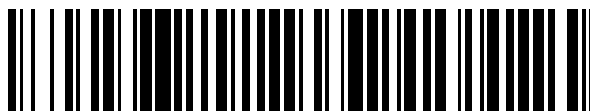


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 453 373**

51 Int. Cl.:

G01N 27/447 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2007** **E 07760509 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.02.2014** **EP 2008090**

54 Título: **Procedimiento de introducción de una pluralidad de disoluciones en un canal microfluídico**

30 Prioridad:

14.04.2006 US 792172 P

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

07.04.2014

73 Titular/es:

**WAKO PURE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
(100.0%)**

**1-2, DOSHOMACHI 3-CHOME
CHUO-KU, OSAKA 540-8605, JP**

72 Inventor/es:

**KAWABATA, TOMOHISA;
SATOMURA, SHINJI y
WADA, HENRY GARRETT**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 453 373 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 de introducción de una pluralidad de disoluciones en un canal microfluídico

Antecedentes de la invención**Campo técnico**

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento de introducción de una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo) en un canal de un dispositivo microfluídico.

Técnica anterior

- 10 El análisis de un analito en una muestra normalmente requiere mezclar una pluralidad de disoluciones tales como una muestra y diversas disoluciones de reactivo (por ejemplo, una disolución de reactivo que incluye un anticuerpo para un analito, una disolución de reactivo que contiene una sustancia marcadora, y someter un analito en una muestra y un reactante en una disolución de reactivo (un anticuerpo para un analito o una sustancia marcadora) a una reacción.

- 15 En el "sistema de microanálisis total (μ -TAS)" que usa dispositivo de microfluídica, la tecnología del mismo se ha desarrollado recientemente y se han realizado diversas investigaciones sobre el mismo, y como procedimiento de introducción de una pluralidad de disoluciones tales como una muestra y diversas disoluciones de reactivo (por ejemplo, una muestra que incluye un anticuerpo para un analito o una disolución de reactivo que contiene una sustancia marcadora) en un canal son bien conocidos, por ejemplo, los siguientes procedimientos de uso de dispositivos microfluídicos que tienen diversas estructuras.

- 20 Por ejemplo, hay un procedimiento de fabricación de una pluralidad de disoluciones presentes en un canal principal usando un dispositivo microfluídico (Fig. 1(a)) con una estructura (una estructura tipo cruz) que tiene una pluralidad de canales laterales que cruzan un canal principal para electroforesis, en el que un extremo de dicho canal lateral está conectado a un depósito de disolución y el otro extremo está conectado a un depósito de residuos, y preparando una disolución presente en un canal principal transfiriendo la disolución alimentada a un único depósito de disolución a un único depósito de residuos, y llevando a cabo esta operación en una pluralidad de combinaciones diferentes de un depósito de disolución (Fig. 1(b)) y un depósito de residuos para una pluralidad de disoluciones diferentes (Fig. 1(c)).
25 Además, hay un procedimiento de fabricación de 2 disoluciones presentes en un canal principal usando un dispositivo microfluídico (Fig. 2(a)) con una estructura (una estructura en forma de T doble) que tiene 2 canales laterales para introducir una disolución comunicados con un canal principal para electroforesis y una canal lateral para drenar comunicado con un canal principal entre dichos 2 canales laterales, en el que el extremo de dicho canal lateral para introducir una disolución está conectado a un depósito de disolución y el extremo de dicho canal para drenar está
30 conectado a un depósito de residuos, como se muestra en el documento JP-A-2003-534532 (Literatura de patente 1), y transfiriendo cada disolución diferente alimentada a 2 depósitos de disolución a un depósito de residuos (Fig. 2(b)).

- 35 Sin embargo, en el anterior procedimiento, debido a que el volumen de una disolución introducida en un canal principal está limitado al volumen de una parte cruzada entre un canal principal y un canal lateral (Fig. 1(c)), no puede introducirse mucha cantidad de una disolución en un canal principal. En el último procedimiento, aunque puede introducirse mucha cantidad de una disolución en un canal principal, introducir solo una disolución objetivo en un canal principal es difícil en el caso de que se use diferencia de presión en (control de presión para) introducir una disolución en un canal principal debido a que una disolución (por ejemplo, un tampón para electroforesis) distinto de una disolución objetivo circula en la disolución objetivo del canal principal (una parte blanca mostrada por marca de flecha en la Fig. 2(b)). Como resultado, existe el problema de que es difícil introducir una disolución objetivo en un canal principal por volumen altamente preciso. Además, cuando una disolución se introduce en un canal principal eléctricamente aplicando un campo eléctrico de un depósito de disolución a un depósito de residuos, solo una sustancia (disolución) que tiene una carga puede introducirse en un canal principal. Además, hay una problema, que el tiempo de introducción debe fijarse rigurosamente a un cierto grado dependiendo del tipo (diferencia en la movilidad) de una sustancia cargada (disolución) debido a que el tiempo de introducción varía dependiendo de la diferencia en la
40 movilidad de una sustancia cargada (disolución), o un problema de que la movilidad de la electroforesis varía como resultado de la variación de la condición de movilidad de la electroforesis tal como propiedad del tampón (pH) debido a la electrolisis generada en una disolución por la aplicación de campo eléctrico.

Literaturade patente 1: JP-A-2003-534532

Breve descripción de los dibujos

- 50 La Fig. 1 es un diagrama conceptual de una estructura que introduce disolución en el dispositivo microfluídico convencional.

La Fig. 2 es un diagrama conceptual de otra estructura que introduce disolución en el dispositivo microfluídico

convencional.

La Fig. 3 es un diagrama conceptual de una estructura que introduce disolución usada en la presente invención.

5 La Fig. 4 es un diagrama conceptual que muestra la posición relativa entre no menos de 2 canales laterales para introducir una muestra o una disolución de reactivo y no menos de 3 canales laterales para drenar en una estructura que introduce disolución usada en la presente invención.

La Fig. 5 es un diagrama conceptual que muestra ejemplos de combinación de 2 (un par de) canales laterales para drenar y un canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo en una estructura que introduce disolución usada en la presente invención.

10 La Fig. 6 es un diagrama conceptual que muestra un estado de introducción de una muestra o una disolución de reactivo de un canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal en la presente invención.

La Fig. 7 es un diagrama conceptual de una estructura que introduce disolución para introducir 2 tipos de disoluciones según la presente invención.

15 La Fig. 8 es un diagrama conceptual que muestra un estado de introducción de una muestra o una disolución de reactivo de un canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal en un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención para introducir 2 tipos de disoluciones.

La Fig. 9 es un diagrama conceptual de una estructura que introduce disolución en el caso de introducir 3 tipos de disoluciones en la presente invención.

20 La Fig. 10 es un diagrama conceptual que muestra un estado de introducción de una muestra o una disolución de reactivo de un canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal en un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención para introducir 3 tipos de disoluciones.

La Fig. 11 es un diagrama conceptual de una unidad estructural en un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención y una forma para combinar dicha unidad estructural.

25 La Fig. 12 es un diagrama conceptual de otras estructuras que introducen disolución en el caso de introducir 2 tipos de disoluciones en la presente invención.

La Fig. 13 es un diagrama conceptual de otras estructuras que introducen disolución en el caso de introducir 3 tipos de disoluciones en la presente invención.

La Fig. 14 es un diagrama conceptual de diferentes estructuras que introducen disolución en el caso de introducir 3 tipos de disoluciones en la presente invención.

30 La Fig. 15 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un depósito conectado a un canal lateral.

La Fig. 16 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un depósito conectado a un canal lateral, en el caso de introducir 2 tipos de disoluciones.

35 La Fig. 17 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un depósito conectado a un canal lateral, en el caso de introducir 3 tipos de disoluciones.

La Fig. 18 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un depósito conectado a un canal lateral, y un depósito aguas abajo y un depósito aguas arriba conectados a un primer canal.

40 La Fig. 19 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un depósito conectado a un canal lateral, y un depósito aguas abajo y un depósito aguas arriba conectados a un primer canal, en el caso de introducir 2 tipos de disoluciones.

La Fig. 20 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un depósito conectado a un canal lateral, y un depósito aguas abajo y un depósito aguas arriba conectados a un primer canal, en el caso de introducir 3 tipos de disoluciones.

45 La Fig. 21 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención usando un canal lateral para introducir un medio de electroforesis.

La Fig. 22 es un diagrama conceptual que muestra una región para hacer reaccionar o una región para

concentrar y hacer reaccionar de un primer canal y una región para separar de un primer canal en un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención, usando un canal lateral para introducir un medio de electroforesis.

5 La Fig. 23 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención para introducir 2 tipos de disoluciones en un primer canal aumentando y/o disminuyendo la presión en el canal.

La Fig. 24 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución de la presente invención para introducir 3 tipos de disoluciones en un primer canal aumentando y/o disminuyendo la presión en el canal.

10 La Fig. 25 muestra un esquema de fabricación de un anticuerpo marcado con ADN [un fragmento Fab' de anticuerpo anti-AFP WAI unido con un fragmento de ADN de 250 pb (una CFS de mejora de la reacción)], preparado en el Ejemplo 1.

La Fig. 26 muestra una disposición de un chip capilar preparado en el Ejemplo 1.

15 La Fig. 27 muestra una relación de disposición de una muestra de electroforesis y una disolución de reactivo introducidos en un capilar en el Ejemplo 1.

20 La Fig. 28 muestra la relación entre la concentración de un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb y la eficiencia de reacción en el caso de formación de un inmunocomplejo de [un anticuerpo marcado fluorescente-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] introduciendo una muestra de electroforesis 1 (una disolución que contiene un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP]) de un pocillo S/RI y una disolución de reactivo 1 (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con ADN) de un pocillo S/R2, y luego sometiendo éstos a una reacción, obtenida en el Ejemplo 1.

25 La Fig. 29 muestra la relación entre la concentración de un anticuerpo marcado con fluorescencia y la eficiencia de reacción en el caso de formación de un inmunocomplejo de [un anticuerpo marcado fluorescente-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] introduciendo una disolución de reactivo 2 (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con fluorescencia) de un pocillo S/RI y una muestra de electroforesis 2 (una disolución que contiene un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN-AFP]) de un pocillo S/R2, y luego sometiendo éstos a una reacción, obtenida en el Ejemplo 1.

La Fig. 30 muestra una disposición de un chip capilar preparado en el Ejemplo 2.

30 La Fig. 31 muestra una relación de disposición de una muestra de electroforesis, una 1ª disolución de reactivo y una 2ª disolución de reactivo introducidas en un capilar en el Ejemplo 2.

Divulgación de la invención

Problemas a resolver por la invención

35 Los inventores encontraron un procedimiento de introducción de disolución para introducir una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo) en un volumen altamente preciso, en alta cantidad y simplemente en un canal de un dispositivo microfluídico. El procedimiento puede usarse en un procedimiento de separación de un complejo entre un analito o análogo del mismo, y una sustancia que se une a dicho analito o análogo del mismo (en lo sucesivo puede abreviarse sustancia formadora de complejo o CFS) que se obtiene haciendo reaccionar una pluralidad de disoluciones introducidas por esta, y dicha CFS o análogo que no participa en la formación de dicho complejo, rápidamente, simplemente y con alta exactitud, junto con un procedimiento de medida de un analito o un análogo del mismo en una muestra con alta sensibilidad.

Medios para resolver problemas

La presente invención proporciona un procedimiento como se define en la reivindicación 1.

Efecto de la invención

45 Según un procedimiento de la presente invención, una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo), por ejemplo, aquellas que tienen diferente viscosidad en comparación entre sí, pueden introducirse en un canal de un dispositivo microfluídico, en un volumen altamente preciso, en alta cantidad y simplemente. Además, formando cuantitativamente una zona compuesta de una pluralidad de disoluciones en un canal y sometiendo a una concentración electroforética puede llevarse a cabo una reacción entre un analito o un análogo del mismo en una muestra y una sustancia que se une a dicho analito o análogo del mismo (una CFS) en un corto tiempo y con alta eficiencia de reacción, y puede separarse un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS de una CFS que

no participa en la formación de dicho complejo o análogo que no participa en la formación de dicho complejo rápidamente, simplemente y con alta exactitud, y además es posible la medición de alta sensibilidad de un analito o un análogo del mismo en una muestra, basándose en la cantidad de un complejo separado o la cantidad de una CFS separada que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de un análogo separado que no participa en la formación de dicho complejo.

Mejores modos para llevar a cabo la invención

1. La estructura que introduce disolución

Realizaciones de la estructura que introduce disolución usada en el procedimiento de la presente invención se explican basándose en los dibujos.

La Fig. 3 es un diagrama conceptual de la estructura que introduce disolución. Cada uno de los 3 o más canales laterales (2) para drenar tiene una abertura (2-1) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 3) del primer canal (1). Además, cada uno de no menos de 2 canales laterales (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo tiene una abertura (3-1) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de la abertura (2-1) de los canales laterales (2) para drenar, y cada una de dichas aberturas (3-1) está dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales (2) para drenar (a condición de que cada abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo esté cada una dispuesta en una porción diferente entre diferentes aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales (2) para drenar.

En lo sucesivo, el canal lateral para drenar puede abreviarse "canal lateral D" y el canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo puede abreviarse "canal lateral S/R". En la descripción anterior, "abertura (3-1) abierta en la pared del primer canal (1) en una posición diferente (parte) de la abertura (2-1) de los canales laterales (2) para drenar" significa que "la abertura (2-1) del canal lateral (2) para drenar y la abertura (3-1) del canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo no son las mismas, concretamente, una abertura no se duplica como la abertura del canal lateral para drenar y la abertura del canal lateral para introducir una muestra y una disolución de reactivo".

Además, "cada una de dichas aberturas (3-1) de no menos de 2 canales laterales (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo está dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales (2) para drenar" significa, como se muestra en la Fig. 4, "solo una abertura (3-1) de un canal lateral S/R (3) entre no menos de 2 canales laterales S/R (3) está abierta de manera que se comunique con una pared de la parte (a en la Fig. 4) del primer canal (1) formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas (2-1) de canales laterales D (2)". Concretamente, las aberturas (3-1) de estos 2 o más canales laterales S/R (3) están cada una dispuestas en una parte diferente (a) del primer canal (1) formado (intercalado) por un par diferente de las 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2) y las aberturas (3-1) de estos 2 o más canales laterales S/R (3) no están dispuestas en la misma parte (a) del primer canal (1) formado (intercalado) por el mismo par de las 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2). Las aberturas (3-1) de los canales laterales S/R (3), como se muestra en la Fig. 5(a) o Fig. 5(b), pueden disponerse (abiertas) en la parte interna (a) del primer canal (1) en una dirección del eje de 2 (un par de) aberturas (2-1) de canales laterales D (2). Entre otras, las aberturas (3-1) de los canales laterales S/R (3) están dispuestas preferentemente en una parte interna (a) del primer canal (1) en una dirección del eje de 2 (un par de) aberturas (2-1) de los canales laterales D (2). En el caso de que las aberturas (3-1) de los canales laterales S/R (3) estén dispuestas (abiertas) en una parte interna (a) del primer canal (1) en una dirección del eje de las 2 (el par de) aberturas (2-1) de los canales laterales D (2), puede permitirse cualquiera de los siguientes casos: Como se muestra en la Fig. 5(a), las aberturas (3-1) de los canales laterales S/R (3) están dispuestas en casi el centro de la parte (a) del primer canal (1) en una dirección del eje de las 2 (un par de) aberturas (2-1) de los canales laterales D (2); o como se muestra en la Fig. 5(b), en la parte (a) más próxima a cualquiera de las 2 (un par de) aberturas (2-1) de los canales laterales D (2).

A este respecto, "en una dirección del eje del primer canal" y "una dirección del eje" significa "en una dirección del lado más largo del primer canal, en otras palabras, en una dirección de electroforesis (de aguas arriba a aguas abajo, o de aguas abajo a aguas arriba)", que significa una dirección derecha-izquierda o izquierda-derecha en el dibujo de la presente invención.

(1) El primer canal

Como se usa en el presente documento, "el primer canal" significa "un canal (capilar) usado en el campo de la microfluídica", y preferentemente un canal (capilar) usado en los llamados "sistemas de transporte de material electrocinéticos", en los que una sustancia es transportada (guiada) para producir la migración (movimiento) de una sustancia por aplicación de campo eléctrico sobre una sustancia, en particular un canal (capilar) usado en "un sistema de transporte de material electrocinético" usando electroforesis. Específicamente, por ejemplo, un canal (capilar) es uno

cualquiera usado en electroforesis tal como un procedimiento de electroforesis capilar y un procedimiento de electroforesis en chip capilar. El primer canal puede ser uno cualquiera, en tanto que pueda usarse en tal objetivo. Normalmente, es un canal principal para llevar a cabo análisis por electroforesis. Debido a que diversas disoluciones tales como una muestra y una disolución de reactivo se introducen en dicho primer canal y se analizan mediante dicho primer canal, el primer canal es preferentemente uno que comprende al menos una región en la que una muestra reacciona con una disolución de reactivo, y más preferentemente es uno que comprende al menos una región en la que al menos un tipo de una CFS reacciona con un analito o un análogo del mismo en una muestra mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo. Además, puede comprender además una región en la que un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y una CFS se separa de dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo.

Como se usa en el presente documento, una dirección hacia la que se mueve un complejo entre un analito o un análogo del mismo, y no menos de un tipo de CFS, finalmente formado y medido, o un análogo libre finalmente medido, cuando se aplica voltaje se define como lado "aguas abajo", y la dirección opuesta se define como lado "aguas arriba" (lo mismo en lo sucesivo).

(2) Un canal lateral para drenar y un canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo

Un canal lateral para drenar (canal lateral D) es un canal lateral para recibir una muestra o una disolución de reactivo, y un canal lateral para introducir una muestra o una disolución de reactivo (canal lateral S/R) también es un canal lateral para suministrar (transferir) una muestra y/o una disolución de reactivo. Como se muestra en la Fig. 6(a), una muestra o una disolución de reactivo suministrada en un canal lateral S/R pasa a través de una parte de cruce entre el canal lateral S/R y el primer canal, y adicionalmente pasa a través de cada 2 partes de cruce entre el primer canal y 2 canales laterales D, y es transportada a los 2 canales laterales D. A continuación, como se muestra en la Fig. 6(b), una muestra o una disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas de canales laterales D es transportada aguas abajo a lo largo del primer canal. Como se ha descrito anteriormente, una cantidad (un volumen) de una muestra o una disolución de reactivo introducida en el primer canal se refiere a un volumen de la parte del primer canal formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas de canales laterales D, y la cantidad (volumen) se determina por la longitud (y diámetro interno) de la parte del primer canal formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas de canales laterales D. Por tanto, la cantidad (volumen) de una muestra o una disolución de reactivo introducida en el primer canal puede ajustarse (medirse) por longitud (y diámetro interno) de esta parte del primer canal. Como resultado, mucha cantidad (volumen) de una muestra o una disolución de reactivo puede disponerse e introducirse en el primer canal (un canal para análisis) en comparación con una estructura tipo cruz convencional. A este respecto, en un canal lateral D posicionado en el lado más aguas arriba, entre 3 o más canales laterales D, no solo puede recibirse (entrar) una muestra o una disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas arriba que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura del canal lateral D posicionado lo más aguas arriba. Además, en un canal lateral D posicionado en el lado más aguas abajo no solo puede recibirse (entrar) una muestra o una disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas abajo que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura del canal lateral D posicionado lo más aguas abajo.

A este respecto, estos canales laterales son, similarmente como en el primer canal, canales normalmente usados en este campo tal como un procedimiento de electroforesis capilar y un procedimiento de electroforesis en chip capilar.

(3) Material y forma de un canal

Un primer canal, un canal lateral D y un canal lateral S/R usados en la presente invención son uno cualquiera normalmente usado en este campo tal como un procedimiento de electroforesis capilar, un procedimiento de electroforesis en chip capilar.

El material del canal usado en la presente invención es uno cualquiera normalmente usado en este campo. Ejemplos de un material del canal son, por ejemplo, compuestos basados en sílice tales como vidrio, cuarzo y silicio; polímeros sintéticos tales como copolímero de olefina cíclica (COC), polímero de olefina cíclica (COP), poli(metacrilato de metilo), polimetilsiloxano, poli(cloruro de vinilo), poliuretano, poliestireno, polisulfona, policarbonato, politetrafluoroetileno. Además, el diámetro interno y la longitud del canal no están especialmente limitados. Por ejemplo, el diámetro interno tiene normalmente 1 a 1000 μm , preferentemente 1 a 200 μm y más preferentemente 1 a 100 μm , y la longitud es normalmente 0,1 mm a 1000 cm, preferentemente 0,1 mm a 20 cm y más preferentemente 0,1 mm a 10 cm. El diámetro interno, la longitud y la forma de estos canales (el primer canal, el canal lateral D y un canal lateral S/R) pueden ser los mismos o diferentes entre sí. La longitud de la parte del primer canal formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas de los canales laterales D, concretamente la distancia (longitud) de las 2 (el par de) aberturas de canales laterales D, es normalmente 10 μm a 100 cm, preferentemente 100 μm a 10 cm y más preferentemente 500 μm a 5 cm.

La forma en sección transversal del canal puede ser una cualquiera, por ejemplo, un polígono tal como un triángulo, un

cuadrado, un rectángulo y un trapecio; un círculo; una elipse; y una estructura específica similar a abanico (4).

La Fig. 7 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución desvelado en el caso de introducir 2 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y una disolución de reactivo). Cada uno de los 3 canales laterales D del primer canal lateral D (2a), el segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c) tiene una abertura (2-1a, 2-1b y 2-1c) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1a, 2-1b y 2-1c) están dispuestas en una relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 7) del primer canal (1). Además, cada uno de los 2 canales laterales S/R del primer canal lateral S/R (3a) y el segundo canal lateral S/R (3b) tienen una abertura (3-1a y 3-1b) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de las aberturas (2-1a, 2-1b y 2-1c) de los 3 canales laterales D (2a, 2b y 2c). Además, la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta entre la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por 2 (un par de) la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b); y la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta entre la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por 2 (un par de) la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c).

En la descripción anterior, el primer canal lateral D (2a) es un canal lateral para recibir una primera muestra o disolución de reactivo, el segundo canal lateral D (2b) es un canal lateral para recibir una primera muestra o disolución de reactivo y una segunda muestra o reactivo, y el tercer canal lateral D (2c) es un canal lateral para recibir una segunda muestra o disolución de reactivo. El primer canal lateral S/R (3a) es un canal lateral para suministrar (transferir) una primera muestra o disolución de reactivo y el segundo canal lateral S/R (3b) es un canal lateral para suministrar (transferir) una segunda muestra o disolución de reactivo. Como se muestra en la Fig. 8(a), la primera muestra o disolución de reactivo suministrada en el primer canal lateral S/R (3a) pasa a través de una parte de cruce entre el primer canal lateral S/R (3a) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el primer canal lateral D (2a) y una parte de cruce entre el primer canal y el segundo canal lateral D (2b), y es transportada al primer canal lateral D (2a) y el segundo canal lateral D (2b). La segunda muestra o disolución de reactivo suministrada en el segundo canal lateral S/R (3b) pasa a través de una parte de cruce entre el segundo canal lateral S/R (3b) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el segundo canal lateral D (2b) y una parte de cruce entre el primer canal (1) y el tercer canal lateral D (2c), y es transportada al segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c). A continuación, como se muestra en la Fig. 8(b), la primera muestra o disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la segunda muestra o disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) son cada una transportadas aguas abajo a lo largo del primer canal. A este respecto, en un primer canal lateral D (2a) posicionado en el lado más aguas arriba, no solo puede recibirse (entrar) la primera muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas arriba que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) posicionado lo más aguas arriba. Además, en un tercer canal lateral D (2c) posicionado en el lado más aguas abajo, no solo puede recibirse (entrar) la segunda muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas abajo que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) posicionado lo más aguas abajo.

A este respecto, las terminologías usadas en la descripción anterior y los significados de las mismas son las mismas que se han descrito anteriormente, y los nombres de canales laterales especificados tales como “el primer” canal lateral D, “el segundo” canal lateral D, “el tercer” canal lateral D, “el primer” canal lateral S/R y “el segundo” canal lateral S/R se usan para fines de comodidad como explicación en el caso anterior.

La Fig. 9 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución desvelado en el caso de introducir 3 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y 2 tipos de disoluciones de reactivo). Cada uno de los 4 canales laterales D del primer canal lateral D (2a), el segundo canal lateral D (2b), el tercer canal lateral D (2c) y el cuarto canal lateral D (2d) tiene una abertura (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 9) del primer canal (1). Además, cada uno de los 3 canales laterales S/R del primer canal lateral S/R (3a), el segundo canal lateral S/R (3b) y el tercer canal lateral S/R (3c) tiene una abertura (3-1a, 3-1b y 3-1c) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de las aberturas (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) de los 4 canales laterales D anteriormente descritos (2a, 2b, 2c y 2d). Además, la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta entre la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) en una dirección del eje, concretamente la

abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D; la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta entre la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1b) del segundo canal lateral (3b) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la
 5 abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c); y la abertura (3-1c) del tercer canal lateral S/R (3c) está dispuesta entre la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1c) del tercer canal lateral S/R (3c) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d).

En la descripción anterior, el primer canal lateral D (2a) es un canal lateral para recibir una primera muestra o disolución de reactivo, el segundo canal lateral D (2b) es un canal lateral para recibir una primera muestra o disolución de reactivo y una segunda muestra o disolución de reactivo, el tercer canal lateral D (2c) es un canal lateral para recibir una segunda muestra o disolución de reactivo y una tercera muestra o disolución de reactivo, y el cuarto canal lateral D (2d)
 15 es un canal lateral para recibir una tercera muestra o disolución de reactivo. El primer canal lateral S/R (3a) es un canal lateral para suministrar (transferir) una primera muestra o disolución de reactivo, el segundo canal lateral S/R (3b) es un canal lateral para suministrar (transferir) una segunda muestra o disolución de reactivo y el tercer canal lateral S/R (3c) es un canal lateral para suministrar (transferir) una tercera muestra o disolución de reactivo. Como se muestra en la Fig. 10(a), la primera muestra o disolución de reactivo suministrada en el primer canal lateral S/R (3a) pasa a través de una parte de cruce entre el primer canal lateral S/R (3a) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el primer canal lateral D (2a) y una parte de cruce entre el primer canal y el segundo canal lateral D (2b), y es transportada al primer canal lateral D (2a) y el segundo canal lateral D (2b). La segunda muestra o disolución de reactivo suministrada en el segundo canal lateral S/R (3b) pasa a través de una parte de cruce entre el segundo canal lateral S/R (3b) y el primer canal (1), y adicionalmente
 20 pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el segundo canal lateral D (2b) y una parte de cruce entre el primer canal (1) y el tercer canal lateral D (2c), y es transportada al segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c). Además, la tercera muestra o disolución de reactivo suministrada en el tercer canal lateral S/R (3c) pasa a través de una parte de cruce entre el tercer canal lateral S/R (3c) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el tercer canal lateral D (2c) y una parte de cruce entre el primer canal (1) y el cuarto canal lateral D (2d), y es transportada al tercer canal lateral D (2c) y el cuarto canal lateral D (2d). A continuación, como se muestra en la Fig. 10(b), la primera muestra o disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b), la segunda muestra o disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c), y la tercera muestra o disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) son cada una transportadas aguas abajo a lo largo del primer canal. A este respecto, en un primer canal lateral D (2a) posicionado en el lado más aguas arriba, no solo puede recibirse (entrar) la primera muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas arriba que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) posicionado lo más aguas arriba. Además, en un cuarto canal lateral D (2d) posicionado en el lado más aguas abajo, no solo puede recibirse (entrar) la tercera muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas abajo que la parte del primer canal en el que se abre dicha abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) posicionado lo más aguas abajo.

A este respecto, las terminologías usadas en la descripción anterior y los significados de las mismas son las mismas que se han descrito anteriormente, y los nombres de canales laterales especificados tales como “el primer” canal lateral D, “el segundo” canal lateral D, “el tercer” canal lateral D, “el cuarto” canal lateral D, “el primer” canal lateral S/R, “el segundo” canal lateral S/R y “el tercer” canal lateral S/R se usan para fines de comodidad como explicación en el caso anterior.

Como se ha descrito anteriormente, el procedimiento de introducción de disolución desvelado presenta 2 o más (n trozos) canales laterales S/R y 3 o más (n+1 trozos) canales laterales D (n es un número entero de 2 o más), y se construye de manera que una muestra o disolución de reactivo esté presente (se introduzca) dentro del primer canal (por ejemplo, un canal para análisis) que recibe una muestra o disolución de reactivo que se suministra en un canal lateral S/R, de dicho un canal lateral S/R a 2 (un par de) canales laterales D, y se construye de manera que cada uno de los 2 canales laterales D posicionados en los lados lo más aguas abajo y lo más aguas arriba del primer canal puedan recibir una muestra o disolución de reactivo suministrada en un canal lateral S/R adyacente (posicionado lo más cerca); y cada uno del otro canal lateral D puede recibir comúnmente 2 tipos de muestra o disolución de reactivo suministrada en 2 canales laterales S/R adyacentes (posicionados lo más cerca).

En otras palabras, el procedimiento de introducción de disolución desvelado es uno en el que 2 o más unidades

estructurales seleccionadas de unidades estructurales mostradas en las Figs. 11(a) a 11(c) se combinan de manera que un canal D entre dicha unidad estructural esté duplicado (comúnmente usado) entre unidades estructurales [uno en el que 2 o más unidades estructurales se combinan en paralelo (serie). (Fig. 11 (d)]. A este respecto, estas unidades estructurales incluyen una en la que las unidades estructurales mostradas por las Figs. 11 (a) a 11 (c) están invertidas derecha e izquierda, arriba y abajo o en 180 grados. Entre ellas, es preferible que se combinen las 2 o más unidades estructurales seleccionadas de unidades estructurales mostradas por las Figs. 11(a) a 11(c).

A este respecto, en un canal lateral D posicionado en el lado más aguas arriba, entre 3 o más canales laterales D, no solo puede recibirse (entrar) una muestra o una disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas arriba que la parte del primer canal en el que se abre dicha abertura del canal lateral D posicionado lo más aguas arriba. Además, en un canal lateral D posicionado en el lado más aguas abajo no solo puede recibirse (entrar) una muestra o una disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas abajo que la parte del primer canal en el que se abre dicha abertura del canal lateral D posicionado lo más aguas abajo.

Las Figs. 12 a 14 son un diagrama conceptual de otros procedimientos de introducción de disolución según la presente invención.

Las Figs. 12(a) a 12(i) muestran los casos de introducir 2 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y una disolución de reactivo), y los casos de que cada una de las aberturas de canales laterales S/R esté dispuesta en una parte interna del primer canal en una dirección del eje de las 2 (el par de) aberturas de los canales laterales D.

Las Figs. 13(a) a 13(u) y 14(a) a 14(i) muestran los casos de introducir 3 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y 2 tipos de disoluciones de reactivo), y los casos de que cada una las aberturas de los canales laterales S/R está dispuesta en una parte interna del primer canal en una dirección del eje de las 2 (el par de) aberturas de los canales laterales D.

A este respecto, el procedimiento de introducción de disolución desvelado usa estructuras mostradas por las Figs. 12 a 14 que están invertidas derecha e izquierda, arriba y abajo o por 180 grados.

2. El dispositivo microfluídico

El dispositivo microfluídico es uno que tiene (incorpora) al menos una de la estructura que introduce disolución descrita anteriormente dentro de un sustrato.

Concretamente, el dispositivo microfluídico es uno que comprende una estructura de cuerpo principal dispuesta (formada) con al menos la estructura que introduce disolución, como elemento microfluídico. La estructura de cuerpo principal comprende una parte exterior o una superficie externa y una parte interior formada con un elemento microfluídico tal como la estructura que introduce disolución de todo el dispositivo microfluídico.

A este respecto, el dispositivo microfluídico puede ser uno que tiene una pluralidad de las mismas estructuras que introducen disolución en combinación, dentro del mismo sustrato, o puede ser uno que tiene una pluralidad de diferentes estructuras que introducen disolución en combinación. La estructura que introduce disolución del dispositivo microfluídico es como se ha descrito anteriormente, y realizaciones preferibles también son como se han descrito anteriormente.

Además, en el dispositivo microfluídico, un depósito (un pocillo) para introducir una disolución (una muestra y/o una disolución de reactivo) está preferentemente formado (dispuesto) en diversos canales laterales formados en la parte interior (dentro) de una estructura de cuerpo principal. A este respecto, "un depósito" significa aquí un pocillo para guardar diversas disoluciones (fluidos), y normalmente un hoyuelo que puede contener una cierta cantidad de una disolución (fluido), que está abierto en la parte exterior o superficie externa de una estructura de cuerpo principal y el fondo del mismo se comunica con un canal lateral formado en la parte interior (dentro) de una estructura de cuerpo principal.

Concretamente, un canal lateral S/R en la estructura que introduce disolución está preferentemente conectado a (comunicado con) un depósito de muestra o de disolución de reactivo en la parte del extremo del mismo y un canal lateral D está preferentemente conectado a (comunicado con) un depósito de residuos. A este respecto, en un depósito de muestra o disolución de reactivo se pone y se suministra una muestra o una disolución de reactivo y en un depósito de residuos se almacena una muestra o una disolución de reactivo (otro medio de electroforesis en ciertos casos) extraído de un canal lateral D para introducir en un canal principal.

En lo sucesivo, el depósito de muestra o de disolución de reactivo se abrevia "depósito S/R" y el depósito de residuos se abrevia "depósito W".

(1) Estructura específica

La Fig. 15 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución en el dispositivo microfluido en el caso de que cada uno de los canales laterales esté conectado al depósito correspondiente. Cada uno de los 3 o más canales laterales D (2) tiene una abertura (2-1) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1) están dispuestas en una relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 15) del primer canal (1). Además, el otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los canales laterales D (2) está conectado a un depósito W (4) de manera que puede comunicarse. Por otra parte, cada uno de los no menos de 2 canales laterales S/R (3) tiene una abertura (3-1) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de la abertura (2-1) de los canales laterales D (2), y cada una de dichas aberturas (3-1) está dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2) (a condición de que cada abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) esté dispuesta en una porción diferente entre diferentes aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2). Además, el otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de los canales laterales S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5) de manera que puede comunicarse.

La forma del depósito anteriormente descrito no está especialmente limitada e incluye, por ejemplo, similar a cilindro, cónica (por ejemplo, cuerpo de cabeza cortada), similar a cilindro inclinado, similar a cilindro poligonal, similar a pirámide (por ejemplo, cuerpo de cabeza cortada), similar a poli-pirámide (por ejemplo, cuerpo de cabeza cortada), y otras formas que éstos también pueden permitir.

La Fig. 16 es un diagrama conceptual de un procedimiento de introducción de disolución en el dispositivo microfluido en el caso de que cada uno de los canales laterales esté conectado al depósito correspondiente que va a usarse para introducir 2 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y una disolución de reactivo). Cada uno de los 3 canales laterales D del primer canal lateral D (2a), el segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c) tiene una abertura (2-1a, 2-1b y 2-1c) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1a, 2-1b y 2-1c) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 16) del primer canal (1). Además, cada uno de los otros extremos (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los 3 canales laterales D (2a, 2b y 2c) está conectado a un depósito W (4a, 4b y 4c) de manera que pueden comunicarse. Por otra parte, cada uno de los 2 canales laterales S/R del primer canal lateral S/R (3a) y el segundo canal lateral S/R (3b) tiene una abertura (3-1a y 3-1b) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de las aberturas (2-1a, 2-1b y 2-1c) de los 3 canales laterales D (2a, 2b y 2c). Además, la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta entre la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b); y la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta entre la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c). Además, cada uno del otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) del primer canal lateral S/R (3a) y el segundo canal lateral S/R (3b) está conectado a unos depósitos S/R (5a y 5b) de manera que pueden comunicarse.

La Fig. 17 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución en el dispositivo microfluido en el caso de que cada uno de los canales laterales esté conectado al depósito correspondiente que va a usarse para introducir 3 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y 2 tipos de disoluciones de reactivo). Cada uno de los 4 canales laterales D del primer canal lateral D (2a), el segundo canal lateral D (2b), el tercer canal lateral D (2c) y el cuarto canal lateral D (2d) tiene una abertura (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 17) del primer canal (1). Además, cada uno del otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los 4 canales laterales D (2a, 2b, 2c y 2d) está conectado a un depósito W (4a, 4b, 4c y 4d) de manera que pueden comunicarse. Por otra parte, cada uno de los 3 canales laterales S/R del primer canal lateral S/R (3a), el segundo canal lateral S/R (3b) y el tercer canal lateral S/R (3c) tiene una abertura (3-1a, 3-1b y 3-1c) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de las aberturas (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) de los 4 canales laterales D (2a, 2b, 2c y 2d) anteriormente descritos. Además, la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta entre la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b); y la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta entre la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1b) del segundo canal lateral (3b) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c); y la abertura (3-1c) del tercer canal lateral S/R (3c) está dispuesta entre la abertura (2-1c) del tercer

canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1c) del tercer canal lateral S/R (3c) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d). Además, cada uno del otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) del primer canal lateral S/R (3a), el segundo canal lateral S/R (3b) y el tercer canal lateral S/R (3c) está conectado a depósitos S/R (5a, 5b y 5c) de manera que pueden comunicarse.

El procedimiento de introducción de disolución puede aplicarse ampliamente al campo de la microfluidica, tal como un sistema de fluido que usa diversos mecanismos de transporte de material (por ejemplo, un sistema de transporte de material por flujo electroosmótico, un sistema de transporte de material electrocinético y un sistema accionado por presión). Entre otros, el procedimiento de introducción de disolución es útil para un sistema de transporte de material electrocinético usando un capilar (un canal), en particular, un sistema de transporte de material electrocinético que utiliza electroforesis (por ejemplo, electroforesis tal como un procedimiento de electroforesis capilar, un procedimiento de electroforesis en chip capilar). A este respecto puede usarse un procedimiento de electroforesis basado en diversos principios (modos de separación), por ejemplo, un procedimiento de isotacoforesis (ITP), procedimiento de isoelectroenfoque (IF), un procedimiento de electroforesis capilar en zona (CZE), cromatografía electrocinética micelar (MEKC) y un procedimiento de electroforesis en gel capilar (CGE).

Usando el procedimiento de introducción de disolución, 2 o más tipos de disoluciones (una muestra o una disolución de reactivo) pueden introducirse y disponerse fácilmente en el primer canal (un canal principal), y además, estas disoluciones pueden hacerse reaccionar (mezclarse) en el primer canal (un canal principal), sin mezclar con antelación fuera del capilar (canal).

En particular, como se describe después, por aplicación del procedimiento de introducción de disolución a un sistema de transporte de material electrocinético, 2 o más tipos de disoluciones (una muestra o una disolución de reactivo), por ejemplo, que tienen una viscosidad diferente con respecto a la otra, pueden introducirse y disponerse fácilmente en el primer canal (un canal principal), y además, estas disoluciones pueden hacerse reaccionar electroforéticamente en el primer canal (un canal principal), sin mezclar con antelación fuera del capilar (canal). Como resultado, una reacción de 2 o más tipos de disoluciones (una muestra o una disolución de reactivo) puede llevarse a cabo en un corto tiempo y altamente eficazmente y además es posible la separación fácil y altamente precisa de sustancias objetivo o el análisis altamente sensible de sustancias objetivo. Por tanto, el primer canal tiene preferentemente al menos una región (región de reacción) en la que una muestra reacciona con una disolución de reactivo en una parte de la misma, y más preferentemente tiene al menos una región (región de concentración y de reacción) en la que al menos un tipo de una CFS reacciona con un analito o análogo del mismo en una muestra mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo. Además, una región (región de separación) en la que un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y una CFS se separa de dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo puede estar adicionalmente comprendida aguas abajo de la región de reacción (o la región de concentración y de reacción). A este respecto, la región de reacción o la región de concentración y de reacción y la región de separación pueden conectarse secuencialmente y directamente (conexión secuencial), o ambas pueden conectarse (conexión secuencial) mediante una región o canal que no tiene la función anteriormente descrita (reacción, separación). Además, estas regiones pueden cada una estar presentes independientemente en el primer canal, o una parte de o toda de éstas pueden estar presentes en un estado solapado. En otras palabras, el primer canal es suficiente para tener la región anteriormente descrita (función) como resultado. Además, la longitud de la región de reacción o la región de concentración y de reacción no está especialmente limitada, en tanto que sean suficientes para formar un complejo entre un analito o análogo del mismo y una CFS, o sean suficientes para concentrar un analito o un análogo del mismo y/o una CFS, y formen un complejo entre un analito o análogo del mismo y una CFS. Por ejemplo, la longitud es normalmente 0,1 mm a 100 cm, preferentemente 0,1 mm a 20 cm y más preferentemente 0,1 mm a 10 cm. La longitud de la región de separación no está especialmente limitada, en tanto que sea suficiente para separar un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y una CFS de dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo. Por ejemplo, la longitud es normalmente 0,1 mm a 100 cm, preferentemente 0,1 mm a 20 cm y más preferentemente 0,1 mm a 10 cm.

En la descripción anterior, una reacción en la región de reacción o la región de concentración y de reacción, y una separación en la región de separación, se llevan a cabo por un sistema de fluido como se ha descrito anteriormente, preferentemente por un sistema de transporte de material electrocinético que utiliza electroforesis (por ejemplo, electroforesis tal como un procedimiento de electroforesis capilar o un procedimiento de electroforesis en chip capilar). Además, cuando se usa un procedimiento de electroforesis, tal reacción y separación pueden usar un procedimiento de electroforesis basado en diversos principios (modos de separación) tales como ITP, IF, CZE, MEKC y CGE. Como se describe después, en la reacción o la concentración y la reacción entre una muestra o una disolución de reactivo, y separación, puede usarse el mismo principio (modo de separación) o puede usarse un principio diferente (modo de separación) para cada uno.

En una aplicación del procedimiento de introducción de disolución a un sistema de transporte de material electrocinético puede requerirse algunas veces llenar el primer canal (un canal principal) con un medio de electroforesis como se describe después (por ejemplo, un tampón de cabeza que contiene un ión de cabeza, un tampón de cola que contiene un ión de cola, un medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica, un medio de electroforesis que tiene pH en el intervalo alcalino, un medio de electroforesis que incluye una sustancia cargada que forma una micela y una disolución tampón para electroforesis, conteniendo dicha disolución tampón para electroforesis cargada). En tales casos, el primer canal tiene preferentemente un depósito aguas arriba en el extremo del lado aguas arriba y un depósito aguas abajo en el otro extremo del lado aguas abajo para introducir un medio de electroforesis en el primer canal. A este respecto, “un depósito aguas arriba” y “un depósito aguas abajo” significan aquí pocillos para guardar los medios de electroforesis, y normalmente un hoyuelo que puede contener una cierta cantidad de una disolución (fluido), que está abierto en la parte exterior o superficie externa de una estructura de cuerpo principal y el fondo del mismo se comunica con un canal lateral formado en la parte interior (dentro) de una estructura de cuerpo principal.

Concretamente, el primer canal está preferentemente conectado a (comunicado con) el depósito aguas arriba en la parte del extremo del lado aguas arriba y el depósito aguas abajo en la parte del extremo del lado aguas abajo. A este respecto, un medio de electroforesis se pone y se suministra en el depósito aguas arriba, mientras que un medio de electroforesis introducido en el primer canal se almacena en el depósito aguas abajo.

La Fig. 18 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución en el dispositivo microfluido en el caso de que el primer canal esté conectado al depósito aguas arriba y el depósito aguas abajo, y cada uno de los canales laterales esté conectado al depósito correspondiente. El primer canal (1) está conectado cada uno al depósito aguas arriba (6) en un extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas arriba; el extremo derecho en la Fig. 18) y el depósito aguas abajo (7) en el otro extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas abajo; el extremo izquierdo en la Fig. 18) de manera que se comunican. Cada uno de los 3 o más canales laterales D (2) tiene una abertura (2-1) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 18) del primer canal (1). Además, el otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los canales laterales D (2) está conectado a un depósito W (4) de manera que pueden comunicarse. Por otra parte, cada uno de no menos de 2 canales laterales S/R (3) tiene una abertura (3-1) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de la abertura (2-1) de los canales laterales D (2), y cada una de dichas aberturas (3-1) está dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2) (a condición de que cada una de dichas aberturas (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) esté dispuesta en una porción diferente entre diferentes aberturas adyacentes (2-1) de los canales laterales D (2)). Además, el otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de los canales laterales S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5) de manera que pueden comunicarse.

La Fig. 19 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución en el dispositivo microfluido en el caso de que el primer canal esté conectado al depósito aguas arriba y el depósito aguas abajo, y cada uno de los canales laterales esté conectado al depósito correspondiente que va a usarse para introducir 2 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y una disolución de reactivo). El primer canal (1) está conectado al depósito aguas arriba (6) en un extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas arriba; el extremo derecho en la Fig. 19) y al depósito aguas abajo (7) en el otro extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas abajo; el extremo izquierdo en la Fig. 19) de manera que se comunican. Cada uno de los 3 canales laterales D del primer canal lateral D (2a), el segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c) tiene una abertura (2-1a, 2-1b y 2-1c) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1a, 2-1b y 2-1c) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 19) del primer canal (1). Además, cada uno del otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los 3 canales laterales D (2a, 2b y 2c) está conectado a un depósito W (4a, 4b y 4c) de manera que pueden comunicarse. Por otra parte, cada uno de los 2 canales laterales S/R del primer canal lateral S/R (3a) y el segundo canal lateral S/R (3b) tiene una abertura (3-1a y 3-1b) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de las aberturas (2-1a, 2-1b, y 2-1c) de los 3 canales laterales D (2a, 2b, y 2c). Además, la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta entre la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b); y la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta entre la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c). Además, cada uno de los otros extremos (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) del primer canal lateral S/R (3a) y el segundo canal lateral S/R (3b) está conectado a depósitos S/R (5a y 5b) de manera que pueden comunicarse.

La Fig. 20 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución en el dispositivo microfluido en

el caso de que el primer canal esté conectado al depósito aguas arriba y el depósito aguas abajo, y cada uno de los canales laterales esté conectado al depósito correspondiente que va a usarse para introducir 3 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y 2 tipos de disoluciones de reactivo). El primer canal (1) está conectado al depósito aguas arriba (6) en un extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas arriba; el extremo derecho en la Fig. 20) y depósito aguas abajo (7) en el otro extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas abajo; el extremo izquierdo en la Fig. 20) de manera que se comunican. Cada uno de los 4 canales laterales D del primer canal lateral D (2a), el segundo canal lateral D (2b), el tercer canal lateral D (2c) y el cuarto canal lateral D (2d) tiene una abertura (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 20) del primer canal (1). Además, cada uno de los otros extremos (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los 4 canales laterales D (2a, 2b, 2c, y 2d) está conectado a un depósito W (4a, 4b, 4c y 4d) de manera que pueden comunicarse. Por otra parte, cada uno de los 3 canales laterales S/R del primer canal lateral S/R (3a), el segundo canal lateral S/R (3b) y el tercer canal lateral S/R (3c) tiene una abertura (3-1a, 3-1b, y 3-1c) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de las aberturas (2-1a, 2-1b, 2-1c y 2-1d) de los 4 canales laterales D (2a 2b, 2c y 2d) anteriormente descritos. Además, la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta entre la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1a) del primer canal lateral S/R (3a) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D; la abertura (3-1b) del segundo canal lateral S/R (3b) está dispuesta entre la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1b) del segundo canal lateral (3b) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c); y la abertura (3-1c) del tercer canal lateral S/R (3c) está dispuesta entre la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) en una dirección del eje, concretamente la abertura (3-1c) del tercer canal lateral S/R (3c) está dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por el par de la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d). Además, cada uno del otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) del primer canal lateral S/R (3a), el segundo canal lateral S/R (3b) y el tercer canal lateral S/R (3c) está conectado a depósitos S/R (5a, 5b y 5c) de manera que pueden comunicarse.

La forma del depósito aguas arriba y depósito aguas abajo anteriormente descritos no está especialmente limitada e incluye, por ejemplo, similar a cilindro, cónica (por ejemplo, cuerpo de cabeza cortada), similar a cilindro inclinado, similar a cilindro poligonal, similar a pirámide (por ejemplo, cuerpo de cabeza cortada), similar a poli-pirámide (por ejemplo, cuerpo de cabeza cortada), y otras formas que éstos también pueden permitir.

A este respecto, el depósito aguas arriba y el depósito aguas abajo pueden conectarse al primer canal directamente o mediante un puerto de acceso. El depósito aguas arriba y el depósito aguas abajo pueden estar presentes en la parte exterior del dispositivo mientras que se comunican con un primer canal. El dispositivo microfluídico también incluye uno que no tiene un depósito aguas arriba y depósito aguas abajo, sino que solo tiene un puerto de acceso. A este respecto, un puerto de acceso significa aquí un orificio para comunicar un primer canal formado en la parte interior (dentro) de una estructura de cuerpo principal y la parte exterior o superficie externa de una estructura de cuerpo principal, en otras palabras, un orificio cuyo extremo está abierto en y se comunica con un primer canal, y el otro extremo está abierto en la parte exterior o superficie externa de una estructura de cuerpo principal. Además, significa un orificio que comunica un depósito aguas arriba o depósito aguas abajo y un primer canal, cuando un depósito aguas arriba o depósito aguas abajo está conectado a un primer canal mediante un puerto de acceso.

En el procedimiento de introducción de disolución, uno o más canales laterales para introducir un medio de electroforesis (8) pueden conectarse a (comunicarse con) el primer canal distinto del canal lateral S/R como se ha descrito anteriormente. El canal lateral para introducir un medio de electroforesis (8) aquí es un canal lateral para recibir un medio de electroforesis y material, mientras que el diámetro interno, longitud y realizaciones preferibles del mismo son las mismas que en el canal lateral descrito anteriormente.

En lo sucesivo, un canal lateral para recibir un medio de electroforesis se abrevia "canal lateral EM".

Como un ejemplo de uso de un canal lateral EM, una reacción o concentración y reacción entre una muestra o una disolución de reactivo, y separación, puede llevarse a cabo usando un procedimiento de electroforesis basado en un principio diferente (modo de separación) en cada caso. Concretamente, en tales casos es particularmente útil un dispositivo microfluídico que tiene uno o más tipos de canales laterales EM (si fuera necesario, un puerto de acceso, un depósito de medio de electroforesis).

La Fig. 21 es un diagrama conceptual del procedimiento de introducción de disolución en un dispositivo microfluídico, que tiene un canal lateral EM. El primer canal (1) está conectado al depósito aguas arriba (6) en un extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas arriba; el extremo derecho en la Fig. 21) y al depósito aguas abajo (7) en el otro extremo (por ejemplo, en el extremo del lado aguas abajo; el extremo izquierdo en la Fig. 21) de manera que se

comunican. Cada uno de los 3 o más canales laterales D (2) tiene una abertura (2-1) abierta en una pared del primer canal (1) de manera que pueden comunicarse y dichas aberturas (2-1) están dispuestas en relación separada entre sí (con espacio) en una dirección del eje (de derecha a izquierda en la Fig. 21) del primer canal (1). Además, el otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de cada uno de los canales laterales D (2) está conectado a un depósito W (4) de manera que pueden comunicarse. Por otra parte, cada uno de los no menos de 2 canales laterales S/R (3) tiene una abertura (3-1) abierta en la pared del primer canal (1) anteriormente descrito en una posición diferente (parte) de la abertura (2-1) de los canales laterales D (2), y cada una de dichas aberturas (3-1) está dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2) (a condición de que cada una de las aberturas (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) esté dispuesta en una porción diferente entre diferentes aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2). Además, el otro extremo (el extremo opuesto al extremo abierto en el primer canal) de los canales laterales S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5) de manera que pueden comunicarse. Además, el canal lateral EM (8) está conectado (comunicado) en la región del primer canal entre un canal lateral D (2n) localizado en el lado más aguas abajo entre los 3 o más canales laterales D (2: 2a, 2b, 2c, ..., 2n) anteriormente descritos y el depósito aguas abajo (7). La Fig. 21 muestra el caso en el que el canal lateral EM (8) está conectado (comunicado) en la región del primer canal entre un canal lateral D (2n) localizado en el lado más aguas abajo entre los 3 o más canales laterales D (2: 2a, 2b, 2c, ..., 2n) anteriormente descritos y el depósito aguas abajo (7), sin embargo, una parte (región) de conexión (comunicación) de un canal lateral EM (8) al primer canal (1) no está especialmente limitada. Puede conectarse (comunicarse) en el extremo del primer canal (1), en la región del primer canal entre un canal lateral D localizado en el lado más aguas arriba y un depósito aguas arriba, en la región del primer canal entre dos canales laterales D (2) [en la parte del primer canal (1) formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas (2-1) de canales laterales D], o en la región del primer canal entre dos canales laterales S/R (3) [en la parte del primer canal (1) formado (intercalado) por 2 (un par de) aberturas (3-1) de canales laterales S/R]. Es preferible la conexión (comunicación) en la región del primer canal entre un canal lateral D localizado en el lado más aguas abajo entre los 3 o más canales laterales D anteriormente descritos y un depósito aguas abajo.

Además, un canal lateral EM (8) tal está preferentemente conectado a (comunicado con) un depósito de medio de electroforesis (11) en el extremo del mismo. A este respecto, en el depósito de medio de electroforesis (11), un medio de electroforesis se pone y se suministra, y la forma, realizaciones preferibles del depósito de medio de electroforesis (11) son las mismas que en un depósito S/R como se ha descrito anteriormente.

A este respecto, el depósito de medio de electroforesis (11) puede conectarse al canal lateral EM directamente o mediante un puerto de acceso. El depósito de medio de electroforesis (11) puede estar presente en la parte exterior del dispositivo mientras que se comunica con el canal lateral EM. El dispositivo microfluídico también incluye uno que no tiene el depósito de medio de electroforesis (11) y solo tiene un puerto de acceso. A este respecto, un puerto de acceso significa aquí un orificio para comunicar un canal lateral EM (8) formado en la parte interior (dentro) de una estructura de cuerpo principal y la parte exterior o superficie externa de una estructura de cuerpo principal, en otras palabras, un orificio cuyo uno de sus extremos está abierto en y que se comunica con un canal lateral EM y el otro extremo está abierto en la parte exterior o superficie externa de una estructura de cuerpo principal. Además, significa un orificio que comunica un depósito de medio de electroforesis y un canal lateral EM, cuando un depósito de medio de electroforesis está conectado a un canal lateral EM mediante un puerto de acceso.

En lo sucesivo, un depósito de medio de electroforesis puede abreviarse "depósito EM".

A este respecto, como se muestra en la Fig. 22, en la descripción anterior, en el caso en el que el canal lateral EM (8) esté conectado a (comunicado con) la región del primer canal entre un canal lateral D (2n) localizado en el lado más aguas abajo entre 3 o más canales laterales D y el depósito aguas abajo (7), la región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado en el lado más aguas arriba entre los 3 o más canales laterales D (2: 2a, ..., 2n) anteriormente descritos y el canal lateral D (2n) localizado en el lado más aguas abajo; o la región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado en el lado más aguas arriba entre los 3 o más canales laterales D (2: 2a, ..., 2n) anteriormente descritos y el canal lateral EM (8) es una región (una región de reacción) en la que una muestra reacciona con una disolución de reactivo, o una región (una región de concentración y de reacción) en la que al menos un tipo de una CFS reacciona con un analito o un análogo en una muestra mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo, y la región del primer canal (10) entre el canal lateral EM (8) y el depósito aguas abajo (7) es una región (una región de separación) en la que un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y una CFS se separa de dicha sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo del mismo que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo.

Además, la longitud de la región de reacción (9a) o la región de concentración y de reacción (9b) no está especialmente limitada, en tanto que sea suficiente para formar un complejo entre un analito o análogo del mismo y una CFS, o suficiente para concentrar un analito o un análogo del mismo y/o una CFS, y formen un complejo entre un analito o análogo del mismo y una CFS. Por ejemplo, la longitud es normalmente 0,1 mm a 100 cm, preferentemente 0,1 mm a 20 cm y más preferentemente 0,1 mm a 10 cm. La longitud de la región de separación (10) no está

especialmente limitada, en tanto que sea suficiente para separar un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y una CFS de dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo. Por ejemplo, la longitud es normalmente 0,1 mm a 100 cm, preferentemente 0,1 mm a 20 cm y más preferentemente 0,1 mm a 10 cm.

5 El dispositivo microfluídico puede no solo tener un canal lateral EM (si fuera necesario un puerto de acceso, un depósito EM), sino también un canal lateral para descargar un medio de electroforesis, un depósito para descargar que se comunica con el extremo del mismo, o un puerto de acceso. A este respecto, pueden seleccionarse y disponerse adecuadamente según el canal lateral EM anteriormente descrito, puerto de acceso y depósito EM.

10 El dispositivo microfluídico puede tener adicionalmente diversas disposiciones de canales diferentes (por ejemplo, de una simple conexión en "T" o "cruz" de 2 canales a una red de canales más complicada) distintas de la estructura que introduce disolución anteriormente descrita, y si fuera necesario, un puerto de acceso y diversos depósitos.

15 Por tanto, el dispositivo microfluídico es uno que comprende una estructura de cuerpo principal dispuesta con diversos elementos microfluídicos tales como la estructura que introduce disolución o diversos canales (disposiciones) como se ha descrito anteriormente. La estructura de cuerpo principal comprende una parte exterior o una superficie externa y una parte interior formada por diversos elementos microfluídicos tales como la estructura que introduce disolución de todos los dispositivos microfluídicos o diversos canales (disposiciones) como se ha descrito anteriormente.

20 Además, el dispositivo microfluídico puede comprender un electrodo (aguas arriba) conectado a un lado aguas arriba (por ejemplo, una parte del extremo aguas arriba) del primer canal (1), un puerto de acceso o el depósito aguas arriba (6) que comunica con el mismo, y un electrodo (aguas abajo) conectado a un lado aguas abajo (por ejemplo, una parte del extremo aguas abajo) del primer canal (1), un puerto de acceso o el depósito aguas abajo (7) que comunica con el mismo, distinto del anterior. Además, también puede comprender un electrodo conectado a un canal lateral EM (8) (por ejemplo, la parte del extremo del mismo), un puerto de acceso o el depósito EM (11) que se comunica con el mismo, y un electrodo conectado a un canal lateral para descargar un medio de electroforesis (por ejemplo, la parte del extremo del mismo), o un puerto de acceso o el depósito para descargar que se comunica con el mismo.

25 Además, como se describe después, cuando la introducción de una muestra o una disolución de reactivo se lleva a cabo eléctricamente, también puede comprender un electrodo conectado a un canal lateral D (2) (por ejemplo, la parte del extremo del mismo), un puerto de acceso o un depósito W (4) que se comunica con el mismo, y un electrodo conectado a un canal lateral S/R (3), un puerto de acceso o un depósito S/R (5) que se comunica con el mismo.

30 A este respecto, cada electrodo está normalmente conectado adicionalmente a una unidad de control o dispositivo de control del voltaje, de manera que sea operable.

Además, cuando la introducción de una muestra o una disolución de reactivo se lleva a cabo bajo presión elevada y/o reducida, cada depósito también puede conectarse a una unidad controlable de presión. El dispositivo microfluídico puede equiparse con una etiqueta IC para guardar información de un dispositivo microfluídico y/o análisis.

35 Como tal etiqueta IC puede usarse cualquiera de una etiqueta IC (circuito integrado) tipo no contacto tal como una etiqueta RF (radiofrecuencia), o una etiqueta IC tipo contacto. Además, como información de un dispositivo microfluídico y/o análisis que va a almacenarse se incluye, por ejemplo, al menos una seleccionada de la siguiente información:

(1) Información referente a la visualización: unidad, número de dígitos de indicación y valor de referencia (intervalo);

40 (2) Información referente al análisis: parámetro para operar el dispositivo de análisis para llevar a cabo el análisis [cantidad de muestra usada, cantidad de disolución de reactivo usada, implementación (aplicación) de una muestra o una disolución de reactivo a un dispositivo microfluídico, momento adecuado (aplicación) de una muestra o una disolución de reactivo, longitud de onda de medición (longitud de onda única, longitud de onda dual: longitud de onda principal y sub-longitud de onda, longitud de onda de excitación, longitud de onda fluorescente), tiempo de reacción, condiciones de electroforesis (voltaje, amperio, sitio de aplicación de voltaje)], condición de dilución (presencia o ausencia de necesidad de dilución de muestras, tipo de un diluyente y tasa de dilución), procedimiento de calibración y condiciones de carga de reactivo (voltaje aplicado, presión aplicada);

50 (3) Información referente al resultado del análisis: información del entorno [ID del dispositivo de análisis, artículos de análisis, estado del análisis, parámetros usados en el análisis, información de muestras (resultados de inspección sobre el tipo, tono, ruido de fondo, viscosidad de una muestra), blanco de un dispositivo microfluídico en análisis (absorbancia por un dispositivo microfluídico solo en análisis, intensidad de fluorescencia, intensidad de luminiscencia), resultados del análisis (valores prácticamente medidos de una muestra antes de la corrección, valores de análisis después de la corrección, resultados de comparación con

valor de referencia)], información del rendimiento (medición de valores de blanco, información sobre la calibración realizada, información sobre resultados de medición sobre el control), resultados de electroforesis (voltaje, amperio, sitio de aplicación del voltaje) y resultados de carga de reactivo (voltaje aplicado, presión aplicada);

5 (4) Información referente a la producción: identificador de cada dispositivo microfluídico (número de lote de producción, número de serie), fecha de producción y periodo de garantía;

10 (5) Información referente a la disolución de reactivo: información de calibración (valor del blanco, sensibilidad, concentración del calibrador en análisis, número de lote de un calibrador, fecha de corrección, término eficaz, historia de calibración, número de lote y número de serie de una disolución de reactivo usada), linealidad, repetibilidad, influencia de sustancias coexistentes, estabilidad y datos de valor umbral;

(6) Información referente al estado de almacenamiento: tiempo transcurrido desde la fecha de producción, datos sobre temperatura, humedad y vibración en almacenamiento del dispositivo y tiempo requerido para ello), estado de transporte (datos sobre temperatura, humedad y vibración en transporte del dispositivo y tiempo requerido para ello); y

15 (7) Información referente al estado de uso: fecha del primer uso, tiempo transcurrido desde el primer uso, fecha del último uso, tiempo transcurrido desde el último uso, número de uso, tiempo de uso, tiempo de uso total, periodo eficaz, uso permisible o no.

20 En la descripción anterior, "un procedimiento de calibración" es datos referentes a una operación específica y condiciones, que se indican cuando se lleva a cabo la calibración. Específicamente, por ejemplo, incluye el procedimiento de calibración tal como el procedimiento del factor K, el procedimiento de la recta lineal, el procedimiento de la curva de calibración de múltiples puntos y el procedimiento de isozima; el tipo de calibración (el tipo de curva de calibración) tal como expresión lineal (una recta lineal), expresión cuadrática, curva Spline y curva logarítmica Logit; el número de calibradores (disolución patrón) a medir (por ejemplo, en un caso de "2" se usan 2 tipos de calibradores); el valor de concentración del calibrador (disolución patrón) a medir; los números de medición (por ejemplo, en caso de "3" la medición se lleva a cabo 3 veces para un calibrador y el valor de medición se indica normalmente como un promedio de $n=3$); e información opcional. A este respecto, la calibración es una operación para corregir el valor de medición usando el dispositivo y el reactivo, y el calibrador significa el espécimen para corregir el valor de medición, y también se llama una disolución patrón. Con el fin de confirmar el resultado de corrección es necesario medir el control como espécimen que tiene el valor de medición dentro de un intervalo de criterios.

30 Puede obtenerse un rápido análisis, por ejemplo, memorizando la información referente al análisis entre la información anteriormente mencionada por una etiqueta IC. En este caso puede realizarse el siguiente procedimiento:

35 Concretamente, un usuario de un dispositivo de análisis coloca una muestra que va a analizarse y una disolución de reactivo, junto con el dispositivo de microfluídica, sobre el dispositivo de análisis, y ordena al dispositivo que empiece un análisis (pulsando un botón de inicio). El dispositivo de análisis recibe la orden de empezar el análisis por un usuario, y automáticamente empieza y termina usando información referente al análisis memorizado por una etiqueta IC.

Según este procedimiento, la entrada de información referente al análisis por un usuario del dispositivo de análisis puede eliminarse, y por solo la orden de empezar el análisis (pulsando un botón de inicio), pueden empezarse y terminarse automáticamente análisis adecuados correspondientes al tipo de cada muestra o disolución de reactivo.

40 Además, por ejemplo, haciendo que una etiqueta IC memorice la información referente al resultado del análisis o estado de uso, la gestión de una muestra o una disolución de reactivo puede llevarse a cabo simplemente (automáticamente) por un dispositivo microfluídico o un dispositivo de análisis. En tal caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo el siguiente procedimiento:

45 Concretamente, después de iniciarse un análisis usando información referente al análisis memorizado por una etiqueta IC, como se ha descrito anteriormente, la información referente al resultado del análisis obtenido llevando a cabo el análisis se memoriza por una etiqueta IC conectada (adherida) al dispositivo microfluídico, y el análisis se termina basándose en dicha información referente al resultado del análisis y/o la información referente al análisis.

50 Cuando el dispositivo microfluídico se proporciona para el siguiente análisis, haciendo que una etiqueta IC conectada (adherida) al dispositivo microfluídico memorice información referente al resultado del análisis, y comparando así la información memorizada referente al resultado del análisis con información referente al resultado del análisis que va a obtenerse la siguiente vez, la corrección de la diferencia entre dispositivos o la necesidad de mantenimiento del dispositivo microfluídico o dispositivo de análisis puede especificarse basándose en la detección de presencia o ausencia de eficacia del resultado del análisis que va a obtenerse la siguiente vez, la presencia o ausencia de

anomalía, la estimación de causas de anomalía o la diferencia entre dispositivos. Además, comparando la información referente al resultado del análisis obtenido con información referente a datos del valor umbral fijados con antelación para el resultado del análisis o información referente al resultado del análisis que va a obtenerse la siguiente vez también son posibles la presencia o ausencia de la eficacia del resultado del análisis que va a obtenerse en la siguiente vez, la presencia o ausencia de anomalía y la estimación de causas de anomalía.

Además, preparando información memorizada referente al estado de uso, el tiempo de sustitución de un dispositivo microfluídico puede gestionarse basándose en el número de usos y el tiempo de uso.

Además, incluso cuando el dispositivo de análisis esté averiado por cualquier causa y el análisis deba llevarse a cabo usando otro dispositivo, haciendo que una etiqueta IC unida sobre un dispositivo microfluídico memorice la información anteriormente descrita, la comparación con datos pasados mantenidos por un dispositivo microfluídico se vuelve posible sin información de entrada sacada del dispositivo que no funciona en el nuevo dispositivo.

A este respecto, registrando información referente al resultado del análisis no solo por una etiqueta IC de un dispositivo microfluídico, sino también por una sección de almacenamiento de datos de resultados del análisis, controlada por un ordenador remoto, dicho resultado del análisis puede utilizarse, por ejemplo, para gestionar otros dispositivos microfluídicos relevantes para el presente dispositivo de microfluídica. Además, como se muestra en el documento WO2006/009251, preparando una etiqueta IC unida al dispositivo microfluídico que contiene información como se ha descrito anteriormente, y usando el dispositivo de análisis adecuadamente conectado a una red, por ejemplo, se hace posible la gestión de un dispositivo microfluídico o un dispositivo de análisis y la automatización de la opinión de eficacia del análisis y, por tanto, se vuelve posible el orden de una disolución de reactivo o mantenimiento del dispositivo, que hace posible soporte del análisis general.

(2) Un procedimiento de producción

El material del sustrato usado en el procedimiento de la presente invención no está especialmente limitado, en tanto que pueda realizar la estructura que introduce disolución anteriormente descrita. Como tal material puede usarse uno cualquiera generalmente usado en este campo y en sí conocido que incluye por ejemplo, compuestos basados en sílice tales como vidrio, cuarzo, silicio y polisilicio; resinas tales como polidimetilsiloxano (PDMS), poli(metacrilato de metilo) (PMMA), poliuretano, poli(cloruro de vinilo) (PVC), poliestireno, polisulfona, policarbonato, polimetilpenteno, polipropileno, polietileno, poli(fluoruro de vinilideno), ABS (un copolímero de acrilonitrilo-butadieno-estireno), resinas fotosensibles y otras resinas; metales; cerámicas; y combinaciones de los mismos.

El dispositivo microfluídico es generalmente uno que se produce a partir de un sustrato plano hecho de material como se ha descrito anteriormente, y es sustancialmente plano o tiene al menos una superficie plana.

Un procedimiento de producción del dispositivo microfluídico no está especialmente limitado, en tanto que sea un procedimiento que puede formar la estructura que introduce disolución, si fuera necesario diversos otros elementos microfluídicos tales como el puerto de acceso anteriormente descrito, diversos depósitos, diversos canales (disposiciones) en dicho sustrato. Un procedimiento tal incluye tecnología de microproducción en sí conocida, e incluye, por ejemplo, un moldeo de piezas tal como una técnica de mecanizado, una técnica de moldeo por inyección, técnica de moldeo por compresión, un procedimiento de estampado en relieve, un técnica de eliminación por fundido láser, la técnica de fotolitografía, grabado en seco (RIE, IE, IBE, grabado con plasma, grabado láser, abrasión láser, fabricaciónn por explosión, mecanizado por descarga eléctrica, LIGA, grabado con haces de electrones, FAB), grabado en húmedo (erosión química), foto-fabricaciónn y pavimentado cerámico; el micromecanizado superficial, en el que diversas sustancias se depositan por recubrimiento, deposición de vapor o pulverización y luego se eliminan parcialmente para formar una micro-estructura; un procedimiento de formación de una parte de abertura por una o más sustancias similares a hoja (películas y cintas) para formar un canal; un procedimiento de formación por goteo e inyección de un material de trayectoria de flujo usando un chorro de tinta o un dispensador.

A este respecto, en los procedimientos anteriormente descritos puede usarse una máscara para producir el dispositivo microfluídico. Esta máscara tiene cualquier diseño, en tanto que finalmente pueda formar el dispositivo microfluídico, y pueden usarse una pluralidad de máscaras. La máscara se diseña normalmente en forma de proyección sobre un plano de la estructura que introduce disolución (trayectoria de flujo) (si fuera necesario, un puerto de acceso, diversos depósitos y otros elementos microfluídicos). Sin embargo, cuando la fabricaciónn se lleva a cabo en ambos lados del material componente de una estructura que introduce disolución (trayectoria de flujo) (si fuera necesario, un puerto de acceso, diversos depósitos y otros elementos microfluídicos) que va a adherirse o cuando se forma una estructura que introduce disolución (trayectoria de flujo) (si fuera necesario, un puerto de acceso, diversos depósitos y otros elementos microfluídicos) usando una pluralidad de partes, puede usarse una pluralidad de máscaras o la fabricaciónn directa se hace parcialmente sin usar una máscara. Por tanto, la máscara no tiene necesariamente una forma tal como la proyección de la estructura que introduce disolución final (trayectoria de flujo) (si fuera necesario, un puerto de acceso, diversos depósitos y otros elementos microfluídicos). Como máscara para protección de ondas electromagnéticas usadas en una resina fotocurable están incluidas una hecha de cuarzo o vidrio recubierto con cromo, o una hecha de

una película de resina horneada por láser.

La máscara anteriormente descrita también puede producirse, por ejemplo, extrayendo al menos una parte de la estructura que introduce disolución anteriormente descrita (trayectoria de flujo) usando un ordenador y software adecuado, y luego imprimiendo sobre una película transparente. El dispositivo microfluídico puede producirse, por ejemplo, adhiriendo los 2 siguientes o más materiales.

La estructura que introduce disolución o, si fuera necesario otro elemento microfluídico, se forma sobre una superficie del primer sustrato plano, como un canal (pocillo o hoyuelo) en una superficie del mismo usando la técnica de microproducción anteriormente descrita. A continuación, el segundo sustrato plano del mismo material o material diferente se adhiere de manera que se solape con el primer sustrato para cubrir y sellar la estructura que introduce disolución o, si fuera necesario otro elemento microfluídico, se forma en la superficie del primer sustrato. Por estos procedimientos, una parte interior (dentro) de una estructura de cuerpo principal en el dispositivo se forma por la superficie superior del primer sustrato y la superficie inferior del segundo sustrato unida a dicha superficie superior.

A este respecto, para formar el depósito y/o puerto de acceso anteriormente descritos, normalmente se hace un orificio sobre al menos uno de estos sustratos (por ejemplo, el segundo sustrato), y se dispone de manera que se forme un depósito y/o un puerto de acceso a cada canal en la estructura que introduce disolución, o si fuera necesario, otro elemento microfluídico, dentro de una estructura principal. Además, el sustrato no se limita a ser 2 trozos, y el dispositivo también puede producirse laminando una pluralidad arbitraria de trozos según se necesite.

En la descripción anterior, como procedimiento de adhesión de 2 o más materiales están incluidos adhesión por adhesivos, unión de resina por una imprimación, soldadura por difusión, soldadura anódica, soldadura eutéctica, soldadura térmica, soldadura ultrasónica, fusión láser, adhesión por un disolvente o disolvente de disolución, adhesión por una cinta adhesiva sensible a la presión, adhesión por una cinta adhesiva, soldadura por presión, soldadura por un auto-adsorbente, retención física y reticulado por cóncavo-convexo.

Además, el dispositivo microfluídico también puede producirse, por ejemplo, formando una estructura que introduce disolución (trayectoria de flujo) o, si fuera necesario, otro elemento microfluídico, un depósito y un puerto de acceso) que incluye espacio cerrado creado por un moldeo de una sola pieza tal como fotomoldeo. La dimensión (tamaño), forma y espesor del dispositivo microfluídico producido como se ha descrito anteriormente no está especialmente limitado. Generalmente, el espesor del dispositivo es, como límite inferior, normalmente no inferior a 20 μm , preferentemente no inferior a 40 μm , y como límite superior, normalmente no superior a 10 cm, preferentemente no superior a 5 cm, más preferentemente no superior a 1 cm, adicionalmente preferentemente no superior a 0,5 cm, y particular y preferentemente no superior a 0,25 cm. La forma del dispositivo puede ser una cualquiera, por ejemplo, un polígono tal como un triángulo, un cuadrado, un rectángulo y un trapecio; un círculo; una elipse; y una similar a abanico. La dimensión (tamaño) del dispositivo se determina por el número de estructuras formadas que introducen disolución o el número del análisis (muestras), y la longitud y anchura están normalmente en un intervalo de 2 mm a 500 cm, preferentemente 5 mm a 100 mm, y más preferentemente 5 mm a 50 mm.

3. El sistema microfluídico

Para operar el dispositivo microfluídico normalmente se requiere, por ejemplo, una unidad de control independiente (dispositivo) para transferir y accionar (mover) un fluido en un canal del dispositivo. La unidad de control (dispositivo) puede incorporarse en el propio sistema microfluídico, sin embargo, normalmente está compuesta como un sistema completo de manera que pueda separarse del dispositivo microfluídico.

Como unidad de control (dispositivo) tal están incluidos, por ejemplo, una unidad de presurización y/o despresurización (dispositivo o mecanismo) tal como una bomba y un colector de conmutación; una fuente de suministro de presión y/o de vacío; una unidad de control del voltaje (dispositivo); una fuente de suministro de energía eléctrica; un ordenador para controlar éstos, una interfaz para conectar éstos al dispositivo microfluídico o un ordenador. Además, un sistema completo puede incluir un detector (por ejemplo, un detector óptico tal como un detector epifluorescente y un detector electroquímico, diversos sensores tales como un sensor de conductividad, un sensor térmico, un sensor térmico IC, un termopar, un termistor) para monitorizar el progreso del análisis en operación; y una interfaz para conectar éstos al dispositivo microfluídico o un sistema completo.

4. Un procedimiento de introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo de la presente invención

Usando el procedimiento de introducción de disolución puede introducirse una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo) en un canal, en particular, un canal de un dispositivo microfluídico con volumen altamente preciso, en alta cantidad y simplemente.

Además, usando el procedimiento de introducción de disolución puede formarse y disponerse una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo), cada una como zona independiente en un capilar (un primer canal). En otras palabras, entre disoluciones adyacentes de una pluralidad de disoluciones introducidas en el capilar (el

primer canal), si se usa el procedimiento de introducción de disolución, se forma una interfase líquido-líquido y se mantiene cuando están dispuestas.

A este respecto, "interfase" significa un límite en el que 2 disoluciones se ponen en contacto, y no significa necesariamente completamente sin mezcla, debido a la presencia de difusión desde un punto de vista práctico.

- 5 Un procedimiento de introducción de una muestra o una disolución de reactivo de la presente invención no está especialmente limitado, excepto por el alcance de la reivindicación 1.

10 Concretamente, una disolución de una muestra y una de reactivo se suministran por separado a cada uno de los 2 o más canales laterales S/R (3) anteriormente descritos de manera que una muestra o una disolución de reactivo esté presente (se introduzca) en cada uno de los canales laterales S/R (3). A continuación, la muestra y/o disolución de reactivo anteriormente descritas se mueven (transfieren) a los 2 canales laterales D (2) adyacentes a cada canal lateral S/R en una dirección del eje, y dicha muestra y/o dicha disolución de reactivo se hace presente (introduce) en dichos canales laterales S/R (3), dichos 2 canales laterales D (2) y la región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2). Por este procedimiento, una muestra y una disolución de reactivo están dispuestas como zona independiente (separada) en el primer canal.

15 A este respecto, un procedimiento de movimiento (transferencia) una muestra y/o una disolución de reactivo presente (introducida) en canal lateral S/R (3) a 2 canales laterales D adyacentes (2), en otras palabras, un procedimiento de introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo del canal lateral S/R (3) al primer canal (1) no está especialmente limitado, y puede usarse un procedimiento en sí conocido para mover (transferir) e introducir. Como un procedimiento tal están incluidos, por ejemplo, un procedimiento de movimiento (transferencia) e introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo en el primer canal (1) eléctricamente por aplicación de voltaje sobre los canales laterales S/R (3) [o un puerto de acceso o un depósitos S/R (5)]; un procedimiento de movimiento (transferencia) e introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo en el primer canal (1) por presurización dentro del canal lateral S/R (3) y/o por despresurización dentro los canales laterales D (2); un procedimiento de movimiento (transferencia) e introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo en el primer canal (1) usando el fenómeno capilar. Además, un procedimiento de fabricación de una muestra y/o una disolución de reactivo presente (introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo) en los canales laterales S/R (3) tampoco está especialmente limitado, y generalmente se lleva a cabo por el procedimiento anteriormente descrito para mover (transferir) después de dejar caer (poner) una muestra o una disolución de reactivo en el puerto de acceso anteriormente descrito o un depósito S/R (5) conectado a los canales laterales S/R (3).

30 (1) Una etapa específica

Específicamente, un procedimiento de introducción de una muestra o una disolución de reactivo de la presente invención es, por ejemplo, uno que comprende las siguientes etapas:

(a) proporcionar un dispositivo microfluidico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;

35 (i) un primer canal (1);

(ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada dicho canal lateral D (2) una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4); y

40 (iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada dicho canal lateral S/R (3) una abertura (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) a dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada dicha abertura (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), en el que cada dicha abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está cada una dispuesta en una porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5)[(a): una etapa de fabricación];

45 (b) poner una muestra en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3);

(c) poner una disolución de reactivo en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b);

50 (d) introducir dicha muestra en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha muestra de dicho depósito S/R (5) en el que dicha muestra se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho

canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5); y

5 (e) introducir dicha disolución de reactivo en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución de reactivo de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución de reactivo se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) [(b) a (e): una etapa de introducción].

10 En la descripción anterior, el orden de llevar a cabo las etapas (b) y (c) no está especialmente limitado, y cualquiera de estas etapas puede llevarse a cabo primero o pueden llevarse a cabo simultáneamente. Además, el orden de llevar a cabo las etapas (d) y (e) no está especialmente limitado, sin embargo, estas etapas se llevan a cabo normalmente simultáneamente.

15 La introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo se explica a continuación en el caso de presurización y/o despresurización dentro un canal.

El caso de introducir 2 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y una disolución de reactivo) se explica según la Fig. 23.

20 En el caso de introducir disoluciones por presurización, la fuerza requerida se aplica, según convenga, sobre la región del primer canal (1b) aguas abajo de una abertura de un canal lateral D (2c) localizado lo más aguas abajo, la región del primer canal (1a) aguas arriba de una abertura de un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba, y 2 canales laterales S/R (3a y 3b). Además, en el caso de introducir disoluciones por despresurización, la fuerza requerida se despresuriza, según convenga, de 3 canales laterales D (2a, 2b, y 2c).

25 Por la presurización o despresurización anteriormente descrita, como se muestra en la Fig. 8(a), la primera muestra o disolución de reactivo suministrada en el primer canal lateral S/R (3a) pasa a través de una parte de cruce entre el primer canal lateral S/R (3a) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el primer canal lateral D (2a) y una parte de cruce entre el primer canal y el segundo canal lateral D (2b), y es transportada al primer canal lateral D (2a) y el segundo canal lateral D (2b). La segunda muestra o disolución de reactivo suministrada en el segundo canal lateral S/R (3b) pasa a través de una parte de cruce entre el segundo canal lateral S/R (3b) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el segundo canal lateral D (2b) y una parte de cruce entre el primer canal (1) y el tercer canal lateral D (2c), y es transportada al segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c). A continuación, como se muestra en la Fig. 8 (b), la primera muestra o disolución de reactivo dispuesta en la parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b), y la segunda muestra o disolución de reactivo dispuesta en la parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) se transportan aguas abajo a lo largo del primer canal. A este respecto, en un primer canal lateral D (2a) posicionado en el lado más aguas arriba, no solo puede recibirse (entrar) la primera muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas arriba que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) posicionado lo más aguas arriba. Además, en un tercer canal lateral D (2c) posicionado en el lado más aguas abajo, no solo puede recibirse (entrar) la segunda muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas abajo que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) posicionado lo más aguas abajo.

45 El caso de introducir 3 tipos de disoluciones (por ejemplo, una muestra y 2 tipos de disoluciones de reactivo) se explica según la Fig. 24.

50 En el caso de introducir disoluciones por presurización, la fuerza requerida se aplica, según convenga, sobre la región del primer canal (1b) aguas abajo de una abertura de un canal lateral D (2c) localizado en el lado más aguas abajo, la región del primer canal (1a) aguas arriba de una abertura de un canal lateral D (2a) localizado en el lado más aguas arriba, y 3 canales laterales S/R (3a, 3b, y 3c). Además, en el caso de introducir disoluciones por despresurización, la fuerza requerida se despresuriza, según convenga, de los 4 canales laterales D (2a, 2b, 2c, y 2d). Por la presurización o despresurización anteriormente descrita, como se muestra en la Fig. 10(a), la primera muestra o disolución de reactivo suministrada en el primer canal lateral S/R (3a) pasa a través de una parte de cruce entre el primer canal lateral S/R (3a) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el primer canal lateral D (2a) y una parte de cruce entre el primer canal y el segundo canal lateral D (2b), y es transportada al primer canal lateral D (2a) y el segundo canal lateral D (2b). La segunda muestra o disolución de reactivo suministrada en el segundo canal lateral S/R (3b) pasa a través de una parte de cruce

entre el segundo canal lateral S/R (3b) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el segundo canal lateral D (2b) y una parte de cruce entre el primer canal (1) y el tercer canal lateral D (2c), y es transportada al segundo canal lateral D (2b) y el tercer canal lateral D (2c). Además, la tercera muestra o disolución de reactivo suministrada en el tercer canal lateral S/R (3c) pasa a través de una parte de cruce entre el tercer canal lateral S/R (3c) y el primer canal (1), y adicionalmente pasa a través de cada una de las 2 partes de cruce de una parte de cruce entre el primer canal (1) y el tercer canal lateral D (2c) y una parte de cruce entre el primer canal (1) y el cuarto canal lateral D (2d), y es transportada al tercer canal lateral D (2c) y el cuarto canal lateral D (2d). A continuación, como se muestra en la Fig. 10(b), la primera muestra o disolución de reactivo dispuesta en la parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) y la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b), la segunda muestra o disolución de reactivo dispuesta en una parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1b) del segundo canal lateral D (2b) y la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c), y la tercera muestra o disolución de reactivo dispuesta en la parte del primer canal (1) formado (intercalado) por la abertura (2-1c) del tercer canal lateral D (2c) y la abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) son cada una transportadas aguas abajo a lo largo del primer canal. A este respecto, en un primer canal lateral D (2a) posicionado en el lado más aguas arriba, no solo puede recibirse (entrar) la primera muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas arriba que la parte del primer canal en la que se abre dicha abertura (2-1a) del primer canal lateral D (2a) posicionado lo más aguas arriba. Además, en un cuarto canal lateral D (2d) posicionado en el lado más aguas abajo, no solo puede recibirse (entrar) la tercera muestra o disolución de reactivo, sino también un medio de electroforesis presente en la región del primer canal más aguas abajo que la parte del primer canal en el que se abre dicha abertura (2-1d) del cuarto canal lateral D (2d) posicionado lo más aguas abajo.

En la descripción anterior, la fuerza (presión) a aplicar (presurización o despresurización) puede ser a cualquier nivel, en tanto que sea suficiente para introducir una muestra o una disolución de reactivo especificada en el primer canal, y se selecciona adecuadamente en un intervalo normalmente usado en este campo. Además, la fuerza (presión) a aplicar (presurización o despresurización) depende de la propiedad de una muestra o una disolución de reactivo que va a introducirse y la forma de un canal (el primer canal, un canal lateral D o un canal lateral S/R), y puede ser igual o diferente en cada parte de aplicación.

5. Muestra y disolución de reactivo

Como se usa en el presente documento, una muestra o una disolución de reactivo es una disolución como se describe después, y "2 o más tipos de muestra y/o disolución de reactivo" significa una pluralidad de disoluciones adecuadamente seleccionadas de una muestra o una disolución de reactivo tal.

(1) Muestra

Como muestra normalmente se incluye una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo (un analito, una muestra, un análogo, y una disolución que contiene un analito o un análogo) como se muestra a continuación.

(a) Analito

Un analito incluye, por ejemplo, una cadena de nucleótidos (una cadena de oligonucleótidos y una cadena de polinucleótidos); un cromosoma; una cadena de péptidos (péptido C y angiotensina I), una proteína [procalcitonina, inmunoglobulina A (IgA), inmunoglobulina E (IgE), inmunoglobulina G (IgG), inmunoglobulina M (IgM), inmunoglobulina D (IgD), β_2 -microglobulina, albúmina, un producto de descomposición de las mismas, y una proteína del suero tal como ferritina]; una enzima [una amilasa (tipo pancreático, tipo glándula salival y tipo X), una fosfatasa alcalina (hepática, ósea, placentaria e intestinal pequeña), una fosfatasa ácida (PAP), una γ -glutamyl transferasa (renal, pancreática y hepática), una lipasa (tipo pancreático y tipo gástrico), una creatina cinasa (CK-1, CK-2 y mCK), una lactato deshidrogenasa (LDH1 a LDH5), una glutamato oxaloacetato transaminasa (ASTm y ASTs), una glutamato-piruvato transaminasa (ALTm y ALTs), una colina esterasa (ChE1 a ChE5), una leucina aminopeptidasa (C-LAP, AA y CAP), renina, una proteína cinasa y una tirosina cinasa]; un microorganismo tal como bacterias (bacteria de la tuberculosis, organismos neumocócicos, organismos de la difteria, meningococos, gonococos, estafilococos, estreptococos, bacterias entéricas, bacilo coliforme y *Helicobacter pylori*), virus (virus de la rubeola, virus del herpes, virus de la hepatitis, virus de la LTA, virus del SIDA, virus de la gripe, adenovirus, enterovirus, virus de la poliomielitis, virus de EB, VHA, VHB, VHC, VIH y VLTH), hongos (candida y criptococos), espiroquetas (leptospira, *Treponema pallidum*), clamidia y micoplasma; una proteína, un péptido o un antígeno de hidrato de carbono derivado de dichos microorganismos; diversos alérgenos causantes de broncoespasmo, rinitis alérgica y dermatitis atópica (un alérgeno derivado del polvo doméstico, ácaros tales como *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus*, polen de cedro, ciprés, *Paspalum thunbergii*, ambrosia, hierba timotea, hierba dulce primaveral y centeno, un animal tal como un gato, un perro o un cangrejo, alimentos tales como arroz y clara de huevo, un hongo, un insecto, madera, un fármaco o una sustancia química); lípidos (lipoproteína); proteasas (tripsina, plasmina y serina proteasa); un marcador tumoral de antígeno de proteína (PSA, PGI y PGII); un antígeno de hidrato de carbono [AFP (L1 a L3), hCG (familia hCG), transferrina, IgG, tiroglobulina, factor de aceleración de la degradación (DAF), antígeno carcinoembrionario

(CEA, NCA, NCA-2 y NFA), CA19-9, PIVKA-II, CA125, antígeno específico de la próstata, un marcador tumoral de antígeno de hidrato de carbono que tiene una cadena de hidratos de carbono (azúcar) particular producida por célula cancerosa y un antígeno de hidrato de carbono ABO]; una cadena de hidratos de carbono (azúcar) [ácido hialurónico, β -glucano y una cadena de hidratos de carbono (azúcar) contenida en el antígeno de hidrato de carbono anteriormente descrito]; una proteína de unión a cadena de hidratos de carbono (azúcar) (proteína de unión a ácido hialurónico y proteína de unión a β -glucano); lectina (concanavalina A, lectina de lenteja, lectina de alubia, lectina de baya del espino y lectina de germen de trigo); un fosfolípido (cardiolipina); lipopolisacárido (endotoxina); sustancias químicas (hormonas tales como PTH, T3, T4, TSH, insulina, LH, FSH y prolactina, productos químicos de alteración endocrina tales como tributilestaño, nonilfenol, 4-octilfenol, ftalato de di-n-butilo, ftalato de dicitlohexilo, benzofenona, octacloroestireno y ftalato de di-2-etilhexilo); un receptor (receptor para estrógeno y TSH); un ligando (estrógeno y TSH); y anticuerpos para los mismos. Entre los anteriormente descritos, el procedimiento de la presente invención es útil para el análisis (determinación cuantitativa) de una glucoproteína que tiene una estructura de cadenas de hidratos de carbono (azúcar) diferente, una cadena de nucleótidos (cadena de oligonucleótidos y cadena de polinucleótidos) y una cadena de péptidos (incluyendo polipéptidos), y es especialmente útil para una glucoproteína que tiene una estructura de cadenas de hidratos de carbono (azúcar) diferente. A este respecto, como la estructura de cadenas de hidratos de carbono (azúcar) es conocida por cambiarse en una enfermedad particular tal como cáncer, y se informa de su utilidad en el laboratorio clínico (química clínica), la glucoproteína que tiene una estructura de cadenas de hidratos de carbono (azúcar) diferente puede volver a evaluarse para su utilidad en el laboratorio clínico (química clínica) usando el procedimiento de la presente invención. Además, la separación de un tipo mutante generado por mutación ínfima o sustitución de una cadena de nucleótidos (una cadena de oligonucleótidos o una cadena de polinucleótidos) o una cadena de péptidos (incluyendo polipéptidos) del tipo natural se ha considerado una importante diana analítica en el campo de la biología molecular y laboratorio clínico molecular (química clínica) y, por tanto, analizando (determinando la cantidad) este tipo mutante y/o tipo natural usando el procedimiento de la presente invención se aumentará la posibilidad de encontrar algunos factores valiosos en el laboratorio clínico (química clínica).

25 (b) Muestra que contiene un analito

Una muestra que contiene un analito descrito anteriormente puede ejemplificarse por las siguientes: muestras derivadas de origen biológico que incluyen fluido corporal tal como suero, plasma, fluido espinal, fluido sinovial, fluido linfático, excreciones tales como orina, heces, expectoración, materia purulenta, exfoliación dérmica, muestras ambientales tales como comida, bebida, agua corriente, agua de mar, agua de lagos y pantanos, agua de río, agua residual de fábricas, aguas de lavado para semiconductores, aguas de lavado después de lavar instrumentos médicos; y sus productos procesados reconstituidos disolviendo en agua o un tampón normalmente usado en este campo tal como tampón Tris, tampón fosfato, tampón Veronal, tampón borato, tampón de Good. A este respecto, una muestra engloba una que contiene analitos como se ha descrito anteriormente producidos por síntesis química.

35 (c) Análogo [un análogo marcado con una sustancia marcadora y un análogo unido a una sustancia que puede cambiar la movilidad electroforética del analito o análogo del mismo]

Un análogo es una sustancia a la que una CFS, que se une al analito diana para el análisis en una muestra, puede unirse. En otras palabras, un análogo es una sustancia que tiene el mismo sitio de unión que el sitio de unión presente en un analito en dicha muestra al que puede unirse una CFS. Una sustancia tal incluye, por ejemplo, la misma que un analito en una muestra, una diana de un análisis; una en la que una parte de una estructura de un analito en una muestra se modifica, altera, desnaturaliza, elimina (llamado análogo). Ejemplos de una sustancia son, por ejemplo, proteína recombinante introducida con mutación parcial en un analito en una muestra, una diana de un análisis; un péptido con una secuencia de péptidos parcialmente modificada de un analito en una muestra, una diana de un análisis; una cadena de nucleótidos con secuencia de nucleótidos parcialmente modificada de un analito en una muestra y una diana de un análisis. A este respecto, ejemplos específicos de un analito en una muestra, una diana de un análisis, son como se han descrito anteriormente.

A este respecto, un análogo marcado con una sustancia marcadora (que puede abreviarse en lo sucesivo un análogo marcado) y un análogo unido a una sustancia que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (que puede abreviarse en lo sucesivo un análogo de mejora de la reacción) son aquellos en los que una sustancia marcadora o una sustancia que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (que puede abreviarse en lo sucesivo una sustancia de mejora de la reacción) se une a las sustancias anteriormente descritas, y ejemplos específicos y realizaciones preferibles de una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción son como se describen después. Además, un procedimiento de unión de una sustancia marcadora o una sustancia de mejora de la reacción a las sustancias anteriormente descritas puede estar de acuerdo con un procedimiento que es similar a un procedimiento de unión entre una sustancia de mejora de la reacción y una CFS o un procedimiento de marcado de una CFS por una sustancia marcadora, que se va a describir después.

La cantidad usada de análogo (análogo marcado o análogo de mejora de la reacción) no se describe simplemente debido a la dependencia del tipo de análogo (análogo marcado o análogo de mejora de la reacción) que va a usarse, o el tipo o concentración usada de CFS.

Más específicamente, un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) puede estar contenido en una disolución (por ejemplo, una disolución que contiene un analito y un análogo, una disolución que contiene un análogo, una disolución que contiene un análogo y una CFS), de manera que la cantidad usada del análogo (el análogo marcado o el análogo de mejora de la reacción) en una disolución como se ha descrito anteriormente es, como límite inferior, normalmente no inferior a 10 pM, preferentemente no inferior a 1 nM y más preferentemente no inferior a 100 nM, y como límite superior, normalmente no superior a 10 µM, preferentemente no superior a 1 µM y más preferentemente no superior a 500 nM.

(d) Disolución que contiene analito o análogo

“Una disolución que contiene un analito o un análogo”, como se usa en el presente documento, significa una disolución que incluye un analito (una muestra que incluye el analito) o un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción), como se ha descrito anteriormente.

Una disolución tal incluye (a) una muestra que incluye por sí misma un analito, como se ha descrito anteriormente, (b) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (en otras palabras, una disolución que incluye un complejo entre un analito y no menos de un tipo de CFS), (c) una disolución que contiene un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción), (d) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) (en otras palabras, una disolución que incluye un analito y un análogo), (e) una disolución que contiene un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) y no menos de un tipo de CFS (en otras palabras, una disolución que incluye un complejo entre un análogo y no menos de un tipo de CFS), (f) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) y no menos de un tipo de CFS.

A este respecto, como disolución (b) o (e) anterior, por ejemplo, cuando se usan 2 o más tipos de CFS, se incluye específicamente una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre una parte de las CFS entre todas las CFS que se unen finalmente con un analito o un análogo del mismo (una parte de las CFS completas), y un analito o un análogo del mismo, en otras palabras, una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre menos CFS que las CFS que componen un complejo finalmente formado entre un analito o un análogo del mismo y 2 o más tipos de CFS, y un analito o el análogo del mismo. Concretamente, por ejemplo, cuando se usan 2 tipos de CFS, es una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un tipo de CFS y un analito o el análogo del mismo. Y, por ejemplo, cuando se usan 3 tipos de CFS, es una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un tipo de una CFS y un analito o un análogo del mismo, y una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre 2 tipos de CFS y un analito o un análogo del mismo (en este caso, también cuando se usan 4 o más tipos de CFS la forma de pensar es la misma que en estos casos).

Más específicamente, por ejemplo, como se describirá después, cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y una CFS que tienen la propiedad de poder formar un complejo entre un analito o un análogo del mismo y la sustancia, y que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (que puede abreviarse en lo sucesivo una CFS de mejora de la reacción) en combinación como una CFS, una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un analito y dicha CFS, y una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un analito y una CFS de mejora de la reacción, se corresponden con una disolución (b) como se ha descrito anteriormente; y cuando se usan una CFS que tiene la propiedad de poder formar un complejo entre un analito o un análogo del mismo y la sustancia, y se marca con una sustancia marcadora (que puede abreviarse en lo sucesivo CFS marcada) y una CFS de mejora de la reacción en combinación como una CFS, una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un analito y una CFS marcada, y una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un analito y una CFS de mejora de la reacción, se corresponde con una disolución (b) como se ha descrito anteriormente. Además, cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y una CFS marcada por una sustancia marcadora que tiene la propiedad de poder formar un complejo entre un analito o un análogo del mismo y la sustancia, y que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (que puede abreviarse en lo sucesivo CFS de mejora de la reacción marcada) en combinación como una CFS, una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un analito y dicha CFS, y una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre un analito y una CFS de mejora de la reacción marcada, se corresponden con una disolución (b) como se ha descrito anteriormente.

A este respecto, en la descripción anterior, normalmente, una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS es generalmente una disolución de reacción obtenida mezclado adecuadamente una muestra que incluye un analito como se ha descrito anteriormente (que no incluye una CFS) y una disolución que incluye una CFS como se describirá después.

La disolución (e) anterior incluye, más específicamente, por ejemplo, cuando se usa un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción, y cuando se usan 2 o más tipos de CFS, una disolución que contiene, similarmente a como se ha descrito anteriormente, un complejo (un complejo intermedio) entre una parte de las CFS entre todas las CFS

que se unen finalmente con un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción (una parte de las CFS completas), y un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción, en otras palabras, una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre menos CFS que las CFS que componen un complejo finalmente formado entre un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción y 2 o más tipos de CFS, y un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción. A este respecto, en la descripción anterior, normalmente, una disolución que contiene un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) es generalmente una disolución de reacción obtenida mezclando adecuadamente una disolución que incluye un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción y una disolución que incluye una CFS como se describirá después.

Además, como disolución (d) anterior se incluye, por ejemplo, una disolución que contiene un analito en una muestra, y un análogo marcado con una sustancia marcadora (un análogo marcado) o un análogo unido con una sustancia de mejora de la reacción (un análogo de mejora de la reacción). A este respecto, una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo es normalmente y generalmente una disolución mixta obtenida mezclando adecuadamente una muestra que incluye un analito (que no contiene una CFS) y una disolución que incluye un análogo.

Como disolución (f) anterior se usa más específicamente, por ejemplo, cuando un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción, y cuando se usan 2 o más tipos de CFS, una disolución que contiene, similarmente a como se ha descrito anteriormente, un complejo (un complejo intermedio) entre una parte de CFS entre todas las CFS que se unen finalmente con un analito y/o un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción), y un analito y/o un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción) (una parte de las CFS completas), en otras palabras, una disolución que contiene un complejo (un complejo intermedio) entre menos CFS que las CFS que componen un complejo finalmente formado entre un analito y/o un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción) y 2 o más tipos de CFS, y un analito y/o un análogo marcado (o se decide un análogo de mejora de la reacción). A este respecto, una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) y no menos de un tipo de CFS es normalmente y generalmente una disolución de reacción obtenida mezclando adecuadamente una muestra que tiene un analito como se ha descrito anteriormente, una disolución que contiene un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción, y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS.

En la descripción anterior, (a) una muestra que incluye un analito es como se ha descrito anteriormente. Además, como disolución que va a usarse que contiene un analito, y un análogo en disoluciones (b) a (f), se usa una cualquiera, en tanto que no inhiba la formación de un complejo entre un analito y una CFS, y/o un complejo entre un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) y una CFS, y están incluidas, por ejemplo, agua, y una disolución tampón.

Como tal disolución tampón se incluye una que tiene acción de tampón a un intervalo de pH de normalmente 5 a 11, y normalmente usada en este campo. Ejemplos de la disolución tampón incluyen tampón Tris, tampón de Good, tampón TE, tampón TAE, tampón TBE, tampón TBS, un tampón fosfato, un tampón borato y la concentración de uso de los mismos está normalmente en un intervalo de 1 mM a 2 M, y preferentemente 10 mM a 1 M, y el pH es normalmente 5 a 11, preferentemente 5 a 10, más preferentemente 5,5 a 8,5, adicionalmente preferentemente 6 a 8 y particular y preferentemente alrededor de 7.

(2) Disolución de reactivo

Como disolución de reactivo normalmente se incluye, como se describirá más adelante, una disolución que contiene una CFS.

(a) CFS y una disolución que contiene la misma

Como se usa en el presente documento, "una sustancia que puede formar un complejo con un analito o un análogo del mismo (CFS)" significa una sustancia que puede formar un complejo entre un analito o un análogo del mismo y la CFS, concretamente, un complejo que contiene el analito o el análogo del mismo y la CFS como constituyente uniendo con un analito o el análogo del mismo como se ha descrito anteriormente, o uniendo con el analito o el análogo del mismo mediante otras CFS.

Tal CFS significa la sustancia que se une con un analito o un análogo del mismo por interacción tal como una reacción de "antígeno"- "anticuerpo", una reacción de "cadena de hidratos de carbono (azúcar)"-"proteína", reacción de "cadena de hidratos de carbono (azúcar)"-"lectina", reacción de "enzima"- "inhibidor", reacción de "proteína"- "cadena de péptidos" o reacción de "cadena de cromosomas o nucleótidos"- "cadena de nucleótidos". Cuando una de las sustancias en los pares anteriormente mencionados es el analito o el análogo del mismo, la otra es la CFS. Por ejemplo, cuando un analito o un análogo del mismo es un "antígeno", una CFS es un "anticuerpo", y cuando un analito o un análogo del mismo es un "anticuerpo", una CFS es un "antígeno" (lo mismo se aplica a los otros pares anteriores). Más específicamente, una sustancia tal incluye, por ejemplo, una cadena de nucleótidos (una cadena de oligonucleótidos y

una cadena de polinucleótidos); un cromosoma; una cadena de péptidos (péptido C y angiotensina I), una proteína [procalcitonina, inmunoglobulina A (IgA), inmunoglobulina E (IgE), inmunoglobulina G (IgG), inmunoglobulina M (IgM), inmunoglobulina D (IgD), β_2 -microglobulina, albúmina, un producto de descomposición de las mismas, y una proteína del suero tal como ferritina]; una enzima [una amilasa (tipo pancreático, tipo glándula salival y tipo X), una fosfatasa alcalina (hepática, ósea, placentaria e intestinal pequeña), una fosfatasa ácida (PAP), una γ -glutamyl transferasa (renal, pancreática y hepática), una lipasa (tipo pancreático y tipo gástrico), una creatina cinasa (CK-1, CK-2 y mCK), una lactato deshidrogenasa (LDH1 a LDH5), una glutamato oxaloacetato transaminasa (ASTm y ASTs), una glutamato-piruvato transaminasa (ALTm y ALTs), una colina esterasa (ChE1 a ChE5), una leucina aminopeptidasa (C-LAP, AA y CAP), renina, una proteína cinasa y una tirosina cinasa]; un microorganismo tal como bacterias (bacteria de la tuberculosis, organismos neumocócicos, organismos de la difteria, meningococos, gonococos, estafilococos, estreptococos, bacterias entéricas, bacilo coliforme y *Helicobacter pylori*), virus (virus de la rubeola, virus del herpes, virus de la hepatitis, virus de la LTA, virus del SIDA, virus de la gripe, adenovirus, enterovirus, virus de la poliomielitis, virus de EB, VHA, VHB, VHC, VIH y VLTH), hongos (candida y criptococos), espiroquetas (leptospira, *Treponema pallidum*), clamidia y micoplasma; una proteína, un péptido o un antígeno de hidrato de carbono derivado de dichos microorganismos; diversos alérgenos causantes de broncoespasmo, rinitis alérgica y dermatitis atópica (un alérgeno derivado del polvo doméstico, ácaros tales como *Dermatophagoides farinae* y *Dermatophagoides pteronyssinus*, polen de cedro, ciprés, *Paspalum thunbergii*, ambrosía, hierba timotea, hierba dulce primavera y centeno, un animal tal como un gato, un perro o un cangrejo, alimentos tales como arroz y clara de huevo, un hongo, un insecto, madera, un fármaco o una sustancia química); lípidos (lipoproteína); una proteasa (tripsina, plasmina y serina proteasa); un marcador tumoral de antígeno de proteína (PSA, PGI y PGII); un antígeno de hidrato de carbono [AFP (L1 a L3), hCG (familia hCG), transferrina, IgG, tiroglobulina, factor de aceleración de la degradación (DAF), antígeno carcinoembrionario (CEA, NCA, NCA-2 y NFA), CA19-9, PIVKA-II, CA125, antígeno específico de la próstata, un marcador tumoral de antígeno de hidrato de carbono que tiene una cadena de hidratos de carbono (azúcar) particular producida por célula cancerosa y un antígeno de hidrato de carbono ABO]; una cadena de hidratos de carbono (azúcar) [ácido hialurónico, β -glucano y cadena de hidratos de carbono (azúcar) contenida en el antígeno de hidrato de carbono anteriormente descrito]; una proteína de unión a cadena de hidratos de carbono (azúcar) (proteína de unión a ácido hialurónico y proteína de unión a β -glucano); lectina (concanavalina A, lectina de lenteja, lectina de alubia, lectina de baya del espino y lectina de germen de trigo); un fosfolípido (cardiolipina); lipopolisacárido (endotoxina); sustancias químicas (hormonas tales como PTH, T3, T4, TSH, insulina, LH, FSH y prolactina, productos químicos de alteración endocrina tales como tributilestano, nonilfenol, 4-octilfenol, ftalato de di-n-butilo, ftalato de dicitohexilo, benzofenona, octacloroestireno y ftalato de di-2-etilhexilo); un receptor (receptor para estrógeno y TSH); un ligando (estrógeno y TSH); y anticuerpos para los mismos. A este respecto, el anticuerpo engloba un producto de descomposición tal como fragmentos Fab y F(ab')₂ producidos por la degradación con una enzima proteolítica (proteínasa) tal como papaína o pepsina o por degradación química.

35 La CFS descrita anteriormente puede usarse sola o en combinación con dos o más tipos.

A este respecto, cuando dos o más tipos de las CFS se usan en combinación (juntas), el sitio de unión de cada CFS no está especialmente limitado, en tanto que dos o más tipos de las CFS puedan formar un complejo con un analito o un análogo del mismo. Los sitios de unión que van a unirse por tales CFS incluyen, por ejemplo, el caso cuando todos los sitios de unión que van a unirse por dos o más de las CFS están presentes en el analito o el análogo del mismo [forma de unión (1)]; el caso cuando el sitio de unión que va a unirse por al menos un tipo de CFS (por ejemplo, CFS A) entre dos o más de las CFS está presente solo en el analito o el análogo del mismo, y el sitio de unión que va a unirse por otro al menos un tipo de la CFS (por ejemplo, sustancia de unión a complejo B) está presente en un sitio recientemente generado por formación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y la CFS A [forma de unión (2)]; y el caso cuando el sitio de unión que va a unirse por al menos un tipo de CFS (por ejemplo, CFS A) entre dos o más de las CFS está presente solo en el analito o el análogo del mismo, y el sitio de unión que va a unirse por otro al menos un tipo de la CFS (por ejemplo, CFS B) está presente solo en la CFS A [forma de unión (3)]. A continuación, entre estos es preferible que los sitios de unión que van a unirse por cada una de las dos o más CFS sean diferentes. A este respecto, en la forma de unión (2), la sustancia que tiene la propiedad de unirse específicamente a un sitio recientemente generado (una CFS) incluye, por ejemplo, un anticuerpo, una cadena de péptidos y una cadena de nucleótido, que pueden reconocer un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, y puede unirse a los mismos.

Como CFS como se ha descrito anteriormente es preferible una que se une con un analito o un análogo del mismo por una reacción de "antígeno"-anticuerpo" o una reacción de "cadena de hidratos de carbono (azúcar)"-"proteína". Específicamente, es preferible un anticuerpo para un analito o un análogo del mismo, o un antígeno unido con un analito o un análogo del mismo, o una proteína que se une a un analito o un análogo del mismo, y un anticuerpo para un analito o un análogo del mismo, o es más preferible una proteína que se une a un analito o un análogo del mismo.

Una CFS como se ha descrito anteriormente puede unirse con una sustancia marcadora y/o una sustancia que puede cambiar la movilidad electroforética (en lo sucesivo se abrevia una sustancia de mejora de la reacción) de un analito o un análogo del mismo y puede producir (1) una CFS que tiene la propiedad de poder formar un complejo con un analito o un análogo del mismo y que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (en lo

5 sucesivo abreviado CFS de mejora de la reacción o CFS de mejora de la reacción), (2) una CFS que tiene la propiedad de poder formar un complejo con un analito o un análogo del mismo y marcado con una sustancia marcadora (una CFS marcada), y (3) una CFS marcada con una sustancia marcadora, que tiene la propiedad de poder formar un complejo con un analito o un análogo del mismo y que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (una CFS de mejora de la reacción marcada).

10 Usando una CFS unida con una sustancia de mejora de la reacción, la movilidad electroforética de una CFS puede cambiarse, y el orden de disposición de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que incluye no menos de un tipo de CFS puede controlarse arbitrariamente, y puede potenciarse la eficiencia en concentración de un analito o un análogo del mismo y/o una CFS, y la reacción de un analito o un análogo del mismo y una CFS (una reacción de formación de complejo).

Además, usando una CFS unida con una sustancia marcadora, puede medirse (detectarse) un analito en una muestra.

(a-1) Una CFS de mejora de la reacción

15 Una CFS de mejora de la reacción es una que tiene la propiedad de poder formar un complejo entre un analito o un análogo del mismo y la sustancia, y que puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo, en otras palabras, una que tiene la propiedad de poder generar una diferencia en el comportamiento (movilidad electroforética) de dicho analito o análogo del mismo correspondiente a la operación de electroforesis que forma un complejo con un analito o un análogo del mismo, y una que puede hacer la movilidad electroforética de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS de mejora de la reacción (o un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS distinta de una CFS de mejora de la reacción) mayor o menor que la movilidad electroforética (más rápida o más lenta que la movilidad electroforética) de un analito o un análogo del mismo (un analito o un análogo del mismo no unido con una CFS de mejora de la reacción).

25 Como tal CFS de mejora de la reacción, las CFS anteriormente descritas unidas con las siguientes sustancias de mejora de la reacción son generalmente: Por ejemplo, un óxido metálico inorgánico tal como sílice y alúmina; un metal tal como oro, titanio, hierro y níquel; un óxido metálico inorgánico introducido con un grupo funcional por una operación tal como tratamiento de acoplamiento de silano; organismos tales como diversos microorganismos y células eucariotas; un polisacárido tal como agarosa, celulosa y dextrano insoluble; compuestos de polímeros sintéticos tales como látex de poliestireno, un copolímero de estireno-butadieno, un copolímero de estireno-ácido metacrílico, un copolímero de acroleína-dimetacrilato de etilenglicol, látex de estireno-ácido estirenosulfónico, poli(acrilamida), poli(metacrilato de glicidilo), partículas recubiertas de poli(acroleína), poli(acrilonitrilo) reticulado, polímeros basados en éster de ácido acrílico o éster de acrilato, un copolímero de acrilonitrilo-butadieno, un copolímero de cloruro de vinilo-éster de acrilato y un copolímero de poli(acetato de vinilo)-acrilato; biomoléculas tales como un eritrocito, un azúcar, un ácido nucleico (polinucleótido tal como ARN, ADN), una proteína, un polipéptido y un poliaminoácido (ácido poliglutámico, ácido poliaspártico, polilisina); lípidos. Sin embargo, por ejemplo, una sustancia de mejora de la reacción puede unirse a un analito o un análogo del mismo por un procedimiento de unión química tal como un procedimiento de introducción de un grupo funcional en la superficie de una sustancia de mejora de la reacción y posteriormente unión a un analito o un análogo del mismo mediante este grupo funcional; mediante un procedimiento de unión entre una sustancia de mejora de la reacción y un analito o un análogo del mismo mediante un ligador. A este respecto, en la descripción anterior, una sustancia de mejora de la reacción es una que tiene la propiedad de poder proporcionar una propiedad como CFS de mejora de la reacción como se ha descrito anteriormente a dicha CFS, uniéndose a una CFS. Concretamente, una sustancia de mejora de la reacción es una que tiene la propiedad de poder cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo, en otras palabras, una que tiene la propiedad de poder generar una diferencia en el comportamiento (movilidad electroforética) de dicho analito o análogo del mismo correspondiente a la operación de electroforesis, mediante una CFS, formando un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS (o un complejo entre un analito o un análogo del mismo, una CFS de mejora de la reacción y una CFS distinta de una CFS de mejora de la reacción), y así poder hacer la movilidad electroforética de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS de mejora de la reacción mayor o menor que la movilidad electroforética (más rápida o más lenta que la movilidad electroforética) de un analito o un análogo del mismo o un complejo entre un analito o análogo del mismo no unido con una CFS de mejora de la reacción y una CFS. Entre aquellas, como CFS de mejora de la reacción se prefieren aquellas obtenidas uniéndose un ácido nucleico (una cadena de nucleótido), una proteína, un polipéptido o un poliaminoácido a una CFS como se ha descrito anteriormente, y son más preferibles aquellas obtenidas uniéndose un ácido nucleico (una cadena de nucleótido) o un poliaminoácido a una CFS. Además, como sustancia de mejora de la reacción se prefieren aquellas que incluyen un anticuerpo como CFS, específicamente se prefieren aquellas obtenidas uniéndose un ácido nucleico (una cadena de nucleótido), una proteína, un polipéptido o un poliaminoácido como sustancia de mejora de la reacción a un anticuerpo como CFS, y entre otras son particularmente preferibles aquellas obtenidas uniéndose un ácido nucleico (una cadena de nucleótido) o un poliaminoácido, como sustancia de mejora de la reacción, a un anticuerpo como CFS.

Para hacer que una sustancia de mejora de la reacción se una a una CFS, concretamente, para preparar una CFS de mejora de la reacción puede aplicarse cualquier procedimiento común usado en este campo, por ejemplo, un

procedimiento de marcado conocido generalmente usado en procedimientos de EIA, RIA, FIA conocidos o un procedimiento de hibridación (por ejemplo, Ikagaku Jikken Koza (Experimental Manual in Medical Chemistry), vol. 8, editado por Yuichi Yamamura, 1ª ed., Nakayama Shoten Co., Ltd., 1971; Zusetu (Illustrative Description) Fluorescent Antibodies, Akira Kawao, 1ª ed., Softscience Co., Ltd., 1983; Enzyme Immunoassay, Eiji Ishikawa, Tadashi Kawai, Kiyoshi Miyai, 3ª ed., Igaku-Shoin Ltd., 1987; Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2ª ed., J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Handbook of Fluorescent Probe and Research Chemicals, 7ª ed., Capítulo 8, Molecular Probe Inc.; documento WO 2002/082083); o un procedimiento común que utiliza una reacción entre avidina (o estreptavidina) y biotina.

A este respecto, cuando se usa una CFS de mejora de la reacción como CFS, es preferible el uso combinado (uso paralelo) de una CFS marcada como se ha descrito anteriormente. Sin embargo, cuando una CFS de mejora de la reacción es medible (detectable) mediante cualquier procedimiento, o permite marcarse por una sustancia marcadora, no es necesario el uso combinado de una CFS marcada.

Además, cuando se usan una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción en combinación (se usan paralelamente) como CFS, y en tanto que se forme un complejo entre 3 componentes de un analito o un análogo del mismo, una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción, las formas de unión de estos 3 componentes o sitios de unión de una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción no están especialmente limitados. Tales formas de unión incluyen, por ejemplo, (1) un llamado complejo de sándwich en el que un analito o un análogo del mismo se empareda por una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción, (2) un complejo en el que una CFS de mejora de la reacción o una CFS marcada se une adicionalmente en un sitio de unión con un analito o un análogo del mismo y una CFS marcada o una CFS de mejora de la reacción y (3) un complejo en el que una CFS de mejora de la reacción o una CFS marcada se une adicionalmente en una CFS marcada o una CFS de mejora de la reacción unida con un analito o un análogo del mismo. Además, dichos restos de unión incluyen, por ejemplo, (1) el caso cuando todos los sitios de unión de una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción estén presentes solo en un analito o un análogo del mismo [forma de unión (1)], (2) el caso cuando cualquiera de los sitios de unión de una CFS marcada o una CFS de mejora de la reacción esté presente solo en un analito y un análogo del mismo, y el otro sitio de unión esté presente en un nuevo sitio generado por formación de un complejo entre un analito y cualquiera de dicha CFS marcada y CFS de mejora de la reacción [forma de unión (2)], (3) cualquiera de los sitios de unión de una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción esté presente solo en un analito o un análogo del mismo, mientras que el otro sitio de unión esté presente en solo cualquiera de dicha CFS marcada y CFS de mejora de la reacción [forma de unión (3)] y (4) el caso de combinaciones de los mismos. Entre aquellos, un sitio de unión de una CFS marcada y un sitio de unión de una CFS de mejora de la reacción es preferentemente uno diferente. A este respecto, en la descripción anterior (2), como uno que tiene la propiedad de unirse específicamente en un sitio recientemente generado (una CFS marcada y/o una CFS de mejora de la reacción) están incluidos, por ejemplo, un anticuerpo, una cadena de péptidos y una cadena de nucleótidos, que permite reconocer un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS marcada y/o una CFS de mejora de la reacción, y puede unirse a los mismos.

(a-2) Una CFS marcada

Una CFS como se ha descrito anteriormente es generalmente una medible (detectable) por sí misma mediante cualquier procedimiento, o permite marcarse por una sustancia marcadora. Usando una que tiene tal propiedad, un analito o un análogo del mismo en una muestra puede medirse (detectarse). A este respecto, cuando un analito o un análogo del mismo es por sí mismo detectable mediante cualquier procedimiento (por ejemplo, una enzima), o un analito o un análogo del mismo se une directamente a una sustancia marcadora sin usar (no mediante) una CFS, un analito o un análogo del mismo en una muestra puede medirse (detectarse) incluso cuando dicha CFS pueda no tener la propiedad anteriormente descrita. Ejemplos de aquellas detectables por sí mismas mediante cualquier procedimiento incluyen una enzima, un colorante, una sustancia fluorescente, una sustancia luminiscente, una sustancia que tiene absorción en la región UV.

Entre aquellas, como CFS, es preferible una sustancia que forme un complejo con un analito o un análogo del mismo, y se marca por una sustancia marcadora (una CFS marcada).

Como sustancia marcadora puede adoptarse una cualquiera usada en este campo tal como un inmunoensayo enzimático (EIA), un radioinmunoensayo (RIA), un inmunoensayo fluorescente (FIA), un procedimiento de hibridación. Una sustancia marcadora tal incluye, por ejemplo, enzimas tales como fosfatasa alcalina (ALP), β -galactosidasa (β -Gal), peroxidasa (POD), microperoxidasa, glucosa oxidasa (GOD), glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G6PDH), malato deshidrogenasa y luciferasa; colorantes tales como azul brillante de Coomassie R250 y naranja de metilo; isótopos radiactivos tales como ^{99m}Tc , ^{131}I , ^{125}I , ^{14}C , ^3H , ^{32}P y ^{35}S ; colorantes tipo HiLyte tales como HiLyte Fluor 488, HiLyte Fluor 555, HiLyte Fluor 647, HiLyte Fluor 680 y HiLyte Fluor 750 (todos ellos son nombres comerciales de HiLyte Bioscience, Inc.); colorantes tipo Alexa tales como Alexa Fluor Dye 350, Alexa Fluor Dye 430, Alexa Fluor Dye 488, Alexa Fluor Dye 532, Alexa Fluor Dye 546, Alexa Fluor Dye 555, Alexa Fluor Dye 568, Alexa Fluor Dye 594, Alexa Fluor Dye 633, Alexa Fluor Dye 647, Alexa Fluor Dye 660, Alexa Fluor Dye 680, Alexa Fluor Dye 700 y Alexa Fluor Dye 750 (todos ellos son nombres comerciales de Molecular Probes, Inc.); colorantes tipo CyDye tales como Cy3, Cy3.5, Cy5,

5 Cy5.5 y Cy7 (todos ellos son nombres comerciales de Amersham Biosciences, Inc.); materiales fluorescentes tales como fluoresceína, rodamina, dansilo, fluorescamina, cumarina, naftilamina, o derivados de los mismos, colorantes fluorescentes de tierras raras [combinaciones de un metal de las tierras raras tal como samario (Sm), europio (Eu), terbio (Tb) o disprosio (Dy) y un compuesto de quelato tal como 4,4'-bis(1",1",1",2",2",3",3"-heptafluoro-4",6"-hexanodion-6"-il)clorosulfo-O-terfenilo (BHHCT), ácido 4,7-bis(clorosulfonyl)-1,10-fenantrolin-2,9-dicarboxílico (BCPDA), ácido β -naftiltrifluoroacético (β -NTA), colorantes intercalantes [por ejemplo, colorantes de acridina tales como naranja de acridina; compuestos de etidio tales como bromuro de etidio, homodímero-1 de etidio (EthD-1), homodímero-2 de etidio (EthD-2), monoazida de bromuro de etidio (EMA) y dihidroetidio; compuestos de yodo tales como yoduro de propidio y yoduro de hexidio; 7-aminoactinomicina D (7-AAD); colorantes tipo dímero de cianina tales como POPO-1, BOBO-1, YOYO-1, TOTO-1, JOJO-1, POPO-3, LOLO-1, BOBO-3, YOYO-3 y TOTO-3 (todos ellos son nombres comerciales de Molecular Probes, Inc.); colorantes tipo SYTOX tales como SYBR Gold, SYBR Green I y SYBR Green II, SYTOX Green, SYTOX Blue y SYTOX Orange (todos ellos son nombres comerciales de Molecular Probes, Inc.)], uno unido a un grupo minoritario de doble hélice de ADN [por ejemplo, 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI: nombre comercial de Molecular Probes, Inc.), pentahidrato(bis-bencimido) (Hoechst 33258: nombre comercial de Molecular Probes, Inc.) y triclóridrato (Hoechst 33342: nombre comercial de Molecular Probes, Inc.)]; colorantes tipo bencimido (Hoechst 34580: nombre comercial de Molecular Probes, Inc.)], uno específicamente unido a la secuencia de adenina-timina (A-T) [por ejemplo, colorantes de acridina tales como 9-amino-6-cloro-2-metoxiacridina (ACMA), bis(6-cloro-2-metoxi-9-acridinil)espermina (homodímero de acridina) e hidroxiestilbamidina]; materiales luminiscentes tales como luciferina, isoluminal, luminal y bis(2,4,6-trifluorofenil)oxalato; un material que tiene una absorción en la región ultravioleta tal como fenol, naftol, antraceno, o derivados de los mismos; sustancias que tienen una propiedad como agentes de marcado de espín representados por compuestos que tienen un grupo oxilo tal como 4-amino-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxilo, 3-amino-2,2,5,5-tetrametilpirrolidin-1-oxilo y 2,6-di-t-butyl- α -(3,5-di-t-butyl-4-oxo-2,5-ciclohexadin-1-iliden)-p-toliloxilo.

25 El marcado de una CFS con una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento similar a un procedimiento de marcado de una CFS con una sustancia marcadora como se ha descrito anteriormente, o un procedimiento común descrito en el documento WO 2002/082083.

(a-3) Una CFS de mejora de la reacción marcada

Además, como CFS también puede usarse una sustancia tal que se marque por una sustancia marcadora, que forma un complejo con un analito o un análogo del mismo, y puede cambiar la movilidad electroforética de un analito o un análogo del mismo (una CFS de mejora de la reacción marcada), concretamente una CFS de mejora de la reacción marcada por una sustancia marcadora. A este respecto, una sustancia marcadora y una CFS de mejora de la reacción son como se han descrito anteriormente y, por tanto, el marcado de una CFS de mejora de la reacción con una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento similar a un procedimiento de marcado de una CFS con una sustancia marcadora como se ha descrito anteriormente, o un procedimiento común descrito en el documento WO 2002/082083.

(a-4) Combinaciones de CFS

Como se ha descrito anteriormente se usan, por ejemplo, las siguientes diversas CFS. A este respecto, pueden usarse naturalmente en combinaciones adecuadas.

- (a) Una CFS no unida a una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción
- 40 (b) Una CFS marcada
- (c) Una CFS de mejora de la reacción
- (d) Una CFS de mejora de la reacción marcada
- (e) Una CFS no unida a una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una CFS de mejora de la reacción
- 45 (f) Una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción
- (g) Una CFS no unida a una sustancia marcadora, y una sustancia de mejora de la reacción, y una CFS de mejora de la reacción marcada

(a-5) Una disolución que contiene una CFS

Como disolución que contiene una CFS, como se ha descrito anteriormente, puede usarse una cualquiera, en tanto que no inhiba la formación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y dicha CFS. Tal disolución incluye, por ejemplo, agua y una disolución tampón.

- 5 Como disolución tampón tal puede usarse una cualquiera, en tanto que tenga acción tampón normalmente en un intervalo de pH de 5 a 11 y no inhiba la formación de dicha reacción de formación de complejo. Ejemplos de la disolución tampón son aquellos normalmente usados en este campo tal como tampón Tris, tampón de Good, tampón TE, tampón TAE, tampón TBE, tampón TBS, un tampón fosfato y un tampón borato. La concentración de uso de estos tampones es normalmente 1 mM a 2 M, preferentemente 10 mM a 1 M, y el pH es normalmente 5 a 11, preferentemente 5 a 10, más preferentemente 5,5 a 8,5, adicionalmente preferentemente 6 a 8 y particular y preferentemente aproximadamente 7.

- 15 La concentración de una CFS contenida en una disolución como se ha descrito anteriormente, concretamente la cantidad de uso de una CFS, no se describe simplemente debido a la dependencia de los tipos de CFS usados, sin embargo, es normalmente preferible que la CFS esté presente en la disolución de reacción (una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una CFS) a una concentración que no sea inferior a (preferentemente no inferior a 2 veces, más preferentemente no inferior a 5 veces) una concentración a la que la CFS puede unirse a todos los analitos o análogos de los mismos de una concentración correspondiente al límite de medición.

- 20 Además, el límite superior de la concentración no está especialmente limitado, sin embargo, en vista de la eficiencia económica, es normalmente no superior a 10^{12} veces (preferentemente no superior a 10^9 veces, más preferentemente no superior a 10^6 veces) la concentración a la que la CFS puede unirse a todos los analitos o análogos de los mismos de una concentración correspondiente al límite de medición.

- 25 Más específicamente, una CFS pueden estar contenida en una disolución como se ha descrito anteriormente, de manera que la concentración de una CFS en una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una CFS sea, como límite inferior, normalmente no inferior a 10 pM, preferentemente no inferior a 1 nM y más preferentemente no inferior a 100 nM, y como límite superior, normalmente no superior a 10 μ M, preferentemente no superior a 1 μ M y más preferentemente no superior a 500 nM.

(b) Las otras disoluciones

- 30 Como otras disoluciones (disoluciones de reactivo) están incluidas, por ejemplo, líquidos tales como una disolución que contiene una sustancia marcadora, una disolución que contiene reactivos (un sustrato enzimático, enzimas acopladas) requerida para la medición de una sustancia marcadora (por ejemplo, una enzima, un colorante, luminiscencia, fluorescencia), agua, solución salina fisiológica, diversas disoluciones tampón y disolventes orgánicos.

- 35 En la descripción anterior, como tampón de disolución están incluidos, por ejemplo, aquellos normalmente usados en este campo tales como tampón Tris, tampón de Good, tampón TE, tampón TAE, tampón TBE, tampón TBS, un tampón fosfato y un tampón borato; por ejemplo, un medio de electroforesis como se describirá después tal como un tampón de cabeza que contiene un ión de cabeza, un tampón de cola que contiene un ión de cola, un medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica, un medio de electroforesis que tiene pH en el intervalo alcalino, un medio de electroforesis que incluye una sustancia cargada que forma una micela, una disolución tampón para electroforesis, y conteniendo dicha disolución tampón para electroforesis cargas. Además, como disolución que va a estar contenida con una sustancia marcadora o los reactivos anteriormente descritos también se incluye una disolución tampón similar como se ha descrito anteriormente. A este respecto, la concentración y el pH de la disolución tampón puede seleccionarse adecuadamente de un intervalo normalmente usado en este campo y no está limitado específicamente, sin embargo, la concentración está normalmente en un intervalo de 1 mM a 2 M, y preferentemente 10 mM a 1 M, y el pH es normalmente 5 a 11, preferentemente 5 a 10, más preferentemente 5,5 a 8,5, adicionalmente preferentemente 6 a 8 y particular y preferentemente alrededor de 7.

- 45 6. Un procedimiento de formación de un complejo

- 50 Un procedimiento de formación de un complejo se caracteriza porque (a) una disolución (una muestra) que contiene un analito o un análogo del mismo, y una disolución (una disolución de reactivo) que contiene una sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo del mismo (CFS), se introducen cada una y se disponen en zonas separadas en un capilar (el primer canal) mediante el procedimiento de introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo de la presente invención como se ha descrito anteriormente, y (b) un analito o un análogo del mismo en una muestra y al menos un tipo de una CFS se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo y/o al menos un tipo de la CFS electroforéticamente para formar un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS aplicando voltaje sobre dicho capilar (el primer canal), sin formar un complejo entre ellos mezclando estas disoluciones con antelación fuera de un capilar.

El procedimiento de formación de un complejo no está especialmente limitado, excepto que se usa el procedimiento de introducción de disolución de la presente invención. Concretamente, como se ha descrito anteriormente, el procedimiento de introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo se lleva a cabo usando la estructura que introduce disolución, para introducir y disponer una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo tal como una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, o una disolución que contiene una CFS) en el capilar (el primer canal) de manera que cada zona independiente se forme en un canal (el primer canal). A continuación, un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de una CFS se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo y/o al menos un tipo de la CFS electroforéticamente para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y la CFS aplicando un voltaje sobre dicho capilar (el primer canal) en el que se introducen y están dispuestas estas disoluciones, sin formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y la CFS mezclando estas disoluciones con antelación fuera de un capilar.

Por tanto, un procedimiento de formación de un complejo es específicamente, por ejemplo, uno que comprende las siguientes etapas:

- 15 (a) proporcionar un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;
- (i) un primer canal (1);
- (ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada uno de dichos canales laterales D (2) una
 20 abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) están dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4); y
- (iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada dicho canal lateral S/R (3) una abertura
 25 (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) a dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada dicha abertura (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de los canales laterales D (2), en el que cada dicha abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está dispuesta en una porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de los canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5)[(a): una etapa de fabricación];
- (b) poner una muestra en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3);
- 30 (c) poner una disolución de reactivo en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b);
- (d) introducir dicha muestra en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha
 35 etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha muestra de dicho depósito S/R (5) en el que dicha muestra se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5);
- (e) introducir dicha disolución de reactivo en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5)
 40 usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución de reactivo de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución de reactivo se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) [(b) a (e): una etapa de introducción]; y
- 45 (f) hacer reaccionar un analito o un análogo del mismo en la muestra con al menos un tipo de una CFS en la disolución de reactivo mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo para formar el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, aplicando un voltaje a dicho primer canal (1) [(f): etapa de concentración y de reacción].
- 50 A este respecto, en la descripción anterior, realizaciones, ejemplos específicos y ejemplos preferibles de un analito, un análogo (un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción), una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, una muestra que contiene un analito, una CFS (una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada), una disolución que contiene el mismo, una etapa de fabricación [una etapa (a)], una estructura que introduce disolución, un dispositivo microfluídico o un sistema microfluídico usado

en una etapa de fabricación [una etapa (a)] son como se han descrito anteriormente. En general, como estructura que introduce disolución se usan un dispositivo microfluídico o un sistema microfluídico usado en un procedimiento de formación de un complejo, uno normalmente que tiene un depósito (un depósito S/R, un depósito W) y/o un puerto de acceso, un depósito aguas arriba y/o un puerto de acceso, un depósito aguas abajo y/o un puerto de acceso. Además, el primer canal de una estructura que introduce disolución y un dispositivo microfluídico tienen preferentemente al menos una región (región de reacción) en la que una muestra reacciona con una disolución de reactivo en una parte de la misma, y más preferentemente tienen al menos una región (región de concentración y de reacción) en la que al menos un tipo de una CFS reacciona con un analito o un análogo del mismo en una muestra mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo.

(1) Una etapa de introducción

Una etapa de introducción en un procedimiento de formación de un complejo es como se ha descrito anteriormente, y realizaciones, ejemplos específicos y ejemplos preferibles también son como se han descrito anteriormente.

Sin embargo, debido a que un procedimiento de formación de un complejo es uno que forma un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, una etapa de introducción en un procedimiento de formación de un complejo puede reformularse como una etapa de disponer (i) una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y (ii) al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS en el capilar (el primer canal), de manera que aplicando un voltaje a dicho capilar (el primer canal) el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS se forme sin mezclar estas disoluciones con antelación.

Una etapa de introducción en un procedimiento de formación de un complejo es una etapa de introducir y disponer una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene CFS en un capilar (el primer canal), de manera que se forme un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un capilar, y aplicar voltaje al capilar (el primer canal), concretamente llevando a cabo una etapa (f) como se describe después. Aquí, "de manera que se forme un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS aplicando un voltaje sobre un capilar" significa formar un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS poniendo en contacto el analito o análogo del mismo con la CFS, no por (no dependiendo de) difusión molecular y por utilización del fenómeno de que cuando una disolución que contiene una sustancia con mayor movilidad electroforética (velocidad electroforética más rápida) está dispuesta aguas arriba de una disolución que contiene una sustancia con menor movilidad electroforética (velocidad electroforética lenta) y se lleva a cabo la electroforesis una sustancia con mayor movilidad electroforética (velocidad electroforética más rápida) en una disolución adelanta a una sustancia con menor movilidad electroforética (velocidad electroforética lenta).

Concretamente, el procedimiento tiene como objetivo formar un complejo entre (1) un analito o un análogo del mismo, o un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una cierta CFS, y (2) al menos un tipo de una CFS (obsérvese: una CFS diferente de la descrita anteriormente) en un capilar (un primer canal) aplicando voltaje sobre un capilar (un primer canal). En otras palabras, el procedimiento incluye no solo el caso de que se forme un complejo entre un analito o un análogo del mismo, y todas las CFS, solo en un capilar (un primer canal), sino que también incluye un caso tal, por ejemplo, de que cuando se usen 2 o más tipos de CFS, se forme un complejo (un complejo intermedio) entre un analito o un análogo del mismo y una parte de CFS entre 2 o más tipos de CFS con antelación fuera de un capilar, o en un capilar (un primer canal) sin aplicación de un voltaje, y posteriormente dicho complejo intermedio y el residuo de no menos de un tipo de CFS se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) en un capilar (un primer canal) aplicando voltaje al capilar (un primer canal) para formar un complejo entre el complejo intermedio formado con antelación y el residuo de no menos de un tipo de CFS.

Por ejemplo, cuando se usan 2 tipos de CFS, tal caso incluye naturalmente que se forme (1) un complejo (un complejo intermedio) entre un analito o un análogo del mismo y un tipo de una CFS, y un complejo entre dicho complejo intermedio y un residuo de un tipo de una CFS en un capilar (un primer canal) aplicando voltaje al capilar (un primer canal), y tal caso incluye naturalmente que se forme (2) un complejo intermedio entre un analito o un análogo del mismo y un tipo de CFS con antelación fuera de un capilar, o en un capilar (un primer canal) sin aplicación de voltaje, y posteriormente dicho complejo intermedio y un residuo de tipo de CFS se forma en el capilar (un primer canal) aplicando voltaje al capilar (un primer canal). Además, por ejemplo, cuando se usan 3 tipos de CFS, el caso incluye naturalmente que se forme (1) un complejo (complejo intermedio 1) entre un analito o un análogo del mismo y un tipo de CFS (CFS-1), un complejo (complejo intermedio 2) entre dicho complejo intermedio 1 y un residuo de tipo de CFS (CFS-2) y un complejo entre el complejo intermedio 2 y un residuo de tipo de CFS (CFS-3) en un capilar (un primer canal) aplicando voltaje al capilar (un primer canal), y tales casos también incluyen que se forme (2) un complejo intermedio 1 entre un analito o un análogo del mismo y una CFS-1 con antelación fuera de un capilar, o en un capilar (un primer canal) sin aplicación de voltaje, y luego se formen un complejo intermedio 2 entre dicho complejo intermedio 1 y una CFS-2, junto con un complejo entre dicho complejo intermedio 2 y una CFS-3 en un capilar (un primer canal) aplicando voltaje al capilar (un primer canal); o (3) se formen un complejo intermedio 1 entre un analito o un análogo

del mismo y una CFS-1 y un complejo intermedio 2 entre dicho complejo intermedio 1 y una CFS-2 con antelación fuera de un capilar, o en un capilar (un primer canal) sin aplicación de voltaje, y luego se forme un complejo entre dicho complejo intermedio 2 y una CFS-3 en el capilar (un primer canal) aplicando voltaje al capilar (un primer canal). (A este respecto, los casos cuando se usan 4 o más tipos de CFS se consideran en la misma forma de pensamiento).

- 5 Por tanto, como se usa en el presente documento, “sin mezclar disoluciones con antelación” significa no mezclar una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de una disolución que contiene una CFS con antelación, pero no necesariamente significa la exclusión de cualquier mezcla de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de una disolución que contiene una CFS con antelación (en otras palabras, no significa no mezclar nunca ninguna de una muestra que incluye un analito y todas las disoluciones que
10 contienen las CFS, juntas con, si fuera necesario, una disolución que contiene análogos).

Como se usa en el presente documento, una dirección hacia la que se mueve un complejo entre un analito o un análogo del mismo, y no menos de un tipo de CFS, finalmente formado y medido, o un análogo libre finalmente medido, cuando se aplica voltaje, se define como lado “aguas abajo” y la dirección opuesta se define como lado “aguas arriba” (lo mismo en lo sucesivo).

- 15 Además, como se usa en el presente documento, la “velocidad electroforética (de un analito o un análogo del mismo, y una CFS que se someten a electroforesis) es “lenta” o la “movilidad electroforética (de un analito o un análogo del mismo, una CFS que se someten a electroforesis) es “baja” significa no solo el caso cuando la velocidad electroforética sea lenta (la movilidad electroforética es baja) con respecto a aquellas de al menos no menos de un tipo de otras sustancias, sino que también significa el movimiento en una dirección opuesta a la dirección de al menos no menos de
20 un tipo de otras sustancias.

(a) Orden de disposición

El orden de disposición de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no está especialmente limitado, en tanto que sea un orden que forme un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS aplicando voltaje a un capilar (un primer canal).

- 25 En las Tablas 1-1 a 1-5 se muestran las relaciones entre el orden de disposición de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS y la movilidad electroforética (velocidad electroforética) de un analito o un análogo del mismo y una CFS. A este respecto, en las Tablas 1-1 a 1-5 se muestran los casos cuando se usan de un tipo a 3 tipos de CFS, sin embargo, la misma forma de pensamiento que en las Tablas 1-1 a 1-5 se aplica en la disposición adecuada, también en el caso cuando se
30 usan 4 o más tipos de CFS.

- En las Tablas 1-1 a 1-5, Ana representa un analito o un análogo del mismo, CFS-1 representa una primera CFS, CFS-2 representa una segunda CFS y CFS-3 representa una tercera CFS. Además, en las Tablas 1-1 a 1-5, el orden de disposición A en un capilar (un primer canal) es una zona de una disolución dispuesta en el lado más aguas arriba, entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no
35 menos de un tipo de CFS, B es una zona de una disolución dispuesta aguas abajo de la zona A, C es una zona de una disolución dispuesta aguas abajo de la zona B, y D es una zona de una disolución dispuesta aguas abajo de la zona C. A este respecto, los órdenes de disposición (A a D) en dicho capilar (un primer canal) son solo los órdenes entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, y tal disposición puede seguirse naturalmente que manera que una disolución distinta de dichas disoluciones esté dispuesta adicionalmente aguas abajo de dicha disolución dispuesta en el lado más aguas abajo
40 entre éstas, o adicionalmente aguas arriba de dicha disolución dispuesta en el lado más aguas arriba.

Tabla 1-1

Patrón	Orden de disposición en capilar (Aguas arriba→Aguas abajo)				Relación de movilidad electroforética entre Ana y CFS
	A	B	C	D	
1	Disolución que contiene Ana	Disolución que contiene CFS-1	-	-	Ana>CFS-1
2	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene Ana	-	-	Ana<CFS-1
3	Disolución que contiene Ana	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene CFS-2	-	(1) Ana>CFS-1; Complejo (Ana/CFS-1)>CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2).
4					(2) CFS-1 >Ana>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2)>CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1).
5	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene Ana	Disolución que contiene CFS-2	-	(1) Ana<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-1)>CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2).
6					(2) Ana>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2)<CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1).
7	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene CFS-2	Disolución que contiene Ana	-	(1) CFS-2<CFS-1; Ana<CFS-1 Complejo (Ana/CFS-1)< CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2).
8					(2) Ana<CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2) <CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1).

Tabla 1-2

9					(1) Ana>CFS-1; Complejo (Ana/CFS-1)>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-2)>CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3).
10					(2) Ana>CFS-1; CFS-2>complejo (Ana/CFS-1)>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-3)>CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2).
11	Disolución que contiene Ana	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene CFS-2	Disolución que contiene CFS-3	(3) CFS-1>Ana>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2)>CFS-1; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-1)>CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3).
12					(4) CFS-1>Ana>CFS-2; CFS-1>complejo (Ana/CFS-2)>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-3) >CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1).
13					(5) CFS-1,CFS-2>Ana>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-3)>CFS-1; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-1) >CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2).

(continuación)

14					<p>(6) CFS-1,CFS-2>Ana>CFS-3; CFS-1>complejo (Ana/CFS-3)>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-2) >CFS-1</p> <p>Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1).</p>
----	--	--	--	--	--

Tabla 1-3

15					<p>(1) Ana<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-1)>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-2)>CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3).</p>
16					<p>(2) Ana<CFS-1; CFS-2>Complejo (Ana/CFS-1)>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-2)>CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2).</p>
17	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene Ana	Disolución que contiene CFS-2	Disolución que contiene CFS-3	<p>(3) Ana>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-1)>CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3).</p>
18					<p>(4) Ana>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2)>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-3) <CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1).</p>
19					<p>(5) CFS-2>Ana>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-3)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-1) >CFS-2 Sin embargo, complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2).</p>

(continuación)

20					<p>(6) CFS-2>Ana>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-3)>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-2)<CFS-1</p> <p>Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1).</p>
----	--	--	--	--	--

Tabla 1-4

21					<p>(1) CFS-2<CFS-1; Ana<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-1)<CFS-2; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-2)>CFS-3</p> <p>Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1 /CFS-3).</p>
22					<p>(2) CFS-2<CFS-1; Ana<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-1)>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-3)<CFS-2</p> <p>Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2).</p>
23	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene CFS-2	Disolución que contiene Ana	Disolución que contiene CFS-3	<p>(3) Ana<CFS-2; Complejo (Ana/CFS-2)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-1)>CFS-3</p> <p>Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3).</p>
24					<p>(4) Ana<CFS-2; (Ana/CFS-2) complejo>CFS-3; (Ana/CFS-2/CFS-3)complejo>CFS-1</p> <p>Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1).</p>

(continuación)

25					(5) Ana>CFS-3; CFS-1>CFS-2; Complejo (Ana/CFS-3)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-1)<CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2).
26					(6) Ana>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-3)<CFS-2; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-2)<CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1).

Tabla 1-5

27					(1) CFS-1>CFS-2, CFS-3, Ana; CFS-2>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-1)<CFS-2; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-2)<CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3).
28					(2) CFS-1>CFS-2, CFS-3, Ana; Complejo (Ana/CFS-1)<CFS-3; Complejo (Ana/CFS-1/CFS-3)<CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-1/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1/CFS-2).
29	Disolución que contiene CFS-1	Disolución que contiene CFS-2	Disolución que contiene CFS-3	Disolución que contiene Ana	(3) CFS-2>CFS-1, CFS-3, Ana; CFS-1>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-2)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-1)<CFS-3 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3).
30					(4) CFS-2>CFS-1, CFS-3, Ana; Complejo (Ana/CFS-2)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-2/CFS-3)<CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-3), el complejo (Ana/CFS-2/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-2/CFS-1).

(continuación)

31				<p>(5) CFS-3>Ana; CFS-1>CFS-3; Complejo (Ana/CFS-3)<CFS-1; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-1)<CFS-2 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2).</p>
32				<p>(6) CFS-3>Ana; Complejo (Ana/CFS-3)<CFS-2; Complejo (Ana/CFS-3/CFS-2)<CFS-1 Sin embargo, el complejo (Ana/CFS-3) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-1) y el complejo (Ana/CFS-2), el complejo (Ana/CFS-3/CFS-2) se forma antes que el complejo (Ana/CFS-3/CFS-1).</p>

En las Tablas 1-1 a 1-5, "se forma antes que" significa que el primer complejo se forma sustancialmente antes que se forma el último complejo, pero no excluye que una parte del primer complejo y el último complejo se formen simultáneamente o en orden inverso como, por ejemplo, en los siguientes casos.

- 5 (1) El caso en el que colocando adyacentemente cada zona (la zona de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, la zona de disoluciones que contienen CFS) y por difusión molecular generada en la proximidad de la interfase líquido-líquido entre cada zona entre éstas, una parte del primer complejo y el último complejo se formen simultáneamente o en orden inverso.
- 10 (2) El caso en el que a partir de la relación de velocidad electroforética de un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS, una parte del primer complejo y el último complejo se formen simultáneamente o en orden inverso.
- (3) El caso en el que debido a que al menos un tipo de una CFS entre un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS se muevan en una dirección opuesta a aquella de otras sustancias, una parte del primer complejo y el último complejo se formen simultáneamente o en orden inverso.
- 15 En tales casos, una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y disoluciones que contienen CFS, puede disponerse adecuadamente por la misma forma de pensamiento que en las Tablas 1-1 a 1-5.

Además, en el caso cuando se usan 2 o más tipos de CFS, entre los casos en las Tablas 1-1 a 1-5, tal caso muestra que todas las CFS (CFS-1 a -3) se unen a un analito o un análogo del mismo, concretamente todos los sitios de unión de 2 o más tipos de CFS están presentes solo en un analito o un análogo del mismo [forma de unión (1): un complejo de sándwich con Ana intercalado por CFS-1 y CFS-2]. Las otras siguientes casos pueden entenderse del siguiente modo: Un caso, por ejemplo, en el que una CFS-1 en 2 tipos de CFS (una CFS-1 y -2) se une a un analito o un análogo del mismo, y una CFS-2 se une a nuevos sitios generados por la formación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS-1, en otras palabras, los sitios de unión de al menos un tipo de CFS (por ejemplo, una CFS A) entre 2 o más tipos de CFS están presentes solo en un analito o un análogo del mismo, y los sitios de unión de al menos otro tipo de CFS (por ejemplo, una CFS B) están presentes en nuevos sitios generados por la formación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS A, [forma de unión (2)]; o un caso en el que, por ejemplo, una CFS-1 en 2 tipos de CFS (una CFS-1 y -2) se une a un analito o un análogo del mismo, y una CFS-2 se une a una CFS-1 unida con un analito o un análogo del mismo, en otras palabras, sitios de unión de al menos un tipo de CFS (por ejemplo, una CFS A) entre 2 o más tipos de CFS están presentes solo en un analito o un análogo del mismo, y sitios de unión de al menos otro tipo de CFS (por ejemplo, una CFS B) están presentes solo en una CFS A, [forma de unión (3)]; o los casos cuando un complejo de sándwich de CFS-1, intercalado por Ana y CFS-2, se forma en la unión de (1) [un analito o un análogo del mismo en el caso de uso de 2 tipos de CFS en las Tablas 1-1 a 1-5 se lee alternativamente como CFS-1, y una CFS-1 en las Tablas 1-1 a 1-5 se lee alternativamente como un analito o un análogo del mismo]. Además, en casos tales en los que 3 tipos o más CFS se usen en las formas de unión (2) y (3) anteriormente descritas, o tales casos en los que las formas de unión (1) a (3) anteriormente descritas se combinan adecuadamente, una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y disoluciones que contienen CFS,

pueden disponerse adecuadamente por la misma forma de pensamiento que en las Tablas 1-1 a 1-5 y lo anterior.

A este respecto, en llevar a cabo un procedimiento competitivo usando un análogo de un analito, también puede adoptarse cualquiera de las siguientes disposiciones: Un analito en una muestra (concretamente, una muestra que incluye un analito) y un análogo [por ejemplo, un análogo marcado por una sustancia marcadora (un análogo marcado), y un análogo unido con una sustancia de mejora de la reacción (un análogo de mejora de la reacción)] están simultáneamente presentes en la misma disolución y se introducen y disponen en un capilar (un primer canal) como zona de disolución (concretamente, una zona de una disolución que incluye una muestra que incluye un analito y un análogo); una muestra que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo (por ejemplo, un análogo de marca o un análogo de mejora de la reacción) se introducen y se disponen en un capilar (un primer canal) cada uno como zona separada (disolución); o una disolución que contiene un analito en una muestra (concretamente, una muestra que incluye un analito) y no menos de un tipo de CFS y una disolución que incluye un análogo (por ejemplo, un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción) se introducen y se disponen en un capilar (un primer canal) cada uno como zona separada (disolución).

A este respecto, en el procedimiento competitivo anteriormente descrito, para disponer, en un capilar (un primer canal), (1) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (una disolución que contiene un analito y un análogo), junto con al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción y combinaciones de las mismas); o (2) una muestra que incluye un analito (una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo), junto con una disolución que contiene un análogo marcado y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción y combinaciones de las mismas); o (3) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción y combinaciones de las mismas), junto con una disolución que contiene un análogo marcado; de manera que se formen un complejo A entre dicho analito y CFS, y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS aplicando voltaje a un capilar (un primer canal), el orden de disposición de estas disoluciones puede determinarse según el orden de disposición de una disolución que incluye un analito o un análogo del mismo, y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, como se ha explicado anteriormente, por consideración de la movilidad electroforética de un analito, un análogo marcado y una CFS. Además, para disponer, en un capilar (un primer canal), (1) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (una disolución que contiene un analito y un análogo), junto con una disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS que tiene la propiedad de poder formar un complejo con un analito o un análogo del mismo y marcado con una sustancia marcadora (en lo sucesivo se abrevia sustancia de unión marcada o una CFS marcada); o (2) una muestra que incluye un analito (una disolución que contiene un analito o un análogo), junto con una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción y una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas; o (3) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcadas, junto con una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción; de manera que se formen un complejo A entre dicho analito y CFS marcada, y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada aplicando voltaje a un capilar (un primer canal), el orden de disposición de estas disoluciones puede determinarse según el orden de disposición de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS como se ha explicado anteriormente, por consideración de la movilidad electroforética de un analito, un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada.

Además, una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no se preparan necesariamente adyacentes, y líquido tal como agua, una solución salina fisiológica, diversas disoluciones tampón y un disolvente orgánico pueden insertarse entre estas disoluciones. A este respecto, como tal disolución de tampón puede usarse una cualquiera que no inhiba la formación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS, que incluye tampones normalmente usados en este campo, por ejemplo, tampón Tris, tampón de Good, tampón TE, tampón TAE, tampón TBE, tampón TBS, un tampón fosfato y un tampón borato.

A este respecto, una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, junto con, si fuera necesario, los líquidos, se forma y se dispone cada una como zona separada en un capilar. En otras palabras, entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, junto con, si fuera necesario, entre la disolución que contiene un analito o análogo del mismo y el líquido o entre el al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS y el líquido, se forma y se mantiene una interfase líquido-líquido en el momento en el que se disponen estas disoluciones, y si fuera necesario, los líquidos.

En una etapa de introducción en el procedimiento de formación de un complejo, un procedimiento de introducción de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS en un capilar (un primer canal) es como se ha mencionado anteriormente.

Además, un procedimiento de introducción de lo siguiente: Una muestra que contiene un analito; una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción (una disolución

que contiene un analito o un análogo); una disolución que contiene un analito y no menos de un tipo de CFS (por ejemplo, una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, y combinaciones de las mismas); una disolución que incluye un análogo marcado; o una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción; en un capilar es el mismo que un procedimiento de introducción de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS en un capilar como se ha descrito anteriormente.

(2) Una etapa de concentración y de reacción

Una etapa de concentración y de reacción en el procedimiento de formación de un complejo es una etapa de hacer reaccionar (poner en contacto y hacer reaccionar) dicho analito o dicho análogo del mismo con la CFS mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS aplicando voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) antes de mezclar uniformemente la pluralidad de disoluciones (una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS) introducida en dicho capilar (dicho primer canal) por la etapa de introducción para formar el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS. En otras palabras, esta etapa es una etapa de hacer reaccionar (poner en contacto y hacer reaccionar) dicho analito o análogo del mismo y la CFS mientras que se concentra dicho analito o análogo del mismo y/o la CFS electroforéticamente para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS, no por (no dependiendo de) difusión molecular.

“Antes de que las disoluciones (una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS) se mezclen uniformemente” significa “antes de que cada zona (interfase líquido-líquido) de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS, junto con si fuera necesario el líquido, dispuestas en un capilar (un primer canal), se mezclen uniformemente molecularmente”.

A este respecto, “interfase” significa el límite en el que una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y disoluciones que incluyen no menos de un tipo de CFS se ponen en contacto, o si fuera necesario el límite en el que la disolución que contiene un analito o análogo del mismo y el líquido se ponen en contacto o el límite en el que la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y el líquido se ponen en contacto, y dicha interfase no significa necesariamente no mezclar completamente, debido a la presencia de difusión desde un punto de vista práctico.

Además, en un procedimiento competitivo usando un análogo de un analito, y cuando se usa un análogo marcado, el término anteriormente descrito significa “antes de mezclar uniformemente las siguientes zonas (interfase líquido-líquido) dispuestas en un capilar (un primer canal) por una etapa de introducción, por difusión molecular”; (1) cada zona (interfase líquido-líquido) de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (una disolución que contiene un analito y un análogo) junto con una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción, combinaciones de las mismas), y si fuera necesario el líquido; (2) cada zona (interfase líquido-líquido) de una muestra que contiene un analito, una disolución que contiene un análogo marcado y una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción, combinaciones de las mismas), y si fuera necesario el líquido; o (3) cada zona (interfase líquido-líquido) de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción, combinaciones de las mismas) y una disolución que contiene un análogo marcado, y si fuera necesario el líquido.

En un procedimiento competitivo usando un análogo de un analito, cuando se usa un análogo de mejora de la reacción, el término anteriormente descrito significa “antes de mezclar uniformemente las siguientes zonas (interfase líquido-líquido) por difusión molecular”; (1) cada zona (interfase líquido-líquido) de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (una disolución que contiene un analito y un análogo) junto con una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas, y si fuera necesario el líquido; (2) cada zona (interfase líquido-líquido) de una muestra que contiene un analito, una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción y una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas, y si fuera necesario el líquido; o (3) cada zona (interfase líquido-líquido) de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS marcada, combinaciones de las mismas) y una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción, y si fuera necesario el líquido.

A este respecto, “interfase” también tiene el mismo significado que antes.

(a) Concentración

En una etapa de concentración y de reacción, “concentrar un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de una CFS aplicando un voltaje sobre un capilar (un primer canal)” significa que al menos un tipo entre un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS se acumulan en tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un capilar (un primer canal). En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje

a un capilar (un primer canal) de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dicha sustancia se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción, concretamente significa que un analito o un análogo del mismo y/o una CFS se acumulan tras la aplicación de voltaje a un capilar (un primer canal), y se genera una porción en la que la concentración de un analito o un análogo del mismo y/o la concentración de una CFS se vuelve superior a la de un analito o un análogo y/o a la de una CFS en una zona de disolución (por ejemplo, una zona de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, una zona de una disolución que contiene una CFS) dispuesta en una etapa de introducción.

A este respecto, en cuanto al nivel (grado) de concentración, la concentración de un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de una CFS en una parte acumulada (tipo banda) de dicha sustancia tras la aplicación de voltaje a un capilar (un primer canal), con respecto a la concentración de un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de una CFS en una zona dispuesta por una etapa de introducción es, como límite inferior, normalmente no inferior a 1,5 veces, preferentemente no inferior a 5 veces, más preferentemente no inferior a 10 veces, y adicionalmente preferentemente no inferior a 25 veces, y el límite superior no está especialmente limitado, sin embargo normalmente no superior a 10^7 veces, preferentemente no superior a 10^6 veces y más preferentemente no superior a 10^5 veces.

(b) Una reacción de contacto

Además, como se usa en el presente documento, "hacer reaccionar (poner en contacto y hacer reaccionar) dicho analito o análogo del mismo con una CFS" significa que, como se ha descrito anteriormente, la reacción (contacto y reacción) entre un analito o un análogo del mismo y una CFS se produce no por (no dependiendo de) difusión molecular y por el fenómeno de que una sustancia que tiene mayor movilidad electroforética (velocidad electroforética más rápida) entre un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS adelanta a una sustancia que tiene menor movilidad electroforética (velocidad electroforética lenta), por utilización del hecho de que cuando la electroforesis se lleva a cabo bajo la condición de que una disolución que contiene una sustancia que tiene mayor movilidad electroforética (velocidad electroforética más rápida) está dispuesta aguas arriba de una disolución que contiene una sustancia que tiene menor movilidad electroforética (velocidad electroforética lenta), una sustancia que tiene mayor movilidad electroforética (velocidad electroforética más rápida) en una disolución adelanta a una sustancia que tiene menor movilidad electroforética (velocidad electroforética lenta).

Concretamente, en una etapa de concentración y de reacción, un analito o un análogo del mismo en una disolución y una CFS en una disolución se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) por movimiento electroforético, sin mezclar por (dependiendo de) difusión molecular generada por reposo de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS, junto con si fuera necesario el líquido, dispuesta en un capilar (un primer canal), o también no por mezcla física de los mismos en un capilar (un primer canal). Como se ha descrito anteriormente, una etapa de concentración y de reacción forma un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS migrando un analito o análogo del mismo en una disolución y una CFS en una disolución electroforéticamente y haciéndolos reaccionar (poniéndolos en contacto y haciéndolos reaccionar) mientras que se concentra un analito o análogo del mismo y/o una CFS electroforéticamente, antes de que se mezclen una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una disolución que contiene CFS, junto con si fuera necesario el líquido, uniformemente por difusión molecular, y adicionalmente sin mezclar uniformemente estos físicamente en un capilar (un primer canal), en otras palabras, manteniendo una interfase líquido-líquido entre estas disoluciones adyacentes y si fuera necesario entre el líquido y la disolución.

Como se usa en el presente documento, "hacer reaccionar (poner en contacto y hacer reaccionar) dicho analito o análogo del mismo con CFS mientras que se concentra dicho analito o análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS aplicando voltaje a un capilar (un primer canal)" significa los dos siguientes casos: (1) el caso de que se lleven a cabo simultáneamente la concentración anteriormente mencionada de un analito o un análogo del mismo y/o una CFS, y reacción (contacto y reacción) de un analito o un análogo del mismo y una CFS; o (2) el caso de que después de la completitud sustancial de la concentración anteriormente mencionada de un analito o un análogo del mismo y/o una CFS se lleva a cabo la reacción (contacto y reacción) de un analito o un análogo del mismo y una CFS. Por tanto, el término incluye los casos distintos del caso de que la concentración de un analito o un análogo del mismo y/o una CFS se lleve a cabo después de la completitud sustancial de la reacción (contacto y reacción) entre un analito o un análogo del mismo y una CFS.

(a) Condición

En otras palabras, una etapa de concentración y de reacción puede llevarse a cabo aplicando un voltaje sobre dicho capilar (dicho primer canal) bajo una condición de que pueda formarse un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) dicho analito o análogo del mismo y CFS mientras que se concentra dicho analito o análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS como se ha descrito anteriormente aplicando un voltaje sobre dicho capilar (dicho canal) como se ha descrito anteriormente, antes de que se mezclen uniformemente una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una disolución que contiene CFS.

Tales condiciones son específicamente aquellas usadas en un llamado procedimiento de concentración por electroforesis para la concentración de sustancias en un capilar.

Un procedimiento de concentración por electroforesis incluye, por ejemplo, procedimientos que usan la diferencia en la movilidad electroforética en un capilar tales como (1) el procedimiento de apilamiento de muestras para amplificación del campo (FASS) [documento US-A-2003-0057092 A1; Weiss, D. J., Saunders, K., Lunte, C.E. Electrophoresis 2001, 22, 59-65; Britz-McKibbin, P., Bebault, G.M., Chen, D.D.Y. Anal Chem. 2000, 72, 1729-1735; Ross, D., Locascio, L.E. Anal Chem. 2002, 71, 5137-5145]; (2) el procedimiento de inyección de muestras para amplificación del campo (FASI) [Chien, R.L y col. J. Chromatogr. 1991, 559, 141-148]; (3) isotacoforesis (ITP) [Everaerts, F.M., Geurts, M. Mikkers, F.E.P., Verheggen, T.P.E.M J Chromatogr. 1976, 119, 129-155; Mikkers, F.E.P., Everaerts, F.M., Peek, J.A.F. J. Chromatogr. 1979, 168, 293-315; Mikkers, F.E.P., Everaerts, F.M., Peek, J.A.F. J. Chromatogr. 1979, 168, 317-332; Hirokawa, T, Okamoto, H. Ikuta, N. y Gas, B., Analytical Sciences 2001, vol. 17 Supplement i185]; (4) el procedimiento de isoelectroenfoque (IEF) [Wehr T y col., Am. Biotechnol. Lab. 1990, 8, 22; Kilar F. y col., Electrophoresis 1989, 10, 23-29]; (5) el procedimiento de apilamiento de muestras de gran volumen (LVSS) [Siri, N. y col., J. Chromatogr. B, (2003), 793, 151-157]; (6) el procedimiento de unión de pH (apilamiento mediado por pH) [P. Britz-McKibbin y col., 2000, Anal. Chem., 72, 1242, P. Britz-McKibbin y col., 2002, Anal. Chem., 74, 3736]; (7) el procedimiento de barrido (cromatografía electrocinética micelar de apilamiento) [J. P. Quirino y col., 1998, Science, 282, 465, J. P. Quirino y col., 1999, Anal. Chem., 71, 1638, Y. Sera y col., 2001, Electrophoresis, 22, 3509].

Entre los procedimientos de condensación por electroforesis descritos anteriormente se prefieren, por ejemplo, ITP, FASS, e ITP es particularmente preferible.

A este respecto, ITP se basa en el principio de que una sustancia objetivo puede concentrarse cuando la sustancia objetivo se empareda entre un medio de electroforesis (un tampón de cabeza) que incluye un ión de cabeza que tiene velocidad electroforética más rápida que la de una sustancia objetivo, y un medio de electroforesis (un tampón de cola) que incluye un ión de cola que tiene velocidad electroforética más lenta que la de una sustancia objetivo y se somete a electroforesis. Por tanto, en llevar a cabo las una etapa de concentración y de reacción por ITP son necesarios al menos un medio de electroforesis (tampón de cabeza) que incluye un ión de cabeza que tiene velocidad electroforética más rápida que la de un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS, y un medio de electroforesis (un tampón de cola) que incluye un ión de cola que tiene velocidad electroforética más lenta que la de un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS, y estos componentes también están incluidos en "condición de que un analito o un análogo del mismo y/o al menos no menos de un tipo de CFS se concentren".

A este respecto, un tampón de cabeza está dispuesto adicionalmente aguas abajo de una disolución dispuesta en el lado más aguas abajo de un capilar (un primer canal), entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, y un tampón de cola está dispuesto adicionalmente aguas arriba de una disolución dispuesta en el lado más aguas arriba de un capilar (un primer canal), entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS.

En la descripción anterior, como ión de cabeza puede usarse cualquier ión que tenga velocidad electroforética más rápida que la de un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS y seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo. Tal ión incluye, por ejemplo, Cl⁻. Además, la concentración de uso de un ión de cabeza puede también seleccionarse adecuadamente de un intervalo normalmente usado en este campo. La concentración de uso es, por ejemplo, normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM.

Por tanto, un tampón de cabeza que incluye un ión de cabeza tal se usa por selección adecuada de uno normalmente usado en este campo y están incluidos, por ejemplo, tampón de Good, tampón Tris, un tampón borato, un tampón fosfato, un tampón histidina, un tampón imidazol y un tampón glicina. La concentración y el pH de uso de los mismos pueden seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo, y la concentración de uso es normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM, y el pH es normalmente 2 a 12, preferentemente 4 a 10 y más preferentemente 6 a 9.

En la descripción anterior, como ión de cola puede usarse cualquier ión que tenga velocidad electroforética más lenta que la de un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS y puede seleccionarse adecuadamente de uno normalmente usado en este campo. Tal ión incluye, que incluye, por ejemplo, tampón de Good tal como HEPES, TAPS, MES, MOPS, un aminoácido tal como glicina y treonina. Además, la concentración de uso de un ión de cola puede también seleccionarse adecuadamente de un intervalo normalmente usado en este campo. La concentración de uso es, por ejemplo, normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM.

También se usa un tampón de cola que incluye un ión de cola tal por selección adecuada de uno normalmente usado en este campo y están incluidos, por ejemplo, tampón de Good, tampón Tris, un tampón borato, un tampón fosfato, un

tampón histidina, un tampón imidazol, un tampón glicina. La concentración y el pH de uso de los mismos pueden seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo, y la concentración de uso es normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM, y el pH es normalmente 2 a 12, preferentemente 4 a 10 y más preferentemente 6 a 9.

- 5 A este respecto, las condiciones anteriormente descritas (un ión de cabeza, un tampón de cabeza, un ión de cola y un tampón de cola), otros reactivos, procedimientos de operación y otras condiciones pueden seleccionarse según la descripción en las referencias anteriormente descritas.

10 FASS, FASI y LVSS se basan en el principio de que la movilidad electroforética de una sustancia objetivo disminuye y una sustancia objetivo se concentra, cuando una sustancia objetivo alcanza la interfase entre un medio en el que una sustancia objetivo está presente y un medio que tiene mayor conductividad eléctrica que la de un medio en el que una sustancia objetivo está presente.

15 Por tanto, cuando una etapa de concentración y de reacción se lleva a cabo por FASS, LVSS o FASI se requiere que al menos un tipo de disolución entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS tenga mayor conductividad eléctrica que la de al menos otro tipo de disolución; o que un medio de electroforesis (medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica) tenga mayor conductividad eléctrica que la de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y/o se requiere que al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se use por separado, y estos componentes también están incluidos en "condición que un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS se concentran".

- 20 A este respecto, un medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica está dispuesto adicionalmente aguas abajo de una disolución dispuesta lo más aguas abajo en un capilar (un primer canal), entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS.

25 Además, un medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica puede ser uno cualquiera, en tanto que tenga mayor concentración de sales que la de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y/o al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, y se usa por selección adecuada de uno normalmente usado en este campo. Tal medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica incluye, por ejemplo, un medio de electroforesis que contiene NaCl y KCl. Como medio de electroforesis están incluidos, por ejemplo, tampón de Good, tampón Tris, un tampón borato, un tampón fosfato, un tampón histidina, un tampón imidazol y un tampón glicina. La concentración de uso y el pH de los mismos pueden seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo, y la concentración de uso es normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM, y el pH es normalmente 2 a 12, preferentemente 4 a 10 y más preferentemente 6 a 9.

35 A este respecto, las condiciones anteriormente descritas (medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica), otros reactivos, procedimientos de operación y otras condiciones pueden seleccionarse adecuadamente según la descripción en las referencias anteriormente descritas. IF se basa en el principio de que una sustancia objetivo se concentra llenando un capilar (canal) con una disolución de sustancias anfóteras que tienen diversos puntos isoeléctricos, formando a continuación un gradiente de pH en un capilar (canal) aplicando un voltaje, y alcanzando una sustancia objetivo una región de pH correspondiente a un punto isoeléctrico.

- 40 Por tanto, en el caso cuando una etapa de concentración y de reacción se lleva a cabo por IF, se requiere al menos un medio de electroforesis que forme un gradiente de pH en un capilar (un primer canal), y este componente también se incluye en "condición para concentrar un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS".

45 En la descripción anterior, como medio de electroforesis que forme un gradiente de pH en un capilar (un primer canal) se usa uno cualquiera que forma un gradiente de pH en un capilar aplicando un voltaje por selección adecuada de uno normalmente usado en este campo. Como tal medio de electroforesis que forma un gradiente de pH en un capilar se incluye, por ejemplo, un medio de electroforesis que contiene una sustancia que forma un gradiente de pH en un capilar, tal como un anfólito. Como tal medio de electroforesis están incluidos, por ejemplo, tampón de Good, tampón Tris, un tampón borato, un tampón fosfato, un tampón histidina, un tampón imidazol y un tampón glicina. La concentración y el pH de uso de los mismos también pueden seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo, y la concentración de uso es normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM.

50 A este respecto, las condiciones anteriormente descritas (un medio de electroforesis que contiene una sustancia que forma un gradiente de pH en un capilar), otros reactivos, procedimientos de operación y otras condiciones pueden seleccionarse según la descripción en las referencias anteriormente descritas.

55 Un procedimiento de unión de pH es uno para llevar a cabo la concentración de una sustancia objetivo contenida en una muestra a la superficie límite entre una muestra y un medio de electroforesis alcalino formando una región de

muestra ácida o ácida débil (zona) en el medio de electroforesis alcalino.

Por tanto, en el caso cuando una etapa de concentración y de reacción de la presente invención se lleva a cabo por un procedimiento de unión de pH se requiere al menos un medio de electroforesis que tenga un pH de intervalo más alcalino que el de una disolución que incluye una muestra, y este componente también se incluye en "condición para concentrar un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS" de la presente invención.

En la descripción anterior, como medio de electroforesis que tiene un pH en el intervalo alcalino se usa uno cualquiera que forma una superficie límite con pH diferente, entre una disolución que incluye una muestra y dicho medio de electroforesis en un capilar aplicando un voltaje por selección adecuada de uno normalmente usado en este campo. Como tal medio de electroforesis están incluidos, por ejemplo, tampón de Good tal como HEPES, TAPS, MES, MOPS, un tampón borato, un tampón fosfato, un tampón histidina, un tampón imidazol y un tampón glicina. La concentración y el pH de uso de los mismos pueden seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo, y la concentración de uso es normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM, y el pH es normalmente 7 a 11, preferentemente 7 a 10 y más preferentemente 7 a 9.

A este respecto, las condiciones anteriormente descritas (un medio de electroforesis que tiene un pH en el intervalo alcalino), otros reactivos, procedimientos de operación y otras condiciones pueden seleccionarse según la descripción en las referencias anteriormente descritas.

Un procedimiento de barrido se basa en el siguiente principio: Concretamente, un medio de electroforesis que incluye una sustancia cargada que forma una micela está dispuesto aguas arriba de una zona de disolución que incluye una sustancia objetivo. Aplicando un voltaje aquí, la micela formada adelanta a una sustancia objetivo y forma un complejo micelar con una sustancia objetivo. Cuando el complejo micelar alcanza la interfase entre un medio en el que una sustancia objetivo está presente y un medio que tiene mayor conductividad eléctrica que la de un medio en el que una sustancia objetivo está presente, la velocidad electroforética de una sustancia objetivo disminuye y así se concentra una sustancia objetivo.

Por tanto, cuando una etapa de concentración y de reacción se lleva a cabo por un procedimiento de barrido se requiere que al menos un tipo de disolución entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS tenga mayor conductividad eléctrica que la del otro al menos un tipo de disolución; o se requiere que un medio de electroforesis (medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica) que tiene mayor conductividad eléctrica que la de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se use por separado; y se requiere que un medio de electroforesis que incluye una sustancia cargada que forma una micela con mayor velocidad electroforética que la de un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS, y que tiene menor conductividad eléctrica que la de una disolución (o un medio de electroforesis), tenga mayor conductividad eléctrica; y estos componentes también están incluidos en "condición para concentrar un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS".

A este respecto, un medio de electroforesis de alta conductividad eléctrica está dispuesto adicionalmente aguas abajo de una disolución dispuesta en el lado más aguas abajo de un capilar (un primer canal), entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS, y un medio de electroforesis que incluye una sustancia cargada que forma una micela está dispuesta adicionalmente aguas arriba de una disolución dispuesta en el lado más aguas arriba de un capilar, entre una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS.

En la descripción anterior, como sustancia cargada que forma una micela puede usarse cualquier sustancia cargada, en tanto que tenga velocidad electroforética más rápida que la de un analito o un análogo del mismo y/o no menos de un tipo de CFS, y puede seleccionarse adecuadamente de una normalmente usada en este campo. Tal sustancia cargada incluye, por ejemplo, un tensioactivo tal como SDS. Además, la concentración de uso de dicha sustancia cargada puede también seleccionarse adecuadamente de un intervalo normalmente usado en este campo, y se usa una cantidad por encima de la concentración micelar crítica, y, más específicamente, la concentración de uso de dicha sustancia cargada es, por ejemplo, normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM.

También se usa un medio de electroforesis por selección adecuada de uno normalmente usado en este campo, y están incluidos, por ejemplo, tampón de Good, tampón Tris, un tampón borato, un tampón fosfato, un tampón histidina, un tampón imidazol y un tampón glicina. La concentración y el pH de uso de los mismos pueden seleccionarse adecuadamente de aquellos normalmente usados en este campo, y la concentración de uso es normalmente 1 μM a 10 M, preferentemente 100 μM a 1 M, y más preferentemente 1 mM a 500 mM, y el pH es normalmente 2 a 12, preferentemente 4 a 10 y más preferentemente 6 a 9.

A este respecto, las condiciones anteriormente descritas [una sustancia cargada que forma una micela y un medio de

electroforesis], otros reactivos, procedimientos de operación y otras condiciones pueden seleccionarse adecuadamente según la descripción en las referencias anteriormente descritas.

(d) Voltaje aplicado

5 El voltaje aplicado en una etapa de concentración y de reacción puede estar en un intervalo en el que un analito o análogo del mismo y/o una CFS está suficientemente concentrado, y un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS está suficientemente formado, y puede seleccionarse adecuadamente de ese normalmente usado en este campo. Más específicamente, el voltaje se aplica de manera que la intensidad de campo eléctrico esté en el siguiente intervalo: como límite inferior, normalmente no inferior a 5 V/cm, preferentemente no inferior a 10 V/cm, más preferentemente no inferior a 50 V/cm, adicionalmente preferentemente no inferior a 500 V/cm, y particular y
10 preferentemente no inferior a 1000 V/cm, y como límite superior, normalmente no superior a 10000 V/cm, preferentemente no superior a 5000 V/cm, más preferentemente no superior a 2000 V/cm.

Además, otras condiciones de reacción (por ejemplo, pH, temperatura y tiempo) están preferentemente en un intervalo que no inhibe la concentración de un analito o análogo del mismo y/o una CFS, y la formación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS.

15 Específicamente, aunque no se describe simplemente debido a la dependencia de la propiedad de un analito o un análogo del mismo y una CFS, el límite inferior del pH es normalmente no inferior a 2, preferentemente no inferior a 5, y el límite superior del pH es normalmente no superior a 10, y preferentemente no superior a 9; y el límite inferior de la temperatura es normalmente no inferior a 0 °C, preferentemente no inferior a 5 °C y más preferentemente no inferior a 10 °C, y el límite superior de temperatura es normalmente no superior a 50 °C, preferentemente no superior a 40 °C y
20 más preferentemente no superior a 30 °C. El tiempo de reacción depende de la constante de unión de una CFS que va a usarse a un analito o un análogo del mismo, y una constante de unión relativamente baja requiere un tiempo de reacción relativamente largo, pero una constante de unión relativamente alta requiere un tiempo de reacción relativamente corto. Más específicamente, por ejemplo, el límite inferior es normalmente no inferior 1 minuto, preferentemente no inferior 3 minutos y más preferentemente no inferior 5 minutos; y el límite superior es normalmente
25 no superior a 24 horas, preferentemente no superior a 12 horas, más preferentemente no superior a 1 hora y adicionalmente preferentemente no superior a 30 minutos.

(e) Un medio de electroforesis

Una etapa de concentración y de reacción se lleva normalmente a cabo en un estado en el que el capilar anteriormente mencionado (primer canal) se llena con un medio de electroforesis. Como medio de electroforesis se incluye una
30 disolución tampón para electroforesis o dicha disolución tampón para electroforesis que contiene cargas. A este respecto, un medio de electroforesis puede usarse solo o en combinación con dos o más tipos. Además, un procedimiento de introducción de un medio de electroforesis en un capilar (un primer canal) incluye un procedimiento de introducción de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y una disolución que contiene CFS en un capilar (un primer canal) como se ha descrito anteriormente. Puede adoptarse uno cualquiera de los siguientes
35 momentos adecuados de introducción de un medio de electroforesis en un capilar (un primer canal): (1) antes de la introducción de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y/o al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS en un capilar (un primer canal); (2) simultáneamente con la introducción de una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y/o al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS en un capilar (un primer canal); y (3) después de la introducción de una disolución que contiene un
40 analito o un análogo del mismo, y/o al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS en un capilar (un primer canal). Una disolución tal de tampón para electroforesis no está especialmente limitada, en tanto que se use normalmente en este campo. Ejemplos de una disolución tampón para electroforesis son, por ejemplo, las disoluciones tampón normalmente usadas en el campo de un procedimiento de hibridación y una inmunización tal como tampón Tris, un tampón fosfato, tampón Veronal, un tampón borato, tampón de Good, tampón SSC, tampón TBE
45 y tampón TAE. La concentración de estas disoluciones tampón es normalmente 0,1 mM a 10 M, preferentemente 1 mM a 5 M, y más preferentemente 5 mM a 1 M. Además, puede usarse cualquier pH de dicha disolución tampón, en tanto que no proporcione un mal efecto sobre la separación de sustancias, y sea normalmente 2 a 13, preferentemente 4 a 11 y más preferentemente 5 a 9. A este respecto, estas disoluciones tampón pueden usarse solas o en combinación con dos o más tipos.

50 Las cargas (polímeros) cargadas en un capilar (un primer canal) no están especialmente limitadas, en tanto que se usen normalmente en este campo. Ejemplos de cargas son, por ejemplo, poliéteres tales como poli(óxido de etileno), (polietilenglicol), poli(óxido de propileno); polialquileniminas tales como polietilenimina; polímeros de ácido poliacrílico tales como ácido poliacrílico, ésteres de poliacrilato y poli(acrilato de metilo); polímeros basados en poliamida tales como poliacrilamida, polimetacrilamida; polímeros basados en ácido polimetacrílico tales como ácido polimetacrílico, ésteres de polimetacrilato y poli(metacrilato de metilo); polímeros basados en polivinilo tales como poli(acetato de vinilo), polivinilpirrolidona y poliviniloxazolidona; polímeros de hidroxilo solubles en agua tales como pululano, elsinano, xantana, dextrano y goma guar; compuestos celulósicos solubles en agua tales como metilcelulosa, hidroxietilcelulosa

e hidroxipropilcelulosa; derivados de los mismos, y copolímeros que tienen una pluralidad de tipos de unidades monoméricas que comprenden estos polímeros. A este respecto, estas cargas pueden usarse solas o en combinación con dos o más tipos.

5 El peso molecular de las cargas como se ha descrito anteriormente es normalmente 500 Da a 6000 kDa, preferentemente 1 a 1000 kDa y más preferentemente 50 a 500 kDa.

La concentración de uso de las cargas como se ha descrito anteriormente puede seleccionarse adecuadamente de un intervalo normalmente usado en este campo, y es normalmente 0,01 al 40% (peso/volumen), preferentemente 0,01 al 20% (peso/volumen), y más preferentemente 0,1 al 10% (peso/volumen).

10 A este respecto, la viscosidad de una disolución tampón para electroforesis cuando se añaden las cargas anteriormente descritas a la misma es normalmente 1 a 1000 centipoises, preferentemente 1 a 200 centipoises, y más preferentemente 1 a 10 centipoises.

(3) Un procedimiento específico de formación de un complejo

Los modos para llevar a cabo los procedimientos para formar un complejo se muestran específicamente a continuación.

15 (3-1) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción.

(a) Se proporciona un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;

(i) un primer canal (1);

20 (ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada dicho canal lateral D (2) una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4); y

25 (iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada dicho canal lateral S/R (3) una abertura (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) de dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada dicha abertura (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), en el que cada dicha abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está cada una dispuesta en una porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5).

30 (b) una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

35 (c) una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

40 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

50 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección

5 del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introducen y se disponen en un primer canal, de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS tras la aplicación de voltaje a dicho canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

10 (f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de las CFS aplicando un voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y la CFS.

15 Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar dicho analito y/o al menos un tipo de CFS aplicando voltaje sobre un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y/o al menos un tipo de CFS se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y/o al menos un tipo de una CFS se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y/o la concentración de no menos de un tipo de CFS se vuelve superior a la de un analito y/o no menos de un tipo de CFS en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS) y una zona de una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-2) Un caso cuando se usa una CFS marcada.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

30 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

35 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

40 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una

muestra que incluye un analito, (ii) disoluciones que incluyen una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS marcada tras la aplicación de un voltaje sobre un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

- 5 (f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de dicha CFS marcada aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y CFS marcada.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar dicho analito y/o al menos un tipo de CFS marcadas aplicando voltaje a un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y/o al menos un tipo de CFS marcada se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y/o al menos un tipo de una CFS marcada se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y/o la concentración de al menos un tipo de una CFS marcada se vuelve superior a la de un analito y/o al menos un tipo de una CFS marcada en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS) y una zona de una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-3) Un caso cuando se usa una CFS de mejora de la reacción.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

25 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

30 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

45 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho

analito y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

5 (f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y la CFS de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando un voltaje sobre un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y/o al menos un tipo de una CFS de mejora de la reacción se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y/o la concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se vuelve superior a la de un analito y/o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS) y una zona de una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-4) Un caso cuando una se usa CFS de mejora de la reacción marcada.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

25 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

30 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

40 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo CFS de mejora de la reacción marcadas (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción marcada tras la aplicación de voltaje a dicho canal, sin mezclar estas

disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción marcada mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de una CFS de mejora de la reacción marcada aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción marcada.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada aplicando voltaje a un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y/o al menos un tipo de una CFS de mejora de la reacción marcada se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y/o la concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS) y una zona de una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcadas] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-5) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y una CFS de mejora de la reacción.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

(b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

(e) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(f) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS

de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando un voltaje sobre dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar al menos uno seleccionado de dicho analito no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción, aplicando un voltaje sobre un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)], concretamente significa que al menos uno seleccionado de un analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito, concentración de no menos de un tipo de CFS o concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se vuelve superior a la de un analito, no menos de un tipo de CFS o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)].

(3-6) Un caso cuando se usan una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

(b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

(e) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(f) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcadas y una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito, CFS marcada y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada y CFS de mejora de la reacción mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS marcada y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito, CFS marcada y CFS de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS marcada y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción, aplicando voltaje a un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS marcada y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)], concretamente significa que al menos uno seleccionado de un analito, no menos de un tipo de CFS marcada y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito, concentración de no menos de un tipo de CFS marcada o concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se vuelve superior a la de un analito, no menos de un tipo de CFS marcada o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de una CFS marcada y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)].

(3-7) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y una CFS de mejora de la reacción marcada.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

(b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha

etapa (b).

(d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción marcada se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

5 (e) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

20 (f) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

25 (g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada está puesta en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

40 (h) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción marcada mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada aplicando un voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción marcada.

Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada, aplicando voltaje a un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se acumulan en tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)], concretamente significa que al menos uno seleccionado de un analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito, la concentración de no menos de un tipo de CFS o la concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se vuelve superior a la de un analito, no menos de un tipo de CFS o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada en una zona de disolución [por

ejemplo, una zona de disolución que contiene un analito (por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de una disolución que contiene no menos de un tipo CFS de mejora de la reacción marcadas] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)].

5 Un procedimiento de formación de un complejo también puede usarse en un llamado procedimiento competitivo. El procedimiento en el que se lleva a cabo un procedimiento competitivo es del siguiente modo:

(3-8) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

10 (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

15 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

20 (d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

30 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

45 (f) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS, y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS) mientras que se concentra dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de CFS aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS. Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar dicho analito y análogo marcado, y/o no menos de un tipo de una CFS, aplicando voltaje a un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de CFS se acumulan en tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y un análogo marcado y/o

no menos de un tipo de una CFS se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y un análogo marcado y/o la concentración de una CFS se vuelve superior a la de un analito y un análogo marcado y/o no menos de un tipo de una CFS en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que contiene CFS] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-9) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

10 (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

15 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

20 (d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

30 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

45 (f) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS de mejora de la reacción (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción, y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de dicha CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción.

55 Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción, aplicando un voltaje sobre un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan

tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y un análogo marcado y/o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y un análogo marcado y/o la concentración de una CFS de mejora de la reacción se vuelve superior a la de un analito y un análogo marcado y/o no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que incluye CFS de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-10) Un caso cuando se usan un análogo marcado, una CFS y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), siendo dicho depósito S/R (5) diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) Una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

(e) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(f) Dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(g) Dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que

se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción, y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción) mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito y análogo marcado, no menos de un tipo de una CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar al menos uno seleccionado de dicho analito y análogo marcado, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción, aplicando voltaje a un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, al menos uno seleccionado de dicho analito y análogo marcado, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan en tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)], concretamente significa que al menos uno seleccionado de un analito y análogo marcado, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se acumulan tras la aplicación de voltaje sobre un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y un análogo marcado, la concentración de no menos de un tipo de una CFS o la concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se vuelve superior a la de un analito y un análogo marcado, no menos de un tipo de CFS o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)].

(3-11) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que contiene una muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcadas se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que contiene una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene una muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcadas se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada se pone en

dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye la muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS marcada y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho analito y análogo de mejora de la reacción se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS marcada (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada, y dicho análogo de mejora de la reacción se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada) mientras que se concentra dicho analito y análogo de mejora de la reacción y/o no menos de un tipo de CFS marcada aplicando voltaje a dicho canal, antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS marcada y el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada.

Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar dicho analito y análogo de mejora de la reacción y/o no menos de un tipo de CFS marcada, aplicando un voltaje sobre un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y análogo de mejora de la reacción y/o no menos de un tipo de CFS marcada se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y análogo de mejora de la reacción y/o no menos de un tipo de CFS marcada se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y un análogo de mejora de la reacción y/o la concentración de no menos de un tipo de una CFS marcada se vuelve superior a la de un analito y un análogo de mejora de la reacción y/o no menos de un tipo de CFS marcada en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye un analito y un análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS), una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcadas] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-12) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo marcado se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a

dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS y la disolución que contiene un análogo marcado se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS y una zona de una disolución que incluye un análogo marcado (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con CFS (concretamente, dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS) mientras que se concentra dicho análogo marcado y/o dicha CFS que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo marcado y CFS.

Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar dicho análogo marcado y/o dicha CFS que no participa en la formación de un complejo A, aplicando un voltaje sobre un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho análogo marcado y/o dicha CFS que no participa en la formación de un complejo A se acumulan en tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que dicho análogo marcado y/o dicha CFS que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un análogo marcado y/o una concentración de una CFS que no participa en la formación de un complejo A se vuelve superior a la de un análogo marcado y/o una CFS que no participa en la formación de un complejo A en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS y una zona de una disolución que incluye un análogo marcado] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-13) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en uno de los depósitos S/R (5) que conectan con dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo marcado se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción y la disolución que contiene un análogo marcado se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de

CFS de mejora de la reacción y una zona de una disolución que incluye un análogo marcado (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo marcado y la CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

5 (f) Dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción (concretamente, dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho análogo marcado y/o dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar dicho análogo marcado y/o dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A, aplicando voltaje a un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho análogo marcado y/o dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un análogo marcado y/o una CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un análogo marcado y/o la concentración de una CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A se vuelve superior a la de un análogo marcado y/o una CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción, y una zona de una disolución que incluye un análogo marcado] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-14) Un caso cuando se usan un análogo marcado, una CFS y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

30 (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

35 (c) Una disolución que contiene un análogo marcado se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

40 (e) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de una CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

50 (f) Dicha disolución que contiene un análogo marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal

55

lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) está puesta en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), la disolución que contiene un análogo marcado y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y al menos un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), una zona de la disolución que incluye un análogo marcado y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción [concretamente, un complejo entre dicho analito y CFS (o CFS de mejora de la reacción) en dicha disolución (a) se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción (o CFS) en dicha disolución (c), y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS (o CFS de mejora de la reacción) que no participa en la formación de dicho complejo con dicho analito en dicha disolución (a) y dicha CFS de mejora de la reacción (o CFS) en dicha disolución (c)] mientras que se concentra al menos uno seleccionado del complejo A entre dicho analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), análogo marcado y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no dependiendo de difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y el complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar al menos uno seleccionado de dicho complejo entre dicho analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), dicho análogo marcado y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS), aplicando voltaje a un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, al menos uno seleccionado de dicho complejo entre dicho analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), dicho análogo marcado y no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de una CFS) se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)], concretamente significa que al menos uno seleccionado de un complejo entre dicho analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un complejo entre dicho analito y no menos de un tipo de una CFS (o no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción), la concentración de un análogo marcado o la concentración de no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se vuelve superior a la de un complejo entre dicho analito y al menos un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), un análogo marcado o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), una zona de una disolución que incluye un análogo marcado y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS)] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (g)].

(3-15) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcadas se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada y la disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada y una zona de una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho análogo de mejora de la reacción se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con la CFS marcada (concretamente, dicho análogo de mejora de la reacción se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcadas) mientras que se concentra dicho análogo de mejora de la reacción y/o dicha CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y la CFS marcada.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar un análogo de mejora de la reacción y/o una CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A, aplicando voltaje a un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, un análogo de mejora de la reacción y/o una CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que dicho análogo de mejora de la reacción y/o dicha CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un análogo de mejora de la reacción y/o la concentración de una CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A se vuelve superior a la de un análogo de mejora de la reacción y/o una CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye un analito y no menos de un tipo de CFS marcadas, y una zona de una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-16) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción marcado y una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de “(3) un procedimiento específico de formación de un complejo”.

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción

marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

5 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

10 (d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

20 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

45 (f) Dicho analito y análogo de mejora de la reacción marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y dicho análogo de mejora de la reacción marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho analito y análogo de mejora de la reacción marcado y/o no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción.

55 Además, en lo descrito anteriormente, "concentrar dicho analito y análogo de mejora de la reacción marcado y/o no menos de un tipo de una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, aplicando voltaje a un canal" significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, dicho analito y análogo de mejora de la reacción marcado y/o no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras

palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje sobre un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado y/o no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado y/o la concentración de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se vuelve superior a la de un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado y/o no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS), una zona de una disolución que contiene CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

(3-17) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción marcado y una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de formación de un complejo".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y la disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una zona de una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción marcado (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho análogo de mejora de la reacción marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción (concretamente, dicho análogo de mejora de la reacción marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de

mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho análogo de mejora de la reacción marcado y/o dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicho canal antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción.

Además, en lo descrito anteriormente, “concentrar un análogo de mejora de la reacción marcado y/o una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A, aplicando un voltaje sobre un canal” significa que, similarmente a como se ha descrito anteriormente, un análogo de mejora de la reacción marcado y/o una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tipo banda (tipo tapón) tras la aplicación de voltaje a un canal. En otras palabras, significa que dichas sustancias se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal de manera que se genera una porción tal en la que la concentración de dichas sustancias se vuelve superior a la de una sustancia en una zona dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)], concretamente significa que dicho análogo de mejora de la reacción marcado y/o dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A se acumulan tras la aplicación de voltaje a un canal, y se genera una porción en la que la concentración de un análogo de mejora de la reacción marcado y/o la concentración de una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A se vuelve superior a la de un análogo de mejora de la reacción marcado y/o una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A en una zona de disolución [por ejemplo, una zona de una disolución que incluye un analito, y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y una zona de una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción marcado] dispuesta en una etapa de introducción [las etapas (b) a (e)].

En los procedimientos (3-1) a (3-17) anteriormente descritos, en cuanto al nivel (grado) de concentración de una sustancia que va a concentrarse [por ejemplo, un analito, una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada, un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción, un complejo entre un analito y una CFS, un complejo entre un analito y una sustancia de mejora de la reacción, un complejo entre un analito y una CFS marcada, un complejo entre un análogo marcado y CFS y un complejo entre un análogo de mejora de la reacción y CFS], la concentración de una sustancia [por ejemplo, un analito, una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada, un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción, un complejo entre un analito y una CFS, un complejo entre un analito y una sustancia de mejora de la reacción, un complejo entre un analito y una CFS marcada, un complejo entre un análogo marcado y CFS y un complejo entre un análogo de mejora de la reacción y CFS] en una parte acumulada (tipo banda) de dicha sustancia tras la aplicación de voltaje a un canal, con respecto a la concentración de una sustancia [por ejemplo, un analito, una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada, un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción, un complejo entre un analito y una CFS, un complejo entre un analito y una CFS marcada, un complejo entre un análogo marcado y CFS y un complejo entre un análogo de mejora de la reacción y CFS] en una zona de disolución dispuesta por una etapa de introducción es, como límite inferior, normalmente no inferior a 1,5 veces, preferentemente no inferior a 5 veces, más preferentemente no inferior a 10 veces, y adicionalmente preferentemente no inferior a 25 veces, y el límite superior no está especialmente limitado, sin embargo normalmente no superior a 10^7 veces, preferentemente no superior a 10^6 veces y más preferentemente no superior a 10^5 veces.

Además, en los procedimientos (3-1) a (3-17) anteriormente descritos, “se pone en contacto mientras que se concentra” significa, similarmente a como se ha descrito anteriormente, ambos casos cuando la concentración y el contacto se llevan a cabo simultáneamente, y un caso cuando el contacto se lleva a cabo después de completarse sustancialmente la concentración, y por tanto engloba supuestamente todos los casos distintos del caso cuando la concentración se lleva a cabo después de completarse sustancialmente el contacto.

En los procedimientos (3-1) a (3-17) anteriormente descritos, una etapa de concentración y de reacción puede llevarse a cabo, similarmente a como se ha descrito anteriormente, antes de que una disolución dispuesta en un canal por una etapa de introducción se mezcle uniformemente en condiciones que permiten concentración, puesta en contacto y formación de un complejo, aplicando voltaje a dicho canal.

Ejemplos específicos y realizaciones preferibles de tales condiciones son como se han descrito anteriormente, y por ejemplo, la etapa de concentración y de reacción anterior puede llevarse a cabo según el procedimiento anteriormente descrito para concentración, en consideración adecuada de la movilidad electroforética de un analito, una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada, un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción, un complejo compuesto de 2 o más tipos de los mismos, que van a usarse, o la conductividad eléctrica de disoluciones que incluyen estos.

Además, el voltaje aplicado y otras condiciones de reacción (por ejemplo, pH, temperatura, tiempo) en una etapa de concentración y de reacción pueden también determinarse adecuadamente a partir de un intervalo como se ha descrito anteriormente, en consideración de un analito, una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada, un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción, un complejo compuesto de 2 o más tipos de los mismos, y disoluciones que incluyen estos.

7. Un procedimiento de separación

Un procedimiento de separación presenta la separación eléctrica de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS, formado mediante un procedimiento para la formación de un complejo como se ha descrito anteriormente, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo.

Concretamente, la característica es que un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS en una disolución, formado reaccionando cada uno (contacto y reacción) moviéndose electroforéticamente (migrando) en un capilar (un primer canal) en una etapa de concentración y de reacción, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, se mueven (migran) adicionalmente electroforéticamente y se separan.

Un procedimiento de separación puede llevarse a cabo según un procedimiento en sí conocido, excepto en la separación eléctrica de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y no menos de un tipo de CFS formado mediante un procedimiento de formación de un complejo, usando el procedimiento de introducción de disoluciones de la presente invención, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, en un procedimiento en sí conocido de separación de una sustancia por movimiento eléctrico (migración) usando, por ejemplo, un capilar, y en cuanto al material y reactivos que van a usarse también pueden usarse aquellos usados en procedimientos en sí conocidos. Concretamente, como se ha descrito anteriormente, se lleva a cabo un procedimiento de introducción de una muestra y/o una disolución de reactivo según la presente invención para introducir y disponer una pluralidad de disoluciones (una muestra y/o una disolución de reactivo tal como una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, o una disolución que contiene una CFS) en el capilar (el primer canal) de manera que cada zona independiente se forma en un canal (el primer canal). A continuación, un analito o un análogo del mismo y al menos un tipo de una CFS se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS electroforéticamente para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y la CFS aplicando voltaje a dicho capilar (el primer canal) introducido y dispuesto con estas disoluciones, sin formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y la CFS mezclando estas disoluciones con antelación fuera de un capilar. Posteriormente, un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS en una disolución, formado reaccionando cada uno (contacto y reacción) moviéndose electroforéticamente (migrando) en un capilar (un primer canal), y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, se mueven (migran) adicionalmente electroforéticamente y se separan.

Por tanto, un procedimiento de separación es específicamente, por ejemplo, uno que comprende las siguientes etapas:

(a) proporcionar un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;

(i) un primer canal (1);

(ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada dicho canal lateral D (2) una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4); y

(iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada dicho canal lateral S/R (3) una abertura (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) de dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada dicha abertura (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de los canales laterales D (2), en el que cada dicha abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está cada una dispuesta en una porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5)[(a): una etapa de fabricación];

(b) poner una muestra en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3);

(c) poner una disolución de reactivo en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b);

(d) introducir dicha muestra en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha

etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha muestra de dicho depósito S/R (5) en el que dicha muestra se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5);

(e) introducir dicha disolución de reactivo en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución de reactivo de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución de reactivo se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) [(b) a (e): una etapa de introducción];

(f) hacer reaccionar un analito o un análogo del mismo en la muestra con al menos un tipo de CFS en la disolución de reactivo mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de CFS en la disolución de reactivo para formar el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, aplicando voltaje a dicho primer canal (1) [(f): etapa de concentración y de reacción]; y

(g) separar dicho complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, y la CFS que no participa en la formación de dicho complejo o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo, aplicando adicionalmente voltaje a dicho primer canal (1) [(g): etapa de separación].

A este respecto, en la descripción anterior, realizaciones, ejemplos específicos y ejemplos preferibles de un analito, un análogo (un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción), una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, una muestra que contiene un analito, una CFS (una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada), una disolución que contiene los mismos, una etapa de fabricación [una etapa (a)], una estructura que introduce disolución, un dispositivo microfluídico o un sistema microfluídico usado en una etapa de fabricación [una etapa (a)] una etapa de introducción, una etapa de concentración y de reacción son como se han descrito anteriormente.

En general, como procedimiento de introducción de disolución usado en un procedimiento de formación de un complejo, es uno como se define por la presente invención. Además, el primer canal tiene preferentemente al menos una región (región de reacción) en la que una muestra reacciona con una disolución de reactivo en una parte de la misma, en particular, al menos una región (región de concentración y de reacción) en la que al menos un tipo de una CFS reacciona con un analito o un análogo del mismo en una muestra mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo, y adicionalmente tiene una región (región de separación) en la que un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo, y una sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo del mismo, se separa de dicha sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo del mismo que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo, aguas abajo de dicha región de reacción o dicha región de concentración y de reacción.

(1) Una etapa de separación

Como se ha descrito anteriormente, un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, obtenido por la etapa de introducción y la etapa de concentración y de reacción, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, se separan en un capilar (un primer canal), por movimiento eléctrico adicional (migración).

Un procedimiento de separación es la separación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, y más específicamente, (1) separación de un complejo entre dicho analito y CFS, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, por movimiento eléctrico adicional (migración); o (2) separación de un complejo entre dicho análogo y CFS, y un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, o un complejo entre dicho analito y CFS que no participa en la formación de dicho complejo, por movimiento eléctrico adicional (migración). Por ejemplo, cuando se usa un procedimiento de separación en un procedimiento no competitivo (por ejemplo, procedimientos (3-1) a (3-7) que van a describirse después), y cuando se usa una CFS que incluye una sustancia marcadora (una CFS marcada o una CFS de mejora de la reacción marcada), es suficiente la separación de al menos una CFS que incluye una sustancia marcadora que no participa (sustancias libres de marca) en la formación de un complejo entre un analito y una CFS, y un complejo que incluye un analito. Aunque no se requiere necesariamente la separación de una CFS que no incluye una sustancia marcadora de dicho complejo, es preferible la separación de dicho complejo y todas las CFS que no participan (libre de CFS) en la formación de un complejo.

Además, por ejemplo, cuando se usa un procedimiento de separación en un procedimiento competitivo (por ejemplo, procedimientos (3-8) a (3-17) que van a describirse después), y cuando se usa un análogo marcado, es suficiente la separación de al menos un complejo (final) entre un análogo marcado y (todas las) CFS, y un análogo marcado que no participa (análogo libre de marca) en la formación de dicho complejo. No se requiere necesariamente la separación de un complejo entre un analito y una CFS, y un complejo (final) entre un análogo marcado y (todas las) CFS requeridas. Además, cuando se usa un análogo de mejora de la reacción, es suficiente la separación de al menos un complejo entre un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada, y un complejo entre un analito y una CFS marcada.

Una etapa de separación puede llevarse a cabo usando un procedimiento que permite separar suficientemente un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo. Como tal procedimiento puede usarse un procedimiento de electroforesis en sí conocido y normalmente usado en este campo.

Específicamente, pueden usarse procedimientos de electroforesis basados en diversos principios (modos de separación). Ejemplos de tal procedimiento son ITP, IF, como se han descrito anteriormente; un llamado procedimiento de electroforesis capilar en zona (CZE) para la separación de una sustancia objetivo moviendo cada sustancia a diferente velocidad dependiendo de la intensidad de una carga de la misma, en la que un capilar se llena fundamentalmente con solo una disolución tampón para electroforesis [Referencia: H. Hisamoto y col., Chem. Commun., (2001), 2662]; una llamada cromatografía electrocinética micelar (MEKC) que usa una sustancia cargada que forma una micela iónica y que separa una sustancia objetivo por interacción con dicha micela [Referencia: S. Terabe, Trends Anal. Chem., (1989), 8, 129]; una llamada procedimiento de electroforesis en gel capilar (CGE) para separar una sustancia objetivo usando una carga tal como un polímero que tiene efecto de tamiz molecular, y por carga de una molécula y tamaño de una molécula que induce interacción con un polímero [Referencia: S. Hjerten, J. Chromatogr., (1987), 397, 409].

A este respecto, los reactivos usados en un procedimiento de electroforesis como se ha descrito anteriormente pueden usarse según convenga. Además, estos reactivos, el procedimiento de operación en la separación y las condiciones pueden seleccionarse adecuadamente según la descripción en las referencias, como se ha descrito anteriormente.

Como procedimiento de electroforesis usado en una etapa de separación puede usarse cualquier procedimiento de electroforesis basado en el mismo principio (modo de separación) que en un procedimiento de concentración usado en una etapa de concentración y de reacción, o un procedimiento de electroforesis basado en un principio diferente (modo de separación) a un procedimiento de concentración usado en una etapa de concentración y de reacción.

A este respecto, cuando el uso de un procedimiento de electroforesis basado en el mismo principio (modo de separación) que en una etapa de concentración y de reacción proporciona insuficiente separación de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, se desea el uso de un procedimiento de electroforesis basado en un principio diferente (modo de separación) a un procedimiento de concentración usado en una etapa de concentración y de reacción para llevar a cabo una etapa de separación.

En un caso tal es particularmente preferible la ejecución de ITP y FASS en una etapa de concentración y de reacción, y posteriormente CZE en una etapa de separación.

Como se ha descrito anteriormente, cuando los modos de separación se cambian entre una etapa de concentración y de reacción y una etapa de separación, es particularmente útil la estructura que introduce disolución desvelada y el dispositivo microfluídico desvelado que tiene uno o más tipos de canales laterales EM (si fuera necesario, un puerto de acceso, un depósito de medio de electroforesis), en particular, una estructura que introduce disolución y un dispositivo microfluídico o un sistema microfluídico mostrado en la Fig. 21.

Por tanto, un procedimiento de separación cuando se usa una estructura que introduce disolución, un dispositivo microfluídico o un sistema microfluídico tal, incluye específicamente las siguientes etapas:

(a) proporcionar un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;

(i) un primer canal (1), teniendo dicho primer canal (1) un depósito aguas arriba (6) en el extremo del lado aguas arriba del mismo y un depósito aguas abajo (7) en el otro extremo del lado aguas abajo del mismo,

(ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada dicho canal lateral D (2) una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4);

(iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada dicho canal lateral S/R (3) una abertura

- 5 (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) de dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada una de dichas aberturas (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), en el que cada una de dichas aberturas (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está cada una dispuesta en una porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5),
- (iv) un canal lateral EM (8) que comunica con la región del primer canal entre un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un depósito aguas abajo (7), y dicho canal lateral EM (8) conectado a un depósito EM (11);
- 10 (b) poner una muestra en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3);
- (c) poner una disolución de reactivo en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b);
- 15 (d) introducir dicha muestra en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha muestra de dicho depósito S/R (5) en el que dicha muestra se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito (5);
- 20 (e) introducir dicha disolución de reactivo en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución de reactivo de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución de reactivo se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5);
- 25 (f) hacer reaccionar un analito o un análogo del mismo en una muestra con al menos un tipo de CFS en la disolución de reactivo mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo para formar el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8) aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1); y
- 30 (g) separar dicho complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, y dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo, aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

40 Como se ha descrito anteriormente, en un procedimiento de separación están incluidos los 2 siguientes casos: (i) la reacción (puesta en contacto y reacción) de dicho analito o análogo del mismo y una CFS se realiza mientras que se concentra un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS, para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y una CFS por una etapa de concentración y de reacción [en otras palabras, la reacción (contacto y reacción) de dicho analito o análogo del mismo y CFS se realiza aplicando voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) bajo condición tal que se concentren un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS, para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS], y posteriormente usando el mismo modo de separación sin cambiar el voltaje aplicado (en otras palabras, mientras que se aplica un voltaje con la misma intensidad bajo la misma condición que en una etapa de concentración y de reacción), dicho complejo y CFS que no participa en la formación de dicho complejo o análogo que no participa en la formación de dicho complejo se separan moviendo eléctricamente adicionalmente (migrando); (ii) o la reacción (puesta en contacto y reacción) de dicho analito o análogo del mismo y una CFS se realiza mientras que se concentra un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de CFS, para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y una CFS por una etapa de concentración y de reacción [en otras palabras, la reacción (contacto y reacción) de dicho analito o análogo del mismo y CFS se realiza aplicando voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) bajo condición tal que se concentren un analito o un análogo del mismo y/o al menos un tipo de una CFS, para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y una CFS], y posteriormente usando un modo de separación diferente y/o voltaje aplicado diferente [en otras palabras, cambiando la

55 condición (modo de separación usado) de la de en una etapa de concentración y de reacción y/o intensidad de voltaje

que va a aplicarse], dicho complejo y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo se separan moviendo eléctricamente adicionalmente (migrando).

(2) Condición

5 En cuanto al voltaje aplicado en una etapa de separación puede adoptarse cualquier intervalo, en tanto que se separen
suficientemente un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, y una CFS que no participa en la
formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, y se seleccione
adecuadamente de un intervalo normalmente usado en este campo. Más específicamente, el voltaje se aplica de
manera que la intensidad de campo eléctrico esté en un intervalo de normalmente, como límite inferior, no inferior a 5
10 V/cm, preferentemente no inferior a 10 V/cm, más preferentemente no inferior a 50 V/cm, adicionalmente
preferentemente no inferior a 500 V/cm, particular y preferentemente no inferior a 1000 V/cm, y como límite superior,
normalmente no superior a 10000 V/cm, preferentemente no superior a 5000 V/cm, y más preferentemente no superior
a 2000 V/cm. A este respecto, como se ha descrito anteriormente, el voltaje aplicado en una etapa (3) puede ser el
mismo que o diferentes de en una etapa (2). Además, otras condiciones de separación (por ejemplo, pH, temperatura y
15 tiempo) puede ser de cualquier intervalo, en tanto que se separen suficientemente un complejo de un analito o un
análogo del mismo y una CFS, y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no
participa en la formación de dicho complejo, y se seleccionen adecuadamente según un procedimiento en sí conocido
normalmente usado en este campo. Específicamente, aunque no se describe simplemente debido a la dependencia de
la propiedad de un analito o un análogo del mismo y una CFS, sin embargo, el límite inferior del pH es normalmente no
20 inferior a 2, preferentemente no inferior a 4, y más preferentemente no inferior a 5, y el límite superior no es superior a
13, preferentemente no superior a 11 y más preferentemente no superior a 9. El límite inferior de la temperatura es
normalmente no inferior a 0 °C, preferentemente no inferior a 5 °C y más preferentemente no inferior a 10 °C, y el límite
superior es normalmente no superior a 90 °C, preferentemente no superior a 80 °C, más preferentemente no superior a
50 °C, adicionalmente preferentemente no superior a 40 °C, y particular y preferentemente no superior a 30 °C.
25 Además, el límite inferior del tiempo es normalmente no inferior 1 minuto, preferentemente no inferior 2 minutos y más
preferentemente no inferior 3 minutos, y el límite superior es no superior a 20 minutos y más preferentemente no
superior a 10 minutos.

Como se ha descrito anteriormente, una etapa de separación se lleva a cabo en un capilar, y como tal capilar se incluye el mismo que se usa en una etapa de concentración y de reacción, y el material y diámetro interno del capilar también son como se ha descrito anteriormente.

30 Además, una etapa de separación se lleva a cabo normalmente en un estado de manera que un medio de
electroforesis tal como una disolución tampón para electroforesis o dicha disolución tampón para electroforesis que
contiene cargas se llena en un capilar (un primer canal) (en la región de separación) como se ha descrito
anteriormente. A este respecto, como ejemplo específico, la concentración de uso, pH, peso molecular, viscosidad, el
procedimiento de introducción en un capilar (un primer canal) y el momento adecuado de introducción de un medio de
35 electroforesis son los mismos que se ha descrito anteriormente.

A este respecto, como se ha descrito anteriormente, cuando una etapa de separación se lleva a cabo usando un
procedimiento de electroforesis basado en un principio diferente (modo de separación) al de un procedimiento de
concentración usado en una etapa de concentración y de reacción, no se requiere que un medio de electroforesis
usado en una etapa de concentración y de reacción y un medio de electroforesis usado en una etapa de separación
40 sean los mismos, y puede usarse un medio de electroforesis diferente por selección adecuada del mismo.

A este respecto, una etapa de concentración y de reacción y una etapa de separación se llevan a cabo normalmente
usando el mismo capilar (en el mismo capilar). Concretamente, un capilar usado en un procedimiento de separación
tiene al menos una parte que permite llevar a cabo el procedimiento de introducción de la presente invención, una parte
que permite llevar a cabo una etapa de concentración y de reacción y una parte que permite llevar a cabo una etapa de
45 separación. Estas partes pueden cada una estar presentes independientemente en un capilar (un primer canal), o una
parte de o todas de estas partes pueden estar presentes en un estado solapado. En otras palabras, como resultado, un
capilar (un primer canal) usado en un procedimiento de separación es uno que permite disponer en un capilar (un
primer canal) (a) una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo y (b) una disolución que contiene no
menos de un tipo de sustancias que puede formar un complejo (una CFS) con dicho analito o análogo del mismo, de
50 manera que aplicando un voltaje sobre dicho capilar (un primer canal) se forme el complejo entre dicho analito o
análogo del mismo y CFS sin mezclar estas disoluciones con antelación, y permite hacer reaccionar (contacto y
reacción) dicho analito o análogo del mismo y CFS mientras que se concentra dicho analito o análogo del mismo y/o al
menos un tipo de CFS aplicando un voltaje sobre dicho capilar (un primer canal), antes de mezclar uniformemente
estas disoluciones, para formar el complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS, y adicionalmente permite
55 separar dicho complejo y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en
la formación de dicho complejo, por movimiento eléctrico adicional (migración).

(3) Procedimiento específico de separación

Los modos para llevar a cabo los procedimientos de separación se muestran específicamente a continuación.

(3-1) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción.

5 (a) Se proporciona un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;

(i) un primer canal (1), teniendo dicho primer canal (1) un depósito aguas arriba (6) en el extremo del lado aguas arriba del mismo y un depósito aguas abajo (7) en el otro extremo del lado aguas abajo del mismo,

10 (ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada dicho canal lateral D (2) una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4);

15 (iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada dicho canal lateral S/R (3) una abertura (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) de dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada dicha abertura (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de los canales laterales D (2), en el que cada dicha abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está cada una dispuesta en una porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5),

20 (iv) un canal lateral EM (8) que comunica con la región del primer canal entre un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un depósito aguas abajo (7), y dicho canal lateral EM (8) que conecta a un depósito EM (11);

(b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

25 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

30 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

40 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introducen y se disponen en un primer canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS tras la aplicación de voltaje a dicho canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS mientras que se

concentra dicho analito y/o al menos un tipo de CFS aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y la CFS en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(g) Dicho complejo entre dicho analito y la CFS, y dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-2) Un caso cuando se usa una CFS marcada.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) disoluciones que incluyen una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de dicha CFS marcada aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y CFS marcada en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no

menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(g) Dicho complejo entre dicho analito y CFS marcada, y dicha CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

5 (3-3) Un caso cuando se usa una CFS de mejora de la reacción.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

10 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

15 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

20 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (ejemplo, una CFS marcada)] y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que interfase líquido-líquido se forma), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

30 (f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

35 (g) Dicho complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción, y dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito

EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-4) Un caso cuando se usa una CFS de mejora de la reacción marcada.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

5 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

10 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

15 (d) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

20 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción marcada tras la aplicación de voltaje a dicho canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

25 (f) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción marcada mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción marcada en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

30 (g) Dicho complejo entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción marcada, y dicha CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) que conecta a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-5) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una CFS de mejora de la reacción.

55 (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-

1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

5 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

10 (d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

15 (e) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

25 (f) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

30 (g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

45 (h) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(i) Dicho complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción, y dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, y si fuera necesario dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) que conecta a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

5 (3-6) Un caso cuando se usan una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción.

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

10 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

15 (d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

20 (e) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

30 (f) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

40 (g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS marcada y una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito, CFS marcada y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

55 (h) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada y CFS de mejora de la reacción mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de

- 5 un tipo de CFS marcada y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito, CFS marcada y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).
- 10 (i) Dicho complejo entre dicho analito, CFS marcada y CFS de mejora de la reacción, y dicha CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo, y si fuera necesario dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).
- 15 (3-7) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una CFS de mejora de la reacción marcada.
- (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 20 (b) Una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).
- (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).
- 25 (d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).
- 30 (e) A continuación, dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).
- 35 (f) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).
- 40 (g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción marcada está puesta en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada
- 50
- 55

se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS], una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de la disolución que contiene no menos de un tipo CFS de mejora de la reacción marcada (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción marcada mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción marcada aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción marcada en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(i) Dicho complejo entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción marcada, y dicha CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo, y si fuera necesario dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

También puede usarse un procedimiento de separación en un llamado procedimiento competitivo. El procedimiento en el que se lleva a cabo un procedimiento competitivo es del siguiente modo:

(3-8) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS. (El uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por

5 separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

10 (f) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS, y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS) mientras que se concentra dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de CFS aplicando un voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

20 (g) Dicho complejo B y dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) que conecta a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-9) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

25 (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

30 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

35 (d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

45 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) y una zona de

la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

5 (f) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS de mejora de la reacción (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción, y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho analito y análogo marcado y/o no menos de un tipo de dicha CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

20 (g) Dicho complejo B y dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) que conecta a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-10) Un caso cuando se usan un análogo marcado, una CFS y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

25 (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

30 (c) Una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) Una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).

35 (e) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

40 (f) Dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye no menos de un tipo de una CFS se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

50 (g) Dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2

55

canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), la disolución que incluye no menos de un tipo de una CFS y la disolución que incluye no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción, y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción) mientras que se concentra al menos uno seleccionado de dicho analito y análogo marcado, no menos de un tipo de CFS y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(i) Dicho complejo B y dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-11) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que contiene muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que contiene una muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene una muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene una muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que contiene una muestra que tiene un analito y análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye la muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS marcada (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS marcada y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho analito y análogo de mejora de la reacción se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS marcada (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada, y dicho análogo de mejora de la reacción se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada) mientras que se concentra dicho analito y análogo de mejora de la reacción y/o no menos de un tipo de CFS marcada aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS marcada y el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(g) Dicho complejo B y dicho complejo A se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) que conecta a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-12) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo marcado se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal

5 lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS, y la disolución que contiene un análogo marcado se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS y una zona de una disolución que incluye un análogo marcado (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS tras la aplicación de voltaje sobre un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

10 (f) Dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con CFS (concretamente, dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS) mientras que se concentra dicho análogo marcado y/o dicha CFS que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo marcado y CFS en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

20 (g) Dicho complejo B y dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se separan, aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

25 (3-13) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluidico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en uno del depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3).

30 (c) Una disolución que contiene un análogo marcado se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

35 (d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

40 (e) Dicha disolución que contiene un análogo marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción y la disolución que contiene un análogo marcado se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción y una zona de una disolución que incluye un análogo marcado (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

55

- (f) Dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción (concretamente, dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho análogo marcado y/o dicha CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A aplicando un voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo marcado y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).
- (g) Dicho complejo B y dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se separan aplicando un voltaje a dicha parte de depósito EM (11) que conecta a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).
- (3-14) Un caso cuando se usan un análogo marcado, una CFS y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)
- (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).
- (c) Una disolución que contiene un análogo marcado se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).
- (d) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dichas etapas (b) y (c).
- (e) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).
- (f) Dicha disolución que contiene un análogo marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).
- (g) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (d), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de una CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de una CFS) está puesta en dicha etapa (d) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje,

mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (e) a (g), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), la disolución que contiene un análogo marcado y la disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y al menos un tipo de CFS (o no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción), una zona de la disolución que incluye un análogo marcado y una zona de una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de una CFS) (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(h) Dicho analito y análogo marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS y CFS de mejora de la reacción [concretamente, un complejo entre dicho analito y CFS (o CFS de mejora de la reacción) en dicha disolución (a) se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS de mejora de la reacción (o CFS) en dicha disolución (c), y dicho análogo marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS (o CFS de mejora de la reacción) que no participa en la formación de dicho complejo con dicho analito en dicha disolución (a) y dicha CFS de mejora de la reacción (o CFS) en dicha disolución (c)] mientras que se concentra al menos uno seleccionado del complejo A entre dicho analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), análogo marcado y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de CFS) aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no dependiendo de difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito, CFS y CFS de mejora de la reacción y el complejo B entre dicho análogo marcado, CFS y CFS de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(i) Dicho complejo B y dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-15) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una

- 5 dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada y la disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada y una zona de una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.
- 10 (f) Dicho análogo de mejora de la reacción se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con la CFS marcada (concretamente, dicho análogo de mejora de la reacción se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS marcada que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada) mientras que se concentra dicho análogo de mejora de la reacción y/o dicha CFS marcada que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).
- 15 (g) Dicho complejo B y dicho complejo A se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).
- 25 (3-16) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción marcado y una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción. (El uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)
- (a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 30 (b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).
- 35 (c) Una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en al menos uno del otro depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).
- 40 (d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).
- 45 (e) Dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en
- 55

dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) y la disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o la disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS) y una zona de la disolución que incluye no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forman un complejo A entre dicho analito y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho analito y análogo de mejora de la reacción marcado se ponen electroforéticamente en contacto y reaccionan con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción (concretamente, dicho analito se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y dicho análogo de mejora de la reacción marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho analito y análogo de mejora de la reacción marcado y/o no menos de un tipo de una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo A entre dicho analito y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(g) Dicho complejo B y dicho complejo A se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

(3-17) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción marcado y una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

(a) Se proporciona el mismo dispositivo microfluídico que en la etapa (a) anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) Una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en uno de los depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3).

(c) Una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se pone en al menos uno de los otros depósitos S/R (5) conectados a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b).

(d) A continuación, dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5).

(e) Dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se introduce en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5). Por las etapas (d) y (e), la disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y la disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado se introducen y se disponen en un canal de manera que se forman por separado una zona de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una zona de una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción marcado (de manera que se forma una interfase líquido-líquido), y se forma un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS marcada tras la aplicación de voltaje a un canal, sin mezclar estas disoluciones con antelación fuera de un canal.

(f) Dicho análogo de mejora de la reacción marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con la CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción (concretamente, dicho análogo de mejora de la reacción marcado se pone electroforéticamente en contacto y reacciona con dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo (complejo A) con dicho analito en dicha disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción) mientras que se concentra dicho análogo de mejora de la reacción marcado y/o dicha CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción que no participa en la formación de un complejo A aplicando voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, no por (no dependiendo de) difusión molecular y sin mezclar físicamente, para formar el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y la CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y un canal lateral D (2n) localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2), o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral D (2a) localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales D (2) y dicho canal lateral EM (8).

(g) Dicho complejo B y dicho complejo A se separan aplicando voltaje a dicha parte de depósito EM (11) conectada a dicho canal lateral EM (8) y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

8. Un procedimiento de medida

Midiendo la cantidad de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, y la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, que se separan mediante un procedimiento de separación, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad de, por ejemplo, una sustancia marcadora en un complejo, o una sustancia marcadora en una CFS o análogo de la misma que no participa en la formación de un complejo, puede determinarse simplemente la cantidad de un analito presente en una muestra, con alta sensibilidad y en un corto tiempo.

Por tanto, un procedimiento de medida de características que comprende las siguientes etapas:

(a) proporcionar un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura;

(i) un primer canal (1);

(ii) no menos de 3 canales laterales D (2), teniendo cada dicho canal lateral D (2) una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que dicho canal lateral D (2) está conectado a un depósito W (4); y

(iii) no menos de 2 canales laterales S/R (3), teniendo cada uno de dichos canales laterales S/R (3) una abertura (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en una posición diferente (parte) de dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales D (2), y cada una de dichas aberturas (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales D (2), en el que cada una de dichas aberturas (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales S/R (3) está dispuesta en una

porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de los canales laterales D (2), y el canal lateral S/R (3) está conectado a un depósito S/R (5) [(a): una etapa de fabricación];

(b) poner una muestra en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3);

5 (c) poner una disolución de reactivo en al menos un depósito S/R (5) conectado a dicho canal lateral S/R (3), en el que dicho depósito S/R (5) es diferente del usado en dicha etapa (b);

10 (d) introducir dicha muestra en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha muestra de dicho depósito S/R (5) en el que dicha muestra se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5);

15 (e) introducir dicha disolución de reactivo en dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales D (2), moviendo dicha disolución de reactivo de dicho depósito S/R (5) en el que dicha disolución de reactivo se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales D (2) adyacentes a dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral S/R (3) conectado a dicho depósito S/R (5) [(b) a (e): una etapa de introducción];

20 (f) hacer reaccionar un analito o un análogo del mismo en la muestra con al menos un tipo de CFS en la disolución de reactivo mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de CFS en la disolución de reactivo para formar el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, aplicando voltaje a dicho primer canal (1) [(f): etapa de concentración y de reacción];

25 (g) separar dicho complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y CFS, y CFS que no participa en la formación de dicho complejo o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo, aplicando adicionalmente voltaje a dicho primer canal (1) [(g): etapa de separación]; y

(h) medir la cantidad de complejo así separado entre dicho analito o dicho análogo del mismo y la CFS, la cantidad de dicha CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o la cantidad de dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo para determinar la cantidad de dicho analito o dicho análogo del mismo en una muestra basándose en el resultado [(h): etapa de medición].

30 A este respecto, en la descripción anterior, realizaciones, ejemplos específicos y ejemplos preferibles de un analito, un análogo (un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción), una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, una muestra que contiene un analito, una CFS (una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada), una disolución que contiene los mismos, una etapa de fabricación [etapa (a)], una estructura que introduce disolución, un dispositivo microfluídico o un sistema microfluídico
35 usado en una etapa de fabricación [etapa (a)] una etapa de introducción, una etapa de concentración y de reacción, una etapa de separación, son como se han descrito anteriormente.

40 En general se usa un procedimiento de introducción de disolución según la presente invención. Además, el primer canal tiene preferentemente al menos una región (región de reacción) en la que una muestra reacciona con una disolución de reactivo en una parte de la misma, en particular, al menos una región (región de concentración y de reacción) en la que al menos un tipo de una CFS reacciona con un analito o un análogo del mismo en una muestra mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de la CFS en la disolución de reactivo, y adicionalmente tiene una región (región de separación) en la que un complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo, y una sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo del mismo, se separa de dicha sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo del mismo que no participa en la formación de dicho complejo, o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo, aguas abajo de dicha región de reacción
45 o dicha región de concentración y de reacción.

50 Un procedimiento de medida es para medir la cantidad de un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS, o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, que se separan por una etapa de separación como se ha descrito anteriormente, y para determinar la cantidad de un analito, basándose en los resultados, y más específicamente, (1) para medir la cantidad de un complejo entre un analito y una CFS, o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, que se separan por una etapa de separación, y para determinar la cantidad de un analito, basándose en los resultados; o (2) para medir la cantidad de un complejo entre un análogo y una CFS, o la cantidad de un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, o la cantidad de un complejo entre un analito y una
55 CFS, que se separan, y para determinar la cantidad de un analito, basándose en los resultados.

Un procedimiento de medida es aplicable a procedimiento no competitivo o procedimiento competitivo. Concretamente, cuando un procedimiento de medida

se lleva a cabo por un procedimiento no competitivo, por ejemplo, puede llevarse a cabo del siguiente modo:

- 5 (1) Por un procedimiento de introducción de la presente invención, (a) una disolución que contiene un analito [por ejemplo, (i) una muestra que incluye un analito, (ii) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS] y (b) al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS marcada, una CFS de mejora de la reacción, una CFS de mejora de la reacción marcada, combinaciones de las mismas) se disponen en un capilar (un primer canal), de manera que aplicando voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) se forma el complejo entre dicho analito y la CFS
- 10 [complejo (analito-CFS), complejo (analito-CFS marcada), complejo (analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (analito- CFS de mejora de la reacción marcada), complejo (CFS-analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS marcada-analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-analito-CFS de mejora de la reacción marcada), y combinaciones de los mismos], sin mezclar estas disoluciones con antelación;
- 15 (2) por una etapa de concentración y de reacción, dicho analito se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con dicha CFS mientras que se concentra dicho analito y/o al menos un tipo de la CFS aplicando voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones para formar el complejo entre dicho analito y la CFS;
- 20 (3) por una etapa de separación, dicho complejo y una CFS que no participa en la formación de dicho complejo se separan por movimiento eléctrico adicional (migración); y
- (4) la cantidad de complejo separado o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo se mide para determinar la cantidad de un analito en una muestra basándose en el resultado.

Además, cuando un procedimiento de medida se lleva a cabo por un procedimiento competitivo, por ejemplo, puede llevarse a cabo del siguiente modo:

- 25 (1) Por un procedimiento de introducción de la presente invención, (i) (a) una muestra que incluye un analito (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS), (b) una disolución que contiene un análogo marcado por una sustancia marcadora (o una disolución que incluye un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), y (c) al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción, combinaciones de las mismas), o
- 30 (ii) (a) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), y (b) al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción, combinaciones de las mismas), o (iii) (a) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS de mejora de la reacción, combinaciones de las mismas), y (b) una disolución que contiene un análogo marcado (o una disolución que incluye un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) se disponen en un capilar (un primer canal), de manera que aplicando un voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) se forma un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS [complejo (análogo marcado-CFS), complejo (análogo marcado-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-análogo marcado-CFS de mejora de la reacción), y combinaciones de los mismos], o se forman un complejo A entre dicho analito y la CFS [complejo (analito-CFS), complejo (analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-analito-CFS de mejora de la reacción), y combinaciones de los mismos] y tal complejo B, sin mezclar estas disoluciones con antelación;
- 35 (2) por una etapa de concentración y de reacción, (i) dicho análogo marcado se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con dicha CFS [concretamente, dicho análogo marcado se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con una CFS que no participa en la formación de un complejo (complejo A) que incluye dicho analito] o (ii) dicho analito y análogo marcado se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) con dicha CFS [concretamente, dicho analito se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con dicha CFS y dicho análogo marcado se pone en contacto con dicha CFS] mientras que se concentra al menos uno de dicho analito, dicho análogo marcado y no menos de un tipo de CFS antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, para formar el complejo B entre dicho análogo marcado y CFS o para formar el complejo A entre dicho analito y CFS y el complejo B;
- 40 (3) por una etapa de separación, dicho complejo B, y un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, se separan por movimiento eléctrico adicional (migración); y
- 45 (4) la cantidad de complejo B separado, o la cantidad de dicho análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, se mide para determinar la cantidad de un analito en una muestra basándose
- 50
- 55

en el resultado.

Además, cuando un procedimiento de medida se lleva a cabo por un procedimiento competitivo, por ejemplo, también puede llevarse a cabo del siguiente modo:

- 5 (1) Por un procedimiento de introducción de la presente invención, (i) (a) una muestra que incluye un analito (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS), (b) Una disolución que contiene un análogo unido con una sustancia de mejora de la reacción (un análogo de mejora de la reacción) (o una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) o un análogo unido con una sustancia de mejora de la reacción marcada (un análogo de mejora de la reacción marcado) (o una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS), y (c) al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS marcada, combinaciones de las mismas), o (ii) (a) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, y un análogo de mejora de la reacción o un análogo de mejora de la reacción marcado [o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción o un análogo de mejora de la reacción marcado, y no menos de un tipo de CFS], y (b) al menos un tipo de disolución que contiene no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS marcada, combinaciones de las mismas), o (iii) (a) una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (una CFS, una CFS marcada, combinaciones de las mismas), y (b) una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción o un análogo de mejora de la reacción marcado [o una disolución que incluye un análogo de mejora de la reacción o un análogo de mejora de la reacción marcado, y no menos de un tipo de CFS], se disponen en un capilar (un primer canal), de manera que aplicando voltaje a dicho capilar (dicho primer canal) se forma un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y CFS marcada (o un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y CFS), o se forman un complejo A entre dicho analito y la CFS marcada (o un complejo A entre dicho analito y la CFS) y tal complejo B, sin mezclar estas disoluciones con antelación;
- 20 (2) por una etapa de concentración y de reacción, (i) dicho análogo de mejora de la reacción (o dicho análogo de mejora de la reacción marcado) se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con dicha CFS marcada (o dicha CFS) [concretamente, dicho análogo de mejora de la reacción (o un análogo de mejora de la reacción marcado) se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con una CFS marcada (o una CFS) que no participa en la formación de un complejo (complejo A) que incluye dicho analito] o (ii) dicho analito y análogo de mejora de la reacción (o análogo de mejora de la reacción marcado) se hacen reaccionar (se ponen en contacto y reaccionan) con dicha CFS marcada (o CFS) [concretamente, dicho analito se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con dicha CFS marcada (o CFS) y dicho análogo de mejora de la reacción (o análogo de mejora de la reacción marcado) se hace reaccionar (se pone en contacto y reacciona) con dicha CFS marcada (o CFS)] mientras que se concentra al menos uno de dicho analito, dicho análogo de mejora de la reacción (o análogo de mejora de la reacción marcado) y no menos de un tipo de CFS marcada (o CFS) antes de mezclar uniformemente estas disoluciones, para formar el complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción y la CFS marcada (o un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción marcado y la CFS) o para formar el complejo A entre dicho analito y la CFS marcada (o un complejo A entre dicho analito y la CFS) y el complejo B;
- 25 (3) por una etapa de separación, dicho complejo B y complejo A se separan por movimiento eléctrico adicional (migración); y
- 30 (4) la cantidad de complejo B separado o la cantidad de complejo A separado se mide para determinar la cantidad de un analito en una muestra basándose en el resultado.

45 A este respecto, un análogo (un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción o un análogo de mejora de la reacción marcado) se usa por (i) co-presencia con un analito en una muestra (concretamente, una muestra que incluye un analito) como disolución que incluye un análogo marcado, un análogo de mejora de la reacción o un análogo de mejora de la reacción marcado y un analito (una disolución que contiene un analito y un análogo); o (2) sin co-presencia con un analito en una muestra (concretamente, una muestra que incluye un analito) y por separado de una disolución que contiene un analito, como disolución que contiene un análogo.

50 (1) Una etapa de medición

En una etapa de medición, la cantidad de un complejo o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, que se separan, puede medirse, por ejemplo, mediante un procedimiento correspondiente a una propiedad de una sustancia marcadora en dicho complejo, o una sustancia marcadora en una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o una sustancia marcadora en un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, y basándose en resultados de medición de dicha sustancia marcadora. Concretamente, en un procedimiento no competitivo, la cantidad de un

55

complejo entre un analito y una CFS, o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, que se separan, puede determinarse, por ejemplo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad de una sustancia marcadora en dicho complejo, o sustancia marcadora en CFS que no participa en la formación de dicho complejo, y basándose en el resultado de medición de dicha sustancia marcadora. En un procedimiento competitivo, la cantidad de un complejo B o la cantidad de un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B (o la cantidad de un complejo B o la cantidad de un complejo A), que se separan, puede determinarse, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad de una sustancia marcadora en dicho complejo B, o una sustancia marcadora en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B (o una sustancia marcadora en un complejo A), y basándose en el resultado de medición de dicha sustancia marcadora.

La medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según cada procedimiento especificado correspondiente al tipo de una sustancia marcadora. Por ejemplo, cuando dicha propiedad es actividad enzimática, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento común tal como EIA o un procedimiento de hibridación [por ejemplo, un procedimiento descrito en "Enzyme immunoassay method, protein, nucleic acid, enzyme, vol. separado, nº 31, editado por T. Kitagawa, T. Nannbara, A. Tuji, 51 a 63, KYORITSU SHUPPAN Co., Ltd., publicado el 10 de septiembre de 1987"]; cuando dicha propiedad es radiactividad, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo usando un instrumento de medida adecuadamente seleccionado tal como un contador tipo GM de inmersión en líquido, un contador de centelleo líquido y un contador de centelleo tipo pocillo, dependiendo del tipo e intensidad del rayo de radiación emitido por dicha sustancia radiactiva según un procedimiento común tal como RIA o un procedimiento de hibridación [por ejemplo, Medical Chemistry Experimental Course, vol. 8, editado por U. Yamamura, 1ª ed., publicado por Nakayama Bookstore en 1971; Biochemistry Experimental Course 2, A Tracer Experiment Method (parte 2), A. Takemura, H. Honjo, 501 a 525, publicado por TOKYO KAGAKU DOJIN Co., Ltd., el 25 de febrero de 1977]; cuando dicha propiedad es la fluorescencia, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento común tal como FIA o un procedimiento de hibridación usando instrumento de medición tal como fluoroespectrómetro o un microscopio de barrido láser confocal [un procedimiento descrito en, por ejemplo, "Illustration Explanation, Fluorescent antibody, A. Kawao, 1ª ed, publicado por Softscience Co., Ltd., 1983"; "Medical Chemistry Experimental Course, vol. 2, Chemistry of nucleic acid III, M. Saneyoshi, 299 a 318, publicado por TOKYO KAGAKU DOJIN Co., Ltd., el 15 de diciembre de 1977"]; cuando dicha propiedad es la luminiscencia, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento común usando un instrumento de medición tal como un contador de fotones [por ejemplo, un procedimiento descrito en "Enzyme immunoassay method, protein, nucleic acid, enzyme, vol. separado, nº 31, editado por T. Kitagawa, T. Nannbara, A. Tuji, 252 a 263, KYORITSU SHUPPAN Co., Ltd., publicado el 10 de septiembre de 1987"]; adicionalmente, cuando dicha propiedad es absorción UV, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento común usando un instrumento de medición tal como un espectrómetro; cuando dicha propiedad es un fenómeno de color, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento común usando un instrumento de medición tal como un espectrómetro o un microscopio; cuando dicha propiedad es espín, la medición de una sustancia marcadora puede llevarse a cabo según un procedimiento común usando un instrumento de resonancia de espín electrónico [por ejemplo, un procedimiento descrito en "Enzyme immunoassay method, protein, nucleic acid, enzyme, vol. separado, nº 31, editado por T. Kitagawa, T. Nannbara, A. Tuji, 264 a 271, KYORITSU SHUPPAN Co., Ltd., publicado el 10 de septiembre de 1987"].

Además, para la determinación de la cantidad de un analito presente en una muestra, basándose en la cantidad medida de un complejo o cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o cantidad de un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, concretamente la cantidad de una sustancia marcadora en un complejo o cantidad de una sustancia marcadora en una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o una sustancia marcadora en un análogo que no participa en la formación de dicho complejo, puede usarse, por ejemplo, una curva de calibración o un patrón interno, y, por ejemplo, puede llevarse a cabo del siguiente modo:

[El caso de usar una curva de calibración]

En un procedimiento no competitivo, la determinación de la cantidad de analito presente en una muestra basándose en la cantidad medida de un complejo o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, concretamente la cantidad de una sustancia marcadora en un complejo o la cantidad de una sustancia marcadora en una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida como antes, puede llevarse a cabo, por ejemplo, preparando una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora en un complejo o la cantidad de sustancia marcadora en una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por medición con un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito, y aplicando la cantidad de una sustancia marcadora obtenida por medición de una muestra que contiene un analito a dicha curva de calibración. Además, en un procedimiento competitivo, la determinación de la cantidad de analito presente en una muestra basándose en la cantidad de complejo B o la cantidad de análogo marcado (o análogo de mejora de la reacción marcado) que no participa en la formación de dicho complejo B (o la cantidad de complejo B o la cantidad de complejo A), concretamente la cantidad de sustancia marcadora en un complejo B o la cantidad de sustancia marcadora en un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción

5 marcado) que no participa en la formación de dicho complejo B (o la cantidad de sustancia marcadora en un complejo A), obtenida como antes, puede llevarse a cabo, por ejemplo, preparando una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora en un complejo B o la cantidad de sustancia marcadora en un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción marcado) que no participa en la formación de dicho complejo B (o la cantidad de sustancia marcadora en un complejo A), obtenida por medición con un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito, y aplicando la cantidad de sustancia marcadora obtenida por medición de una muestra que contiene un analito a dicha curva de calibración.

[El caso de uso de un patrón interno]

10 Además, mediante la adición de una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno en una muestra, y comparando la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno con la cantidad de un complejo que no participa en la formación de dicho complejo, o la cantidad de una CFS o la cantidad de un análogo que no participa en la formación de dicho complejo [concretamente, la cantidad de sustancia marcadora en un complejo o la cantidad de sustancia marcadora en una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o la cantidad de sustancia marcadora en un complejo B o la cantidad de sustancia marcadora en un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción marcado) que no participa en la formación de dicho complejo B (o la cantidad de sustancia marcadora en un complejo B o la cantidad de sustancia marcadora en un complejo A)], puede calcularse la cantidad relativa de un analito en una muestra. Concretamente, la cantidad de un analito en una muestra puede calcularse relativamente basándose en la cantidad adicional conocida de dicho patrón interno y la relación determinada comparando el pico del patrón interno medido y detectado con el pico del complejo medido y detectado simultáneamente con el patrón interno, el pico de la CFS que no participa en la formación de dicho complejo medido y detectado simultáneamente con el patrón interno o el pico del análogo que no participa en la formación de dicho complejo medido y detectado simultáneamente con el patrón interno.

25 Usando un patrón interno es posible corregir el error entre el equipo de electroforesis (dispositivo). Además, usando una movilidad conocida de una sustancia como patrón interno, también es posible la corrección de la movilidad del pico objetivo usando la movilidad de un pico de un patrón interno.

30 Una sustancia detectable (patrón interno) es una sustancia que puede detectarse y tiene una movilidad diferente de la del complejo, la CFS que no participa en la formación de dicho complejo o el análogo que no participa en la formación de dicho complejo, medida y detectada al mismo tiempo (migrada en una porción diferente de ellas). Tales sustancias detectables (patrones internos) incluyen, por ejemplo, péptido, proteína, ácido nucleico (ADN, ARN), un aminoácido, azúcar y una cadena de azúcar, marcados con la sustancia marcadora anteriormente descrita; y una sustancia fluorescente.

35 Además, cuando se usa una enzima como sustancia marcadora, pueden requerirse sustratos u otras enzimas de acoplamiento de dicha enzima para medir la actividad de dicha enzima. En un caso tal, por ejemplo, estos sustratos u otras enzimas de acoplamiento pueden disponerse en un capilar aguas abajo de una disolución que incluye un complejo o una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo [concretamente, un complejo entre un analito y una CFS o una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, o un complejo B o un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción marcado) que no participa en la formación de dicho complejo B (o un complejo B o un complejo A)], separados por una etapa de separación, al menos antes de llevar a cabo una etapa de medición. Es preferible que en el procedimiento de introducción de la presente invención una disolución que incluye estos sustratos u otras enzimas de acoplamiento se disponga adicionalmente aguas abajo de la disolución (zona) dispuesta lo más aguas abajo entre una disolución (zona) que incluye un analito o análogo del mismo y una disolución (zona) que incluye no menos de un tipo de CFS, y se llevan a cabo una etapa de introducción, una etapa de concentración y de reacción, una etapa de separación y una etapa de medición. Tal disolución puede usarse sola o en combinación con dos o más tipos.

45 Además, cuando se usa un colorante intercalante como sustancia marcadora en un procedimiento de introducción de la presente invención, no se requiere que dicho colorante intercalante se introduzca y disponga en un capilar con una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y una disolución que incluye no menos de un tipo de CFS. Y, por tanto, en una etapa de concentración y de reacción, no se requiere que dicho colorante intercalante se ponga en contacto con un analito o un análogo del mismo y una CFS. Solo es necesario llevar a cabo al menos una etapa de separación en presencia de dicho colorante intercalante. En un caso tal, específicamente, por ejemplo, dicho colorante intercalante puede estar contenido en un medio de electroforesis y/o disolución tampón usados en una etapa de separación. Entre otros, es preferible llevar a cabo una etapa de concentración y de reacción y una etapa de separación en presencia de dicho colorante intercalante. En este caso, dicho colorante intercalante puede estar contenido en un medio de electroforesis y/o disolución tampón usados en una etapa de concentración y de reacción y en una etapa de separación.

(2) Uso de un polímero cargado

Es preferible llevar a cabo una etapa de concentración y de reacción en presencia de un polímero cargado.

Concretamente, (i) haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) un analito o un análogo del mismo, y una CFS en presencia de un polímero cargado para formar un complejo entre dicho analito o análogo del mismo y CFS, o (ii) haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) un analito, un análogo (un análogo marcado o un análogo de mejora de la reacción marcado) y una CFS en presencia de un polímero cargado para formar un complejo A entre dicho analito y CFS, y un complejo B entre dicho análogo marcado y CFS; o (iii) haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) un analito, un análogo de mejora de la reacción (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y una CFS marcada (o CFS) en presencia de un polímero cargado para formar un complejo A entre dicho analito y CFS marcada (o CFS) y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y CFS marcada (o CFS), puede reducirse el efecto de una sustancia co-presente en una muestra (particularmente en una muestra de suero) que tiene un mal efecto sobre el análisis. Específicamente, por ejemplo, (i) haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) un analito y CFS en presencia de un polímero cargado se forma un complejo entre dicho analito y CFS [complejo (analito-CFS), complejo (analito-CFS marcada), complejo (analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (analito-CFS de mejora de la reacción marcada), complejo (CFS-analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS marcada-analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-analito-CFS de mejora de la reacción marcada), y combinaciones de los mismos]; o (ii) haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) un analito, un análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y una CFS en presencia de un polímero cargado [concretamente, poniendo en contacto dicho analito y CFS, y dicho análogo de marca (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y CFS], se forman un complejo A entre dicho analito y dicha CFS [complejo (analito-CFS), complejo (analito-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-analito-CFS de mejora de la reacción), y combinaciones de los mismos] y un complejo B entre dicho análogo marcado (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y CFS [complejo (análogo marcado-CFS), complejo (análogo marcado-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-análogo marcado-CFS de mejora de la reacción), complejo (CFS-análogo de mejora de la reacción marcado) y combinaciones de los mismos]; o (iii) haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) un analito, un análogo de mejora de la reacción (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y una CFS marcada (una CFS) [concretamente, haciendo reaccionar (poniendo en contacto y haciendo reaccionar) dicho analito y una CFS marcada (CFS), y dicho análogo de mejora de la reacción (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y una CFS marcada (CFS) en presencia de un polímero cargado, se forman un complejo A entre dicho analito y dicha CFS marcada (o CFS) y un complejo B entre dicho análogo de mejora de la reacción (o un análogo de mejora de la reacción marcado) y dicha CFS marcada (o CFS).

Como polímero cargado se usa uno que tiene la carga opuesta (más o menos) de la de una sustancia co-presente en una muestra. Además, es preferible un polímero cargado que tenga la misma carga que la de una CFS usada. Como tal polímero cargado están incluidos polímeros polianiónicos y polímeros policatiónicos.

Los polímeros polianiónicos incluyen polisacáridos tales como heparina, sulfato de heparina, sulfato de condroitina, sulfato de dextrano, ácido politúngstico, ácido tungstofosfórico, ácido hialurónico, sulfato de dermatano y sulfato de polianetol; polinucleótidos tales como ADN (ADN de plásmido, ADN de timo bovino, ADN de esperma de salmón, ADN unido con celulosa y ADN sintético), y ARN; polipéptidos tales como poliaminoácidos (ácido poliaspártico y ácido poliglutamato), un polipéptido sintético; compuestos de polímeros sintéticos tales como poli-dldC, poli(sulfato de vinilo) y ácido poliacrílico; cerámicas tales como partícula de vidrio, vidrio coloidal, leche vítrea; y complejos de los mismos.

Además, los polímeros policatiónicos incluyen polisacáridos tales como quitosano y derivados del mismo; polipéptidos tales como polilisina, polihistidina, poliarginina, protamina, histona y ornitina; compuestos de polímeros sintéticos tales como polialilamina, polietilenimina, polivinilamina; poliaminas tales como espermina y espermidina; lípido cationico; cerámicas; complejos de los mismos.

Entre ellos es preferible un polisacárido aniónico, y el sulfato de heparina es particularmente preferible.

Los polímeros cargados anteriormente descritos pueden usarse solos o en combinación adecuada con dos o más tipos.

Un procedimiento de fabricación de los polímeros cargados anteriormente descritos presentes en llevar a cabo una etapa de concentración y de reacción no está especialmente limitado, en tanto que finalmente pueda llevarse a cabo la formación de un complejo en presencia de un polímero cargado. Un procedimiento tal incluye, por ejemplo, un procedimiento de fabricación de un polímero cargado co-presente en un medio de electroforesis que va a cargarse en un capilar como se ha descrito anteriormente; un procedimiento de fabricación de un polímero cargado co-presente en una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo, y/o en una disolución que contiene CFS. Entre estos, el polímero cargado está co-presente preferentemente en una disolución (zona) distinta de la disolución (zona) que contiene un analito, más preferentemente en al menos una disolución (zona) dispuesta adyacentemente aguas arriba o aguas abajo de la disolución (zona) que contiene un analito.

La cantidad usada del polímero cargado anteriormente descrito no se describe simplemente debido a la dependencia

del tipo del polímero cargado usado, sin embargo, por ejemplo, la concentración en un medio de electroforesis que va a cargarse en un canal es, como límite inferior, normalmente no inferior al 0,01 % (peso/volumen), preferentemente no inferior al 0,05 % (peso/volumen) y más preferentemente no inferior al 0,5 % (peso/volumen), y como límite superior, normalmente no superior al 50 % (peso/volumen), preferentemente no superior al 10 % (peso/volumen) y adicionalmente preferentemente no superior al 5 % (peso/volumen), y entre otros es particularmente preferible aproximadamente del 1 % (peso/volumen). Además, la concentración en una disolución que contiene un analito o un análogo del mismo o en una disolución que contiene una CFS es, como límite inferior, normalmente no inferior al 0,001 % (peso/volumen), preferentemente no inferior al 0,01 % (peso/volumen), más preferentemente no inferior al 0,02 % (peso/volumen), y adicionalmente preferentemente no inferior al 0,025 % (peso/volumen), y como límite superior, normalmente no superior al 10 % (peso/volumen), preferentemente no superior al 5 % (peso/volumen), más preferentemente no superior al 1 % (peso/volumen) y adicionalmente preferentemente no superior al 0,05 % (peso/volumen).

(3) Un procedimiento específico de medida

Realizaciones de un procedimiento de medida se muestran específicamente a continuación.

15 (3-1) Un procedimiento no competitivo

Por ejemplo, un procedimiento no competitivo es del siguiente modo.

(3-1-1) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción.

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

20 [Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

25 (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-1) de "(3) un procedimiento específico de separación".

30 (h) La cantidad de CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de CFS que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la CFS, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de un analito y la cantidad de una CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

35

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una de una disolución que contiene un analito y una disolución que contiene CFS en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de CFS que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la CFS, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de la CFS que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la CFS, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

45

50 (3-1-2) Un caso cuando se usa una CFS marcada.

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-2) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 5 (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-2) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-2) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 10 (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-2) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (h) La cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en una CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de un analito y la cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en una CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.
- 15

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

- 20 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una de una disolución que contiene un analito y una disolución que contiene una CFS marcada en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en una CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en la CFS de marca que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.
- 25
- 30 (3-1-3) Un caso cuando se usa una CFS de mejora de la reacción.
- 35

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-3) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 40 (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-3) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-3) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 45 (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-3) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (h) La cantidad de CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado o la cantidad de CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de CFS de mejora de la reacción, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de CFS de mejora de la reacción contenida en el
- 50

complejo separado o la cantidad de CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

5 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una de una disolución que contiene un analito y una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado o la cantidad de una CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de CFS de mejora de la reacción, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado o la cantidad de la CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la CFS de mejora de la reacción, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

20 (3-1-4) Un caso cuando se usa una CFS de mejora de la reacción marcada.

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-4) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 25 (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-4) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-4) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 30 (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-4) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (h) La cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en una CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en una CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

40 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una de una disolución que contiene un analito y una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción marcada en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en una CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en la CFS de marca de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la

relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-1-5) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una CFS de mejora de la reacción.

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

5 [Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-5) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) a (g) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (g)] que las anteriormente descritas en el caso (3-5) de "(3) un procedimiento específico de separación".

10 (h) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (h)] que la anteriormente descrita en el caso (3-5) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(i) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (i)] que la anteriormente descrita en el caso (3-5) de "(3) un procedimiento específico de separación".

15 (j) La cantidad de CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado, o la cantidad de CFS que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de CFS o CFS de mejora de la reacción, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de una CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado, o la cantidad de CFS que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

20

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

25 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que contiene un analito, una disolución que contiene una CFS y una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (i) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de CFS contenida en el complejo separado o la cantidad de CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado, o la cantidad de CFS que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de CFS o CFS de mejora de la reacción, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la CFS o la CFS de mejora de la reacción contenida en el complejo separado o la cantidad de la CFS o la CFS de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la CFS o la CFS de mejora de la reacción, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

30

35

40

(3-1-6) Un caso cuando se usan una CFS marcada y una CFS de mejora de la reacción.

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

45 (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-6) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) a (g) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (g)] que las anteriormente descritas en el caso (3-6) de "(3) un procedimiento específico de separación".

50 (h) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (h)] que la anteriormente descrita en el caso (3-6) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(i) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (i)] que la anteriormente descrita en el caso (3-6) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

5 (j) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en una CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en una CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

10

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

15 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que contiene un analito, una disolución que contiene una CFS marcada y una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (i) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en una CFS marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en la CFS de marca que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

20

25

(3-1-7) Un caso cuando se usan una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción y una CFS de mejora de la reacción marcada.

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

30 [Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-5) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

(b) a (g) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (g)] que las anteriormente descritas en el caso (3-5) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

35 (h) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (h)] que la anteriormente descrita en el caso (3-5) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

(i) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (i)] que la anteriormente descrita en el caso (3-5) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

40 (j) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en una CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en una CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

45

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

50 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que contiene un analito, una disolución que contiene una CFS y una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción marcada en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (i) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de sustancia marcadora

5 contenida en una CFS de mejora de la reacción marcada que no participa en la formación de dicho complejo se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo separado o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en la CFS de marca de mejora de la reacción que no participa en la formación de dicho complejo, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2) Un procedimiento competitivo

Por ejemplo, un procedimiento competitivo es del siguiente modo.

15 (3-2-1) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-8) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

20 (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-8) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

(f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-8) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

25 (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-8) de “(3) un procedimiento específico de separación”.

30 (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

35 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) o una disolución que contiene una CFS en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el análogo de marca que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2-2) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-9) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 5 (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-9) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-9) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 10 (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-9) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.
- 15

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

- 20 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS) o una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo de marca que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.
- 25
- 30
- 35

(3-2-3) Un caso cuando se usan un análogo marcado, una CFS y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- 40 (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-10) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (b) a (g) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (g)] que las anteriormente descritas en el caso (3-10) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (h) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (h)] que la anteriormente descrita en el caso (3-10) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- 45 (i) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (i)] que la anteriormente descrita en el caso (3-10) de “(3) un procedimiento específico de separación”.
- (j) La cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de
- 50

5 analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

10 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo marcado y no menos de un tipo de CFS), una disolución que contiene una CFS y una disolución que contiene una CFS de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (i) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el análogo de marca que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

25 (3-2-4) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- 30 (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-11) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-11) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-11) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 35 (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-11) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo A separado se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo A separado, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

45 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción y no menos de un tipo de CFS) o una disolución que contiene una CFS marcada en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en dicho complejo A separado se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora

5 contenida en el complejo B separado, o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo A separado, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2-5) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- 10 (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-12) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-12) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 15 (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-12) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-12) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 20 (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que
- 25 contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

30 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS o una disolución que contiene un análogo marcado en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más

35 específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el análogo de marca que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

40

(3-2-6) Un caso cuando se usan un análogo marcado y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

45 [Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

- (a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-13) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- (b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-13) de "(3) un procedimiento específico de separación".
- 50 (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en

el caso (3-13) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-13) de "(3) un procedimiento específico de separación".

5 (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no
10 participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

15 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción o una disolución que contiene un análogo marcado en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia
20 añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el análogo de marca que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y
25 adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2-7) Un caso cuando se usan un análogo marcado, una CFS y una CFS de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

30 En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-14) de "(3) un procedimiento específico de separación".

35 (b) a (g) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (g)] que las anteriormente descritas en el caso (3-14) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(h) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (h)] que la anteriormente descrita en el caso (3-14) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(i) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (i)] que la anteriormente descrita en el caso (3-14) de "(3) un procedimiento específico de separación".

40 (j) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida
45 en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

50 Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS (o no menos de un tipo de CFS de mejora de la reacción), una disolución que contiene un análogo marcado y una disolución que contiene no menos de un tipo de una CFS de mejora de la reacción (o no menos de un tipo de

una CFS) en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (i) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de un analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el análogo de marca que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2-8) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción y una CFS marcada. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-15) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-15) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-15) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-15) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo A separado se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo A separado, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS marcada o una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en dicho complejo A separado se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo A separado, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2-9) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción marcado y una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción. (Uso de una disolución que incluye tanto un analito como un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

[Procedimiento A; el caso de uso de una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-16) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-16) de "(3) un procedimiento específico de separación".

5 (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-16) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-16) de "(3) un procedimiento específico de separación".

10 (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

[Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y un análogo de mejora de la reacción marcado (o una disolución que incluye una muestra que tiene un analito, un análogo de mejora de la reacción marcado y no menos de un tipo de CFS), y una disolución que contiene no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

(3-2-10) Un caso cuando se usan un análogo de mejora de la reacción marcado y una CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción. (Uso de dos disoluciones separadas de una disolución que incluye un analito y una disolución que contiene un análogo.)

En este caso, por ejemplo, puede llevarse a cabo como los siguientes [procedimiento A] o [procedimiento B].

40 [Procedimiento A; el caso para usar una curva de calibración]:

(a) Se lleva a cabo la misma etapa de fabricación [la etapa (a)] que la anteriormente descrita en el caso (3-17) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(b) a (e) Se llevan a cabo las mismas etapas de introducción [las etapas (b) a (e)] que las anteriormente descritas en el caso (3-17) de "(3) un procedimiento específico de separación".

45 (f) Se lleva a cabo la misma etapa de concentración y de reacción [la etapa (f)] que la anteriormente descrita en el caso (3-17) de "(3) un procedimiento específico de separación".

(g) Se lleva a cabo la misma etapa de separación [la etapa (g)] que la anteriormente descrita en el caso (3-17) de "(3) un procedimiento específico de separación".

50 (h) La cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de una sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula aplicando el resultado de medición (valor de

medición) a una curva de calibración que muestra la relación entre la cantidad de analito y la cantidad de sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de sustancia marcadora contenida en un análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, obtenida por un procedimiento similar usando una muestra que contiene una concentración conocida de un analito.

5 [Procedimiento B; el caso de uso de un patrón interno]:

Una concentración conocida de una sustancia detectable como patrón interno se añade a al menos una seleccionada de una disolución que incluye una muestra que tiene un analito y no menos de un tipo de CFS no unida con una sustancia marcadora y una sustancia de mejora de la reacción, y una disolución que contiene un análogo de mejora de la reacción marcado en el [procedimiento A] anteriormente descrito, y las etapas (a) a (g) anteriormente descritas se llevan a cabo usando esa disolución que contiene el patrón interno. La cantidad de una sustancia marcadora contenida en el complejo B separado o la cantidad de una sustancia marcadora contenida en un análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y la cantidad de analito en una muestra se calcula comparando el resultado de medición (valor de medición) con la cantidad de dicha sustancia añadida como patrón interno. Más específicamente, la cantidad de analito en la muestra se calcula relativamente midiendo la cantidad de la sustancia marcadora contenida en el complejo B separado, o la cantidad de sustancia marcadora contenida en el análogo de mejora de la reacción marcado que no participa en la formación de dicho complejo B, mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) de la sustancia marcadora, y adicionalmente la cantidad del patrón interno añadido se mide mediante un procedimiento correspondiente a la propiedad (tipo) del patrón interno, y comparando estos valores de medición resultantes para determinar la relación, y a continuación basándose en la relación y la cantidad de adición conocida de dicho patrón interno.

9 Un kit

Un kit para realizar el procedimiento de la presente invención incluye el dispositivo microfluídico y el sistema microfluídico y es uno que va a usarse para llevar a cabo el procedimiento anteriormente descrito de introducir una disolución.

Como un kit tal deben incluirse los siguientes artículos:

- (1) Al menos el dispositivo microfluídico y el sistema microfluídico;
- (2) Al menos (i) el dispositivo microfluídico y el sistema microfluídico descritos anteriormente, (ii) el reactivo que contiene una CFS, y (iii) si fuera necesario un análogo; o
- (3) (i) dicho(s) artículo(s) anteriores (1) o (2), y (ii) un libro de instrucciones que va a usarse en el procedimiento anteriormente descrito de introducir una disolución, procedimiento de formación de un complejo, procedimiento de separación y procedimiento de medición.

A este respecto, dicho "libro de instrucciones" significa un manual de manipulación (manual de instrucciones) de dicho kit, documentos adjuntos (carta de presentación) o un panfleto (folleto) en el que se describen sustancialmente características, principio y procedimiento de operación, de un procedimiento de la presente invención mediante texto o dibujos. Realizaciones preferibles y ejemplos específicos de estos elementos de composición son como se han descrito anteriormente.

Además, un kit también puede contener reactivos distintos de los anteriores. Tales reactivos incluyen, por ejemplo, una disolución tampón para la separación por electroforesis, un reactivo diluyente, patrón interno, un calibrador (una disolución patrón), control, reactivos (sustrato enzimático y enzimas de acoplamiento) para la medición de sustancias marcadoras (por ejemplo, enzima, colorantes, sustancias luminiscentes, sustancias fluorescentes) y reactivos para enfocar un detector.

La presente invención se explica a continuación en más detalle por referencia a los ejemplos.

45 Ejemplos

Ejemplo 1

[Un analito (un antígeno)]

α -fetoproteína (AFP) (fabricada por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)

[Una CFS de mejora de la reacción (un anticuerpo marcado con ADN)]

El fragmento Fab' de anticuerpo anti-AFP unido con ADN se preparó según el procedimiento mostrado en la Fig. 25.

5 Concretamente, un fragmento de ADN de 250 pb introducido con un grupo NH₂ en el extremo 5' se purificó primero por un procedimiento común. Posteriormente, el grupo NH₂ se introdujo al fragmento de ADN, y un grupo succinimidilo de un ligador de 4-(p-maleimidofenil)butirato de sulfosuccinimidilo (sulfo-SMPB) (un ligador que tiene un grupo succinimidilo y un grupo maleimido: fabricado por Pierce Co.) se sometieron a una reacción por un procedimiento común. A continuación, por tratamiento de filtración en gel, los ligadores sin reaccionar se eliminaron dando un fragmento de ADN de 250 pb unido con un ligador. El fragmento de ADN de 250 pb resultante unido con un ligador, y un fragmento Fab' de anticuerpo anti-AFP WA1, preparado con antelación usando un anticuerpo anti-AFP WA1 (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) según un procedimiento común, se sometieron a una reacción. 10 Los productos de reacción resultantes se purificaron cada uno usando una columna DEAE para preparar un fragmento Fab' de anticuerpo anti-AFP WA1 unido con un fragmento de ADN de 250 pb (un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb)

[Una CFS marcada (un anticuerpo marcado con fluorescencia)]

15 Un anticuerpo anti-AFP WA2 (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) que reconoce un epítipo de AFP diferente de un anticuerpo WA1 se trató por un procedimiento común dando un fragmento Fab' de anticuerpo anti-AFP WA2. Un sustancia fluorescente Alexa647 (fabricada por Molecular Probes Inc.) se introdujo a un grupo amino de dicho fragmento por un procedimiento común para preparar un fragmento Fab' de anticuerpo anti-AFP WA2 marcado con Alexa647 (un anticuerpo marcado con fluorescencia).

[Un chip capilar]

20 Un chip capilar que tiene una disposición mostrada en la Fig. 26 se produjo según un procedimiento descrito en "Technology and application of microchemistry chip", T. Kitamori y col., publicado en 2004 (Maruzen Co., Ltd.) del siguiente modo:

25 Concretamente, se formó una capa (película) fotorresistente sobre una capa (película) de Si que se formó sobre un sustrato de cuarzo. Esta fotorresistente se expuso usando una máscara que tenía un diseño (disposición) de capilar mostrado en la Fig. 26 y se reveló. Se eliminó por pulverización Si en la parte en la que una fotorresistente se eliminó por revelado, y a continuación se llevó a cabo grabado en húmedo usando una disolución de fluoruro de hidrógeno para producir una ranura de canal capilar (capilar) en el sustrato de cuarzo. Después de eliminar una película fotorresistente y quedar una película de Si sobre el sustrato de cuarzo, dicho sustrato de cuarzo y una placa de cubierta que tenía un orificio para un depósito de fluido se adhirieron juntos por una técnica de unión por HF produciendo un chip capilar. 30

A este respecto, en la Fig. 26, L1 y L2 muestran, representan un pocillo para introducir un tampón de cabeza, T muestra un pocillo para introducir un tampón de cola, S/R1 y S/R2 muestran, representan un pocillo para introducir una muestra o un reactivo, y W1, W2 y W3 muestran, representan un pocillo para drenar, respectivamente.

[Electroforesis]

35 (1) Una muestra de electroforesis 1

En un tubo de 0,5 ml, 1 µl de AFP 1 nM, 1 µl de anticuerpo marcado con fluorescencia 2 µM y 8 µl de un tampón de cabeza que contenía ión Cl⁻ 50 mM se mezclaron para preparar 10 µl de una disolución de reacción. La disolución de reacción se dejó reposar sobre hielo para someterse a una reacción de antígeno-anticuerpo durante aproximadamente 30 minutos para formar un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP]. A este respecto, la 40 concentración final de AFP fue 100 pM y la concentración final del anticuerpo marcado con fluorescencia fue 200 nM.

La disolución de reacción obtenida que contenía el inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP] se usó como muestra de electroforesis 1.

(2) Una muestra de electroforesis 2

45 En un tubo de 0,5 ml, 1 µl de AFP 1 nM, 1 µl de anticuerpo marcado con ADN de 250 pb 1 µM y 8 µl de un tampón de cabeza que contenía ión Cl⁻ 50 mM se mezclaron para preparar 10 µl de una disolución de reacción. La disolución de reacción se dejó reposar sobre hielo para someterse a una reacción de antígeno-anticuerpo durante aproximadamente 30 minutos para formar un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN de 250 pb-AFP]. A este respecto, la concentración final de AFP fue 100 pM y la concentración final del anticuerpo marcado con ADN de 250 pb fue 100 nM.

50 La disolución de reacción obtenida que contenía el inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN de 250 pb-AFP] se usó como muestra de electroforesis 2.

(3) Una disolución de reactivo 1 (una disolución que contenía un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb)

Un tampón de cabeza (que contiene ión Cl^- 50 mM) que contenía 0 a 100 nM de un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb se usó como disolución de reactivo 1.

(4) Una disolución de reactivo 2 (una disolución que contenía un anticuerpo marcado con fluorescencia)

5 Un tampón de cabeza (que contiene ión Cl^- 50 mM) que contenía 0 a 200 nM de un anticuerpo marcado con fluorescencia se usó como disolución de reactivo 2.

(5) Procedimiento de electroforesis

a) Introducción de una muestra de electroforesis y una disolución de reactivo

En un pocillo S/R1 (un pocillo para introducir una muestra o una disolución de reactivo) mostrado en la Fig. 26, 10 μl de una muestra de electroforesis 1 (una disolución que contiene un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP]) se administraron por gotas, 10 μl de una disolución de reactivo 1 (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con ADN) se administraron por gotas en un pocillo S/R2 (un pocillo para introducir una muestra o una disolución de reactivo), 10 μl de un tampón de cabeza (un tampón de cabeza que contiene ión Cl^- 50 mM) se administraron por gotas en un pocillo L1 y un pocillo L2, y 10 μl de un tampón de cola (un tampón de cola que contiene 75 mM de un ión HEPES) se administraron por gotas en un pocillo T, respectivamente, y por aplicación de una presión de -5 psi durante 15 segundos sobre W1 (un pocillo para drenar), W2 (un pocillo para drenar) y W3 (un pocillo para drenar) se introdujeron una muestra de electroforesis 1, una disolución de reactivo 1, un tampón de cabeza y un tampón de cola en un canal. En un pocillo S/R1 (un pocillo para introducir una muestra o una disolución de reactivo) mostrado en la Fig. 26, 10 μl de una disolución de reactivo 2 (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con fluorescencia) se administraron por gotas, 10 μl de una muestra de electroforesis 2 (una disolución que contiene un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN-AFP]) se administraron por gotas en un pocillo S/R2 (un pocillo para introducir una muestra o una disolución de reactivo), 10 μl de un tampón de cabeza (un tampón de cabeza que contiene 50 mM de ión Cl^-) se administraron por gotas en un pocillo L1 y un pocillo L2, y 10 μl de un tampón de cola (un tampón de cola que contiene 75 mM de un ión HEPES) se administraron por gotas en un pocillo T, respectivamente, y por aplicación de una presión de -5 psi durante 15 segundos sobre W1 (un pocillo para drenar), W2 (un pocillo para drenar) y W3 (un pocillo para drenar) se introdujeron una muestra de electroforesis 2, una disolución de reactivo 2, un tampón de cabeza y un tampón de cola en un canal.

La relación de disposición de cada disolución en un capilar se mostró esquemáticamente en la Fig. 27. A este respecto, en la Fig. 27, un área sombreada muestra un área de disposición de una disolución (una muestra de electroforesis 1 o una disolución de reactivo 2) introducida del pocillo S/R1 y un área de puntos muestra un área de disposición de una disolución (una disolución de reactivo 1 o una muestra de electroforesis 2) introducida del pocillo de S/R2, respectivamente.

b) Concentración y reacción

Aplicando un voltaje de 600 V, 1200 V o 1800 V entre un pocillo T y un pocillo L1 en la Fig. 27 a una temperatura del chip de 10 $^{\circ}\text{C}$, un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb en la disolución de reactivo 1 se puso en contacto y reaccionó con un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP] en la muestra de electroforesis 1, mientras que se concentró un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb en una disolución de reactivo 1, para formar un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-anticuerpo marcado con ADN de 250 pb].

Aplicando un voltaje de 600 V, 1200 V o 1800 V entre un pocillo T y un pocillo L1 en la Fig. 27 a una temperatura del chip de 10 $^{\circ}\text{C}$, un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN de 250 pb-AFP] en la muestra de electroforesis 2 se puso en contacto y reaccionó con un anticuerpo marcado con fluorescencia en la disolución de reactivo 2, mientras que se concentró un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN de 250 pb-AFP] en la muestra de electroforesis 2, para formar un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-anticuerpo marcado con ADN de 250 pb].

A este respecto, el tiempo de reacción fue aproximadamente 100 segundos en la aplicación de un voltaje de 600 V, aproximadamente 50 segundos en la aplicación de un voltaje de 1200 V y aproximadamente 40 segundos en la aplicación de un voltaje de 1800 V.

c) Separación y detección

Cuando un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] adelantó por una parte de cruce de un canal L2 y un canal principal (un primer canal), se aplicaron 2000 V sobre el pocillo L2 y se aplicaron 1000 V sobre un pocillo L1, durante 100 segundos para separar y detectar dicho inmunocomplejo. A este respecto, la detección se llevó a cabo por medición en serie de la intensidad fluorescente por excitación láser de 635 nm en una parte de capilar a 2 cm de la parte de cruce del canal L2, usando un microscopio fluorescente (BX-50, fabricado de KS Olympus Co., Ltd.).

A este respecto, el procedimiento (a) a (c) anteriormente descrito se repitió dos veces.

[Resultados]

La Fig. 28 muestra la relación entre la concentración de un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb y la eficiencia de reacción en el caso de formación de un inmunocomplejo de [un anticuerpo marcado fluorescente-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] introduciendo una muestra de electroforesis 1 (una disolución que contiene un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP]) de un pocillo S/R1 y una disolución de reactivo 1 (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con ADN) de un pocillo de S/R2 y luego sometiendo éstas a una reacción. A este respecto, en la Fig. 28, la eficiencia de reacción significa la eficiencia de una reacción entre un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb y un inmunocomplejo de un [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP], y es un valor relativo de una señal (área del pico) de un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] obtenido usando un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb que tiene concentración predeterminada, obtenida cuando una señal (área del pico) de un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] se detectó similarmente como antes después de hacer reaccionar un anticuerpo marcado con fluorescencia, AFP y un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb a 10 °C durante 30 minutos con antelación fuera de un capilar para obtener 10 µl de una disolución de reacción que contiene 200 nM de un anticuerpo marcado con fluorescencia, 100 pM de AFP y 100 nM de un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb, e introducir la disolución de reacción obtenida de un pocillo de S/R2, se tomó del 100 %.

Además, la Fig. 29 muestra la relación entre la concentración de un anticuerpo marcado con fluorescencia y la eficiencia de reacción en el caso de formación de un inmunocomplejo de [un anticuerpo marcado fluorescente-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] introduciendo una disolución de reactivo 2 (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con fluorescencia) de un pocillo S/R1 y una muestra de electroforesis 2 (una disolución que contiene un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN-AFP]) de un pocillo de S/R2 y luego sometiendo estas a una reacción. A este respecto, en la Fig. 29, la eficiencia de reacción significa eficiencia de una reacción entre un anticuerpo marcado con fluorescencia y un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con ADN-AFP], y es un valor relativo de una señal (área del pico) de un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] obtenido usando un anticuerpo marcado con fluorescencia que tiene concentración predeterminada, obtenida cuando una señal (área del pico) de un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] se detectó similarmente como antes después de hacer reaccionar un anticuerpo marcado con fluorescencia, AFP y un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb a 10 °C durante 30 minutos con antelación fuera de un capilar para obtener 10 µl de una disolución de reacción que contiene 200 nM de un anticuerpo marcado con fluorescencia, 100 pM de AFP y 100 nM de un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb, e introducir la disolución de reacción obtenida de un pocillo de S/R2, se tomó del 100 %.

En la Fig. 28, el eje vertical muestra la eficiencia de reacción y el eje horizontal muestra la concentración de un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb, respectivamente. Además, en la Fig. 28, ○ y ● muestran los resultados obtenidos llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 600 V, y * muestra los resultados obtenidos llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1200 V, y ◇ y ◆ muestran los resultados obtenidos llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1800 V, respectivamente. Una línea discontinua (- - -) muestra una curva de reacción en el resultado llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 600 V, una línea continua (-) muestra una curva de reacción en el resultado llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1200 V y una línea mixta (-.-) muestra una curva de reacción en el resultado llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1800 V.

En la Fig. 29, el eje vertical muestra la eficiencia de reacción y el eje horizontal muestra la concentración de un anticuerpo marcado con fluorescencia, respectivamente. Además, en la Fig. 29, ○ y ● muestran los resultados obtenidos llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 600 V, y * muestra los resultados obtenidos llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1200 V, y ◇ y ◆ muestran los resultados obtenidos llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1800 V, respectivamente. Una línea discontinua (- - -) muestra una curva de reacción en el resultado llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 600 V, una línea continua (-) muestra una curva de reacción en el resultado llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1200 V y una línea mixta (-.-) muestra una curva de reacción en el resultado llevando a cabo la operación b) anteriormente descrita a 1800 V.

Del ejemplo anteriormente descrito se encuentra que usando un procedimiento de introducción de una disolución de la presente invención pueden introducirse fácilmente una pluralidad de 2 o más tipos de disoluciones en un canal principal (un primer canal). Además, es evidente que una reacción entre un analito o un análogo del mismo en una disolución y una sustancia que se une a dicho analito o análogo del mismo (una CFS) en una disolución puede llevarse a cabo en un corto tiempo y con alta eficiencia de reacción. A este respecto, de los resultados en las Figs. 28 y 29 se encuentra que se forma un complejo dependiendo del voltaje y la concentración de una CFS (un anticuerpo), concretamente se forma fácilmente un complejo con menor voltaje y con mayor concentración de una CFS (un anticuerpo).

Ejemplo 2

[Un analito (un antígeno)]

El mismo que se usó en el Ejemplo 1.

[Una CFS de mejora de la reacción (un anticuerpo marcado con ADN)

La misma que se usó en el Ejemplo 1.

5 [Una CFS marcada (un anticuerpo marcado con fluorescencia)

La misma que se usó en el Ejemplo 1.

[Un chip capilar]

10 Se produjo un chip capilar que tiene una disposición mostrada en la Fig. 30 según un procedimiento descrito en "Technology and application of microchemistry chip", T. Kitamori y col., publicado en 2004 (Maruzen Co., Ltd.) del siguiente modo:

15 Concretamente, se formó una capa (película) fotorresistente sobre una capa (película) de Si que se formó sobre un sustrato de cuarzo. Esta fotorresistente se expuso usando una máscara que tenía un diseño (disposición) de capilar mostrado en la Fig. 30 y se reveló. Se eliminó por pulverización Si en la parte en la que una fotorresistente se eliminó por revelado, y a continuación se llevó a cabo grabado en húmedo usando una disolución de fluoruro de hidrógeno para producir una ranura de canal capilar (capilar) en el sustrato de cuarzo. Después de eliminar una película fotorresistente y quedar una película de Si sobre el sustrato de cuarzo, dicho sustrato de cuarzo y una placa de cubierta que tenía un orificio para un depósito de fluido se adhirieron juntos por una técnica de unión por HF preparando un chip capilar.

20 A este respecto, en la Fig. 30, L1 y L2 muestran, representan un pocillo para introducir un tampón de cabeza, T muestra un pocillo para introducir un tampón de cola, S/R1, S/R2 y S/R3 muestran, representan un pocillo para introducir una muestra o un reactivo, y W1, W2, W3 y W4 muestran, representan un pocillo para drenar, respectivamente.

[Electroforesis]

(1) Una muestra de electroforesis (una disolución que contiene AFP)

25 Se usó un tampón de cabeza (que contiene 50 mM de ión Cl⁻) que contiene 100 pM de AFP como muestra de electroforesis.

(2) La 1ª disolución de reactivo (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb)

Se usó un tampón de cabeza (que contiene 50 mM de ión Cl⁻) que contiene 25 nM de un anticuerpo marcado con ADN de 250 como la 1ª disolución de reactivo.

30 (3) La 2ª disolución de reactivo (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con fluorescencia)

Se usó un tampón de cabeza (que contiene 50 mM de ión Cl⁻) que contiene 100 nM de un anticuerpo marcado con fluorescencia como la 2ª disolución de reactivo

(4) Procedimiento de electroforesis

a) Introducción de la muestra de electroforesis, la 1ª disolución de reactivo y la 2ª disolución de reactivo

35 En el pocillo L1 y pocillo L2 mostrados en la Fig. 30, 10 µl de un tampón de cabeza (un tampón de cabeza que contiene 50 mM de ión Cl⁻) se administraron por gotas, 10 µl de un tampón de cola (un tampón de cola que contiene 75 mM de un ión HEPES) se administraron por gotas en un pocillo T, 10 µl de una 2ª disolución de reactivo (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con fluorescencia) se administraron por gotas en un pocillo S/R1, 10 µl de una muestra de electroforesis (una disolución que contiene AFP) se administraron por gotas en un pocillo de S/R2 y 10 µl de una 1ª disolución de reactivo (una disolución que contiene un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb) se administraron por gotas en un pocillo S/R3, respectivamente, y por aplicación de una presión de -5 psi durante 15 segundos sobre W1, W2, W3 y W4 se introdujeron una muestra de electroforesis, una 1ª disolución de reactivo, una 2ª disolución de reactivo, un tampón de cabeza y un tampón de cola en un canal. Por este procedimiento se formaron una zona de la 2ª disolución de reactivo, una zona de la muestra de electroforesis y una zona de la 1ª disolución de reactivo en un canal del lado aguas abajo. La relación de disposición de la muestra de electroforesis, la 1ª disolución de reactivo y la 2ª disolución de reactivo en un capilar se mostró esquemáticamente en la Fig. 31. A este respecto, en la Fig. 31, un área de la línea vertical muestra un área de disposición de la 2ª disolución de reactivo, un área sombreada muestra la muestra de electroforesis y un área de puntos muestra la 1ª disolución de reactivo, respectivamente.

45

b) Concentración y reacción

5 Aplicando un voltaje de 600 V entre el pocillo T (un pocillo para introducir un tampón de cola) y el pocillo L1 (un pocillo para introducir un tampón de cabeza), un anticuerpo marcado con ADN en la 1ª disolución de reactivo, AFP en la muestra de electroforesis y un anticuerpo marcado con fluorescencia en la 2ª disolución de reactivo se pusieron en contacto y reaccionaron, mientras que se concentraron éstos, formando un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] a 10 °C.

A este respecto, el tiempo de reacción es aproximadamente 200 segundos.

c) Separación y detección

10 Cuando un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-anticuerpo marcado con ADN de 250 pb] adelantó por una parte de cruce de un canal L2 y un canal principal (un primer canal), se aplicaron 2000 V sobre el pocillo L2 y se aplicaron 1000 V sobre un pocillo L1, durante 100 segundos para separar y detectar dicho inmunocomplejo. A este respecto, la detección se llevó a cabo por medición en serie de la intensidad fluorescente por excitación láser de 635 nm en una parte de capilar a 2 cm de la parte de cruce del canal L2, usando un microscopio fluorescente (BX-50, fabricado de KS Olympus Co., Ltd.).

15 [Resultados]

La Tabla 2 muestra la reproducibilidad cuando las operaciones (a) a (c) en el procedimiento (4) anteriormente descrito se repitieron ocho veces. A este respecto, el área del pico de AFP en esta tabla representa una señal (área del pico) de un inmunocomplejo de [anticuerpo marcado con fluorescencia-AFP-un anticuerpo marcado con ADN de 250 pb].

Tabla 2

	Área del pico de AFP
1	257
2	269
3	254
4	250
5	255
6	238
7	259
8	260
Promedio	255,3
DE	8,3
CV	3,3

20 Del ejemplo anteriormente descrito se encuentra que usando un procedimiento de introducción de una disolución de la presente invención pueden introducirse fácilmente una pluralidad de 3 tipos de disoluciones en un canal principal (un primer canal). Además, es evidente del resultado en la Tabla 2 que el valor de CV muestra una alta reproducibilidad del 3,3 %, y se encuentra que un procedimiento de introducción de una disolución de la presente invención permite
 25 introducir una pluralidad de disoluciones en un canal en un volumen altamente preciso y fácilmente. De los resultados

- anteriores se sugiere que usando un procedimiento de introducción de una disolución de la presente invención puede llevarse a cabo una reacción entre un analito o un análogo del mismo en una disolución y una sustancia que se une a dicho analito o análogo del mismo (una CFS) en una disolución en un corto tiempo y con alta eficiencia de reacción, y un complejo entre un analito o un análogo del mismo y una CFS pueden separarse de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o un análogo que no participa en la formación de dicho complejo rápidamente, simplemente y con alta exactitud, y adicionalmente puede ser posible la medición de alta sensibilidad de un analito en una muestra basándose en la cantidad de un complejo separado o la cantidad de una CFS que no participa en la formación de dicho complejo o la cantidad de un análogo separado que no participa en la formación de dicho complejo.
- 5

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de introducción de al menos una muestra y al menos una disolución de reactivo a un canal de un dispositivo microfluídico, en el que el procedimiento comprende:

5 (a) proporcionar un dispositivo microfluídico que comprende al menos una estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato, comprendiendo dicha estructura:

(i) el primer canal (1);

10 (ii) no menos de 3 canales laterales (2) para drenar, teniendo cada dicho canal lateral (2) para drenar una abertura (2-1) abierta en una pared de dicho primer canal (1), y dichas aberturas (2-1) dispuestas en relación separada entre sí, en el que cada dicho canal lateral (2) para drenar está conectado a un depósito de residuos (4); y

15 (iii) no menos de 2 canales laterales (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo, teniendo cada dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo una abertura (3-1) abierta en la pared de dicho primer canal (1) en la posición diferente de dichas aberturas (2-1) de dichos canales laterales (2) para drenar, y cada dicha abertura (3-1) dispuesta entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales (2) para drenar, en el que cada dicha abertura (3-1) de estos no menos de 2 canales laterales (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo está cada una dispuesta en la porción diferente entre 2 aberturas adyacentes (2-1) de canales laterales (2) para drenar y cada canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo está conectado a una muestra o un depósito de disolución de reactivo (5);

20 (b) poner una muestra en al menos un depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) que conecta a dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo;

(c) poner una disolución de reactivo en al menos un depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) que conecta a dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo, siendo dicha muestra o reactivo depósito (5) diferente de la usada en dicha etapa (b);

25 (d) introducir dicha muestra en dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo conectado a dicho depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) usado en dicha etapa (b), 2 canales laterales (2) para drenar adyacentes a dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales (2) para drenar, moviendo dicha muestra de dicho depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) en el que dicha muestra se pone en dicha etapa (b) a dichos 2 canales laterales (2) para drenar adyacentes a dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo conectado a dicho depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo conectado a dicho depósito (5); y

35 (e) introducir dicha disolución de reactivo en dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo conectado a dicho depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) usado en dicha etapa (c), 2 canales laterales (2) para drenar adyacentes a dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo en una dirección del eje y una región del primer canal entre dichos 2 canales laterales (2) para drenar, moviendo dicha disolución de reactivo de dicho depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) en el que dicha disolución de reactivo se pone en dicha etapa (c) a dichos 2 canales laterales (2) para drenar adyacentes a dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo conectado a dicho depósito de muestra o de disolución de reactivo (5) en una dirección del eje, mediante dicho canal lateral (3) para introducir una muestra o una disolución de reactivo conectado a dicho depósito (5).

2. Un procedimiento de la reivindicación 1, que es para separar un complejo entre un analito o un análogo del mismo en una muestra, y una sustancia que se une a dicho analito o análogo del mismo, en el que

45 dicho primer canal (1) tiene un depósito aguas arriba (6) en el extremo del lado aguas arriba del mismo y un depósito aguas abajo (7) en el otro extremo del lado aguas abajo del mismo;

y en el que dicha estructura para introducir una muestra o una disolución de reactivo a un primer canal (1) en un sustrato comprende además

50 (iv) un canal lateral (8) para introducir un medio de electroforesis que comunica con la región del primer canal entre un canal lateral (2n) para drenar localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales (2) para drenar y un depósito aguas abajo (7), y dicho canal lateral (8) para introducir un medio de electroforesis que conecta a un depósito de medio de electroforesis (11);

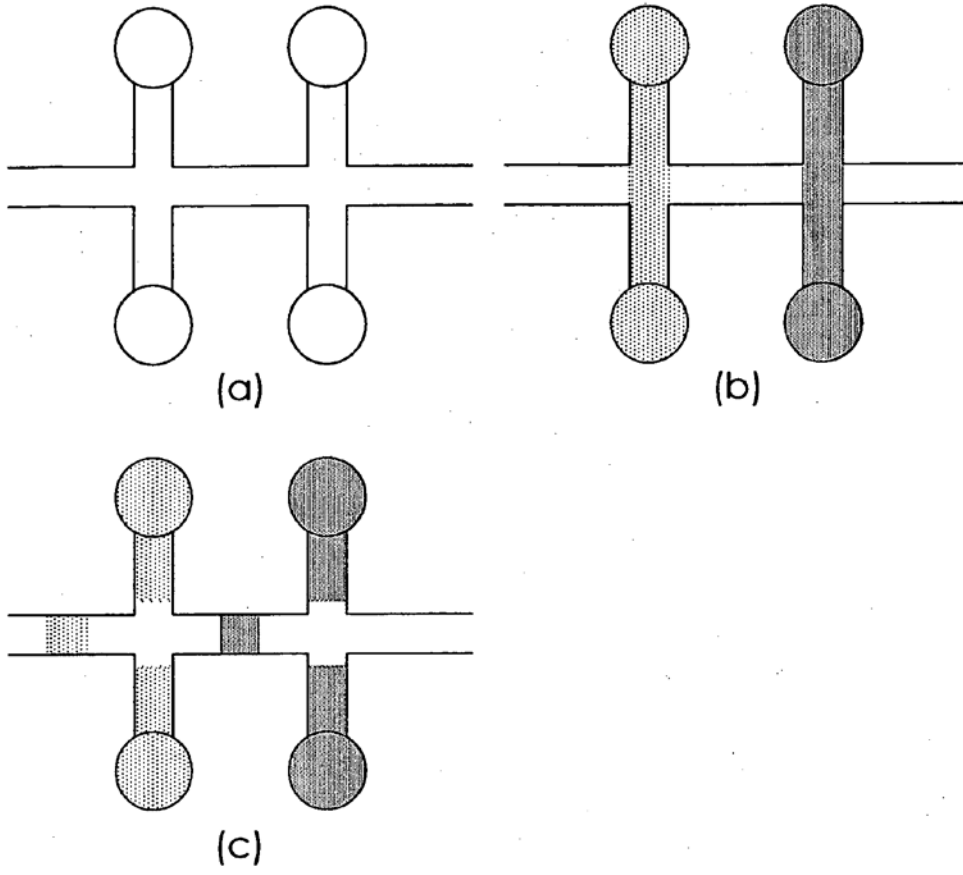
y en el que el procedimiento comprende además:

- 5 (f) hacer reaccionar un analito o un análogo del mismo en una muestra con al menos un tipo de una sustancias que se une a dicho analito o análogo del mismo mientras que se concentra dicho analito o dicho análogo del mismo en la muestra y/o al menos un tipo de las sustancias que se unen a dicho analito o análogo del mismo en la disolución de reactivo para formar el complejo entre dicho analito o dicho análogo del mismo y las sustancias que se unen a dicho analito o análogo del mismo, en una región del primer canal (9a) entre un canal lateral (2a) para drenar localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales (2) para drenar y un canal lateral (2n) para drenar localizado lo más aguas abajo entre dichos no menos de 3 canales laterales (2) para drenar, o una región del primer canal (9b) entre un canal lateral (2a) para drenar localizado lo más aguas arriba entre dichos no menos de 3 canales laterales (2) para drenar y dicho canal lateral (8) para introducir un medio de electroforesis aplicando un voltaje a dicha parte de depósito aguas arriba (6) en el extremo de dicho lado aguas arriba de dicho primer canal (1) y dicha parte de depósito aguas abajo (7) en el otro extremo de dicho lado aguas abajo de dicho primer canal (1); y
- 10
- 15 (g) separar dicho complejo y dicha sustancia que se une a dicho analito que no participa en la formación de dicho complejo o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo aplicando un voltaje a dicha parte de depósito de medio de electroforesis (11) que conecta dicho canal lateral (8) para introducir un medio de electroforesis y dicha parte de depósito aguas abajo (7).

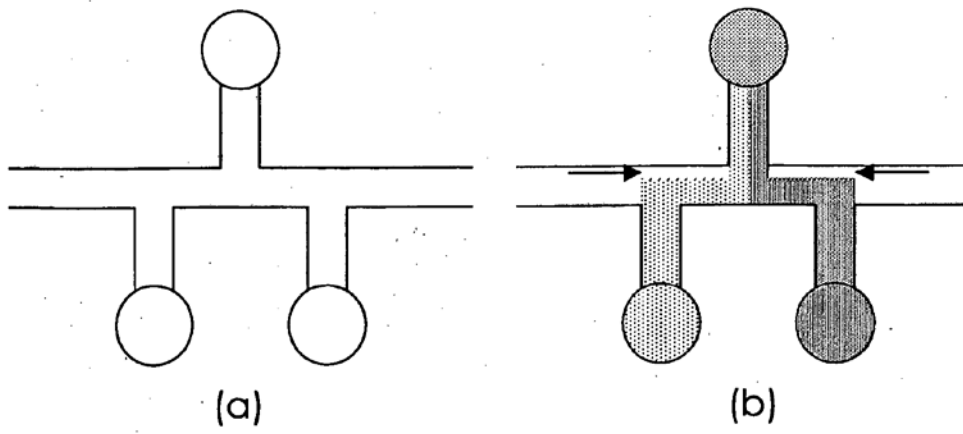
3. Un procedimiento de la reivindicación 2 que es para medir un analito o un análogo del mismo en una muestra, en el que el procedimiento comprende además:

- 20 (h) medir la cantidad de complejo así separado, la cantidad de dicha sustancia que se une a dicho analito o dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo, o la cantidad de dicho análogo que no participa en la formación de dicho complejo para determinar la cantidad de dicho analito o dicho análogo del mismo en una muestra basándose en el resultado.

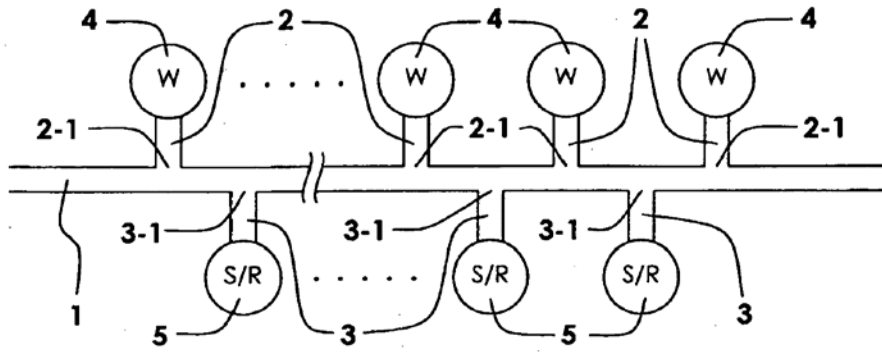
[Figura 1]



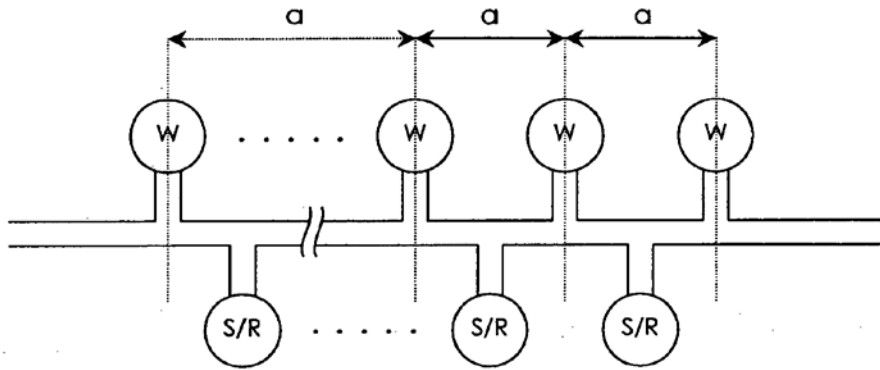
[Figura 2]



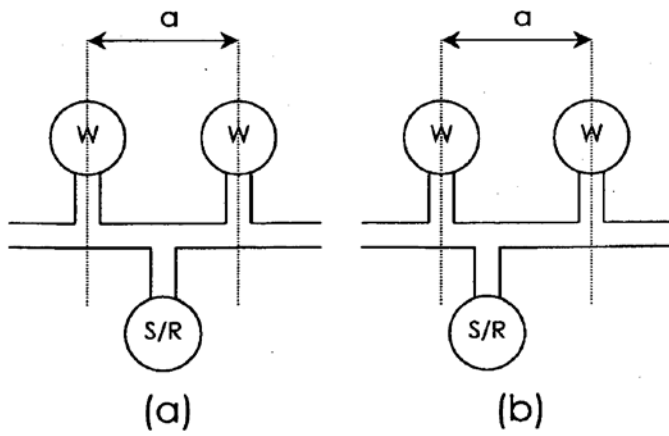
[Figura 3]



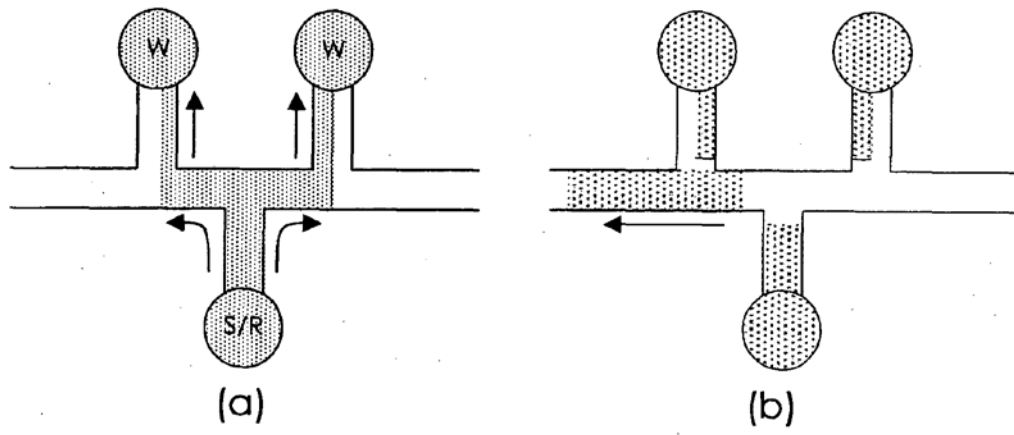
[Figura 4]



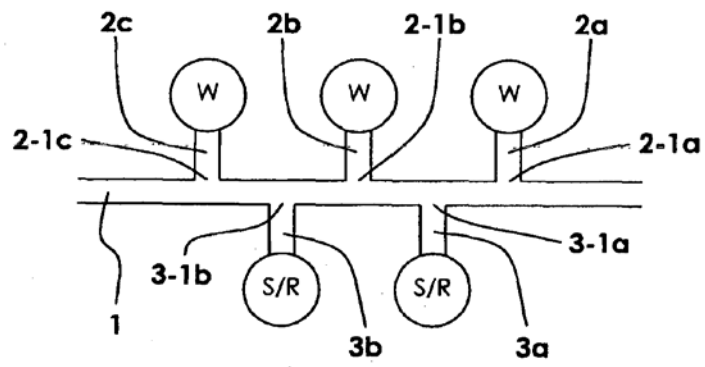
[Figura 5]



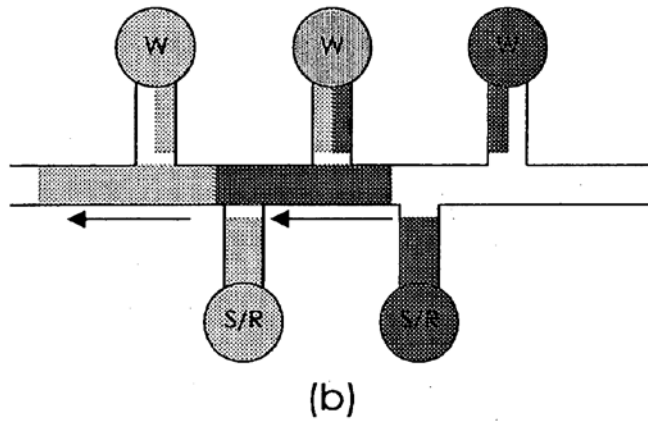
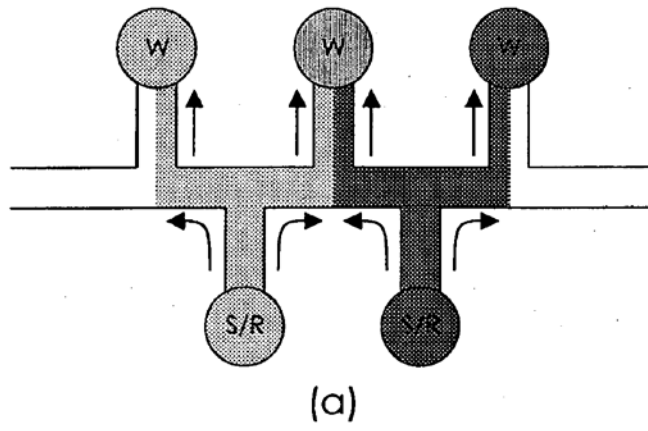
[Figura 6]



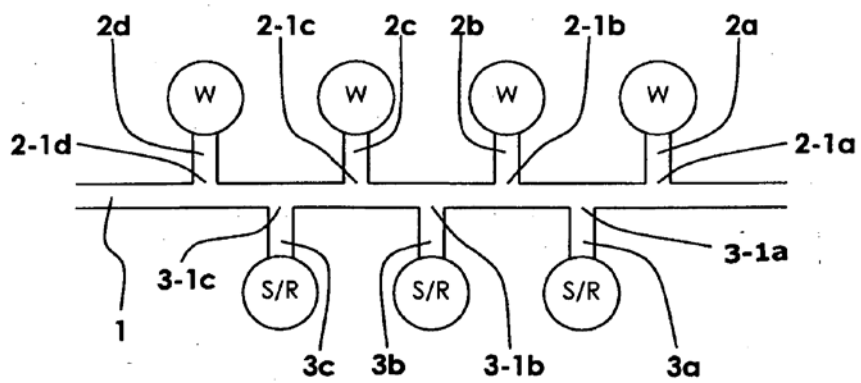
[Figura 7]



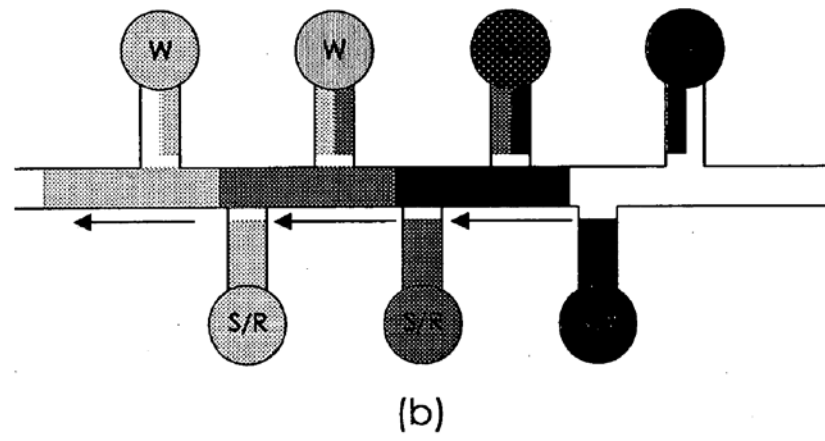
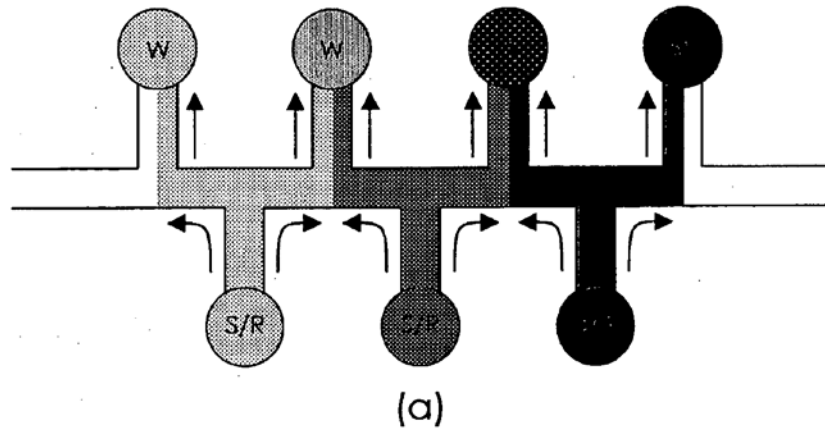
[Figura 8]



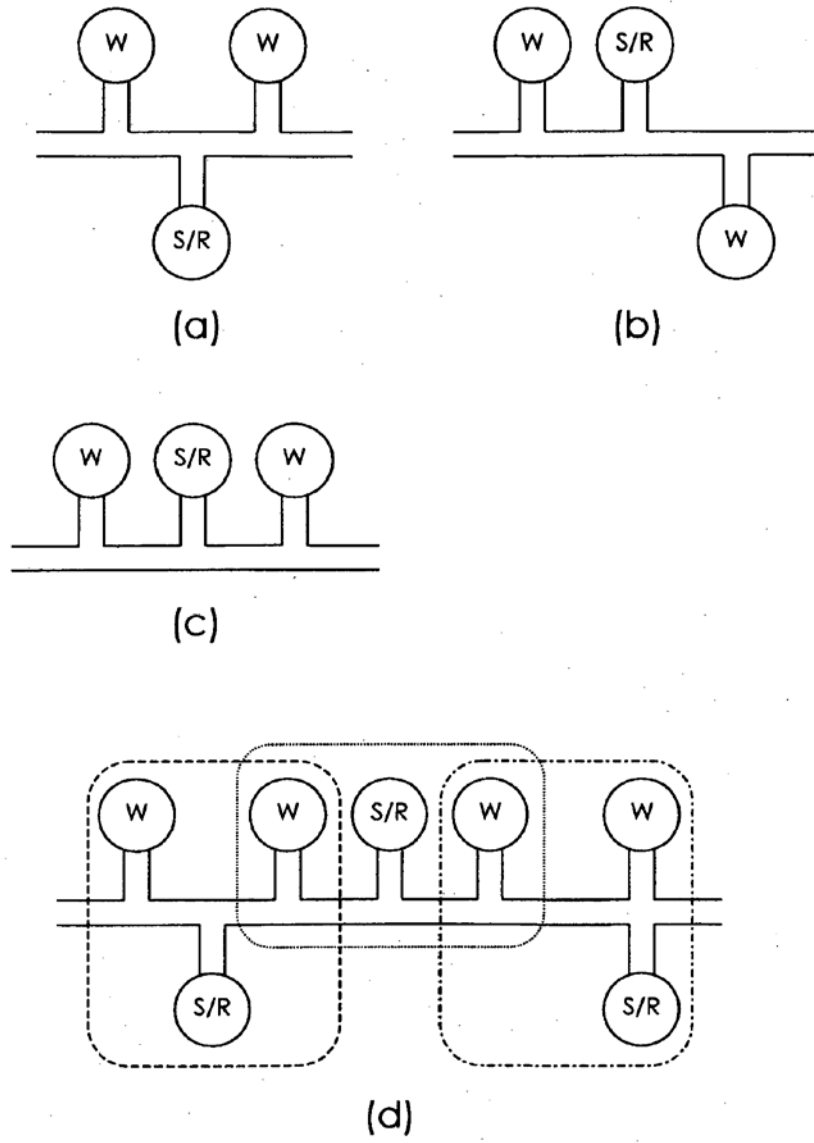
[Figura 9]



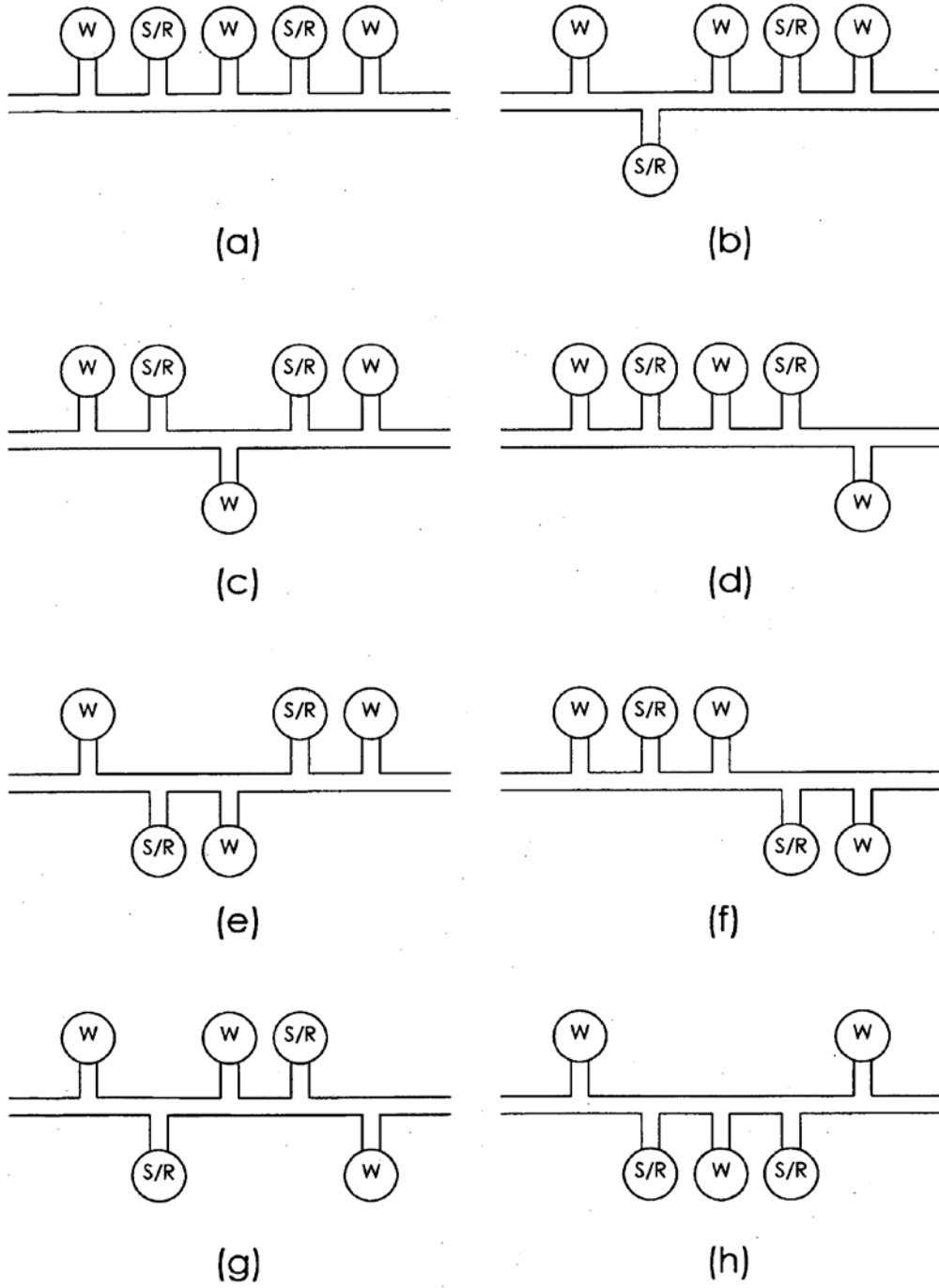
[Figura 10]

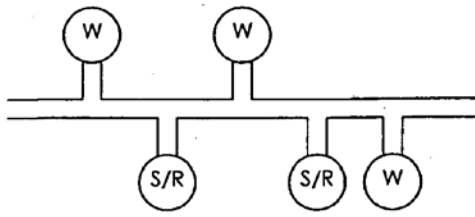


[Figura 11]



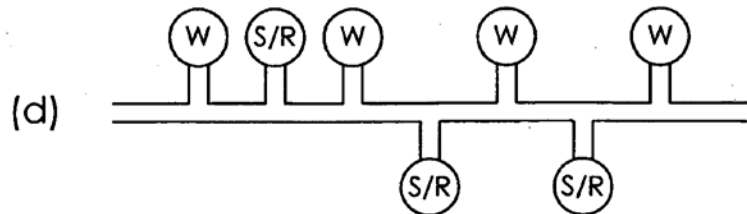
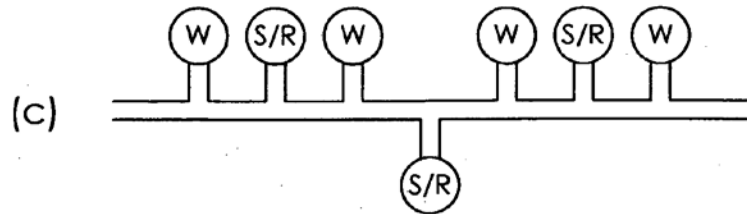
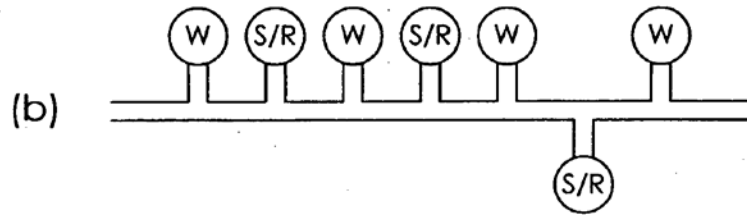
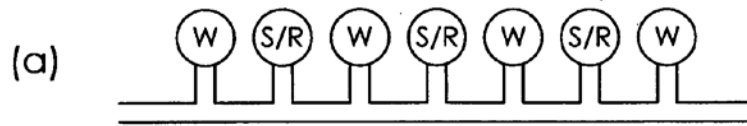
[Figura 12]

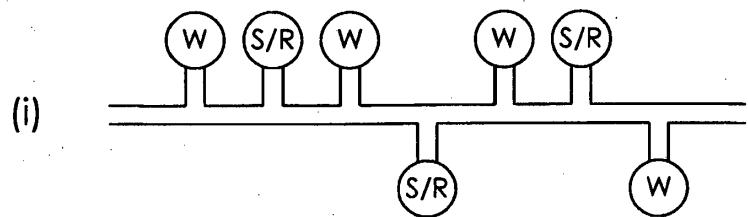
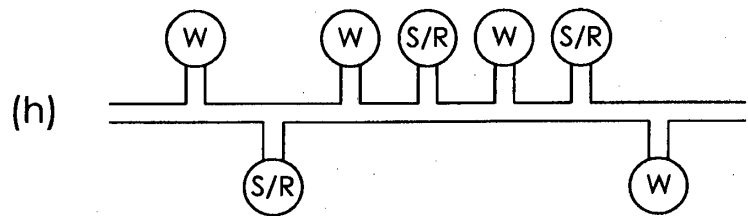
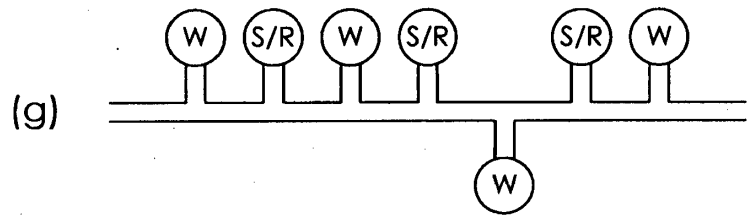
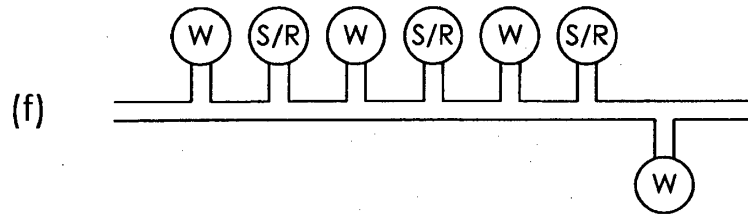
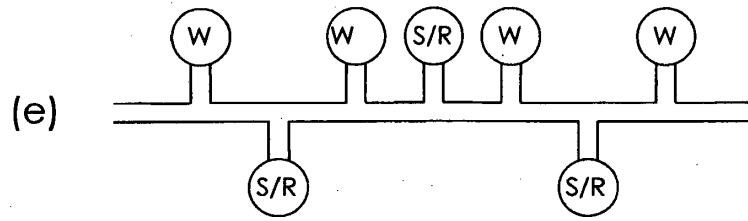


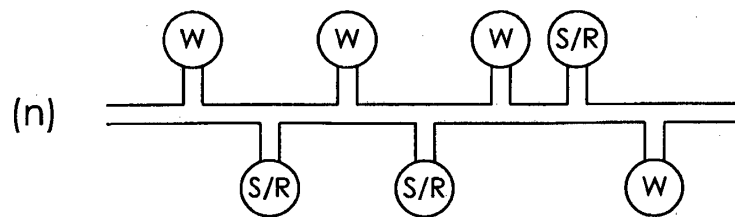
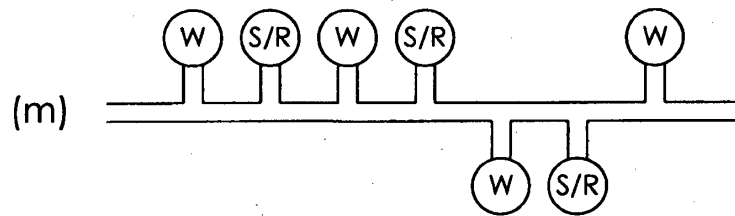
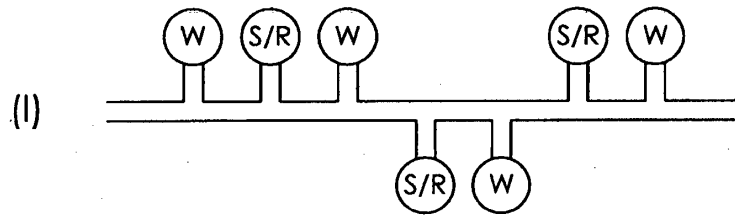
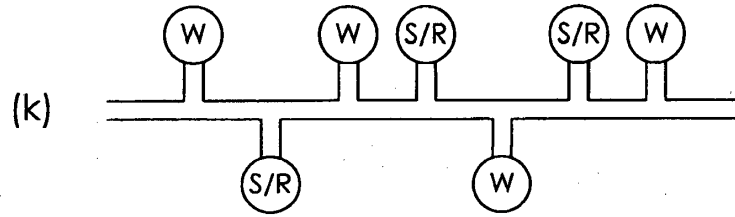
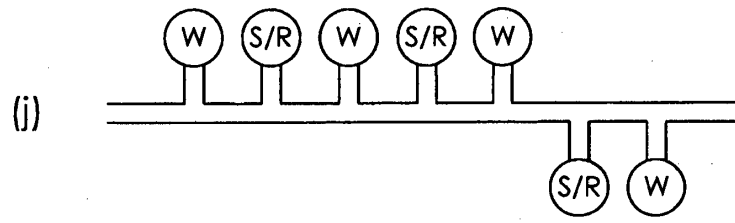


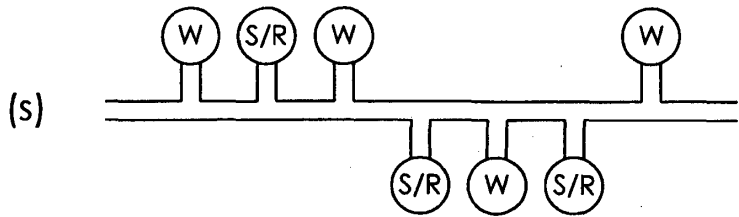
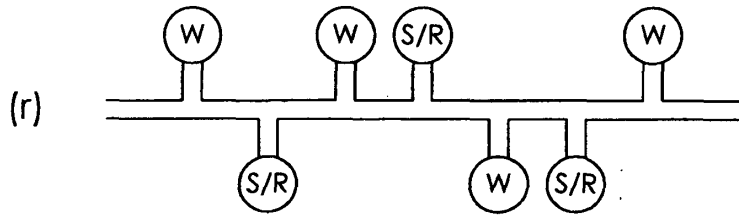
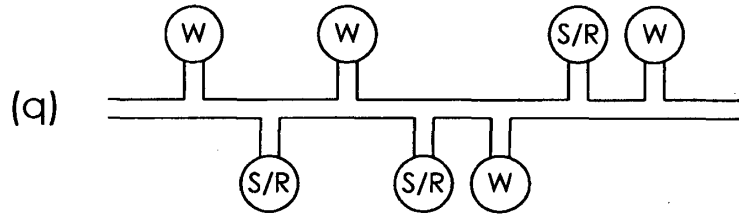
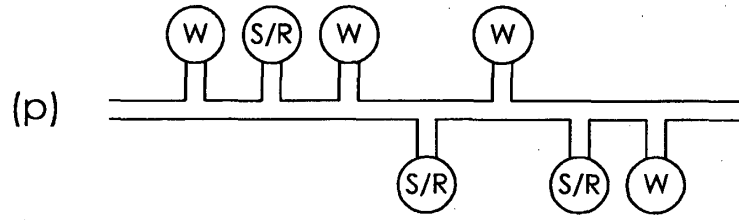
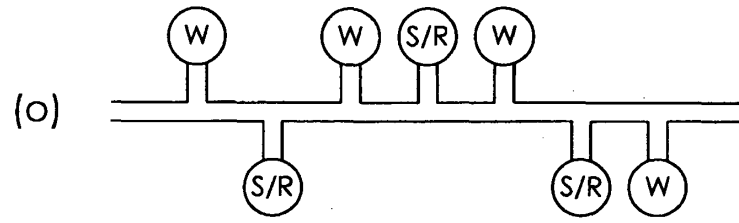
(i)

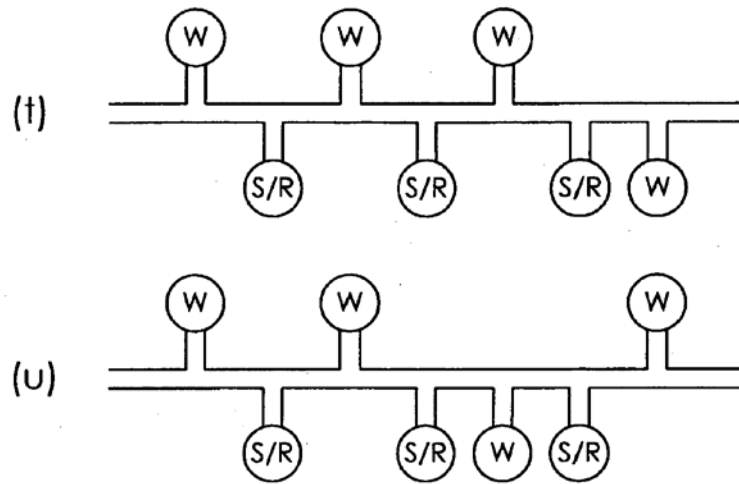
[Figura 13]



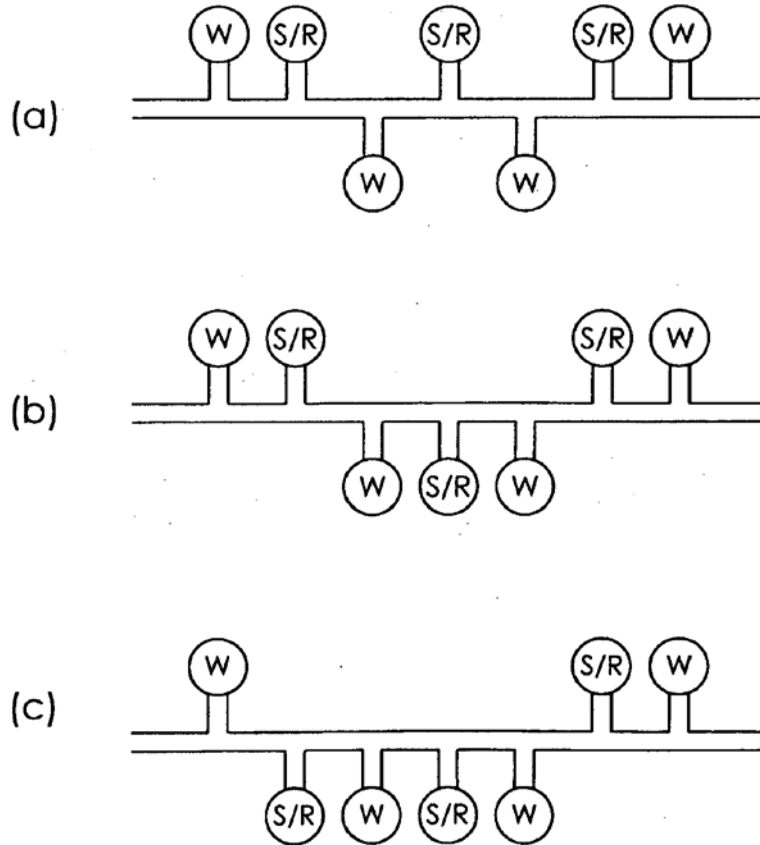


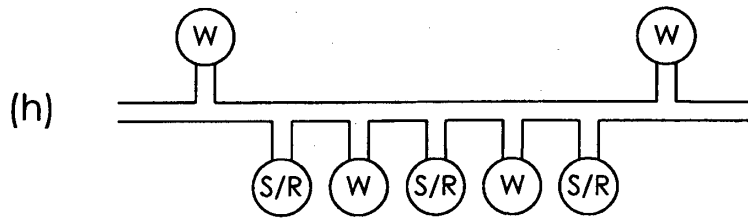
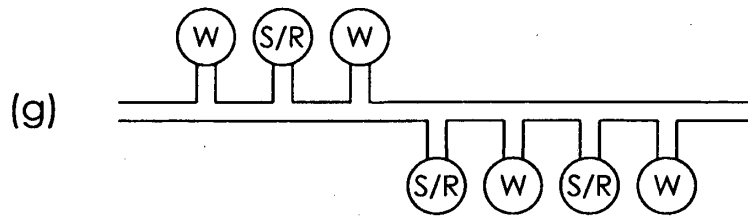
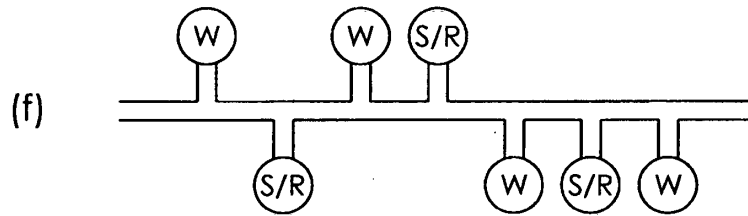
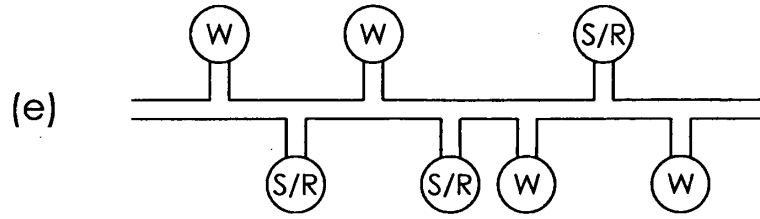
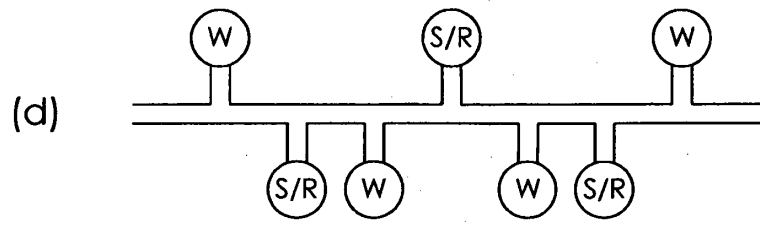


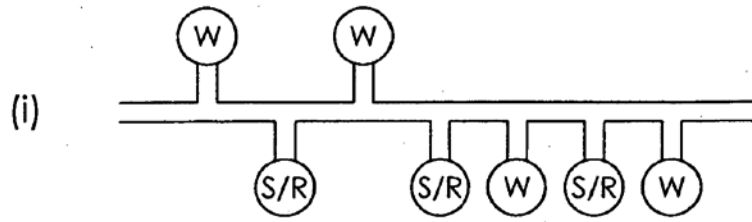




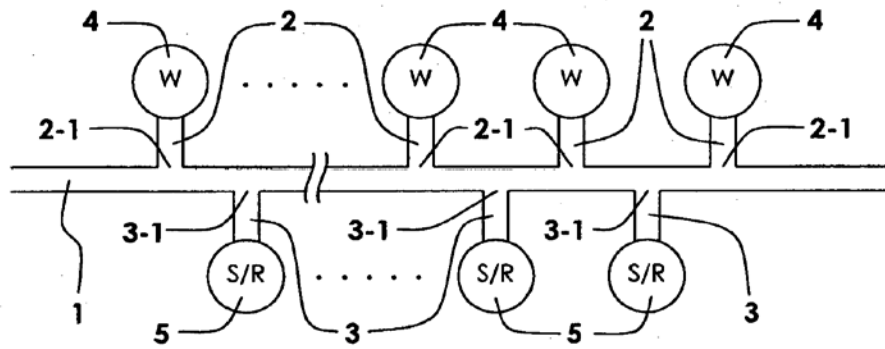
[Figura 14]



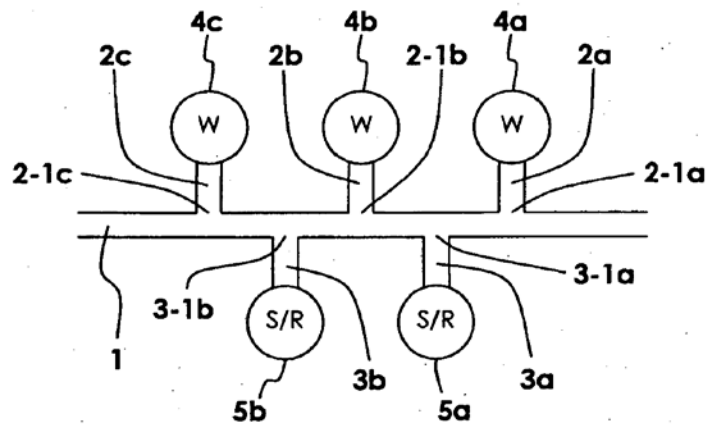




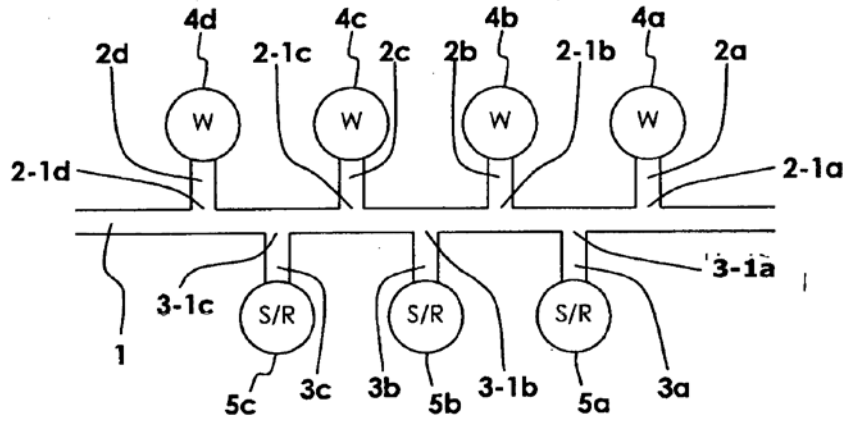
[Figura 15]



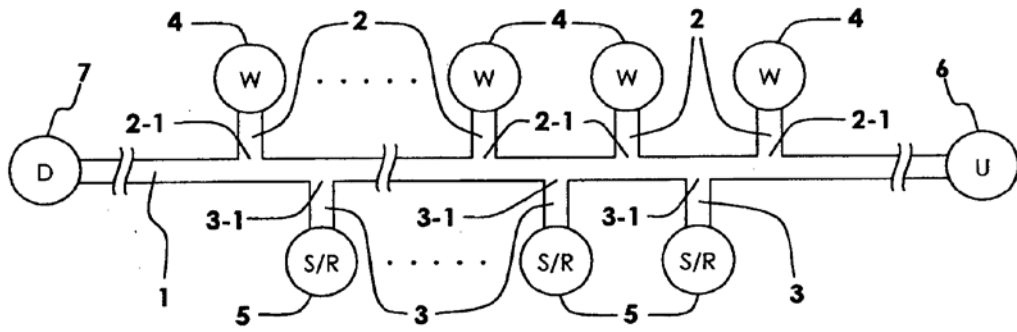
[Figura 16]



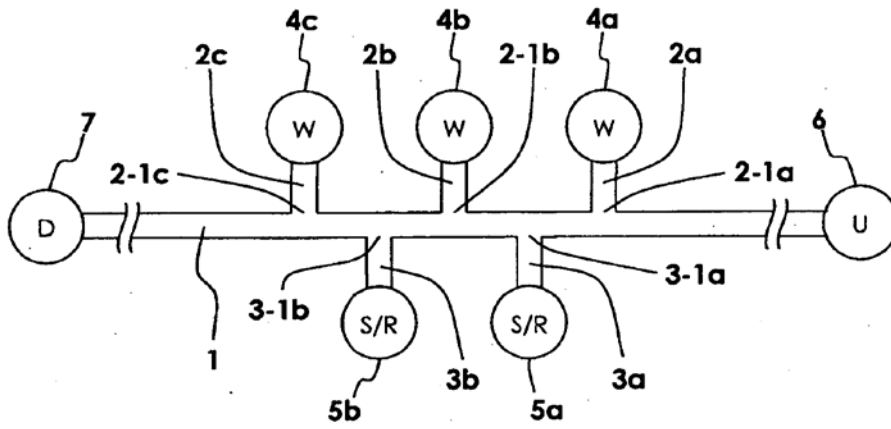
[Figura 17]



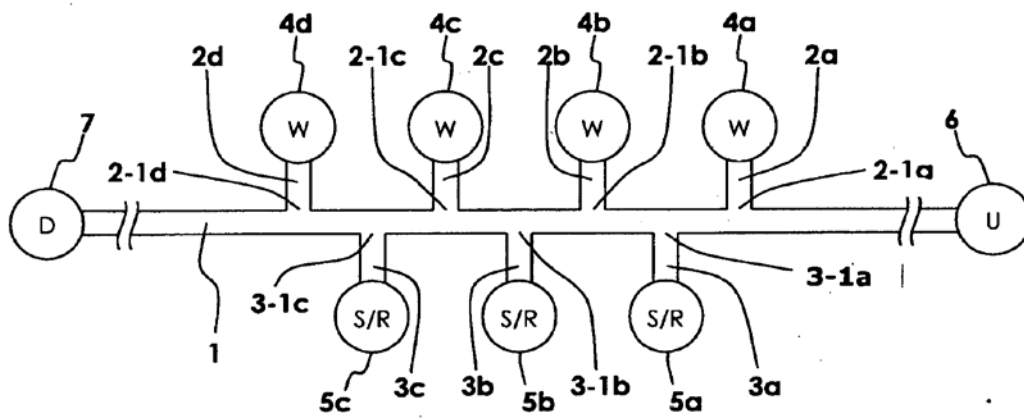
[Figura 18]



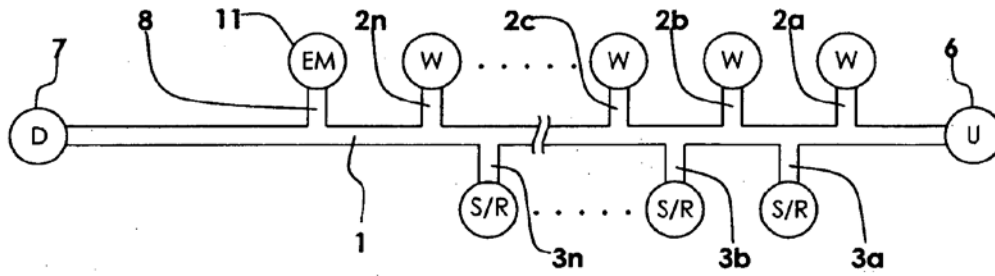
[Figura 19]



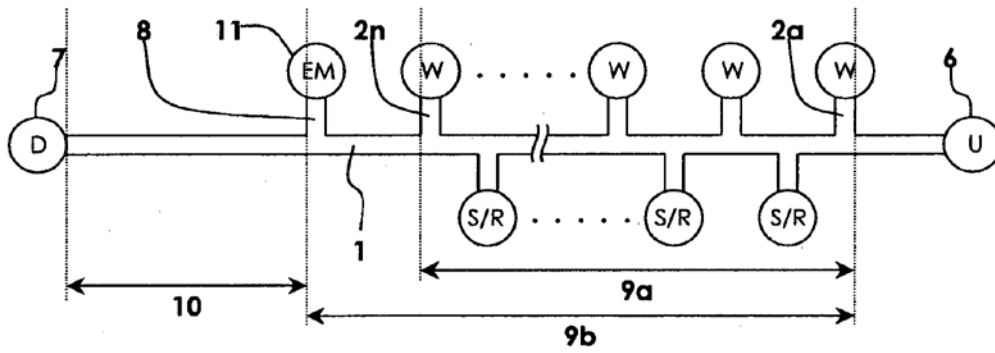
[Figura 20]



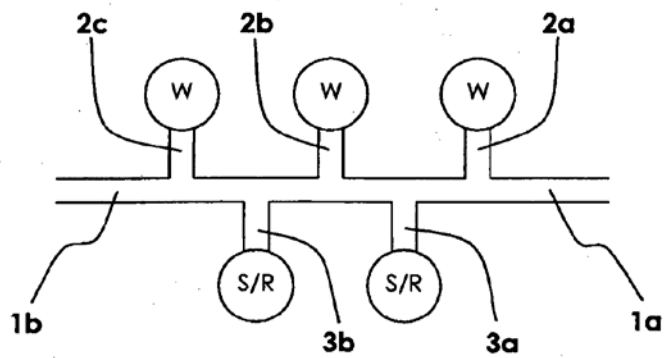
[Figura 21]



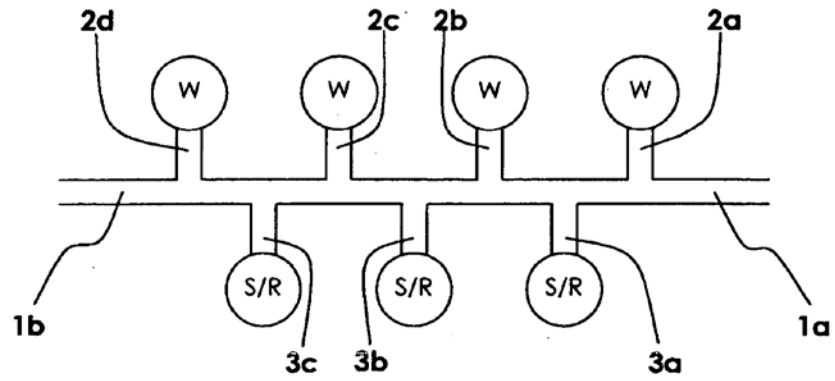
[Figura 22]



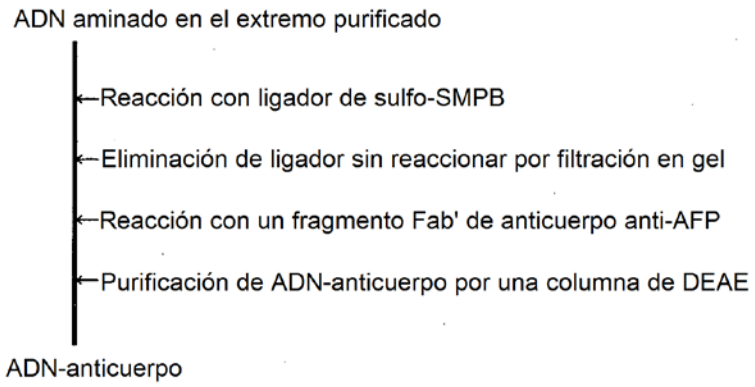
[Figura 23]



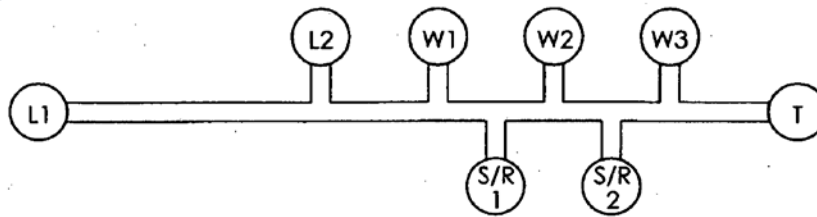
[Figura 24]



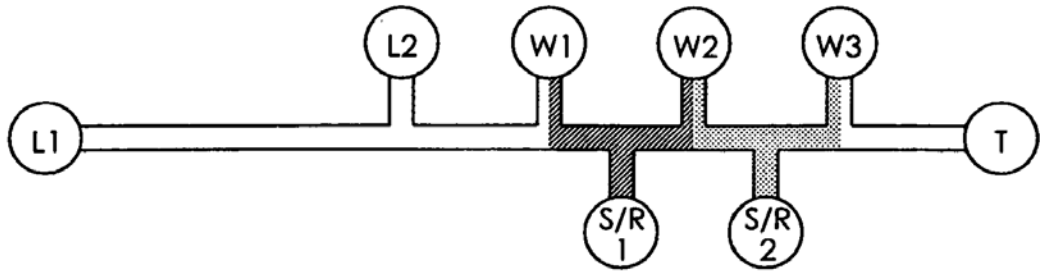
[Figura 25]



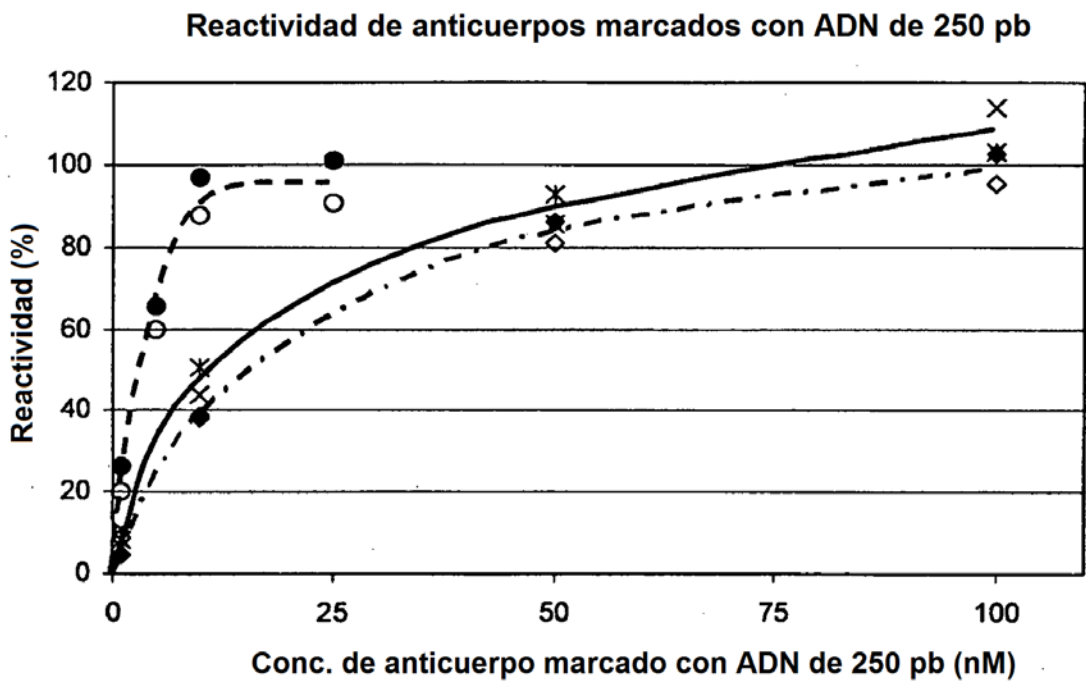
[Figura 26]



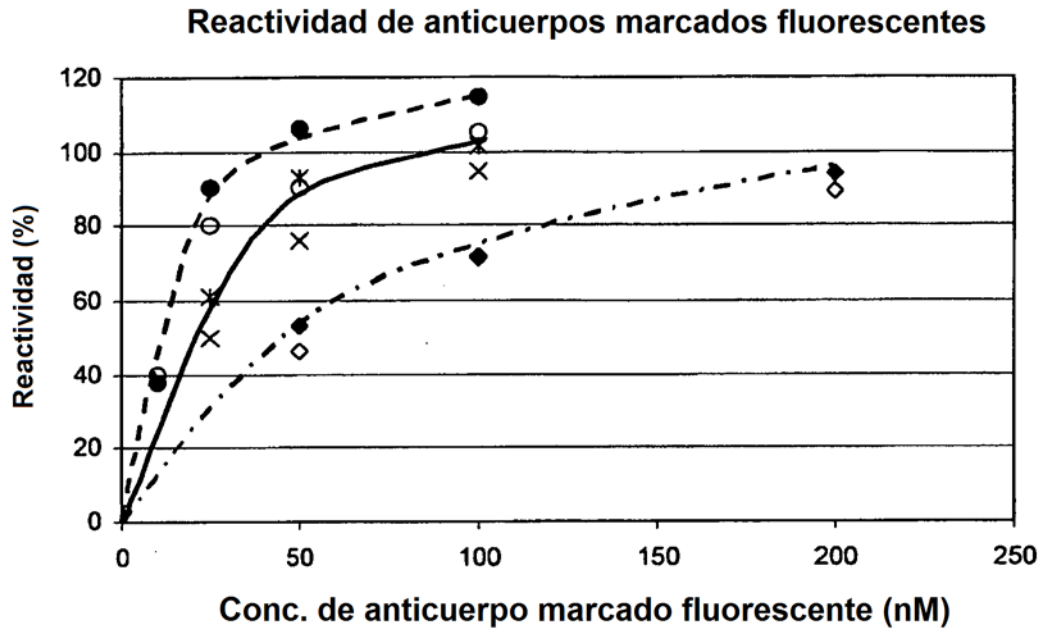
[Figura 27]



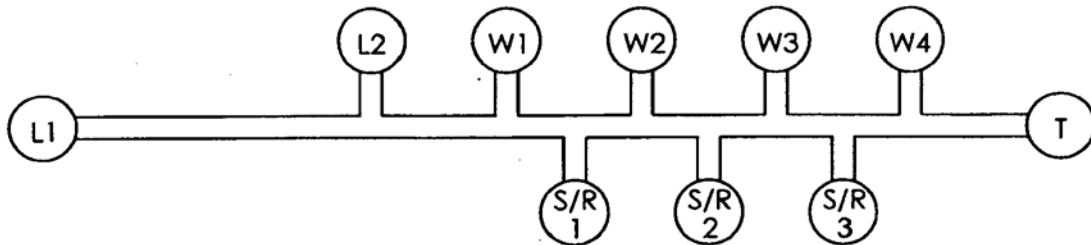
[Figura 28]



[Figura 29]



[Figura 30]



[Figura 31]

