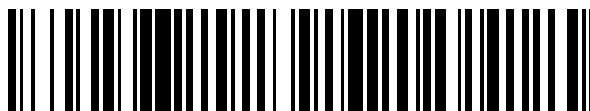


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 461 242**

51 Int. Cl.:

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/553 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.11.2003** **E 03810654 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2014** **EP 1580555**

54 Título: **Material magnético para recoger partículas magnéticas y utilización del mismo**

30 Prioridad:

07.11.2002 JP 2002324177

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.05.2014

73 Titular/es:

**MITSUBISHI CHEMICAL MEDIENCE
CORPORATION (100.0%)
2-8, Shibaura 4-chome
Minato-ku, Tokyo 108-8559, JP**

72 Inventor/es:

**KOYATA, ATSUSHI y
SORIN, TAKAAKI**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 461 242 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

Material magnético para recoger partículas magnéticas y utilización del mismo.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un material magnético para recoger partículas magnéticas, a un método para recoger partículas magnéticas usando el material magnético y a un aparato para usar el material magnético. La presente invención puede usarse en análisis que usan partículas magnéticas, tal como un inmunoensayo.

10

Técnica anterior

En los últimos años, se han desarrollado muchas técnicas que implican el uso de micropartículas magnéticas como portadores y diversas reacciones en disoluciones. Se han desarrollado y se han usado ampliamente diversas técnicas que usan partículas magnéticas, por ejemplo, un inmunoensayo (véase, por ejemplo, J. Immunol. Methods, 218:1-2, 1-8, 1 de sept. (1998)), un método para extraer y analizar ácidos nucleicos (véase, por ejemplo, Biotechniques, 13:1, 124-31, Jul (1992)), un método para analizar proteínas o ligandos, reacciones químicas tales como química combinatoria.

15

20

25

30

Por ejemplo, entre los diversos inmunoensayos que se usan ampliamente como métodos de detectar diversas enfermedades en estadios tempranos y métodos de detectar cantidades traza de sustancias, las técnicas que implican el uso de partículas magnéticas que portan en ellas antígenos o anticuerpos están muy valoradas puesto que las técnicas dan altas sensibilidades y permiten el funcionamiento sencillo de separación de B/F, etc. "Separación de B/F" significa una etapa de separar un producto de reacción antígeno-anticuerpo de una sustancia sin reaccionar desechando la mezcla de reacción que contiene la sustancia sin reaccionar de un recipiente de reacción tal como un tubo de reacción o pocillos de una placa de microtitulación y repitiendo una operación de lavado que incluye suministrar y desechar una disolución de lavado. Cuando se usan partículas magnéticas que portan en ellas un antígeno o un anticuerpo, las partículas magnéticas y una muestra se mezclan para realizar una reacción antígeno-anticuerpo, y luego puede realizarse separación de B/F que incluye una etapa de recoger las partículas magnéticas que contienen el complejo inmunitario generado y una etapa de separar y lavar el antígeno o anticuerpo sin reaccionar fácil y rápidamente usando fuerza magnética.

35

Específicamente, se ha realizado un método que implica poner en contacto el material magnético con un recipiente de reacción o similar que está en un estado de inmovilización, tal como un tubo de reacción o pocillos de una placa de microtitulación, y recoger partículas magnéticas (véase, por ejemplo, el documento JP 3-144367 A); un método que implica recoger partículas magnéticas poniendo en contacto un material magnético con una punta, una tubería de acero inoxidable o un tubo flexible usado como un conducto de flujo para succionar/descargar líquido de/al interior de un recipiente (véase, por ejemplo, el documento JP 3115501 B); y muchos otros informes.

40

45

Sin embargo, para estos métodos, un problema importante es mejorar la tasa de recuperación (eficacia de recogida) de las partículas magnéticas. Aunque las micropartículas magnéticas son útiles para realizar diversas reacciones con alta eficacia, tienden a flotar en la disolución, lo que tiende a conducir a una tasa de recuperación reducida. Cuando la tasa de recuperación disminuye, las partículas magnéticas pueden fluir hacia fuera en los procedimientos de lavado, separación, etc. produciendo un error. Esto puede reducir la fiabilidad de los valores medidos. Sin embargo, cuando el lavado es insuficiente con vistas a evitar que las partículas magnéticas fluyan hacia fuera, no puede lograrse la separación completa. Además, cuando se usan muestras tras la separación, por ejemplo, muestras pretratadas, puede producirse contaminación. En particular, en el caso de los inmunoensayos, la separación de B/F se realiza una pluralidad de veces y si se produce el flujo hacia fuera de las partículas magnéticas o errores, los valores medidos resultan enormemente influidos.

50

55

Para resolver estos problemas, por ejemplo, se ha intentado un método que implica sedimentar las partículas magnéticas a lo largo de un tiempo prolongado hasta que todas las partículas magnéticas se recogen sin fallo. Seguramente, este método permite que se recojan las partículas magnéticas en un tiempo relativamente corto cuando se usa un recipiente de reacción en el que la mezcla de reacción permanece inmóvil, tal como un tubo de reacción o una placa de microtitulación. Sin embargo, cuando la mezcla de reacción fluye como en el caso de un conducto de flujo que succiona líquido del recipiente y descarga el líquido, es difícil mejorar la tasa de recuperación. Además, el método mencionado anteriormente requiere un tiempo prolongado para la medición, por lo que el método es inadecuado para pruebas clínicas o similares para las que se requieren mediciones rápidas.

60

Por otra parte, se ha intentado un método para potenciar la fuerza magnética usando electroimanes o imanes permanentes con tamaños ampliados que se emplean como material magnético para recoger las partículas magnéticas. Sin embargo, este método no es aceptable desde el punto de vista práctico puesto que tiene el problema, por ejemplo, de que es necesario un aparato grande.

65

Tal como se describió anteriormente, no puede decirse que ya se haya establecido un método para recoger partículas magnéticas con facilidad y alta eficacia, método que muestra una alta reproducibilidad incluso en los

inmunoensayos que implican una pluralidad de operaciones de separación de B/F. Por consiguiente, se demanda el desarrollo de un material magnético que sea pequeño y que pueda recoger partículas magnéticas con alta eficacia. En particular, en el campo de las pruebas en el punto de atención (POCT) y similares a las que se ha concedido importancia en los últimos años en pruebas clínicas, se demanda un aparato que sea pequeño y fácil de manejar y con el cual los médicos y enfermeros puedan realizar pruebas rápidamente. Por consiguiente, es esencial reducir el tamaño del aparato. Además, se requiere que el aparato usado en el campo de POCT se adapte al uso de sangre completa inmediatamente tras la extracción de la muestra de sangre tal como está para lograr pruebas rápidamente. Sin embargo, cuando se usa la sangre completa que contiene muchas proteínas contaminantes como muestra, las partículas magnéticas tienden a agregarse, lo que conduce a una disminución en la tasa de recuperación de las partículas magnéticas. Por consiguiente, se demanda intensamente realizar la separación de B/F a una alta tasa de recuperación usando material magnético fuerte.

El documento JP-A-08-304 399 se refiere a un método de separación para partículas de cuerpo magnético. En la figura 11 del documento, se muestra un filtro magnético. La preparación del filtro magnético se describe en el párrafo [0068] del documento. Concretamente, se prepara un cuerpo de separación que comprende cuatro imanes de neodimio cilíndricos, que están unidos de tal manera que los polos magnéticos de dos imanes están orientados en el mismo sentido y los polos magnéticos de los otros dos imanes están orientados en sentidos opuestos, y se llena un envase de cloruro de vinilo con este cuerpo de separación para preparar un filtro magnético.

Descripción de la invención

La presente invención se ha realizado para proporcionar un material magnético para recoger partículas magnéticas que recoge las partículas magnéticas con facilidad y con alta eficacia, un método para recoger partículas magnéticas usando el material magnético y un aparato que está dotado del material magnético.

Los inventores de la presente invención han realizado un estudio exhaustivo para resolver los problemas mencionados anteriormente. Como resultado, los inventores han encontrado que un material magnético que puede recoger partículas magnéticas eficazmente puede producirse reuniendo una pluralidad de imanes en paralelo al sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de imanes adyacentes se invierten alternativamente. La presente invención se ha realizado basándose en estos hallazgos.

Es decir, según la presente invención, se proporciona:

(1) un material magnético para recoger partículas magnéticas, incluyendo el material magnético una pluralidad de imanes que están dispuestos en contacto unos con otros en paralelo a un sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de imanes adyacentes se invierten alternativamente, en el que el material magnético tiene al menos un pico de una fuerza magnética de 600 gauss o más en una superficie de polo magnético.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporcionan:

(2) un método para recoger partículas magnéticas adsorbiendo y sujetando partículas magnéticas en un líquido sobre una superficie de pared mediante una fuerza magnética y luego hacer que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética para liberar las partículas magnéticas, incluyendo el método generar la fuerza magnética a partir de un material magnético para recoger las partículas magnéticas, en el que el material magnético es tal como se define en (1);

(3) el método según (2) descrito anteriormente, en el que la superficie de pared es una superficie de pared interior de un conducto de succión de líquido de un dispensador que succiona un líquido de un recipiente y descarga el líquido;

(4) el método según (2) o (3) descrito anteriormente, en el que las partículas magnéticas se usan para realizar un inmunoensayo;

(5) un método de un inmunoensayo para una sustancia que va a someterse a prueba que está presente en una muestra, que comprende:

(a) una primera etapa de reacción de añadir, a una muestra, partículas magnéticas que portan en ellas una primera sustancia que puede unirse específicamente a una sustancia que va a someterse a prueba contenida en la muestra para producir una reacción,

(b) una primera etapa de separación de separar un primer producto de reacción formado en la primera etapa de reacción del sistema de reacción,

(c) una segunda etapa de reacción de añadir una segunda sustancia que puede unirse específicamente al primer producto de reacción separado para producir una reacción para formar un segundo producto de reacción en el sistema de reacción,

(d) una segunda etapa de separación de separar el segundo producto de reacción formado en la segunda etapa de reacción del sistema de reacción, y

(e) una etapa de medición de medir una cantidad del segundo producto de reacción separado,

en el que la separación de los productos de reacción primero y segundo del sistema de reacción se realiza usando material magnético tal como se define en (1) descrito anteriormente; en particular el método según se describió anteriormente, en el que la medición de la cantidad del segundo producto de reacción se realiza mediante un método quimioluminiscente o un método fluorescente; y

(7) un aparato que comprende un dispensador que tiene un conducto de succión de líquido que succiona un líquido de un recipiente y descarga el líquido, y un material magnético proporcionado en el conducto de succión de líquido, en el que el aparato está configurado para controlarse de tal manera que partículas magnéticas en el líquido succionado por el conducto de succión de líquido se adsorben y se sujetan sobre una superficie de pared interior del conducto de succión de líquido mediante una fuerza magnética del material magnético, y luego se hace que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética del material magnético para liberar las partículas magnéticas del conducto de succión de líquido y que se descarguen junto con el líquido hacia fuera del conducto de succión de líquido, y en el que el material magnético es tal como se define en (1) descrito anteriormente.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama que muestra configuraciones de materiales magnéticos A, B, C y D, en el que A es un material magnético de imán único, y B, C y D son materiales magnéticos de múltiples capas, respectivamente, de la presente invención;

la figura 2 es un diagrama que muestra un estado en el que el material magnético y la punta de la presente invención están fijados en un aparato que usa el material magnético en la etapa de separación de B/F;

la figura 3 es una sección transversal de un cartucho para una medición automática que incluye ocho recipientes;

la figura 4 es un gráfico que ilustra las tasas de recuperación de partículas magnéticas de VLTH-1 con materiales magnéticos A y B, representando el eje vertical la tasa de recuperación (unidad: % x 1/100) y representando el eje horizontal el tiempo (unidad: segundos), donde los resultados obtenidos usando el material magnético A se indican mediante rombos y los resultados obtenidos usando el material magnético B se indican mediante cuadrados;

la figura 5 es un gráfico que ilustra las tasas de recuperación de partículas magnéticas de TP-N con materiales magnéticos A, B y C, respectivamente, representando el eje vertical la tasa de recuperación (unidad: % x 1/100) y representando el eje horizontal el tiempo (unidad: segundos), donde los resultados obtenidos usando el material magnético A se indican mediante rombos, los resultados obtenidos usando el material magnético B se indican mediante cuadrados y los resultados obtenidos usando el material magnético C se indican mediante triángulos;

la figura 6 es un gráfico que ilustra las tasas de recuperación de las partículas magnéticas que no portan antígeno con materiales magnéticos A, B y D, representando el eje vertical la tasa de recuperación (unidad: % x 1/100) y representando el eje horizontal el tiempo (unidad: segundos), donde los resultados obtenidos usando el material magnético A se indican mediante rombos, los resultados obtenidos usando el material magnético B se indican mediante cuadrados y los resultados obtenidos usando el material magnético D se indican mediante triángulos;

la figura 7 es un diagrama que ilustra la posición de una sonda de medición con respecto al material magnético en la medición de la fuerza magnética del material magnético con un práctico gausímetro;

la figura 8 es un gráfico que ilustra resultados de medición de fuerza magnética en la posición de la superficie de polo magnético, representando el eje vertical la fuerza magnética (unidad: gauss) y representando el eje vertical la posición de la superficie de polo magnético (unidad: mm), donde los resultados obtenidos usando el material magnético A se indican mediante rombos, los resultados obtenidos usando el material magnético B se indican mediante cuadrados, los resultados obtenidos usando el material magnético C se indican mediante triángulos y estos resultados se indican mediante líneas continuas, respectivamente y los resultados obtenidos usando el material magnético D se indican mediante cuadrados más pequeños y línea discontinua.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

A continuación en el presente documento, se explicará la presente invención en más detalle.

1. Material magnético para recoger partículas magnéticas según la presente invención

El material magnético para recoger partículas magnéticas según la presente invención incluye una pluralidad de

imanes dispuestos de tal manera que imanes adyacentes están en contacto entre sí. Los imanes en el material magnético de la presente invención tienen una característica tal que están dispuestos en paralelo al sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de los polos magnéticos adyacentes se invierten alternativamente (a continuación en el presente documento, esto también se denomina “estratificado”). Tal como se usa en el presente documento, el término “paralelo” no significa que el sentido de imantación de cada imán que constituye el material magnético sea el mismo. El término “paralelo” también incluye el caso en que el sentido de imantación de un imán es opuesto al sentido de imantación de otro imán.

Generalmente, la fuerza magnética de un imán es fuerte en la parte de extremo de un lado desde el cual el imán genera fuerza magnética (un lado vertical al sentido de imantación del imán que constituye el material magnético: a continuación en el presente documento, esto también se denomina una “superficie de polo magnético”) y débil en la parte central del lado. Por tanto, cuando, por ejemplo, se usa un material magnético compuesto de un único imán (a continuación en el presente documento, esto también se denomina una “material magnético de imán único”), se obtiene una fuerza magnética fuerte sólo en la parte de extremo del material magnético aunque se use un imán más grande. Por tanto, no puede obtenerse fuerza magnética fuerte a lo largo de toda la superficie de polo del imán. Esto hace que la recogida de las partículas magnéticas sea ineficaz.

En cambio, en el caso del material magnético de la presente invención, una pluralidad de imanes están dispuestos en paralelo al sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de imanes adyacentes se invierten alternativamente. Por tanto, se encuentra que puede obtenerse fuerza magnética fuerte en los sitios en los que los imanes están en contacto entre sí en el material magnético (a continuación en el presente documento, esto también se denomina “parte estratificada”) y la fuerza magnética es débil en la parte central de cada imán. Es decir, en el material magnético de imán único, puede obtenerse una fuerza magnética fuerte sólo en la parte de extremo del imán en una superficie de polo que tiene un área fija determinada. En cambio, el material magnético de la presente invención tienen una característica tal que se obtiene fuerza magnética fuerte en una pluralidad de sitios de la superficie de polo del material magnético puesto que una pluralidad de los imanes están estratificados para constituir el material magnético. En otras palabras, el material magnético de la presente invención tiene al menos un pico de fuerza magnética en la superficie de polo. “Tener un pico” significa que la fuerza magnética en un punto en la superficie de polo magnético es mayor que las fuerzas magnéticas en puntos a ambos lados del punto mencionado anteriormente en la dirección en sección transversal de los imanes, denominándose este punto un “pico”. En el material magnético de la presente invención el al menos un pico de una fuerza magnética es ≥ 600 gauss en una superficie de polo magnético.

Por ejemplo, el material magnético de imán único tiene sitios en los que se obtienen imanes fuertes sólo en ambos extremos de la superficie de polo magnético. En el caso del material magnético que tiene estratificados dos imanes, se obtienen fuerzas magnéticas fuertes (el material magnético tiene picos) en una parte estratificada así como en ambos extremos. En el caso del material magnético que tiene estratificados tres imanes, se obtienen fuerzas magnéticas fuertes (el material magnético tiene picos) en dos partes estratificadas así como en ambos extremos.

Generalmente, la distancia que alcanzan las líneas magnéticas (intervalo de campo magnético) aumenta con un tamaño creciente del imán. Por tanto, se ha concebido que el uso de una fuerza magnética fuerte a partir de un imán grande aumentaría el efecto también en, por ejemplo, la recogida de las partículas magnéticas. Sin embargo, desarrollos recientes en la tecnología han permitido que se usen puntas desechables finas y similares como un conducto de flujo que succiona líquido de un recipiente y descarga el líquido (a continuación en el presente documento, esto también se denomina un “conducto de succión de líquido”) y aplicar simplemente un imán grande a tal conducto de flujo hace que el intervalo que alcanzan las líneas magnéticas sea demasiado amplio para centralizar las líneas magnéticas dentro de las partes de diámetro interno de las puntas o similares. Por consiguiente, existe el problema de que se expanda el campo magnético disperso.

En cambio, el material magnético de la presente invención incluye una pluralidad de imanes combinados entre sí, por lo que cada imán puede tener un tamaño pequeño de manera apropiada. Esto hace que la distancia que alcanzan las líneas magnéticas sea corta y que las líneas magnéticas se acumulen cerca de la superficie de polo magnético, dando como resultado un campo magnético disperso disminuido. Por tanto, por ejemplo, cuando se usa el material magnético de la presente invención como material magnético para recoger partículas magnéticas y se pone en contacto con un conducto de succión de líquido que tiene una trayectoria de flujo delgada, las partículas magnéticas pueden recogerse eficazmente.

Mediante las dos magníficas características mencionadas anteriormente, el material magnético de la presente invención puede recoger muy eficazmente partículas magnéticas en la pared interior del conducto de succión de líquido o recipiente, y por tanto es muy adecuado como material magnético para recoger partículas magnéticas.

Puede usarse cualquier imán que tenga un polo S (polo sur) y un polo N (polo norte) y que pueda generar fuerza magnética que pueda recoger partículas magnéticas. Los ejemplos de los imanes incluyen imanes permanentes y electroimanes. Los imanes permanentes se usan preferiblemente en vista de la intensidad y la estabilidad del campo magnético generado y porque no es necesaria fuente de alimentación. Los ejemplos del imán permanente incluyen los obtenidos mediante el moldeo de materiales magnéticos adecuados, tales como Alnico, ferrita de bario, neodimio

y samario-cobalto, dando lugar a cualquier forma deseada, tal como varilla, placa, cubo, disco y arco de herradura, y la imantación de los materiales magnéticos moldeados. El imán permanente con forma de varilla preferiblemente tiene una sección transversal rectangular. Entre los imanes mencionados anteriormente, se usa preferiblemente un imán de neodimio moldeado dando lugar a una varilla o placa.

El material magnético de la presente invención puede producirse disponiendo una pluralidad de los imanes mencionados anteriormente unos en contacto con otros en paralelo al sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de polos magnéticos adyacentes se invierten alternativamente. Incluso cuando está presente un espacio entre los imanes, se considera que los imanes están en contacto sustancialmente entre sí siempre que el material magnético esté constituido de manera integral y que se obtenga suficientemente la fuerza magnética deseada. El término "en contacto" en la presente invención incluye el caso en que los imanes están en contacto sustancialmente entre sí de esta manera. Sin embargo, es preferible que no esté presente ningún espacio entre los imanes.

Se usan al menos dos imanes, preferiblemente al menos tres imanes, en combinación. El límite superior del número de los imanes depende del tamaño del imán usado y del tamaño diseñado (tamaño exterior) del material magnético de la presente invención que va a producirse a partir de una pluralidad de los imanes. Los tamaños de los imanes pueden ser iguales o diferentes entre sí. Es preferible que los imanes tengan el mismo tamaño.

Por ejemplo, cuando cada uno de los imanes es demasiado pequeño, la fuerza magnética generada es débil y la eficacia de recogida de las partículas magnéticas puede disminuir. Es preferible seleccionar imanes que tengan un tamaño adecuado según el tamaño exterior del material magnético que va a producirse, de tal manera que la fuerza magnética en el sitio en que se recogen las partículas magnéticas es máxima. El número y el tamaño preferibles de los imanes puede determinarse midiendo la fuerza magnética en el sitio en que el material magnético entra en contacto mediante la técnica explicada más adelante, o realmente obteniendo la tasa de recuperación de las partículas magnéticas y confirmando que la fuerza magnética del material magnético es suficiente para recoger las partículas magnéticas. El tamaño exterior puede determinarse en vista del tamaño del recipiente de reacción o similar con el que el material magnético entra en contacto y la especificación del aparato en que se dispone el material magnético. Puede ser suficiente tener en cuenta, por ejemplo, que el tamaño exterior del material magnético no debe ser demasiado grande con respecto al aparato y que las partes del aparato que son sensibles a la influencia de la fuerza magnética, tal como fotomultiplicadores, no deben resultar influidas por la fuerza magnética.

Más particularmente, por ejemplo, cuando el material magnético se usa dispuesto en un aparato de medición automática que tiene un conducto de succión de líquido ("SX-6G", fabricado por Precision System Science Corporation, etc.), el tamaño exterior del material magnético puede determinarse dependiendo de la longitud, el diámetro interior, el grosor de pared, el material y similares de las puntas usadas como conducto. La longitud de la cara (superficie de polo magnético) de un único imán que entra en contacto con el conducto se determina dependiendo del grosor de pared, etc. Es importante usar un material magnético que genere líneas magnéticas entre los imanes adyacentes que alcancen de manera apropiada la línea de desplazamiento de las partículas magnéticas. Más particularmente, cuando se usan puntas que tienen un grosor de pared de 0,75 mm, la longitud longitudinal de un único imán (longitud longitudinal del imán en la dirección de laminación) es preferiblemente de 3 mm o más. En el caso de recipientes que se usan en un estado de inmovilización tal como un tubo de reacción y una placa de microtitulación, la longitud longitudinal del imán puede determinarse dependiendo de, por ejemplo, la longitud, el diámetro interior, el grosor de pared y el material del tubo de reacción o el tamaño de la placa de microtitulación y el tamaño de pocillos en la misma.

A continuación en el presente documento, tomando un ejemplo del material magnético usado dispuesto en un aparato de medición automática de tamaño pequeño tal como "SX-6G" fabricado por Precision System Science Corporation, se explican en más detalle el material magnético de la presente invención y el método para seleccionar imanes para producir el material magnético. En el aparato, se disponen puntas desechables que tienen un diámetro interior de aproximadamente 2 a 3 mm y un grosor de pared de aproximadamente 0,5 a 1 mm como un conducto de succión de líquido para succionar y descargar un líquido. Por ejemplo, se usan de manera preferible puntas desechables compuestas por polipropileno que tienen un diámetro interior de 2,25 mm y un grosor de pared de 0,75 mm.

El material magnético para recoger partículas magnéticas que se usa en contacto con el conducto de succión de líquido tal como se describió anteriormente tiene un tamaño de, por ejemplo, 50 mm o menos, preferiblemente de 20 mm o menos en longitud longitudinal (dirección de laminación) y de 20 mm o menos, preferiblemente de 15 mm o menos en longitud transversal (sentido de imantación). El material magnético tiene una anchura de 10 mm o menos, preferiblemente de 5 mm o menos. Los límites inferiores del tamaño pueden ser cualquier tamaño deseado en tanto que se logre el objeto de recoger las partículas magnéticas. El número de imanes que va a estratificarse es preferiblemente de 2 a 4, de manera particularmente preferible 3 cuando se produce un material magnético que tiene un tamaño exterior de, por ejemplo, 15 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura. Es decir, la longitud longitudinal de un imán es de manera adecuada de aproximadamente 3,75 a 7,5 mm.

El tamaño de cada imán que constituye el material magnético de la presente invención puede determinarse de

manera fiable, por ejemplo, midiendo la fuerza magnética sobre la superficie de pared interior del conducto de succión de líquido, que es un sitio donde las partículas magnéticas se adsorben para confirmar que la fuerza magnética medida es suficiente para adsorber las partículas magnéticas. Además, preferiblemente se usa un método que implica medir realmente la tasa de recuperación (eficacia de recogida) de las partículas magnéticas para confirmar que la tasa de recuperación medida es preferiblemente del 80% o más, de manera particularmente preferible el 90% o más.

Ejemplos del método para medir la fuerza magnética sobre la superficie de pared interior incluye un método para medir realmente la fuerza magnética ejercida sobre la superficie de pared interior del conducto de succión de líquido usando un aparato de medición de fuerza magnética usado comúnmente, tal como un práctico gausímetro (MODELO 4048: fabricado por F. W. BELL). Más particularmente, por ejemplo, se fija una sonda de medición (por ejemplo, en el caso del aparato de medición mencionado anteriormente, T-4048-001 (fabricado por F. W. BELL)) cerca de la superficie de polo del material magnético y se mide la fuerza magnética. En este caso, la sonda se fija ventajosamente a una distancia pequeña de la superficie de polo magnético teniendo en cuenta que la punta tiene realmente un grosor de pared. Además, la fuerza magnética puede medirse, por ejemplo, poniendo en contacto realmente el material magnético con la superficie de pared exterior de la punta y ajustando la sonda sobre la superficie de pared interior para medir la fuerza magnética sobre la superficie de pared interior de la punta.

Tal como se describió anteriormente, la superficie de polo del material magnético de la presente invención tiene un pico fuerte en el sitio donde los imanes están en contacto entre sí (parte estratificada) y una fuerza magnética débil en la parte central de cada imán. Es decir, cuando se produce el material magnético de la presente invención, es preferible que se adopte un indicador de que puede obtenerse una fuerza magnética suficiente no sólo en las partes de extremo, sino también en cada parte estratificada. El material magnético de la presente invención preferiblemente incluye una pluralidad de partes estratificadas y tiene un tamaño suficiente para que la fuerza magnética en cada parte estratificada recoja las partículas magnéticas. El término "fuerza magnética suficiente en cada parte estratificada" significa, por ejemplo, 600 gauss o más, preferiblemente 800 gauss o más, más preferiblemente 1.000 gauss o más.

Por tanto, cuando se mide la fuerza magnética del material magnético de la presente invención, es preferible que la medición se realice en una pluralidad de sitios sobre la superficie de polo magnético para confirmar que puede obtenerse una fuerza magnética suficiente a lo largo de la pluralidad de los sitios. La sonda puede fijarse o bien verticalmente o bien en paralelo a la superficie de polo magnético en tanto que se realice la medición según una técnica predeterminada y puedan compararse los valores medidos. Sin embargo, puesto que la parte de medición de la sonda generalmente tiene un área determinada, es difícil medir la fuerza magnética en un único punto. Sin embargo, ajustando la sonda verticalmente con respecto a la superficie de polo magnético y midiendo la fuerza magnética en una pluralidad de puntos sobre la superficie de polo magnético, pueden realizarse comparaciones precisas. En particular, es preferible que se mida la fuerza magnética en las partes estratificadas. Más preferiblemente, se realizan mediciones continuas en una pluralidad de puntos incluyendo aquellos en las partes estratificadas y se analizan el número de picos de la fuerza magnética y la intensidad de la fuerza magnética.

Cuando se realiza una valoración usando la tasa de recuperación de las partículas magnéticas como indicador, puede obtenerse la recuperación de las partículas magnéticas proporcionando realmente una dispersión de partículas magnéticas disponible comercialmente en un aparato de medición automática que tiene dispuesto en el mismo el material magnético de la presente invención y realizando experimentos de la misma manera que el método de medición objetivo. Los ejemplos de las partículas magnéticas incluyen reactivo de partículas magnéticas con VLTH-1 Lumipulse HTLV-1 (fabricado por FUJIREBIO, INC.), reactivo de partículas magnéticas con TP-N Lumipulse II TP-N (fabricado por FUJIREBIO, INC.) y partículas magnéticas RP-M1 (fabricadas por Rohne-Poulenc).

El método para producir el material magnético de la presente invención poniendo en contacto una pluralidad de imanes en paralelo entre sí puede utilizar los poderes de sujeción de los imanes en la unión los imanes entre sí puesto que los imanes se disponen de manera adyacente invirtiéndose alternativamente los polos sur y norte, o puede utilizar adhesivo de unión o similar. Tal como se describió anteriormente, en tanto que el material magnético tenga una fuerza magnética suficiente, puede estar presente un espacio entre imanes adyacentes.

2. Método para recoger partículas magnéticas usando material magnético de la presente invención

El método para recoger partículas magnéticas de la presente invención implica adsorber y sujetar las partículas magnéticas en un líquido sobre la superficie de pared mediante la fuerza magnética y luego hacer que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética para liberar las partículas magnéticas y se caracteriza porque la fuerza magnética se genera por el material magnético mencionado anteriormente de la presente invención.

El material magnético usado en la presente invención es el material magnético mencionado anteriormente de la presente invención. El material magnético mencionado anteriormente puede generar fuerza magnética fuerte en la parte estratificada de los imanes y tiene una característica de que las líneas magnéticas se acumulan cerca del material magnético, por lo que el campo magnético disperso disminuye y por tanto, la fuerza magnética aumenta en el lado (superficie de polo magnético) vertical con respecto al sentido de imantación de los imanes que constituyen el

material magnético. Por consiguiente, las partículas magnéticas pueden recogerse eficazmente usando la superficie de polo magnético.

El término "superficie de pared" tal como se usa en el presente documento significa una superficie de pared interior y similar de un recipiente de reacción tal como un tubo de reacción o pocillos de una placa de microtitulación y del conducto de succión de líquido de un dispensador que succiona líquido de un recipiente y descarga el líquido. En la presente invención, es preferible que la superficie de pared sea la superficie de pared interior del conducto de succión de líquido mencionado anteriormente. Mediante la puesta en contacto del material magnético de la presente invención con la superficie de pared exterior de, por ejemplo, las puntas, tuberías de acero inoxidable y tubos flexibles que se usan como conducto de succión de líquido, las partículas magnéticas pueden adsorberse y sujetarse eficazmente sobre la superficie interior del sitio donde está en contacto el material magnético (a continuación en el presente documento, esto también se denomina "sitio de fuerza magnética"). Además, mediante la liberación de las partículas magnéticas del sitio de fuerza magnética para hacer que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética de las partículas magnéticas, las partículas magnéticas pueden liberarse de manera sencilla y fácil de la superficie de pared interior. La técnica convencional tiene el problema de que las partículas magnéticas tienden a perderse. Sin embargo, con el material magnético de la presente invención, se logran altas tasas de recuperación, lo que resuelve el problema.

Para hacer que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética, el material magnético se mantiene a distancia de la superficie de pared cuando el material magnético es un imán permanente y cuando el material magnético es un electroimán, lográndose el objeto mediante el mismo método tal como se describió anteriormente o deteniendo la aplicación de corriente al electroimán de la misma manera tal como se describió anteriormente.

Puede usarse cualquier partícula magnética en tanto que las partículas magnéticas tengan propiedades de recogerse bajo la influencia de la fuerza magnética generada por el material magnético. El diámetro no está limitado. La forma de las partículas magnéticas no está limitada a esférica y pueden seleccionarse y usarse aquellas partículas magnéticas que tienen un material, recubrimiento y tamaño adecuados dependiendo de la medición, análisis, reacción, etc. objetivo.

Más particularmente, por ejemplo, cuando se realiza un inmunoensayo, se usan preferiblemente partículas magnéticas compuestas de metales tales como tetraóxido de trihierro (Fe_3O_4), trióxido de dihierro (Fe_2O_3), diversos tipos de ferritas, hierro, manganeso, níquel, cobalto y cromo, aleaciones de cobalto, níquel y manganeso. Estas partículas magnéticas pueden prepararse incluidas en látex de un polímero tal como poliestireno, gelatina, liposomas o inmovilizadas sobre la superficie del mismo. La forma de las partículas magnéticas es preferiblemente esférica. El tamaño de partícula de las partículas magnéticas puede ser cualquier tamaño de partícula en tanto que pueda realizarse la separación de B/F con alta precisión usando el material magnético de la presente invención. Sin embargo, si el tamaño de partícula es demasiado pequeño, la eficacia de la separación es escasa mientras que las partículas magnéticas tienden a precipitar si el tamaño de partícula es demasiado grande. Más particularmente, por ejemplo, el límite inferior del tamaño de partícula es de $0,05\ \mu\text{m}$, preferiblemente de $0,1\ \mu\text{m}$, mientras que el límite superior del tamaño de partícula es de $10\ \mu\text{m}$, preferiblemente de $4\ \mu\text{m}$, más preferiblemente de $2\ \mu\text{m}$. Los intervalos del tamaño de partícula se seleccionan de combinaciones de los límites superior e inferior. Un ejemplo específico del tamaño de partícula es habitualmente desde $0,05$ hasta $10\ \mu\text{m}$, preferiblemente desde $0,05$ hasta $4\ \mu\text{m}$, más preferiblemente de $0,1$ a $2\ \mu\text{m}$.

Un antígeno o un anticuerpo se porta sobre las partículas magnéticas mediante un método que se usa comúnmente y se conoce *per se* y el resultado se usa en el inmunoensayo. Los ejemplos del método de portar un antígeno o un anticuerpo sobre las partículas magnéticas incluyen un método de adsorción física y un método de unión química. La cantidad de adsorción, el tipo de la disolución en la que se suspenden las partículas magnéticas, la concentración de las partículas magnéticas en la disolución, etc., pueden seleccionarse apropiadamente dependiendo de las partículas magnéticas, antígeno o anticuerpo, objetivo de medición, muestra, etc., usados.

La mayoría de las partículas magnéticas tal como se describió anteriormente y las partículas magnéticas que portan cualquier antígeno o anticuerpo se ofrecen comercialmente como partículas magnéticas o reactivos y están disponibles fácilmente.

Por ejemplo, las partículas magnéticas usadas para extraer y analizar ácidos nucleicos pueden ser cualquier partícula magnética en tanto que puedan mezclarse con una disolución que contiene un ácido nucleico y someterse a una reacción según sea necesario para tener el ácido nucleico unido a la superficie de la misma.

El sitio y el método para recoger las partículas magnéticas puede realizarse según el método para recoger las partículas magnéticas mediante un material magnético que se conoce *per se* y se usa comúnmente. Tal como se describió anteriormente, es preferible que el material magnético se use de tal manera que el lado (superficie de polo magnético) que es vertical al sentido de imantación de los imanes que constituyen el material magnético de la presente invención entre en contacto con la superficie de pared exterior del reactor o similar presentado para la medición, análisis y reacción objetivo. Más particularmente, por ejemplo, cuando las partículas magnéticas se

recogen en un recipiente que se usa en un estado de inmovilización, tal como un tubo de reacción o una placa de microtitulación, el material magnético de la presente invención puede usarse poniendo en contacto el material magnético con el tubo de reacción o los pocillos de la placa de microtitulación en el lado o fondo de los mismos. Cuando las partículas magnéticas se recogen en puntas, tubería de acero inoxidable, un tubo flexible o similar usados como conducto de succión de líquido de un dispensador dispuesto en el aparato que realiza la medición, los análisis y las reacciones mediante el uso de las partículas magnéticas, el material magnético de la presente invención puede usarse poniéndolo en contacto con el lado de la punta, tubería de acero inoxidable o tubo flexible. Entre ellos, el método de la presente invención se usa de manera particularmente ventajosa en un aparato de medición automática en el que está dispuesto un conducto de succión de líquido.

El método de la presente invención puede aplicarse a diversas mediciones, análisis, reacciones, etc., que se realizan usando partículas magnéticas. Las sustancias que van a someterse a prueba, que son objetivos de medición incluyen, por ejemplo, sustancias inmunológicas, sustancias biológicas, sustancias moleculares, etc., tales como antígenos, anticuerpos, proteínas, ligandos, enzimas, sustratos, ADN, ADN vector, ARN y plásmidos. Para la determinación cualitativa/cuantitativa de estas sustancias, se emplean diversos tipos de sustancias marcadas usadas para isótopos, enzimas, quimioluminiscencia, fluorescencia, electroquimioluminiscencia, etc. El método y el aparato de medición que pueden usarse pueden ser aquellos conocidos *per se* y usados comúnmente.

Más particularmente, el método de la presente invención se usa ventajosamente en, por ejemplo, un inmunoensayo, método para extraer y analizar ácidos nucleicos, método para analizar proteínas/ligandos, química combinatoria, reacciones químicas tales como pretratamientos de diversas muestras. Por ejemplo, en un inmunoensayo, el método para recoger las partículas magnéticas según la presente invención se aplica a la etapa de separación de B/F. Por ejemplo, en el método para extraer/analizar ácidos nucleicos, el método de la presente invención se aplica a la etapa de separar/purificar ácidos nucleicos. Por ejemplo, cuando las muestras de las que se extraen ácidos nucleicos son diversos tipos de células, las células se solubilizan mediante un método conocido para preparar una disolución de extracto de células, que entonces se mezcla con las partículas magnéticas para adherir el ácido nucleico sobre la superficie de las partículas magnéticas. Recogiendo las partículas magnéticas que tienen adherido el ácido nucleico sobre las mismas mediante el método para recoger las partículas magnéticas de la presente invención, el ácido nucleico puede separarse/purificarse de manera sencilla y fácil de la disolución de extracto de células que contiene contaminantes en grandes cantidades. En el caso de reacciones químicas tales como química combinatoria, el método de la presente invención se aplica a la etapa de separar/purificar el producto sintetizado por la reacción química.

Entre los diversos métodos, el método para recoger las partículas magnéticas de la presente invención se aplica a la separación de B/F de manera particularmente preferible en inmunoensayos.

3. Inmunoensayo de la presente invención

El inmunoensayo de la presente invención se presenta usando el material magnético mencionado anteriormente para recoger las partículas magnéticas en la separación de B/F.

Más particularmente, por ejemplo, en un método que incluye: (a) una primera etapa de reacción de añadir, a una muestra de un paciente, partículas magnéticas que portan en ellas una primera sustancia que puede unirse específicamente a una sustancia que va a someterse a prueba contenida en la muestra para producir una reacción; (b) una primera etapa de separación de separar un primer producto de reacción formado en la primera etapa de reacción del sistema de reacción; (c) una segunda etapa de reacción de añadir una segunda sustancia que puede unirse específicamente al primer producto de reacción separado para producir una reacción para formar un segundo producto de reacción en el sistema de reacción; (d) una segunda etapa de separación de separar el segundo producto de reacción formado en la segunda etapa de reacción del sistema de reacción; y (e) una etapa de medición de medir la cantidad del segundo producto de reacción separado, la separación (separación de B/F) de los productos de reacción primero y segundo del sistema de reacción en las etapas (b) y (d) anterior se realiza mediante el método para recoger partículas magnéticas usando el material magnético de la presente invención. El inmunoensayo también puede realizarse usando un aparato de inmunoensayo automático.

Las sustancias primera y segunda son un antígeno y un anticuerpo y el producto de reacción significa un complejo inmunitario. La muestra contiene una sustancia que va a someterse a prueba que reacciona específicamente con la primera sustancia, por ejemplo, una muestra biológica, una muestra del entorno, una muestra de alimento, etc. Las muestras biológicas son muestras obtenidas de organismos vivos, por ejemplo seres humanos, preferiblemente muestras obtenidas de pacientes. Las muestras obtenidas de pacientes pueden ser cualquier muestra de los pacientes que requieren mediciones o análisis, por ejemplo, fluidos corporales tales como sangre, suero sanguíneo, plasma, orina y saliva, diversas células, tejidos o disoluciones extraídas de los mismos. Las muestras del entorno incluyen agua de ríos, mares, lagos, o similar y suelos etc.

La medición de la cantidad del producto de reacción puede realizarse mediante un método conocido *per se* y se usa comúnmente. Por ejemplo, es preferible marcar la primera sustancia o la segunda sustancia con una sustancia de marcaje y medir la cantidad de la sustancia de marcaje contenida en el producto de reacción separado del sistema

de reacción. Más particularmente, en el caso del inmunoensayo enzimático, el ensayo puede realizarse haciendo reaccionar una enzima que marcó un anticuerpo secundario con su sustrato y medir la cantidad del producto de reacción mediante una técnica óptica o similar. En el caso del inmunoensayo quimioluminiscente, se mide la cantidad de luminiscencia producida por un sistema de reacción luminiscente. En el caso de un método de anticuerpo fluorescente, se mide la intensidad de fluorescencia debida a la sustancia fluorescente. En el radioinmunoensayo, se mide la cantidad de radiactividad debida a la sustancia radiactiva. Los ejemplos de la sustancia de marcaje incluyen enzimas tales como peroxidasa, fosfatasa alcalina, β -D-galactosidasa y glucosa oxidasa; sustancias fluorescentes tales como isotiocianato de fluoresceína y quelatos metálicos de tierras raras; radioisótopos tales como ^3H , ^{14}C y ^{125}I ; y sustancias quimioluminiscentes. Las enzimas y sustancias quimioluminiscentes no pueden producir señales que pueden medirse por sí mismas y por tanto, se seleccionan y se usan sustratos adecuados que les corresponden. Además, pueden usarse biotina, avidina, etc. en estas reacciones.

Por ejemplo, se usan enzimas en el inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (CLEIA). Los ejemplos de tales enzimas incluyen fosfatasa alcalina, peroxidasa, galactosidasa y glucosa oxidasa. Los sustratos que pueden usarse para ellas son los correspondientes a las mismas. Por ejemplo, adamantilmetoxifenilfosforildioxetano (AMPPD) y 2-cloro-5-(4-metoxiespiro{1,2-dioxetano-3,2'-(5'-cloro)-tríciclo[3,3,1, 3,7]decan}-4-il)-1-fenilfosfato de disodio (nombre comercial "CDP-STAR": fabricado por Tropix), que son sustratos quimioluminiscentes derivados de 1,2-dioxetano, pueden usarse para fosfatasa alcalina, luminol/peróxido pueden usarse para peroxidasa, y adamantilmetoxifenil- β -D-galactosildioxetano (AMPGD) puede usarse para galactosidasa. En el inmunoensayo al que se aplica el método de la presente invención, se usa preferiblemente el método de detección que usa el inmunoensayo enzimático quimioluminiscente y se usa fosfatasa alcalina de manera particularmente preferible como la sustancia de marcaje y se usan de manera particularmente preferible sustratos quimioluminiscentes derivados de 1,2-dioxetano (por ejemplo, "CDP-STAR" fabricado por Tropix) como sustratos. Además, se usa preferiblemente un método fluorescente.

A continuación en el presente documento, la presente invención se explicará en más detalle tomando un ejemplo del caso de incorporar el material magnético de la presente invención en un aparato de inmunoensayo automático y realizar el inmunoensayo usando partículas magnéticas. Tomando un ejemplo de un aparato para realizar inmunoensayo usando partículas magnéticas, aparato que está dotado de una punta como un conducto de succión de líquido de un dispensador y que puede realizar la medición sencilla usando un cartucho de medición automática y similar conectado con una pluralidad de reactores (véase, por ejemplo, el documento JP 3115501 B), el método de la presente invención se explica etapa tras etapa.

(1) Se incorpora el material magnético de la presente invención como material magnético para recoger partículas magnéticas en un aparato de inmunoensayo automático que puede realizar inmunoensayo usando las partículas magnéticas.

(2) Se prepara una disolución que contiene partículas magnéticas que portan en ellas un anticuerpo cuando la sustancia de prueba objetivo es un antígeno o un antígeno cuando la sustancia de prueba objetivo es un anticuerpo.

(3) Se llena una disolución de muestra obtenida de un paciente, una disolución de dilución de muestra, una disolución que contiene partículas magnéticas, una disolución de lavado para la separación de B/F, una disolución de anticuerpo marcado, una disolución de sustrato, etc. en el cartucho de medición automática y se fija un cartucho en el aparato.

(4) Se hace funcionar el aparato en el que se incorpora el material magnético de la presente invención en (1) descrito anteriormente para realizar mediciones en primer lugar mezclando una disolución de muestra ajustada a un factor de dilución arbitrario usando una disolución de dilución, conteniendo la disolución las partículas magnéticas para realizar una primera reacción antígeno-anticuerpo.

(5) Entonces, se realiza la separación de B/F para eliminar las sustancias sin reaccionar. En primer lugar, se succiona la mezcla de reacción a través de una punta fijada como un conducto de succión de líquido, al mismo tiempo, el material magnético de la presente invención se pone en contacto con la superficie de pared exterior de la punta. Preferiblemente, la succión y la descarga de la disolución se repiten varias veces en un estado en el que el material magnético todavía está en contacto para adsorber y sujetar las partículas magnéticas suficientemente sobre la superficie de pared interior del sitio de fuerza magnética. A continuación, se descarga la disolución en un estado en el que las partículas magnéticas se adsorben y se sujetan sobre la superficie de pared interior de la punta y entonces se succiona y se descarga la disolución de lavado para la separación de B/F llena en un reactor separado para realizar el lavado.

(6) Tras liberar el material magnético de la presente invención de la superficie de pared exterior de la punta para eliminar la influencia de la fuerza magnética, se succiona y se descarga la disolución de anticuerpo marcado, por ejemplo, disolución de anticuerpo secundario marcado con fosfatasa alcalina (ALP) para dispersar las partículas magnéticas adsorbidas y sujetas sobre la superficie de pared interior de la punta en (5) descrito anteriormente, y para permitir que se una a la sustancia de prueba específicamente para realizar una segunda reacción antígeno-anticuerpo para producir un complejo inmunitario.

(7) Se realiza una segunda separación de B/F de la misma manera que en (5) descrito anteriormente para eliminar y lavar el anticuerpo marcado sin reaccionar (anticuerpo secundario marcado con ALP).

(8) Se mide la cantidad de la sustancia de marcaje contenida en el complejo inmunitario producido en (6) descrito anteriormente. Cuando se usa ALP como la sustancia de marcaje, se hace reaccionar una sustancia quimioluminiscente (por ejemplo, "CDP-STAR", fabricado por Tropix) derivada de 1,2-dioxetano con ALP y se mide la señal generada usando un fotomultiplicador. Basándose en los valores medidos, puede obtenerse la cantidad de sustancia de prueba contenida en la muestra del paciente.

4. Aparato para usar material magnético de la presente invención

El material magnético de la presente invención y el método para recoger partículas magnéticas usando el material magnético son muy útiles para su uso en un aparato de medición puesto que el material magnético tiene la propiedad de generar una fuerza magnética fuerte en comparación con un material magnético de imán único que tiene el mismo tamaño en un sitio específico de fuerza magnética. En particular, el material magnético de la presente invención puede usarse de manera particularmente ventajosa en un aparato que se requiere que esté dotado de un material magnético más pequeño y fuerte, tal como un aparato en el que el tamaño (tamaño exterior) del material magnético está limitado en un grado determinado, un aparato que se requiere que sea de tamaño reducido o similar.

El material magnético y el aparato que ha incorporado en el mismo el material magnético de la presente invención puede ser cualquier aparato para realizar diversas mediciones, análisis, reacciones, etc. usando partículas magnéticas tal como se describió anteriormente. Entre ellos, es particularmente preferible un aparato de inmunoensayo automático que tiene incorporado en el mismo el material magnético de la presente invención. Puede usarse un aparato para inmunoensayo total o parcialmente automatizado y conocido *per se* o una combinación de tales aparatos de inmunoensayo automáticos como aparato de inmunoensayo automático. Es particularmente preferible que en tales aparatos el material magnético de la presente invención se use dispuesto en un conducto de succión de líquido de un dispensador que succiona el líquido de un recipiente y que descarga el líquido.

Es decir, según la presente invención, se proporciona un aparato que incluye un dispensador que tiene un conducto de succión de líquido que succiona un líquido de un recipiente y que descarga el líquido, y un material magnético proporcionado en el conducto de succión de líquido, y que está configurado para controlarse de tal manera que partículas magnéticas en el líquido succionado por el conducto de succión de líquido se adsorben y se sujetan sobre una superficie de pared interior del conducto de succión de líquido mediante una fuerza magnética del material magnético, y luego se hace que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética del material magnético para liberar las partículas magnéticas del conducto de succión de líquido y que se descarguen junto con el líquido hacia fuera del conducto de succión de líquido, y en el que el material magnético es tal como se define en la reivindicación 1 adjunta.

El aparato dotado de un conducto de succión de líquido realiza la recogida de partículas magnéticas del líquido que contiene las partículas magnéticas no en un recipiente que contiene el líquido, sino en el conducto de succión de líquido del dispensador que succiona y que descarga el líquido y se caracteriza porque las partículas magnéticas se adsorben y se sujetan de manera sustancialmente completa en un tiempo corto utilizando la fuerza magnética del material magnético dispuesto en el lado del sistema de succión y descarga de una punta usada como conducto de succión de líquido para conseguir de ese modo una drástica mejora en la precisión de medición. Cuando se usa una punta desechable o similar como conducto de succión de líquido, puede prevenirse completamente la contaminación cruzada entre los reactivos o entre las muestras, y el aparato puede manejar fácilmente diversos métodos de prueba en diversas etapas de reacción y etapas de procedimiento, permitiendo de ese modo mediciones de múltiples elementos. Además, el aparato de la presente invención tiene efectos transcendentales de que el aparato que usa las partículas magnéticas puede fabricarse simplificado, fácil de manejar y versátil y puede producirse a bajo coste. Sin embargo, en tales aparatos, puesto que el sitio en el que actúa el material magnético no es un recipiente que contiene un líquido sino un conducto de succión de líquido, el líquido es fluido, por lo que es esencial atrapar las partículas magnéticas firmemente dentro de un intervalo pequeño. Mediante el uso del material magnético de la presente invención, puede resolverse la deficiencia en la fuerza magnética y puede lograrse una alta tasa de recuperación, dando como resultado una mejora adicional en la precisión de medición.

Al menos uno del material magnético mencionado anteriormente puede disponerse en el conducto de succión de líquido según la abertura del conducto de succión de líquido, la cantidad y el tamaño de las partículas magnéticas adsorbidas y sujetas, etc. Pueden concebirse diversas realizaciones de disposición. Por ejemplo, los materiales magnéticos pueden disponerse a lo largo del sentido del flujo del líquido en el conducto de succión de líquido, o en un estado de orientación intercalándose el conducto de succión de líquido, o radialmente.

Además, en la presente invención, el material magnético puede disponerse en el exterior del conducto de succión de líquido mencionado anteriormente o unirse al conducto de succión de líquido en contacto directo. Cuando el material magnético se dispone fuera del conducto de succión de líquido, el material magnético está constituido por un imán permanente y el material magnético se coloca cerca del conducto de succión de líquido, por lo que las partículas

magnéticas en el líquido succionado en el conducto de succión de líquido pueden adsorberse y sujetarse sobre la superficie de pared interior del conducto de succión de líquido. Mediante la liberación del material magnético del conducto de succión de líquido, las partículas magnéticas pueden liberarse del conducto de succión de líquido y descargarse junto con el líquido al exterior del conducto de succión de líquido.

Cuando se usa una punta como conducto de succión de líquido, es deseable que la punta se aplique repetidamente sólo a la misma muestra en la etapa en la que se trata la muestra según el procedimiento basado en el ensayo predeterminado. El número de puntas usadas para la misma muestra puede ser de al menos uno y puede usarse el número de puntas necesarias para las etapas de reacción y procedimiento en diversas mediciones. Cuando el conducto de succión de líquido se forma en un sistema de boquilla al que no se unen o del que no se desprenden las puntas, se lavan el interior y el exterior de la parte de contacto con el líquido con las que entra en contacto el líquido en el conducto de succión de líquido mediante operaciones de succión y descarga en un grado tal que puede evitarse la aparición de contaminación cruzada para realizar la separación de las partículas magnéticas del líquido, agitando y lavando las partículas magnéticas.

Es decir, la separación del líquido y partículas magnéticas en este aparato se realiza descargando sólo el líquido mientras que las partículas magnéticas se adsorben y se sujetan por el material magnético. Entonces, la punta mencionada anteriormente que ha adsorbido y sujetado las partículas magnéticas sobre la superficie de pared interior de la misma mediante la fuerza magnética del material magnético se inserta en un líquido contenido en otro recipiente y se hace que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética del material magnético, repitiendo por tanto las operaciones de succionar y descargar la disolución. La agitación y el lavado cuando la punta está unida al conducto de succión de líquido pueden realizarse transfiriendo la punta que ha adsorbido y sujetado las partículas magnéticas sobre la superficie de pared interior a la posición de agitación/lavado y repitiendo las operaciones de succionar y descargar del líquido. En este caso, la agitación/lavado pueden realizarse mientras se adsorben y se sujetan las partículas magnéticas sobre la superficie de pared interior de la punta o realizando la succión/descarga del líquido al menos una vez en un estado en el que no está presente influencia de la fuerza magnética del material magnético.

En el aparato mencionado anteriormente, preferiblemente se usa un cartucho de medición automática formado para tener una pluralidad de partes de envase (pocillos) (véase, por ejemplo, el documento WO 01/84152). Mediante la dispensación de la muestra, reactivos, etc. que son necesarios para la reacción con antelación y el envasado de los mismos, y mediante la configuración del cartucho de tal manera que las partículas magnéticas adsorbidas y sujetas sobre la superficie de pared interior del conducto de succión de líquido mediante la fuerza magnética del material magnético pueden transferirse tal como están en el siguiente pocillo, pueden realizarse mediciones rápidas y fáciles, conduciendo por tanto a una aparición reducida de contaminación y errores. En este caso, cada disolución que va a dispensarse puede dispensarse en los pocillos del cartucho con antelación de la misma manera que los reactivos mencionados anteriormente y similares, o puede proporcionarse de una botella o similar dispuesta por separado en el aparato. Además, la muestra puede dispensarse de, por ejemplo, el envase original para la muestra tras determinar directamente la cantidad de la misma. El número de pocillos en el cartucho puede determinarse en un número necesario dependiendo de los números de las muestras, los reactivos, las disoluciones y similares. Los pocillos pueden disponerse en una única fila o en una pluralidad de filas en forma de una placa de microtitulación. Mediante la formación de los pocillos de esta forma, pueden medirse múltiples elementos simultáneamente y puede realizarse una medición de múltiples muestras.

Además, un aparato de medición automática de este tipo permite realizar medición y gestión, análisis, etc. de los resultados de la medición más rápida y fácilmente mediante el uso de una tecnología de gestión de información tal como un código de barras o tarjetas CI. Por ejemplo, en un aparato que está dotado de un código de barras en el cartucho de medición automática y tiene la función de reconocer automáticamente el código de barras, pueden reconocerse automáticamente los datos del paciente del que se adquiere la muestra y los elementos de medición etc. y pueden realizarse mediciones sin introducir/ajustar de nuevo condiciones de medición tales como temperatura de reacción, condiciones fotométricas. Los resultados obtenidos de las mediciones se agrupan eficazmente y se gestionan basándose en los datos leídos por el código de barras. Mediante el uso en combinación de una tarjeta CI en la que se introducen curvas de calibración y valores de referencia para la valoración por elementos de medición respectivos con antelación, pueden analizarse y valorarse los resultados agrupados/gestionados de las mediciones.

El aparato mencionado anteriormente de la presente invención incluye un material magnético que es de tamaño más pequeño y de fuerza magnética más fuerte que un material magnético de imán único, por lo que el aparato puede ser de tamaño reducido y de peso reducido y realizar el inmunoensayo de manera estable y con alta precisión. Un aparato de inmunoensayo automático pequeño de este tipo puede usarse de manera particularmente preferible en el campo de, por ejemplo, pruebas en el punto de atención (POCT) que están altamente demandadas como pruebas de urgencia y pruebas que pueden realizarse fácilmente por médicos y enfermeros.

Ejemplos

A continuación en el presente documento, se explicará la presente invención mediante ejemplos. Sin embargo, la presente invención no debe considerarse limitada a estos ejemplos.

Ejemplo 1. Preparación de material magnético de la presente invención

Usando imanes disponibles comercialmente (fabricados por Magna Co., Ltd), se proporcionaron un material magnético de imán único y el material magnético de la presente invención que tiene dispuestos una pluralidad de imanes en contacto unos con otros en paralelo a un sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de imanes adyacentes se invierten alternativamente.

Se proporcionó el material magnético de imán único, "material magnético A", compuesto de un único imán que tiene un tamaño de 15 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura (figura 1A).

Entonces, se preparó el "material magnético B" compuesto de dos imanes que tienen cada uno un tamaño de 7,5 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura combinados en contacto uno con otro en paralelo a un sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de los imanes adyacentes se invierten alternativamente (figura 1B: 15 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura), el "material magnético C" compuesto de tres imanes que tienen cada un tamaño de 5 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura combinados en contacto unos con otros en paralelo a un sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de los imanes adyacentes se invierten alternativamente (figura 1C: 15 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura). Además, se preparó el "material magnético D", para referencia y no dentro del alcance de la invención, compuesto de cinco imanes que tienen cada un tamaño de 3 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura combinados en contacto unos con otros en paralelo a un sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de los imanes adyacentes se invierten alternativamente (figura 1D: 15 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura). Se unieron los imanes entre sí mediante el poder de sujeción entre los imanes o con un adhesivo.

Ejemplo 2. Pruebas de tasa de recuperación de partículas magnéticas usando el material magnético de la presente invención

Usando los materiales magnéticos preparados en el ejemplo 1, se llevaron a cabo pruebas de recuperación de partículas magnéticas tal como sigue.

(1) Equipo y reactivos, etc., usados

En las pruebas, se usó un aparato de extracción de ácido nucleico SX-6G fabricado por Precision System Science Corporation. Este aparato se diseñó para realizar extracción de ácidos nucleicos usando partículas magnéticas e incorporó en el mismo un material magnético usado en la etapa de separación de B/F. Este material magnético se sustituyó con cada uno de los materiales magnéticos preparados en el ejemplo 1 y se realizaron las pruebas de recuperación de partículas magnéticas. La figura 2 muestra el estado en que se fijaron el material magnético (1) y la punta (2) en el aparato.

La punta para realizar succión/descarga, fijada en el aparato era una punta desechable (2) compuesta por polipropileno y tenía un diámetro interior de aproximadamente 2,25 mm y un grosor de pared de aproximadamente 0,75 mm en el sitio en que se recogen las partículas magnéticas (3) (sitio de fuerza magnética). Se usó un cartucho de medición automática que tenía ocho recipientes conectados al mismo como cartucho de medición automática.

Las disoluciones que contenían partículas magnéticas usadas eran tres tipos de disoluciones disponibles comercialmente que contenían partículas magnéticas, es decir, una disolución que contenía partículas magnéticas que portan en ellas el antígeno de VLTH-1 (a continuación en el presente documento, denominado también "reactivo de partículas magnéticas con VLTH-1": Lumipulse HTLV-1, fabricado por FUJIREBIO), una disolución que contenía partículas magnéticas que portan en ellas antígeno de TP-N (a continuación en el presente documento, denominado también "reactivo de partículas magnéticas con TP-N": Lumipulse II TP-N, fabricado por FUJIREBIO), y una disolución que contenía partículas magnéticas que no portan antígeno en ellas (RP-M1: fabricadas por Rohne Poulenc). Se usó una disolución de lavado de B/F disponible comercialmente (disolución de lavado Lumipulse, n.º de lote JJ2080, fabricado por FUJIREBIO) como disolución de lavado para separación de B/F.

La recuperación de partículas magnéticas se evaluó mediante absorbancia. La medición de la absorbancia de las disoluciones se realizó usando un espectrofotómetro Multiskan MS (fabricado por Labsystem Corporation).

(2) Método de medición

i) Se llenaron las disoluciones en el cartucho de medición automática (figura 3) tal como sigue:

Recipiente 1: disolución de lavado de B/F (100 µl)

Recipiente 2: disolución que contiene partículas magnéticas (150 µl)

Recipiente 3: disolución de lavado de B/F (500 µl)

Recipiente 4: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 5: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 6: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 7: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 5 Recipiente 8: disolución de lavado de B/F (200 µl)

ii) Se fijó el cartucho lleno con la disolución en i) anterior en SX-6G y se realizaron experimentos según las etapas 1 a 27 a continuación.

10 (Etapa 1) Succionar 100 µl de la disolución de muestra del recipiente 1 y descargar la disolución de muestra en el recipiente 2.

(Etapa 2) Agitar y mezclar la disolución mediante succión y descarga de la disolución en el recipiente 2.

15 (Etapa 3) Realizar la separación de B/F en el recipiente 2.

(Etapa 4) Mover la punta al recipiente 3 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

20 (Etapa 5) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 3.

(Etapa 6) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 3.

25 (Etapa 7) Realizar la separación de B/F en el recipiente 3.

(Etapa 8) Mover la punta al recipiente 4 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapa 9) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 4.

30 (Etapa 10) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 4.

(Etapa 11) Realizar la separación de B/F en el recipiente 4.

35 (Etapa 12) Mover la punta al recipiente 5 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapa 13) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 5.

40 (Etapa 14) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 5.

(Etapa 15) Realizar la separación de B/F en el recipiente 5.

45 (Etapa 16) Mover la punta al recipiente 6 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapa 17) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 6.

50 (Etapa 18) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 6.

(Etapa 19) Realizar la separación de B/F en el recipiente 6.

(Etapa 20) Mover la punta al recipiente 7 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

55 (Etapa 21) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 7.

(Etapa 22) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 7.

60 (Etapa 23) Realizar la separación de B/F en el recipiente 7.

(Etapa 24) Mover la punta al recipiente 8 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

65 (Etapa 25) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 8.

(Etapa 26) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 8.

(Etapa 27) Medir la disolución dispersa en el recipiente 8 usando un espectrofotómetro.

En las etapas mencionadas anteriormente, "eliminar el material magnético de la punta" significa liberar el material magnético que ha entrado en contacto con la punta para eliminar la influencia de la fuerza magnética ejercida sobre la misma, descargando de ese modo las partículas magnéticas adsorbidas y sujetas sobre la superficie interior de la punta en el interior del recipiente.

En las etapas mencionadas anteriormente, "separación de B/F" incluye cinco etapas:

a) fijar un material magnético a una punta (poner en contacto el material magnético con la punta),

b) succión de B/F 1: succionar una disolución para que pase al sitio de fuerza magnética: velocidad de flujo A [$\mu\text{l/s}$],

c) descarga de B/F 1: descargar una disolución para que pase al sitio de fuerza magnética: velocidad de flujo B [$\mu\text{l/s}$],

d) succión de B/F 2: succionar una disolución para que pase al sitio de fuerza magnética: velocidad de flujo C [$\mu\text{l/s}$], y

e) descarga de B/F 2: descargar una disolución para que pase al sitio de fuerza magnética: velocidad de flujo D [$\mu\text{l/s}$].

Es decir, la disolución se succionó y se descargó dos veces en un estado en que el material magnético estaba en contacto con la punta (en un estado en que las partículas magnéticas se adsorbían y se sujetaban sobre la superficie de pared interior de la punta). La velocidad de flujo y la duración de la succión/descarga se fijaron basándose en el tiempo total para realizar la separación de B/F (tiempo en el que las partículas magnéticas se adsorbían y se sujetaban (time de recogida), tal como sigue:

<En el caso de tiempo de recogida de 80 s>

succión de B/F 1: velocidad de flujo A = 32 $\mu\text{l/s}$, duración = 20 s

descarga de B/F 1: velocidad de flujo B = 32 $\mu\text{l/s}$, duración = 20 s

succión de B/F 2: velocidad de flujo C = 32 $\mu\text{l/s}$, duración = 20 s

descarga de B/F 2: velocidad de flujo D = 32 $\mu\text{l/s}$, duración = 20 s

<En el caso de tiempo de recogida de 160 s>

succión de B/F 1: velocidad de flujo A = 16 $\mu\text{l/s}$, duración = 40 s

descarga de B/F 1: velocidad de flujo B = 16 $\mu\text{l/s}$, duración = 40 s

succión de B/F 2: velocidad de flujo C = 16 $\mu\text{l/s}$, duración = 40 s

descarga de B/F 2: velocidad de flujo D = 16 $\mu\text{l/s}$, duración = 40 s

<En el caso de tiempo de recogida de 240 s>

succión de B/F 1: velocidad de flujo A = 10,7 $\mu\text{l/s}$, duración = 60 s

descarga de B/F 1: velocidad de flujo B = 10,7 $\mu\text{l/s}$, duración = 60 s

succión de B/F 2: velocidad de flujo C = 10,7 $\mu\text{l/s}$, duración = 60 s

descarga de B/F 2: velocidad de flujo D = 10,7 $\mu\text{l/s}$, duración = 60 s

iii) Para el reactivo de partículas magnéticas con VLTH-1, se realizaron experimentos usando los materiales magnéticos A y B y fijando tres tipos de tiempo en los que las partículas magnéticas se adsorbían y se sujetaban (tiempo de recogida) a 80 s, 160 s y 240 s. Para el reactivo de partículas magnéticas con TP-N, las mediciones se realizaron usando los materiales magnéticos A, B y C y fijando tres tiempos de recogida de 80 s, 160 s y 240 s, respectivamente. Para las partículas magnéticas que no portan en ellas antígeno (RP-M1: fabricadas por Rohne Poulenc) se midieron usando los materiales magnéticos A, B y D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, y fijando tres tiempos de recogida de 80 s, 160 s y 240 s, respectivamente.

La medición de la absorbancia se realizó a una longitud de onda de medición de 490 nm.

3) Análisis y resultados

Usando los valores medidos obtenidos en (2) anterior, se obtuvo la tasa de recuperación de las partículas magnéticas según la siguiente ecuación.

Tasa de recuperación de partículas magnéticas (%) = $((B-b)/(A-a) \times (200/150) \times 100$

En la ecuación anterior, "A" es una absorbancia de la disolución que contiene las partículas magnéticas obtenida con antelación antes de la medición, "a" es una absorbancia del dispersante obtenida con antelación antes de la medición, "B" es una absorbancia de la disolución que contiene las partículas magnéticas obtenida como resultado de la medición, y "b" es una absorbancia de la disolución de lavado de B/F que sirve como dispersante para las partículas magnéticas en el recipiente 8. Como valor a, se usó la absorbancia obtenida aislando por separado dos tipos de las disoluciones que contienen las partículas magnéticas descritas en (2) anteriormente, centrifugando las disoluciones para recuperar sólo el dispersante como sobrenadante y midiendo el sobrenadante. El "(200/150)" es una corrección de volumen. Es decir, la cantidad de la disolución en la que estaban contenidas primero las partículas magnéticas es 150 μ l (recipiente 2), de la que se recuperaron las partículas magnéticas por la fuerza magnética, y finalmente se dispersaron en 200 μ l de la disolución (recipiente 8) y se midió la absorbancia. A partir de esto, se multiplicó la absorbancia obtenida por una razón de cantidad de líquido de 200/150 para corregir la cantidad del líquido, obteniendo por tanto la tasa de recuperación.

Los resultados de las mediciones usando el reactivo de partículas magnéticas con VLTH-1 se muestran en la tabla 1 y los resultados en forma de gráfico se ilustran en la figura 4. Los resultados de las mediciones usando el reactivo de partículas magnéticas con TP-N se muestran en la tabla 2 y los resultados en forma de gráfico se ilustran en la figura 5. Los resultados de la medición usando las partículas magnéticas que no portan en ellas antígeno (RP-M1: fabricadas por Rohne Poulenc) se muestran en la tabla 3 y los resultados en forma de gráfico se ilustran en la figura 6.

Tabla 1

Material magnético	Tiempo de recogida [s]		
	80	160	240
A	54,0%	71,5%	78,6%
B	62,9%	83,4%	90,7%

Tabla 2

Material magnético	Tiempo de recogida [s]		
	80	160	240
A	61,8%	78,7%	88,5%
B	64,6%	84,4%	92,3%
C	71,0%	88,7%	97,9%

Tabla 3

Material magnético	Tiempo de recogida [s]		
	80	160	240
A	54,9%	72,2%	81,2%
B	61,4%	79,9%	87,2%
D*	41,6%	65,9%	76,0%

* Para referencia y no dentro del alcance de la invención.

Los resultados de los experimentos usando el reactivo de partículas magnéticas con VLTH-1 y el reactivo de partículas magnéticas con TP-N indican que mediante el uso de cualquier tipo de partículas magnéticas, los materiales magnéticos estratificados B y C podían recoger las partículas magnéticas de manera mucho más eficaz que el material magnético A que consiste en un único imán. Cuando se prolongó el tiempo de recogida, se obtuvieron tasas de recuperación superiores y se logró una tasa de recuperación alta del 90% o más a los 240 s.

Por otra parte, los experimentos usando partículas magnéticas que no portan en ellas antígeno indican que el material magnético D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, que consiste en cinco imanes estratificados mostró una eficacia de recogida de partículas magnéticas disminuida, que fue inferior a la de los materiales magnéticos A y B.

Ejemplo 3. Inmunoensayo usando el material magnético de la presente invención

Usando los materiales magnéticos preparados en el ejemplo 1 anterior, se realizó un inmunoensayo usando partículas magnéticas y se analizaron los resultados obtenidos.

(1) Equipo y reactivos, etc., usados

Se emplearon el aparato, el material magnético, la punta y el cartucho que fueron los mismos que los usados en el

ejemplo 2 anterior. Se usaron los materiales magnéticos A y C preparados en el ejemplo 1 como material magnético.

Se midieron muestras que contenían antígeno de HBs (n.º de lote NW3011, fabricado por FUJIREBIO, en dos concentraciones diferentes) usando partículas magnéticas que portan en ellas un anticuerpo anti-HBs (a continuación en el presente documento, denominado también “reactivo de partículas magnéticas con HBs-Ag”: Lumipulse II HBs-Ag, n.º de lote NC3022, fabricado por FUJIREBIO) como partículas magnéticas. Además, se midieron muestras que contenían un anticuerpo anti-VIH (n.º de lote CD0085, fabricado por FUJIREBIO) usando las partículas magnéticas que portan en ellas un antígeno de VIH (a continuación en el presente documento, denominado también “reactivo de partículas magnéticas con VIH”, Lumipulse ortho HIV-1/2, n.º de lote CD2104, fabricado por FUJIREBIO).

(2) Método de medición

i) Se llenaron las disoluciones en el cartucho de medición automática (figura 3) tal como sigue:

Recipiente 1: disolución de muestra (100 µl)
 Recipiente 2: disolución que contiene partículas magnéticas (150 µl)
 Recipiente 3: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 4: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 5: disolución de anticuerpo secundario marcado (ALP) (250 µl)
 Recipiente 6: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 7: disolución de lavado de B/F (500 µl)
 Recipiente 8: disolución de sustrato luminiscente (200 µl)

ii) Se fijó el cartucho lleno con la disolución en i) anterior en SX-6G y se realizaron mediciones según las etapas 1 a 27 a continuación. Se realizó la medición tres veces para cada muestra.

(Etapas 1) Succionar 100 µl de la disolución de muestra del recipiente 1 y descargar la disolución de muestra en el recipiente 2.

(Etapas 2) En el recipiente 2, agitar la disolución mediante succión y descarga y mezclar la disolución de muestra y la disolución que contiene las partículas magnéticas para realizar una primera reacción antígeno-anticuerpo.

(Etapas 3) Realizar la separación de B/F en el recipiente 2.

(Etapas 4) Mover la punta al recipiente 3 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapas 5) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 3.

(Etapas 6) Agitar la disolución mediante succión/descarga de la disolución en el recipiente 3 para dispersar las partículas magnéticas.

(Etapas 7) Realizar la separación de B/F en el recipiente 3.

(Etapas 8) Mover la punta al recipiente 4 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapas 9) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 4.

(Etapas 10) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 4.

(Etapas 11) Realizar la separación de B/F en el recipiente 4.

(Etapas 12) Mover la punta al recipiente 5 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapas 13) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 5.

(Etapas 14) En el recipiente 5, succionar y descargar la disolución de anticuerpo secundario marcado para dispersar los materiales magnéticos en un estado en el que las partículas magnéticas se adsorbían y sujetaban sobre la superficie de pared interior de la punta de modo que las partículas magnéticas se unen específicamente a la sustancia de prueba para realizar una segunda reacción antígeno-anticuerpo para generar un complejo inmunitario.

(Etapas 15) Realizar la separación de B/F en el recipiente 5.

(Etapas 16) Mover la punta al recipiente 6 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapa 17) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 6.

(Etapa 18) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 6.

(Etapa 19) Realizar la separación de B/F en el recipiente 6.

(Etapa 20) Mover la punta al recipiente 7 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapa 21) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 7.

(Etapa 22) Agitar la disolución mediante succión y descarga para dispersar las partículas magnéticas en el recipiente 7.

(Etapa 23) Realizar la separación de B/F en el recipiente 7.

(Etapa 24) Mover la punta al recipiente 8 recogiendo las partículas magnéticas en la punta.

(Etapa 25) Eliminar el material magnético de la punta en el recipiente 8.

(Etapa 26) Agitar la disolución mediante succión y descarga de la disolución de sustrato luminiscente para dispersar el material magnético en el recipiente 8.

(Etapa 27) Hacer reaccionar CDP-STAR (fabricado por Tropix) en ALP contenida en el complejo inmunitario generado en (Etapa 14) y medir la señal generada usando un fotomultiplicador.

(3) Análisis y resultados

A partir de los valores medidos (recuentos de luminiscencia (cps)) de tres series obtenidas en (2) anterior, se obtuvieron los valores promedio (prom.), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (cv).

Los resultados de las mediciones con el reactivo de partículas magnéticas con HBs-Ag se muestran en la tabla 4 y los resultados de las mediciones con el reactivo de partículas magnéticas con VIH se muestran en la tabla 5.

Tabla 4

	Material magnético A		Material magnético C	
	muestra 1	muestra 2	muestra 1	muestra 2
1	450.432	914.780	460.100	904.000
2	464.784	930.256	449.148	918.428
3	476.916	907.780	456.604	917.352
Prom.	464.044	917.605	455.284	913.260
DE	13.257,5	11.501,3	5.594,0	8.037,4
cv(%)	2,9%	1,3%	1,2%	0,9%

Tabla 5

	Material magnético A	Material magnético C
	muestra 1	muestra 2
1	437.252	451.740
2	467.888	463.520
3	505.796	468.128
Prom.	470.312	461.129
DE	34.336,2	8.451,5
cv(%)	7,3%	1,8%

Los resultados de los análisis indican que en los inmunoensayos que usan una cualquiera de las partículas magnéticas, el uso del material magnético C de la presente invención permitió mediciones mucho más estables que las mediciones con el material magnético de imán único A y mostró una alta reproducibilidad.

Ejemplo 4. Análisis de distribución de fuerza magnética sobre la superficie de polo del material magnético de la presente invención

En los ejemplos 1 a 3, se confirmaron los efectos del material magnético de la presente invención que tiene una

pluralidad de imanes estratificados. Por consiguiente, se realizó el análisis detallado adicional de la fuerza magnética en los materiales magnéticos A, B, C y D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, preparados en el ejemplo 1 anterior.

- 5 Se midió la fuerza magnética de cada material magnético usando un práctico gausímetro (MODELO 4048: fabricado por F. W. BELL) y una sonda de medición (tipo T-4048-001: fabricada por F. W. BELL). En primer lugar, tal como se muestra en la figura 7, se fijó verticalmente una parte de medición de una sonda (4) sobre una superficie de polo de un material magnético (5), que es un objetivo que va a medirse, a una distancia de 1 mm desde la superficie de polo magnético. Se midieron los materiales magnéticos A, B y C para determinar la fuerza magnética en puntos respectivos mientras se movía la sonda de medición en 2,5 mm de un extremo al otro extremo de la superficie de polo magnético. Se midió el material magnético D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, para determinar la fuerza magnética en puntos respectivos mientras se movía el material magnético en 1,5 mm de un extremo al otro extremo de la superficie de polo magnético.
- 10
- 15 Los resultados de las mediciones se muestran en la tabla 6 y la figura 8.

Tabla 6 Fuerza magnética
(Campo magnético estático: gauss)

posición en una superficie de polo magnético [mm]	A	B	C	D*
0	1027	661	683	255
1,5				113
2,5	532	233	223	
3				566
4,5				196
5	184	522	1371	
6				320
7,5	2,8	1679	34,4	6,3
9				272
10	154	523	1350	
10,5				225
12				542
12,5	561	219	290	
13,5				98
15	1042	686	635	266

- 20 * Para referencia y no dentro del alcance de la invención
- Como resultados de medición, la representación gráfica de las mediciones para determinar la fuerza magnética medida continuamente en las superficies de polo de los materiales magnéticos respectivos indica, tal como se muestra en la figura 8, que los materiales magnéticos tenían sus propios picos de fuerza magnética y número de picos. En el material magnético A, que es un material magnético de imán único, se observó una fuerza magnética fuerte sólo en el extremo del material magnético. Por otra parte, el material magnético B que tiene dos imanes estratificados, tenía un pico de fuerza magnética en una parte estratificada de los imanes que está presente en la superficie de polo del material magnético además de los picos en ambos extremos del material magnético y se midió una fuerza magnética fuerte de 1.000 gauss o más. El material magnético C que tiene tres imanes estratificados, tenía picos de fuerza magnética en dos partes estratificadas que están presentes en la superficie de polo del material magnético además de los picos en ambos extremos del material magnético y se midió una fuerza magnética fuerte de 1.000 gauss o más. Sin embargo, en el caso del material magnético D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, que tenía cinco imanes estratificados, tenía picos de fuerza magnética en cuatro partes estratificadas que están presentes en el centro del material magnético además de los dos picos en ambos extremos del material magnético y cada pico tiene una fuerza magnética baja de 600 gauss o menos, no mostrando por tanto formas de pico claras.
- 25
- 30
- 35

- Estos resultados demuestran que los materiales magnéticos de la presente invención tienen propiedades que muestran fuerza magnética fuerte no sólo en el/los extremo(s) del material magnético, sino también en partes estratificadas de los imanes. A partir de la falta de picos de fuerza magnética fuerte por encima de 600 gauss en el material magnético D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, y las formas pequeñas, no claras de los picos, se concibió que cuando un material magnético que tiene un tamaño exterior del orden de 15 mm en longitud longitudinal x 14 mm en longitud transversal x 4 mm en anchura, el uso de cinco o más imanes conduce a una fuerza magnética insuficiente. Puede determinarse el tamaño del material magnético de la presente invención para que tenga una configuración óptima teniendo en cuenta los resultados de tales mediciones como indicador. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos en los ejemplos 2 y 3. Es decir, los materiales magnéticos B
- 40
- 45

y C de la presente invención tienen al menos un pico de fuerza magnética en la superficie de polo magnético además de los picos en los extremos del material magnético, y la fuerza magnética del mismo es de hasta 1.000 gauss o más. Esto indica que los materiales magnéticos B y C tenían capacidad para recoger las partículas magnéticas de manera más eficaz que el material magnético A, que es un material magnético de imán único.

Por otra parte, el material magnético D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, tiene un pico de fuerza magnética en la superficie de polo magnético, pero el pico fuerza magnética es de 600 gauss o menos y es insuficiente. Cuando se usó el material magnético D, para referencia y no dentro del alcance de la invención, la tasa de recuperación de las partículas magnéticas disminuyó en comparación con la del material magnético A.

Los resultados obtenidos en el ejemplos 1 a 4 confirman dos características principales de los materiales magnéticos de la presente invención, (1) pueden generarse fuerzas magnéticas fuertes, no sólo en los extremos del material magnético, sino también en las partes estratificadas de los imanes, y (2) las líneas magnéticas se acumulan cerca de la superficie de polo magnético y la fuerza magnética puede ejercerse eficazmente sobre una punta o similar usado como conducto de succión de líquido. Por consiguiente, los materiales magnéticos son particularmente útiles para recoger las partículas magnéticas.

Aplicabilidad industrial

Mediante el uso del material magnético de la presente invención y el método para recoger las partículas magnéticas según la presente invención, puede realizarse la recogida de las partículas magnéticas con una precisión muy alta, de manera estable y a alta velocidad. Esto posibilita la realización de mediciones con una alta precisión incluso en inmunoensayos, etc. que requieren separación de B/F en una pluralidad de ocasiones. Además, la presente invención permite el tamaño reducido del material magnético, de modo que el aparato puede reducir su tamaño.

REIVINDICACIONES

1. Material magnético para recoger partículas magnéticas, que comprende una pluralidad de imanes que están dispuestos en contacto unos con otros en paralelo a un sentido de imantación de tal manera que los polos sur y norte de imanes adyacentes se invierten alternativamente, en el que el material magnético tiene al menos un pico de una fuerza magnética de 600 gauss o más en una superficie de polo magnético.
2. Método para recoger partículas magnéticas adsorbiendo y sujetando partículas magnéticas en un líquido sobre una superficie de pared mediante una fuerza magnética y luego hacer que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética para liberar las partículas magnéticas, que comprende la etapa de generar la fuerza magnética a partir de un material magnético para recoger las partículas magnéticas, en el que el material magnético es según la reivindicación 1.
3. Método según la reivindicación 2, en el que la superficie de pared es una superficie de pared interior de un conducto de succión de líquido de un dispensador que succiona un líquido de un recipiente y descarga el líquido.
4. Método según la reivindicación 2 ó 3, en el que las partículas magnéticas se usan para realizar un inmunoensayo.
5. Método de inmunoensayo para una sustancia que va a someterse a prueba que está presente en una muestra, que comprende:
 - (a) una primera etapa de reacción de añadir, a una muestra, partículas magnéticas que portan en ellas una primera sustancia que puede unirse específicamente a una sustancia que va a someterse a prueba contenida en la muestra para producir una reacción,
 - (b) una primera etapa de separación de separar un primer producto de reacción formado en la primera etapa de reacción del sistema de reacción,
 - (c) una segunda etapa de reacción de añadir una segunda sustancia que puede unirse específicamente al primer producto de reacción separado para producir una reacción para formar un segundo producto de reacción en el sistema de reacción,
 - (d) una segunda etapa de separación de separar el segundo producto de reacción formado en la segunda etapa de reacción del sistema de reacción, y
 - (e) una etapa de medición de medir una cantidad del segundo producto de reacción separado,
 en el que la separación de los productos de reacción primero y segundo del sistema de reacción se realiza usando un material magnético según la reivindicación 1.
6. Método según la reivindicación 5, en el que la medición de la cantidad del segundo producto de reacción se realiza mediante un método quimioluminiscente o un método fluorescente.
7. Aparato que comprende:
 - un dispensador que tiene un conducto de succión de líquido que succiona un líquido de un recipiente y descarga el líquido; y
 - un material magnético proporcionado en el conducto de succión de líquido,
 en el que el aparato está configurado para controlarse de tal manera que partículas magnéticas en el líquido succionado por el conducto de succión de líquido se adsorben y se sujetan sobre una superficie de pared interior del conducto de succión de líquido mediante una fuerza magnética del material magnético, y luego se hace que las partículas magnéticas no resulten afectadas por la fuerza magnética del material magnético para liberar las partículas magnéticas del conducto de succión de líquido y que se descarguen junto con el líquido hacia fuera del conducto de succión de líquido, y en el que el material magnético es según la reivindicación 1.

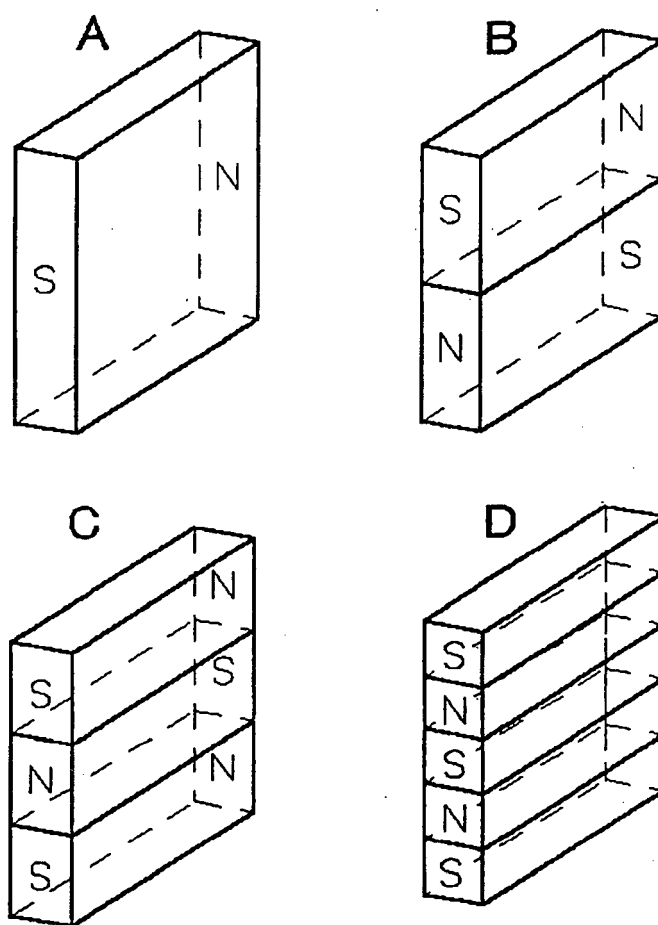


Fig. 1

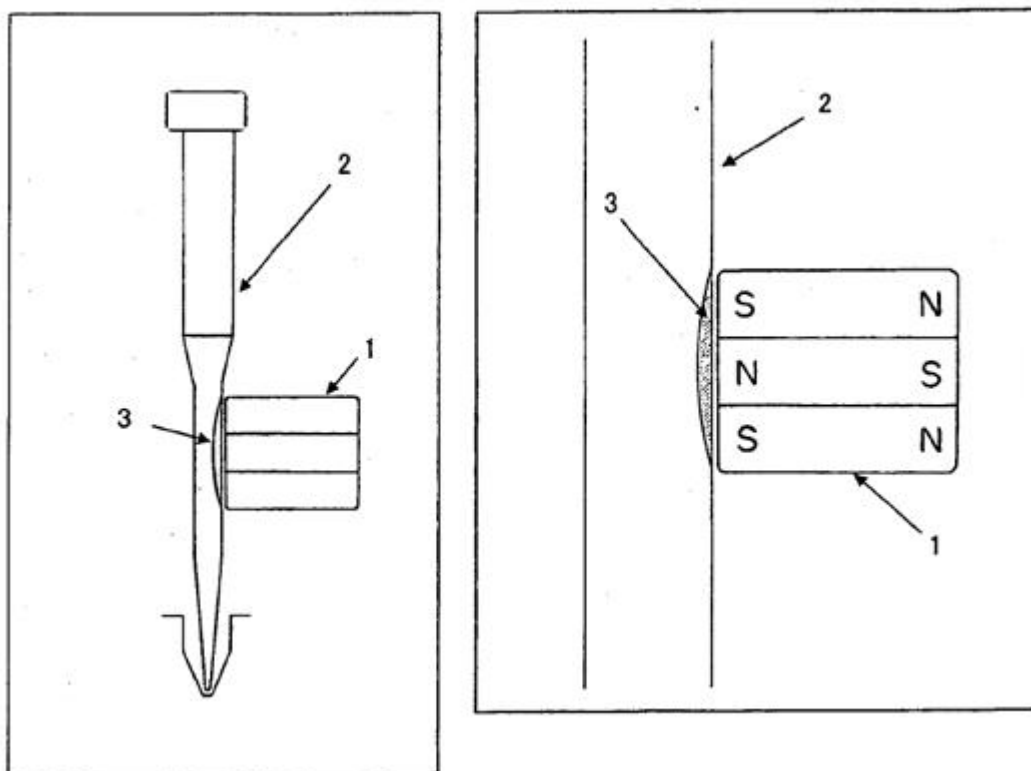


Fig. 2

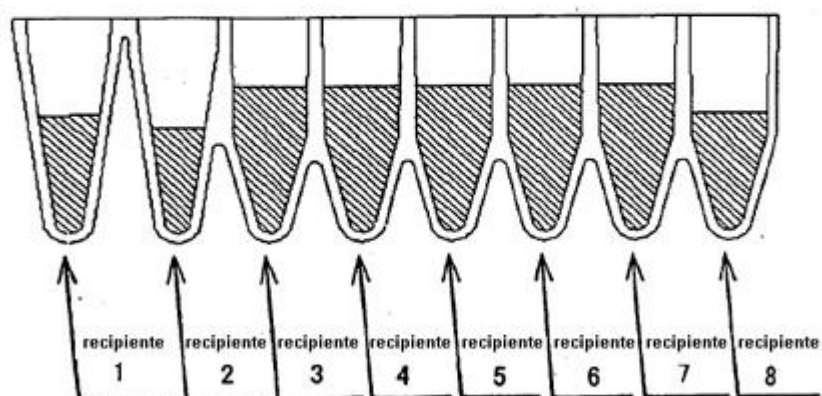


Fig. 3

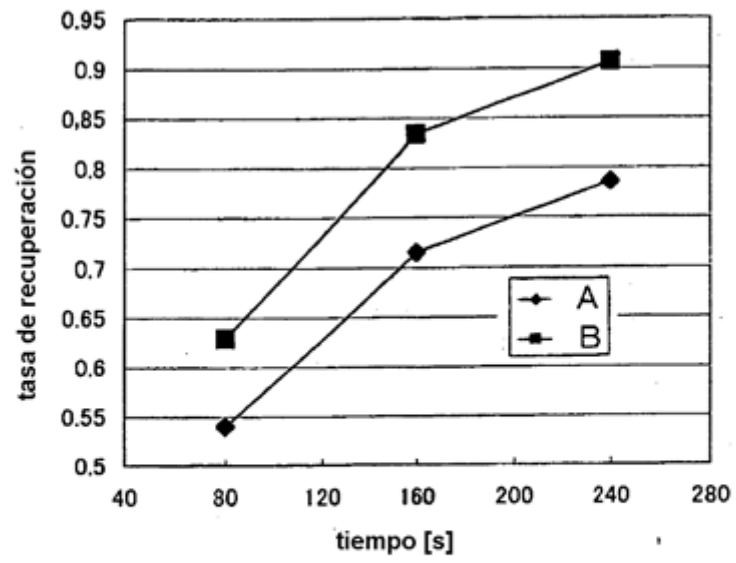


Fig. 4

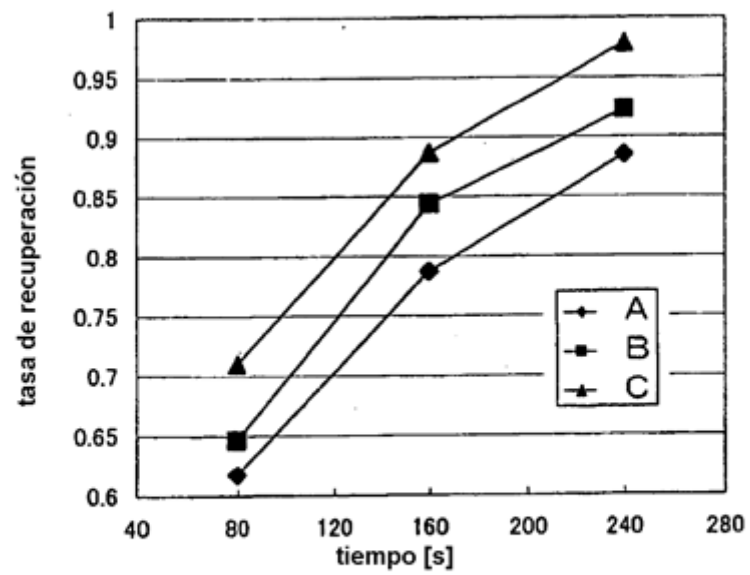


Fig. 5

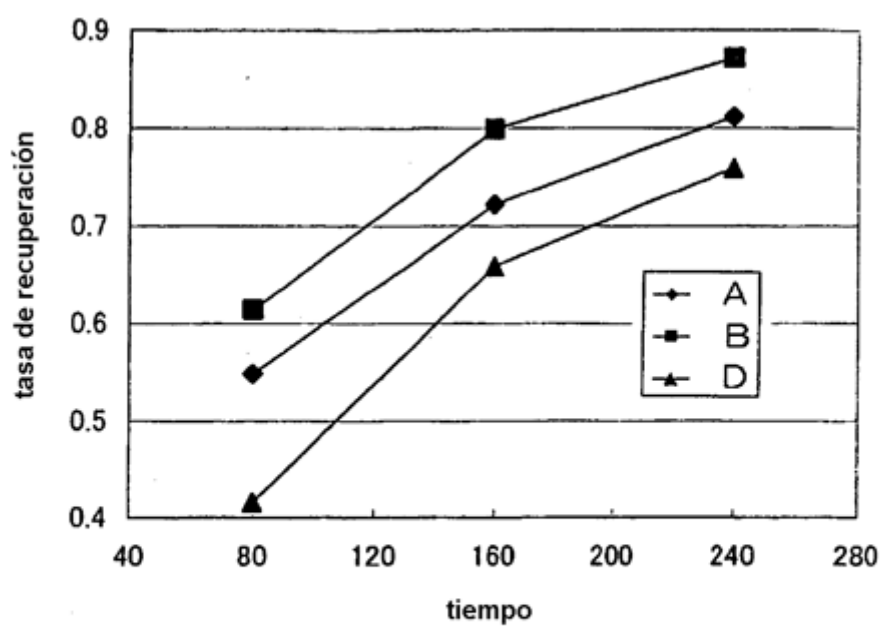


Fig. 6

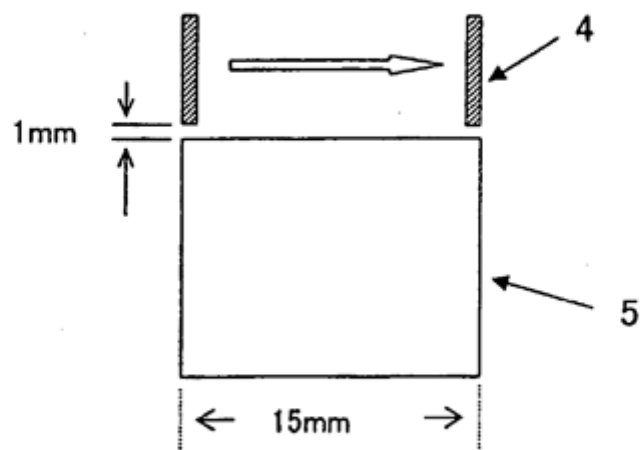


Fig. 7

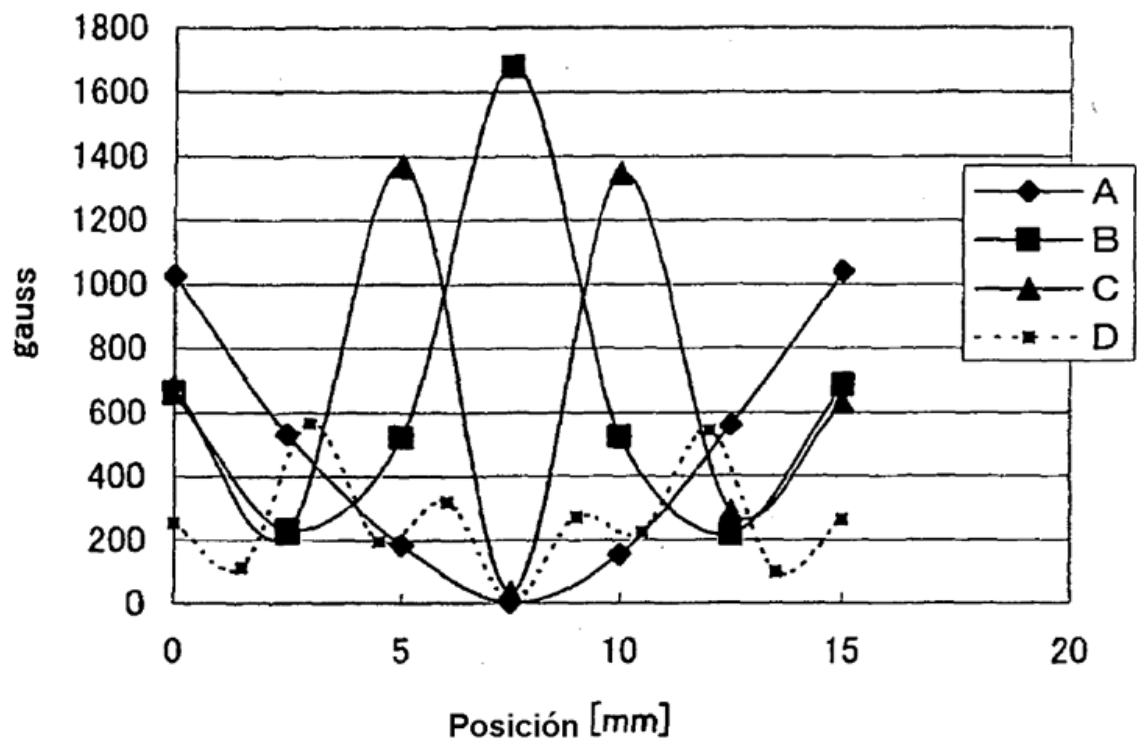


Fig. 8