

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 564**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B01J 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04702687 .7**

96 Fecha de presentación: **16.01.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1587624**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.10.2005**

54 Título: **Recipiente de muestras para análisis**

30 Prioridad:
17.01.2003 DE 10302341
10.05.2003 DE 10321042

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.03.2012

73 Titular/es:
GREINER BIO-ONE GMBH
MAYBACHSTRASSE 2
72636 FRICKENHAUSEN, DE

72 Inventor/es:
KNEBEL, Günther;
STAPPERT, Jörg;
JEHLE, Heinrich y
KESSLER, Joachim

74 Agente/Representante:
Isern Jara, Jorge

ES 2 377 564 T3

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

DESCRIPCION

Recipiente de muestras para análisis.

La invención se refiere a un recipiente de muestras para análisis, en particular a un soporte de biochips, el cual comprende una placa de soporte con por lo menos una cámara de reacción, la cual es apropiada para diagnósticos médicos o para la búsqueda de sustancias activas.

Son ya conocidas las microplacas para la titulación de materiales biológicos o químicos, o respectivamente, para la realización de mediciones de fluorescencia, de luminiscencia u otras mediciones. Las microplacas, que están formadas por múltiples cubetas, encuentran aplicación particularmente en la investigación, la clínica y la industria, en particular en la determinación de la serología de grupos sanguíneos, series de ensayo de antibióticos, titulaciones complementarias y otros trabajos de laboratorio, en los cuales por ejemplo se requieren series de dilución geométrica. El formato estándar general con las investigaciones bioquímicas y biológicos celulares son placas de microtitulación de 96 pocillos ("potecitos de muestras" o cavidades) con un volumen de reacción de hasta 500 µl por pocillo. Cada vez más se emplean placas de microtitulación con 384 pocillos o incluso con 1536 pocillos. Esta tendencia de una creciente miniaturización está forzada ante todo por la química combinatoria y el screening de alto rendimiento, también llamado HTS ("High Throughput Screening") ("Screening de alto rendimiento"). Ambos campos pertenecen hoy a los pilares fundamentales de la moderna investigación farmacéutica de sustancias activas.

Mediante el HTS se investiga por ejemplo si existe en una biblioteca de sustancias una sustancia activa que puede ser empleada como base para nuevos medicamentos. Los componentes de la biblioteca de sustancias deben investigarse a este respecto en un procedimiento de ensayo con respecto a su reactividad con un objetivo (molécula diana). Las sustancias encontradas son posibles candidatos para una sustancia activa, la cual puede influir sobre la función de la molécula diana en cuestión. La detección de la sustancia activa tiene lugar a este respecto o bien mediante procedimientos ópticos como la absorción, la fluorescencia y la luminiscencia, o bien mediante la detección de la radioactividad por centelleo. La multiplicidad de las interacciones a investigar requiere una gran variación en los sistemas de ensayo y en los tipos de detección vinculados.

La búsqueda de sustancias activas exige que en primer lugar se encuentren las dianas que son responsables de la aparición de enfermedades. Gracias a la creciente comprensión de la moderna biología molecular se identifican cada vez más genes causantes de enfermedades o respectivamente influyentes en enfermedades, sobre los cuales puede actuarse con medicamentos apropiados. Un hito en el análisis de moléculas biológicamente activas, en particular, para la identificación de los genes responsables de la aparición de las enfermedades, lo constituyen los soportes miniaturizados, los llamados biochips. En la superficie de estos soportes pueden ser inmovilizadas o sintetizadas moléculas biológicamente activas de composición conocida, en toda la superficie o en una retícula asignada. En el caso de las moléculas biológicamente inmovilizadas puede tratarse por ejemplo de ácidos nucleicos o fragmentos de los mismos o respectivamente de proteínas o fragmentos de las mismas. Mediante la ayuda de los biochips que contienen los ácidos nucleicos inmovilizados, los cuales se llaman también DNA-Arrays ("matrices de ADN"), la determinación por ejemplo de ácidos nucleicos en las muestras que hay que investigar, se facilita, se acelera, se paraleliza, se automatiza y se precisa esencialmente. Los chips de ADN o las matrices de ADN se emplean por ejemplo en el diagnóstico clínico de enfermedades infecciosas, de enfermedades cancerígenas y de enfermedades hereditarias. La eficiencia de dichos chips de ADN en los análisis de muestras reside en particular en que son necesarios únicamente pequeños volúmenes de muestra y en que la evaluación puede lograrse mediante procedimientos de medición altamente sensibles. Mediante el empleo de dichos chips se pueden investigar por lo tanto gran cantidad de muestras con mucha rapidez. También son conocidas las matrices de proteína, en las cuales análogamente a los chips de ADN, se disponen las proteínas o los péptidos sobre por ejemplo membranas de plástico en una ordenada y conocida retícula. Esta clase de matrices de proteína se emplean ante todo para la investigación del enlace mutuo de proteínas, por ejemplo, la interacción receptor-ligando, para la identificación de complejos de proteínas intracelulares, para la investigación de interacciones proteína-ADN e interacciones proteínas-ARN, ó para el análisis de interacciones proteína-anticuerpo. Con la ayuda de la tecnología proteína-chip ya pueden ser identificados numerosos marcadores de proteína para las enfermedades cancerígenas o enfermedades como la demencia de Alzheimer.

La miniaturización del sistema de ensayo con microplacas aporta en verdad considerables ventajas con respecto a los costes, pero sin embargo está unida a grandes problemas en su realización técnica. Debido a la miniaturización de las placas de microtitulación deben también miniaturizarse cada vez más los ensayos a efectuar en los pocillos. Por este motivo son necesarios también dispositivos de detección con volúmenes cada vez más pequeños y exigencias cada vez más grandes. Así, es conocido que en los tipos de detección individuales en volúmenes extremadamente pequeños se presentan especiales problemas. En la medición de la luminiscencia, un volumen pequeño de muestra significa por ejemplo también una señal pequeña para la detección óptica lo cual tiene influencia sobre la sensibilidad de la medición. La medición de la absorción se ve entorpecida por el efecto menisco de la superficie del líquido, puesto que el menisco tiene lugar de manera muy variable en espacios extremadamente pequeños de muestras. Única y solamente la medición de la fluorescencia no está sujeta a restricciones de volumen. De todas formas la sensibilidad que puede lograrse está aquí limitada, por la propia fluorescencia del material plástico que se utiliza en las placas de microtitulación en la mayoría de los procedimientos.

Surgen problemas en particular con las microplacas con varios cientos de pocillos. Puesto que la abertura de dichos pocillos es muy pequeña y además frecuentemente está limitada todavía por un abultamiento anular, mientras que el volumen es al mismo tiempo relativamente grande, se pueden emplear en los pocillos sistemas de detección empleados para detectar las reacciones, por ejemplo, dispositivos de scanning, que se emplean colocados no verticalmente en un ángulo óptimo de 90° encima o respectivamente en la abertura de los pocillos, sino que deben colocarse oblicuamente encima o respectivamente dentro de las aberturas, de manera que el ángulo sea parcialmente considerablemente menor de 90° C. Con ello se produce un efecto de sombra, el cual falsea adicionalmente los resultados conseguidos en el análisis mediante el sistema de detección. También los dispositivos Spotter ("marcadores") que sirven para recubrir el fondo de los pocillos por ejemplo con ácidos nucleicos, originan problemas técnicos, puesto que los Spotter deben introducirse en los pocillos a una relativa profundidad.

En la industria farmacéutica basada en la investigación o respectivamente en la investigación básica pueden tolerarse a menudo los problemas que aparecen en la placa de microtitulación en relación con la miniaturización. En primer lugar, se pretende someter muchas muestras al mismo procedimiento de ensayo sobre una placa, en filas paralelas. A menudo, es más que suficiente, determinar la diferencia de intensidad de una señal entre pocillos individuales y con ello obtener una declaración más cualitativa. En el diagnóstico clínico la situación sin embargo es totalmente distinta. Aquí por ejemplo deben someterse muy a menudo muestras, por ejemplo líquidos corporales de un paciente a varios diferentes procedimientos de ensayo con el empleo de diferentes reactantes, en donde cada ensayo puede comprender comparativamente pocas mezclas paralelas. Por el contrario, es a menudo también necesario ensayar muchas muestras de diferentes pacientes respecto a un único parámetro. Por el contrario, en el screening de alto rendimiento los ensayos clínicos individuales deben hacer posible de todas formas, declaraciones cuantitativas para por ejemplo poder detectar el brote o el curso de una enfermedad en un paciente individual. Los problemas que aparecen en los sistemas de detección con volúmenes extremadamente pequeños pueden conducir por lo tanto a un diagnóstico clínico con errores graves de los valores de medición obtenidos. La exactitud de la detección juega por lo tanto en el diagnóstico clínico un papel considerablemente grande como por ejemplo en el screening de alto rendimiento de sustancias activas.

El problema técnico que reside en la base de la presente invención consiste en la preparación de un recipiente de muestras de análisis, en particular para investigaciones clínico-químicas de pacientes específicos, el cual después de la inmovilización de moléculas biológicamente activas puede ser empleado en particular como biochip y que supera las desventajas ya conocidas en el estado actual de la técnica y permite una rápida y segura determinación de parámetros clínicos, con el cual es posible en particular una detección cuantitativa libre de errores de importantes parámetros clínicos-químicos mediante el empleo de una técnica de detección automatizada.

La presente invención soluciona el problema técnico que está en la base, mediante la preparación de un soporte de biochips que comprende una placa de soporte que tiene por lo menos una cámara de reacción tridimensional, en donde la cámara de reacción está formada por un fondo y el volumen abierto hacia arriba de la cámara de reacción está formado lateralmente por paredes laterales, en donde la relación entre la superficie del fondo y la altura de las paredes laterales es mayor o igual a 30, de preferencia mayor de 50. A este respecto, el fondo y/o por lo menos una pared lateral de por lo menos una cámara de reacción está ejecutada como matriz de unión con un grupo funcional, el cual permite la unión de una molécula natural o sintética, en particular una molécula biológicamente activa. Además, asignada de manera reversible a una cámara de reacción, existe por lo menos una cámara de aumento de volumen, cuya cámara de aumento de volumen puede aplicarse sobre el soporte de biochips de manera que se forma una unión hermética a los líquidos, entre las paredes laterales de la cámara de reacción y las paredes laterales de la cámara de aumento de volumen.

Según la invención, está particularmente previsto que la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo expresada en mm^2 y el valor numérico de la altura expresada en mm, medida desde la parte más profunda del fondo, de preferencia plano, hasta el borde superior de las paredes laterales de preferencia siempre con la misma altura, es mayor o igual a 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80 ó 90. Es particularmente ventajoso cuando la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es de 30 a 100, de preferencia de 32 a 80. Es particularmente preferido que la relación entre las dimensiones de la superficie del fondo y la altura de las paredes laterales sea mayor o igual a 50. Según la invención el borde superior de las paredes laterales de la cámara de reacción forma de preferencia la parte más alta del soporte de biochips.

El soporte de biochips según la invención comprende también una placa de soporte y por lo menos una cámara de reacción tridimensional, en donde la cámara de reacción está formada por un fondo y por el volumen de la cámara de reacción que comprende lateralmente y finalmente las paredes laterales, en donde la cámara de reacción presenta hacia arriba una abertura, de preferencia con la misma superficie y geometría que el fondo y en donde la relación entre la superficie (F) del fondo y la altura de las paredes laterales. como se ha descrito más arriba, es en particular mayor o igual a 30, de preferencia mayor que 50.

La presente invención presenta pues, un soporte de biochips, sobre el cual por lo menos está colocada una, en otra versión preferida sin embargo varias cámaras o cavidades de reacción, en donde la cámara de reacción o las cámaras de reacción presentan una superficie relativamente grande del fondo en relación a su altura. En los sistemas de microplacas conocidos en el estado actual de la técnica, la relación entre la superficie del fondo de la cavidad y su altura es más pequeña de 5, es decir, esencialmente más pequeña que la del soporte de biochips

según la invención.

La relación según la invención considerablemente mayor entre la superficie del fondo de la cámara de reacción y la altura de sus paredes laterales, ofrece por un lado la ventaja de que en pequeños volúmenes la cámara de reacción dispone de una gran superficie la cual está provista de muchos puntos de unión para la inmovilización biológica de moléculas activas con lo cual puede ser aprovechada para la ejecución de reacciones. Por otro lado, la cámara de reacción de la invención permite, en comparación con las placas de microtitulación conocidas, una evaluación considerablemente mejor del ensayo efectuado en la cámara de reacción, que con la utilización de los sistemas de detección convencionales, puesto que se eliminan los valores de medición falseados por las mediciones condicionadas por las fuentes de errores con los pocillos convencionales. Debido a su pequeña profundidad las cámaras de reacción según la invención ofrecen por ejemplo la posibilidad de ajustar un escáner convencional u otro dispositivo convencional de detección verticalmente sobre, o respectivamente dentro, de la abertura de la cámara de reacción en un ángulo de 90° y a continuación efectuar la correspondiente medición. En consecuencia, no existe en las placas de microtitulación conocidas ningún efecto de sombreado que podría conducir a un falseamiento del valor obtenido de la medición. Debido a su pequeña profundidad, las cámaras de reacción del soporte de biochips según la invención ofrecen también sin problemas la posibilidad por ejemplo de que un ácido nucleico bajo la utilización de un spotter ("marcador") convencional se aplique sobre el correspondiente fondo de la cámara de reacción individual, sin que el spotter deba ser introducido muy profundamente en la cámara de reacción.

Al contrario de los biochips convencionales en los cuales se aplican moléculas biológicas en forma de marcas sobre una superficie plana lisa, en particular un soporte de vidrio, y en las cuales no existe ninguna cámara de reacción limitada o separada, el soporte de biochips según la invención, presenta un compartimento en forma por lo menos de una única cámara de reacción limitada, o en otras versiones también varias o muchas cámaras de reacción separadas entre sí. Por este motivo el soporte de biochips se puede emplear también para reacciones con reactivos que se encuentran exclusivamente en solución en donde según sea necesario pueden efectuarse también distintas reacciones con distintos reactantes. Por otro lado se puede emplear el soporte de biochips según la invención también para efectuar dichas reacciones, en las cuales por lo menos un reactante está unido a la la superficie del fondo de la cámara de reacción. Por el contrario, en los biochips convencionales pueden efectuarse también debido a la compartimentación del soporte de biochips de acuerdo con la invención según sea necesario, diferentes reacciones con iguales o diferentes reactantes unidos en las cámaras de reacción individuales del soporte de biochips según la invención. Por esta razón, debido a que las cámaras de reacción del soporte de biochips se ejecutan como cavidades separadas, se pueden efectuar simultáneamente por ejemplo en las cámaras de reacción individuales de un soporte de biochips según la invención, diferentes hibridaciones de diferentes ácidos nucleicos con diferentes ácidos nucleicos y/o mediante diferentes reacciones de unión proteína-proteína con diferentes proteínas, sin que estas reacciones individuales estorben. Contrariamente al biochip según la invención, un biochip convencional sin compartimentación no ofrece esta posibilidad. El soporte de biochips según la invención reúne de manera ventajosa los beneficios de la tecnología del chip con las ventajas de la tecnología de las placas de microtitulación.

El soporte de biochips según la invención es particularmente apropiado para la ejecución de análisis de ácidos nucleicos o de proteínas específicos del paciente. Según la invención está previsto por ejemplo que la superficie del fondo de la cámara de reacción según la invención está funcionalizada con grupos químicos, los cuales permiten la unión de moléculas biológicas, en particular de sondas de ácido nucleico con conocidas secuencias de nucleótidos o con proteínas con secuencias de aminoácidos conocidas. Mediante la inmovilización de moléculas activas biológicas se puede obtener por lo tanto mediante el empleo del soporte de biochips según la invención con cámaras de reacción funcionalizadas, un biochip, el cual por ejemplo permite un gran número de hibridaciones de diagnóstico de ácido nucleico, o reacciones de unión ácido nucleico – proteína, o reacciones de unión proteína - proteína.

Según la invención, se ha previsto en una versión de la invención además que, el soporte de biochips según la invención, presente unas dimensiones que permitan el empleo del soporte de biochips según la invención en una placa de microtitulación convencional, con las dimensiones según las normas de la SBS (Society of Biomolecular Screening) ("Sociedad de screening biomolecular"). En una versión, el soporte de biochips según la invención tiene la forma de una tira, cuya longitud permite emplearla en una placa de microtitulación según el estándar SBS, mientras que el ancho de la tira puede variar. La forma de la tira del biochip según la invención, en particular en el diagnóstico clínico, por ejemplo en la determinación de parámetros clínico-químicos de un paciente individual, es extremadamente ventajosa. Sobre una tira pueden ordenarse linealmente las cámaras de reacción una tras otra formando una fila, de tal manera que sobre la misma tira pueden colocarse también, varias filas una al lado de otra.

En el diagnóstico clínico deben someterse por ejemplo diferentes muestras, por ejemplo diferentes líquidos corporales, de un mismo paciente individual un gran número de diferentes ensayos clínico-químicos. Estos diferentes ensayos pueden diferenciarse substancialmente entre sí, tanto con respecto a los pasos del procedimiento como también con respecto a las condiciones necesarias, por ejemplo, con respecto al intervalo de temperatura necesario, o respectivamente, a los perfiles de temperatura. Una característica general de este ensayo consiste a menudo en que la misma muestra por ejemplo, un líquido corporal, debe ser analizado en un limitado número de investigaciones paralelas. El soporte de biochips según la invención puede ser por ejemplo, una tira y, en dependencia del número de los ensayos a ejecutar, puede presentar por lo menos una cámara de reacción, de

preferencia sin embargo varias, por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó más cámaras de reacción, por ejemplo colocadas formando una fila. Según la invención, el soporte de biochips según la invención realizado en forma de tira, puede tener por ejemplo 2ⁿ cámaras de reacción con $n \geq 0$, por ejemplo 2, 4, 8, ó 16 cámaras de reacción. Este número de cámaras de reacción sobre un soporte de biochips según la invención es suficiente por regla general para realizar por ejemplo un ensayo específico de un paciente individual con los correspondientes controles y mezclas paralelas.

En tanto en otra versión preferida el soporte de biochips es ejecutado en el formato de una placa de microtitulación rectangular, por ejemplo, en un formato estándar de SBS, pueden estar presentes en total desde 1 hasta por ejemplo 1536, de preferencia 1, 12, 24, 36, 48, 96 u otros múltiplos de 8 ó 12 cámaras de reacción, de preferencia en forma de una matriz. El soporte de biochips puede estar realizado también en forma de matriz de tal manera que presenta unas dimensiones que permiten su empleo en una placa de microtitulación según el estándar SBS. Este soporte de biochips en forma de matriz presenta en una forma de ejecución preferida, unas medidas de longitud y ancho que esencialmente corresponden a una placa de microtitulación, de forma que el soporte de biochips de preferencia reversible, puede ser aplicado, adjuntado o sujeto con un clip, sobre o parcialmente en, la placa de microtitulación convencional, y ésta puede ser cubierta completamente o casi completamente por arriba.

Pueden efectuarse ventajosamente ensayos específicos de pacientes individuales sobre diferentes soportes de biochips, o respectivamente biochips obtenidos con el empleo de diferentes soportes de biochips según la invención. Los soportes de biochips o respectivamente los biochips empleados para la ejecución de diferentes ensayos clínico-químicos pueden diferenciarse por ejemplo en que en sus cavidades están inmovilizados diferentes ácidos nucleicos o proteínas. Los diferentes soportes de biochips o respectivamente los biochips empleados para el diagnóstico de un paciente individual, se emplean por ejemplo dispuestos en forma de tiras, y estas tiras pueden según la invención insertarse en la misma placa de microtitulación para mediante el empleo de una técnica de pipeteado apropiada, aplicar la misma muestra de un paciente individual al mismo tiempo sobre todos los soportes de biochip o respectivamente los biochips. Después de la aplicación de la muestra de este paciente individual, los soportes de biochips o respectivamente los biochips empleados para la ejecución de ensayos específicos, con los correspondientes soportes de biochips o los biochips, pueden aplicarse las muestras de otros pacientes individuales, combinarse con otras placas de microtitulación, de manera que estos biochips puedan ser sometidos conjuntamente, a los mismos pasos de procedimientos de ensayo o a las mismas condiciones de ensayo. Después de efectuar la ejecución de los ensayos pueden combinarse los correspondientes soportes de biochips o respectivamente los biochips específicos de pacientes individuales, de nuevo sobre una placa de microtitulación separada, y ser evaluados conjuntamente empleando un único sistema de detección. La forma de tira del soporte de biochips según la invención permite con ello una alta flexibilidad en la manipulación y evaluación de las muestras.

En conexión con la presente invención se entiende con el nombre de "biochip" un dispositivo que comprende por lo menos una cavidad o una cámara de reacción en la cual se inmovilizan o se fijan moléculas biológicamente activas, por ejemplo ácidos nucleicos o proteínas y con su ayuda, por ejemplo mediante procedimientos de hibridación y/o de unión, puede detectarse también en una pequeña muestra una pequeña cantidad de un ligando el cual bajo condiciones apropiadas puede unirse a esta molécula biológicamente activa. El biochip puede emplearse como módulo de chip, módulo de reacción, módulo de ensayo, dispositivo de ensayo, módulo de análisis, cámara de análisis o dispositivo de análisis.

Bajo el nombre de "soporte de biochips" se entiende en conexión con la presente invención un dispositivo que comprende una placa de soporte con por lo menos una cavidad o cámara de reacción, en la cual pueden inmovilizarse o fijarse moléculas biológicamente activas como los ácidos nucleicos o las proteínas. El soporte de biochips puede también emplearse para la obtención de un biochip, inmovilizando o fijando moléculas biológicamente activas en la cámara de reacción, en particular en la superficie funcionalizada del fondo de la cámara de reacción.

Bajo el nombre de "placa de soporte" del soporte de biochips se comprende un elemento delgado y plano con una forma de preferencia rectangular, el cual consta de un metal, un óxido metálico, una sustancia plástica, una membrana, un vidrio, una cerámica, un híbrido o respectivamente una combinación de los mismos. En conexión con la invención, esto significa que la placa de soporte del soporte de biochips según la invención, consta completamente de uno de los materiales citados previamente, o los contiene esencialmente, o consta completamente de una combinación de estos materiales o los contiene esencialmente, o que la superficie de la placa de soporte del soporte de biochips según la invención, consta completamente de uno de los materiales citados previamente o los contiene esencialmente, o estos los contiene esencialmente o consta completamente de una combinación de estos materiales o los contiene esencialmente. La placa de soporte o su superficie consta a este respecto de aproximadamente un 50%, un 60%, de preferencia hasta aproximadamente un 70%, de preferencia hasta aproximadamente un 80%, y con la mayor preferencia de aproximadamente un 100 % de un material de los previamente citados o de una combinación de dichos materiales. En una versión preferida, la placa de soporte del soporte de biochips según la invención, consta de aproximadamente un 100% de sustancia plástica. La placa de soporte es el soporte de por lo menos una cámara de reacción y la hace manipulable, es decir funciona como un marco o como un asidero. En una versión preferida la placa de soporte presenta unas superficies de contacto y/o dispositivos de fijación, por ejemplo dispositivos de enclavamiento, dispositivos de conexión u otros dispositivos, los cuales permiten el contacto de preferencia reversible, la inserción, la unión o la sujeción del soporte de microchips sobre o en una placa de microtitulación convencional, en donde el soporte de biochips cubre las cavidades de la

placa de titulación completa o parcialmente hasta arriba. Por lo menos una cámara de reacción, puede estar construida sobre o en la superficie del soporte. Por lo menos, una cámara de reacción, puede pues ser ejecutada integralmente con la placa de soporte, es decir de una sola pieza, aunque en otra versión, puede también estar en contacto y estar unida reversible o irreversiblemente sobre la placa de soporte como una unidad separada. Por lo menos una cámara de reacción, puede además constar de los materiales o contener los materiales que fueron descritos anteriormente para las placas de soporte.

Con la denominación de "cámara de reacción" o "cavidad", se entiende un cuerpo geométrico que se encuentra en el fondo y se compone del fondo el cual tiene por los lados unas paredes laterales que lo limitan, y presenta una abertura que está formada por el borde superior de las paredes laterales. Con el nombre de "cámara de reacción" o "cavidad" se entiende pues una configuración espacial que se compone del fondo y de unas paredes laterales; el fondo y las paredes laterales están ordenadas una tras otra de forma que comprende un volumen hacia abajo y hacia los lados, en donde el volumen comprendido hacia arriba presenta una abertura. Las paredes laterales pueden ser ejecutadas por ejemplo como un muro, una pared, un nervio, una protuberancia, un cordón o un cordón anular. La cámara de reacción encierra tanto por abajo como lateralmente una abertura hacia arriba, un volumen dentro del cual pueden realizarse reacciones bioquímicas, en particular reacciones de hibridación de ácidos nucleicos, reacciones de unión ADN-proteína, reacciones de unión proteína-proteína etc.. Según la invención, está previsto que el fondo de la cámara de reacción esté constituido por una superficie plana y lisa, en donde el fondo de la cámara de reacción según la invención tenga, en la vista en planta, en particular la forma de un círculo, un rectángulo, un cuadrado, un hexágono, un polígono o una elipse. De preferencia todas las paredes laterales de una cámara de reacción tienen la misma altura. De preferencia todas las paredes laterales forman un ángulo recto con el fondo, aunque también este ángulo entre las paredes laterales y el fondo puede ser distinto, con lo que se constituyen distintas versiones de esta invención.

Una versión de la invención particularmente preferida se refiere a un soporte de biochips, en el cual el borde superior de las paredes laterales de la cámara de reacción del soporte de biochips según la invención representa la parte más alta. En conexión con la presente invención el "borde superior de la cámara de reacción" es el punto superior, es decir el punto más alto de la cámara de reacción que existe en la pared lateral de la cámara de reacción. Según la invención está previsto que los bordes superiores de por lo menos dos, de preferencia de todas las cámaras de reacción de un soporte de biochips, tengan la misma altura.

Una configuración particularmente preferida de la invención se refiere a un soporte de biochips en el cual el borde superior de la cámara de reacción esté en un plano por encima del borde superior de la placa de soporte del soporte de biochips. En conexión con la presente invención se entiende por "borde superior de la placa de soporte" la zona más alta de la placa de soporte, es decir, la zona superior de la placa de soporte orientada en la misma dirección que la abertura de la cámara de reacción, en particular una zona que en esencia transcurre encima de la misma altura del conjunto de la placa de soporte y también puede ser designada como su superficie.

En una configuración preferida el fondo de la cámara de reacción está formado por la placa de soporte, mientras que las paredes laterales de la cámara de reacción por ejemplo están formadas como elevaciones de la placa de soporte, y en una versión preferida, el fondo tiene una vista en planta por ejemplo de forma cuadrada, poligonal, hexagonal, elíptica, rectangular o circular. En una versión preferida el fondo está en un plano con la superficie de la placa de soporte. Las paredes laterales de la placa de reacción formadas por ejemplo como elevaciones pueden estar por ejemplo como un cordón anular o respectivamente como una pared anular, es decir el borde superior de la cámara de reacción corre alrededor del perímetro de la cámara de reacción y está separado del cordón anular o respectivamente de la pared anular de la cámara de reacción más próxima, por una cavidad. El borde superior de la cámara de reacción presenta en esta versión la zona más alta del cordón anular.

En otra versión de la presente invención el soporte de biochips está configurado de tal forma que las paredes laterales están formadas por elevaciones y el borde superior de las paredes laterales está por encima del borde superior de la superficie del soporte, y como mínimo se encuentra una cámara de reacción colocada sobre una base, un pedestal o una elevación sobre la placa de soporte. La vista en planta de esta base corresponde en una versión preferida a la vista en planta del fondo de la correspondiente cámara de reacción. Una ejecución efectuada de esta forma comprende por lo tanto una placa de soporte sobre la cual se encuentra colocada por lo menos una cámara de reacción. La superficie plana, lisa, del fondo se encuentra en consecuencia encima del borde superior, a saber, a una distancia vertical que corresponde a la altura de la base. De preferencia, está previsto que cada cámara de reacción del soporte de biochips tenga su propia base, de manera que el número de bases corresponda al número de cámaras de reacción. La configuración de la propia cámara de reacción, en particular la relación entre la superficie base del fondo y la altura de las paredes laterales, así como la configuración geométrica de las paredes laterales de la vista en planta de la cámara de reacción etc., es como se ha descrito previamente para las otras versiones.

La invención proporciona en otra versión preferida un soporte de biochips, en donde el borde superior de la cámara de reacción y el borde superior de la placa de soporte están en el mismo plano y el fondo está colocado debajo del borde superior de la placa de soporte. Es decir, según la invención, está previsto que la cámara de reacción esté colocada dentro y/o debajo de la placa de soporte como una cavidad, por así decirlo sumergida bajo la placa de soporte, en donde la abertura de la cámara de reacción se cierra con el borde superior de la placa de soporte, sin

que la abertura de la cámara de reacción esté rodeada de paredes laterales ejecutadas como una elevación, como por ejemplo un abombamiento anular o un muro anular. La altura de las paredes laterales verticales corresponde en esta ejecución a la distancia entre el fondo, de preferencia plano y el borde superior de la placa de soporte. Las paredes laterales están formadas en esta versión por las placas de soporte.

5 Naturalmente la cámara de reacción puede estar también sumergida en la placa de soporte, de manera que el fondo esté por debajo del borde superior de la placa de soporte, la parte inferior de las paredes laterales está formada por la placa de soporte y encima de la placa de soporte se extienden las paredes laterales en prolongación de las paredes laterales del pocillo sobre el borde superior del pocillo. El borde superior de la pared lateral está entonces encima del borde superior de la placa de soporte, de manera que también en esta ejecución las paredes laterales
10 están realizadas como elevaciones.

En una versión preferida de la invención, el soporte de biochips según la invención, tiene como ya se ha dicho unas dimensiones las cuales permiten la inserción exactamente adecuada del soporte de biochips en una placa de microtitulación con unas dimensiones según el estándar de la SBS (Society of Biomolecular Screening) ("Sociedad de selección biomolecular"). Cuando el soporte de biochips tiene exactamente, o prácticamente exactamente, las
15 dimensiones de una placa de microtitulación según el estándar de la SBS, está previsto según la invención, que el número de cámaras de reacción sobre la placa de soporte sea por lo menos de 1, 4, 8, 12 ó múltiplos enteros de 8 ó 12. Según la invención está previsto de preferencia, que el soporte de biochips según la invención esté realizado como una tira. En una configuración particularmente preferida de la invención, el soporte de biochips según la invención, tiene las dimensiones de aproximadamente 75 x 25 mm (longitud x ancho; longitud de aquí en adelante:
20 la medida mayor en el plano, de la matriz o de la tira; ancho de aquí en adelante: la medida más pequeña en el citado plano). Cuando el soporte de biochips según la invención, tenga estas dimensiones, está previsto según la invención que sobre la placa de soporte estén colocadas por lo menos una, pero también dos series paralelas de cámaras de reacción, en donde cada serie comprende por lo menos una pero también dos o más, por ejemplo ocho, cámaras de reacción colocadas a distancia una detrás de otra.

25 En otra versión preferida de la invención está previsto que el soporte de biochips, presente en forma de tiras según la invención, tenga una anchura de 9 mm. La longitud de la tira se escoge de preferencia, de forma que sea posible la inserción del soporte de biochips en una placa de microtitulación estándar (SBS), de preferencia que la longitud de la tira esté colocada perpendicularmente a la longitud de la placa de microtitulación estándar. Según la invención está previsto que sobre el soporte de biochips según la invención el cual tiene esta dimensión, estén colocadas a
30 distancia, una serie de ocho cámaras de reacción colocadas una tras otra.

En una versión particularmente preferida de la invención, las cámaras de reacción colocadas sobre los soportes de biochips ejecutados en forma de tiras, en particular sobre el soporte de biochips con las dimensiones de aproximadamente 75 x 25 mm y el soporte de biochips con un ancho de 9 mm, presentan una superficie del fondo
35 en forma circular con un diámetro de 6 mm y una altura de la pared lateral de 0,5 mm. La relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es, en esta versión de la cámara de reacción, aproximadamente de 56. En otra versión preferida de la invención, las cámaras de reacción colocadas sobre los soportes de biochip ejecutados en forma de tiras presentan una superficie del fondo de forma cuadrada con una longitud lateral de 6 mm y una altura de la pared lateral de 0,5 mm. En esta versión la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es de 72.

40 Según la invención está previsto en una versión preferida que la placa de soporte y las cámaras de reacción del soporte de biochips según la invención estén ejecutados de una sola pieza, en donde las cámaras de reacción son un componente integral de la placa de soporte. De preferencia el soporte de biochips está formado de una substancia plástica. Con particular preferencia se trata en el caso del plástico empleado para la obtención del biochip, de un copolímero de cicloolefinas (COC), polímeros de cicloolefinas (COP) acrilbutadienestireno, poliamida,
45 policarbonatos, poliéster, polimetilmetacrilato, polipropileno, poliestireno, SMA (copolímero de estireno-anhídrido maleico) o estirenoacrilonitrilo.

Según la invención está previsto que el fondo de por lo menos una cámara de reacción esté realizada como matriz de unión con un grupo funcional, la cual permite que se efectúe la unión de una molécula natural o sintética, en particular una molécula biológicamente activa. En una versión preferida el fondo de la cámara de reacción ejecutado
50 como matriz de unión está formado de vidrio, de un polímero, de una membrana o de un híbrido de los mismos, en donde en la superficie del material está contenido por lo menos un grupo funcional, el cual por ejemplo mediante una unión covalente o también mediante la acción recíproca ácido-base de Brönstedt, puede inmovilizar en la superficie del fondo una molécula natural o sintética, en particular una molécula biológicamente activa. El fondo de la cámara de reacción es también según la invención una matriz de unión con un grupo químico funcional, la cual hace posible
55 la unión, en particular una unión covalente con un grupo complementario de una molécula natural o sintética, en particular de una molécula biológicamente activa. En conexión con la presente invención, se entiende por "grupo funcional" un grupo químico aplicado sobre el fondo de la cámara de reacción, el cual está en situación de interaccionar con una molécula para inmovilizar una molécula natural o sintética, en particular una molécula biológicamente activa, de manera que en particular puede tener lugar una unión covalente o iónica entre los dos
60 participantes de la unión.

En una versión preferida, el fondo de la cámara de reacción se compone de un polímero, el cual presenta en la superficie, por lo menos un grupo funcional.

La funcionalización de la superficie, en particular de la superficie de un polímero, puede efectuarse según la invención mediante el empleo de procedimientos químicos de funcionalización, de procedimientos de funcionalización con plasma, de procedimientos de funcionalización con UV, ó mediante el empleo de polímeros de injerto.

Una versión preferida de la invención se refiere por lo tanto a un soporte de biochips, en donde el grupo funcional se aplica mediante el empleo de un procedimiento químico de funcionalización sobre la superficie del polímero.

En tanto la superficie del fondo de la cámara de reacción se compone de un polímero con radicales aromáticos, por ejemplo grupos fenilo, como en el caso del poliestireno, puede aplicarse un espaciador de clorometilo mediante el compuesto 1-clorodimetiléter en presencia de un ácido Lewis, por ejemplo $AlCl_3$, mediante una sustitución aromática electrófila del aromato sobre el polímero. La función clorometilo resultante es activada frente a los reactivos nucleófilos para la formación de enlaces elemento - carbono con separación de cloruro. La función clorometilo puede a continuación substituirse de nuevo, con lo cual puede tener lugar la substitución con N-nucleófilos por ejemplo NH_3 , u O-nucleófilos. Mediante la elección de un nucleófilo apropiado, como por ejemplo el HO-arilo-CHO ó el ácido formicoacético $HO(O)C-CH_2-CHO$, puede introducirse a continuación directamente una función aldehído. Otra posibilidad para la unión covalente viene dada mediante la unión amido. El ácido carboxílico fijado en la superficie necesario para ello puede obtenerse mediante la reacción de ácidos dicarboxílicos con poliestireno funcionalizado con clorometilo. A este respecto se fija una de las funciones ácido sobre la superficie, mientras que la segunda puede ser utilizada para la unión con la molécula diana, a saber, con la molécula biológica que se pretende unir. La función restante $C(O)OH$ puede activarse a continuación mediante la conversión en el correspondiente cloruro ácido. A este respecto sin embargo, la función inestable puede dar problemas, y debe ser convertida in situ enseguida. La unión covalente de la función ácido con la amina es sin embargo también posible sin una previa activación.

Una configuración preferida de la invención se refiere en consecuencia a un soporte de biochips, en donde el polímero del fondo es un polímero con radicales aromáticos, en cuya superficie están fijados grupos clorometilo. En el caso del polímero con radicales aromáticos se trata de preferencia de poliestireno.

Otra configuración preferida de la invención se refiere a un soporte de biochips en el cual el fondo de la cámara de reacción consiste en un polímero, que presenta en la superficie por lo menos una función clorometilo derivatizada, en donde el grupo clorometilo está substituido por un grupo aldehído, por una función amino o por un ácido carboxílico.

En un polímero saturado como por ejemplo el TOPAS (copolímero de cicloolefina, estructura básica del norborneno; fabricante Ticona Frankfurt, Alemania) la introducción de una función CH_2Cl - no es posible, puesto que no existe ningún ligando aromático. Los polímeros saturados pueden clorarse sin embargo mediante una cloración de radicales con utilización de un catalizador. Las unidades de carbono-cloro así obtenidas pueden igualmente derivatizarse.

Una configuración preferida de la invención se refiere en consecuencia a un soporte de biochips en el cual el fondo de la cámara de reacción está formado por un polímero saturado cuya superficie está clorada. En el caso del polímero saturado clorado se trata de preferencia de TOPAS clorado.

Otra configuración preferida de la invención se refiere a un soporte de biochips, en el cual el grupo funcional se aplica mediante el empleo de un procedimiento de funcionalización con plasma sobre la superficie del polímero que se forma en el fondo de la cámara de reacción.

Según la invención, está igualmente prevista la introducción de una funcionalización de la superficie mediante el empleo de un procedimiento de plasma. El plasma del oxígeno del aire produce radicales y diferentes clases de iones, con lo que se forman sobre la superficie del polímero en particular funcionalidades oxígeno. Debido a la alta energía de excitación y a las muy duras condiciones, se rompen enlaces del carbono sobre la superficie del polímero y se forman diferentes funcionalidades carbono-oxígeno. Mientras los enlaces sencillos $C - O$ frente a los enlaces covalentes son inactivos, las funciones ácido carboxílico son por el contrario activas frente a un enlace amida covalente. Los aldehídos pueden inmovilizar biomoléculas amino modificadas con formación de una base Schiff.

Mediante una apropiada modificación de las condiciones de reacción pueden formarse por medio de funcionalizaciones con plasma, funciones amino sobre la superficie del polímero. Las funciones amino así producidas pueden ya emplearse para la formación covalente de grupos carboxilo. A este respecto hay dos posibilidades de reacción, a saber la unión amida de funciones ácido terminales $-C(O)OH-$ y la formación de imina a partir de los dobles enlaces $C=O$ internos existentes. Las superficies del polímero tratadas con plasma pueden derivatizarse además también sin problemas. Por ejemplo las superficies aminadas pueden transfuncionalizarse en superficies que tienen funciones aldehído, en donde al mismo tiempo también la distancia entre los grupos funcionales y la superficie del polímero puede ser aumentada. Las superficies que contienen oxígeno pueden derivatizarse en un ácido carboxílico y a continuación pueden someterse a la inserción de un espaciador con

recepción de la función aldehído.

La presente invención se refiere en consecuencia también mediante el empleo de un procedimiento con plasma, a soportes de biochips, en donde en la superficie se encuentran funciones de ácido carboxílico, aldehído/cetona, amina, epoxi y/o halógeno.

- 5 Otra configuración preferida se refiere a soportes de biochips, en donde el grupo funcional se aplica mediante el empleo de la funcionalización fotoinducida de la superficie, sobre la superficie del polímero que forma el fondo de la cámara de reacción.

Para la aplicación de grupos funcionales sobre la superficie del polímero es apropiado también el procedimiento de funcionalización fotoinducida de la superficie. Para ello puede emplearse en particular el procedimiento de la antraquinona. A este respecto se une para el enlace covalente de la molécula biológica el grupo funcional necesario mediante una reacción química de ligación a un derivado de antraquinona. Para este paso de copulación son necesarios potentes donantes, por ejemplo OH, OMe ó SO₃H, a la estructura de la antraquinona. Otras posibilidades para la derivatización con antraquinona se desprenden del empleo de Aldrich 16.554-9 (C₁₄ H₉O₂N), Aldrich 43.425-6 ó Aldrich 25.272-7. A continuación se fija fotoquímicamente el conjunto de la unidad mediante un mecanismo de radicales en la estructura polimérica.

Otro procedimiento de funcionalización fotoinducida de las superficies, es el injerto fotoquímico, con el cual se obtienen materiales de base variables mediante recubrimientos reactivos controlados con polímeros, los cuales pueden llevar diferentes grupos funcionales. La iniciación de la reacción tiene lugar fotoquímicamente, en particular mediante el empleo de luz UV.

- 20 La presente invención se refiere en consecuencia también a un soporte de biochips en el cual el grupo funcional es aplicado mediante la reacción de la antraquinona con un dador, y a continuación tiene lugar una fijación fotoquímica sobre la superficie del polímero. La presente invención se refiere también a un soporte de biochips, en donde el grupo funcional se aplica mediante injerto fotoquímico sobre la superficie del polímero.

- 25 Otra configuración preferida de la invención se refiere a un soporte de biochips en donde el grupo funcional se aplica sobre la superficie del polímero mediante el empleo de la polimerización por injerto, el cual forma el fondo de la cámara de reacción.

Los polímeros no polares de la matriz, por ejemplo el polipropileno, el poliéster o el EPM (elastómero etileno-propileno-monomero) pueden también ser funcionalizados mediante injerto de sustancias monómeras con grupos polares mediante el empleo de una amasadora de doble husillo. Este tipo de polimerizados por injerto se pueden emplear como componentes de partida para la obtención de mezclas poliméricas y aleaciones poliméricas. De esta forma pueden generarse por ejemplo aleaciones de polipropileno/poliamida, o elastómeros termoplásticos (mezclas pp/EP(D)M; mezcla de polipropileno/EPM), mediante la inserción de una reticulación de la fase elastómera.

Otra versión particularmente preferida de la invención se refiere a un soporte de biochips o respectivamente a un biochip obtenido con el empleo del soporte de biochips según la invención, en donde en el fondo de la cámara de reacción está unida una molécula natural o sintética, en particular una biomolécula o respectivamente una molécula biológicamente activa. En conexión con la presente invención se trata en el caso de una "molécula natural", de una molécula que de preferencia se aísla de una fuente natural o de un material natural y después del aislamiento es sometida eventualmente a una o varias variaciones, modificaciones y/o derivatizaciones químicas. Con la denominación "molécula sintética" se entiende en particular una molécula obtenida por una ruta sintética, de preferencia la molécula natural o sintética presenta una actividad biológica, es decir se trata de una molécula biológicamente activa. En tanto la propia molécula natural o sintética no presenta ninguna actividad biológica por si misma, tiene por lo menos la capacidad de unirse a una molécula biológicamente activa o de formar con ella un agregado, y con ello inmovilizar esta molécula biológicamente activa sobre la superficie del fondo.

- 45 En el caso de la biomolécula o respectivamente de la molecular biológicamente activa, se trata en particular de una proteína, de un ácido nucleico o de una molécula de PNA.

Según la invención está previsto en particular que la molécula biológicamente activa o la biomolécula está unida a la superficie del fondo de la cámara de reacción con recepción de su actividad biológica o está inmovilizada, o bien puede ser unida o inmovilizada. Bajo la denominación de "actividad biológica" de la molécula biológicamente activa o de la biomolécula, se entienden todas las funciones que ésta ejerce en un organismo en su entorno celular natural. Cuando la molécula es una proteína puede tratarse de funciones específicas catalíticas o enzimáticas, funciones de defensa inmunológica, función de transporte y de almacenamiento, función de regulación, funciones de transcripción y translación, y similares. Cuando la molécula biológica es un ácido nucleico, la función biológica puede consistir por ejemplo en la codificación de un producto genérico o en que el ácido nucleico se emplee como matriz para la síntesis de otras moléculas de ácidos nucleicos o como motivo de unión para las proteínas reguladoras. La expresión "mantenimiento de la actividad biológica" significa que una molécula biológicamente activa después de la inmovilización o de la unión a la superficie del polímero, es decir en el fondo de la cámara de reacción del soporte de biochips según la invención, puede ejercer o casi puede ejercer las mismas o casi las mismas funciones biológicas

en por lo menos una medida semejante, como la misma molécula en un estado inmovilizado en condiciones in vitro, o respectivamente la misma molécula en su entorno celular natural. El término "inmovilización" significa, en conexión con la presente invención, que una molécula se une o respectivamente está unida de tal forma a los grupos funcionales de la superficie del polímero, que por ejemplo la estructura tridimensional del o de los dominio(s) necesario(s) para la actividad biológica, frente al estado no inmovilizado, no ha variado y que este o estos dominios, por ejemplo las bolsas de unión ("Bindungstaschen") para socios celulares de reacción, en el contacto con otros socios celulares de reacción, nativos, es/son libremente accesibles.

Según la invención está previsto que el soporte de biochips según la invención, en particular en el fondo de la cámara de reacción, sea una molécula biológica inmovilizada o inmovilizable, en particular un ácido nucleico, una proteína, una molécula de PNA, un fragmento de los mismos o una mezcla de los mismos.

En conexión con la presente invención se entiende con la denominación "ácido nucleico" una molécula que por lo menos consta de dos nucleótidos unidos mediante un enlace fósforo diéster. En el caso de los ácidos nucleicos puede tratarse tanto de un ácido desoxirribonucleico como también de un ácido ribonucleico. El ácido nucleico puede ser tanto de una hebra como de dos hebras. En el contexto de la presente invención un ácido nucleico puede ser también un oligonucleótido. El ácido nucleico unido a la superficie del fondo de la cámara de reacción del soporte de biochips según la invención, tiene de preferencia una longitud de por lo menos 10 bases. Según la invención el ácido nucleico unido puede ser de origen natural o de origen sintético. El ácido nucleico puede también según la invención, ser modificado frente al ácido nucleico de tipo salvaje, mediante procedimientos técnicos genéticos y/o contener unidades estructurales de ácido nucleico no naturales y/o no habituales. El ácido nucleico puede unirse con moléculas de otra clase por ejemplo con proteínas.

En conexión con la presente invención se entiende por "proteína" una molécula que contiene por lo menos dos aminoácidos unidos entre sí por un enlace amido. En el contexto de la presente invención una proteína puede ser también un péptido por ejemplo un oligopéptido, un polipéptido o por ejemplo un dominio proteínico aislado. Una proteína de esta clase puede ser natural o sintética. La proteína puede ser modificada mediante procedimientos técnicos genéticos frente a la proteína de tipo salvaje y/o contener aminoácidos no naturales y/o no habituales. La proteína puede ser derivatizada frente a la forma de tipo salvaje, por ejemplo por glicosilación, puede acortarse, puede fusionarse con otras proteínas o unirse con moléculas de otra clase por ejemplo con hidratos de carbono. Según la invención una proteína puede ser en particular una enzima, un receptor, una citocina, un antígeno o un anticuerpo.

El término "anticuerpo" significa un polipéptido que esencialmente está codificado por uno o varios genes de inmunoglobulina, o fragmentos de la misma, el cual/los cuales se une(n) a, y reconoce(n), un analito específico (antígeno). Los anticuerpos se encuentran por ejemplo como inmunoglobulinas intactas o como una serie de fragmentos, los cuales se originan mediante la escisión con diferentes peptidasas. "Anticuerpo" significa también un anticuerpo modificado como por ejemplo anticuerpos oligómeros, reducidos, oxidados, y marcados. "Anticuerpo" comprende también los fragmentos de anticuerpos los cuales se han originado o bien mediante la modificación de un anticuerpo completo o mediante una nueva síntesis con el empleo de técnicas de recombinación de ADN.

El concepto "anticuerpo" abarca tanto las moléculas intactas como también los fragmentos de los mismos como por ejemplo, Fab, F(ab')₂ y Fv, los cuales pueden unirse a determinantes de epitopos.

En el caso de moléculas de PNA (Peptide Nucleic Acid oder Polyamide Nucleic Acid) ("ácido péptidonucleico o ácido poliamidanucleico"), se trata de moléculas que no están cargadas negativamente, y que actúan de la misma manera que el ADN (Nielsen et al., 1991, Science, 254, 1497-1500; Nielsen et al., 1997, Biochemistry ("Bioquímica"), 36, 5072-5077; Weiler et al., 1997, Nuc. Acids Res., 25, 2792-2799). Las secuencias de PNA comprenden una estructura base de poliamida de unidades N-(2-aminoetil)-glycina, y no tienen ninguna unidad de glucosa ni ningún grupo fosfato.

En otra versión de la invención está previsto que en el soporte de biochips según la invención o respectivamente en el biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips según la invención, en particular en el fondo de la cámara de reacción, existan marcadores de moléculas inmovilizadas o biológicamente unidas, las cuales hacen posible una detección sencilla de estas moléculas mediante el empleo de un procedimiento apropiado de detección. En el caso de estos marcados, puede tratarse por ejemplo de un marcado por fluorescencia, un marcado por UV/VIS, una función superparamagnética, una función ferromagnética y/o un marcado radiactivo. Como procedimiento de detección de estos marcados entran en consideración por ejemplo la espectroscopia de fluorescencia o la espectroscopia de UV-VIS, la espectroscopia de guías de onda, la espectroscopia de impedancia y los procedimientos eléctricos y/o radiométricos.

En una versión de la invención está previsto que en cada una de las cámaras de reacción del soporte de biochips según la invención, o respectivamente del biochip, esté inmovilizada la misma molécula biológicamente activa. En otra versión de la invención está previsto que en cada una de las cámaras de reacción del soporte de biochips según la invención o respectivamente el biochip, esté inmovilizada otra molécula.

La invención se refiere como se ha descrito anteriormente a un soporte de biochips, o respectivamente un biochip, en donde éste comprende una cámara de aumento de volumen reversiblemente colocada, por ejemplo conectada y asociada a un dispositivo de aumento de volumen., en particular por lo menos una cámara de aumento de volumen abierta por arriba y por debajo. El dispositivo de aumento del volumen puede estar firmemente unido, por ejemplo mediante charnelas con el soporte de biochips, aunque puede también estar separado del soporte de biochips y solamente en caso de necesidad ajustarse sobre la cámara de reacción o incluso sujetarse en forma reversible. Está previsto que por lo menos una cámara de reacción de un soporte de biochips sea acoplable reversiblemente a una cámara de aumento del volumen para que ésta sea asignada por lo menos a una cámara de reacción lo cual permite prever para determinados pasos de trabajo, por ejemplo pasos de hibridización o de lavado, una cámara de reacción según la invención con un mayor volumen. La altura de las paredes laterales de la cámara de aumento de volumen es de preferencia esencialmente mayor, por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ó 100 veces más alta que la altura de la pared lateral de la cámara de reacción con la misma superficie de base de la cámara correspondiente. A este respecto puede preverse naturalmente que cuando el soporte de biochips según la invención tenga más de una cámara de reacción también para cada una de estas varias o muchas cámaras de reacción, está prevista una cámara de aumento de volumen reversiblemente ajustable, en donde esta multiplicidad de cámaras de aumento de volumen también pueden estar presentes en una unidad, por ejemplo en forma de tiras o en forma de matrices, en donde las cámaras de aumento de volumen por medio de un marco están unidas entre sí. En consecuencia, los dispositivos de aumento de volumen previstos en combinación con los soportes de biochip según la invención, se caracterizan, en una versión preferida, porque presentan en cada caso, un marco y las paredes laterales que forman la cámara de aumento de volumen. Las paredes laterales encierran lateralmente un espacio o volumen sin cerrar hacia arriba y hacia abajo, es decir, abierto. Por lo menos una cámara de aumento de volumen y un dispositivo de aumento de volumen que incluye un marco sirven esencialmente para aumentar reversiblemente la pequeña altura que tienen las paredes laterales de la cámara de reacción, de manera que las paredes laterales que forman la cámara de reacción ganan en altura y el volumen encerrado por las mismas, aumenta. En una versión particularmente preferida, la vista en planta corresponde al volumen encerrado por las paredes laterales de la cámara de aumento de volumen, o respectivamente la superficie de la vista en planta de la superficie del fondo de la cámara de reacción de la placa de soporte cuyo volumen se va a aumentar. Cuando la cámara de reacción de la placa de soporte tiene en la vista plana, por ejemplo una forma rectangular o cuadrada, entonces la cámara de aumento de volumen tiene también las paredes laterales formando un ángulo recto entre sí y éstas encierran una superficie rectangular o cuadrada (vista en planta) correspondiente a la superficie del fondo, de manera que el volumen o espacio comprendido por las paredes laterales de la cámara de aumento de volumen, está abierto tanto hacia arriba como hacia abajo, a saber, hacia la cámara de reacción.

En una versión particularmente preferida está previsto que el dispositivo de aumento de volumen está ajustado a una, varias o muchas cámaras de reacción subordinadas al mismo, de manera que se garantiza una unión impermeable a los líquidos entre las paredes laterales de cada cámara de aumento de volumen y las paredes laterales de cada una de las cámaras de reacción de la placa de soporte asignadas a la cámara de aumento de volumen. Esto puede suceder por ejemplo fabricando el dispositivo de aumento de volumen, en particular sus paredes laterales, de un material elástico o flexible, las cuales garantizan las condiciones antes citadas. Puede también preverse que el dispositivo o respectivamente cámara de aumento de volumen, se sujete con clips sobre la cámara de reacción asignada, o incluso se una, en donde esta unión debe ser reversible, para hacer posible colocarla y separarla. El dispositivo de aumento de volumen puede fabricarse por ejemplo de silicona, de un polímero, como por ejemplo el poliuretano, u otros materiales impermeables a los líquidos.

La invención se refiere en una versión particularmente preferida, a una combinación de un dispositivo de aumento de volumen construido como anteriormente, el cual por ejemplo tiene por lo menos una pluralidad o multiplicidad de cámaras de aumento de volumen, dispuestas en un marco, el cual por ejemplo puede estar formado por una tira o una matriz, y un soporte de biochips según la invención. En el soporte de biochips puede en una versión preferida presentar por lo menos una cámara de reacción colocada sobre una base, de preferencia varias o una multiplicidad de cámaras de reacción colocadas cada vez sobre una base. Esta versión es tanto más particularmente ventajosa cuando las correspondientes paredes laterales que forman la cámara de aumento de volumen, pueden ser unidas reversiblemente al dispositivo de aumento de volumen con particular sencillez y particularmente impermeables a los líquidos, con las paredes laterales de la cámara de reacción colocadas sobre la base.

En una versión particularmente preferida está previsto que entre el soporte de biochips y el dispositivo de aumento del volumen, reversible, asignable, está aplicada una alfombra de sellado o una matriz de sellado, la cual asegura todavía una mejor unión impermeable a los líquidos, entre el soporte de biochips y el dispositivo de aumento de volumen. Esto sucede en particular porque la alfombra de sellado, hecha de preferencia de un material impermeable a los líquidos, por ejemplo, de un material polimérico, está provista de cavidades para por lo menos una cámara de reacción y llena los pocillos entre cámaras de reacción vecinas de un soporte de biochips, de manera que al colocar el dispositivo de aumento de volumen sobre el soporte de biochips, pueden evitarse las posibles fugas y la contaminación cruzada.

En otra versión preferida está previsto que las cámaras de aumento de volumen del dispositivo de aumento de volumen pueden cerrarse reversiblemente, por ejemplo, mediante una cubierta asignada a cada una de las cámaras individuales.

La invención se refiere naturalmente también a un kit que comprende un soporte de biochips según la invención, juntamente con una placa de microtitulación convencional.

5 La invención se refiere naturalmente también a un kit, que comprende un soporte de biochips según la invención juntamente con un dispositivo de aumento de volumen anteriormente descrito, y una alfombra de sellado como se ha descrito anteriormente.

10 La presente descripción se refiere también al empleo de un soporte de biochips según la invención o respectivamente al biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips según la invención, opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento de volumen para la investigación de un analito en una muestra y/o su aislamiento y/o la purificación del mismo. En conexión con la presente invención, se entiende por "analito" una
 15 substancia de la clase y en la cantidad determinada por sus componentes individuales, y/o la cual debe ser separada de la mezcla. En particular se trata en el caso del analito de una proteína, ácidos nucleicos, hidratos de carbono y compuestos similares. En una versión preferida de la invención el analito es una proteína, un péptido, un antígeno o un ácido nucleico. Bajo la denominación de "muestra" se entiende una solución acuosa u orgánica, una emulsión, una dispersión, o una suspensión acuosa u orgánica, la cual contiene un analito como se ha definido
 20 anteriormente, en una forma aislada y purificada, o como un componente de una mezcla compleja de diferentes substancias. En el caso de una muestra puede tratarse en particular de un líquido biológico, como la sangre, la linfa, un líquido de un tejido, etc. a saber un líquido del cual pueden extraerse organismos vivos o muertos, y también de órganos o tejidos. Una muestra puede haber estado sometida a un proceso de purificación, pero puede también estar sin purificar.

25 La presente descripción se refiere por lo tanto también al empleo del soporte de biochips según la invención, o respectivamente del biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips según la invención, opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento de volumen, para la ejecución de procedimientos de análisis y/o procedimientos de detección, los cuales consisten por ejemplo en la espectroscopia de masas, la espectroscopia de fluorescencia o la espectroscopia de UV-VIS, la microscopia de fluorescencia o la microscopia de luz, la espectroscopia guiada por ondas, o un procedimiento eléctrico como la espectroscopia de impedancia.

30 La presente descripción se refiere también al empleo del soporte de biochips según la invención o respectivamente del biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips según la invención, opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento de volumen, para la detección y/o para el aislamiento de moléculas biológicas. Por ejemplo un soporte de biochips o respectivamente un biochip puede emplearse opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento de volumen el cual presenta un ácido nucleico de preferencia de una sola hebra en forma inmovilizada, para la detección de un ácido nucleico complementario en una muestra y/o para el aislamiento de este
 35 ácido nucleico complementario. Un soporte de biochips según la invención o un biochip, opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento del volumen, el cual tiene una proteína en forma inmovilizada, puede emplearse por ejemplo para la detección y/o para el aislamiento de una segunda proteína en interacción con la proteína inmovilizada, de una muestra.

40 La presente descripción se refiere también al empleo del soporte de biochips según la invención o respectivamente al biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips, opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento del volumen, para el desarrollo de preparados farmacéuticos. Se refiere también al empleo del soporte de biochips según la invención o respectivamente del biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips según la invención, opcionalmente en combinación con un dispositivo para el aumento del volumen, para la investigación de las acciones y/o efectos secundarios de los preparados farmacéuticos. El soporte de biochips según la invención o respectivamente el biochip obtenido mediante el empleo del soporte de biochips según la invención, opcionalmente en combinación con un dispositivo para el aumento del volumen puede emplearse igualmente para el diagnóstico de enfermedades, por ejemplo para la identificación de los causantes de enfermedades y/o para la
 45 identificación de genes mutados, que conducen a la aparición de enfermedades. Otra posibilidad de empleo del soporte de biochips según la invención o respectivamente del biochip, opcionalmente en combinación con un dispositivo de aumento del volumen, consiste en la investigación de la contaminación microbiana de por ejemplo productos alimenticios, agua potable, aguas residuales o fermentadores.

Otras configuraciones ventajosas de la invención se desprenden de las reivindicaciones secundarias.

50 El soporte de biochips según la invención se aclara con más detalle mediante los ejemplos de ejecución y las figuras pertenecientes a los mismos.

Pueden verse:

- Figura 1 una representación esquemática de un soporte de biochips según la invención en una vista en planta,
- 55 Figura 2 una representación esquemática en sección transversal, de versiones alternativas de un soporte de biochips según la invención,
- Figura 3 una vista en planta, de siete versiones alternativas de un soporte de biochips según la invención,

- Figura 4 una vista lateral de dos versiones alternativas de un soporte de biochips según la invención y una placa de microtitulación con soportes de biochip insertados según la invención,
- Figura 5 una vista lateral de otra versión alternativa de un soporte de biochips según la invención,
- Figura 6 dos vistas laterales de otras versiones preferidas de un soporte de biochips según la invención, en donde las cámaras de reacción están colocadas sobre unas bases,
- Figura 7 una versión de un dispositivo de aumento de volumen según la invención en forma de tira,
- Figura 8 una vista lateral de un dispositivo de aumento de volumen, insertado sobre un soporte de un biochip según la invención, en formato SBS, en donde el soporte de biochips está insertado sobre una placa de microtitulación convencional, y
- Figura 9 un soporte de un biochip en formato SBS, y un dispositivo para el aumento de volumen subordinado a éste, en formato SBS, en donde entre ellos está colocada una alfombra de sellado en formato SBS.

A continuación, se numeran las mismas piezas de construcción o respectivamente las mismas piezas de una misma función, los mismos elementos o los mismos dispositivos con las mismas cifras de referencia.

La figura 1 muestra en forma esquemática un soporte de biochips 1, con una placa de soporte 3 rectangular que tiene las esquinas 17 parcialmente biseladas. Sobre la placa de soporte 3 se encuentra colocada una cámara de reacción 5, la cual mediante el fondo 7 con una superficie F representada con rayas inclinadas, y el fondo 7 formado limitado lateralmente o respectivamente que comprende las paredes verticales 9. La cámara de reacción 5, de forma cuadrada en la vista plana, está abierta hacia arriba. La placa de soporte 3 presenta dos esquinas biseladas 17, que permiten una inequívoca orientación del soporte de biochips 1, por ejemplo, cuando se inserta en una placa de microtitulación.

La figura 2 muestra en forma esquemática un corte transversal mediante dos versiones alternativas del soporte de biochips 1 según la invención. La figura 2a muestra una versión del soporte de biochips 1 según la invención, en el cual el fondo 7 de la cámara de reacción 5 está formado por la placa de soporte 3. Las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5 con una altura H están formadas como elevaciones sobre la placa de soporte 3. La cámara de reacción abierta hacia arriba 5 presenta la abertura 15. En esta versión, el borde superior 11 de la cámara de reacción 5 está en un plano por encima del borde 13 de la placa de soporte 3. La cámara de reacción 5 abierta hacia arriba presenta la abertura 15. La figura 2b muestra una versión del soporte de biochips 1 según la invención, en el cual el borde superior 11 de la cámara de reacción 3 y el borde superior 13 de de la placa de soporte 3 están en el mismo plano. En esta versión la cámara de reacción 5 está colocada dentro y/o por debajo de la placa de soporte 3 como un pocillo, en donde la abertura 15 de la cámara de reacción 5 termina en el borde superior 13 de la placa de soporte 3.

La figura 3 muestra versiones alternativas del soporte de biochips 1 según la invención en una vista en planta. El soporte de biochips 1 según la invención está ejecutado en cada caso en forma de una tira, en donde la longitud del soporte de biochips 1 permite, de preferencia exactamente adaptado, su inserción en una placa de microtitulación según el estándar SBS. El ancho del soporte de biochips 1 es en cada caso de 9 mm. Las cámaras de reacción 5 colocadas sobre la placa del soporte 3, están en cada caso abiertas hacia arriba. La correspondiente placa de soporte 3 de las distintas versiones mostradas muestra en cada caso dos esquinas biseladas 17, las cuales permiten una inequívoca orientación del soporte de biochips 1, por ejemplo al insertarlo en una placa de microtitulación.

La figura 3a muestra una versión en la cual una sola cámara de reacción 5 está colocada sobre la placa soporte 3 del soporte de biochips 1. La cámara de reacción 5 presenta una vista en planta de forma cuadrada con una longitud lateral de 6 mm. En el caso de una altura de la pared lateral 9 de la cámara de reacción 5, de 0,6 mm, la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de la pared lateral es de 60 (36 mm^2): $0,6 \text{ (mm)} = 60$). En el caso de una altura de la pared lateral 9 de la cámara de reacción 5 de 0,5 mm, la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de la pared lateral es de 72. En el caso de una altura de la pared lateral 9 de la cámara de reacción 5 de 0,4 mm, la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de la pared lateral es de 90.

La figura 3b muestra una versión en la cual 4 cámaras de reacción 5 están colocadas a una distancia regular formando una fila sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1. Las 4 cámaras de reacción 5 presentan en cada caso una vista en planta de forma cuadrada, con una longitud lateral de 6 mm en cada caso.

La figura 3c muestra una versión en la cual 8 cámaras de reacción 5 están colocadas a una distancia regular formando una fila sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1. Las 8 cámaras de reacción 5 presentan en cada caso una vista en planta de forma cuadrada, con una longitud lateral de 6 mm en cada caso.

La figura 3d muestra una versión en la cual 16 cámaras de reacción 5 están colocadas a una distancia regular formando una fila sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1. Las 16 cámaras de reacción 5 presentan en

5 cada caso una vista en planta de forma cuadrada, con una longitud lateral de 3,5 mm en cada caso. En el caso de una altura de las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5 de 0,4 mm, la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es aproximadamente de 30. En el caso de una altura de las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5 de 0,3 mm, la relación del valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es aproximadamente de 40. En el caso de una altura de las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5 de 0,2 mm, la relación del valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico del altura de las paredes laterales es aproximadamente de 61.

10 La figura 3e muestra una versión en la cual las 32 cámaras de reacción 5 están colocadas a distancias regulares en dos filas paralelas sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1. Las 32 cámaras de reacción 5 tienen en cada caso una vista en planta de forma cuadrada con una longitud lateral de 3,5 mm en cada caso.

15 La figura 3f muestra una versión en la cual 16 cámaras de reacción 5 están colocadas a una distancia regular formando una fila sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1. Las 16 cámaras de reacción 5 presentan en cada caso una vista en planta de forma cuadrada, con una longitud lateral de 3 mm en cada caso. En el caso de una altura de las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5, de 0,3 mm, la relación entre el valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es aproximadamente de 30. En el caso de una altura de las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5, de 0,2 mm, la relación del valor numérico de la superficie del fondo y el valor numérico de la altura de las paredes laterales es aproximadamente de 45.

20 La figura 3g muestra una versión en la cual las 32 cámaras de reacción 5 están colocadas a distancias regulares en dos series paralelas sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1. Las 32 cámaras de reacción 5 tienen en cada caso una vista en planta de forma cuadrada con una longitud lateral de 3 mm en cada caso.

La figura 4 muestra una vista lateral de dos versiones alternativas del soporte de biochips 1 según la invención, en las cuales el fondo 7 está en el mismo plano que el borde superior 17 de la superficie de soporte 3 y que una placa de microtitulación con los soportes de biochip 1 según la invención, debidamente asentados.

25 La figura 4a muestra un soporte de biochips 1 ejecutado en forma de tira, en el cual están colocadas ocho cámaras de reacción 5 dispuestas a distancias regulares en fila sobre la placa de soporte 3. En esta versión el borde superior 11 de las paredes laterales numero 9 ejecutadas como elevaciones que forman las cámaras de reacción 5, está en un mismo plano encima del borde superior (13) de la placa de soporte 3. Las cámaras de reacción 5 abiertas hacia arriba presentan en cada caso una vista en planta de forma cuadrada. La placa de soporte 3 presenta dos esquinas biseladas 17, las cuales permiten la orientación del soporte de biochips 1 cuando se coloca. En el borde inferior 19 de la placa de soporte 3 está formado un elemento marco 21, el cual está formado a partir de una pared vacía circundante. La pared interior no mostrada del elemento marco 21 puede estar unida también mediante puentes igualmente no mostrados. En los extremos 23 y 25 del elemento marco 21 están colocados en cada caso unos salientes 27 que sobresalen, los cuales al insertar el soporte de biochips 1 en la placa de microtitulación en los correspondientes huecos de la placa de microtitulación se enclavan y así juntamente con las superficies de contacto 49 apoyadas sobre el marco de la placa de microtitulación, fijan el soporte de biochips 1 en, o respectivamente encima de, la placa de microtitulación. En la figura están representadas dos superficies de apoyo 49 que están en los extremos de la placa de soporte 3, las cuales permiten un apoyo de la superficie del soporte sobre por ejemplo una placa de microtitulación convencional.

40 La figura 4b muestra un soporte de biochips 1 fabricado en forma de tira, en el cual están igualmente colocadas ocho cámaras de reacción 5 a distancias regulares, en una fila sobre la placa de soporte 3, en donde la cámara de reacción 5 está formada por las paredes laterales 9 en forma de unas elevaciones, y un fondo 7 situado en el mismo plano de la superficie de la placa de soporte 3. También en esta versión el borde superior 11 de las cámaras de reacción 5 está en un plano por encima del borde superior 13 de la placa de soporte 3. Las cámaras de reacción 5 abiertas hacia arriba tienen en esta versión, en la vista en planta, una forma circular. También en esta versión está aplicado en el borde inferior 19 de la placa de soporte 3, un elemento marco 21 formado a partir de una pared vacía circundante. En los extremos 23 y 25 del elemento marco 21 están colocados en cada caso unos salientes 27 que sobresalen, los cuales al insertar el soporte de biochips 1 en la placa de microtitulación se enclavan en los correspondientes huecos de la placa de microtitulación y así juntamente con las superficies de contacto 49 apoyadas sobre el marco de la placa de microtitulación, fijan el soporte de biochips 1 en y encima de la placa de microtitulación.

La figura 4c muestra una placa de microtitulación 100 convencional, en la cual están insertados los soportes de biochip 1 representados en las figuras 4a y 4b, a saber con su longitud perpendicular a la longitud de la placa de microtitulación 100. El soporte del microchip 1 cubre por arriba las cavidades 104 de la placa de microtitulación 100 y está fijado con las superficies de apoyo 49 sobre el marco 102 de la placa de microtitulación 100.

55 La figura 5 muestra otra versión del soporte de biochips 1 según la invención. El soporte de biochips 1 representado, está formado en forma de un portaobjetos estándar. Sobre la placa de soporte 3 están colocadas 12 cámaras de reacción 5 a distancias regulares, abiertas hacia arriba, en dos filas paralelas. También en esta versión, el borde superior 11 formado como una elevación, la cual limita lateralmente mediante las paredes laterales 9 las cámaras de reacción 5, está en un plano por encima del borde superior 13 de la placa de soporte 3. El fondo 7 está en el mismo

plano que el borde superior 13 de la placa de soporte 3. En cada caso, tres de las cámaras de reacción 5 colocadas en una fila presentan una forma circular en la vista en planta, mientras que las otras tres cámaras de reacción de la otra fila tienen una vista en planta de forma cuadrada.

La figura 6a muestra en una vista lateral un soporte de biochips 1 el cual está ejecutado en forma de una tira, y tiene 8 cámaras de reacción colocadas en fila, en donde las cámaras de reacción 5 están construidas con una vista en planta de forma cuadrada, y presentan cuatro paredes laterales 9 colocadas en ángulo recto una con otra, las cuales están ejecutadas como unas elevaciones. Estas paredes laterales 9 comprenden juntamente con el fondo plano 7, de forma cuadrada en una vista en planta, la cámara de reacción 5 abierta hacia arriba. La cámara de reacción 5 está colocada sobre una base 29, de manera que la superficie superior 31 de la base 29 constituye al mismo tiempo el fondo 7 de la cámara de reacción 5. En una vista en planta, la base 29 tiene la misma geometría y las mismas medidas que el fondo 7 de la cámara de reacción 5. Las paredes laterales 9 de la cámara de reacción 5 constituyen al mismo tiempo una prolongación o continuación de las paredes laterales 47 de la base 29 en uno y el mismo plano. Tanto la cámara de reacción 5 como también la base 29 están formados de una sola pieza y como un componente integral de la placa de soporte 3.

La figura 6b representa dos soportes de biochips 1 según la figura 6a, unidos entre sí. Los soportes de biochips 1 de la figura 6a ejecutados como unas tiras, pueden según esta figura estar unidos reversiblemente o pueden estar fijos entre sí, y estar insertados formando una matriz de 2 x 8 cámaras de reacción en una placa de microtitulación.

La figura 7 representa un dispositivo de aumento de volumen 35, con unas cámaras de aumento de volumen 37 colocadas una tras otra en fila en forma de una tira, con una vista en planta de forma cuadrada. Las cámaras de aumento de volumen están abiertas por arriba y por abajo (no representadas), de forma que las cámaras 37 están formadas en cada caso por cuatro paredes laterales 39 colocadas en ángulo recto una con otra. La altura H_v de las paredes laterales 39 es considerablemente mayor que la altura H de las paredes laterales 9 de las cámaras de reacción 5 de un soporte de biochips según la invención. El marco 41 unido a las cámaras de aumento de volumen individuales, tiene en ambos extremos de la tira como una continuación 51, lo cual hace posible el posicionamiento y la fijación del dispositivo de aumento del volumen 35 sobre un soporte de biochips 1 de la invención.

La figura 8, muestra una placa de microtitulación convencional 100, así como un soporte de biochips 1 aplicable sobre la misma. El soporte de biochips 1 es un soporte de biochips, el cual tiene colocadas sobre las bases 29 unas cámaras de reacción 5, como se muestra por ejemplo en las figuras 6a y 6b. En la figura está representado además un dispositivo de aumento de volumen 35, según la figura 7, el cual puede estar insertado reversiblemente sobre el soporte de biochips 1. A este respecto, cada cámara de reacción 5 del soporte de biochips 1, tiene colocada una cámara de aumento de volumen 37 del dispositivo de aumento de volumen 35 de tal manera que el volumen de la cámara de reacción 5 aumenta reversiblemente prácticamente en el volumen de la cámara de aumento de volumen 37. Esto se logra porque el dispositivo de aumento de volumen 35 está conectado sobre el soporte de biochips 1 de manera que las paredes laterales 39 de la cámara de aumento de volumen 37 están conectadas de forma hermética a los líquidos, sobre las paredes laterales 9 del soporte de biochips 1. Está representada además una cubierta 45 que puede cerrar reversiblemente conectada a la cámara de reacción 5 respectivamente a la cámara de aumento de volumen 37 por arriba.

La figura 9 representa un soporte de biochips 1 según la invención en forma de matriz y en el estándar SBS. Están representadas en la figura las cámaras de reacción 5 formadas por un fondo 7 y las paredes laterales 9 formadas como elevaciones. Se representa además un dispositivo de aumento de volumen 35 que comprende las 96 cámaras de aumento de volumen 37 correspondientes a las 96 cámaras de reacción 5 del soporte de biochips 1. Las dimensiones del dispositivo de aumento de volumen 35 que comprende las 96 cámaras de aumento de volumen 37 en un marco 41, corresponden a las dimensiones de una placa de microtitulación en el formato SBS. Este dispositivo de aumento de volumen 35 es aplicable o respectivamente es conectable reversiblemente sobre la placa de soporte 3 del soporte de biochips 1, y se levanta, de manera que las cámaras individuales de aumento de volumen 37 se abren completamente tanto hacia arriba como también hacia abajo, reversiblemente, al correspondiente volumen de las cámaras de reacción 5 del soporte de biochips 1. Para aumentar la estanqueidad a los líquidos entre la cámara de reacción 5 del soporte de biochips 1 y la cámara de aumento de volumen 37 se representa en la figura 9, colocada entre estos dos dispositivos, una matriz de junta o alfombra de junta 43. Esta alfombra de junta 43, de preferencia de un material elástico e impermeable a los líquidos, por ejemplo un material polímero, está formada de tal manera que puede ser aplicada sobre el soporte de biochips 1, evitando la vista en planta de las cámaras de reacción 5 y ocupando los interespacios 53 entre las cámaras de reacción 5. La alfombrilla estanca 43 se adapta por lo tanto exactamente en las depresiones 53 que existen entre las cámaras de reacción 5, y aumenta la estanqueidad entre el dispositivo de aumento de volumen 35 y el soporte de biochips 1. Se representa además una cubierta 45, que se puede cerrar por arriba y la cual se conecta reversiblemente a la cámara de reacción 5 ó respectivamente a la cámara de aumento de volumen 37. En general es válido: la cubierta 45 puede estar asignada solamente a una cámara de reacción individual o a varias cámaras de reacción, pero no debe cubrir todas las cámaras de reacción del soporte de biochips.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Soporte de biochips que comprende una placa de soporte (3) con por lo menos una cámara de reacción tridimensional (5), en donde la cámara de reacción (5) está formada por un fondo (7) y el volumen abierto por arriba de la cámara de reacción (5) está abarcado lateralmente por las paredes laterales (9), en donde la relación entre la superficie (F) del fondo (7) y la altura (H) de las paredes laterales (9) es mayor o igual a 30, de preferencia mayor de 50, y en donde el fondo (7) y/o por lo menos una pared lateral (9) de por lo menos una cámara de reacción (5) está ejecutada como matriz de unión con un grupo funcional que permite la unión de una molécula natural o sintética, en particular de una molécula biológicamente activa, y en donde por lo menos una cámara de reacción (5) está asociada reversiblemente a una cámara de aumento de volumen (37), en donde la cámara de aumento de volumen (37) está aplicada sobre el soporte de biochips (1), de manera que se forma una unión estanca a los líquidos entre las paredes laterales (9) de la cámara de reacción (5) y las paredes laterales (39) de la cámara de aumento de volumen (37).
- 15 2. Soporte de biochips según la reivindicación 1, en donde el borde superior (11) de por lo menos una cámara de reacción (5) representa la parte más alta del soporte de biochips (1).
3. Soporte de biochips según la reivindicación 1 ó 2, en donde el borde superior (11) de por lo menos una cámara de reacción (5), está en un plano por encima del borde superior (13) de la placa de soporte (3).
- 20 4. Soporte de biochips según la reivindicación 3, en donde la placa de soporte (3) forma el fondo (7) de por lo menos una cámara de reacción (5) y las paredes laterales (9) de la cámara de reacción (5) están formadas como elevaciones sobre la placa de soporte (3).
5. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde por lo menos una cámara de reacción (5) está colocada sobre una base (29).
6. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la base (29) en una vista en planta tiene la misma forma de la vista en planta de la cámara de reacción (5).
- 25 7. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la superficie superior (31) de la base (29) representa el fondo (7) de la cámara de reacción (5).
8. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde las paredes laterales (33) de la base (29) están en un mismo plano con las paredes laterales (9) de la cámara de reacción (5).
- 30 9. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde las paredes laterales (9) de la cámara de reacción (5) están formadas como unas elevaciones sobre la base (29).
10. Soporte de biochips según la reivindicación 1 ó 2, en donde el borde superior (11) de por lo menos una cámara de reacción (5) y el borde superior (13) de la placa de soporte (3) están en el mismo plano.
11. Soporte de biochips según la reivindicación 10, en donde por lo menos una cámara de reacción (5) está colocada dentro de, y/o debajo de, la placa de soporte (3) como un pocillo.
- 35 12. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la parte del fondo (7) de por lo menos una cámara de reacción (5) en la vista en planta, tiene la forma de un círculo, un rectángulo, un cuadrado, un hexágono, un polígono, o de una elipse.
13. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la placa de soporte (3) tiene unas dimensiones que permiten la inserción del soporte de biochips (1) en una placa de microtitulación que tiene unas dimensiones según la norma SBS (Society of Biomolecular Screening) ("Sociedad de screening biomolecular").
- 40 14. Soporte de biochips según la reivindicación 13, en donde el soporte de biochips (1) tiene 1, 2, 4, 8, 12 ó en cada caso múltiplos enteros de 8 ó 12 cámaras de reacción (5).
- 45 15. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la placa de soporte (3) está ejecutada como una tira.
16. Soporte de biochips según la reivindicación 15, en donde la placa de soporte (3) tiene las dimensiones de un portaobjetos estándar.
17. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la placa de soporte (3) está ejecutada como una tira con 4 ó en cada caso múltiples enteros de 4 cámaras de reacción (5) separadas, dispuestas unas detrás de otras.
- 50

18. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde por lo menos una de las cámaras de reacción (5) tiene el fondo (7) en forma de círculo con un diámetro de 6 mm y una altura de pared lateral (H) de 0,5 mm.
- 5 19. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde por lo menos una cámara de reacción (5) tiene el fondo de forma cuadrada con una longitud lateral de 6 mm y una altura de la pared (H) de 0,5 mm.
20. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde la placa de soporte (3) y por lo menos una cámara de reacción (5) son de un material plástico.
- 10 21. Soporte de biochips según la reivindicación 20, en donde en el caso de un material de plástico se trata del copolímero de estireno-anhídrido maleico (SMA), copolímero de cicloolefinas (COC), polímero de cicloolefinas (COP), acrilobutadienoestireno, poliamida, policarbonato, poliéster, polimetilmetacrilato, polipropileno, poliestireno o estirenoacrilonitrilo.
- 15 22. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, en donde el fondo (7) de por lo menos una cámara de reacción (5), se compone de un polímero, de vidrio, de una membrana o de un híbrido de los mismos, el cual tiene en la superficie por lo menos un grupo funcional que puede fijarse a una molécula biológicamente activa.
- 20 23. Soporte de biochips según la reivindicación 22, en donde el grupo funcional se aplica sobre la superficie del polímero mediante el empleo de un procedimiento de funcionalización química.
24. Soporte de biochips según la reivindicación 23, en donde el polímero del fondo es un polímero con radicales aromáticos, en cuya superficie están anclados grupos de clorometilo.
25. Soporte de biochips según la reivindicación 24, en donde el polímero es poliestireno.
26. Soporte de biochips según la reivindicación 24 ó 25, en donde el grupo clorometilo del polímero está substituido con N- u O-nucleófilos.
27. Soporte de biochips según la reivindicación 26, en donde el grupo clorometilo está substituido con un grupo aldehído.
28. Soporte de biochips según la reivindicación 26, en donde el grupo clorometilo está substituido con un ácido carboxílico.
29. Soporte de biochips según la reivindicación 23, en donde el polímero del fondo es un polímero saturado, cuya superficie está clorada.
- 30 30. Soporte de biochips según la reivindicación 29, en donde el polímero clorado es un copolímero clorado de cicloolefinas, en particular el producto TOPAS clorado.
31. Soporte de biochips según la reivindicación 22, en donde el grupo funcional se aplica mediante el empleo de un procedimiento de funcionalización con plasma sobre la superficie del polímero.
- 35 32. Soporte de biochips según la reivindicación 31, en donde la superficie presenta funciones de ácido carboxílico, de aldehído/cetona, de amina, de epoxi y/o de halógeno.
33. Soporte de biochips según la reivindicación 22, en donde el grupo funcional se aplica mediante el empleo de una funcionalización de la superficie fotoinducida sobre la superficie del polímero.
- 40 34. Soporte de biochips según la reivindicación 33, en donde el grupo funcional se aplica sobre la superficie del polímero mediante la reacción de la antraquinona con un dador y a continuación se efectúa la fijación fotoquímica.
35. Soporte de biochips según la reivindicación 33, en donde el grupo funcional se aplica mediante injerto fotoquímico sobre la superficie del polímero.
36. Soporte de biochips según la reivindicación 22, en donde el grupo funcional se aplica mediante el empleo de la polimerización por injerto sobre la superficie del polímero.
- 45 37. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 36, en donde en el fondo (7) de la cámara de reacción (5) está unida una molécula biológicamente activa.
38. Soporte de biochips según la reivindicación 37, en donde la molécula biológicamente activa es una proteína, un ácido nucleico o una molécula de PNA.

39. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde a cada una de las cámaras de reacción (5) del soporte de biochips (1) está asignada una cámara de aumento de volumen (37).
40. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la cámara de aumento de volumen (37) está formada por unas paredes laterales (29).
- 5 41. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la cámara de aumento de volumen (37) formada por las paredes laterales (29), es un componente de un dispositivo de aumento de volumen (35).
42. Soporte de biochips según la reivindicación 41, en donde el dispositivo de aumento de volumen (35) comprende un marco (41) y por lo menos una cámara de aumento de volumen (37) formada por las paredes laterales (29).
- 10 43. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 41 ó 42, en donde el dispositivo de aumento de volumen (35) está realizado en forma de una tira o de una matriz.
44. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la altura (H_v) de las paredes laterales (39) de la cámara de aumento de volumen (37) es mayor que la altura (H) de las paredes laterales (9) de la cámara de reacción (5).
- 15 45. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 41 a 43, en donde el dispositivo de aumento de volumen (35) puede aplicarse sobre el soporte de biochips (1), de manera que se forma una unión hermética a los líquidos entre las paredes laterales (9) de la cámara de reacción (5) y las paredes laterales (39) de la cámara de aumento de volumen (37).
- 20 46. Soporte de biochips según una cualquiera de las reivindicaciones 41 a 43 ó 45, en donde entre el soporte de biochips (1) y el dispositivo de aumento de volumen asignable reversiblemente (35) se aplica una almohadilla impermeable (43).
47. Soporte de biochips según una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde cada cámara de aumento de volumen (37) puede cerrarse, en particular mediante una de las cubiertas (45) asignadas a la cámara de aumento de volumen (37).
- 25 48. Kit que comprende un soporte de biochips (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, y una placa de microtitulación (100).
49. Kit según la reivindicación 48, que comprende además, una almohadilla de estanqueidad (43).

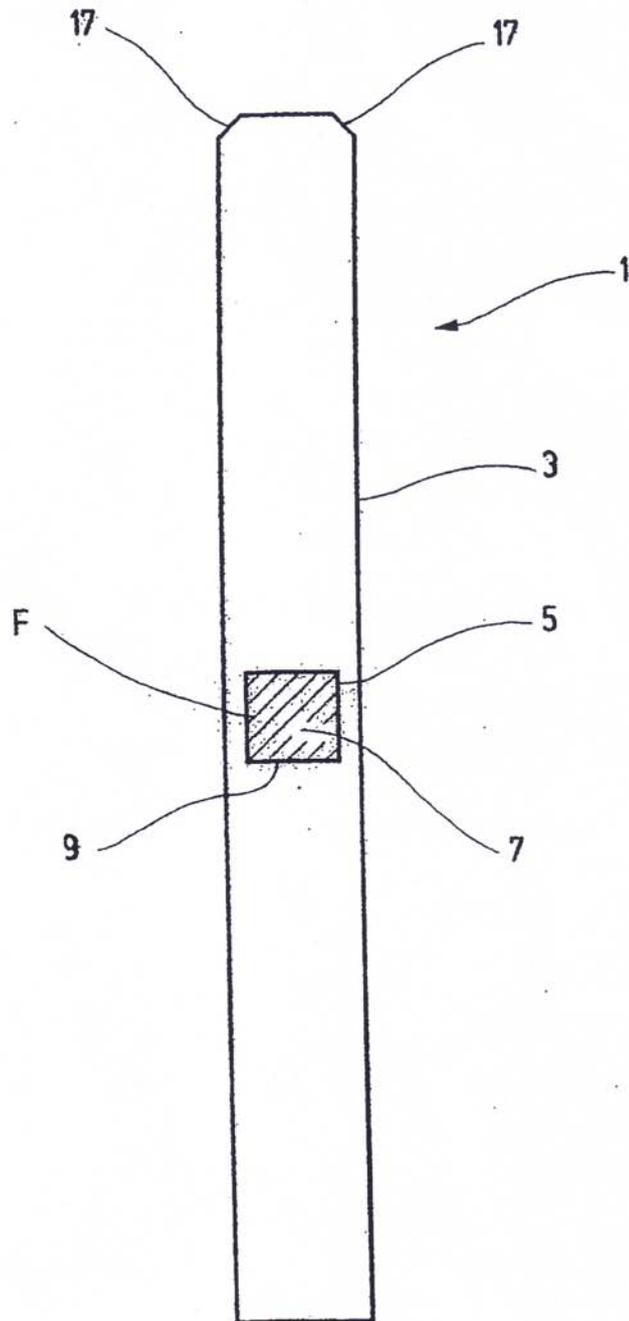


Fig.1

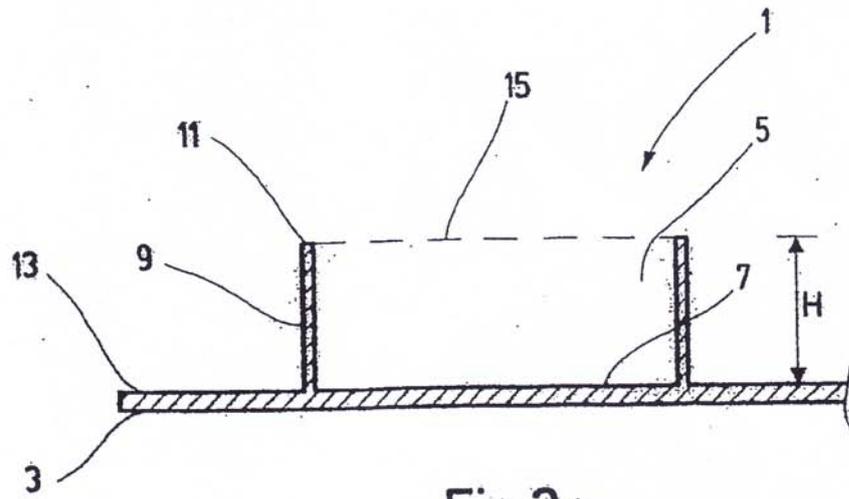


Fig. 2a

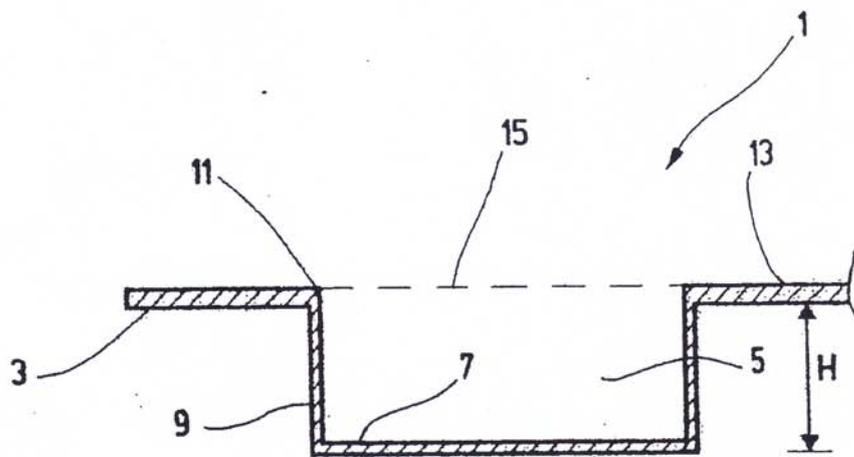
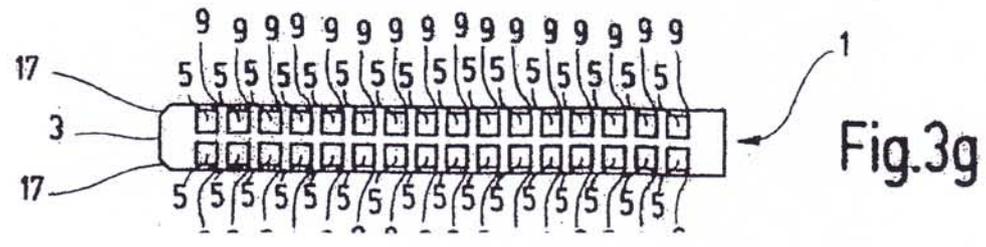
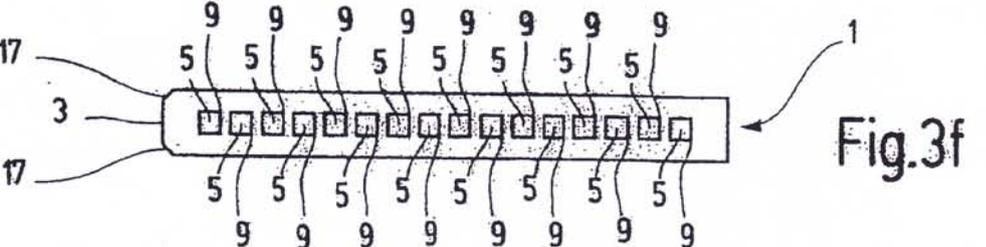
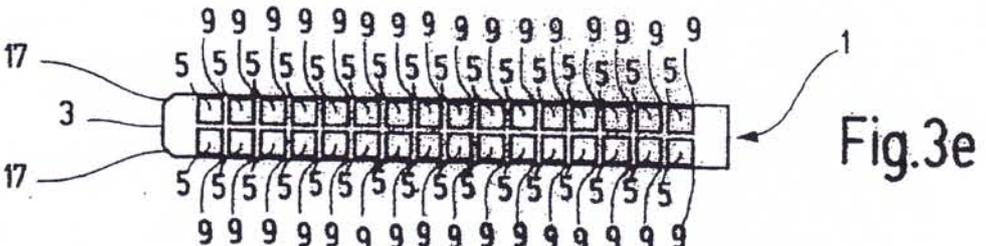
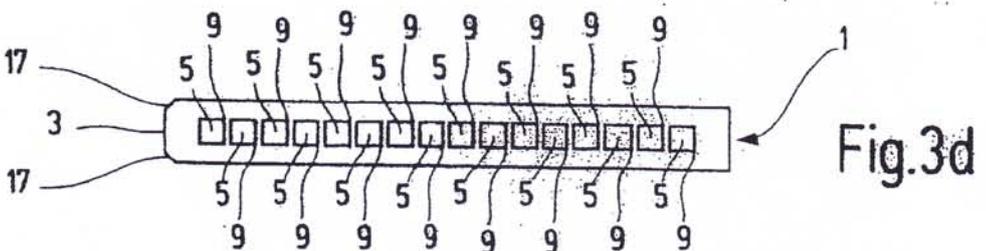
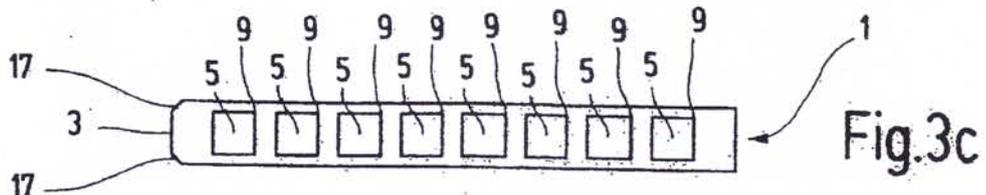
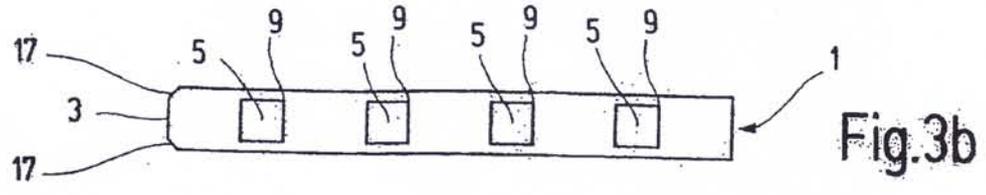
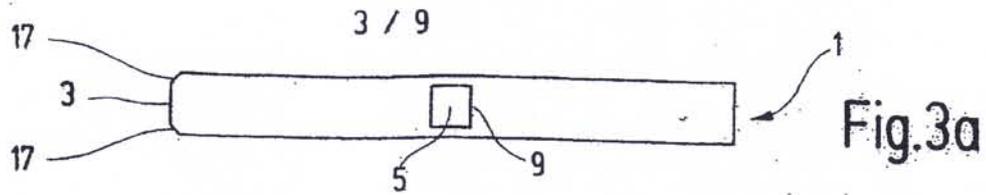
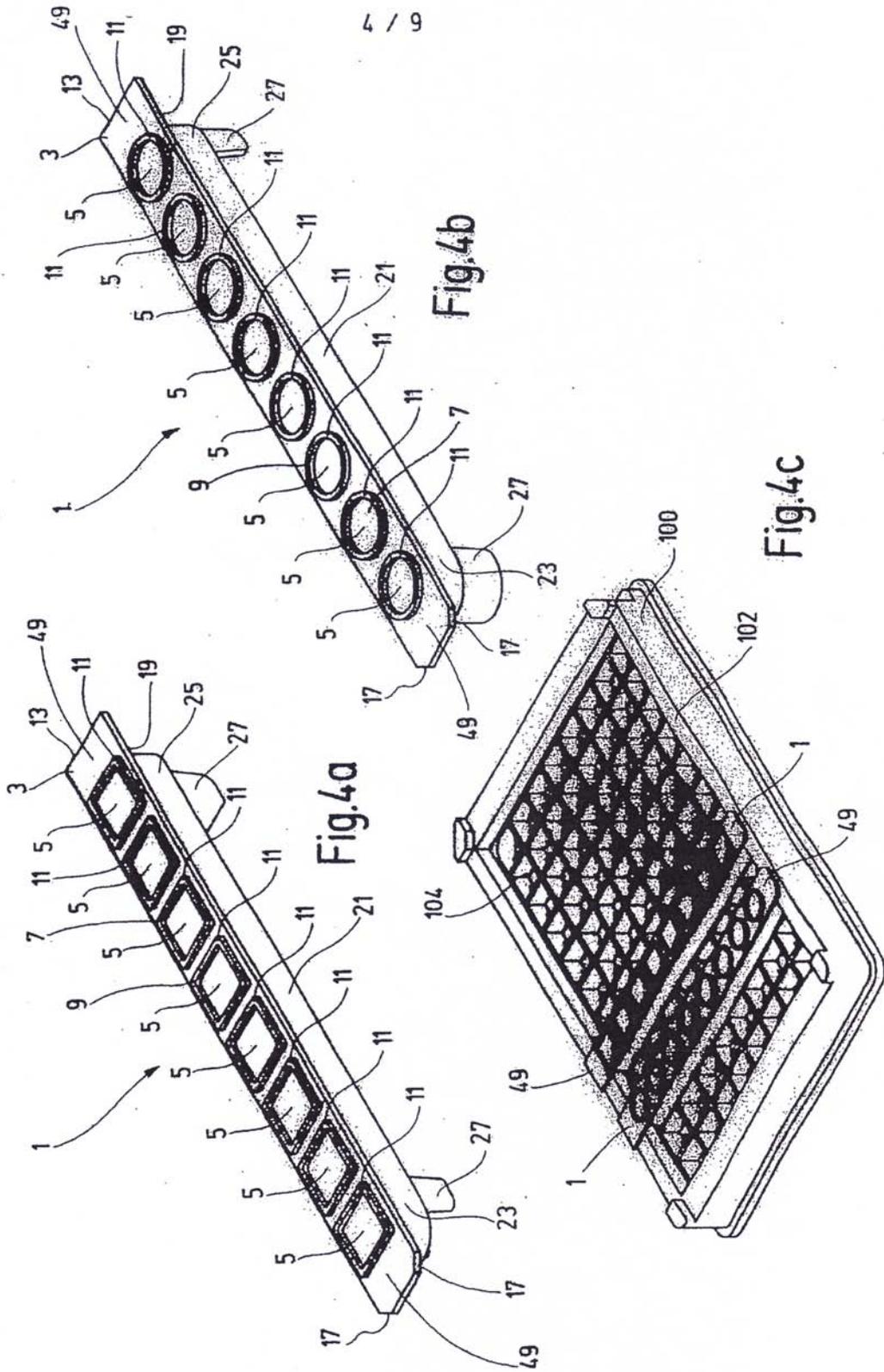


Fig. 2b





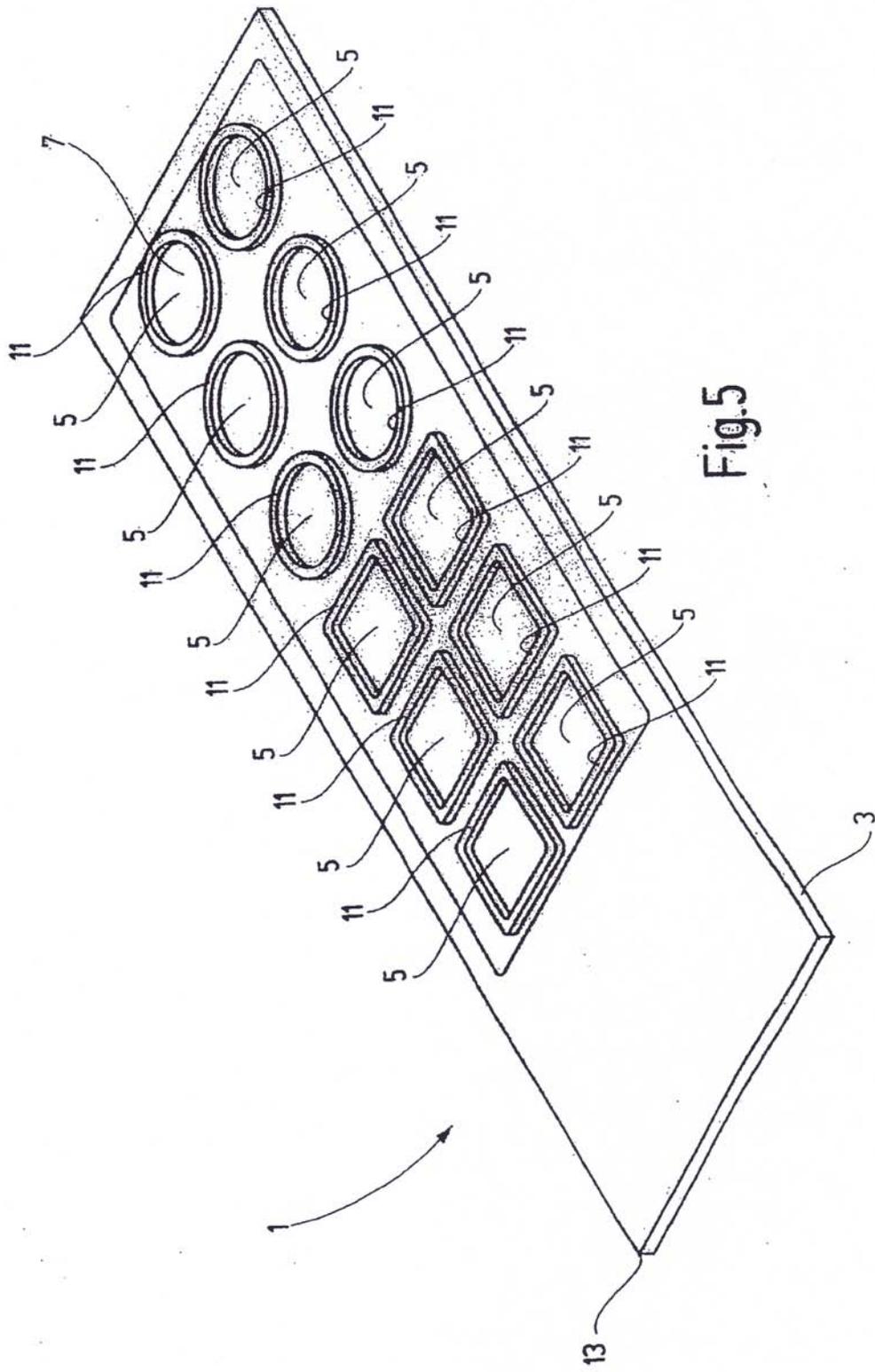
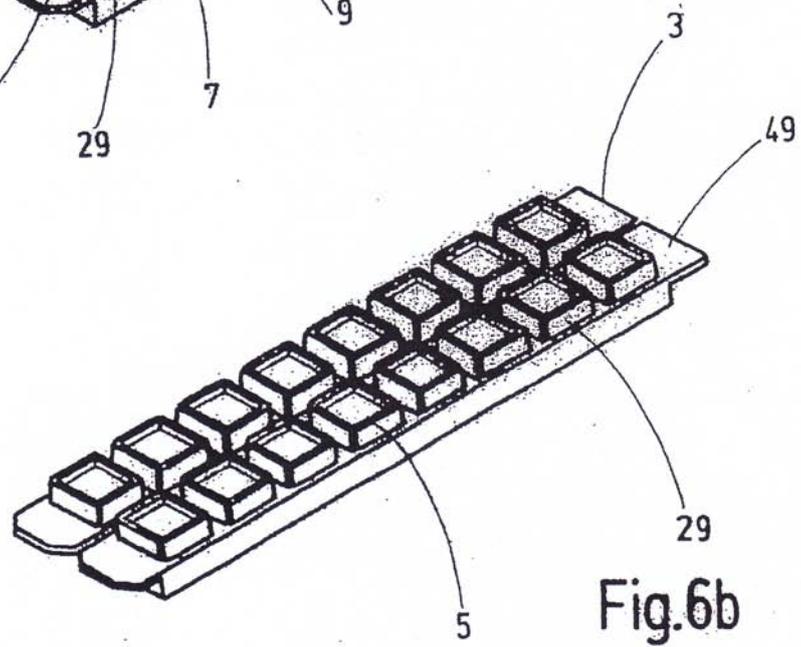
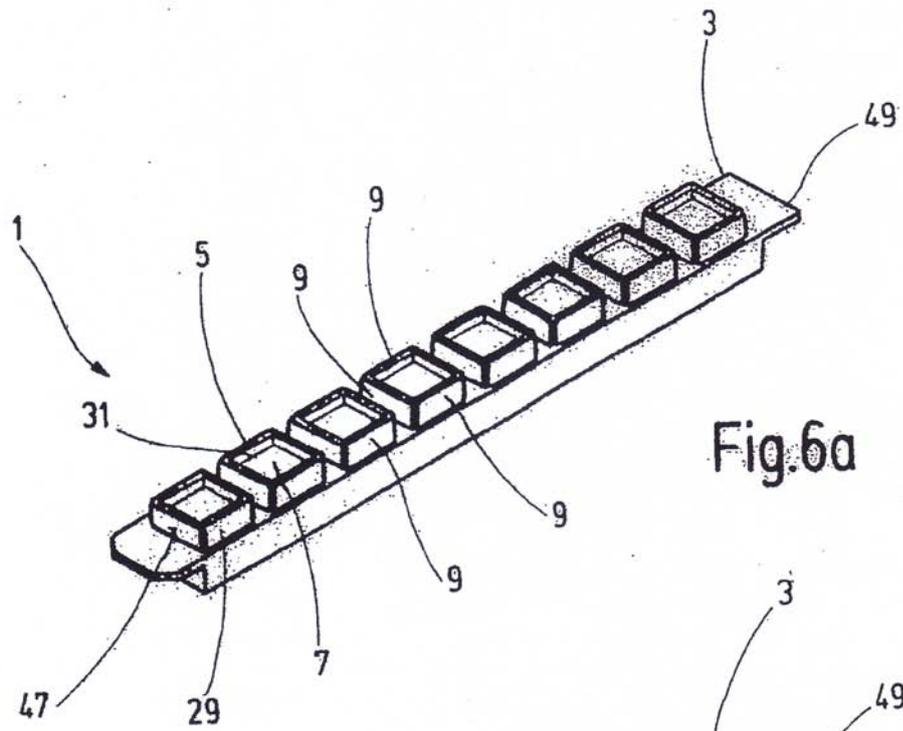


Fig.5



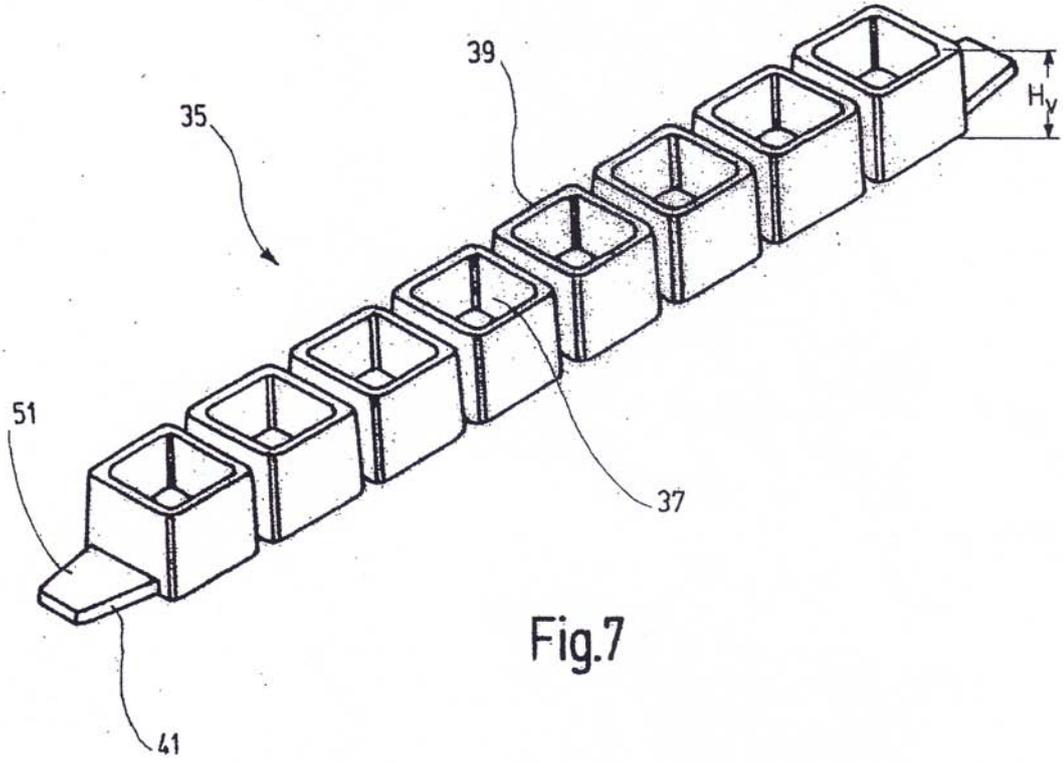


Fig.7

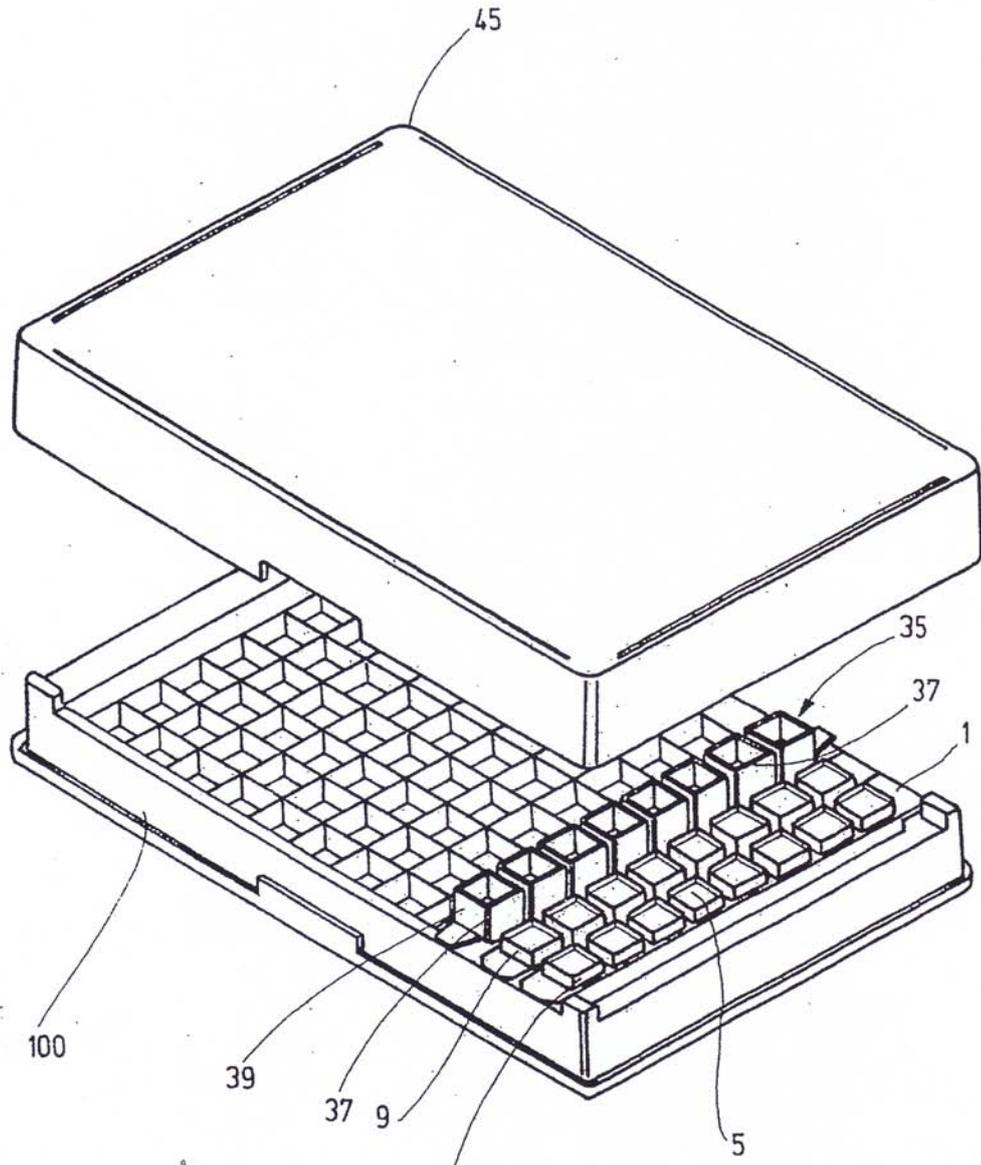


Fig.8

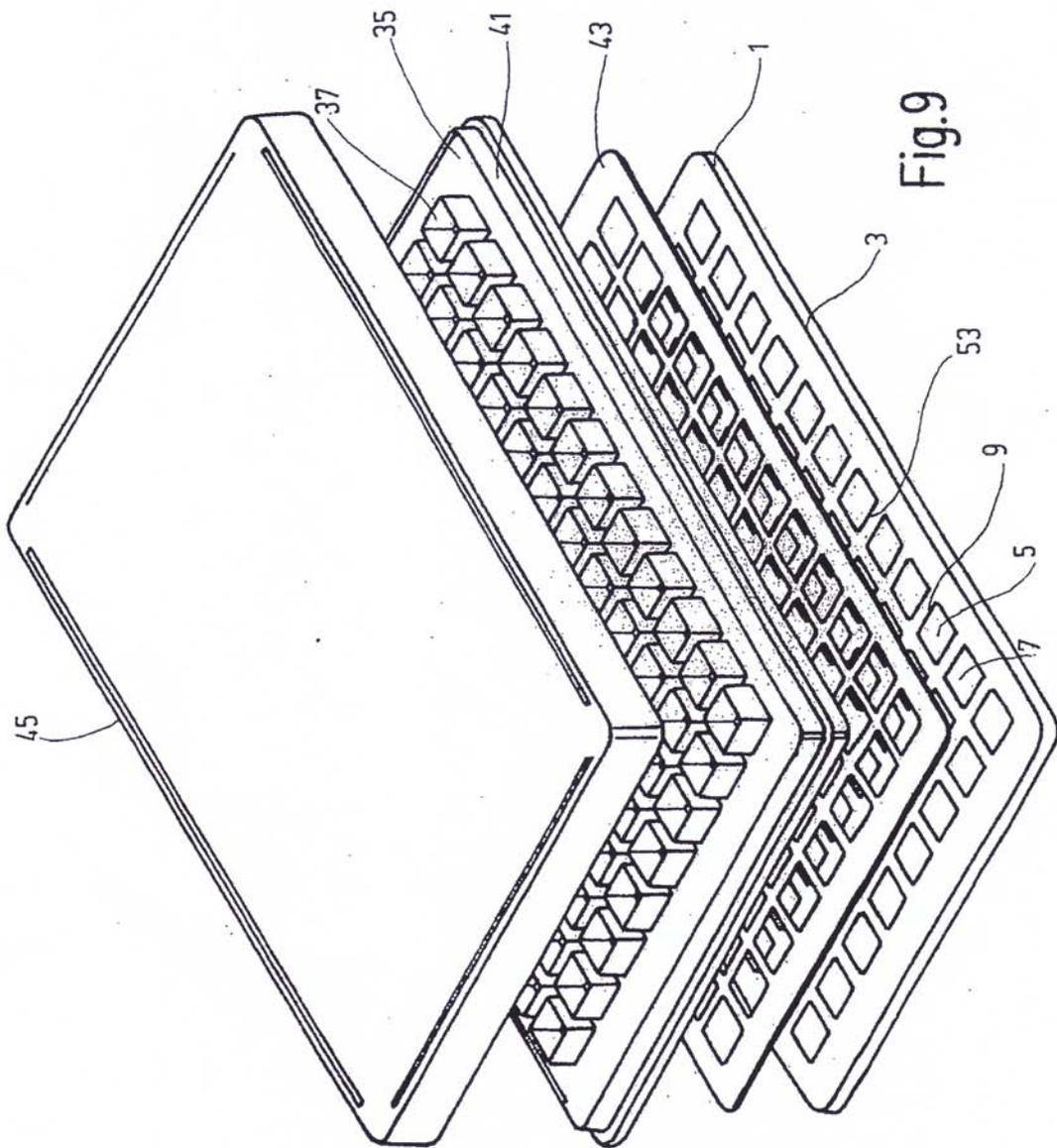


Fig.9