

(19)



(11)

EP 2 329 877 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
08.06.2011 Patentblatt 2011/23

(21) Anmeldenummer: **09015031.9**

(22) Anmeldetag: **04.12.2009**

(51) Int Cl.:
B01F 1/00 (2006.01) **B01F 9/00** (2006.01)
B01F 11/00 (2006.01) **B01F 13/00** (2006.01)
B01F 15/02 (2006.01) **B01L 3/00** (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL BA RS

(71) Anmelder:
• **Roche Diagnostics GmbH**
68305 Mannheim (DE)
Benannte Vertragsstaaten:
DE
• **F. Hoffmann-La Roche AG**
4070 Basel (CH)
Benannte Vertragsstaaten:
AT BE BG CH CY CZ DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR

(72) Erfinder:
• **Augstein, Manfred**
68305 Mannheim (DE)
• **Würl, Susanne**
68167 Mannheim (DE)
• **Effenhauser, Carlo, Dr.**
69469 Weinheim (DE)
• **Böhm, Christoph**
68519 Viernheim (DE)
• **Oosterbroek, Edwin, Dr.**
6330 Cham (CH)

(74) Vertreter: **Durm & Partner**
Moltkestrasse 45
76133 Karlsruhe (DE)

(54) Mikrofluidisches Element zur Analyse einer Flüssigkeitsprobe

(57) Mikrofluidisches Element zur Analyse einer Körperflüssigkeitsprobe auf einen darin enthaltenen Analyten mit einem Substrat (5) und einer von dem Substrat (5) und einer Deckschicht umschlossenen Kanalstruktur (2), das um eine Rotationsachse rotierbar ist. Die Kanalstruktur (2) des mikrofluidischen Elements (1) schließt einen Zuführkanal (6) mit einer Zuführöffnung (9), einen Entlüftungskanal (10) mit einer Entlüftungsöffnung (11) und wenigstens zwei Reagenzkammern (13) ein. Die Reagenzkammern (13) sind über zwei Verbindungskanäle (14) derart miteinander verbunden, dass ein Fluidaustausch zwischen den Reagenzkammern (13) möglich ist, wobei eine der Reagenzkammern (13) eine Einlassöffnung (23) aufweist, die in Fluidverbindung mit dem Zuführkanal (6) steht, so dass eine Flüssigkeitsprobe in die rotationsachsenferne Reagenzkammer (13a) fließen kann. Wenigstens eine der Reagenzkammern (13) enthält ein Reagenz (35), das mit der Flüssigkeitsprobe reagiert.

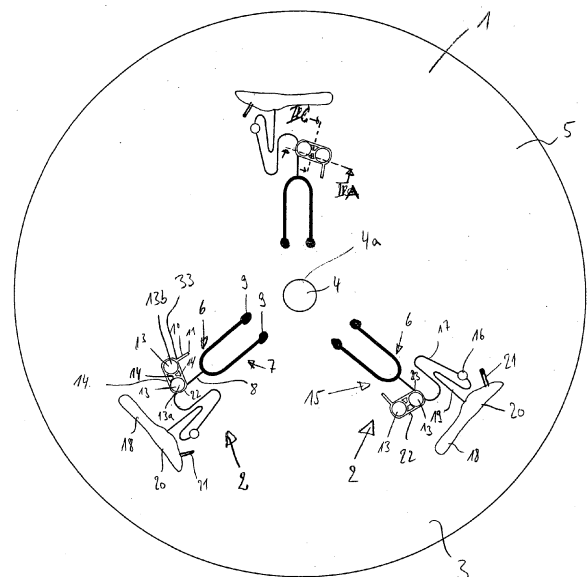


Fig. 1

EP 2 329 877 A1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein mikrofluidisches Element zur Bestimmung eines Analyten in einer Flüssigkeitsprobe, bevorzugt in einer Körperflüssigkeitsprobe. Das Element umfasst ein Substrat und eine Kanalstruktur, die von dem Substrat und einer Deckschicht umschlossen wird.

[0002] Mikrofluidische Elemente zum Analysieren einer Flüssigkeitsprobe und zum Durchmischen einer Flüssigkeit mit einem Reagenz werden in diagnostischen Tests (In-Vitro-Diagnostik) eingesetzt. Bei diesen Tests werden Körperflüssigkeitsproben auf einen darin enthaltenen Analyten für medizinische Zwecke untersucht. Der Begriff Durchmischen umfasst dabei sowohl die Möglichkeit, dass das Reagenz in flüssiger Form vorliegt, dass also zwei Flüssigkeiten miteinander gemischt werden. Daneben umfasst der Begriff die Möglichkeit, dass das Reagenz als Feststoff vorliegt und in einer Flüssigkeit aufgelöst und homogenisiert wird. In vielen Anwendungsfällen wird das feste Trockenreagenz in flüssiger Form in das fluidische Element eingebracht und in einem weiteren Schritt getrocknet, bevor das Element zur Analyse verwendet wird. Ein wichtiger Bestandteil bei der Analyse sind Testträger, auf denen mikrofluidische Elemente mit Kanalstrukturen zur Aufnahme einer Flüssigkeitsprobe vorhanden sind, um die Durchführung aufwendiger und mehrstufiger Testführungen ("Testprotokolle") zu ermöglichen. Ein Testträger kann ein oder mehrere fluidische Elemente umfassen.

[0003] Testträger und fluidische Elemente bestehen aus einem Trägermaterial, üblicherweise aus einem Substrat aus Kunststoffmaterial. Geeignete Materialien sind beispielsweise COC (Cyclo-Olefin-Copolymer) oder Kunststoffe wie PMMA, Polycarbonat oder Polystyrol. Die Testträger weisen einen Probenanalysekanal auf, der von dem Substrat und einem Deckel oder einer Deckschicht umschlossen wird. Der Probenanalysekanal besteht häufig aus einer Aufeinanderfolge mehrerer Kanalabschnitte und dazwischen liegender im Vergleich zu den Kanalabschnitten erweiterter Kammern. Die Strukturen und Dimensionen des Probenanalysekanals mit seinen Kammern und Abschnitten werden durch eine Strukturierung von Kunststoffteilen des Substrats definiert, die beispielsweise durch Spritzgießtechniken oder andere Verfahren zur Herstellung von geeigneten Strukturen erzeugt werden. Auch ist es möglich, die Struktur durch materialabtragende Verfahren wie beispielsweise Fräsen einzubringen.

[0004] Fluidische Testträger werden beispielsweise bei immunchemischen Analysen mit einem mehrstufigen Testablauf verwendet, bei dem eine Trennung von gebundenen und freien Reaktionsbestandteilen stattfindet. Dazu ist ein gesteuerter Flüssigkeitstransport notwendig. Die Steuerung des Prozessablaufs kann mit internen (innerhalb des fluidischen Elements) oder mit externen (außerhalb des fluidischen Elements) Maßnahmen erfolgen. Die Steuerung kann auf der Anwendung von Druckun-

terschieden oder auch der Änderung von Kräften basieren, beispielsweise aus der Änderung der Wirkrichtung der Schwerkraft resultieren. Bei auftretenden Zentrifugalkräften, die auf einen rotierenden Testträger einwirken, kann eine Steuerung durch Änderung der Rotationsgeschwindigkeit oder der Drehrichtung oder durch den Abstand von der Drehachse vorgenommen werden.

[0005] Analysesysteme mit derartigen Testträgern sind beispielsweise aus folgenden Publikationen bekannt:

US 4,456,581

US 4,580,896

EP 1 077 771 B1

EP 1 944 612 A1

[0006] Zur Durchführung der Analysen enthält der Probenanalysekanal der mikrofluidischen Elemente zumindest ein Reagenz, das mit einer in den Kanal eingebrachten Flüssigkeit reagiert. Die Flüssigkeit und das Reagenz werden in dem Testträger miteinander so vermischt, dass eine Reaktion der Probenflüssigkeit mit dem Reagenz zu einer Änderung einer Messgröße führt, die für den in der Flüssigkeit enthaltenen Analyten charakteristisch ist. Die Messgröße wird an dem Testträger selbst gemessen. Gebräuchlich sind optisch auswertbare Messverfahren, bei denen eine Farbänderung oder eine andere optisch messbare Größe detektiert werden.

[0007] Für die Durchführung der Analyse ist es entscheidend, dass das in getrockneter Form vorliegende Reagenz von der Probenflüssigkeit gelöst und mit dieser durchmischt wird. Im Stand der Technik werden einige Anstrengungen unternommen, um das Durchmischen zu optimieren. Beispielsweise wird bei rotierenden Testträgern, die in einem Analysesystem um eine Rotationsachse gedreht werden, das Durchmischen durch schnelle Änderungen der Drehrichtung gefördert. Dieser entstehende "Schüttel-Modus" (Shake-Mode) ist in einer besonderen Ausprägung beispielsweise bei Markus Grumann, "Readout of Diagnostic Assays on a Centrifugal Microfluidic Platform", (Dissertation Universität Freiburg, 2005, URN (NBN): urn:nbn:de:bsz:25-opus-22723), beschrieben.

[0008] Weitere bekannte Methoden zur Verbesserung des Durchmischens von Probenflüssigkeit und Reagenz umfassen das Einbringen von Magnetpartikeln, die durch Einwirken eines Elektro- oder Permanentmagneten in Bewegung versetzt werden. Durch die Integration der Partikel steigt der Aufwand bei der Herstellung der Testträger. Zusätzlich müssen die Analysesysteme über weitere Komponenten, nämlich den Magneten, verfügen und wird deshalb teuer.

[0009] Andere Methoden schließen z. B. Elemente ein, deren Kapillarkanäle spezielle Strömungshindernisse enthalten. Die Herstellung derartiger Hindernisse, wie zum Beispiel Rippen, müssen in der Mikrostruktur ausgebildet werden und sind deshalb teuer und erschweren den Herstellungsprozess des Testträgers. Außerdem

eignen sich solche Strukturen nicht für alle Mischprozesse bzw. nicht für alle Reagenzien und Probenflüssigkeiten.

[0010] Trotz der vielfältigen Bemühungen, Mischvorgänge in mikrofluidischen Elementen, insbesondere das Durchmischen von getrockneten festen Reagenzien und Probenflüssigkeiten zu verbessern, besteht weiterer Bedarf an einem mikrofluidischen Element bzw. Testträger, bei dem das Durchmischen insbesondere von kleinen Probenflüssigkeiten verbessert ist. Des Weiteren soll das fluidische Element geeignet sein, um gleichzeitig unterschiedliche Reagenzien, die getrennt eingebracht sind und sich z. B. an unterschiedlichen räumlichen Stellen befinden, anzulösen und die Probenflüssigkeit mit unterschiedlichen Reagenzien reagieren zu lassen.

[0011] Gelöst wird das bestehende Problem durch ein mikrofluidisches Element mit den Merkmalen des Anspruchs 1.

[0012] Im Folgenden wird die Erfindung und deren Vorteile unter Bezugnahme auf einen Testträger zur Analyse einer Körperflüssigkeitsprobe auf einen darin enthaltenen Analyten ohne Einschränkung der Allgemeinheit eines mikrofluidischen Elements beschrieben und erläutert. Neben Körperflüssigkeiten können auch andere Probenflüssigkeiten analysiert werden.

[0013] Im Rahmen der Erfindung wird unter einem mikrofluidischen Element ein Element mit einer Kanalstruktur verstanden, bei dem die kleinste Dimension der Kanalstruktur mindestens 1 μm und dessen größte Dimension (beispielsweise Länge des Kanals) höchstens 10 cm beträgt. Aufgrund der kleinen Dimensionen und der kapillaren Kanalstrukturen herrschen in den Kanälen bzw. Kanalabschnitten vorwiegend laminare Strömungsverhältnisse. Die daraus resultierenden schlechten Bedingungen für ein Durchmischen von Flüssigkeit und Feststoff in solchen Kapillarkanälen werden durch das erfindungsgemäße mikrofluidische Element deutlich verbessert.

[0014] Das mikrofluidische Element rotiert um eine Rotationsachse. Die Rotationsachse erstreckt sich bevorzugt durch das mikrofluidische Element. Sie verläuft durch eine vorbestimmte Position, bevorzugt z. B. durch den Schwerpunkt oder den Mittelpunkt des Elements. In einer bevorzugten Ausgestaltung erstreckt sich die Rotationsachse senkrecht zur Oberfläche des fluidischen Elements, das bevorzugt eine flache, scheibenartige Form hat und z. B. eine runde Scheibe sein kann. Dazu ist das mikrofluidische Element beispielsweise in einer Halterung eines Analysegeräts gehalten, wobei die Rotationsachse von einer Drehwelle des Geräts gebildet wird. Durch eine entsprechende Strukturierung eines Substrats des Elements wird eine Kanalstruktur gebildet, die einen Zuführkanal mit einer Zuführöffnung und einen Entlüftungskanal mit einer Entlüftungsöffnung sowie wenigstens zwei Reagenzkammern umfasst. In wenigstens einer der Reagenzkammern ist ein Reagenz enthalten, das bevorzugt in fester Form als Trockenreagenz vorliegt und das mit der Flüssigkeitsprobe, die in die Kanalstruktur

einggebracht wird, reagiert. Je zwei benachbarte Reagenzkammern sind über wenigstens zwei Verbindungskanäle derart miteinander verbunden, dass ein Fluidaustausch zwischen den beiden Reagenzkammern ermöglicht wird. Dabei hat eine der Reagenzkammern eine Einlassöffnung, die so in Fluidverbindung mit dem Zuführkanal steht, dass eine Flüssigkeitsprobe aus dem Zuführkanal in die Reagenzkammern einströmen kann.

[0015] Im Rahmen der Erfindung wurde erkannt, dass - im Gegensatz zu den im Stand der Technik bekannten mikrofluidischen Elementen - mit den über wenigstens zwei Verbindungskanäle verbundenen Reagenzkammern mehrstufiger Reaktionsführungen möglich sind und die Anordnung vielfältige Kontrollmöglichkeiten bietet. Insbesondere ermöglicht die Anordnung, unterschiedliche Reagenzien, die getrennt voneinander eingebracht wurden, ohne sich beim Eintrocknen zu vermischen, in einem einzigen Prozessschritt aufzulösen, wobei das Auflösen fluidisch nicht behindert wird.

[0016] Die wenigstens zwei Verbindungskanäle zwischen den beiden Reagenzkammern ermöglichen einen ungehinderten und schnellen Fluidaustausch. Im Rahmen der Erfindung wurde erkannt, dass mehr als zwei Verbindungskanäle vorteilhaft sind. Besonders bevorzugt werden drei Verbindungskanäle eingesetzt, die z. B. im Wesentlichen parallel zueinander angeordnet sein können. Die Reagenzkammern werden durch die beiden Verbindungskanäle fluidisch derart hintereinander geschaltet, dass eine Fluid-Reihenschaltung entsteht. Die Reagenzkammern sind geometrisch eigenständige Komponenten und weisen ein eigenes Aufnahmevolumen auf. Fluidisch sind sie jedoch eine einzige Fluidkammer. Somit werden die positiven Eigenschaften von Einzelreagenzkammern mit den Eigenschaften einer einzigen Fluidkammer kombiniert. Die festen Trockenreagenzien werden in flüssiger Form in die Kammern eingebracht und dann getrocknet. Dieses Eintrocknen geschieht entweder durch Erhitzen oder durch ein Gefrieren, das bevorzugt bei Temperaturen von unter $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, besonders bevorzugt bei ca. $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ stattfindet. Bevorzugt ist der Testträger, um das Eintrocknen des flüssigen Reagenz zu verbessern, vorgekühlt. Insbesondere bei "tensidhaltigen" Reagenzien wird das "kalte Eintrocknen" durch Gefrieren bevorzugt.

[0017] Da die Reagenzkammern geometrisch voneinander getrennt sind, lassen sich in jede der Reagenzkammern unterschiedliche Reagenzien einbringen, ohne dass es zu einem Vermischen der Reagenzien vor oder während dem Eintrocknen kommt. Dies wird durch eine entsprechende geometrische Gestaltung der Reagenzkammern unterstützt. Beispielsweise können die Kammern durch scharfe Begrenzungen wie Stege oder Kanten getrennt sein, um ein Durchmischen ("Crosstalk") durch Kriecheffekte zu verhindern. Die scharfkantigen Begrenzungen bilden zwar für den Transport des Fluids aus einer Reagenzkammer hinaus ebenfalls eine Barriere. Diese kann jedoch durch die auftretenden Kräfte (Zentrifugalkraft, hydrostatische Kraft) leicht überwun-

den werden. Durch die Möglichkeit, jede Kammer mit einem unterschiedlichen Reagenz zu befüllen, können in nur einem Prozessschritt mehrere (unterschiedliche) Reagenzien angelöst und homogenisiert werden.

[0018] Die Anordnung der Reagenzkammern der Kanalstruktur ist derart ausgebildet, dass eine der Kammern rotationsachsenferner angeordnet ist als die andere Kammer, d. h. der Abstand der einen Reagenzkammer von der Rotationsachse ist größer als der Abstand der anderen Kammer. Durch die Rotation des mikrofluidischen Elements wird die in die Kanalstruktur eingegebene Flüssigkeit zunächst in die rotationsachsenferne Kammer geleitet, so dass diese Kammer zuerst gefüllt und das in der Kammer angelagerte Reagenz gelöst wird. Die Flüssigkeit reagiert mit dem Reagenz. Dabei sind die Flüssigkeitsmenge und das Volumen der ersten Reagenzkammer aufeinander abgestimmt.

[0019] Erst wenn eine größere Flüssigkeitsmenge in die Kanalstruktur gegeben wird bzw. aus dem Zuführkanal in die Reagenzkammern einströmt, wird auch die zweite (und mögliche weitere rotationsachsennähere) Reagenzkammer gefüllt. Auf diese Weise können auch Reagenzien mit kleinen Probenmengen sehr gut gelöst werden. Im Rahmen der Erfindung wurde erkannt, dass in vollständig gefüllten Reagenzkammern ein Lösen der Reagenzien zuverlässiger, vollständiger und schneller erfolgt als in nur teilgefüllten Kammern. Durch die Anordnung einer Mehrzahl von Reagenzkammern mit relativ kleinen Teilvolumen, z. B. 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15 etc. Kammern, kann eine gute Durchmischung für eine große Zahl unterschiedlicher Volumen erzielt werden. Beispielsweise können drei oder fünf der z. B. 12 Reagenzkammern mit dem zu untersuchenden Volumen gefüllt werden, wobei alle Kammern vollständig gefüllt sind. Wenn alle Reagenzkammern mit dem gleichen Reagenz bzw. der gleichen Zusammensetzung von Reagenzien gefüllt sind, kann auf diese Weise für unterschiedliche Volumina an Probenflüssigkeit eine sehr gute Durchmischung mit den Reagenzien erzielt werden.

[0020] In einer bevorzugten Ausführungsform sind die jeweils zwei (oder mehreren) Verbindungskanäle zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern parallel angeordnet. Die beabstandeten (getrennten) Verbindungskanäle werden bevorzugt durch gerade Kanalabschnitte gebildet. Bevorzugt ist die Länge wenigstens eines der Verbindungskanäle kleiner als die kleinste Dimension der Reagenzkammern in Testträgerebene (Ebene quer zur Rotationsachse).

[0021] Vorteilhafterweise ist einer der wenigstens zwei Verbindungskanäle zwischen benachbarten Reagenzkammern zentral angeordnet. Er fluchtet mit den Zentren der beiden Reagenzkammern, die er verbindet. Bevorzugt ist der (andere) Verbindungskanal derart seitlich mit den Reagenzkammern verbunden, dass er außerhalb der die Zentren verbindenden Zentralachse verläuft. Besonders bevorzugt ist er tangential an den Reagenzkammern angeordnet, dass seine Außenseite (Außenwand) mit den Außenwänden der Reagenzkammern fluchtet.

Bevorzugt ist der zentrische Verbindungskanal breiter (er hat einen größeren Querschnitt bei gleicher Kanalhöhe) als der seitlich angeordnete Kanal.

[0022] Die Verbindungskanäle zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern sind so ausgebildet, dass beim Befüllen der Reagenzkammeranordnung die Flüssigkeit durch die Verbindungskanäle von der einen Kammer in die zweite fließen kann. Gleichzeitig kann die in der noch nicht befüllten Kammer enthaltene Luft durch einen der beiden Kanäle entweichen, bevorzugt durch den zentrischen Verbindungskanal.

[0023] Besonders bevorzugt ist eine Ausführungsform mit drei Verbindungskanälen zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern. Dabei erstreckt sich ein Verbindungskanal entlang der Zentralachse, die die Zentren von zwei benachbarten Reagenzkammern verbindet. Dieser bevorzugt mittig angeordnete Verbindungskanal dient zum Entlüften der Reagenzkammern beim Befüllen mit Flüssigkeit. Die beiden anderen Verbindungskanäle sind bevorzugt tangential an den Reagenzkammern angeordnet. Durch diese Verbindungskanäle werden die Reagenzkammern mit Flüssigkeit gefüllt bzw. strömt die Flüssigkeit von der einen Kammer in die benachbarte zweite Kammer ein.

[0024] Bei einer Anordnung eines fluidischen Elements mit drei oder mehr Reagenzkammern sind die wenigstens zwei Verbindungskanäle (bevorzugt drei Verbindungskanäle) jeweils zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern angeordnet.

[0025] Die erfindungsgemäße Kanalstruktur mit wenigstens zwei Reagenzkammern, die durch wenigstens zwei Verbindungskanäle direkt miteinander verbunden sind, bietet eine hohe Flexibilität, eine platzsparende und kompakte Anordnung sowie eine Reihe von funktionalen Vorteilen:

1. Mit zwei miteinander verbundenen Reagenzkammern ist eine zweistufige Reaktionsführung möglich. In einem ersten Schritt wird dabei eine Flüssigkeitsmenge, die dem Volumen der ersten Reagenzkammer entspricht, in die erste, rotationsachsenferne Reagenzkammer geleitet. Das darin enthaltene Trockenreagenz wird aufgelöst, so dass die erste Reaktion stattfinden kann. In einem weiteren Schritt wird eine zweite Flüssigkeitsteilmenge in die Anordnung der Reagenzkammern gefüllt, wobei die zweite Teilmenge dem Volumen der zweiten Reagenzkammer entspricht. Diese zweite Teilmenge der Flüssigkeit kann beispielsweise ein Puffermedium sein. Der Füllvorgang findet dadurch statt, dass die zusätzliche zweite Teilmenge durch die Zentrifugalkraft zunächst in die erste Kammer gedrückt wird und sich mit dem dort vorhandenen Fluid vermischt und erst dann in die zweite Reagenzkammer strömt. Durch eine entsprechende Steuerung der Rotationsgeschwindigkeit und Rotationsrichtung beginnt ein Mischvorgang, bei dem das Reagenz in der zweiten Reagenzkammer aufgelöst wird und eine zweite Re-

aktion mit dem zweiten Reagenz stattfindet. Da bei dem Anlösen jeweils beide Reagenzkammern vollständig gefüllt sind, wird eine gute Homogenisierung und Durchmischung in den unterschiedlichen Phasen in jeweils beiden Kammern erzielt.

2. Die Reagenzkammeranordnung bietet den Vorteil, dass ein optimiertes Anlösen eines Trockenreagenz in der rotationsachsenfernen ersten Kammer dadurch stattfindet, dass diese Kammer jeweils von dem gesamten Füllvolumen mehrfach, beim Vorhandensein von zwei Reagenzkammern zweifach durchströmt wird. Zunächst findet ein Durchströmen der ersten Reagenzkammer beim Füllen der Kammer statt. Das zweite Durchströmen findet beim Entleeren der Struktur statt. Auf diese Weise wird eine besonders gute Auflösung der Trockenreagenzien erzielt. Dies hat den weiteren Vorteil, dass auch die beim Eintrocknen von Reagenzien entstehenden Agglomerate, die durch die Zentrifugalkraft radial nach außen in die erste Kammer gedrückt werden, beim anschließenden Entleeren mit dem Fluid aus den radial innen liegenden Kammern "nachgespült" werden. Verluste an der Innenoberfläche der ersten Reagenzkammer werden vermieden.

3. Mit der erfindungsgemäßen Anordnung lassen sich auf einfache Weise Verdünnungsreihen realisieren. Da die Anordnung der Reagenzkammern eine sehr kompakte Kanalstruktur ermöglicht, können auf einem Testträger mehrere Kanalstrukturen ausgebildet sein. Zur Durchführung einer Verdünnungsreihe wird in den parallel angeordneten Kanalstrukturen jeweils nur die rotationsachsenferne erste Reagenzkammer mit Reagenzien bestückt. Zur Durchführung einer Verdünnungsreihe werden die parallelen Strukturen mit unterschiedlichen Volumina gefüllt, so dass für eine definierte Reagenzmenge unterschiedliche Verdünnungen in nur einem Prozessschritt erzeugt werden können. Der Vorteil einer derartigen sequentiellen Mikroreaktorkaskade mit einer so genannten Perlenkettenstruktur (Reihenschaltung von mehreren Kammern) liegt darin, dass die komplette Reaktion mit variablen Volumina durchgeführt werden kann, ohne Änderungen in der Geometrie der Kanalstruktur vornehmen zu müssen. Dabei ist das geringste Volumen der Probenflüssigkeit so groß wie das Volumen der ersten Reagenzkammer. Bevorzugt sind die zu untersuchenden Volumina ein Vielfaches der vorzugsweise gleichen Volumina der einzelnen Reagenzkammern.

4. Ein weiterer Vorteil der Reagenzkammerstruktur liegt darin, dass die einzelnen Reagenzkammern auf die zu untersuchenden Teilvolumina abgestimmt sein können. Im Rahmen der Erfindung wurde bei Untersuchungen zum Anlöse- und Mischverhalten erkannt, dass bei vollständig gefüllten Kammern die

Mischvorgänge optimiert ablaufen. Steht beispielsweise in einem ersten Befüllungsschritt nur eine Teilmenge des Fluids zur Verfügung, beispielsweise ein Verdünnungspuffer, der erst später mit einer Probenflüssigkeit aufgefüllt wird, so würde in einem "Ein-Kammer-System" die Homogenisierung mit der ersten Teilmenge nur sehr schlecht ablaufen, da Lufteinschlüsse gebildet werden würden. In einer Reagenzkammeranordnung mit mehreren Reagenzkammern sind die Kammern jeweils auf das Teilvolumen der zu untersuchenden Flüssigkeit ausgelegt und ermöglichen so ein optimiertes Anlösen und Mischen, da die einzelne Reagenzkammer von dem Flüssigkeitsteilvolumen komplett gefüllt wird. Auch ein Schäumen der Lösung wird verhindert.

[0026] Um die Mischvorgänge in der Reagenzkammeranordnung weiter zu verbessern umfasst die Kanalstruktur in einer bevorzugten Ausführungsform eine Mischkammer, in der die Reagenzkammern und die Verbindungskanäle zwischen den Reagenzkammern integriert sind. Auf diese Weise werden die Eigenschaften der einzelnen Reagenzkammern mit den Eigenschaften einer fluidischen Einzelkammer noch besser kombiniert. Bevorzugt sind die Reagenzkammern in der Mischkammer derart in radialer Richtung in Reihe angeordnet, dass die Reihe der Kammern einen Winkel von maximal 80° zur Radialrichtung, besonders bevorzugt von maximal 60°, einschließt. Unter Radialrichtung ist dabei eine Gerade zu verstehen, die sich von der Rotationsachse des mikrofluidischen Elements bzw. des Testträgers nach außen erstreckt. Die Reagenzkammern müssen folglich nicht direkt radial nach außen gerichtet sein, sondern können einen Winkel zur Radialrichtung einschließen, der von 90° verschieden ist.

[0027] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform sind die Reagenzkammern so ausgebildet, dass ein Befüllen mit einer Flüssigkeit und das Anlösen eines in der Reagenzkammer enthaltenen festen Trockenreagenz erfolgt, ohne dass die Flüssigkeit in die benachbarte Reagenzkammer strömt. Solange die Flüssigkeitsmenge das Volumen der Reagenzkammer nicht überschreitet, verbleibt die Flüssigkeit in der Reagenzkammer, in die sie einströmt. Dies ist beim ersten Befüllen stets die rotationsachsenferne Reagenzkammer. In der Regel weist sie deshalb die Einlassöffnung auf, die in Fluidverbindung mit dem Zuführkanal derart steht, dass eine Flüssigkeitsprobe in die rotationsachsenferne Reagenzkammer fließen kann.

[0028] Die Erfindung wird nachfolgend anhand von in den Figuren dargestellten besonderen Ausführungsformen näher erläutert. Die dort dargestellten Besonderheiten können einzeln oder in Kombination verwendet werden, um bevorzugte Ausgestaltungen der Erfindung zu schaffen. Zur Verdeutlichung von Details stimmen die dargestellten Proportionen der einzelnen Komponenten teilweise nicht überein. Die beschriebenen Ausführungen stellen keine Einschränkung der durch die Ansprü-

che in ihrer Allgemeinheit definierten Erfindung dar. Es zeigen:

- Fig. 1 ein als Testträger ausgebildetes mikrofluidisches Element mit drei identischen Kanalstrukturen;
- Fig. 2a, b, c Schnittbilder durch eine Kanalstruktur aus Fig. 1;
- Fig. 3 einen alternativen Testträger;
- Fig. 4 eine Detailzeichnung einer Kanalstruktur mit drei Reagenzkammern;
- Fig. 5 Detailzeichnungen einer Kanalstruktur mit drei Reagenzkammern beim Befüllen;
- Fig. 6 eine Ausführungsform mit zwei Reagenzkammern;
- Fig. 7 eine Ausführungsform mit drei Reagenzkammern;
- Fig. 8 eine perspektivische Ansichten der Anordnung aus Fig. 7;
- Fig. 9 eine Anordnung mit sechs Reagenzkammern.

[0029] Figur 1 zeigt ein mikrofluidisches Element 1 mit drei identisch aufgebauten Kanalstrukturen 2, die sich im Wesentlichen radial nach außen erstrecken. Das mikrofluidische Element 1 ist ein Testträger 3, der als runde Scheibe ausgebildet ist und durch den sich eine Rotationsachse 4 mittig erstreckt, um die der scheibenförmige Testträger 3 rotiert. Die Kanalstruktur 2 wird von einem Substrat 5 und einer nicht gezeigten Deckschicht umschlossen, die den Testträger 3 von oben abdeckt.

[0030] Das mikrofluidische Element 1 ist zum Einsatz in einem Analysegerät oder einem ähnlichen Gerät geeignet, dass eine Halterung aufweist, um das mikrofluidische Element aufzunehmen und rotieren zu lassen. Das Gerät ist vorzugsweise so ausgebildet, dass das mikrofluidische Element um eine Drehwelle des Geräts rotiert wird, wobei die Achse der Drehwelle mit der Rotationsachse 4 des mikrofluidischen Elements 1 fluchtet. Dazu kann sich die Drehwelle des Geräts durch eine Bohrung 4a des Testträgers 3 erstrecken.

[0031] Die Kanalstruktur 2 des mikrofluidischen Elements 1 schließt einen Zuführkanal 6 ein, der einen U-förmigen Kanalabschnitt 7 und einen geraden Kanalabschnitt 8 umfasst. Am Ende der beiden U-Schenkel des U-förmigen Kanalabschnitts 7 ist je eine Zuführöffnung 9 vorgesehen, durch die eine Flüssigkeitsprobe, bevorzugt beispielsweise eine Körperflüssigkeit wie Blut, in

den Zuführkanal 6 eingegeben werden kann. Beispielsweise kann eine Probenflüssigkeit von einem Bediener manuell (mit einer Pipette) in eine Zuführöffnung 9 dosiert werden. Alternativ kann der Zuführkanal auch mittels einer Dosierstation eines Analysegerätes mit einer Flüssigkeit bestückt werden. Beim Dosieren einer Flüssigkeit in den Zuführkanal 6 wird in die Flüssigkeit durch eine der beiden Zuführöffnungen 9 hineingegeben, während die in dem Kanal enthaltene Luft durch die zweite Zuführöffnung entweichen kann.

[0032] Die Kanalstruktur 2 umfasst weiter einen Entlüftungskanal 10 mit einer Entlüftungsöffnung 11 sowie zwei Reagenzkammern 13, die über drei Verbindungskanäle 14 so miteinander verbunden sind, dass ein Fluidaustausch zwischen den beiden Reagenzkammern 13 erfolgt. Die Kanalstruktur 2 ist in einer bevorzugten Ausführungsform nach Figur 1 als Analysefunktionskanal 15 ausgebildet, der eine Messkammer 16, einen Messkanal 17 zwischen der Messkammer 16 und den Reagenzkammern 13 sowie eine Waste-Kammer 18, die über einen Entsorgungskanal 19 mit der Messkammer 16 verbunden ist. Die als Sammelbecken 20 ausgebildete Waste-Kammer 18 weist ein Auslassventil 21 auf, durch die Luft aus der Kanalstruktur 2 entweichen kann.

[0033] In einer bevorzugten Ausführungsform, wie z. B. in Figur 1 gezeigt, schließt die Kanalstruktur 2 eine Mischkammer 22 ein, in die die beiden Reagenzkammern 13 und die drei Verbindungskanäle 14 integriert sind. Die Mischkammer 22 hat eine Einlassöffnung 23, die in Fluidverbindung mit dem Zuführkanal 6 steht, so dass eine Flüssigkeitsprobe in die rotationsachsenferne Reagenzkammer 13a einfließen kann. Die rotationsachsennahe Reagenzkammer 13b steht über einem Luftauslass 33 in Fluidkontakt mit dem Entlüftungskanal 10, so dass Luft aus der Reagenzkammeranordnung und der Mischkammer 22 entweichen.

[0034] Wird eine Flüssigkeit in den U-förmigen Kanalabschnitt 7 gegeben und deren Testträger 3 dann um die Rotationsachse 4 rotiert, so drückt die Zentrifugalkraft die Flüssigkeit durch den geraden Kanalabschnitt 8 des Zuführkanals 6 bis die Flüssigkeit die Mischkammer 22 durch die Einlassöffnung 23 erreicht. Die Flüssigkeit wird dann in der rotationsachsenfernen Reagenzkammer 13a gesammelt, bis sich diese gefüllt hat. Dabei wird ein in der Reagenzkammer 13a eingetrocknetes Trockenreagenz gelöst. Wird weiter Flüssigkeit in die Mischkammer 22 eingelassen, so fließt die Flüssigkeit nun durch die drei Verbindungskanäle 14 in die rotationsachsennähere Reagenzkammer 13b, wobei der radial am weitesten außen liegende Verbindungskanal 14 zuerst mit Flüssigkeit gefüllt wird. Die in der Mischkammer 22 enthaltene Luft entweicht durch einen Lufteinlass 33 in den Entlüftungskanal 10 nach außen.

[0035] Durch geeignete Steuerung der Rotationsgeschwindigkeit, der Drehrichtung und der Beschleunigung kann ein optimiertes Anlösen der Reagenzien in den Reagenzkammern 13 erfolgen, was durch die verrundeten Reagenzkammern 13 unterstützt wird.

[0036] Figur 2a zeigt einen Schnitt entlang der Linie IIA aus Figur 1 durch die zwei Reagenzkammern 13a, 13b. Die Reagenzkammern 13a, 13b sind bevorzugt halbkugelförmig ausgebildet, wobei die offene Öffnungsfläche der Halbkugeln 24 von der Deckschicht abgeschlossen wird. Die Reagenzkammern 13 sind an ihrem Boden so verrundet, dass keine scharfen Kanten auftreten. Die Übergänge zu den Verbindungskanälen sind bevorzugt nicht abgerundet sondern scharfkantig, so dass ein Zurückfließen der Flüssigkeit aus dem Verbindungskanal in die (halbkugelförmige) Reagenzkammer 13 verhindert wird. An dem oberen Rand der Halbkugeln 24 ist eine scharfe Kante 25 ausgebildet, wobei die Kante 25 bevorzugt einen Winkel von 90° einschließt. Auf diese Weise wird eine Art Überlaufschutz gebildet, da die Kante eine physikalische Barriere für den Weitertransport der Flüssigkeit darstellt.

[0037] Um die Reagenzien in die Kammer zu bringen, werden in den offenen Testträger 3 ohne Deckschicht die in flüssiger Form vorliegenden Reagenzien eingebracht, beispielsweise durch Pipettieren. Die scharfen Kanten dienen dann als Begrenzung, die ein Kriechen der flüssigen Reagenzien während der Eintrocknung vermeiden. Die Struktur wird somit unabhängiger gegenüber Störeffekten während des automatischen Prozessierens bei der Eintrocknung. Die Oberflächenvergrößerung durch die Kanten 25 kann sich zudem verlängernd auf die Mischzeit beim Vermischen bzw. Auflösen der Trockenreagenzien auswirken. An die Reagenzkammern 13 schließt sich am oberen Rand ein Überlaufschutz 26 an, der verhindert, dass Reagenzien aus der Mischkammer 22 heraustreten können.

[0038] Figur 2b zeigt den Schnitt durch die Kanalstruktur 2 aus Figur 2a, jedoch mit dargestellten Trockenreagenzien 35 und Deckschicht 34. Die Reagenzkammern 13 und die Mischkammer 22 ist hier so ausgebildet, dass die Tiefe t des Überlaufschutz 26 etwa ein Drittel der Tiefe T des Mischkanals 22 bildet. Die Tiefe t des Überlaufschutzes 26 beträgt ca. 400 µm. Zwei Drittel der Tiefe T des Mischkanals 22 wird durch die Reagenzkammern 13 gebildet. Das eingetrocknete Reagenz 35 bedeckt den Boden und die Innenflächen der Halbkugeln 24, wobei die Füllhöhe h des Trockenreagenz 35 am Boden ca. der halben Höhe H der Halbkugel 24 entspricht. An den Rändern fließt das Reagenz 35 während der Eintrocknung weiter hinauf; es wird jedoch durch die physikalische Barriere und die Kante 25 von einem Weiterkriechen über den zwischen den beiden Kammern 13a, 13b gebildeten Steg 27 gehindert. Der Steg 27 erstreckt bevorzugt zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern 13 in Richtung zur Deckschicht 34 und trennt so die beiden Reagenzkammern 13a, 13b der Mischkammer 22.

[0039] Figur 2c zeigt eine dreidimensionale Ansicht im Bereich der Linie IIc aus Figur 1 durch die Verbindungskanäle 14 der Kanalstruktur 2. Der Zuführkanal 6 weist eine Rücklaufsperr 28 auf, die als mikrofluidisches Ventil 29 ausgebildet ist. Die Tiefe des Zuführkanals 6 von der Oberfläche 30 des mikrofluidischen Elements 1 ist

deutlich geringer, als die Tiefe der Verbindungskanäle 14 und die Tiefe der rotationsachsenfernen Reagenzkammer 13a. Die Tiefe des Zuführkanals beträgt ca. 150 µm. Eine durch Rotationskraft aus dem Zuführkanal 6 in den Überlaufschutz 26 der Mischkammer 22 einfließende Flüssigkeit fließt über die Kante 25 in die halbkugelförmige Reagenzkammer 13a ein. Durch Rotation des Testträgers 3 wird die eingeflossene Flüssigkeit in der Reagenzkammer 13a bewegt und löst so das (hier nicht dargestellte) enthaltene Trockenreagenz an.

[0040] Beim Zuströmen weiterer Flüssigkeit wird sie durch die Verbindungskanäle 14a, 14b und 14c auch in die nicht dargestellten weiteren Reagenzkammern 13 geleitet. Im Rahmen der Erfindung wurde festgestellt, dass die von der als Halbkugel 24 ausgebildeten Reagenzkammer 13 abgehenden Übergänge in die kapillaren Verbindungskanäle 14a, 14b, 14c vorzugsweise nicht kleiner als 0,4 x 0,4 mm im Querschnitt (bzw. deren Durchmesser nicht kleiner als 0,4 mm) sein darf und sich erst später graduell verjüngen darf. Bei Verbindungskanälen 14 mit einem kleineren Querschnitt ist die ausgeübte Kapillarkraft so groß, dass ein Überlaufen ("Crosstalk"), insbesondere der flüssigen Reagenzien vor dem Eintrocknen, entsteht.

[0041] Figur 3 zeigt eine weitere Ausführungsform eines Testträgers 3, mit fünf identischen Kanalstrukturen 2. Der Zuführkanal 6 weist ebenfalls einen U-förmigen Kanalabschnitt 7 und einen geraden Kanalabschnitt 8 auf. Die Mischkammer 22 weist an ihrem rotationsachsennahen Ende ebenfalls einen Entlüftungskanal 10 mit einer Entlüftungsöffnung 11 auf. Auch in dieser Anordnung ist die Kanalstruktur 2 als Analysefunktionskanal 15 ausgebildet und umfasst eine Messkammer 16.

[0042] Figur 4 zeigt eine Detailzeichnung der Mischkammer 22 mit den drei in Reihe geschalteten Reagenzkammern 13a, b, c und je zwei Verbindungskanälen 14, nämlich je einen zentralen Verbindungskanal 14a und einen seitlichen (rotationsachsennahen) Verbindungskanal 14b. Die Mischkammer 22 weist bevorzugt eine rotationsachsennahe Einlassöffnung 23 auf, durch die Flüssigkeit aus dem Zuführkanal 6 in die Mischkammer 22 eintritt. Ein kapillarer Transportkanal 31 ist bevorzugt am rotationsachsenfernen langen Rand der Mischkammer 22 angeordnet. Der Transportkanal 31 verläuft seitlich und radial außen an den in Reihe angeordneten Reagenzkammern 13. Seine Tiefe (von der Oberfläche 30 des Testträgers 3 aus betrachtet) ist mit ca. 150 bis 200 µm geringer als die Tiefe der Verbindungskanäle. Die eintretende Flüssigkeit wird durch den Transportkanal 31 in die Reagenzkammer 13a geleitet.

[0043] Der Entlüftungskanal 10 ist breiter als der Zuführkanal 8 und als die Verbindungskanäle 14 zwischen den Reagenzkammern 13. Auf diese Weise wird von dem Entlüftungskanal 10 eine kleinere Kapillarkraft erzeugt, so dass keine Flüssigkeit in den Entlüftungskanal 10 dringt. Zudem ist der Entlüftungskanal 10 stets rotationsachsennah angeordnet, so dass die Flüssigkeit während der Rotation nicht aus den Reagenzkammern 13 in den

Entlüftungskanal 10 gelangen kann. Der Verbindungskanal 14b an der Außenseite der Mischkammer 22 dient in der Regel zum Befüllen der weiteren Reagenzkammern 13 mit der Flüssigkeit. Durch den zentral angeordneten Verbindungskanal 14a entweicht die in den Kammern enthaltene Luft beim Befüllungsvorgang.

[0044] Die erfindungsgemäße Anordnung erlaubt ein Vermischen der Flüssigkeiten schon beim Anlösen der Reagenzien, insbesondere beim Anlösen der Reagenzien in der zweiten und weiteren Reagenzkammer 13. Der Grad des Anlössens ist deshalb besonders hoch und effektiv.

[0045] Das Befüllen der Reagenzkammern 13 des Mischkanals 22 wird anhand der Figuren 5a bis 5c näher erläutert. In die Mischkammer 22 eintretende Flüssigkeit wird über den kapillaraktiven Transportkanal 31 an den beiden rotationsachsennahen Reagenzkammern 13b, 13c vorbeigeleitet und fließt in die rotationsachsenferne Reagenzkammer 13a ein (Pfeilrichtung). Die einströmende Flüssigkeit wird dabei durch Kapillarkwirkung in dem Transportkanal 31 gehalten. Während der Rotation des Testträgers 3 wird die Flüssigkeit dann am rotationsachsenfernen Ende der Mischkammer 22 in die Reagenzkammer 13a gedrückt und löst das dort enthaltene Trockenreagenz an. Sobald weitere Flüssigkeit nachfließt, wird diese durch den Transportkanal 31 in die Reagenzkammer 13a geleitet und von dort durch den zentralen Verbindungskanal 14a und den tangentialen Verbindungskanal 14b in die mittlere Reagenzkammer 13c geleitet, bis auch diese gefüllt ist. Beim weiteren Einströmen von Flüssigkeit aus dem Zuführkanal 6 wird schließlich auch die rotationsachsennahe Reagenzkammer 13b gefüllt, indem durch die zentrischen und tangentialen Verbindungskanäle 14a, b die Flüssigkeit einfließt. Die in den Reagenzkammern 13 enthaltene Luft entweicht durch den Luftauslass 33 und den Entlüftungskanal 10.

[0046] In dem Beispiel weisen gemäß den Figuren 4 und 5 die Reagenzkammern ein Einzelvolumen von $3\ \mu\text{l}$ auf, so dass die drei Reagenzkammern gemeinsam ein Volumen von ca. $9\ \mu\text{l}$ haben. Bevorzugt liegen die Volumina der einzelnen Reagenzkammern 13 zwischen $3\ \mu\text{l}$ und $10\ \mu\text{l}$. Reagenzkammern mit einem Volumen von $2\ \mu\text{l}$ oder nur $1\ \mu\text{l}$ sind ebenfalls denkbar, genauso Reagenzkammern 13 mit einem Volumen von $20\ \mu\text{l}$, $50\ \mu\text{l}$, $100\ \mu\text{l}$, $500\ \mu\text{l}$.

[0047] Figur 6 zeigt eine weitere bevorzugte Ausführungsform mit einer Mischkammer 22, in der zwei Reagenzkammern 13a, 13b integriert sind. Auch hier ist ein kapillarer Transportkanal 31 vorgesehen, durch den in die Mischkammer 22 eintretende Flüssigkeit zu der rotationsachsenfernen Reagenzkammer 13a geführt wird. Die verrundeten Reagenzkammern 13, mit den gerundeten Böden, die bevorzugt als Halbkugel 24 ausgebildet sind, sorgen nicht nur für eine homogene Reagenzapplikation des noch flüssigen Reagenz. Sie erweisen sich auch als äußerst geeignet, wenn der Testträger 3 in einem Shake-Mode betrieben wird, bei dem die Rotations-

geschwindigkeit und Drehrichtung gemäß einer bevorzugt sägezahnförmigen Ansteuerungskurve verändert wird. Bei diesem als "Euler-Mischen" bekannten Verfahren, dass eine gute Homogenisierung und Auflösung der Trockenreagenzien garantiert, kann durch die verrundete Geometrie das Vermischen weiter gesteigert werden. Im Rahmen der Erfindung wurde erkannt, dass der effektivste Austausch und das effektivste Durchmischen an den Rändern und Wänden der Reagenzkammern 13 stattfindet. Bevorzugt sind deshalb in wenigstens einer der zwei benachbarten Reagenzkammern 13 die Verbindungskanäle 14 randlagig, z. B. tangential zu den Reagenzkammern 13, angeordnet. Dabei hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Verbindungskanäle 14 ohne Kantenübergänge an den Reagenzkammern 13 anzuformen.

[0048] Darüber hinaus wurde im Rahmen der Erfindung erkannt, dass mehrere Reagenzkammern mit Verbindungskanälen während des "Euler-Mischens" das Fluid durch die Verbindungskanäle 14 von Kammer 13 zu Kammer 13 transportiert und in Kombination mit den gerundeten Flächen ein diffuser Austausch und eine gute Mischeffizienz geschaffen werden kann.

[0049] Da die Reagenzkammern 13 bevorzugt derart benachbart angeordnet sind, dass ihr Abstand kleiner ist als die kleinste Dimension der Reagenzkammern 13 in der Testträgerenebene, ist auch ein schneller Fluidtransport von einer Kammer 13 in die andere möglich. Der kleinste Abstand wird im Rahmen der Erfindung definiert als die kleinste Entfernung zwischen den Reagenzkammern 13 bzw. zwischen den Reagenzkammeraußenwänden. Wenigstens der zentral gelegene Verbindungskanal 14a zwischen zwei Reagenzkammern 13 ist deshalb kürzer als die kleinste Dimension der Reagenzkammern 13. In dem in Fig. 6 gezeigten Beispiel ist der zentrale Verbindungskanal 14a etwa $0,2\ \text{mm}$ lang. Seine Breite und Tiefe ist jeweils $0,4\ \text{mm}$. Die Reagenzkammern 13 haben eine Höhe von $1,4\ \text{mm}$. Der Durchmesser der Reagenzkammern beträgt $1,95\ \text{mm}$. Durch diese geometrische Anordnung ist ein Fluidtransport zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern 13 ungehindert möglich. Durch die kurzen Verbindungskanäle 14 kann das Fluid schnell von einer Kammer zur anderen transportiert werden. Der Transport geschieht direkt ohne dazwischen liegende Ventilstrukturen, Heberanordnungen oder siphonartige Kanalstrukturen, deren Länge ein Mehrfaches der Reagenzkammern beträgt. Hierdurch ist der Prozessablauf mit den erfindungsgemäßen Reagenzkammern sehr schnell und spart Zeit. Es lassen sich außerdem eine gesteuerte und definierte Auflösung von unterschiedlichen Trockenreagenzien, die in einzelnen Reagenzkammern 13 enthalten sind, durchführen.

[0050] Durch den modularen Aufbau mit kleinen Reagenzkammern 13, ist es möglich Testträger 3 vorzusehen, die auf diesem Prinzip beruhend beliebig erweiterbar sind. So lassen sich nicht nur zwei oder drei, sondern auch mehrere Kammern in Reihe schalten.

[0051] Neben den runden halbkugelförmigen Rea-

genzkammern sind auch andere Formen der Reagenzkammern möglich, beispielsweise tropfenförmige Reagenzkammerformen oder bei der Verwendung von zwei Reagenzkammern, die in einer Mischkammer 22 integriert sind z. B. so genannte "Yin-Yang-Ausformungen". Bevorzugt sind auch diese Reagenzkammern verrundet.

[0052] Figur 7 zeigt eine sternförmige Anordnung von drei Reagenzkammern 13 in einer Mischkammer 22. Auch in dieser Anordnung wird über den Transportkanal 31 die rotationsachsenferne Mischkammer 13a zuerst befüllt. Bei einem Einfließen von weiterer Flüssigkeit werden dann die beiden rotationsachsennäheren Reagenzkammern 13b, 13c gemeinsam gefüllt. Zwischen den Reagenzkammern 13a und 13b ist nur ein zentraler Verbindungskanal 14a vorgesehen, da der kapillare Transportkanal 31 als zweiter Verbindungskanal 14b dient.

[0053] In den Figuren 8a und 8b sind dreidimensionale Ansichten einer derartigen sternförmigen Reagenzkammeranordnung gezeigt. Deutlich zu erkennen sind die verrundeten Verbindungskanäle 14 zwischen den Reagenzkammern 13 sowie die verrundeten halbkugelförmigen Reagenzkammern 13 selbst. In dieser Ausführungsform ist zu erkennen, dass der Transportkanal 31 fluidisch auch als Verbindungskanal 14 fungiert.

[0054] Figur 9 zeigt, dass auch eine sternförmige oder kreisförmige Anordnung von Reagenzkammern 13 erweitert werden kann. So lassen sich, wie hier gezeigt, sechs Reagenzkammern 13 fluidisch zusammenschalten, wobei das Prinzip beibehalten wird, dass die rotationsachsenfernste Reagenzkammer 13a zuerst befüllt wird. Ein Befüllen der weiteren Kammern geht dann von der rotationsachsenfernen Kammer 13a aus.

[0055] Während des Rotierens des Testträgers wird das Fluid durch alle Reagenzkammern bewegt, bei der sternförmigen Anordnung genauso wie bei der reihenförmigen Anordnung. Auf diese Weise lässt sich ein sehr effizientes Anlösen und Vermischen sowie eine gezielte Steuerung der Flüssigkeitsmengen erzielen. Die dabei erhaltene sehr kompakte und kleine Anordnung hat den Vorteil, dass mehrere kaskadierte Kanalstrukturen 2 auf einen Testträger 3 angeordnet sein können.

Patentansprüche

1. Mikrofluidisches Element zur Analyse einer Flüssigkeitsprobe mit einem Substrat (5) und einer von dem Substrat (5) und einer Deckschicht umschlossenen Kanalstruktur (2), wobei das mikrofluidische Element (1) um eine Rotationsachse (4) rotierbar ist; die Kanalstruktur (2) einen Zuführkanal (6) mit einer Zuführöffnung (9), einen Entlüftungskanal (10) mit einer Entlüftungsöffnung (11) und wenigstens zwei Reagenzkammern (13) einschließt; die Reagenzkammern (13) über zwei Verbindungs-

kanäle (14) derart miteinander verbunden sind, dass ein Fluidaustausch zwischen den Reagenzkammern (13) möglich ist,

eine der Reagenzkammern (13) eine Einlassöffnung (23) aufweist, die in Fluidverbindung mit dem Zuführkanal (6) steht, so dass eine Flüssigkeitsprobe in die rotationsachsenferne Reagenzkammer (13a) fließen kann,

wenigstens eine der Reagenzkammern (13) ein Reagenz (35) enthält, das mit der Flüssigkeitsprobe reagiert.

2. Mikrofluidisches Element nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** das mikrofluidische Element (1) ein Testträger (3) ist, durch den sich die Rotationsachse (4) erstreckt.
3. Mikrofluidisches Element nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kanalstruktur (2) ein Analysefunktionskanal (15) ist, der eine Meszkammer (16) umfasst.
4. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die rotationsachsenferne Reagenzkammer (13a) die Einlassöffnung (23) aufweist.
5. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Kanalstruktur (2) eine Mischkammer (22) umfasst, in der die Reagenzkammern (13) und die Verbindungskanäle (14) zwischen den Reagenzkammern (13) integriert sind.
6. Mikrofluidisches Element nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass**
 - die Mischkammer (22) eine rotationsachsennahe Einlassöffnung (23) aufweist und
 - in der Mischkammer (22) ein kapillarer Transportkanal (31) seitlich und radial außen an den Reagenzkammern (13) ausgebildet ist, dessen Querschnitt geringer ist als die Querschnitt der Verbindungskanäle (14), so dass Flüssigkeit durch den Transportkanal (31) von der rotationsachsennahen Einlassöffnung (23) zu der rotationsachsenfernen Reagenzkammer (13a) fließt.
7. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Reagenzkammern (13) derart in radialer Richtung in Reihe angeordnet sind, dass die Reihe der Reagenzkammern (13) einen Winkel von maximal 80° zur Radialrichtung einschließt.
8. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet,**

dass die Reagenzkammern (13) im Wesentlichen halbkugelförmig sind, wobei die Öffnungsfläche der Halbkugel (24) von der Deckschicht (34) des mikrofluidischen Elements (1) abgeschlossen wird.

5

9. Mikrofluidisches Element nach einem der Ansprüche 5 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** zwischen zwei in der Mischkammer (22) benachbarten Reagenzkammern (13) sich senkrecht zur Deckschicht (34) erstreckende Stege (27) ausgebildet sind, durch die die Reagenzkammern (13) in der Mischkammer (22) getrennt sind. 10
10. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die der Rotationsachse (4) benachbarte Reagenzkammer (13) die Einlassöffnung (23) aufweist und einen Lufteinlass (12) hat, der die Reagenzkammer (13) mit dem Entlüftungskanal (11) verbindet. 15
20
11. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der eine Verbindungskanal (14a) zwischen zwei benachbarten Reagenzkammern (13) derart angeordnet ist, dass er mit den Zentren der beiden Reagenzkammern (13) fluchtet. 25
12. Mikrofluidisches Element nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass** der zweite Verbindungskanal (14b) derart seitlich mit den beiden Reagenzkammern (13) verbunden ist, dass er außerhalb einer der Zentren zweier benachbarter Reagenzkammern (13) verbindenden Zentralachse verläuft. 30
13. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** zwei benachbarte Reagenzkammern (13) derart angeordnet sind, dass ihr Abstand kleiner ist als die kleinste Dimension der Reagenzkammern (13) in Testträgerebene. 35
40
14. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Reagenzkammern (13) so ausgebildet sind, dass ein Befüllen mit einer Flüssigkeit und das Auflösen eines in der Reagenzkammer (13) enthaltenen Reagenz (35) erfolgt, ohne dass Flüssigkeit in die benachbarte Reagenzkammer (13) strömt. 45
15. Mikrofluidisches Element nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Verbindungskanal (14) einen Querschnitt aufweist, bei dem die kleinste Querschnittsdimension mindestens 150 µm beträgt. 50
55

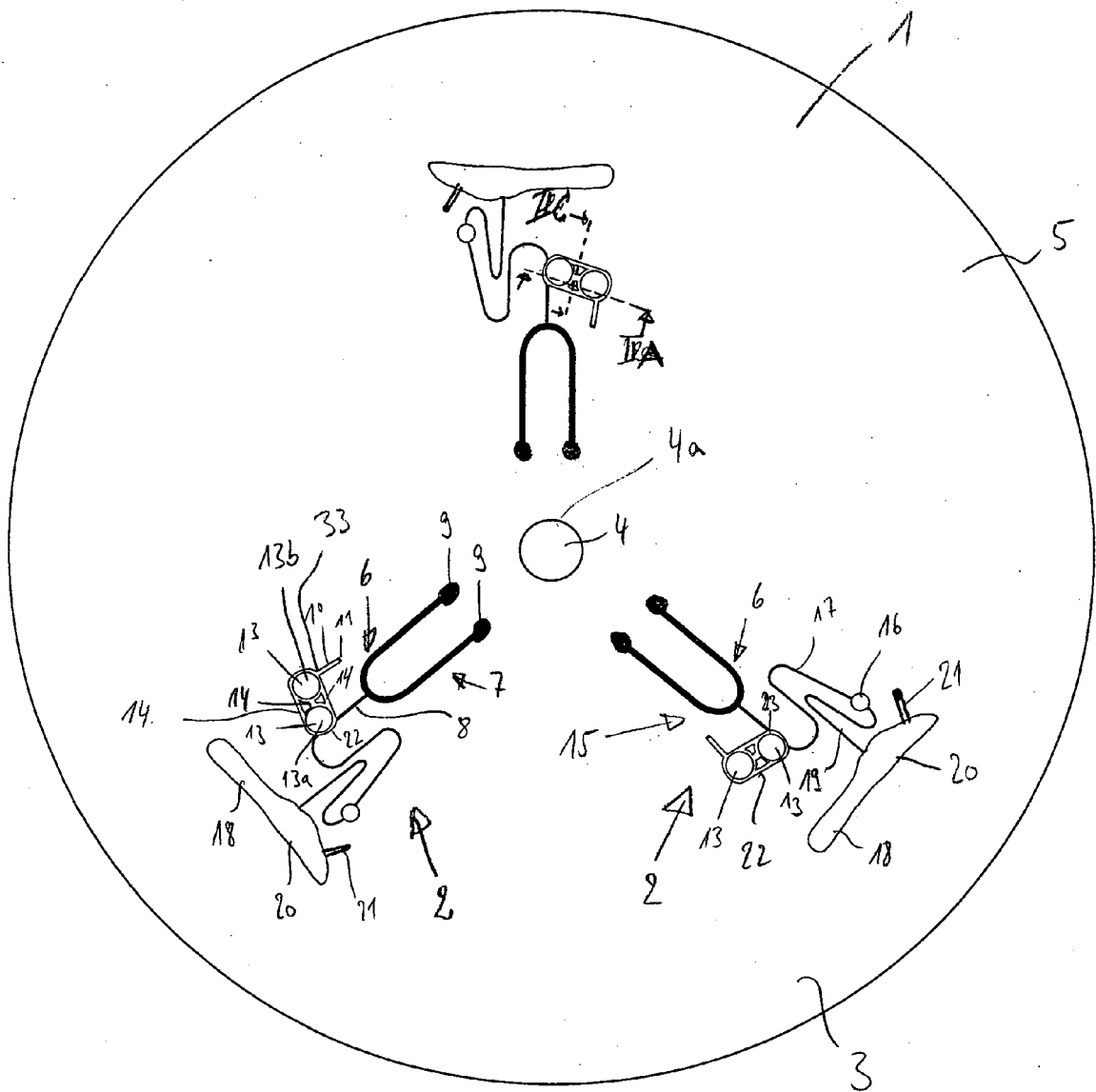
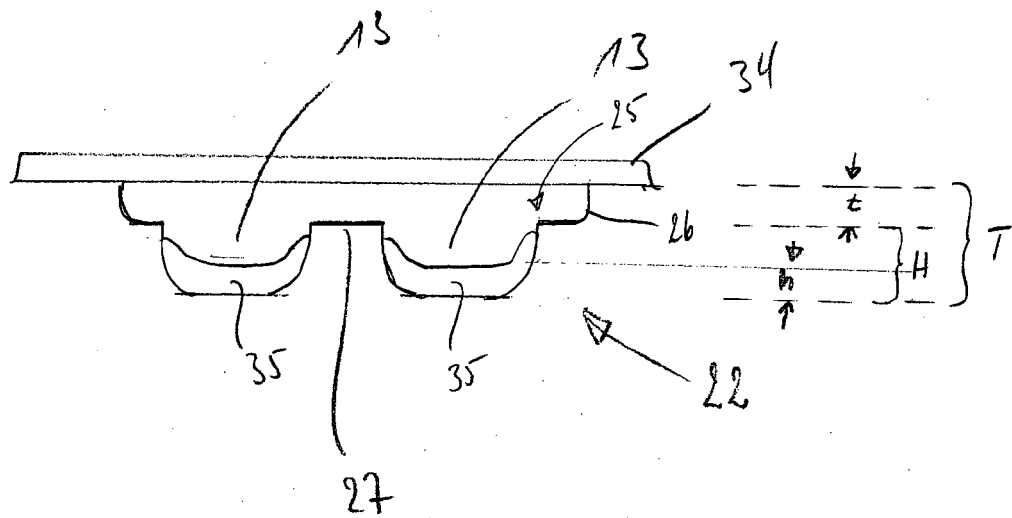
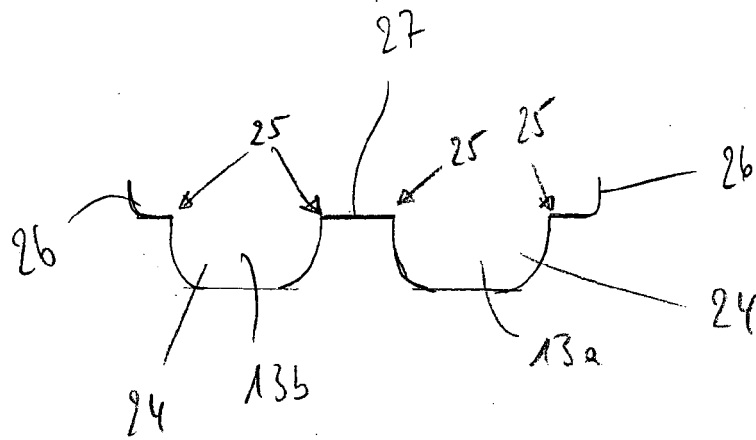


Fig. 1



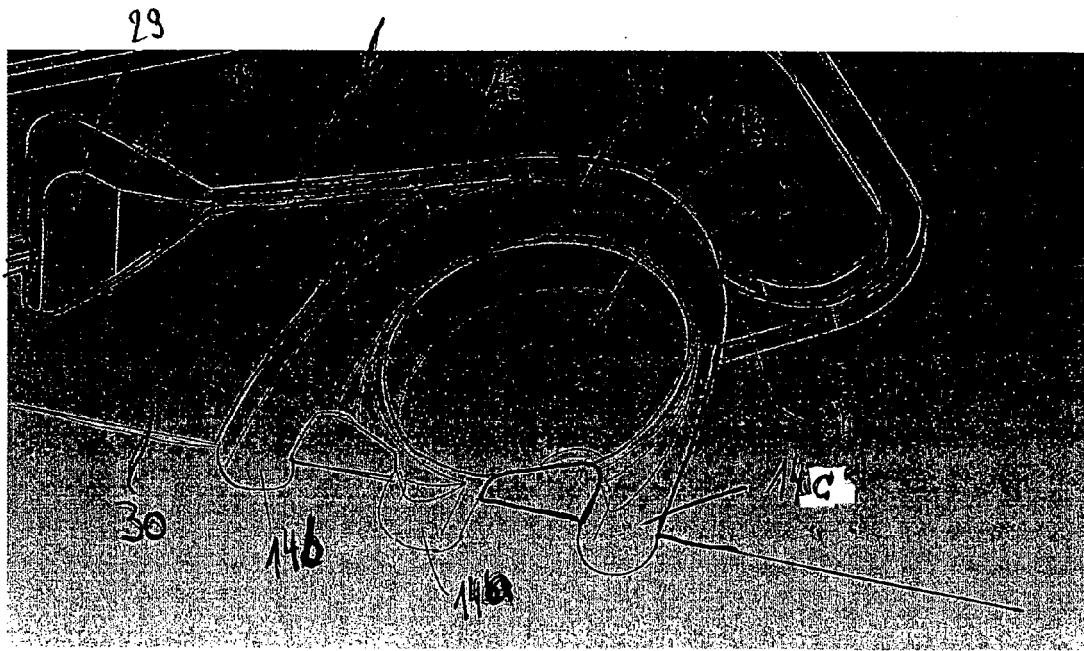


Fig. 2c

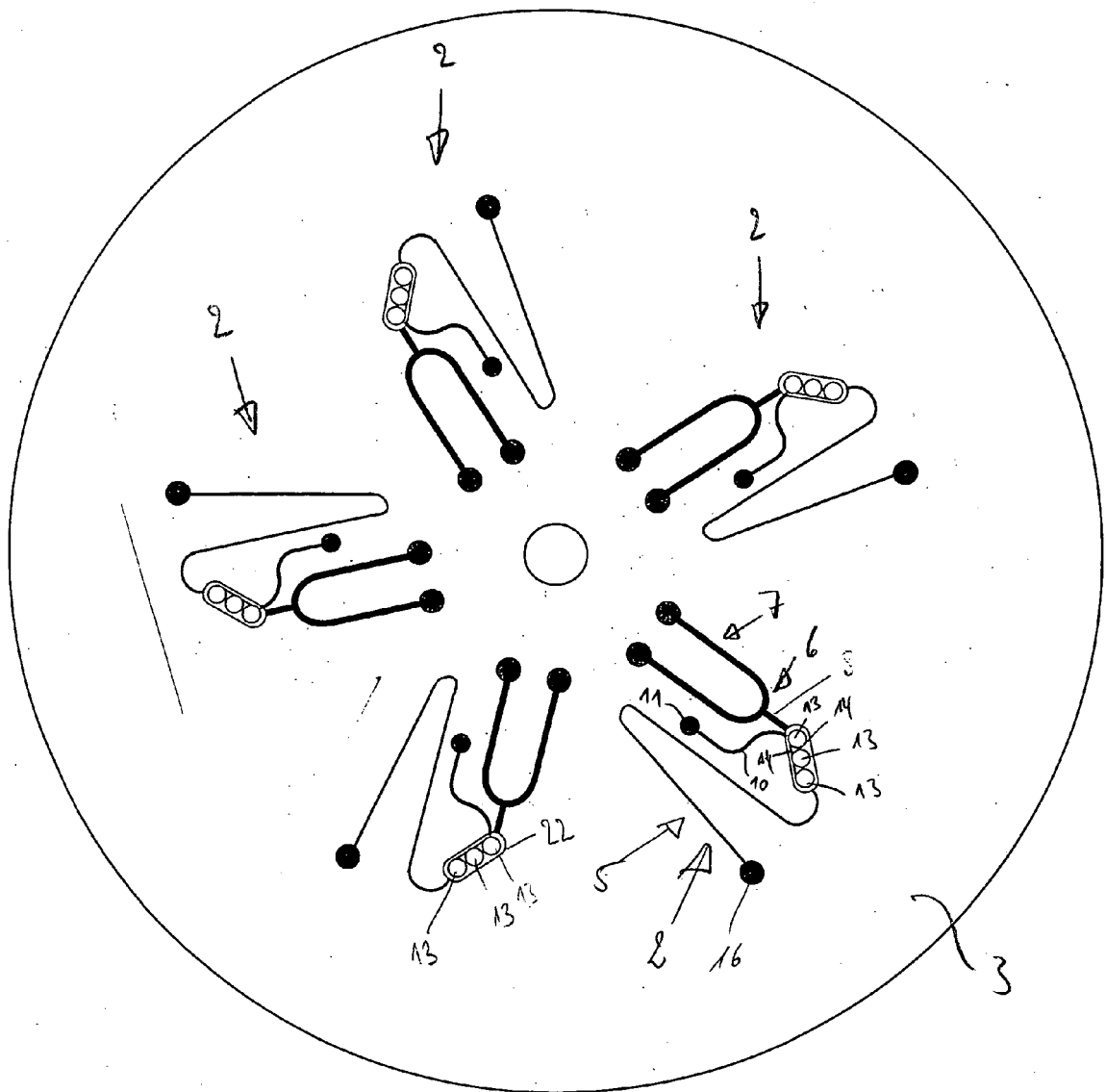


Fig. 3

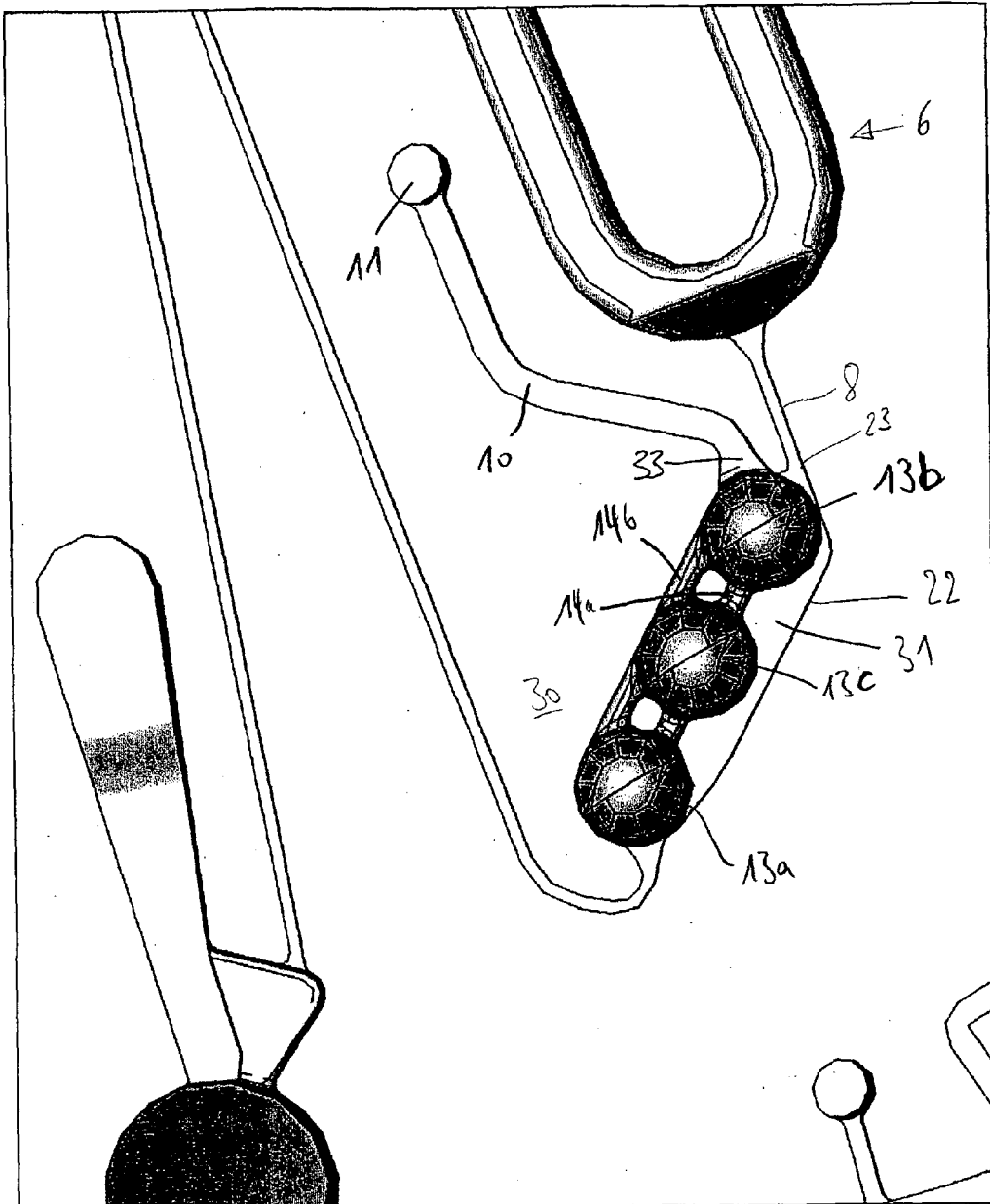
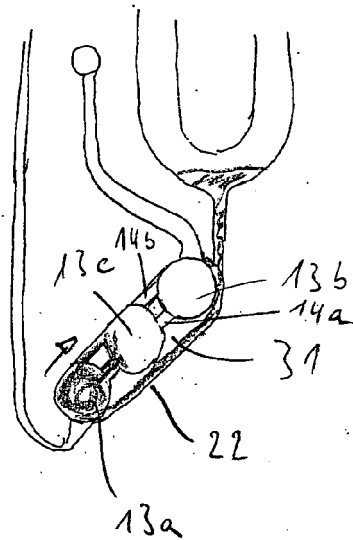
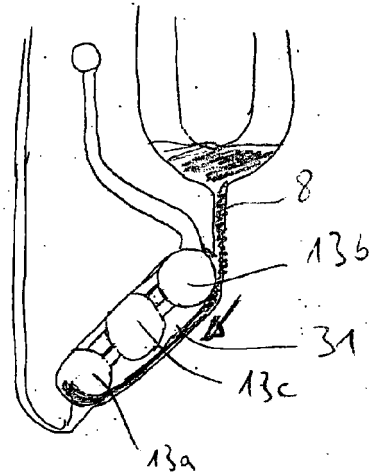
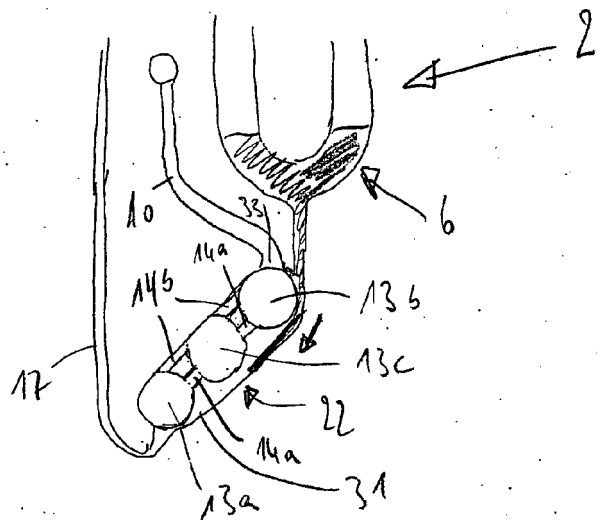


Fig 4



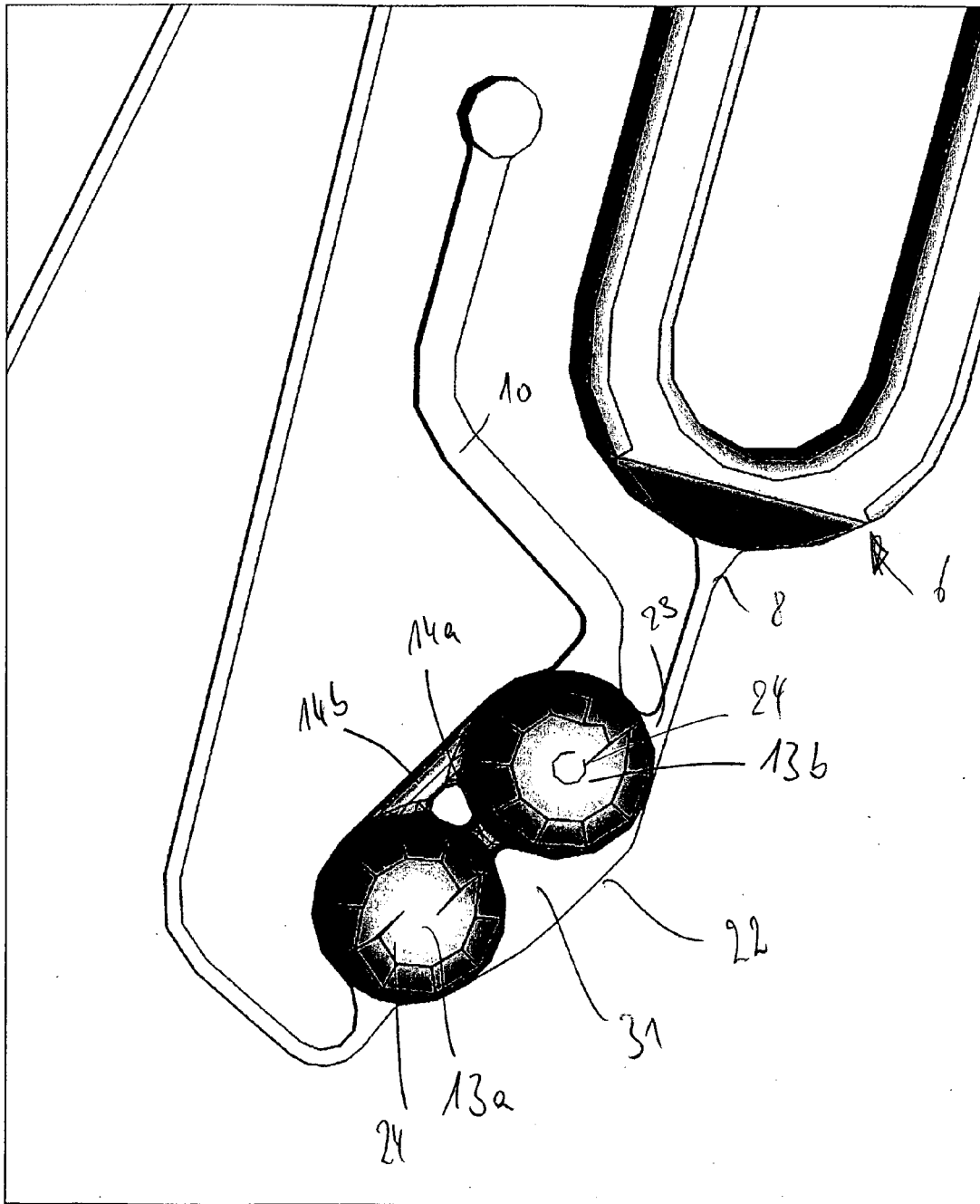


Fig 6

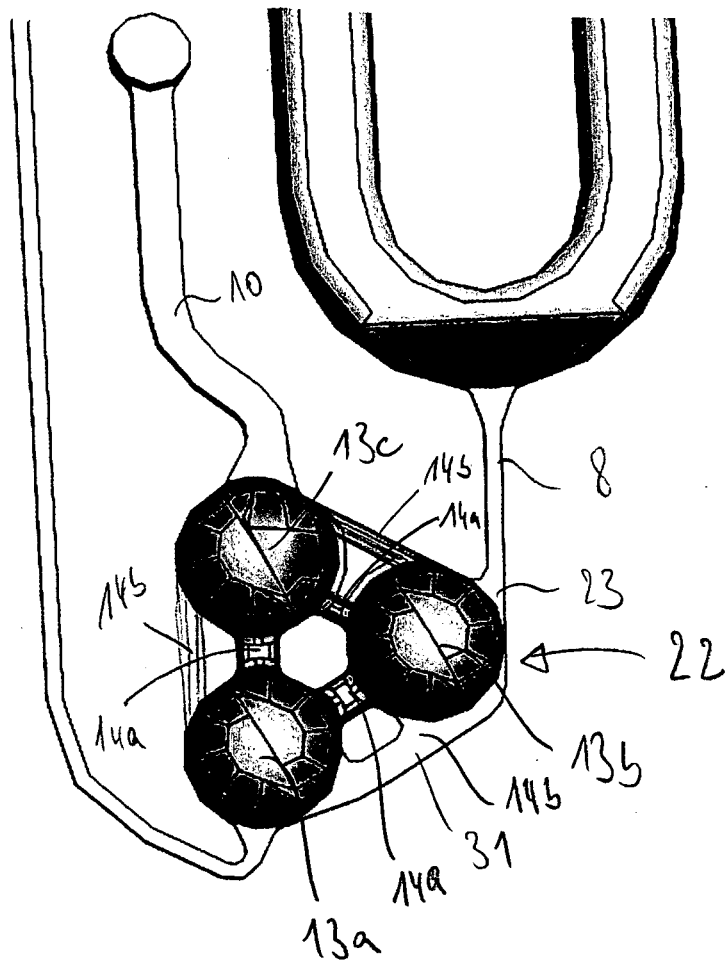


Fig 7

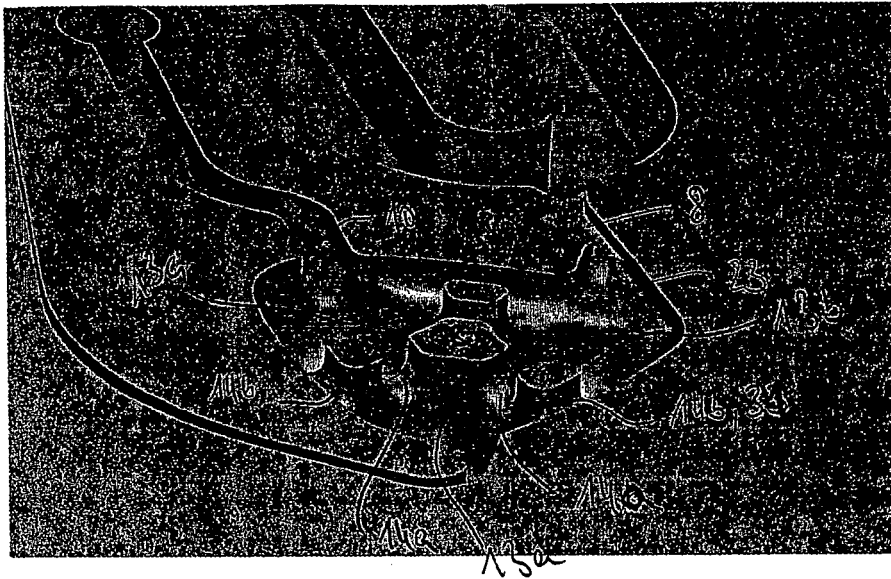


Fig. 8a

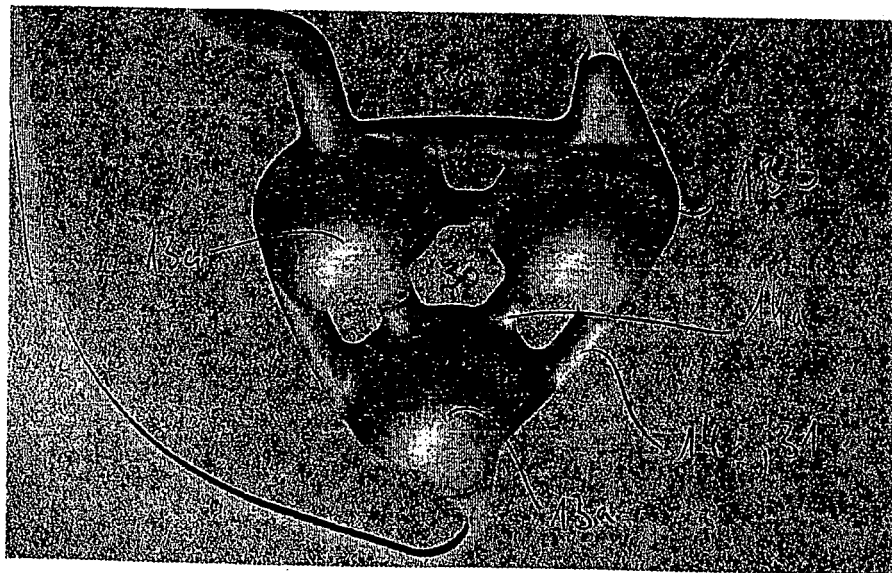


Fig. 8b

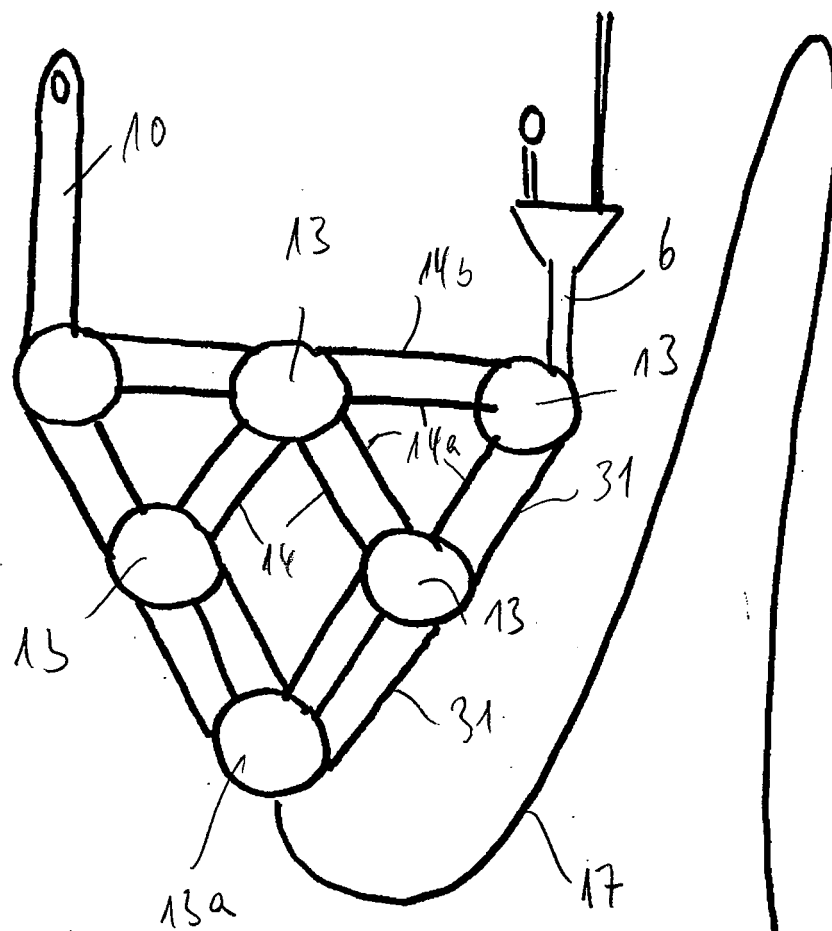


Fig. 9



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 09 01 5031

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	US 2008/292502 A1 (KITAWAKI FUMIHISA [JP] ET AL) 27. November 2008 (2008-11-27)	1-5,7,10,13,14	INV. B01F1/00
Y	* Abbildungen 1-7 * * Ansprüche 11,12 * * Absätze [0035], [0036], [0108], [0109], [0130], [0131], [135] - [0139], [0161] - [0162], [0172] - [0174] *	6,8,9,11,12,15	B01F9/00 B01F11/00 B01F13/00 B01F15/02 B01L3/00 G01N35/00
Y,D	EP 1 944 612 A1 (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD [JP]) 16. Juli 2008 (2008-07-16) * Abbildungen 1-4, 6-8 * * Absätze [0037] - [0039], [0043] - [0050], [0078] - [0084], [0095] - [0099], [0105] - [0108] *	6,8,9	
Y	US 2005/041525 A1 (PUGIA MICHAEL J [US] ET AL) 24. Februar 2005 (2005-02-24) * Abbildungen 1-3 * * Absätze [0019], [0043] *	11,12,15	
A	DE 10 2005 016509 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM MICROPART [DE]) 12. Oktober 2006 (2006-10-12) * Abbildung 1 * * Absätze [0019], [0020], [0032] *	4	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) B01F B01L G01N
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 8. Juni 2010	Prüfer Krasenbrink, B
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

1

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 09 01 5031

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am

Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

08-06-2010

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2008292502 A1	27-11-2008	WO 2006106608 A1	12-10-2006
EP 1944612 A1	16-07-2008	WO 2007052647 A1	10-05-2007
		US 2008227217 A1	18-09-2008
US 2005041525 A1	24-02-2005	AT 392947 T	15-05-2008
		CA 2533107 A1	03-03-2005
		DE 602004013339 T2	02-07-2009
		DK 1658130 T3	01-09-2008
		EP 1658130 A1	24-05-2006
		ES 2305856 T3	01-11-2008
		JP 2007502979 T	15-02-2007
		PT 1658130 E	16-07-2008
		WO 2005018787 A1	03-03-2005
DE 102005016509 A1	12-10-2006	KEINE	

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- US 4456581 A [0005]
- US 4580896 A [0005]
- EP 1077771 B1 [0005]
- EP 1944612 A1 [0005]