

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 388**

51 Int. Cl.:

**B01D 39/16** (2006.01)  
**B01D 29/11** (2006.01)  
**C12M 1/12** (2006.01)  
**B01D 15/08** (2006.01)  
**B01J 20/00** (2006.01)  
**B01D 67/00** (2006.01)  
**B01L 3/00** (2006.01)  
**B01L 3/02** (2006.01)  
**B01D 69/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.1997 E 97942879 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **24.11.1999 EP 0958035**

54 Título: **Procedimiento para producir elementos microporosos, los elementos microporosos producidos de esta manera y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**26.08.1996 EP 96113653**  
**17.12.1996 EP 96120279**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.02.2013**

73 Titular/es:

**MEHL, EHRENFRIED (50.0%)**  
**Katharinenstr. 7**  
**81479 München , DE y**  
**LOTSPEICH, FRIEDRICH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MEHL, EHRENFRIED;**  
**LOTSPEICH, FRIEDRICH;**  
**DÜSTERHÖFT, ANDREAS y**  
**MANZ, THOMAS**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 395 388 T3**

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

**DESCRIPCIÓN**

Procedimiento para producir elementos microporosos, los elementos microporosos producidos de esta manera y usos de los mismos

5 La presente invención se refiere a nuevos procedimientos para producir dispositivos de filtro que comprenden elementos microporosos y a dispositivos de filtro que comprenden elementos microporosos que pueden obtenerse mediante tales procedimientos. Los elementos microporosos pueden comprender micropartículas sólidas, que preferentemente modifican las propiedades de adsorción del elemento microporoso. Los elementos microporosos están unidos a un soporte y/o un retenedor. Adicionalmente, la presente invención se refiere a kits, composiciones de diagnóstico y farmacéuticas que comprenden los dispositivos de filtro mencionados anteriormente.

10 Adicionalmente, la presente invención se refiere al uso de los dispositivos de filtro mencionados anteriormente en microfiltración, cromatografía, adsorción/inmovilización de compuestos orgánicos e inorgánicos así como para la preparación y/o detección de tales compuestos.

15 Hay una demanda cada vez mayor en el área de la química analítica de dispositivos capaces de manipular volúmenes de muestra de moderados a pequeños, de una manera que sea rápida, que de una alta recuperación y que minimice cualquier posibilidad de contaminación de la muestra. Entre otros atributos deseados están un bajo coste, facilidad de fabricación y adecuabilidad para aplicación con un equipo convencional. Los dispositivos previos para microfiltración etc., implicaban el uso de material de filtro preformado. Polímeros sintéticos tales como nylon, metacrilato o polímeros semisintéticos tales como nitrocelulosa o acetato de celulosa se han usado durante décadas. En su mayor parte, el material de filtro es un material no tejido que se forma a partir de una banda de fibras sintéticas o naturales. Las fibras pueden estar unidas juntas o no mediante un aglutinante. En general, se cortan discos del material no tejido y se sitúan dentro de un tubo de muestra o similar. Los problemas en relación con este enfoque previo incluyen un contacto insuficiente del disco de filtro pre-cortado con la pared del tubo de filtro dejando pequeños huecos y, de esta manera, permitiendo que la muestra de líquido aplicada escape.

20

25 En este contexto, el disco de filtro puede fijarse al tubo de filtro mediante un adhesivo; adicionalmente o como alternativa, el disco de filtro puede soldarse al tubo de filtro aplicando localmente calor o por tratamiento mediante ultrasonidos. Si el disco de filtro se fija al tubo de filtro mediante un adhesivo, el adhesivo puede influir en las propiedades del filtro del material de una manera incontrolable. Esto mismo es cierto cuando el disco de filtro se suelda al tubo de filtro aplicando calor localmente o por un tratamiento de ultrasonidos. Los problemas analizados anteriormente se potencian cuando el tamaño global del elemento de filtro se reduce. Por lo tanto hasta ahora no ha sido factible técnicamente producir elementos de filtro satisfactorios con aberturas de un diámetro tan pequeño como varios micrómetros.

30

35 Cuando se usa un filtro de adsorción que contiene micropartículas adsorbentes granulares, el problema de dislocación podría ocurrir durante el procesamiento de un líquido y también durante el transporte. Por lo tanto, las micropartículas se mantienen, por ejemplo, entre dos elementos porosos de confinación, tales como fritas, redes, retenedores anulares o ranurados en ambos lados porosos del elemento de filtro. Incluso cuando se embeben entre fibras de teflón o vidrio, podría ser necesario un retenedor poroso superior así como una frita de soporte inferior, o un elemento de red o ranurado.

40 El documento WO 87/01956 desvela un filtro que comprende un miembro de soporte no poroso abierto por un extremo y un disco poroso asegurado rígidamente al miembro de soporte en un extremo opuesto. El documento WO 93/07945 se refiere a una columna cromatográfica líquida continua que contiene un medio de separación en forma de un tapón de polímero macroporoso dispuesto en la columna a través de su área de sección transversal interna y producido polimerizando monómeros específicos en presencia de un iniciador y un porógeno. El documento EP 471 420 A2 desvela un dispositivo de filtro que comprende un miembro alargado hueco y un medio de filtro situado en el miembro alargado. El documento DE 37 17 211 A1 desvela un dispositivo para la separación y purificación de moléculas mediante una matriz, matriz que está proporcionada en un miembro hueco cónico. El documento EP 264 740 A2 se refiere a un dispositivo de pipeteado, a puntas de pipeta y a dispositivos de filtro que pueden estar presentes en la punta de pipeta. El documento US 4.675.299 se refiere a un dispositivo de envasado de reactivo autocontenido para un ensayo que comprende un miembro de soporte y una pluralidad de pocillos en el miembro de soporte. Al menos uno de los pocillos tiene una abertura en su extremo inferior e incluye un soporte al que se une el reactivo y un filtro poroso situado entre el soporte y la abertura.

50

55 De esta manera, el problema técnico subyacente de la presente invención es proporcionar un procedimiento rentable para producir un dispositivo de filtro que pueda aplicarse para la mayoría de versiones de cromatografía líquida analítica o micropreparativa, tal como cromatografía de intercambio de iones, cromatografía en fase inversa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de adsorción en geles de sílice, cromatografía de afinidad, inmunocromatografía, para estudios de unión, el aislamiento de complejos de unión multicomponente, para la selección de muestras o para evitar la dislocación de micropartículas, mejorado o simplificado aplicando técnicas adecuadas seleccionadas evitando la pérdida no específica de biopolímeros tales como péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, oligonucleótidos, polisacáridos o derivados de los mismos presentando superficies biocompatibles y ahorrando costes usando un material microparticulado caro en muy pequeñas cantidades. Además, la transferencia de sustancias diferentes del filtro a las membranas de transferencia se hará posible sin tener problemas con

60

volúmenes muertos.

La solución al problema técnico se consigue proporcionando las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones.

5 Por consiguiente, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un dispositivo de filtro como se define en la reivindicación adjunta 1, mientras que las realizaciones preferidas se exponen en las reivindicaciones dependientes.

En el contexto de la presente invención, la expresión "solidificación en forma esponjosa" significa que el producto contiene espacios huecos.

10 En el procedimiento de la presente invención, la sustancia está presente en una fase líquida. Dicha fase líquida puede ser una solución o suspensión de un polímero en un disolvente y la solidificación en forma esponjosa está provocada preferentemente por la acción de un antidisolvente para el polímero.

Para un fin de la presente invención, el término "polímero" significa sustancias naturales o artificiales constituidas por moléculas grandes que a su vez se fabrican a partir de combinaciones de moléculas pequeñas y simples que son idénticas o no, es decir, homo y copolímeros. Los polímeros de acuerdo con la presente invención incluyen también resinas.

15 En una realización preferida el polímero se selecciona de entre el grupo que consiste en ésteres de polivinilo, ésteres de polivinilo parcialmente desacilados, derivados de celulosa, poliamidas, poliestireno, poli(metacrilato de metilo) y mezclas de los mismos. Preferentemente, dicho polímero comprende segmentos tanto hidrófilos como hidrófobos dentro de sus moléculas.

20 En una realización particularmente preferida del procedimiento de la presente invención, el polímero se selecciona de entre el grupo que consiste en poli(alcohol vinílico-co-etileno), poli(alcohol vinílico-co-vinilacetato), copolímero de etileno y ácido acrílico, copolímero de etileno y éster acrílico, copolímero de etileno y acrilamida, copolímero de ácido acrílico y vinilacetato, copolímero de acrilamida y acetato de vinilo, copolímero de monoamida de etilendiamina del ácido acrílico con acetato de vinilo, poli(alcohol vinílico-co-estireno), poli(estireno-co-ácido maleico) y derivados glicerol éster de los mismos, copolímero de acrilamida y éster acrílico y mezclas de los mismos.

25 En otra realización preferida del procedimiento de la presente invención el disolvente se selecciona de entre el grupo que consiste en dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida, formamida, ácido fórmico, ácido acético, 2,2,2-tricloroetanol, tolueno, tetrahidrofurano y mezclas de los mismos.

En una realización preferida adicional el disolvente está compuesto de al menos dos antidisolventes volátiles. Preferentemente, dicho disolvente puede retirarse a temperatura ambiente o al vacío.

30 En una realización preferida adicional del procedimiento de la presente invención la solidificación se consigue evaporando el disolvente y/o el antidisolvente. Preferentemente, el antidisolvente se selecciona de entre el grupo que consiste en agua, alcoholes que tienen de 1 a 4 átomos de carbonos, amoniaco, acetato de etilo, acetona, etilendiamina y mezclas de los mismos.

En otra realización del procedimiento de acuerdo con la presente invención la fase líquida es un hidrocoloide.

35 En una realización preferida el hidrocoloide se selecciona de entre el grupo que consiste en agarosa de bajo punto de fusión, almidón, alcohol polivinílico y mezclas de los mismos.

En una realización adicional preferida la fase de solución de hidrocoloide se somete a reticulación mediante tetraborato sódico.

En otra realización preferida el hidrocoloide solidificado se deseca y/o reticula.

40 En otra realización del procedimiento de acuerdo con la presente invención, la fase líquida es una solución o suspensión de uno o más monómeros y la solidificación se provoca por polimerización de dicho monómero.

En una realización preferida el monómero o monómeros están presentes en un disolvente. Preferentemente, el monómero o monómeros comprenden uno o más monómeros de reticulación.

En una realización particularmente preferida dichos monómeros comprenden una diamina y un diepóxido.

45 En una realización preferida adicional del procedimiento de acuerdo con la presente invención, el monómero se selecciona de entre el grupo que consiste en ésteres de vinilo, ácido acrílico y sus derivados, y la polimerización se realiza por influencia de radicales libres.

50 En una realización adicional del procedimiento de acuerdo con la presente invención, la sustancia se permea con un fluido de distribución en canal o con un hidrogel reversible o con líquidos tales como polipropilenglicol de 4000 Dalton o mayor que es insoluble en agua a temperaturas por encima de 20 °C. Preferentemente, el fluido de

distribución en canal es aceite de silicona, agua o aire.

En otra realización del procedimiento de acuerdo con la presente invención la sustancia es un polímero termoplástico y la solidificación se provoca por sinterización, por ejemplo por calentamiento o por la acción de un disolvente. Preferentemente el polímero es un copolímero de estireno y ácido maleico o acetato de polivinilo.

- 5 En una realización adicional del procedimiento de acuerdo con la presente invención la sustancia comprende adicionalmente micropartículas sólidas que preferentemente tienen un tamaño de 0,01  $\mu\text{m}$  a 500  $\mu\text{m}$ . Respecto al tamaño, porosidad y características adsorbentes, un elemento microporoso puede estar constituido por diferentes tipos de micropartículas que pueden inmovilizarse en un orden estratificado. Las micropartículas tales como partículas adsorbentes están disponibles en el mercado. Algunas están fabricadas de material inorgánico tal como fosfato de calcio, gel de sílice u óxidos de silicio, aluminio, titanio, zirconio o consisten en un núcleo inorgánico microporoso con una capa superficial de polímero orgánico, que proporciona grupos aniónicos y catiónicos para cromatografía de intercambio de iones o grupos hidrófobos para cromatografía en fase inversa o de interacción hidrófoba. Las micropartículas pueden derivatizarse también de manera que satisfagan los requisitos de unión específica de cromatografía de afinidad de proteínas, polipéptidos, ácidos nucleicos, oligonucleótidos, polisacáridos y otras sustancias orgánicas. Por unión covalente o por unión no covalente tal como unión a marcador, estas sustancias pueden usarse por sí mismas para formar una matriz de afinidad, además de por ejemplo anticuerpos, avidina y lectinas.

En una realización preferida la sustancia y las micropartículas están presentes como una suspensión en un antidisolvente de baja viscosidad.

- 20 Dicha sustancia y dichas micropartículas pueden solidificarse, por ejemplo, por evaporación desde una solución muy diluida en un disolvente pobre o por sinterización a temperaturas moderadas de hasta 130  $^{\circ}\text{C}$  sin solución de polímero, usando solo un polímero parcialmente fundido en su lugar.

- En una realización preferida del procedimiento descrito anteriormente de la invención dichas micropartículas modifican las propiedades de adsorción del elemento microporoso final, preferentemente útil para cromatografía de intercambio de iones, cromatografía en fase inversa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de adsorción en geles de sílice y/o cromatografía de afinidad.

- En una realización adicional del procedimiento de la presente invención, las micropartículas están diseñadas para tener una propiedad preseleccionada. De esta manera, las micropartículas pueden contener, por ejemplo, una molécula efectora. Los ejemplos de tal molécula incluyen secuencias de aminoácidos diseñadas para secuestrar iones, que hacen a la molécula adecuada para su uso como un agente de formación de imágenes y secuencias diseñadas para facilitar inmovilización de las micropartículas para su uso, por ejemplo, en cromatografía de afinidad e inmunoensayo en fase sólida. Otro ejemplo de tal molécula es una molécula efectora bioactiva que es una proteína que tiene una conformación adecuada para actividad biológica y/o enzimática, tal como una enzima, toxina, receptor, sitio de unión, factor de crecimiento, factor de diferenciación celular, citocina, hormona o anti-metabolito.

- 35 En una realización preferida, dichas micropartículas comprenden una molécula efectora capaz de secuestrar un ión, uniéndose selectivamente a dicho soporte sólido, uniéndose a un determinante antigénico preseleccionado o siendo un ligando. Por ejemplo, dicha molécula puede comprender una enzima o resto detectable de forma remota y/o una secuencia de aminoácidos, ácidos nucleicos o análogos o derivados de los mismos.

- Preferentemente, dicha molécula capaz de secuestrar un ión es calmodulina, metalotioneína, un fragmento de las mismas, una secuencia de aminoácidos rica en al menos uno de ácido glutámico, ácido aspártico, lisina y arginina y dicha molécula efectora capaz de unirse a un determinante antigénico preseleccionado es un anticuerpo o fragmento o un derivado del mismo. Estos anticuerpos pueden ser anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales o anticuerpos sintéticos así como fragmentos de anticuerpos, tales como fragmentos Fab, Fv o scFv, etc. Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse, por ejemplo, por las técnicas descritas originalmente en Köhler y Milstein, Nature 256 (1975), 495 y Galfré, Meth. Enzymol. 73 (1981), 3, que comprende la fusión de células de mieloma de ratón a esplenocitos derivados de mamíferos inmunizados. Adicionalmente, los anticuerpos o fragmentos de los mismos a antígenos pueden obtenerse usando procedimientos que de describen por ejemplo en Harlow y Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988. Estos anticuerpos pueden usarse, por ejemplo, para la inmunoprecipitación e inmunolocalización del antígeno deseado así como para el control de la presencia de tales antígenos, por ejemplo, en organismos recombinantes y para la identificación de compuestos que interactúan con el antígeno. Por ejemplo, la resonancia de plasmón superficial según se emplea en el sistema BIAcore puede combinarse con un elemento microporoso de la invención para aumentar la eficacia de las selecciones del anticuerpo del fago, produciendo un gran incremento de afinidad a partir de una sola biblioteca de anticuerpos de fago que se une a un epítipo del antígeno (Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmberg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

Adicionalmente, dicha molécula capaz de unirse selectivamente a un soporte sólido puede ser, por ejemplo, GST, His-tag, Lex-A, MBP y dicho ligando, por ejemplo, Ni-NTA.

En una realización adicional más del procedimiento de la presente invención la sustancia es autosostenida y se

aplica a un soporte.

Un "soporte" de acuerdo con la presente invención está en forma de un tubo que tiene una abertura adecuada para aplicar la sustancia tal como para formar una capa autosostenida preferentemente sobre la sección transversal de la abertura.

5 Preferentemente, el soporte está en forma de polipropileno (PP), polietileno (PE), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PEEK), policarbonato, polietilén vinilacetato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, nitruro de silicio o mezclas de los mismos, o materiales compuestos de los mismos con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.

10 El soporte tiene la forma de un tubo y el elemento microporoso preferentemente se genera en o cerca de un extremo del tubo. Preferentemente, al menos una sección del tubo es de forma cónica, teniendo un extremo de la sección transversal más pequeño y más grande, y el elemento microporoso se genera en o cerca del extremo de la sección transversal más pequeño.

15 La etapa de aplicar la solución a la abertura se consigue permitiendo que la solución ascienda por el tubo por acción capilar.

20 La pared interna del tubo puede revestirse de un revestimiento hidrófilo mientras que el borde del tubo cerca del elemento microporoso puede mantenerse libre de revestimiento hidrófilo o no. Preferentemente, el revestimiento se forma aplicando una solución de uno o más ésteres de polivinilo en un disolvente orgánico a la pared interna del tubo, permitiendo que el disolvente orgánico se evapore e hidrolizando parcialmente la capa resultante de éster de polivinilo en la superficie del mismo.

El diámetro de la abertura del soporte puede ser de 0,02 mm a 4 mm.

En el procedimiento de acuerdo con la presente invención la sustancia se aplica a un retenedor.

25 En una realización preferida el retenedor microporoso está formado de polietileno (PE), polipropileno (PP), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PEEK), policarbonato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, silicio, nitruro de silicio o mezclas de los mismos, acero inoxidable o materiales compuestos de los mismos con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.

30 Dicho retenedor microporoso preferentemente está en forma de un disco, rejilla, membrana de poros grandes, membrana con tejido de soporte, membrana con características de tejido o no tejido, red, placa, barra y/o cono truncado.

El elemento microporoso se genera dentro del soporte.

En una realización preferida de los procedimientos descritos anteriormente el soporte es hueco e impermeable a la humedad.

35 En una realización preferida el procedimiento de acuerdo con la presente invención comprende adicionalmente la etapa de disponer al menos una membrana microporosa en el retenedor microporoso. Preferentemente, la membrana microporosa está formada de celulosa (regenerada), poliamida, poliéster, polipropileno (PP) o politetrafluoroetileno (PTFE, Teflón®).

40 Adicionalmente, la presente invención se refiere a un elemento microporoso que puede obtenerse de acuerdo con un procedimiento de la invención como se ha descrito anteriormente. Preferentemente, el elemento microporoso de acuerdo con la presente invención está en forma de un disco, rejilla, membrana con tejido de soporte, membrana con características de tejido o de no tejido, red, placa, barra o cono truncado.

La presente invención se refiere a un elemento de filtro que comprende el elemento microporoso descrito anteriormente.

45 El retenedor microporoso en el elemento de filtro de acuerdo con la presente invención contiene en sus poros el polímero de tal manera que los poros tienen espacios libres residuales que forman canales que permiten el flujo de un fluido a través del elemento de filtro.

En una realización particularmente preferida del elemento de filtro de acuerdo con la presente invención el diámetro medio de las micropartículas es menor del 50 % del diámetro medio de los poros.

50 Otra realización de la presente invención se refiere a un elemento de filtro de múltiples canales, que comprende una pluralidad de elementos de filtro de acuerdo con la presente invención. Esta realización es particularmente adecuada para una alta capacidad de selección de muestras y puede emplearse, por ejemplo, para análisis forense, preparación de ácido nucleico con alta capacidad de producción, preparación de muestras para aplicación en

diagnóstico o aplicación en selección de fármacos, que normalmente requiere el análisis de muchas muestras.

5 Un kit de acuerdo con la presente invención puede contener adicionalmente compuestos y/o dispositivos que son adecuados, por ejemplo, para la preparación o purificación de biomoléculas tales como proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, oligonucleótidos, polisacáridos o derivados de los mismos. También, por ejemplo, dispositivos tales como jeringas o agujas huecas pueden estar comprendidos en el kit de la invención.

10 La presente invención proporciona también el uso de un elemento de filtro descrito en la misma para cualquier clase de microfiltración, separación sólido-líquido, aclaramiento de soluciones, recogida de células pro- y eucariotas, retirada y purificación de fragmentos y residuos celulares, inmovilización de fragmentos, virus y plásmidos, adsorción/inmovilización de proteínas, polipéptidos, ácidos nucleicos, oligonucleótidos o como un retenedor para material granular, como se usa en cromatografía de afinidad, inmunocromatografía, para estudios de unión, el aislamiento de complejos de unión multicomponente, para la selección de muestras o para evitar la dislocación de micropartículas. Adicionalmente, los elementos de filtro de la invención pueden usarse, por ejemplo, como elementos de filtro para reducir la emisión y/o presencia de sustancias indeseadas tales como sustancias olorosas y tóxicas. Para este fin, los elementos de filtro de la invención comprenden sustancias adsorbentes adecuadas tales como el carbón vegetal contenido, por ejemplo, en las micropartículas. Adicionalmente, los elementos de filtro de la invención pueden usarse en la preparación de polímeros de injerto de almidón. Estos productos que tienen una estructura básica de almidón y una red lateral de un monómero sintético se injertan de acuerdo con el principio del mecanismo de cadena de radicales. Los polímeros de injerto de almidón disponibles hoy en día están caracterizados por una unión mejorada y una capacidad de retención de hasta 1000 g de agua por g de almidón a una alta viscosidad. En los últimos años, estos superabsorbentes se han usado principalmente en el campo higiénico, por ejemplo en productos tales como pañales y láminas, así como en el sector agrícola, por ejemplo en gránulos de semillas.

25 En una realización particularmente preferida del uso de la invención el elemento microporoso o de filtro se usa para la preparación y/o detección de compuestos que comprenden ácidos nucleicos, proteínas, compuestos orgánicos o derivados o análogos de los mismos tales peptidomiméticos o PNA. Dicho compuesto puede obtenerse de fuentes naturales o no naturales. Las fuentes naturales comprenden organismos, es decir, células y tejidos de tales organismos así como muestras obtenidas del entorno natural. Las fuentes no naturales incluyen productos enzimáticos generados *in vitro* y sintetizados químicamente. Es evidente directamente para el experto en la materia que los elementos microporosos y de filtro de la presente invención son adecuados para el aislamiento, purificación y/o detección de cualquier compuesto deseado derivado, por ejemplo, de una célula incluyendo ADN, ARN, proteínas y otros compuestos celulares. Adicionalmente, es posible aislar e identificar agregados y complejos de tales compuestos. Aparte, se prevé el aislamiento y purificación de tales compuestos de fuentes naturales, por ejemplo, de muestras de una célula, fluidos corporales, agua, aire y tierra para emplear los elementos microporosos y de filtro de la invención para la purificación de compuestos producidos sintéticamente.

35 El uso adicional de los elementos de filtro de la presente invención comprende el uso en ensayos o detección de parejas de unión específicas. Para este fin, al menos un agente que se supone capaz de unirse a al menos una pareja de unión está comprendido en el elemento microporoso usado en la invención o, por ejemplo, está unido a las micropartículas. El elemento microporoso en solitario o en cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente se pone en contacto entonces con una muestra que se sospecha que contiene al menos una pareja de unión para el agente. Las parejas de unión específicas pueden liberarse entonces del elemento microporoso y detectarse por procedimientos conocidos por los expertos en la materia. De esta manera, los elementos de filtro de la presente invención pueden usarse para el aislamiento y/o detección de, por ejemplo, receptores unidos a sus ligandos y para la preparación de las denominadas "trampas de ligando". Adicionalmente, una vez que un complejo o, por ejemplo, un complejo de receptor y ligando queda atrapado en el elemento microporoso usado en la presente invención, una muestra adicional de compuesto puede ponerse en contacto con dicho elemento microporoso para identificar compuestos que interfieren con la unión de dicho receptor y su ligando. Dicho compuesto puede usarse como antagonista o agonista de una de las parejas de unión dependiendo de la acción que dicho compuesto presente *in vivo*. Adicionalmente, los elementos de filtro de la presente invención pueden usarse para la selección farmacéutica de ligandos de bajo peso molecular en ultrafiltrados que sean capaces de formar complejos específicos con ácidos nucleicos o proteínas tales como proteínas de receptor recombinante aplicando, preferentemente, la placa de filtro multicanal multicolumna de la invención para la retirada de ligandos libres y para la transferencia del ligando complejado a una matriz de membrana fijada o placa diana para el análisis adicional por técnicas analíticas conocidas, tales como espectrometría de masas, incluyendo la técnica MALDI. Puesto que los ensayos que usan los elementos de filtro de la presente invención puede realizarse a bajo coste y con alta capacidad de producción, se espera adicionalmente que los elementos microporosos y de filtro de la presente invención puedan sustituir a dispositivos tales como los de electroforesis en gel de ácidos nucleicos y proteínas o sistemas para la detección de parejas de unión específicas, tales como un sistema de dos híbridos.

60 De esta manera, los elementos de filtro de la presente invención pueden usarse también para la selección de alta capacidad de producción de ácido nucleico combinatorio o bibliotecas de péptidos o, por ejemplo, para el uso de PCR en fase sólida.

El procedimiento para producir un elemento de filtro de acuerdo con la presente invención puede realizarse en

combinación de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente. Por ejemplo, generando un elemento microporoso dentro de una abertura de un soporte sólido impermeable a la humedad, que comprende las etapas de aplicar una fase líquida a la abertura de manera que se forma una capa líquida autosostenida sobre la sección transversal de la abertura; y provocando la solidificación en forma esponjosa de al menos parte de la fase líquida.

5 Por consiguiente, el elemento microporoso se genera *in situ* a partir de un precursor líquido. El precursor líquido rápidamente toma una forma que coincide con la forma de la abertura en el soporte. Cualquier imperfección, tal como rebabas, etc., de la abertura se compensa de esta manera. Tras la solidificación, se obtiene un elemento microporoso, que se ajusta sin huelgo en la abertura del soporte y tiene un contacto circunferencial completo con las paredes del mismo.

10 Preferentemente, el soporte se forma de un plástico tal como polipropileno, polietileno, copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato, poliéter etercetona (PEEK), policarbonato, polietilén vinilacetato, poliéster, poliimida, o mezclas de los mismos. Se incluyen también materiales compuestos de plástico con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.

15 El soporte tiene la forma de un tubo, preferentemente con una sección transversal circular y el elemento microporoso normalmente se genera en o cerca de un borde del tubo. Para facilitar la aplicación de muestras y para la acomodación de volúmenes de muestra mayores, preferentemente al menos una sección del tubo es de forma cónica, teniendo un extremo de la sección terminal más pequeño y más grande, con el elemento microporoso generado en o cerca del extremo de la sección transversal más pequeña. Por ejemplo, el soporte es una punta de pipeta tal como la usada habitualmente con pipetas Eppendorf. Para evitar la disociación, tal como el deslizamiento

20 del elemento microporoso formado, el tubo puede tener una superficie interna estructurada tal como una superficie con anillos o surcos.

Se prevé también disponer una pluralidad de soportes, por ejemplo hasta varios cientos, en alineación paralela para formar un elemento de filtro de múltiples canales. El elemento de filtro de múltiples canales permitirá que una muestra biológica se ensaye simultáneamente contra cientos de reactivos. Como alternativa, el soporte puede comprender una pluralidad de aberturas, por ejemplo en forma de perforaciones paralelas o perforaciones ahusadas. Cuando el elemento de múltiples canales se va a evaluar ópticamente, es conveniente incluir un agente opacificante, tal como negro de humo, en el material de soporte para evitar interferencias de los canales vecinos.

25

Hay varias posibilidades de aplicar la fase líquida a la abertura del soporte. Los diversos procedimientos se ejemplificarán con referencia a un soporte tubular pero no se limitan a este. Como la fase líquida en general es una solución, los términos "fase líquida" y "solución" se usarán de forma intercambiable a menos que se requiera de otra manera por el contexto. Convenientemente, la aplicación de la solución a la abertura se consigue permitiendo que la solución ascienda en el tubo por acción capilar. El soporte, por ejemplo un tubo, se sumerge en la solución y se levanta de nuevo. Debido a la tensión superficial de la solución, una capa de líquido permanecerá en la abertura sobre la sección transversal de la abertura. Por ejemplo, si la viscosidad de la solución es demasiado alta, pueden adoptarse diferentes procedimientos para aplicar la solución a la abertura. La fuerza ascendente de la solución puede potenciarse sellando temporalmente el extremo distante del tubo, calentando ligeramente el tubo, sumergiendo después el tubo con su extremo libre en la solución y permitiendo que el tubo se enfríe a temperatura ambiente, con lo que la solución se dirige al tubo por la contracción del volumen de aire encerrado. Como alternativa, la solución puede introducirse desde el extremo distante del tubo y puede llevarse a su posición final por centrifugación. Preferentemente, el extremo en o cerca del cual el elemento microporoso se va a formar se sella con un tapón o presionándolo contra una placa elástica. El tapón o la placa elástica preferentemente tienen microsurcos o microporos para permitir que el aire encerrado escape. Después, la disposición se somete a centrifugación durante la cual la solución migra al extremo del tubo donde se retiene al menos parcialmente por el tapón o la placa elástica. El tapón o la placa elástica pueden retirarse antes o después de la solidificación, en particular antes de la solidificación de la solución o de una parte de la solución.

30

35

40

45

El profesional habilitado a menudo se enfrenta al problema de que las muestras acuosas que se introducen en recipientes fabricados de material hidrófobo tienden a adherirse a la pared en gotas en lugar de fluir hacia abajo y recogerse en el fondo. Para evitar estos fenómenos, la pared interna de un tubo que actúa como soporte para un elemento de filtro de acuerdo con la invención, está revestido de un revestimiento hidrófilo. El revestimiento hidrófilo evitará que las muestras acuosas se adhieran a la pared del tubo de soporte. Asimismo, no hay una pérdida por adsorción de biopolímeros debido a la adsorción a la pared del soporte. El borde del tubo cerca del elemento microporoso preferentemente se mantiene libre del revestimiento hidrófilo. Esto evitará que los líquidos de muestra que salen del borde del tubo cerca del elemento microporoso fluyan hacia los elementos de filtro adyacentes, especialmente en la realización de la presente invención donde una pluralidad de elementos de filtro está dispuesta para formar un elemento de filtro de múltiples canales.

50

55

El revestimiento hidrófilo se preparará convenientemente aplicando una solución de uno o más ésteres de polivinilo en un disolvente orgánico a la pared interna del tubo, permitiendo que el disolvente orgánico se evapore y opcionalmente hidrolizando parcialmente la capa resultante de éster de polivinilo en la superficie del mismo. Los ésteres de polivinilo adecuados incluyen acetato de polivinilo (un peso molecular de aproximadamente 500000 generalmente es adecuado), propionato de polivinilo y estearato de polivinilo.

60

- La hidrólisis parcial de la capa de éster de polivinilo se realiza poniendo en contacto la capa de éster de polivinilo con una solución acuosa alcalina, tal como hidróxido sódico. El borde del tubo cerca del elemento microporoso puede mantenerse libre de revestimiento hidrófilo aplicando la solución de éster de polivinilo solo a una parte de la pared interna del tubo, por ejemplo sumergiendo parcialmente el tubo en la solución de éster de polivinilo. Después de la hidrólisis, el elemento microporoso puede generarse en o cerca del borde del tubo, que no se ha puesto en contacto con la solución de éster de polivinilo. Como alternativa, toda la pared interna del tubo puede revestirse con éster de polivinilo pero solo parte del mismo se hidroliza.
- Como alternativa, el revestimiento hidrófilo puede generarse usando un polipropilenglicol de alto peso molecular, que por ejemplo tiene un peso molecular de 4000 o mayor. Tales polipropilenglicoles muestran una solubilidad de moderada a buena en agua fría y, sin embargo, una mala solubilidad en agua caliente. Por consiguiente, una solución acuosa fría de polipropilenglicol, por ejemplo de 0 °C a 4 °C podría introducirse en el tubo y posteriormente la temperatura se eleva, por ejemplo a aproximadamente 20 °C. El polipropilenglicol que sale de la solución muestra una gran afinidad por la pared interna del tubo y se deposita en la misma como una capa fina. El exceso de solución de polipropilenglicol se retira entonces. La reticulación química adicional puede ser ventajosa en algunos casos.
- Empleando el procedimiento o procedimientos de acuerdo con la presente invención, pueden producirse elementos de filtro que tienen una abertura de un diámetro de 0,02 mm a 4 mm, en particular de 0,2 a 2,0 mm.
- El procedimiento de la presente invención para producir elementos de filtro de la invención puede comprender las etapas de proporcionar una suspensión líquida de micropartículas; aplicar la suspensión líquida a al menos un retenedor microporoso; y provocar la solidificación en forma esponjosa de al menos parte de la suspensión.
- Las micropartículas pueden unirse juntas entre sí y pueden unirse a al menos un retenedor microporoso manteniendo la microporosidad.
- El procedimiento de acuerdo con la presente invención para producir un elemento de filtro generando un elemento microporoso puede comprender las etapas de proporcionar una solución de resina sintética o semisintética en un disolvente, incluyendo micropartículas suspendidas en su interior; aplicar la solución a al menos un retenedor microporoso; y provocar que un antidisolvente se difunda dentro de la capa, antidisolvente que es miscible con el disolvente, con lo que la resina sintética precipita formando el elemento microporoso.
- Preferentemente, la resina se selecciona de entre el grupo que consiste en ésteres de polivinilo, ésteres de polivinilo parcialmente desacilados, derivados de celulosa, poliamidas y mezclas de los mismos. Entre los ésteres de polivinilo pueden mencionarse acetato de polivinilo, propionato de polivinilo, estearato de polivinilo y éster del ácido polivinilcinnámico; entre los derivados de celulosa, nitrocelulosa y propionato de celulosa. Una poliamida adecuada es Nylon 6/6.
- En ciertos casos, la resina preferentemente comprende segmentos tanto hidrófilos como hidrófobos dentro de sus moléculas. Las resinas adecuadas incluyen poli(alcohol vinílico-co-etileno), poli(alcohol vinílico-co-vinilacetato), copolímero de etileno y ácido acrílico, copolímero de etileno y éster acrílico, copolímero de etileno y acrilamida, copolímero de ácido acrílico y vinilacetato, copolímero de acrilamida y acetato de vinilo, copolímero de monoamida de diamina de ácido acrílico con acetato de vinilo, poli(alcohol vinílico-co-estireno), copolímero de acrilamida y éster acrílico y mezclas de los mismos. Específicamente, son útiles los copolímeros de acrilamida con acrilato de hexilo, acrilato de propilo o acrilato de dodecilo.
- Preferentemente el disolvente se selecciona entre dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida, formamida, ácido fórmico, ácido acético, 2,2,2-ticloroetanol y mezclas de los mismos.
- Preferentemente el antidisolvente se selecciona entre agua, alcoholes que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, amoníaco, acetato de etilo, acetona, etilendiamina y mezclas de los mismos. El antidisolvente puede ser líquido o gaseoso.
- Los diversos procedimientos para provocar que el antidisolvente se difunda en la capa líquida de la solución de resina se ejemplificarán con referencia a un soporte que tiene la forma de un tubo, pero que no se limitan a esto. Un antidisolvente líquido puede ponerse en contacto con la capa líquida de solución de resina desde uno o ambos lados de la misma, por ejemplo sumergiendo el extremo del tubo en el que la capa de la solución de resina está situada en un antidisolvente líquido. Adicionalmente o como alternativa, puede introducirse un antidisolvente desde el extremo distal del tubo. Si se va a usar un antidisolvente gaseoso, la disposición de soporte con la capa de solución de resina se sitúa dentro de una atmósfera que está saturada o casi saturada con los vapores del antidisolvente. La precipitación puede conseguirse también en dos etapas sucesivas aplicando en primer lugar un antidisolvente gaseoso y, después de la solidificación parcial, aplicando posteriormente un antidisolvente líquido.
- Las superficies planas superior e inferior del elemento microporoso se obtienen cuando la concentración final del antidisolvente en la solución de resina durante la precipitación sube por encima del 50 % en peso. Una superficie superior plana permite un rendimiento de filtración más uniforme del elemento de filtro. Una superficie inferior plana proporciona un contacto uniforme, por ejemplo, con las membranas de transferencia sobre las que se va a transferir un material adsorbido.

Las combinaciones típicas de resina/disolvente/antidisolvente, por ejemplo, son una de poli(alcohol vinílico-co-etileno), nitrocelulosa, propionato de celulosa, o acetato de polivinilo como la resina, dimetilsulfóxido como el disolvente y agua como el antidisolvente; o poliamidas (como Nylon 6,6) como la resina, 2,2,2-tricloroetanol como el disolvente y acetona como el antidisolvente.

- 5 Sin desear quedar ligado a teoría alguna se cree que al generar el elemento microporoso de acuerdo con la esta primera realización de la presente invención están implicados los siguientes mecanismos:

10 Cuando el antidisolvente se difunde en la capa de solución de resina, la solubilidad de la resina disminuye gradualmente. A medida que se alcanza el límite de solubilidad la resina empieza a precipitar en la solución en puntos individuales. La precipitación de la resina transcurre en los puntos de precipitación inicial. Finalmente, el disolvente/antidisolvente se encierra en grandes enclaves interconectados en una matriz sólida de resina. Los enclaves interconectados forman los canales permeables a líquidos del elemento microporoso final. Si se usa una resina sintética que comprende segmentos tanto hidrófilos como hidrófobos, los segmentos hidrófobos se verán forzados unos hacia otros y se pondrán en contacto entre sí a medida que aumenta la concentración del antidisolvente en la solución de resina. Habrá interacciones entre los segmentos hidrófobos de cadenas de moléculas vecinas, que darán como resultado la formación de una estructura básica hidrófoba cristalina de la resina precipitada. Los segmentos hidrófobos se orientarán hacia los enclaves cargados con disolvente/antidisolvente. Por consiguiente, se obtiene un elemento microporoso donde los canales permeables a líquidos son predominantemente hidrófilos. Esto proporciona el beneficio de biocompatibilidad. El término "biocompatibilidad" significa que se mantiene la estructura tridimensional de los biopolímeros, por ejemplo, proteínas. Las fuerzas de la interfase son menos destructivas cuando la superficie del polímero es rica en grupos hidroxilo, amida o éter.

20 Para modificar las propiedades de adsorción del elemento microporoso, la solución de la resina sintética comprende adicionalmente micropartículas sólidas. Las micropartículas pueden estar compuestas de dióxido de silicio, gel de sílice, óxido de aluminio, dióxido de titanio, óxido de zirconio, vidrio, carbono o grafito. También, las micropartículas pueden estar compuestas de material inorgánico, tal como fosfato de calcio, fosfato de cinc o similares. Otro tipo de micropartículas granulares consiste en un núcleo inorgánico tal como gel de sílice microporoso con una microcapa de polímero orgánico. Los poros y la superficie del grano pueden modificarse de una manera que se restrinja la penetración de las macromoléculas en los poros ("material de acceso restringido"). También, las micropartículas pueden consistir en un material orgánico tal como resina curada en polvo o polisacáridos altamente reticulados que están disponibles con el nombre comercial Superdex, sin embargo, ha de tenerse cuidado al seleccionar un material orgánico puesto que no debe ser soluble en el disolvente usado. Las micropartículas pueden ser no porosas o porosas, aunque preferentemente son porosas con un tamaño de poro preferido en el intervalo de 1 nm a 500 nm. Generalmente, las micropartículas tienen un tamaño de 5 nm a 500  $\mu\text{m}$ , en particular de 0,5  $\mu\text{m}$  a 30  $\mu\text{m}$ , sin embargo las micropartículas porosas preferentemente tienen un tamaño de 1  $\mu\text{m}$  o mayor, mientras que las micropartículas preferentemente tienen un tamaño de 1  $\mu\text{m}$  o menor. Las micropartículas pueden pretratarse, por ejemplo derivatizarse, de manera que las propiedades adsorbentes de las mismas satisfagan requisitos específicos. Es útil cualquier clase de partículas adsorbentes disponibles en el mercado como las que se usan para extracción en fase sólida o cromatografía, tal como cromatografía de afinidad con proteínas, anticuerpos, péptidos, carbohidratos, ácidos nucleicos o para cromatografía de intercambio de iones, inmunocromatografía, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de quelación y cromatografía en fase inversa. Los materiales adecuados para cromatografía líquida de alto rendimiento son especialmente útiles. Por ejemplo, proteínas tales como anticuerpos específicos, lecitinas, avidina, proteínas receptoras, enzimas, péptidos sintéticos, ácidos nucleicos u oligonucleótidos pueden fijarse a las micropartículas covalentemente o mediante engarces. Las partículas adsorbentes tienen una forma granular, por ejemplo esférica, y/o con superficies irregulares, aunque no necesariamente son fibrilares.

45 En el elemento de filtro que contiene micropartículas final, las superficies externa o interna de las micropartículas encerradas son accesibles a una muestra líquida aplicada, y puede tener lugar la adsorción/inmovilización de los analitos contenidos en la muestra líquida.

Adicionalmente, el procedimiento de la presente invención para producir un elemento de filtro generando un elemento microporoso puede comprender las etapas de proporcionar una solución acuosa de un hidrocoloide, que comprende micropartículas suspendidas en su interior; aplicar la solución a al menos un retenedor microporoso; provocar que la solución de hidrocoloide solidifique; y opcionalmente, una o ambas de desecación y reticulación de la solución de hidrocoloide solidificada.

55 Preferentemente, el hidrocoloide se selecciona entre agarosa de bajo punto de fusión, almidón, alcohol polivinílico y mezclas de los mismos. La solución acuosa de hidrocoloide contiene preferentemente del 1 al 10 % en peso, en particular del 2 al 5 % de la solución de hidrocoloide. Cuando se usa alcohol polivinílico como el hidrocoloide, en ocasiones es ventajosa la adición de hasta el 0,2 % en peso de la solución de tetraborato sódico o hasta el 50 % en peso de la solución de dimetilsulfóxido.

Estos hidrocoloides son poco solubles en agua fría, sin embargo se dispersan o disuelven con calentamiento. Preferentemente, se aplica una solución de hidrocoloide a la abertura del soporte. Tras la refrigeración, la solución de hidrocoloide solidifica.

En una alternativa, la solución de hidrocoloide solidificada se deseca posteriormente. La desecación puede acelerarse calentando la disposición a una temperatura de aproximadamente 40 °C. Como alternativa, en particular cuando se usa un material sensible al calor, la desecación puede conseguirse poniendo la disposición en una cámara cerrada sobre un agente desecante tal como pentóxido de fósforo. El contenido de humedad final preferentemente es menor de 100 Pa de presión parcial de vapor de agua.

Tras la desecación, la capa solidificada de solución hidrocoloide se contrae. En ausencia de las micropartículas mencionadas anteriormente, la capa solidificada de solución de hidrocoloide se contraería con el efecto de que no podría obtenerse un elemento de filtro. De acuerdo con la invención, se proporcionan micropartículas en la solución acuosa de hidrocoloide que actúan como agente formador de poros durante la desecación. Por consiguiente, se forma una pluralidad de grietas microscópicas entre las micropartículas tras la desecación. También, las micropartículas actúan para controlar o modificar las propiedades de adsorción de la capa obtenida de esta manera. Las grietas microscópicas actúan como los canales permeables a líquido del elemento microporoso final. En general será útil una proporción del 5 al 50 %, calculada en peso de la solución de hidrocoloide de micropartículas.

La capa obtenida de hidrocoloide solidificado puede someterse a reticulación en lugar de o después de la desecación. Para este fin el elemento microporoso se trata con agentes de reticulación, por ejemplo ácido bórico, tetraborato sódico, oxiclورو de fósforo, epíclorhidrina o bisoxiranos, tales como 1,4-butanodiol diglicidil éter. El alcohol polivinílico puede reticularse con tetraborato sódico por aplicación de un pH alcalino para la gelificación. Tanto la desecación como la reticulación tienen el efecto de aumentar la estabilidad mecánica y la resistencia a disolventes del elemento microporoso final.

En un procedimiento preferido, una solución de hidrocoloide acuosa, en particular una solución acuosa de agarosa de bajo punto de fusión, que comprende micropartículas sólidas suspendidas en su interior se aplica a un retenedor microporoso, después se hace permear un antidisolvente de distribución en canal a través de la capa de líquido mientras se retiene la capa mediante una herramienta de retención, como se explica con detalle más adelante, después la herramienta de retención se retira y se hace que la solución de hidrocoloide solidifique. Finalmente, la capa de hidrocoloide solidificada se somete preferentemente a reticulación.

Las micropartículas útiles son aquellas analizadas anteriormente en relación con la primera realización de la invención. Adicionalmente, pueden mencionarse micropartículas revestidas con dextrano tales como carbón vegetal revestido con dextrano, poli(estireno-divinilbenceno) revestido con dextrano o estructuras biológicas adsorbidas a un soporte poroso, tales como ribosomas, nucleosomas, cromosomas, sinaptosomas, fagos, plásmidos, todos preadsorbidos a perlas de soporte porosas o no porosas. Las micropartículas preferentemente tienen un tamaño de 0,5 µm a 500 µm.

Además, el procedimiento de la presente invención para producir un elemento de filtro generando un elemento microporoso puede comprender las etapas de proporcionar una solución de un monómero o una mezcla de monómeros en un disolvente, que opcionalmente comprende monómeros de reticulación; aplicar la solución a al menos un retenedor microporoso y provocar que el monómero o monómeros polimericen.

Preferentemente, los monómeros son monómeros etilénicamente insaturados tales como acetato de vinilo u otros ésteres de vinilo y ácido acrílico y sus derivados. Los derivados de ácido acrílico preferidos incluyen amidas de ácido acrílico tales como acrilamida, N,N-dimetilacrilamida, monoamida de diamina de ácido acrílico; ésteres acrílicos tales como acrilato de butilo, acrilato de dodecilo, acrilato de octadecilo, acrilato de vinilo, acrilato de 2,3-epoxipropilo, acrilato de dietilaminoetilo, acrilato de 2-dimetilaminoetilo y acrilato de 3-sulfopropilo.

Los monómeros de reticulación son monómeros que tienen dos o más sitios de insaturación etilénica. Un monómero de reticulación preferido es N,N'-metilenbis(acrilamida). La presencia de monómeros de reticulación aumenta la estabilidad mecánica y resistencia a disolventes del elemento microporoso final.

Como un disolvente son útiles agua, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida, formamida, ácido fórmico, ácido acético, 2,2,2-tricloroetanol o mezclas de los mismos, dependiendo de la naturaleza del monómero o monómeros usados.

En un procedimiento preferido, una solución acuosa de ácido acrílico o sus derivados, preferentemente junto con monómeros de reticulación, que comprende micropartículas sólidas, suspendidas en su interior se aplica a un retenedor microporoso, después un antidisolvente de distribución en canal se hace permear a través de la capa de líquido mientras que se retiene la capa mediante una herramienta de retención como se explica con detalle más adelante, después la herramienta de retención se retira y se hace que el ácido acrílico (o derivados) polimerice.

En general, una proporción del 1 al 10 % en peso de monómero o monómeros de reticulación, por ejemplo N,N'-metilenbis(acrilamida), calculada sobre el monómero total, es útil.

También es útil una mezcla de monómero o monómeros hidrófilos e hidrófobos. En este caso, habrá interacciones entre las unidades polimerizadas de los monómeros hidrófobos de las cadenas de molécula creciente, que dan como resultado la formación de una estructura básica hidrófoba y cristalina del polímero formado. Las unidades de los monómeros hidrófilos se orientarán hacia los enclaves cargados con el disolvente. Por consiguiente, se obtiene

un elemento microporoso donde los canales permeables a líquido son predominantemente hidrófilos.

En ocasiones el monómero o mezcla de monómeros es soluble en el disolvente, mientras que el polímero en crecimiento se hace cada vez más insoluble en el disolvente seleccionado y finalmente precipita en la solución. Una mezcla de disolventes puede ser útil en algunos casos. Puede hacerse que un antidisolvente se difunda dentro de la capa de solución de polímero después de la polimerización, para hacer precipitar el polímero formado o completar la precipitación del polímero formado. También, un líquido porógeno, tal como n-dodecanol u óxido de polipropileno, puede estar presente durante la polimerización, la polimerización puede dar como resultado también que un gel de polímero se hinche con el disolvente usado.

La polimerización de los monómeros etilénicamente insaturados generalmente se efectúa bajo la influencia de radicales libres. Los radicales libres se generan a partir de los iniciadores descomponibles técnicamente habituales o de una combinación de iniciador por radicales libres y agente reductor. Normalmente, el iniciador se añade a la solución del monómero. La concentración del iniciador se usa para proporcionar una vida útil suficiente para aplicación de la solución del monómero al retenedor microporoso. Una combinación de N,N'-tetrametiletilendiamina y un persulfato se prefiere especialmente como iniciador. Como alternativa, se usa una solución acuosa de iniciador o iniciador/agente reductor que se pone en contacto por uno o ambos lados de la capa líquida de la solución de monómero. También se usan fotoiniciadores tales como riboflavina para iniciar la polimerización.

En lugar de monómeros etilénicamente insaturados, puede usarse un monómero o mezcla de monómeros que son capaces de experimentar poliadición o policondensación. Entre los monómeros útiles hay una combinación de diaminas con poliepoxis, tales como una combinación de etilendiamina con 1,4-butanodiol diglicidil éter. Los ejemplos adicionales incluyen diamina de óxido de polipropileno y 1,4-butanodiol, cada uno con 1,4-butanodiol diglicidil éter.

Esta realización implica el beneficio de una menor viscosidad de la solución de monómero en comparación con una solución de un polímero de los mismos monómeros a una concentración correspondiente. La menor viscosidad facilita la aplicación de la solución al retenedor microporoso.

Para modificar las propiedades de adsorción del elemento microporoso, la solución de monómero puede comprender adicionalmente micropartículas sólidas. Las micropartículas que son útiles se han analizado anteriormente.

Cuando se usan micropartículas, en ocasiones es ventajoso hacer permear la capa de líquido que contiene micropartículas con un disolvente de distribución en canal para desplazar la solución de hidrocoloide, solución de resina o solución de monómero en exceso, respectivamente. El antidisolvente de distribución en canal no debe ser miscible con los disolventes usados. La permeación puede efectuarse presionando o empujando el antidisolvente de distribución en canal a través de la capa que contiene micropartículas mientras se retiene la capa mediante una herramienta de retención que consiste en un filtro microporoso. La solución de hidrocoloide, solución de resina o la solución de monómero, respectivamente, se desplazan desde los intersticios más grandes entre las micropartículas y se acumula en los puntos de contacto de las micropartículas. El antidisolvente de distribución en canal mantiene los intersticios libres, produciendo de esta manera canales. La herramienta de retención se retira antes o después de la solidificación del hidrocoloide o polimerización del monómero o monómeros o precipitación de la resina. Tras la solidificación/polimerización/precipitación, las micropartículas se unen entre sí en sus puntos de contacto. El antidisolvente de distribución en canal se retira por lavado con un líquido adecuado. Como el antidisolvente de distribución en canal se prefiere aceite de silicona.

También son posibles combinaciones de dos o más de las realizaciones analizadas anteriormente. Por ejemplo, una capa que contiene micropartículas podría prepararse de acuerdo con una realización e impregnarse posteriormente con una solución de resina, en la que la resina se hace precipitar de acuerdo con otra realización.

En este contexto, los diversos procedimientos de acuerdo con las realizaciones analizadas anteriormente pueden comprender también la etapa de disponer al menos una membrana microporosa en el retenedor microporoso, en el que la membrana microporosa se forma preferentemente de celulosa (regenerada), poliamida, poliéster, polipropileno (PPO), politetrafluoroetileno (PTFE).

En las diversas realizaciones de la invención, está implicada la manipulación de volúmenes muy pequeños de líquido. La evaporación indeseada de disolventes antes de la solidificación puede evitarse cuando todas las operaciones se realizan en sistemas cerrados con una atmósfera saturada de disolvente. Preferentemente, la temperatura se controla con precisión.

La invención se refiere adicionalmente a un elemento de filtro, como se define en las reivindicaciones adjuntas, que puede obtenerse mediante las diversas realizaciones analizadas anteriormente y que comprende al menos un elemento microporoso que incluye al menos un retenedor microporoso y un polímero en forma esponjosa que embebe las micropartículas y que está unido a al menos un retenedor microporoso.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el retenedor microporoso, que comprende preferentemente partículas sólidas conectadas entre sí y que preferentemente está en forma de un disco, rejilla,

5 membrana de poros grandes, membrana con tejido de soporte, membrana con características de tejido o no tejido, red, placa, barra y/o cono truncado (cuando está en forma de una membrana, el retenedor microporoso puede comprender micropartículas conectadas entre sí), está formado de polietileno (PE), polipropileno (PP), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PPEK), policarbonato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, silicio, nitrato de silicio o mezclas de los mismos, acero inoxidable o materiales compuestos de los mismos con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.

10 De acuerdo con la presente invención, el polímero se fija a al menos una parte de la superficie externa del retenedor microporoso. Adicionalmente o como alternativa, el retenedor microporoso puede contener en sus poros el polímero de tal manera que los poros tengan espacios libres residuales que forman canales, permitiendo el flujo de un fluido a través del elemento de filtro. En este caso, el diámetro medio de las micropartículas preferentemente es menor del 50 % del diámetro medio de los poros.

15 De acuerdo con una realización particularmente inventiva de la presente invención, al menos una membrana microporosa está dispuesta en el retenedor microporoso, estando la membrana microporosa formada preferentemente de celulosa (regenerada), poliamida, poliéster, polipropileno (PP) o PTFE.

20 La invención se refiere también a una realización de acuerdo con la cual el polímero comprende una resina. Esta resina puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en ésteres de polivinilo, ésteres de polivinilo parcialmente desacilados, derivados de celulosa, poliamidas y mezclas de los mismos; o del grupo que consiste en poli(alcohol vinílico-co-etileno), copolímero de etileno y ácido acrílico, copolímero de etileno y éster acrílico, copolímero de acrilamida y acetato de vinilo, copolímero de monoamida de diamina de ácido acrílico con acetato de vinilo, poli(alcohol vinílico-co-estireno), copolímero de acrilamida y éster acrílico y mezclas de los mismos.

25 Como alternativa, el polímero puede comprender una solución de hidrocoloide solidificada, opcionalmente desecada o reticulada, en la que el hidrocoloide se selecciona preferentemente de entre el grupo que consiste en agarosa de bajo punto de fusión, almidón, alcohol polivinílico y mezclas de los mismos.

30 Como alternativa, el polímero puede comprender el producto de polimerización de un monómero seleccionado de entre el grupo que consiste en ésteres de vinilo, ácido acrílico y sus derivados; o el producto de polimerización de una diamina y un diepóxido.

35 De acuerdo con la presente invención, el elemento microporoso está dispuesto en un miembro de soporte que puede tener la forma de un tubo. En este contexto, al menos una sección del tubo puede ser de forma cónica, teniendo un extremo de la sección transversal más pequeño y uno más grande, y el elemento microporoso puede estar localizado en o cerca del extremo de la sección transversal más pequeño.

De acuerdo con una realización ventajosa de la presente invención, las superficies externa e interna del retenedor microporoso están revestidas de un revestimiento hidrófilo.

35 La pared interna del tubo revestida de un revestimiento hidrófilo, en la que esto puede ser oportuno para mantener el borde del tubo cerca del elemento microporoso libre de revestimiento hidrófilo.

De acuerdo con diversas realizaciones particularmente inventivas de la presente invención, el elemento microporoso puede estar en forma de un

- 40 - disco,
- rejilla,
- membrana con tejido de soporte,
- membrana con características de tejido o no tejido,
- red,
- placa,
- barra, o
- 45 - cono truncado.

La invención finalmente se refiere a un elemento de filtro de múltiples canales, que comprende una pluralidad de elementos de filtro que puede obtenerse por las diversas realizaciones analizadas anteriormente.

50 En las diversas realizaciones de la invención, está implicada la manipulación de volúmenes muy pequeños de líquido. La evaporación indeseada de disolventes antes de la solidificación puede evitarse cuando todas las operaciones se realizan en sistemas cerrados con una atmósfera saturada en disolvente. Preferentemente la temperatura se controla de forma precisa.

55 La invención se refiere adicionalmente a elementos de filtro que pueden obtenerse por las diversas realizaciones analizadas anteriormente. Los elementos de filtro de acuerdo con la invención pueden aplicarse para la mayoría de versiones de cromatografía líquida analítica o micropreparativa, tal como cromatografía de afinidad, inmunocromatografía, cromatografía de intercambio de iones, cromatografía de fase inversa, cromatografía de

interacción hidrófoba, cromatografía de adsorción en geles de sílice, así como para estudios de unión que posibilitan también el aislamiento de complejos de unión multicomponente.

Los elementos de filtro pueden ser especialmente útiles en biotecnología, en biología molecular y en diagnósticos en bioquímica médica, permitiendo la selección económica de cientos de muestras en paralelo.

5 Se consiguieron las siguientes ventajas: el procedimiento evita la dislocación de micropartículas durante el procesamiento de un líquido y también durante el transporte, mejorando o simplificando la aplicación seleccionada de técnicas adecuadas como se ha descrito anteriormente. Además de esto, el procedimiento abre el camino para una miniaturización adicional, evita la pérdida no específica de biopolímero presentando superficies biocompatibles y ahorra costes usando un material microparticulado caro en cantidades muy pequeñas. Es posible la transferencia de diferentes sustancias desde el filtro hasta las membranas de transferencia sin tener problemas con volúmenes muertos. La producción a bajo coste permite que la fibra se use solamente una vez, evitando el riesgo de contaminación. La posibilidad de usar micropartículas con propiedades de adsorción conocidas o estandarizadas permite la fabricación de elementos de filtro con características de adsorción predecibles y facilita el control de calidad.

15 Estas y otras realizaciones se analizan o son obvias a partir de y están abarcadas por la descripción y los ejemplos de la presente invención. Por ejemplo, la bibliografía adicional relacionada con uno cualquiera de los procedimientos, usos y compuestos a emplear de acuerdo con la presente invención puede recuperarse de bibliotecas públicas usando, por ejemplo, dispositivos electrónicos. Por ejemplo, puede utilizarse la base de datos pública "Medline", que está disponible en Internet por ejemplo en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html>. Las bases de datos adicionales y direcciones las conocen los expertos en la materia y pueden obtenerse usando, por ejemplo, <http://www.lycos.com>. Una visión de conjunto de información sobre patentes en biotecnología y un resumen de las fuentes de información pertinentes sobre patentes útil para una búsqueda retrospectiva y para un conocimiento actual se da en Berks, TIBTECH 12 (1994), 352-364.

25 La presente invención se describirá con más detalle a continuación con referencia a las realizaciones ejemplares que se ilustran esquemáticamente en los siguientes dibujos, en los que:

La Figura 1 muestra un elemento de filtro con fines de referencia;  
 La Figura 2 ilustra el modo de operación del antidisolvente de distribución en canal;  
 La Figura 3 muestra un elemento de filtro con fines de referencia;  
 La Figura 4 muestra un elemento de filtro con fines de referencia;  
 30 La Figura 5 muestra un elemento de filtro como el que puede estar contenido en el dispositivo de filtro de acuerdo con la invención;  
 La Figura 6 muestra un elemento de filtro con fines de referencia.

La Figura 1 muestra un elemento de filtro obtenido de acuerdo con una realización de la invención. El elemento de filtro comprende un soporte (1) impermeable a la humedad que tiene un revestimiento (2) hidrófilo en la pared interna del mismo. El elemento de filtro comprende adicionalmente micropartículas (3) en una matriz (4) de resina precipitada, hidrocoloide solidificado o monómero polimerizado.

La Figura 2 ilustra el modo de operación del antidisolvente de distribución en canal. El antidisolvente (6) de distribución en canal, mostrado en sección transversal, mantiene los intersticios más grandes entre las micropartículas (5) libres. La solución de resina, hidrocoloide o monómero (7) se acumula en los puntos de contacto de las micropartículas.

La Figura 3 muestra un filtro con fines de referencia. El elemento de filtro comprende un elemento microporoso que incluye un retenedor 1 microporoso y un polímero 2 con forma esponjosa que embebe las micropartículas 3 y que está unido al retenedor 1 microporoso. En este contexto, la Figura 3 muestra que el polímero 2 está fijado a la superficie superior del retenedor 1 microporoso.

45 Aunque no puede deducirse explícitamente de la Figura 3, cabe mencionar que el polímero 2 comprende ventajosamente una resina seleccionada de entre el grupo que consiste en ésteres de polivinilo, ésteres de polivinilo parcialmente desacilados, derivados de celulosa, poliamidas, poliestireno, poli(metacrilato de metilo) y mezclas de los mismos. La resina puede seleccionarse también de entre el grupo que consiste en poli(alcohol vinílico-co-etileno), copolímero de etileno y ácido acrílico, copolímero de etileno y éster acrílico, copolímero de acrilamida y acetato de vinilo, copolímero de monoamida de diamina de ácido acrílico con acetato de vinilo, poli(alcohol vinílico-co-estireno), poli(estireno-co-ácido maleico) y derivados de glicerol éster de los mismos, copolímero de acrilamida y éster acrílico y mezclas de los mismos. Como alternativa, el polímero 2 comprende una solución de hidrocoloide solidificado, opcionalmente secado o reticulado, en el que el hidrocoloide puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en agarosa de bajo punto de fusión, almidón, alcohol polivinílico y mezclas de los mismos. Finalmente, debe observarse que el polímero 2 puede comprender también el producto de polimerización de un monómero seleccionado de entre el grupo que consiste en ésteres de vinilo, ácido acrílico y sus derivados; o el producto de polimerización de una diamina y un diepóxido.

El elemento microporoso, como se muestra en la Figura 3, puede generarse *in situ*, a partir de un precursor líquido.

El precursor líquido toma fácilmente una forma que coincide con la forma de la superficie interna de un miembro de soporte 4 impermeable a la humedad así como la forma de un retenedor 1 microporoso. De esta manera, se compensa cualquier imperfección tal como rebabas, etc., de la abertura del miembro de soporte 4 impermeable a la humedad. Tras la solidificación, se obtiene un elemento microporoso, que se ajusta sin huelgo en la abertura del miembro 4 de soporte y tiene un contacto circunferencial completo con las paredes del mismo.

Preferentemente, el miembro de soporte 4 está formado de un plástico tal como polipropileno (PP), polietileno (PE), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PEEK), policarbonato, polietilen vinilacetato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, nitruro de silicio o mezclas de los mismos. Se incluyen también materiales compuestos de plástico con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.

Como puede deducirse de la Figura 3, el miembro de soporte 4 tiene la forma de un tubo, preferentemente con una sección transversal circular, y el elemento microporoso se genera en o cerca de un borde del tubo. Para facilitar la aplicación de muestra y para acomodación de mayores volúmenes de muestra, preferentemente al menos una sección del tubo es de forma cónica, teniendo un extremo de la sección vertical más pequeño y uno más grande, con el elemento microporoso generado en o cerca del extremo de la sección transversal más pequeño. Por ejemplo, el miembro de soporte 4 es una punta de pipeta, tal como las usadas habitualmente con pipetas Eppendorf. Para evitar la dislocación, tal como el deslizamiento del elemento microporoso formado, el tubo puede tener una superficie interna estructurada, tal como una superficie con anillos o surcos.

Se prevé también disponer una pluralidad de miembros de soporte 4, por ejemplo hasta varios cientos, en alineación paralela para formar un elemento de filtro de múltiples canales. El elemento de filtro de múltiples canales permitirá que una muestra biológica se ensaye simultáneamente contra cientos de reactivos. Como alternativa, el miembro de soporte 4 puede comprender una pluralidad de aberturas, por ejemplo en forma de perforaciones paralelas o perforaciones ahusadas. Cuando el elemento de múltiples canales se va a evaluar ópticamente, es conveniente incluir un agente opacificante, tal como negro de humo, en el material del miembro de soporte, para evitar interferencias de los canales vecinos.

Hay varias posibilidades para aplicar la fase líquida a la abertura del miembro de soporte 4. Los diversos procedimientos se ejemplificarán con referencia a un miembro de soporte 4 tubular, pero no están limitados a este. Como la fase líquida, en general, es una solución los términos "fase líquida" y "solución" se usarán de forma intercambiable a menos que se requiera de otra manera por el contexto. Convenientemente, la aplicación de la solución a la abertura se consigue por acción capilar. El miembro de soporte 4, por ejemplo un tubo, se sumerge en la solución y se levanta de nuevo. Debido a la tensión superficial de la solución, una capa de líquido permanecerá en la abertura sobre la sección transversal de la abertura. Por ejemplo, si la viscosidad de la solución es demasiado alta, pueden adoptarse diferentes procedimientos de aplicación de la solución a la abertura. La fuerza de ascensión de la solución puede potenciarse sellando temporalmente el extremo distal del tubo, calentando ligeramente el tubo, sumergiendo entonces el tubo con su extremo libre en la solución y permitiendo que el tubo se enfríe a temperatura ambiente, con lo que la solución se dirige al interior del tubo por la contracción de volumen del aire encerrado. Como alternativa, la solución puede introducirse desde el extremo distal del tubo y puede llevarse a su posición final por centrifugación. Preferentemente, el extremo en o cerca del cual se va a formar el elemento microporoso se sella con un tapón o por presión contra una placa elástica. El tapón o la placa elástica preferentemente tienen microsurcos o microporos para permitir que el aire encerrado escape. Entonces la disposición se somete a centrifugación durante la cual la solución migra al extremo del tubo donde es retenida al menos parcialmente por el tapón o la placa elástica. El tapón o la placa elástica pueden retirarse antes o después de la solidificación, en particular antes de la solidificación de la solución o de una parte de la solución.

El profesional habilitado a menudo se enfrenta al problema de que las muestras acuosas que se introducen en los recipientes fabricados de material hidrófobo tienden a adherirse a la pared en gotas en lugar de fluir hacia abajo y recogerse en el fondo. Para evitar estos fenómenos, la pared interna del tubo que actúa como miembro de soporte 4 para un elemento de filtro de acuerdo con la invención, puede revestirse de un revestimiento 5 hidrófilo. El revestimiento 5 hidrófilo evitará que las muestras acuosas se adhieran a la pared del miembro 4 de soporte. Asimismo, no hay una pérdida de adsorción de los biopolímeros debido a la adsorción a la pared del miembro de soporte 4. Si la pared interna del tubo se reviste del revestimiento 5 hidrófilo, el borde del tubo cerca del elemento microporoso preferentemente se mantiene libre del revestimiento 5 hidrófilo. Esto evitará que los líquidos de la muestra que salen del borde del tubo cerca del elemento microporoso fluyan a elementos de filtro adyacentes, especialmente en la realización de la presente invención donde una pluralidad de elementos de filtro está dispuesta para formar un elemento de filtro de múltiples canales.

El revestimiento 5 hidrófilo se prepara convenientemente aplicando una solución de uno o más ésteres de polivinilo en un disolvente orgánico a la pared interna del tubo, permitiendo que el disolvente orgánico se evapore e hidrolizando parcialmente la capa resultante de éster de polivinilo en la superficie del mismo. Los ésteres de polivinilo adecuados incluyen acetato de polivinilo (un PM de aproximadamente 500000 generalmente es adecuado), propionato de polivinilo y estearato de polivinilo.

La hidrólisis parcial de la capa de éster de polivinilo se realiza poniendo en contacto la capa de éster de polivinilo

con una solución acuosa alcalina, tal como hidróxido sódico. El borde del tubo cerca del elemento microporoso puede mantenerse libre del revestimiento 5 hidrófilo aplicando la solución de éster de polivinilo solo a una parte de la pared interna del tubo, por ejemplo sumergiendo parcialmente el tubo en la solución de éster de polivinilo. Después de la hidrólisis, el elemento microporoso puede generarse en o cerca del borde del tubo, que no se ha puesto en contacto con la solución de éster de polivinilo. Como alternativa, toda la pared interna del tubo puede revestirse de éster de polivinilo, pero solo una parte del mismo se hidroliza.

Como alternativa, el revestimiento 5 hidrófilo puede generarse usando un polietilenglicol de alto peso molecular, por ejemplo que tiene un peso molecular de 4000 o superior. Tales polipropilenglicoles muestran una solubilidad de moderada a buena en agua fría, sin embargo, tienen una mala solubilidad en agua caliente. Por consiguiente, una solución acuosa fría de polipropilenglicol, por ejemplo de 0 °C a 4 °C, podría introducirse en el tubo y posteriormente la temperatura se eleva, por ejemplo a aproximadamente 20 °C. El polipropilenglicol que sale de la solución muestra una alta afinidad por la pared interna del tubo y se deposita sobre la misma como una capa fina. El exceso de solución de propilenglicol se retira entonces. La reticulación química adicional puede ser ventajosa en algunos casos.

La Figura 4 muestra un elemento de filtro con fines de referencia. El elemento de filtro comprende un elemento microporoso que comprende un retenedor 1 microporoso y un polímero 2 con forma esponjosa que embebe las micropartículas 3 y unido al retenedor 1 microporoso. En este contexto, la Figura 4 muestra que el polímero 2 está fijado a la superficie inferior del retenedor 1 microporoso.

Puede deducirse de la Figura 4 que el elemento microporoso está dispuesto en un miembro de soporte 4 impermeable a la humedad que tiene la forma de un tubo. Una sección del tubo es de forma cónica, y tiene un extremo de la sección transversal más pequeño y uno más grande, y el elemento microporoso está localizado en o cerca del extremo de sección transversal más pequeño.

La Figura 5 muestra un elemento de filtro, como el que puede estar contenido en el dispositivo de filtro de acuerdo con la presente invención. En la Figura 5 se ilustra que el retenedor 1 microporoso comprende partículas sólidas conectadas entre sí.

Aunque no puede deducirse explícitamente de la figura 5, cabe mencionar que el retenedor 1 microporoso está formado ventajosamente de polietileno (PE), polipropileno (PP), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PPEK), policarbonato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, silicio, nitrato de silicio o mezclas de los mismos, acero inoxidable o materiales compuestos de los mismos con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica. En este contexto, el retenedor 1 microporoso puede estar representado en forma de un disco, rejilla, membrana de poros grandes, membrana con tejido de soporte, membrana con características de tejido o no tejido, red, placa, barra y/o cono truncado. Cuando está en forma de una membrana, el retenedor 1 microporoso puede comprender micropartículas conectadas entre sí.

En este contexto, cabe mencionar que es posible producir el elemento microporoso en un molde (microporoso) y procesarlo y usarlo, opcionalmente después de adaptarlo a un tamaño adecuado, por ejemplo por corte, de las maneras deseadas descritas anteriormente y a continuación.

La Figura 5 muestra que el retenedor 1 microporoso contiene en sus poros el polímero 2 de tal manera que los poros tienen espacios libres residuales que forman canales que permiten el flujo de un fluido a través del elemento de filtro. En relación con esto, el diámetro medio de las micropartículas 3 es menor del 50 % del diámetro medio de los poros.

Una membrana 6 microporosa está dispuesta en la superficie superior del retenedor 1 microporoso. Aunque no puede deducirse explícitamente de la Figura 5, cabe mencionar que la membrana 6 microporosa está formada ventajosamente de celulosa (regenerada), poliamida, poliéster, polipropileno (PP) o teflón.

La Figura 6 muestra un elemento de filtro con fines de referencia. En la Figura 6, la membrana 6 microporosa está dispuesta en la superficie inferior del retenedor 1 microporoso.

La invención se ilustrará ahora adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

Los microfiltros del ejemplo 1 - 4 son menos resistentes a disolventes orgánicos pero más fáciles de preparar. Los microfiltros del ejemplo 5 y 6 son especialmente útiles cuando moléculas inestables tales como enzimas, anticuerpos o proteínas receptoras se unen a micropartículas. La solidificación ocurre en condiciones biocompatibles con respecto a temperatura, acidez y tonicidad. Los microfiltros del ejemplo 7 son especialmente útiles para inmovilización covalente.

En este contexto, los microfiltros del ejemplo 12 y 13 son especialmente útiles cuando macromoléculas inestables tales como enzimas, anticuerpos o proteínas receptoras se unen a micropartículas. La solidificación ocurre en condiciones biocompatibles con respecto a temperatura, acidez y tonicidad. Los microfiltros del ejemplo 14 son especialmente útiles para inmovilización covalente. Los microfiltros del ejemplo 15 son útiles cuando se aplican disolventes orgánicos.

**Ejemplo 1:****Producción de la superficie biocompatible del elemento impermeable y producción del elemento microporoso por difusión del antidisolvente.**

5 Una solución de acetato de polivinilo al 3 % (p/v) en acetona (PM 500.000, N° Cat. 38793-2; Aldrich, Steinheim G) se aplicó a la superficie interna de una punta de filtro de 100 µl (N° Cat. 00 30 067.010; Eppendorf, Hamburg G) y se drenó sobre papel de transferencia. Después de evaporar a temperatura ambiente y calentar a 70 °C durante una noche, la punta se cargó con 1 ml de NaOH 1 N en agua y se realizó una reacción parcial a 24 °C durante 30 min. Finalmente, la punta se lavó y secó. Además, se preparó una solución disolviendo 1 g de poli(alcohol vinílico-co-etileno) con un contenido de etileno del 44 % en moles (N° Cat. 41, 410-7; Aldrich, Steinheim G) con 4 ml de dimetilsulfóxido a 100 °C. 100 mg de material en fase inversa sobre gel de sílice (C<sub>18</sub>, poros de 30 nm, perlas de 5 µm; Vydac, Hesperia, CA, EE.UU.) se sometió a ultrasonidos con la solución de polímero. Un volumen de 30 µl de suspensión se recogió a 40 °C. Después de cerrar la pequeña abertura de la punta del filtro, se introdujo agua en la punta como vapor. Una hora más tarde, se aplicaron 50 µl de agua directamente sobre la fase líquida que estaba solidificando para obtener una precipitación difusional adicional.

**Ejemplo 2:****Producción por precipitación de polímero semisintético con inclusiones de una mezcla de diferentes tipos de micropartículas.**

20 Se preparó una mezcla a partir de tres tipos diferentes de micropartículas porosas: 100 mg de intercambiador de aniones basado en gel de sílice (Adsorbex-SAX, N° Cat. 19845; Merck, Darmstadt G), 100 mg de intercambiador de cationes (Adsorbex-SCX, N° Cat. 19846) y 100 mg de RP8 de fase inversa (N° Cat. 9362). Después de someterlo a ultrasonidos con 1 ml de dimetilsulfóxido y centrifugación, la sedimentación en húmedo se complementó con 600 µl de propionato de celulosa al 15 % (PM promedio 200.000; N° Cat. 18462-4; Aldrich, Steinheim, G) en dimetilsulfóxido, preparado a 95 °C. Una punta de filtro de 100 µl modificada (N° Cat. 00 30 067.010; Eppendorf, Hamburg G) con modificación de superficie biocompatible se cargó con 20 µl de líquido y se estratificó con 30 µl de aceite de silicona y finalmente se estratificó con 50 µl de agua destilada. Se aplicó una presión positiva hasta que la fase acuosa pasó finalmente el microfiltro.

**Ejemplo 3:****Producción por reticulación de hidrogel reversible en presencia de antidisolvente de distribución en canal a 0 °C.**

30 Una solución de poli(alcohol vinílico) al 5 % (p/v) (PM 124000 - 186000, hidrolizado al 99 %; N° Cat. Aldrich, 36 306-5; Steinheim G) en agua se preparó a 100 °C. Se mezclaron 4 ml de solución con 1 ml de tetraborato sódico 50 mM a pH 4,7 y se enfrió a 0 °C. Finalmente, se añadió 1 g de partículas SAX que contenían enzima (Adsorbex-SAX, Merck, Darmstadt G). 100 µl de esta suspensión se cargaron en una punta de filtro de 1 ml modificada (N° Cat. 00 30 067.037; Eppendorf, Hamburg G) con una superficie biocompatible. La punta se estratificó con 100 µl de aceite de silicona. Después de aplicar una presión positiva, se consiguió la migración del aceite de silicona hacia un lecho granular. Para conseguir la reticulación, una capa final de una solución a pH 8,6 de tetraborato sódico 50 mM se forzó a través del elemento microporoso.

**Ejemplo 4:****Producción usando un hidrogel reversible en presencia de un antidisolvente de distribución en canal.**

40 Se mezcló 1 g de DEAE-Si 300, tamaño 10 µm (N° Cat. 43536; Serva, Heidelberg G) con 5 ml de una solución de agarosa al 2 % a 40 °C. La agarosa (agarosa preparativa de bajo punto de fusión; N° Cat. 162-0017; Bio-Rad, Munich, G) se había disuelto a 90 °C en una solución de sacarosa al 3 %. Después, 100 µl de fase líquida se recogieron en una punta de filtro de 1 ml modificada (N° Cat. 00 30 067.037; Eppendorf, Hamburg G) con un revestimiento de superficie biocompatible, como se describe en el Ejemplo 8. Después de la adición de una capa superior de 500 µl de aceite de silicona a 40 °C, se aplicó una presión positiva hasta que pasaron 400 µl del retenedor microporoso. La solidificación se consiguió a 6 °C. Finalmente, el aceite de silicona se expulsó por filtración de 500 µl de la solución de sacarosa.

**Ejemplo 5:****Producción por policondensación de un antidisolvente de distribución en canal.**

50 Se sometieron a ultrasonidos 100 mg de gel de sílice (Lichrosorb Si 100, tamaño 7 µm; N° Cat. 9340; Merck, Darmstadt, G) con 500 µl de solución de monómero (en volumen: 5 partes de 1,4-butanodiol diglicidiléter (N° Cat. 22.089-2; Aldrich, Steinheim G), una parte de dimetilsulfóxido y una parte de etilendiamina). Se recogieron 35 µl de la fase líquida en una punta de filtro de 10 µl modificada (N° Cat. 00 30 067.002; Eppendorf, Hamburg G). Después

de estratificar 70  $\mu$ l de aceite de silicona sobre la fase líquida, se aplicó una presión positiva (al menos 100 kPa) hasta que se hicieron fluir 30  $\mu$ l de aceite de silicona a través de la punta de filtro. La solidificación se consiguió curando en un sistema cerrado. Finalmente, el elemento de filtro se lavó con agua destilada y un tampón adecuado.

#### **Ejemplo 6:**

##### **5 Producción por polimerización en presencia de un antidisolvente de distribución en canal.**

Se sometieron a ultrasonidos 100 mg de gel de sílice tipo intercambiador de aniones de calidad para HPLC (DEAE-Si 300, 10  $\mu$ m; N° Cat. 43536; Serva, Heidelberg G) con 500  $\mu$ l de solución de monómero enfriada con hielo (en peso: 26 % de acrilamida; 0,7 % de bisacrilamida; Tris HCl 170 mM a pH 8,8; 0,05 % de tetrametilendiamina (N° Cat. 8133; Sigma, Deisenhofen), 0,08 % de persulfato sódico).

- 10 Todas las etapas adicionales se realizaron como se describe en el ejemplo 14 excepto que la temperatura se mantuvo entre 0 °C y 2 °C, durante la etapa de lavado con el aceite de silicona. Finalmente, se consiguió la solidificación por curado a 45 °C.

#### **Ejemplo 7:**

##### **Producción usando hidrogel y micropartículas con reformado de canales mediante secado.**

- 15 Se mezcló 1 ml de una solución de agarosa al 2 % (p/v) (Bio-Rad, Munich G) y se sometió a ultrasonidos con 200 mg de dióxido de titanio microporoso (YMC-Gel, TIAOS 20 NP; YMC Europe, Schermbeck G) a 40 °C. A la misma temperatura, se recogieron 50  $\mu$ l de líquido en una punta de filtro que estaba provista de un revestimiento de superficie biocompatible (véase el ejemplo 1). Usando centrifugación a baja velocidad (80 vueltas por minuto) en un rotor contra-rotatorio, la presión se ajustó de manera que el flujo se detuvo cuando las micropartículas justo estaban empezando a exponerse. La solidificación se consiguió a 6 °C. El secado se realizó a temperatura ambiente y finalmente sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, a 1 mb.
- 20

#### **Ejemplo 8:**

##### **Aislamiento de complejos multimoleculares que consisten en oligonucleótidos y macromoléculas específicas, unidos juntos de forma no covalente.**

- 25 Una sonda de oligonucleótido marcada se incubó con un extracto nuclear, y 8  $\mu$ l se filtraron sobre un microfiltro de poliacrilamida - DEAE (ejemplo 6) que se lavó con 40  $\mu$ l de tampón. El oligonucleótido libre se retuvo y la forma complejada se obtuvo en el eluido en algunos minutos.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para producir un dispositivo de filtro compuesto por un soporte en forma de un tubo que tiene una abertura y un elemento microporoso como filtro y/o material de adsorción, caracterizado porque el elemento microporoso se genera dentro del soporte sobre la sección transversal de la abertura mediante un procedimiento que comprende las etapas de
- a) aplicar una sustancia en una fase líquida que es una solución o una suspensión de un polímero o una solución o una suspensión de uno o más monómeros a un retenedor microporoso presente dentro del soporte;
- b) provocar la solidificación en forma esponjosa de al menos parte de la sustancia; y
- c) revestir la pared interna del tubo con un revestimiento hidrófilo;
- 10 en el que el retenedor microporoso contiene en sus poros dicho polímero de tal manera que los poros tienen espacios libres residuales que forman canales que permiten el flujo de un fluido a través del elemento de filtro.
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la fase líquida es una solución o una suspensión de un polímero en un disolvente y la solidificación en forma esponjosa está provocada por la acción de un antidisolvente para el polímero.
- 15 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el polímero se selecciona de entre el grupo que consiste en ésteres de polivinilo, ésteres de polivinilo parcialmente desacilados, derivados de celulosa, poliamidas, poliestireno, poli(metilmecrilato) y mezclas de los mismos.
4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el polímero comprende segmentos tanto hidrófilos como hidrófobos dentro de sus moléculas.
- 20 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el polímero se selecciona de entre el grupo que consiste en poli(alcohol vinílico-co-etileno), poli(alcohol vinílico-co-vinilacetato), copolímero de etileno y ácido acrílico, copolímero de etileno y éster acrílico, copolímero de etileno y acrilamida, copolímero de ácido acrílico y acetato de vinilo, copolímero de acrilamida y acetato de vinilo, copolímero de monoamida de diamina del ácido acrílico con acetato de vinilo, poli(alcohol vinílico-co-estireno), poli(estireno-co-ácido maleico) y el derivado de glicerol éster, copolímero de acrilamida y éster acrílico y mezclas de los mismos.
- 25 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que el disolvente se selecciona de entre el grupo que consiste en dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida, formamida, ácido fórmico, ácido acético, 2,2,2-tricloroetanol, tolueno, tetrahidrofurano y mezclas de los mismos.
- 30 7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que el disolvente está compuesto por al menos dos antidisolventes volátiles.
8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicho disolvente puede retirarse a temperatura ambiente o al vacío.
9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en el que la solidificación se consigue evaporando el disolvente y/o el antidisolvente.
- 35 10. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en el que el antidisolvente se selecciona de entre el grupo que consiste en agua, alcoholes que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, amoniaco, acetato de etilo, acetona, etilendiamina y mezclas de los mismos.
11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la fase líquida es un hidrocoloide.
- 40 12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el hidrocoloide se selecciona de entre el grupo que consiste en agarosa de bajo punto de fusión, almidón, alcohol polivinílico y mezclas de los mismos.
13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, en el que la capa de solución de hidrocoloide está sometida a reticulación con tetraborato sódico.
14. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que el hidrocoloide solidificado está desecado y/o reticulado.
- 45 15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la fase líquida es una solución o una suspensión de uno o más monómeros y la solidificación está provocada por la polimerización de dicho monómero.
16. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el monómero o los monómeros están presentes en un disolvente.
17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15 o 16, en el que el monómero o los monómeros comprenden

uno o más monómeros de reticulación.

18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 17, en el que dichos monómeros comprenden una diamina y un poliepóxido.
- 5 19. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 18, en el que el monómero se selecciona de entre el grupo que consiste en ésteres de vinilo, ácido acrílico y sus derivados, y la polimerización se efectúa bajo la influencia de radicales libres.
20. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 18, en el que se permite que un antidisolvente, que es miscible con el disolvente usado, se mezcle con la sustancia para provocar la precipitación del polímero.
- 10 21. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que la sustancia se permea con un antidisolvente que no es miscible con los disolventes usados.
22. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 21, en el que el antidisolvente es aceite de silicona, agua o aire.
- 15 23. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que la sustancia se permea con un hidrogel reversible o con líquidos que son insolubles en agua a temperaturas por encima de 20 °C.
24. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la sustancia es un polímero termoplástico y la solidificación se provoca por sinterizado, por ejemplo, por calentamiento o por la acción de un disolvente.
25. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 24, en el que el polímero es un copolímero de estireno y ácido maleico o acetato de polivinilo.
- 20 26. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en el que la sustancia comprende adicionalmente micropartículas sólidas, que son porosas o no porosas, de un tamaño de 0,01 µm a 500 µm.
27. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 26, en el que la sustancia y las micropartículas están presentes como una suspensión en un antidisolvente de baja viscosidad.
- 25 28. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 27 en el que dicha sustancia y dichas micropartículas solidifican evaporándose de una solución muy diluida en un disolvente pobre, o por sinterización a temperaturas moderadas de hasta 130 °C sin solución de polímero, usando solo un polímero parcialmente fundido en lugar de ello.
29. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 28, en el que dichas micropartículas modifican las propiedades de adsorción del elemento microporoso final.
- 30 30. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 29, en el que dichas micropartículas contienen una molécula efectora capaz de secuestrar un ión, unirse selectivamente a un soporte sólido, unirse a un determinante antigénico preseleccionado o ser un ligando.
31. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 30, en el que dicha molécula comprende una enzima o un resto detectable de forma remota.
- 35 32. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 30 o 31, en el que dicha molécula comprende una secuencia de aminoácidos, ácidos nucleicos o análogos o derivados de los mismos.
33. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 32, en el que dicha molécula capaz de secuestrar un ión es calmodulina, metalotioneína, un fragmento de la misma o una secuencia de aminoácidos rica en al menos uno de entre ácido glutámico, ácido aspártico, lisina y arginina.
- 40 34. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 33, en el que dicha molécula efectora capaz de unirse a un determinante antigénico preseleccionado es un anticuerpo o un fragmento o un derivado del mismo.
35. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 34, en el que dicha molécula capaz de unirse selectivamente a un soporte sólido es GST, His-tag, Lex-A.
- 45 36. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 35, en el que dicho ligando es Ni-NTA.
37. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, en el que la sustancia aplicada es autosostenida.
38. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 37, en el que el soporte es impermeable a la humedad.

- 5 39. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 37, en el que soporte está formado de polipropileno (PP), polietileno (PE), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PEEK), policarbonato, polietilen vinilacetato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, nitruro de silicio o mezclas de los mismos, o materiales compuestos de los mismos con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.
40. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 39, en el que el elemento microporoso se genera en o cerca de un borde del tubo.
- 10 41. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 40, en el que al menos una sección del tubo es de forma cónica, teniendo un extremo de la sección transversal más pequeño y uno más grande, y el elemento microporoso se genera en o cerca del extremo de la sección transversal más pequeño.
42. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 40 o 41, en el que la etapa de aplicar la sustancia a la abertura se consigue permitiendo que una solución ascienda por el tubo por acción capilar.
43. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el borde del tubo cerca del elemento microporoso se mantiene libre del revestimiento hidrófilo.
- 15 44. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el revestimiento hidrófilo está formado aplicando una solución de uno o más ésteres de polivinilo o derivados de poliálcool de poli(estireno-co-ácido maleico) en un disolvente orgánico a la pared interna del tubo, permitiendo que el disolvente orgánico se evapore.
45. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44, en el que el diámetro de la abertura del soporte es de 0,02 mm a 4 mm.
- 20 46. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el retenedor microporoso comprende partículas sólidas conectadas entre sí.
- 25 47. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 46, en el que el retenedor microporoso está formado de polipropileno (PP), copolímero de propileno/etileno, acetato de polivinilo, poliamida, poliestireno, polietilentereftalato (PET), poliéter etercetona (PEEK), policarbonato, poli(alcohol vinílico-co-etileno), poliéster, poliamida, vidrio, cerámica, cuarzo, silicio, nitruro de silicio o mezclas de los mismos, acero inoxidable o materiales compuestos de los mismos con fibras o estructuras de vidrio, dióxido de silicio, carbono o cerámica.
48. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 47, en el que el retenedor microporoso está en forma de un disco, rejilla, membrana de poros grandes, membrana con un tejido de soporte, membrana con características de tejido o no tejido, red, placa, barra y/o cono truncado.
- 30 49. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 48, que comprende adicionalmente la etapa de disponer al menos una membrana microporosa en el retenedor microporoso.
50. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 49, en el que la membrana microporosa está formada de celulosa (regenerada), poliamida, poliéster, polipropileno (PP) o politetrafluoroetileno (PTFE).
- 35 51. Un dispositivo de filtro compuesto por un soporte en forma de un tubo que tiene una abertura, un elemento microporoso presente dentro del soporte sobre la sección transversal de la abertura y que puede obtenerse de acuerdo con el procedimiento para generar un elemento microporoso como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 50 como un y/o material de adsorción, y un revestimiento hidrófilo que recubre la pared interna del tubo que puede obtenerse de acuerdo con el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 50.
- 40 52. El dispositivo de filtro de acuerdo con la reivindicación 51 en el que la fase líquida es una solución o una suspensión de un polímero en un disolvente y la solidificación en forma esponjosa está provocada por la acción de un antidisolvente para el polímero y en el que el polímero se fija a al menos una parte de la superficie exterior del retenedor microporoso.
53. Un elemento de filtro de múltiples canales que comprende una pluralidad de dispositivos de filtro de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 51 a 52.
- 45 54. Uso de un dispositivo de filtro de una cualquiera de las reivindicaciones 51 a 53 para microfiltración, separación sólido-líquido, aclaramiento de soluciones, recogida de células pro- y eucariotas, retirada y purificación de fragmentos y residuos celulares, inmovilización de fragmentos, virus y plásmidos, adsorción/inmovilización de proteínas, polipéptidos, ácidos nucleicos, oligonucleótidos o como retenedor para material granular.
- 50 55. Uso de un dispositivo de filtro de una cualquiera de las reivindicaciones 51 a 53 para cromatografía de afinidad, inmunocromatografía, para estudios de unión, el aislamiento de complejos de unión multicomponente, para la selección de muestras o para evitar la dislocación de micropartículas.
56. El uso de la reivindicación 54 o 55 para la preparación y/o la detección de compuestos que comprenden ácidos

nucleicos, oligonucleótidos, polipéptidos o polisacáridos, proteínas, compuestos orgánicos o derivados o análogos de los mismos.

57. El uso de la reivindicación 56, en el que dicho compuesto procede de fuentes naturales o no naturales.

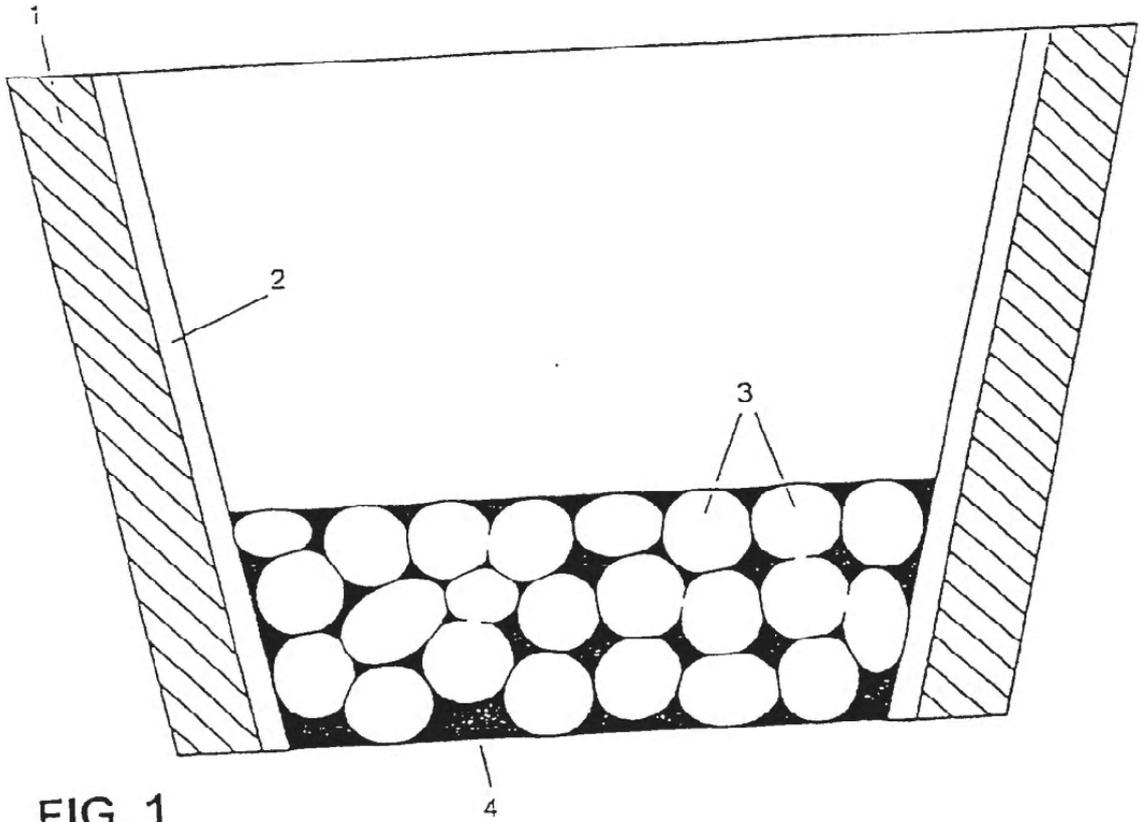


FIG. 1

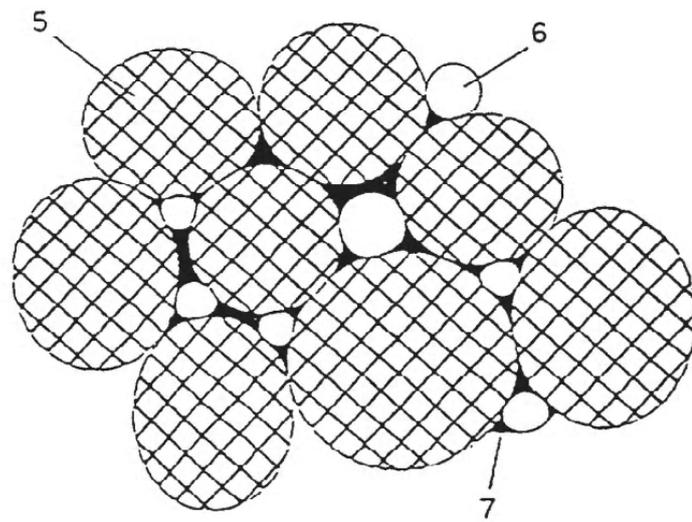
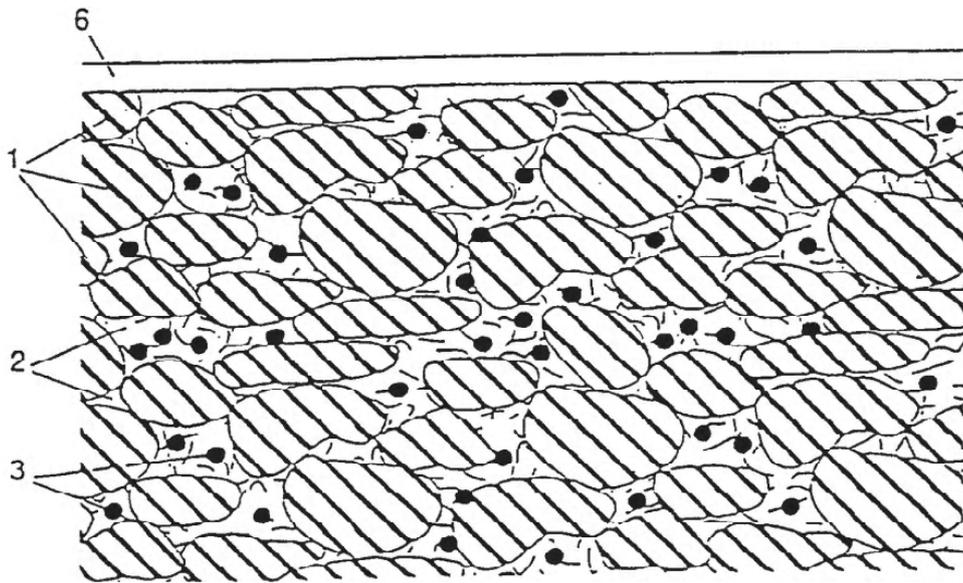
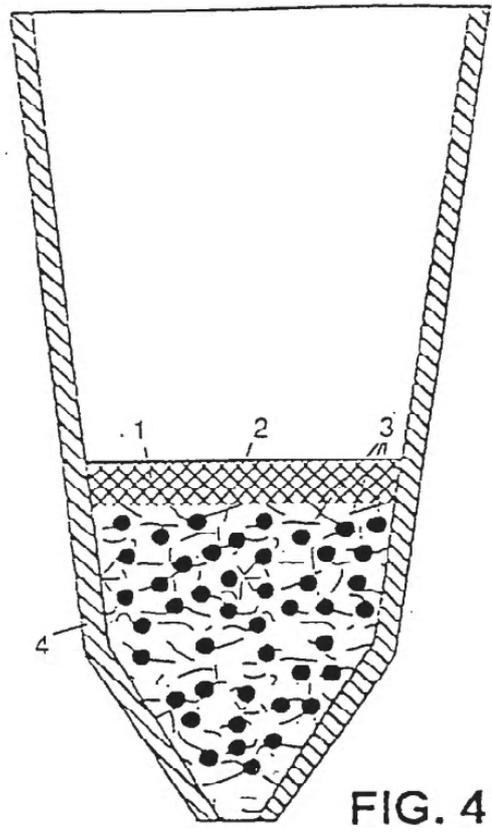
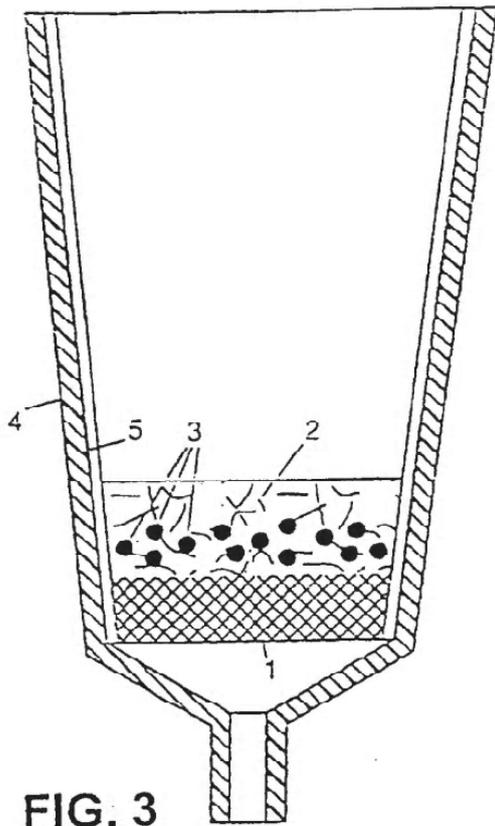


FIG. 2



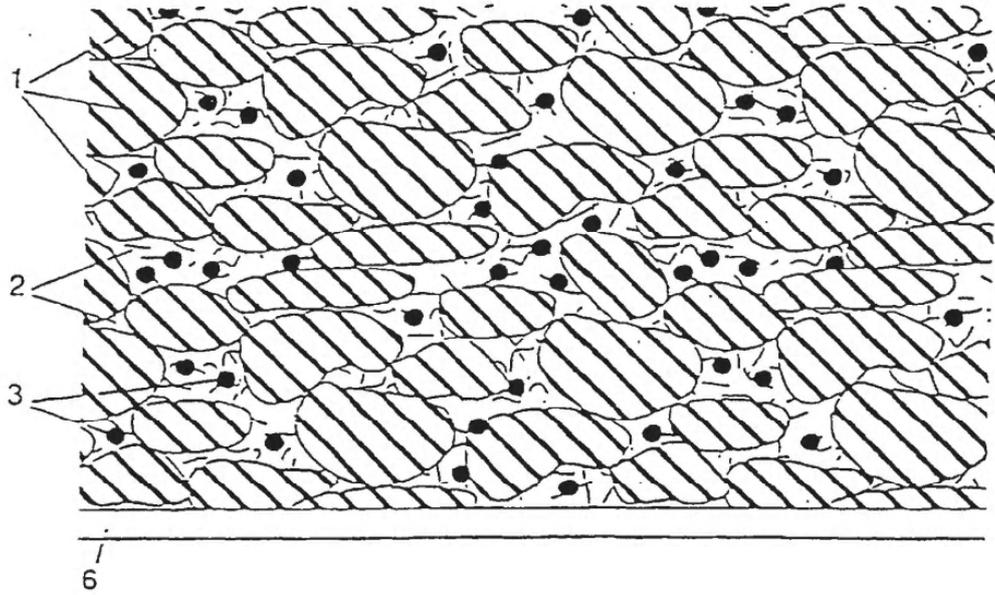


FIG. 6