialien, hydrophoben Materialien oder einer Kombination davon ausgewählt sind; versehen mit Vorsprüngen oder Vertiefungen an der inneren Oberfläche des Mikrofluidkanals. Passive Fluidmodulationselemente können mit einer aktiven oder passiven Fluidantriebsvorrichtung verwendet werden.

**[0022]** Die Materialien der Probeneststruktur für die vorliegende Erfindung sind entweder hydrophil oder hydrophob. Eine Art von Struktur, die bei der vorliegenden Erfindung verwendet werden kann, ist aus oberen und unteren Substraten konstruiert. Eine weitere ist aus einem Substrat und einem Klebeband konstruiert. Eine weitere aus zwei oder mehr Substraten.

**[0023]** Die Probeneststruktur des Mikrofluidchips für die quantitative Analyse kann ferner einen Vorbehandlungsmechanismus umfassen, der sich zwischen der Probeneinlaßöffnung und dem Analytnerfassungsbereich befindet, um die Modulation der in den Analytnerfassungsbereich gelangten Probe zu unterstützen. Ein Vorbehandlungsmechanismus kann einen Mechanismus zum Markieren des Analyten in der Testprobe beinhalten. Analytmarkierungsverfahren umfassen, sind jedoch nicht begrenzt auf: Enzyme, Fluoreszenz, Lumineszenz, Nanoteilchen oder

andere Substanzen, die in der Lage sind, Anzeigefarben zur Markierung zu präsentieren. Ein weiterer Vorbehandlungsmechanismus kann einen Volumenkontrollmechanismus zum Modulieren des Volumens der in den Analytnerfassungsbereich gelangenden Testprobe oder einen Mechanismus zum Modulieren der Konzentration der in den Analytnerfassungsbereich gelangenden Testprobe beinhalten. Vorbehandlungsprozeduren können beispielsweise die Verdünnung oder Konzentration der Probe oder einen Probenbestandteils-Modulationsbereich, das Beseitigen von Bestandteilen oder Zugeben weiterer Bestandteile zur Probe, wie z. B. Entfernen von Blutkörperchen in einer ganzen Blutprobe, oder ein Mischelement zum Mischen von Bestandteilen in der Probe oder ein Entgasungselement zum Ausschließen von Luftblasen aus der Probe umfassen.

**[0024]** Die Probeneststruktur kann ferner einen Nachbehandlungsmechanismus umfassen, der mit zumindest einem Teil des Analytnerfassungsbereichs verbunden ist, um die Fähigkeit vorzusehen oder zu verbessern, zur Reaktion gebrachte von nicht zur Reaktion gebrachten immobilisierten Substanzen zu unterscheiden. Ein Nachbehandlungsmechanismus könnte ein Markierungsmechanismus zum Vorsehen von Materialien zum Markieren der Substanzen, die reagiert haben, jedoch nach der Reaktion im Kanal geblieben sind, sein. Ein weiterer Nachbehandlungsmechanismus könnte ein Mechanismus zum Waschen des Analytnerfassungsbereichs nach der Reaktion, um die Signalableseergebnisse zu verbessern, sein.

**[0025]** Bei der Teststruktur umfaßt der Analytnerfassungsbereich ferner mindestens eine beschriftete Skala zum Definieren oder Berechnen der Menge des Analyten in der Testprobe.

**[0026]** Die vorliegende Erfindung beschreibt einen quantitativen Test für einen Zielanalyten in einer Testprobe. Es umfaßt: Vorsehen einer Testprobe; Einführen der Testprobe in einen Mikrofluidkanaleingang, wobei der Mikrofluidkanal mit einem Reaktionsstartpunkt versehen ist, der mit der Anordnung einer Vielzahl von immobilisierten Substanzen an diesem beginnt, wobei die immobilisierten Substanzen in der Lage sind, mit dem Analyten zu reagieren; Steuern der Fließgeschwindigkeit der Testprobe im Mikrofluidkanal, wobei die Länge des zur Reaktion gebrachten Mikrofluidkanals die Analytenmenge widerspiegelt, nachdem der Analyt mit den immobilisierten Substanzen reagiert hat.

**[0027]** Die Ausführung des Tests umfasst ferner dass Markieren des Analyten: Enzyme, Fluoreszenz, Lumineszenz, Nanoteilchen oder andere Substanzen, die in der Lage sind, Farben anzuzeigen.

**[0028]** Die Struktur der Probeneststruktur im Mikro-

fluidchip für die quantitative Analyse umfaßt: eine Probeneinlaßöffnung, um eine Testprobe einzugeben; einen Analyterfassungsbereich, der mit der Probeneinlaßöffnung gekoppelt ist und aus mindestens einem gekrümmten Mikrofluidkanal besteht, in dem eine Vielzahl von immobilisierten Substanzen, die in der Lage sind, mit dem Analyten zu reagieren, angeordnet sind; und eine aktive Fluidantriebsvorrichtung, die in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Flusses der Testprobe durch den Analyterfassungsbereich zu steuern, was ermöglicht, daß die Menge des Analyten durch die Länge des Teils des Mikrofluidkanals angegeben wird, in dem der Analyt mit den immobilisierten Substanzen reagiert hat.

**[0029]** Die Struktur umfaßt einen Volumenkontrollmechanismus, der sich zwischen der Probeneinlaßöffnung und dem Analyterfassungsbereich befindet, um das Volumen der in den Analyterfassungsbereich gelangenden Probe zu modulieren. Die bevorzugte Art der vorliegenden Erfindung verwendet eine Pumpe als aktive Fluidantriebsvorrichtung. Die bevorzugte Art der vorliegenden Erfindung beinhaltet ein passives Fluidmodulationselement im Mikrofluidkanal des Analyterfassungsbereichs.

**[0030]** Weitere Aufgaben, Vorteile und neuen Merkmale der Erfindung werden aus der folgenden Beschreibung sowie aus den zugehörigen Zeichnungen ersichtlich.

**[0031]** Es zeigen:

**[0032]** [Fig. 1](#) ist ein typischer Streifen und die vergrößerte Figur eines Teils des Bildes.

**[0033]** [Fig. 2](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips unter Verwendung einer aktiven Fluidantriebsvorrichtung.

**[0034]** [Fig. 3a](#) ist die quantitative Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, welche die Beziehung der Fließgeschwindigkeit als Funktion der Zeit der aktiven Fluidantriebsvorrichtung, wobei Fluide mit derselben Geschwindigkeit angetrieben werden, zeigt.

**[0035]** [Fig. 3b\(A\)–\(D\)](#) ist die quantitative Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, welche die Beziehung der Fließgeschwindigkeit als Funktion der Zeit der aktiven Fluidantriebsvorrichtung, wobei Fluide mit einer Vielzahl von Geschwindigkeiten angetrieben werden, zeigt.

**[0036]** [Fig. 4a](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei die Vielzahl von immobilisierten Substanzen nicht-kontinuierlich angeordnet sind.

**[0037]** [Fig. 4b](#) ist eine weitere praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei die Vielzahl von immobilisierten Substanzen nicht-kontinuierlich angeordnet sind.

**[0038]** [Fig. 5a](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei die Vielzahl von passiven Fluidmodulationselementen an willkürlichen Stellen im Mikrofluidkanal angeordnet sind.

**[0039]** [Fig. 5b](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei die Vielzahl von passiven Fluidmodulationselementen durch die speziellen Substanzen im teilweisen oder vollständigen Modulatiionsmikrofluidkanal ausgebildet sind.

**[0040]** [Fig. 5c](#) ist eine praktische Art eines Fluidmodulationselements, das durch lokale Modifikation an den Abmessungen oder Formen des Mikrofluidkanals ausgebildet ist.

**[0041]** [Fig. 5d](#) ist eine praktische Art eines Fluidmodulationselements, das durch Versehen mit Vorsprüngen oder Vertiefungen an der inneren Oberfläche des Mikrofluidkanals ausgebildet ist.

**[0042]** [Fig. 6a](#) ist ein Beispiel der Markierungsskala des Mikrofluidkanals bei der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips.

**[0043]** [Fig. 6b](#) ist ein weiteres Beispiel der Markierungsskala des Mikrofluidkanals bei der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips.

**[0044]** [Fig. 7](#) ist ein Beispiel der spezifischen Auslegung der Abmessung des Mikrofluidkanals, um die Genauigkeit der Ablesung bei der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips zu verbessern.

**[0045]** [Fig. 8](#) ist eine praktische Art des Analyterfassungsbereichs, der mit einer Vielzahl von Mikrofluidkanälen konstruiert ist, die seriell verbunden sind, bei der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips.

**[0046]** [Fig. 9](#) ist eine praktische Art des Analyterfassungsbereichs, der mit einer Vielzahl von Mikrofluidkanälen konstruiert ist, die seriell und parallel verbunden sind, bei der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips.

**[0047]** [Fig. 10a](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei ein Vorbehandlungsmechanismus mit diesem verbunden ist.

**[0048]** [Fig. 10b](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei ein Nachbehandlungsmechanismus mit diesem verbunden ist.

**[0049]** [Fig. 10c](#) ist eine praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei sowohl ein Vorbehandlungsmechanismus als auch ein Nachbehandlungsmechanismus mit diesem verbunden sind.

**[0050]** [Fig. 10d](#) ist eine weitere praktische Art der quantitativen Analyse eines Analyten unter Verwendung des Mikrofluidchips, wobei sowohl ein Vorbehandlungsmechanismus als auch ein Nachbehandlungsmechanismus mit diesem verbunden sind.

**[0051]** In der vorliegenden Erfindung wird eine Analytteststruktur verwendet, die in der Lage ist, quantitative Tests ohne Verwendung eines Instruments durchzuführen. Wie in [Fig. 2](#) gezeigt, besteht die Struktur **1** aus: einer Probeneinlaßöffnung **2** zum Eingeben einer Testprobe; einem Analyterfassungsbereich **3** mit mindestens einem Mikrofluidkanal **4**, der mit der Probeneinlaßöffnung **2** gekoppelt ist. Der Mikrofluidkanal **4** weist eine Vielzahl von immobilisierten Substanzen **43** (in [Fig. 2](#) als horizontale Linien gezeigt) ab dem Reaktionsstartpunkt **41** auf. Die immobilisierten Substanzen sind in der Lage, mit dem Analyten zu reagieren. Die Menge der immobilisierten bzw. fixierten Substanzen übersteigt häufig die Menge des Analyten, die für die Reaktion erforderlich sein kann. Die immobilisierten Substanzen sind an einem festen Träger (beispielsweise ist der feste Träger ein Teil der Mikrofluidkanaloberfläche) und einer Fluidantriebsvorrichtung, die in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Flusses der Testprobe im Analyterfassungsbereich **3** zu kontrollieren, angebracht. Der Analyt reagiert mit den immobilisierten Substanzen **43** nacheinander ab dem Reaktionsstartpunkt **41**. Die immobilisierten Substanzen, die reagieren, konzentrieren sich am vorderen Abschnitt des Mikrofluidkanals **4**. Die Länge des Mikrofluidkanals, die reagiert hat (der Abschnitt mit kräftiger Farbe in [Fig. 2](#)), spiegelt daher die Menge des Analyten wider.

**[0052]** Der Analyterfassungsbereich **3** umfaßt eine Skala **6** zum Ablesen der Länge des Kanals, die reagiert hat, oder der kalibrierten Menge des Analyten. Die Skala kann Zahlen sein, die auf den Analyterfassungsbereich **3** gedruckt oder an diesem angebracht sind, oder spezielle geometrische Merkmale des Mikrofluidkanals sein, die dazu ausgelegt sind, die Pegel des Analyten darzustellen.

**[0053]** Die Fluidantriebsvorrichtung kann entweder eine aktive Fluidantriebsvorrichtung, eine passive Fluidantriebsvorrichtung oder die Kombination der beiden sein. Eine aktive Fluidantriebsvorrichtung **51** ist eine gespeiste Vorrichtung, die in der Lage ist, die

Probe im Mikrofluidkanal in einer Vielzahl von Mustern anzutreiben, wie z. B. einer konsistent langsamen Vorwärtsbewegung ([Fig. 3a](#)), einer abwechselnden Hin- und Herbewegung (wobei der Vorwärtsschritt größer ist als der Rückwärtsschritt, so daß die Gesamtwirkung eine Vorwärtsbewegung ist) oder einer abwechselnden Stop-And-Go-Bewegung ([Fig. 3b\(A\)-\(D\)](#)). Durch Verlängern der Probenhaltezeit und/oder durch Erzeugen einer Flußturbulenz existieren ausreichend Gelegenheiten für einen Kontakt zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen. Fließmuster an sich ermöglichen sequentielle Reaktionen mit den immobilisierten Substanzen **43** ab dem Reaktionsstartpunkt **41**. Eine aktive Fluidantriebsvorrichtung **51** kann eine Vorrichtung sein, die in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Fluidflusses über die Zeit zu verändern, beispielsweise eine Pumpe, die mit mindestens einem Teil des Analyterfassungsbereichs **3** gekoppelt ist.

**[0054]** In einem Beispiel der Teststruktur ist eine Mulde zwischen dem Mikrofluidkanal des Analyterfassungsbereichs und der aktiven Fluidantriebsvorrichtung zum Sammeln von Flüssigkeitsabfall vorgesehen. Die Pumpe wird abgeschaltet, nachdem die Testprobe ihre Reaktion vollendet und in die Abfallsammelmulde fließt.

**[0055]** In einem weiteren Beispiel der Teststruktur sind eine Vielzahl von immobilisierten Substanzen kontinuierlich (wie in [Fig. 2](#) gezeigt) oder unstetig (wie in den [Fig. 4a](#), [Fig. 4b](#) gezeigt) im Mikrofluidkanal angeordnet.

**[0056]** In einem weiteren Beispiel der Teststruktur treibt die passive Fluidantriebsvorrichtung den Fluß durch Kapillarwirkung innerhalb des Mikrofluidkanals an.

**[0057]** Unter Verwendung von Materialien mit den geeigneten hydrophilen/hydrophoben Eigenschaften für den Mikrofluidkanal kann die Fließgeschwindigkeit der Probe kontrolliert werden, um eine sequentielle Reaktion zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen zu ermöglichen. Die Vorwärtsgeschwindigkeit der Probe in einem Mikrofluidkanal, der aus dem hydrophilsten Material besteht, ist beispielsweise schneller als jene in einem Mikrofluidkanal, der aus einem weniger hydrophilen Material besteht.

**[0058]** In einem weiteren Beispiel besteht die Probeneststruktur aus zwei Substraten. Eines der Substrate weist Muster von offenen Kanälen und Mulden auf und das andere Substrat ist entweder flach oder weist auch Muster auf. Das Verbinden der zwei Substrate bildet die Probeneststruktur, die ermöglicht, daß Flüssigkeit innerhalb der Kanäle und Mulden fließt und alle Arten von Aufgaben ausgeführt werden. Ein weiteres Beispiel der Probeneststruktur be-



steht aus einem Substrat und einem Klebeband. Ein weiteres ist aus zwei oder mehr Substraten konstruiert.

**[0059]** Die Materialien der Probesteststruktur für die vorliegende Erfindung sind entweder hydrophil oder hydrophob. Strukturmaterialien können ausgewählt werden aus, sind jedoch nicht begrenzt auf Polydimethylsiloxan (PDMS), Polycarbonat (PC), zyklische Olefinopolymere (COC), Polystyrol (PS), Polymethylmethacrylat (PMMA), Silikon, PU, PEEK-ABS, PP, PET, PTFE, PVDF, POM, UPE, HOPE, PVC, Glass, Silizium oder eine Kombination aus zwei oder mehreren von diesen.

**[0060]** Die Probesteststruktur im Mikrofluidchip für die quantitative Analyse umfaßt ferner ein oder mehrere passive Fluidmodulationselemente, die in der Lage sind, die Geschwindigkeit des Flusses einzustellen und/oder das Fluid im Mikrofluidkanal zu stören, um die Gelegenheit für einen Kontakt zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen zu erhöhen. Die mehreren Fluidmodulationselemente **52** können an einer beliebigen Stelle innerhalb des Mikrofluidkanals angeordnet werden, wie in [Fig. 5a](#) gezeigt. [Fig. 5b](#) zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel des passiven Fluidmodulationselements. Das passive Fluidmodulationselement **52** ist durch Modifizieren der Oberfläche innerhalb des Mikrofluidkanals ausgebildet, wie der in [Fig. 5b](#) gezeigte schraffierte Bereich. Spezifische funktionale Gruppen, hydrophile und/oder hydrophobe Materialien sind mögliche Materialien, die zur Oberflächenmodifikation verwendet werden, so daß die lokale Fließgeschwindigkeit optimal eingestellt werden kann, während die Probe in verschiedene Abschnitte des Analyterfassungsbereichs gelangt. [Fig. 5c](#) zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel des passiven Fluidmodulationselements **52**, in dem eine lokale Modifikation an den Abmessungen oder Formen des Mikrofluidkanals angewendet wird, um die Fließgeschwindigkeit einzustellen oder einen turbulenten Fluß zu fördern. [Fig. 5d](#) zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel des passiven Fluidmodulationselements **52**, in dem Vorsprünge oder Vertiefungen an der inneren Oberfläche des Mikrofluidkanals gestaltet sind, auch um die Fließgeschwindigkeit einzustellen oder einen turbulenten Fluß zu fördern, so daß die Kontaktgelegenheit zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen erhöht wird.

**[0061]** Um die Menge des Analyten in der Probe zu bestimmen, umfaßt der Analyterfassungsbereich **3** eine Skala **6**, um den Analyten zu quantifizieren. Die Skala kann Zahlen sein, die auf den Analyterfassungsbereich **3** gedruckt oder an diesem angebracht sind, oder spezielle geometrische Merkmale des Mikrofluidkanals sein, die dazu ausgelegt sind, die Pegel des Analyten darzustellen. Der Benutzer kann beispielsweise die Kanalbiegungsstelle erkennen, an

der der Kanal mit der Reaktion endet, und diese mit dem Pegel der Analytkonzentration in Beziehung bringen. [Fig. 6a](#) zeigt ein Ausführungsbeispiel der Skala **6** nahe dem Analyterfassungsbereich **3**, durch die der Pegel von niedrig, mittel und hoch leicht abgeschätzt werden kann. [Fig. 6b](#) zeigt einen Analyterfassungsbereich **3** mit mehreren Biegungen und eine Skala mit einer feineren Auflösung, um den Analyten zu quantifizieren.

**[0062]** Die Dicke der Mikrofluidkanäle kann auch eingestellt werden, um die Ableseauflösung zu verbessern, wie in [Fig. 7](#) gezeigt. Ein dünner Kanal ist bevorzugt, wenn eine höhere Auflösung beim Ablesen erforderlich ist, während ein dicker bevorzugt ist, wenn die Auflösung kein Problem ist, aber das Minimieren der Fläche des Chips. In einem weiteren Ausführungsbeispiel der Mengenablesung kann das geometrische Merkmal und/oder die beschriftete Skala allein oder zusammen verwendet werden, um das Ablesen zu unterstützen.

**[0063]** Die Skala kann die Länge des Kanals, die reagiert hat, angeben, dann kann die Ablesung in die echte Menge des Analyten durch eine Nachschlagetabelle oder eine Kalibrierungskurve umgewandelt werden. Oder die Skala kann direkt die kalibrierte Menge des Analyten ohne manuelle Umwandlung angeben.

**[0064]** [Fig. 8](#) zeigt ein Beispiel der Probesteststruktur **1** im Mikrofluidchip für die quantitative Analyse, welche eine Probeneinlaßöffnung **2**, einen Analyterfassungsbereich **3**, der aus einer Vielzahl von Mikrofluidkanälen, beispielsweise zwei Mikrofluidkanälen **4**, die in der Weise einer Reihenverbindung konstruiert sind, konstruiert ist, und eine aktive Fluidantriebsvorrichtung **51**, beispielsweise eine Pumpe, umfaßt. Ein Mikrofluidkanal ist mit einem Reaktionsstartpunkt versehen, der dort beginnt, wo die immobilisierten Substanzen angeordnet sind. An einem Mikrofluidkanal ist eine Art der immobilisierten Substanzen **43** angebracht. Zwei Mikrofluidkanäle sind beispielsweise mit zwei Reaktionsstartpunkten versehen und an diesen können dieselben oder verschiedene Arten von immobilisierten Substanzen für die Zwecke eines Tests mit mehreren Analyten, eines Vergleichs, einer Bezugnahme oder einfach als Kontrolle angebracht sein.

**[0065]** [Fig. 9](#) zeigt ein Beispiel der Probesteststruktur **1** im Mikrofluidchip für die quantitative Analyse der vorliegenden Erfindung, welche eine Probeneinlaßöffnung **2**, einen Analyterfassungsbereich **3**, der aus einer Vielzahl von Mikrofluidkanälen, beispielsweise vier Mikrofluidkanälen **4**, die in der Weise einer Reihen/Parallel-Verbindung konstruiert sind, konstruiert ist, und eine aktive Fluidantriebsvorrichtung **51**, beispielsweise eine Pumpe, umfaßt. Jeder Mikrofluidkanal ist mit einem Reaktionsstartpunkt versehen, nach

dem eine Art der immobilisierten Substanzen **43** angebracht ist. In einem Zweig sind zwei Mikrofluidkanäle jeweils mit ihren eigenen Reaktionsstartpunkten mit derselben oder einer unterschiedlichen Art von immobilisierten Substanzen für einen Test mit mehreren Analyten, zum Vergleich oder als Kontrolle angeordnet.

**[0066]** In einem weiteren Ausführungsbeispiel der Probenfeststruktur für die quantitative Analyse umfaßt die Struktur mehrere Probeneinlässe, mindestens einen Analyterfassungsbereich und mindestens eine Fluidantriebsvorrichtung. Dieselben oder verschiedene Arten von immobilisierten Substanzen können am Mikrofluidkanal innerhalb des Analyterfassungsbereichs angebracht sein.

**[0067]** In einem weiteren Ausführungsbeispiel der Probenfeststruktur können die immobilisierten Substanzen, die im Mikrofluidkanal angeordnet sind, aus der Liste von Antikörper, Antigen, Nukleinsäure, Ligand, Rezeptor, Enzymen, Peptid oder Protein oder anderen biologischen oder chemischen Substanzen ausgewählt werden, sind jedoch nicht darauf begrenzt, um sie auf die Art des zu erfassenden Analyten abzustimmen.

**[0068]** Wie in den [Fig. 10a](#), [Fig. 10b](#), [Fig. 10c](#) und [Fig. 10d](#) gezeigt, kann die Probenfeststruktur ferner einen Vorbehandlungsmechanismus **61** oder einen Nachbehandlungsmechanismus **71** umfassen. Ein Vorbehandlungsmechanismus **61** zum Modulieren der Probenbedingung könnte beispielsweise zwischen der Probeneinlaßöffnung **2** und dem Analyterfassungsbereich **3** angebracht sein, wie in [Fig. 10a](#) gezeigt. Die Teststruktur kann ferner einen Nachbehandlungsmechanismus **71** umfassen, um die Identifikation des Analyten im Analyterfassungsbereich vorzusehen oder zu verbessern, wie in [Fig. 10b](#) gezeigt.

**[0069]** Die Probenfeststruktur kann eine Kombination eines Vorbehandlungsmechanismus **61** und eines Nachbehandlungsmechanismus **71** umfassen, wie in den [Fig. 10c](#) und [Fig. 10d](#) gezeigt. Der Vorbehandlungsmechanismus **61** kann einen Analytmarkierungsmechanismus zum Markieren des Analyten der Probe umfassen. Verfahren zum Markieren des Analyten umfassen Enzym, Fluoreszenz, Lumineszenz, Nanoteilchen oder andere Substanzen, die mit einem Farbeffekt versehen sind. Der Analyt kann beispielsweise mit Farbteilchen oder einen Antikörper bindenden Farbteilchen konjugiert werden. Moleküle mit Färbefähigkeit können auch an den Analyten gebunden werden. Der Vorbehandlungsmechanismus kann auch einen Volumenkontrollmechanismus, um das in den Analyterfassungsbereich eingelassene Volumen zu kontrollieren; oder einen Probenkonzentrations-Modulationsmechanismus zum Verdünnen oder Konzentrieren der Probe; oder einen Probenzusam-

mensetzungs-Modulationsmechanismus, um Probe zu beseitigen, hinzuzufügen oder deren Zusammensetzung zu ändern, beispielsweise Entfernen oder Zerstören der Blutkörperchen im Blut; oder ein Mischelement, um die Gleichmäßigkeit der Lösung zu verbessern; oder ein Entgasungselement, um Luftblasen in der Probe auszuschließen, umfassen.

**[0070]** Der Nachbehandlungsmechanismus kann ein Waschmechanismus sein, um den Analyterfassungsbereich nach der Reaktion zu waschen.

**[0071]** In einem weiteren Beispiel der Teststruktur kann auch ein Instrument verwendet werden, um die Marker des Analyten zu lesen, ob sich die Marker im sichtbaren Lichtspektrum befinden oder nicht. Dann kann die Länge des Kanals mit Reaktionen gemessen werden und der Analyt quantifiziert werden. Der Vorteil der Anwendung eines Lesegeräts besteht darin, daß das verwendete Lesegerät nicht sehr empfindlich sein muß. Da die zur Reaktion gebrachten immobilisierten Substanzen in einem kompakten Bereich kondensieren, ist das Lesesignal des Bereichs hoch, die Empfindlichkeitsanforderung des Lesegeräts ist nicht so kritisch, wie es der Fall ist, wenn die vorliegende Erfindung nicht angewendet wird.

**[0072]** Die folgenden Beispiele werden verwendet, um die Vorteile der vorliegenden Erfindung weiter zu demonstrieren.

Beispiel 1: Anwenden einer Geschwindigkeitskontrolle auf einen quantitativen Test des Analyten

**[0073]** In diesem Beispiel wurden eine Photolithographie eines MEMS-Prozesses und Polymermaterialien angewendet, um die Probenfeststruktur herzustellen. Zwei Proben mit verschiedenen Mengen des Analyten wurden unter Verwendung der in der vorliegenden Erfindung dargestellten quantitativen Analytenteststruktur getestet. Die Struktur war aus einem oberen und einem unteren Substrat konstruiert. Das obere Substrat bestand aus einem hydrophoben Polymer, auf dem ein dünner Serpentin kanal als Probenweg fungiert und zwei Mulden an seinen zwei Enden als Probeneinlaßöffnung und Abfallmulde fungieren. Das untere Substrat bestand aus Glas, an das chemische Funktionsgruppen gepropft waren. Die Anordnung der zwei Substrate bildete die Probenfeststruktur. Eine externe Pumpe wurde an die Abfallmulde angeschlossen, um die Probe im Mikrofluidkanal sowohl in der Breite als auch Tiefe 100 µm anzutreiben. Die Anordnung des Chips ist ähnlich zu der in [Fig. 2](#) gezeigten, wobei jeder gerade Abschnitt des U-förmigen Kanals (L) 8 mm lang ist. EDTA-Pulver, das gerinnungshemmende Mittel, wurde lose an der Probeneinlaßöffnung angeordnet. Ab dem Reaktionsstartpunkt **41** wurde Ziegen-Anti-Maus-IgG, 5,6 mg/ml, immobilisiert, um den in ganzem Blut ver-



mischten Analyten Maus-IgG C zu erfassen. Der Analyt wurde mit kolloidalem Gold markiert, um eine sichtbare rosa Farbe zu zeigen. Eine Probenfließgeschwindigkeit von 0,8 mm/min wurde in diesem Fall angewendet, um eine ausreichende Reaktion zu ermöglichen. Zwei Chips wurden gleich verwendet, um zwei Proben zu testen: der Chip 1 und Chip 2 empfangen dieselbe Konzentration der Probe Maus-IgG CGC, OD540 = 50, jedoch mit unterschiedlichen Volumina – 1,5 µl bzw. 3 µl. Die Probe wurde in die Einlaßmulde gefüllt, durch die Pumpe angetrieben und mit den immobilisierten Substanzen an der Wand des Kanals zur Reaktion gebracht. Die Ergebnisse zeigten, daß bei der korrekten Fließgeschwindigkeitskontrolle die immobilisierten Substanzen, die reagierten, hauptsächlich am vorderen Abschnitt des Kanals angeordnet waren, während der hintere Abschnitt des Kanals in der Farbe unverändert bleibt, da die Analyten am vorderen Abschnitt verbraucht wurden. Durch Beobachten der Länge des rosa Abschnitts, der reagierte, kann die Menge des Analyten kalibriert werden.

**[0074]** Nach der Reaktion war die Länge des Kanals, die reagierte, 88 mm +/- 4 mm auf dem Chip 1 und 160 mm +/- 8 mm auf dem Chip 2. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, daß die Menge des Analyten im Chip 1 die Hälfte von jener des Chips 2 war, wie erwartet wurde. Die Ergebnisse zeigten, daß das Antreiben der Probe mit der zweckmäßigen Geschwindigkeit durch einen dünnen, langen und gekrümmten Mikrofluidkanal die sequentielle Reaktion von immobilisierten Substanzen ermöglicht, was die quantitative Messung des Analyten auf der Basis der Messung der Länge des Kanals, die reagierte, ermöglicht. Kein Instrument war erforderlich, um die Ergebnisse in diesem Beispiel zu lesen.

Beispiel 2: Anwenden einer Geschwindigkeitskontrolle und von lokalen Maßmodifikationen auf einen quantitativen Test des Analyten

**[0075]** In diesem Beispiel waren die verwendeten Materialien und der auf die Teststruktur angewendete Herstellungsprozeß dieselben wie jene in Beispiel 1. Dieses Beispiel unterscheidet sich jedoch vom vorangehenden darin, daß lokale Modifikationen an den Abmessungen des Kanals bestanden – eine Art von passiven Fluidmodulationselementen wurde im vorliegenden Fall eingeführt. Im Analytenerfassungsbereich wurde der 300 µm breite Kanal in der Breite asymmetrisch auf 150 µm in jedem Abstand von 2 mm verringert.

**[0076]** Eine Probesteststruktur im Mikrofluidchip modulierte in diesem Fall die Reaktion durch Kontrollieren der Fließgeschwindigkeit und durch Veränderungen der geometrischen Formen des Mikrofluidkanals für die quantitative Analytenanalyse. Ziegen-Anti-Maus-IgG, 5,6 mg/ml, wurde an der Wand des Ka-

nals immobilisiert. Eine aktive externe Pumpe wird verwendet, um die Probe anzutreiben, was veranlaßt, daß sie mit 12 mm/min, schneller als die in Beispiel 1, fließt. Zwei verschiedene Proben wurden an zwei Chips derselben Art getestet. Der Chip 1 hatte 4 µl des markierten Analyten Maus-IgG CGC, OD540 = 50, während der Chip 2 2 µl des markierten Analyten Maus-IgG CGC, OD540 = 50, verdünnt in 2 µl Wasser, hatte. Die Testprozedur war dieselbe wie in Beispiel 1. Die Länge des rosa Kanals, die reagierte, für den Chip 1 war 136 mm +/- 20 mm. Für den Chip 2 war sie 72 mm +/- 16 mm. Das Verhältnis der Längen der zwei Chips entsprach dem Verhältnis der Mengen des in die Chips gefüllten Analyten.

Beispiel 3: Anwenden einer Geschwindigkeitskontrolle und von Modifikationen an der lokalen Abmessung und Form auf einen quantitativen Test des Analyten

**[0077]** In diesem Beispiel waren die verwendeten Materialien, der angewendete Herstellungsprozeß und die abwechselnde Breite des Kanals (300 µm volle Breite, asymmetrisch verschmälert auf 150 µm) in der Teststruktur dieselben wie jene in Beispiel 2. Der Fluß wurde mit 12 mm/min wie in Beispiel 2 angetrieben.

**[0078]** In diesem Beispiel waren jedoch Vorsprünge im Analyt erfassungsbereich angeordnet, so daß ein lokaler turbulenter Fluß die Gelegenheit für einen Kontakt zwischen dem Analyten und den immobilisierten Substanzen verbesserte. Ziegen-Anti-Maus-IgG, 5,6 mg/ml, wurde an der Wand des Kanals immobilisiert.

**[0079]** Eine aktive externe Pumpe wurde verwendet, um die Probe anzutreiben, was veranlaßte, daß sie mit 12 mm/min, schneller als in Beispiel 1, floß. Zwei verschiedene Proben wurden an zwei Chips derselben Art getestet. Der Chip 1 hatte 6 µl markierten Analyten Maus-IgG CGC, OD540 = 50, während der Chip 2 3 µl markierten Analyten Maus-IgG CGC, OD540 = 50, in 3 µl Wasser verdünnt, die halbe Konzentration von jener im Chip 1, hatte. Die Testprozedur war dieselbe wie in Beispiel 2. Die Länge des rosa Kanals, die reagierte, für den Chip 1 war 112 mm +/- 8 mm. Die Länge des rosa Kanals, die reagierte, für den Chip 2 war 64 mm +/- 8 mm. Das Verhältnis der Längen der zwei Chips entsprach dem Verhältnis der Mengen des in die Chips gefüllten Analyten. Schlußfolgerungen können aus diesen Beispielen gezogen werden, die darauf hindeuten, daß die Probesteststruktur in der vorliegenden Erfindung die quantitative Messung von Analyt in der Probe ermöglicht. Kein Leseinstrument wurde in irgendeinem dieser drei Beispiele verwendet.

### Patentansprüche

1. Verwendung eines Mikrofluidchips mit einer

Probenteststruktur (1) zur quantitativen Analyse, wobei die Probenteststruktur (1) aufweist:

eine Probeneinlassöffnung (2) zum Eingeben einer Testprobe;

einen Analyterfassungsbereich (3), der mit der Probeneinlassöffnung (2) gekoppelt ist und aus mindestens einem Mikrofluidkanal (4) besteht, in dem beginnend an einem Reaktionsstartpunkt (41) eine Substanz immobilisiert ist, die in der Lage ist, mit dem Analyten zu reagieren, und wobei eine Fluidantriebsvorrichtung (51) vorhanden ist, die in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Flusses der Testprobe durch den Analyterfassungsbereich (3) zu kontrollieren, eine Skala (6) zum Ablesen des Mikrofluidkanals (4), der reagiert hat, wobei der Mikrofluidkanal (4) des Analyterfassungsbereichs in gekrümmter Form vorliegt,

wobei auf die Menge des Analyten aus der Länge des Teils des Mikrofluidkanals (4) geschlossen wird, in dem der Analyt ab dem Reaktionsstartpunkt (41) mit der immobilisierten Substanz reagiert hat und wobei die echte Menge des Analyten durch eine Nachschlagetabelle oder eine Kalibrierungskurve aus der abgelesenen Länge ermittelt wird.

2. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei der Mikrofluidkanal (4) des Analyterfassungsbereichs (3) eine beschriftete Skala (6) aufweist.

3. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei die Fluidantriebsvorrichtung (51) aus einer aktiven Fluidantriebsvorrichtung, einer passiven Fluidantriebsvorrichtung oder einer Kombination davon besteht.

4. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 3, wobei die aktive Fluidantriebsvorrichtung in der Lage ist, die Geschwindigkeit des Fluidflusses über die Zeit zu verändern.

5. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 3 oder 4, wobei die aktive Fluidantriebsvorrichtung eine Pumpe ist.

6. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 3, wobei die passive Fluidantriebsvorrichtung in der Lage ist, eine Kapillarwirkung zu erzeugen, um den Fluidfluss in dem Mikrofluidkanal (4) des Analyterfassungsbereichs (3) anzutreiben.

7. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei der Mikrofluidkanal (4) des Analyterfassungsbereichs (3) ferner ein passives Fluidmodulationselement (52) enthält.

8. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 7, wobei das Modulationselement (52) des Analyterfassungsbereichs (3) eine lokale Modifikation an den Abmessungen oder Formen des Mikroflu-

idkanals (4) aufweist.

9. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 7, wobei das Modulationselement (52) des Analyterfassungsbereichs (3) ein Teil des Mikrofluidkanals (4) ist und aus hydrophilen Materialien, hydrophoben Materialien oder einer Kombination davon besteht, um eine ganze oder teilweise Modifikation der inneren Oberfläche des Teils des Mikrofluidkanals (4) herzustellen.

10. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 7, wobei das passive Fluidmodulationselement (52) mit Vorsprüngen oder Vertiefungen an der inneren Oberfläche des Mikrofluidkanals (4) versehen ist.

11. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei die Probenteststruktur (1) aus einem oberen und einem unteren Substrat besteht.

12. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 11, wobei die Strukturmaterialien für die Substrate aus Polydimethylsiloxan (PDMS), Polycarbonat (PC), zyklischen Olefincopolymeren (COC), Polystyrol (PS), Polymethylmethacrylat (PMMA), Silikon, PU, PEEK-ABS, PP, PET, PTFE, PVDF, POM, UPE, HOPE, PVC, Glass, Silizium oder Kombinationen davon ausgewählt sind.

13. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei die immobilisierte Substanz einen Antikörper, ein Antigen, eine Nukleinsäure, einen Liganden, einen Rezeptor, ein Enzym, ein Peptid oder ein Protein enthält.

14. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei die immobilisierte Substanz mit einem festen Träger gekoppelt ist und der Träger ein Teil der Oberfläche des Mikrofluidkanals (4) ist.

15. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 14, wobei der feste Träger entweder teilweise oder vollständig durch eine spezifische funktionale Gruppe modifiziert ist.

16. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 14 oder 15, wobei der feste Träger aus Nitrocellulose, Latex, Nylon, Polystyrol oder einer Kombination davon besteht.

17. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 16, wobei der feste Träger als Kügelchen, Teilchen, Magneteilchen, Glasfaser oder eine Kombination davon ausgebildet ist.

18. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 16, wobei der feste Träger aus einer Schicht aus porösen Materialien gebildet ist.

19. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei der Analyterfassungsbereich (3) aus einer Vielzahl von Mikrofluidkanälen (4) konstruiert ist, die parallel oder als Reihe oder Kombination davon ausgebildet sind.

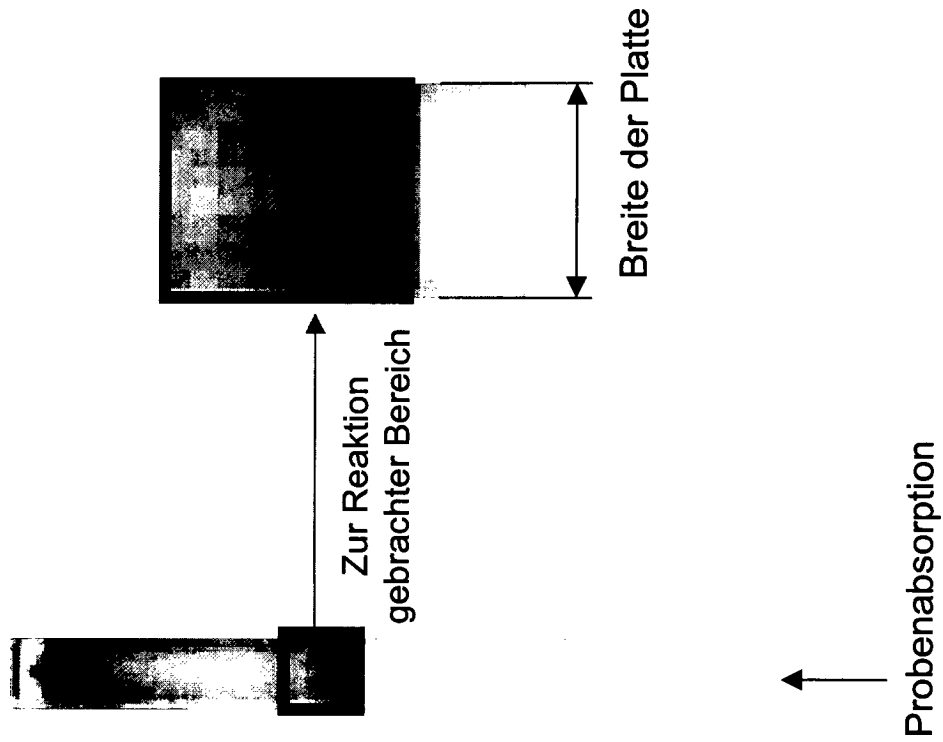
20. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 19, wobei in der Vielzahl von Mikrofluidkanälen (4) jeweils eine Art von Substanz immobilisiert ist, um mindestens eine Art von Analyt zu erfassen.

21. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei die Probeneststruktur (1) einen Vorbehandlungsmechanismus (61) aufweist, der sich zwischen der Probeneinlassöffnung (2) und dem Analyterfassungsbereich (3) befindet, um die Reaktion der in den Analyterfassungsbereich (3) gelangten Probe zu unterstützen.

22. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 21, wobei der Vorbehandlungsmechanismus (61) ferner ein Entgasungselement umfasst, um Luftblasen aus der Probe auszuschließen.

23. Verwendung eines Mikrofluidchips nach Anspruch 1, wobei die Probeneststruktur (1) ferner einen Nachbehandlungsmechanismus (71) umfasst, der mit dem Analyterfassungsbereich (3) gekoppelt ist, um den Analyterfassungsbereich (3) nach der Reaktion zu waschen.

Es folgen 16 Blatt Zeichnungen



**Stand der Technik**

Fig. 1

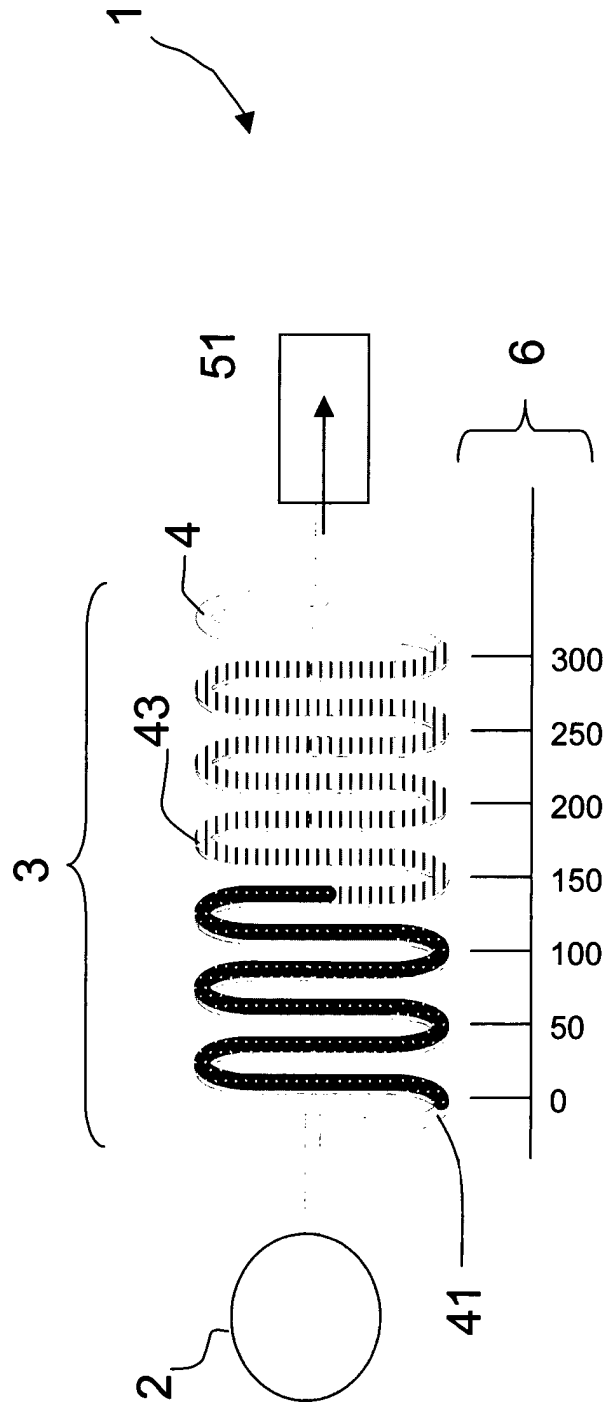


Fig. 2



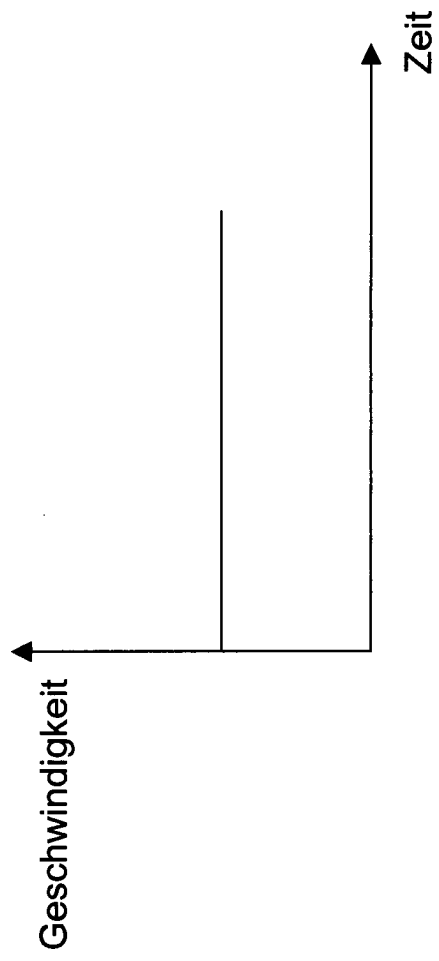


Fig. 3a

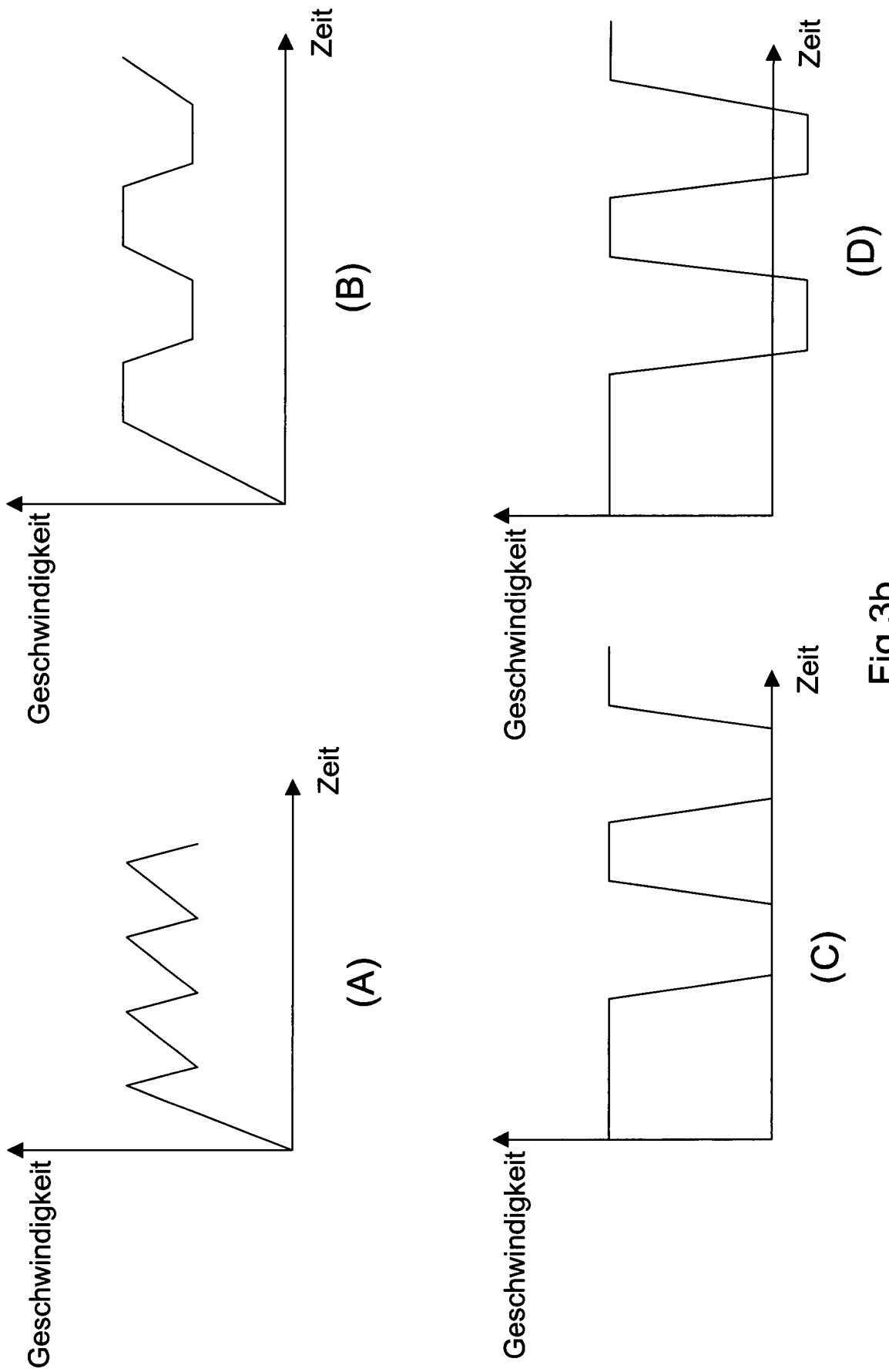


Fig.3b

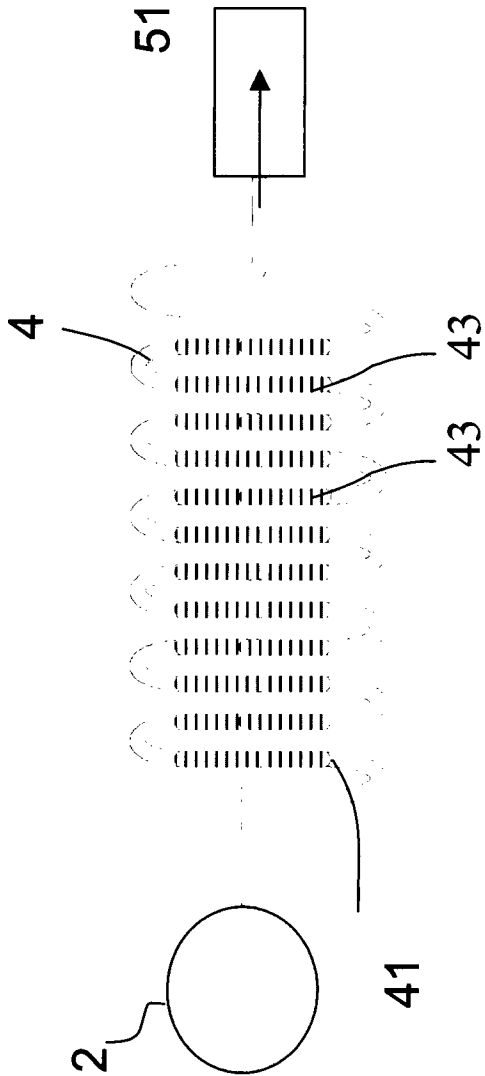


Fig. 4a

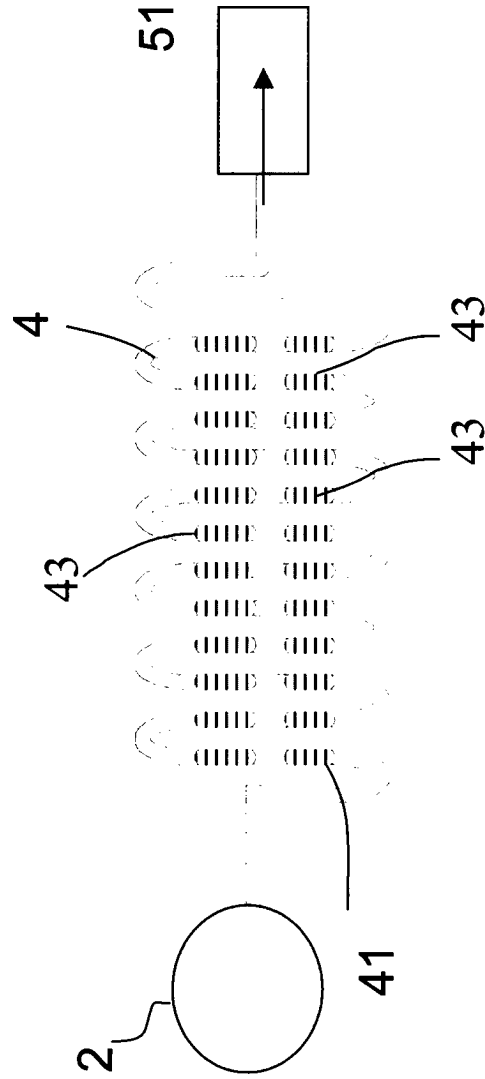


Fig. 4b

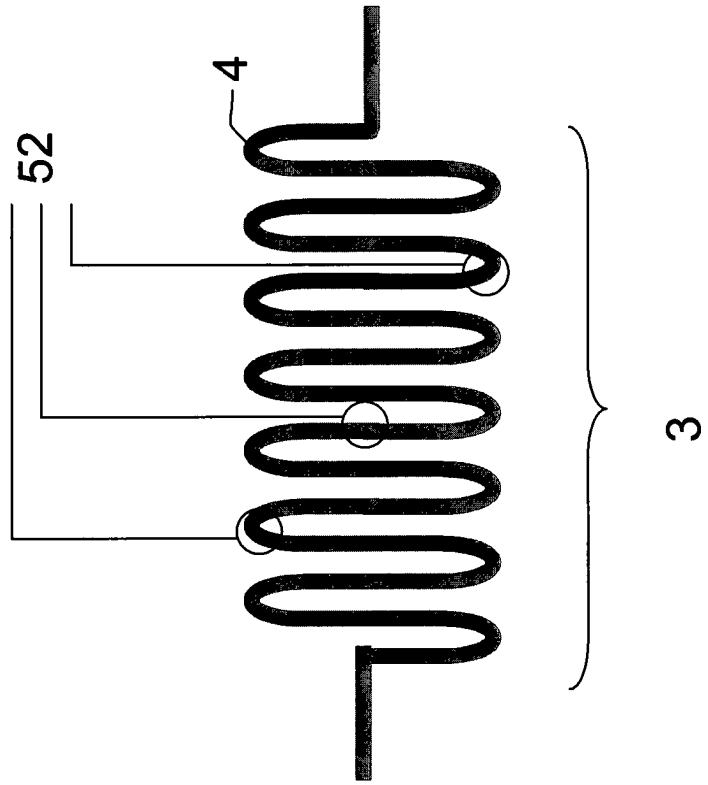


Fig 5a



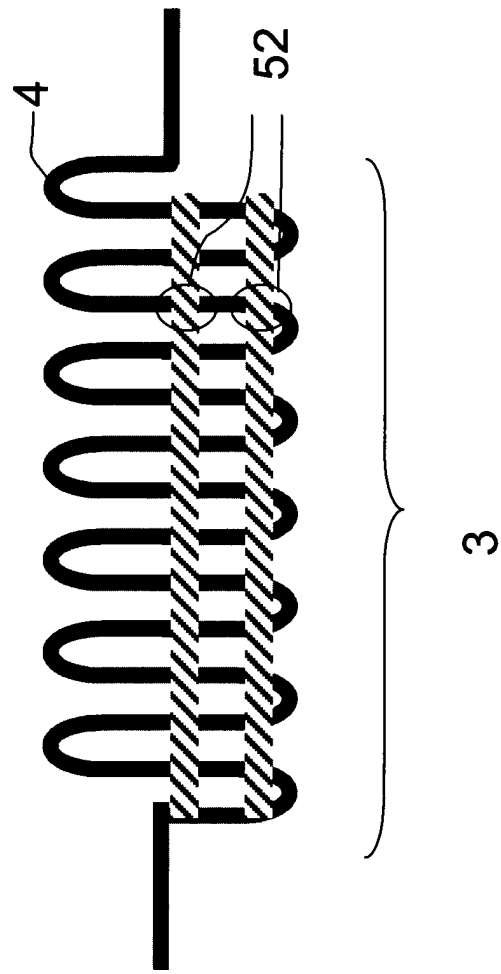


Fig. 5b

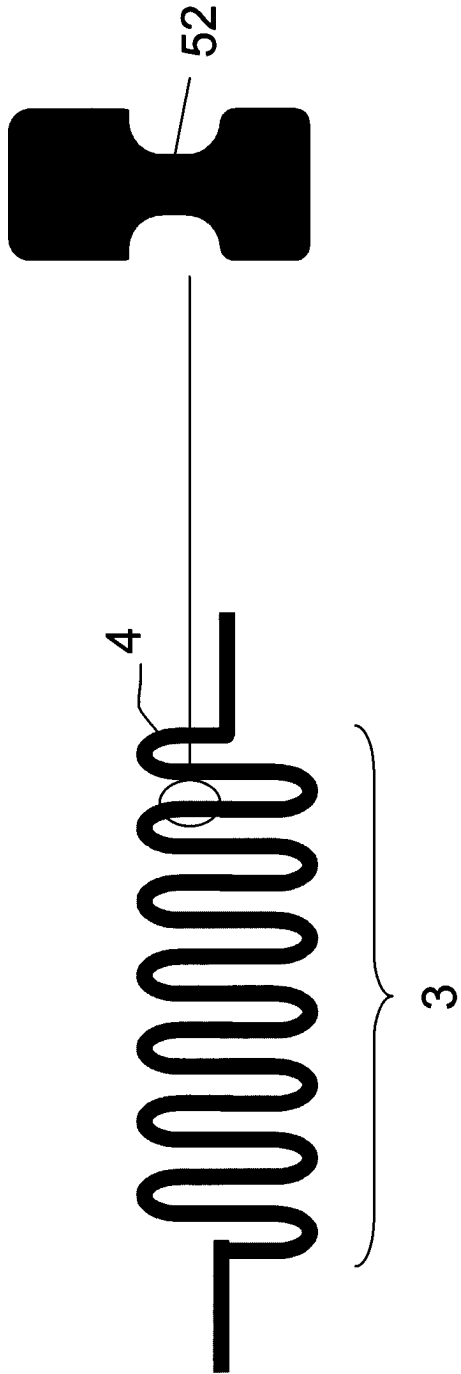


Fig 5c

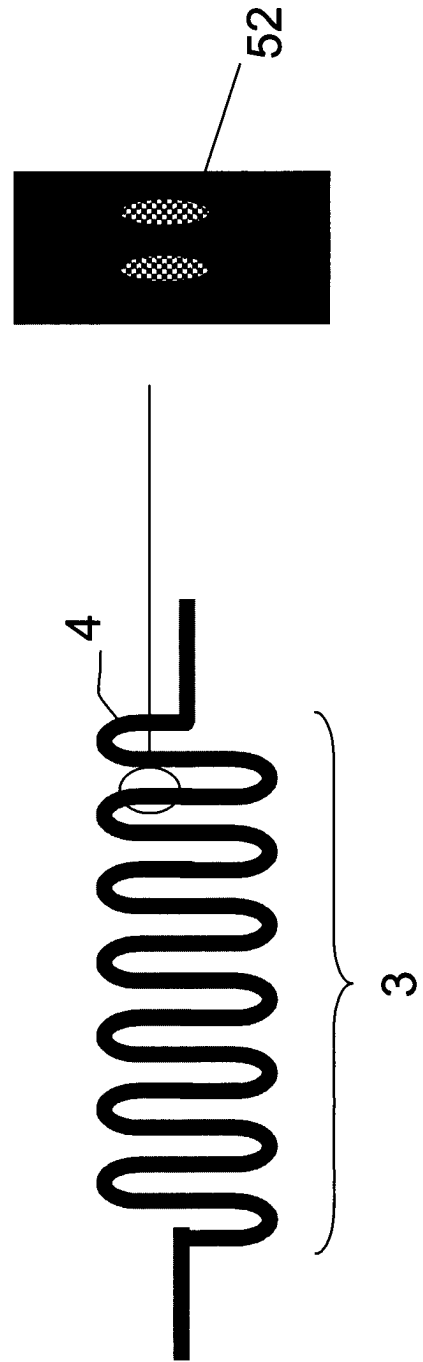


Fig 5d

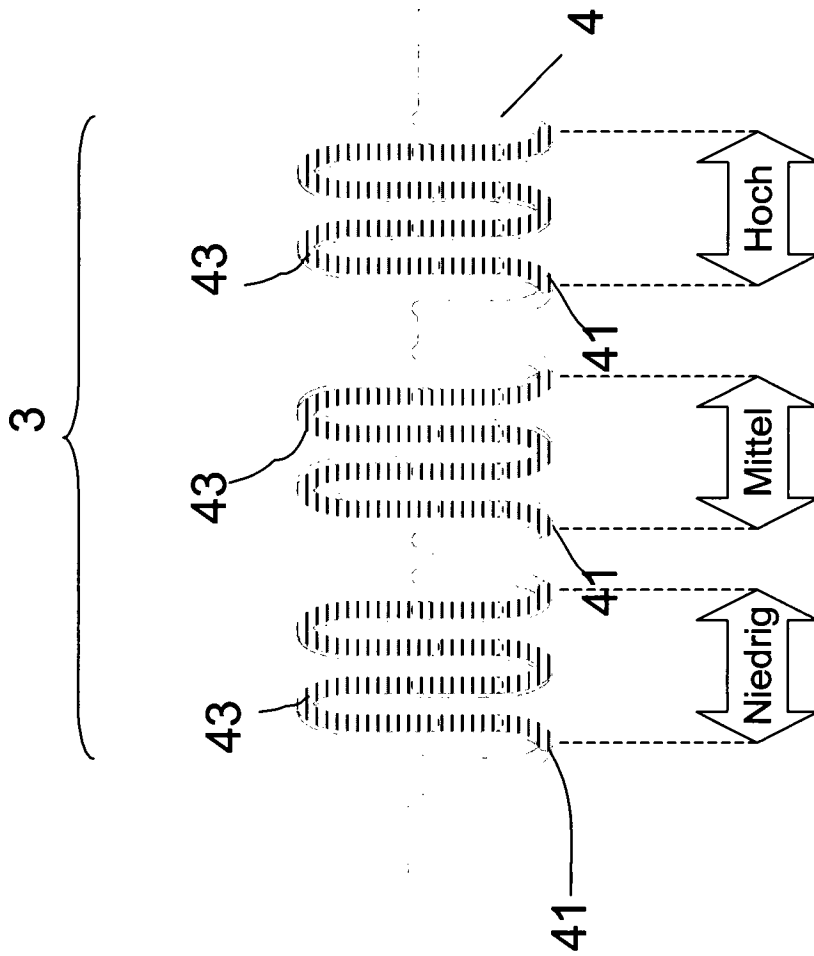


Fig. 6a

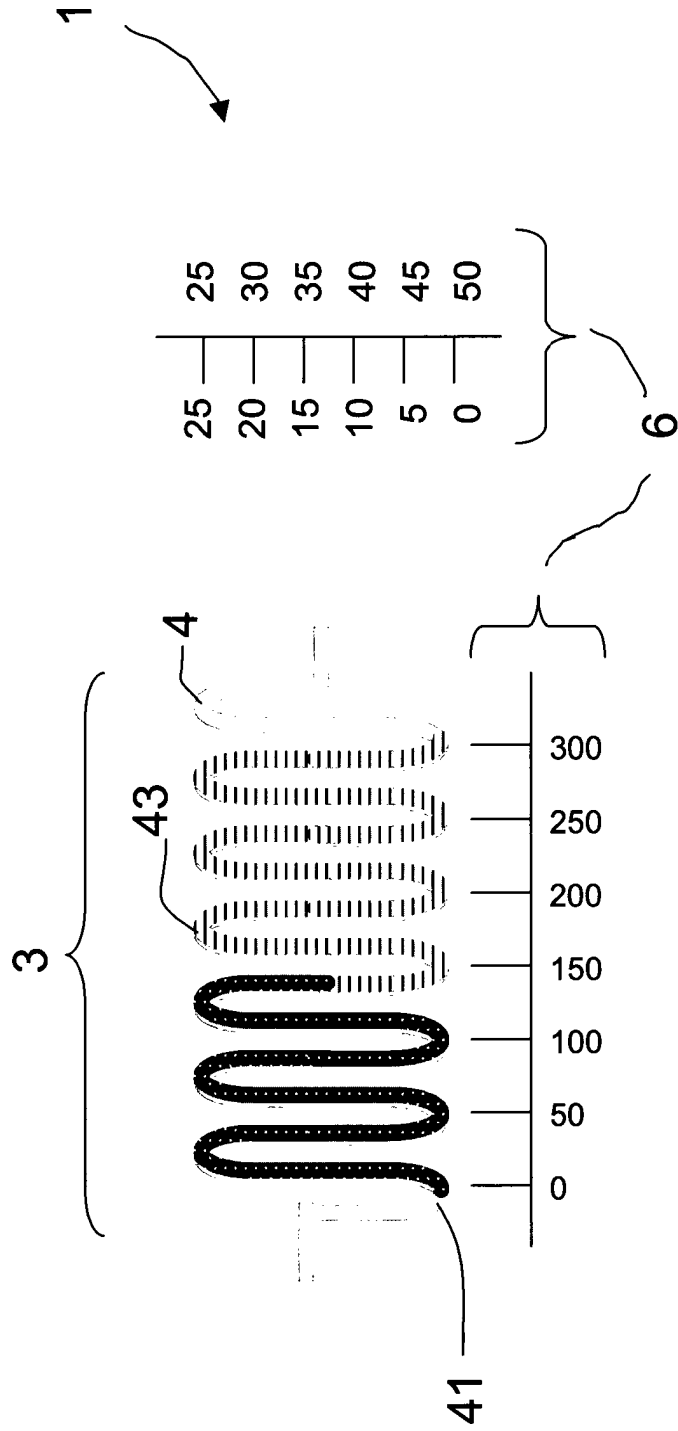


Fig. 6b

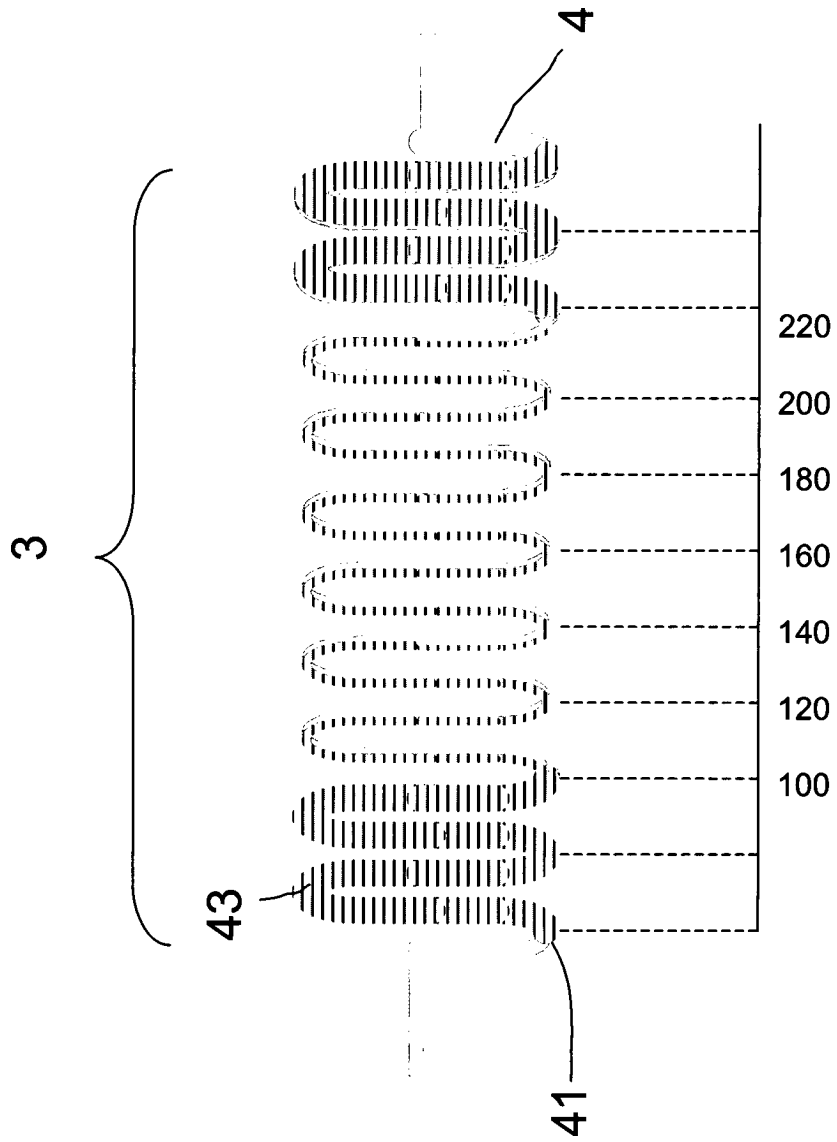


Fig. 7



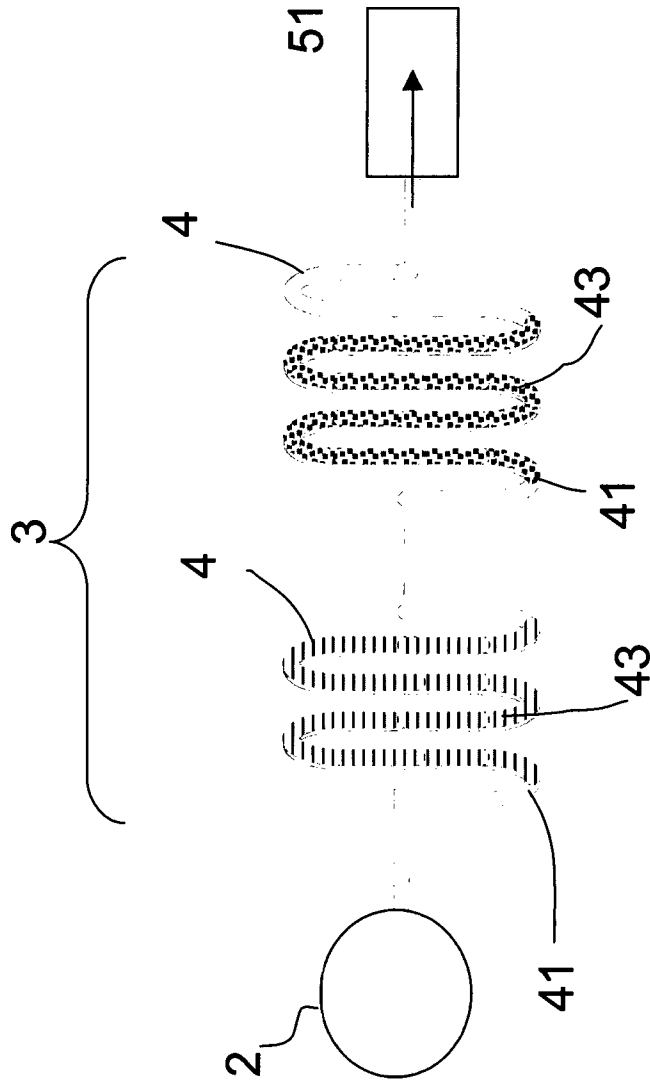


Fig. 8

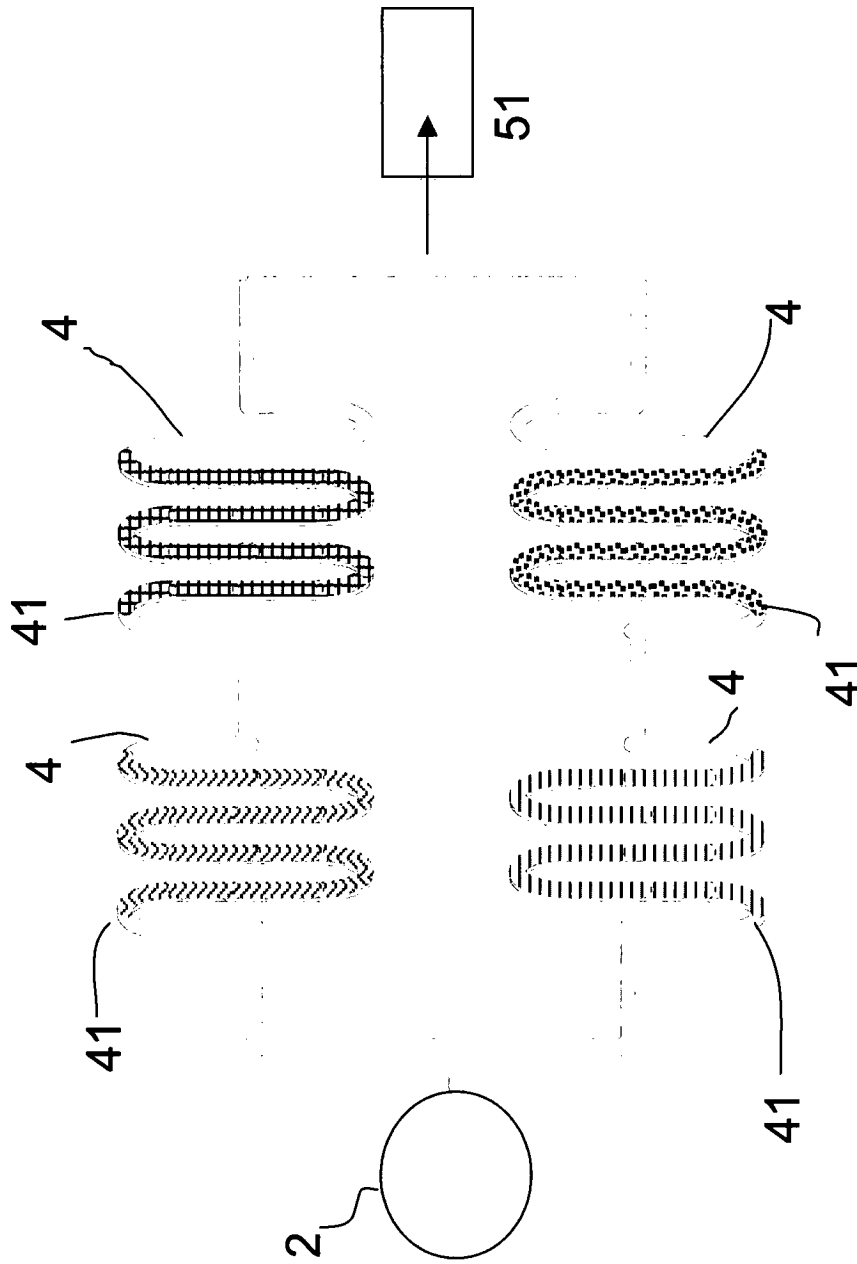
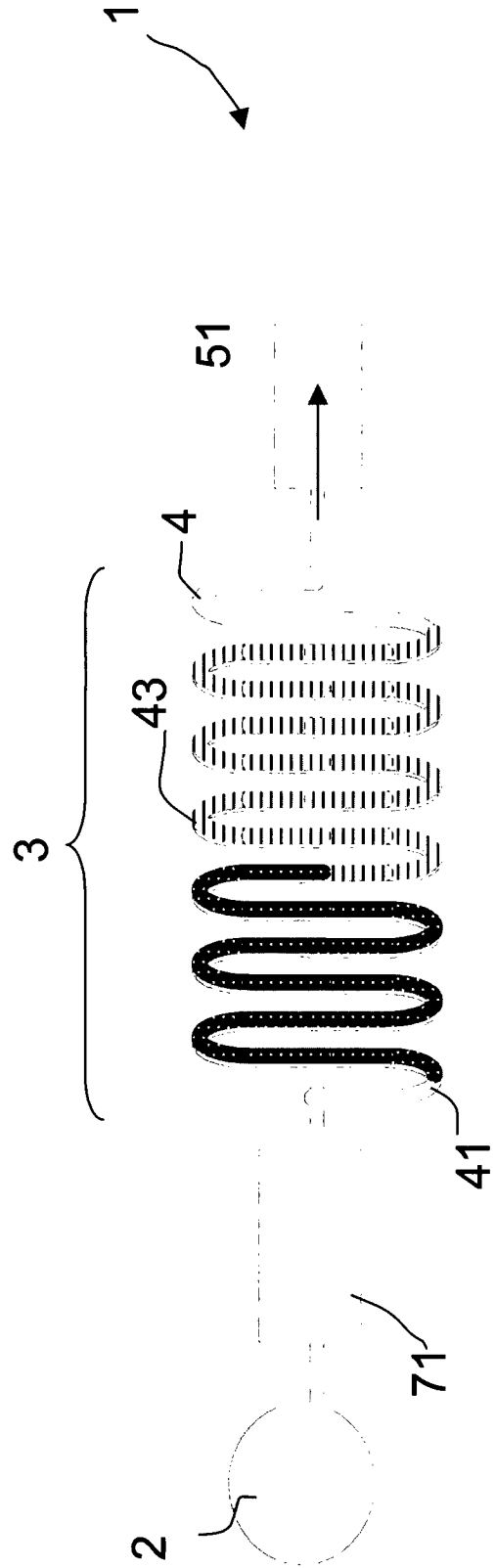
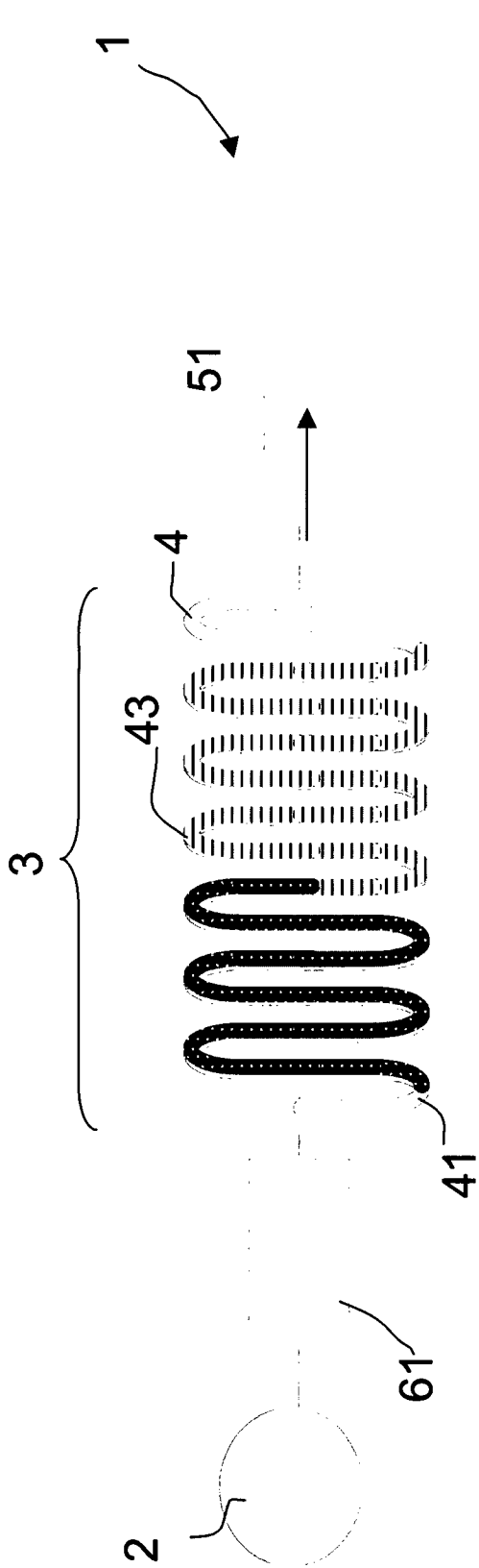


Fig. 9



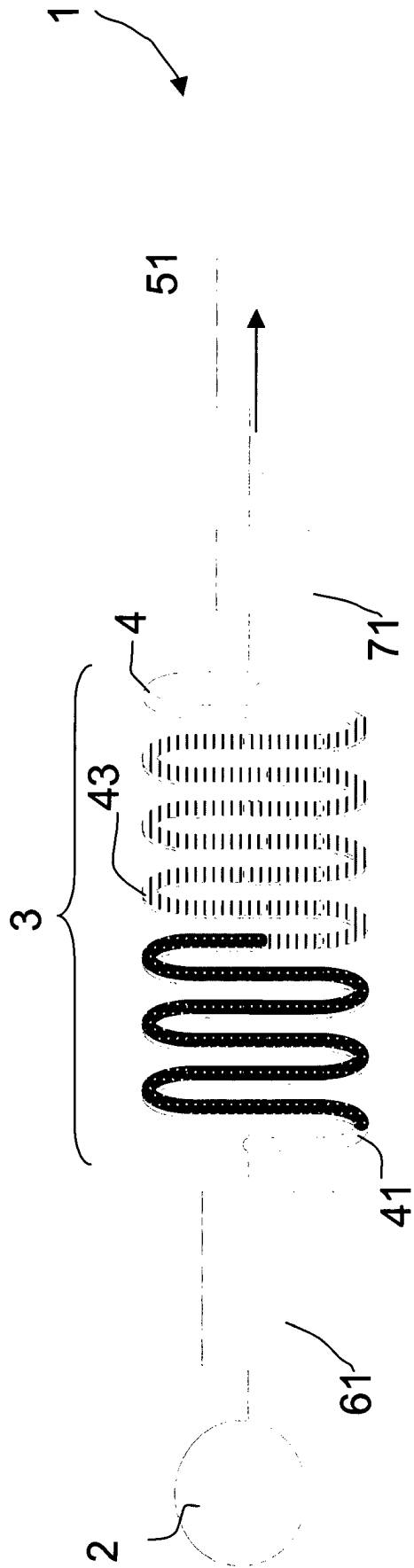


Fig 10c

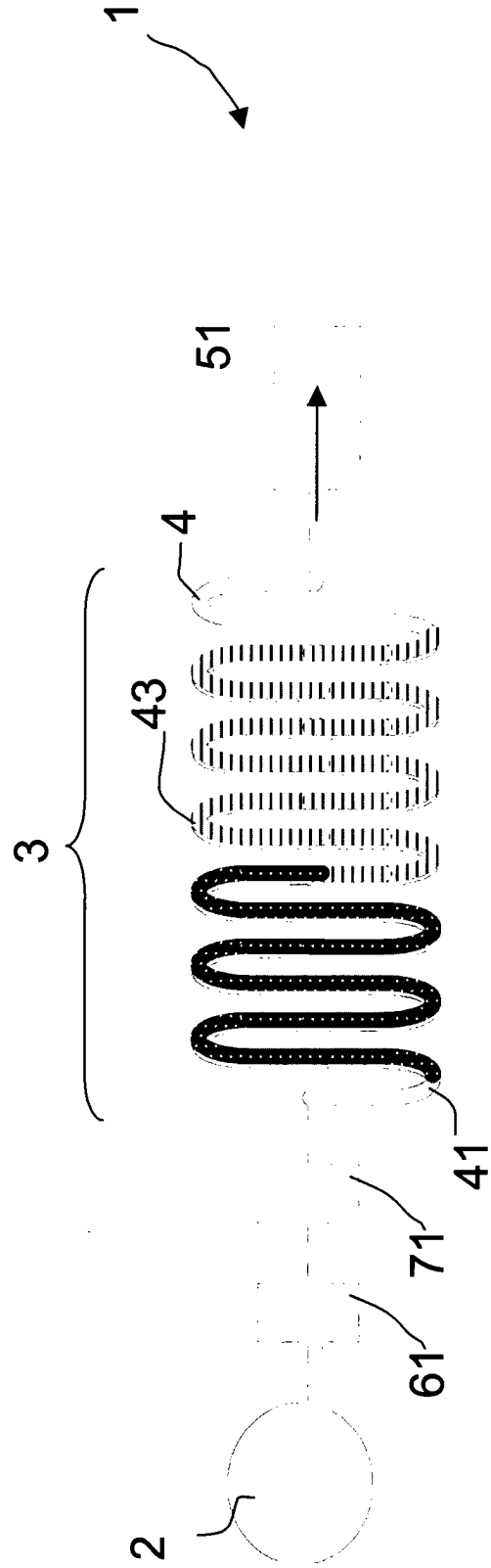


Fig 10d