

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 597**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B01L 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2009 E 09709694 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2015 EP 2254698**

54 Título: **Aparato móvil para el aislamiento de ácidos nucleicos**

30 Prioridad:

15.02.2008 DE 102008009920

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

20.08.2015

73 Titular/es:

**AJ INNUSCREEN GMBH (100.0%)
13125 Berlin, DE**

72 Inventor/es:

**HILLEBRAND, TIMO;
KNIPPSCHILD, CLAUS y
JASCHINSKY, BENJAMIN**

74 Agente/Representante:

ÁLVAREZ LÓPEZ, Sonia

ES 2 543 597 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

Aparato móvil para el aislamiento de ácidos nucleicos.

- 5 El objeto de la invención es un sistema de aparatos móvil, que comprende un aparato portátil y un instrumental de test para el aislamiento móvil de ácidos nucleicos.

Estado de la técnica

- 10 El examen de muestras biológicas relevantes en el diagnóstico, como suero, plasma, sangre, muestra con torunda o frotis de órganos para la comprobación de agentes infecciosos ha obtenido una enorme relevancia en los últimos años. Las infecciones víricas como VIH, VHC o VHB van en aumento a nivel mundial. Además, también van en aumento de nuevo las infecciones bacterianas, entre otros también como resultado del comienzo de los cambios climáticos. La aparición de nuevas enfermedades infecciosas letales con un potencial de infección extremadamente
- 15 elevado (SARS, gripe aviar) siempre muestra más claramente que un diagnóstico realizable de forma rápida e in situ se vuelve decisivo para impedir las epidemias. Esto también se refiere a la problemática del bioterrorismo y a una comprobación rápida in situ de agentes que se pueden usar como agentes biológicos de combate.

Para considerar estos problemas hay una serie de desarrollos que se ocupan del así denominado diagnóstico in situ.

- 20 En este caso se trata de aparatos que aúnan todas las etapas del diagnóstico molecular (aislamiento de ácidos nucleicos, amplificación y detección). Estos desarrollos se focalizan en el campo del diagnóstico militar y en analogía a los clásicos "procedimientos de REAL-TIME-PCR" también son muy caros, tanto desde el lado de aparatos como también de reactivos.
- 25 Parece realista que las etapas de la amplificación y detección son resolubles. Pero la integración de la preparación de muestras depara los mayores problemas. El motivo para ello es muy sencillo y se fundamenta en la problemática de los materiales de partida más diferentes a examinar y ante todo "problemáticos". Por consiguiente no está resuelto el problema de un aislamiento de ácidos nucleicos in situ.
- 30 En las condiciones clásicas, el aislamiento del ADN a partir de células y tejidos tiene lugar de modo que los materiales de partida que contienen los ácidos nucleicos se disgregan en condiciones fuertemente desnaturizantes y reductoras, en parte también usando enzimas que degradan proteínas, las fracciones de ácidos nucleicos liberadas se purifican mediante etapas de extracción con fenol y cloroformo y los ácidos nucleicos se obtienen en la fase acuosa mediante diálisis o precipitación con etanol (Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T., 1989, CSH,
- 35 "Molecular Cloning". Estos "procedimientos clásicos" para el aislamiento de los ácidos nucleicos a partir de células y en particular de tejidos requieren mucho tiempo (a veces más de 48 h) y requieren un gasto considerable en aparatos. Los distintos procedimientos alternativos para el aislamiento de ácidos nucleicos a partir de diferentes materiales de partida biológicos permiten evitar la extracción de ácidos nucleicos mediante fenol y cloroformo, proceso laborioso y perjudicial para la salud, así como lograr la reducción del tiempo necesario. Todos estos
- 40 procedimientos se basan en un método desarrollado y descrito por primera vez por Vogelstein y Gillespie (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, 76, 615-619) para la purificación preparativa y analítica de fragmentos de ADN a partir de geles de agarosa. El método combina la disolución de la agarosa que contiene las bandas de ADN a aislar en una disolución saturada de una sal caotrópica (NaJ) con una unión del ADN a partículas de vidrio. El ADN fijado a las partículas de vidrio se lava a continuación con una disolución de lavado (Tris HCl 20 mM [pH 7,2]; NaCl 200 mM;
- 45 EDTA 2 mM; etanol al 50% v/v) y luego se desprende de las partículas de soporte.

Este método ha experimentado hasta ahora una serie de modificaciones y en el momento actual se aplica en distintos procedimientos de extracción y purificación de ácidos nucleicos de distintas procedencias (Marko, M.A., Chipperfield, R. y Birnboim, H.G., 1982, Anal. Biochem., 121, 382-387).

- 50 Además, hoy también existe a escala mundial una multiplicidad de sistemas de reactivos, ante todo para la purificación de los fragmentos de ADN a partir de geles de agarosa y para el aislamiento de ADN plasmídico a partir de lisados bacterianos, pero también para el aislamiento de ácidos nucleicos de cadenas más largas (ADN genómico, ARN total celular) a partir de sangre, tejidos o también cultivos celulares. Todos los kits disponibles
- 55 comercialmente se basan en el principio suficientemente conocido de la unión de los ácidos nucleicos a soportes minerales en presencia de disoluciones de distintas sales caotrópicas y usan como materiales de soporte suspensiones de polvo de vidrio finamente molido (p. ej. Glasmilk, BIO 101, La Jolla, CA), tierras de diatomeas (empresa Sigma) o también geles de sílice (Diagen, documento DE 41 39 664 A1).

Un procedimiento practicable para una multiplicidad de aplicaciones diferentes para el aislamiento de ácidos nucleicos está representada en el documento US 5,234,809 (Boom). Allí se describe un procedimiento para el aislamiento de ácidos nucleicos a partir de materiales de partida que contienen ácidos nucleicos mediante la incubación del material de partida con un tampón caotrópico y una fase sólida que se une al ADN. Los tampones caotrópicos realizan tanto la lisis del material de partida, como también la unión de los ácidos nucleicos a la fase sólida. El procedimiento es muy apropiado para aislar los ácidos nucleicos a partir de pequeñas cantidades de muestra y encuentra una aplicación práctica especialmente en el campo del aislamiento de ácidos nucleicos víricos.

Las modificaciones específicas de estos procedimientos se refieren al uso de materiales de soporte novedosos, que muestran ventajas de aplicación para determinados planteamientos (documento WO-A 95/34569). En documentos de patente mas recientes se da a conocer que para la adsorción de los ácidos nucleicos a los materiales silicatados usados y conocidos por el especialista también se pueden usar de manera muy eficiente y satisfactoria las así denominadas sales anticaotrópicas como componente de los sistemas de tampones de lisis y de unión (documento EP 1135479). La ventaja de este procedimiento es que al evitar el uso de sales caotrópicas, los sistemas de extracción suponen un riesgo considerablemente inferior para la salud. Sin embargo, para un aislamiento eficiente de los ácidos nucleicos a partir de una muestra biológica compleja, en particular con respecto a una obtención de los ácidos nucleicos con el mayor rendimiento posible, se necesitan de nuevo grandes concentraciones de sales en el tampón de lisis (> 1,5 M). Así, el documento de patente da a conocer que los tampones de lisis que se usan contienen concentraciones de sales entre 1,5 M y 3 M.

Estos pocos ejemplos del estado de la técnica clarifican que hay una multiplicidad de procedimientos sencillos para el aislamiento de ácidos nucleicos. En particular la posibilidad del aislamiento de ácidos nucleicos a través de su adsorción a materiales de soporte (materiales de fibras de vidrio en forma de filtros, suspensiones de componentes silicatados o distintos tipos de partículas magnéticas o paramagnéticas) se ha impuesto a escala mundial en las rutinas de laboratorio. Pero también se conoce por el especialista que la realización de aislamientos de ácidos nucleicos, en principio de forma independiente del tipo de la química usada, siempre está unida a un amplio equipamiento de laboratorio. Se necesitan entre otros, centrifugadoras, agitadores tipo vórtex, termomezcladores o incubadoras, módulos de separación para partículas magnéticas y eventualmente máquinas automáticas. Para poder aislar los ácidos nucleicos también en condiciones de campo y por consiguiente con sistemas móviles, hasta ahora sólo se han abierto nuevos caminos de solución que relacionan el proceso del aislamiento de ácidos nucleicos con una amplificación y detección subsiguientes. Un enfoque semejante es muy complicado y tampoco está resuelto hasta ahora en una forma universal. Además, los sistemas de aparatos semejantes se vuelven extremadamente caros en la adquisición, como también con vistas a los materiales consumibles necesarios. No obstante, no hay soluciones del procedimiento sencillas y ante todo económicas y utilizables de forma universal (referido a las muestras biológicas más diferentes).

La invención tuvo por tanto el objetivo de eliminar las desventajas descritas de las soluciones mencionadas en el estado de la técnica.

El objetivo se ha resuelto según las características de las reivindicaciones.

El novedoso sistema móvil según la invención (aparato portátil) posibilita de manera sencilla y económica el aislamiento de ácidos nucleicos a partir de los materiales de partida más diferentes, también bajo "condiciones de campo" y además también se puede realizar por "no especialistas".

La combinación de pequeños aparatos móviles y reactivos de extracción abre por primera vez la posibilidad de poder realizar el diagnóstico de enfermedades infecciosas en países en desarrollo sin limitaciones cualitativas.

La invención resuelve la problemática descrita de la manera más ideal y es apropiada en cuanto a la estructura de aparatos y la sencillez resultante de ello del aislamiento de ácidos nucleicos a partir de muestras biológicas también para la aplicación por "no especialistas" bajo condiciones de campo. Además, tanto los costes por aparatos, como también los reactivos necesarios pueden ser muy económicos. Esto supone una enorme ventaja respecto a los sistemas de aparatos concebidos, en particular para aplicaciones militares.

La invención resuelve sorprendentemente de forma muy sencilla el problema existente en referencia a un aislamiento móvil de ácidos nucleicos y realizable in situ.

La invención usa en este caso el principio conocido suficientemente del aislamiento de ácidos nucleicos mediante partículas magnéticas o paramagnéticas. El desarrollo general del procedimiento se corresponde con el estado de la

técnica ya ilustrado. Se estructura en los procesos:

1. Lisis del material de partida
- 5 2. Unión de los ácidos nucleicos liberados a partículas magnéticas o paramagnéticas
3. Lavado de los ácidos nucleicos unidos superficialmente
4. Secado de las partículas
- 10 5. Elución del ácido nucleico unido.

Según ya está representado, para la realización de estas etapas del procedimiento bajo condiciones de laboratorio se necesitan, por ejemplo, un termomezclador o baño de agua (para la lisis de la muestra), un agitador tipo vórtex para la mezcla de las preparaciones de reacción, así como un separador magnético.

La diversidad descrita de los materiales de partida (estructura de muestras y matriz circundante) impidió hasta ahora la integración de un procedimiento de purificación de ácidos nucleicos con un procedimiento de análisis.

20 Aunque existe una multiplicidad de recipientes de muestras desechables para el tratamiento de matrices o materiales de muestras individuales, hasta ahora no hubo un sistema móvil que posibilitase un procesado semiautomático de estos distintos recipientes.

Recipientes de muestras semejantes permiten, por ejemplo, la recepción de torundas, están equipados con membranas filtrantes o posibilitan mediante su conformación interior una separación mejor de fases de muestras diferentes.

La invención aquí descrita resuelve los objetivos planteados mediante la preparación de una base del aparato universal, una recepción de bloques de muestras y con bloques de muestras adaptados, funcionalizados (para la inserción de recipientes de muestras o consumibles) y productos químicos de purificación adaptados, fácilmente manejables. Al usuario se le abre con ello la posibilidad de efectuar una matriz y purificación específica a la muestra de ácidos nucleicos mediante la combinación manual de estos componentes y consumibles diferentes.

35 Sorprendentemente este sistema de bloques intercambiables posibilita precisamente procesar el gran espectro de material de muestras y aplicaciones en campo abierto.

La base del aparato contiene unidades de control electrónico para los bloques, la fuente de tensión, así como una conexión para la recepción de bloques de muestras.

40 La recepción de bloques de muestras contiene un dispositivo agitador o vibrador, así como uno o varios puntos de conexión reversibles para los bloques intercambiables. En otra variante de realización este elemento contiene eventualmente un dispositivo calefactor adicional.

45 Para garantizar un desprendimiento de marcha suave de los bloques de la recepción de bloques de muestras o de la recepción de bloques de muestras de la base del aparato, es concebible conseguir el contacto de los dos elementos mediante una conexión magnética en lugar de con un conector enchufable. La flexibilidad de todo el aparato se puede aumentar por consiguiente considerablemente mediante la retirada sencilla del bloque y de la recepción de bloques de muestras.

50 Una realización de la invención incluye un bloque de muestras con módulo calefactor, estando adaptada la geometría del bloque especialmente a los materiales de consumo ya descritos. En otra variante de realización el bloque de muestras calentable está provisto de un agitador.

55 Dado que gran parte de los contenedores de la recepción de muestras (consumibles) están fabricados de un polímero transparente, en otra variante de realización al usuario se le posibilita la valoración visual del proceso de purificación, y por consiguiente la influencia directa manual en el proceso, a través de una ventana de observación en el bloque de muestras. Mediante las pipetas desechables añadidas en el sistema de aparatos se realiza una adición o toma de líquidos. Por consiguiente se garantiza un tratamiento controlado, asegurado de líquidos también muy viscosos.

- Otro bloque de este sistema de bloques intercambiables puede ser un bloque de separación magnético. Este bloque de separación magnético se destaca porque se puede retirar durante el proceso de purificación de la recepción de bloques de muestras. Dispone de uno o varios imanes intensos que sirven para la separación de las partículas magnéticas y éstas se mueven a la pared del consumible. Las partículas magnéticas adherentes se deben liberar ahora del líquido. Gracias a la posibilidad de retirada del bloque de separación se puede conseguir una separación sencilla del líquido. Para ello el usuario puede retirar el bloque de forma sencilla, darle la vuelta y dejar escapar el líquido. Los imanes intensos retienen las partículas magnéticas importantes de modo que no se produce una pérdida.
- 10 En esta forma de realización el bloque de separación posee igualmente ventanas de observación, de modo que el usuario puede realizar una observación del interior del recipiente (cuando no se le quiere dar la vuelta al recipiente) y también se posibilita una toma del líquido mediante una pipeta desechable. Por consiguiente el usuario es capaz de tomar en la mano el bloque de separación con un recipiente de muestras sujeto de forma reversible y efectuar una
- 15 extracción limpia del líquido.
- Sorprendentemente se muestra que, en el caso de distintas partículas magnéticas y distintas matrices de muestra, la disposición de los imanes y las intensidades de los imanes tiene un efecto muy elevado en la separación.
- 20 Sorprendentemente se muestra, en el caso del uso de consumibles idénticos y misma disposición de un tipo de imán, una ganancia de ácidos nucleicos considerablemente diferente también en el caso de un líquido sólo algo diferente, por ejemplo, de viscosidades distintas.
- Aquí mediante una disposición óptima de los imanes también se puede conseguir una mejora considerable de las ganancias, donde la intensidad del o de los imanes no tiene necesariamente una influencia muy grande.
- 25 Igualmente el usuario tiene fácilmente la posibilidad de cambiar el módulo de separación y ponerlo en el bloque de muestras, por consiguiente no se pierde la característica de un módulo de separación eventualmente calentado o agitado.
- 30 Mediante la posibilidad de intercambio del módulo de separación y los conocimientos adquiridos respecto a la disposición e intensidad del o de los imanes son concebibles los más distintos módulos de separación para los más diferentes procedimientos y aplicaciones. Igualmente es concebible una adaptación a los más distintos consumibles, con la conservación del carácter móvil del aparato.
- 35 Como ejemplo se expone aquí un medio viscoso con partículas magnéticas, debiéndose seleccionar una disposición de los imanes de modo que una penetración de las líneas de campo, de forma adaptada al consumible y el nivel de líquido, posibilite una separación rápida y espacialmente optimizada para este procedimiento y esta matriz.
- 40 En tanto que la recepción de bloques de muestras contiene un dispositivo agitador variable, se puede aumentar la funcionalidad de los bloques intercambiables individuales. Así la agitación favorece, por ejemplo, la separación de las partículas magnéticas en el caso de matrices muy viscosas.
- Un análisis del ácido nucleico purificado, proporcionado mediante la invención, se puede realizar entonces mediante procedimientos apropiados in situ o en el laboratorio. El conector entre la base del aparato y la recepción de bloques de muestras puede estar diseñado en otra variante de realización de modo que, después de la retirada de una recepción de bloques de muestras, se puede poner un dispositivo de análisis apropiado y equipar de una muestra purificada. Por consiguiente la base del aparato sirve como dispositivo de suministro base móvil para otro sistema de herramientas.
- 45 La estructura esquemática del aparato portátil está representada de forma esquemática en el ejemplo de realización. Por consiguiente el aparato portátil móvil aún técnicamente todas las especificaciones técnicas necesarias que existen en el laboratorio mediante aparatos individuales separados (termomezclador o incubadora, agitador tipo vórtex, separador magnético). Por consiguiente, con el aparato portátil según la invención se puede realizar in situ de forma sencilla y rápida el aislamiento de los ácidos nucleicos a partir de las más distintas muestras. El aparato portátil todavía se combina con un instrumental de test que contiene los reactivos necesarios para un aislamiento estándar de ácidos nucleicos, así como el material de plástico desechable.

El desarrollo del aislamiento de ácidos nucleicos mediante el aparato portátil según la invención, por ejemplo, a partir

de un exudado faríngeo se realiza luego en condiciones de campo como sigue:

1. Lisis de la muestra:

5 Para ello transferir la torunda a un recipiente de reacción y adicción del tampón de lisis y eventualmente una enzima proteolítica mediante una pipeta desechable o mediante un frasco cuentagotas. Opcionalmente el reactivo de lisis y la enzima ya pueden estar presentes como componente estable durante el almacenamiento en el recipiente de reacción, de modo que entonces sólo se le debe suministrar agua a la torunda. Transferir el recipiente al aparato portátil (en la depresión del bloque calefactor o del bloque calefactor / agitador). Calentamiento del bloque calefactor a 30 – 95 °C (en función de la aplicación) y eventualmente agitación del recipiente durante la lisis.

2. Unión del ADN a partículas magnéticas:

15 Para ello adición de un tampón de unión con partículas magnéticas para la preparación de lisis y breve agitación y mezcla completa del tampón de unión, partículas magnéticas y preparación de lisis.

3. Separación de las partículas magnéticas con el ácido nucleico unido:

20 Para ello poner el recipiente a la depresión del módulo de separación. Aquí se realiza la acumulación de las partículas magnéticas. Retirada del líquido restante mediante una pipeta desechable o mediante extracción del bloque magnético y vertido sencillo y eliminación en una botella de desechos.

4. Lavado de las partículas magnéticas con el ácido nucleico unido:

25 Para ello adición de un tampón de lavado mediante una pipeta desechable o un frasco cuentagotas al recipiente de reacción con las partículas magnéticas separadas. Breve agitación del recipiente de reacción y nueva separación de las partículas magnéticas mediante inserción del recipiente de reacción en el módulo de separación magnético. Retirar sobrante de nuevo mediante una pipeta desechable o extracción del bloque magnético y vertido sencillo y eliminación en una botella de desechos.

30

5. Secado de las partículas magnéticas:

Para ello el recipiente de reacción se reenchufa en el bloque calefactor e incubación durante algunos minutos con tapa abierta con una temperatura de, por ejemplo, 30 °C – 70 °C.

35

6. Elución del ácido nucleico de las partículas magnéticas:

40 Para ello adición de un tampón de elución o adición de agua mediante una pipeta desechable o un frasco cuentagotas al recipiente de reacción con las partículas magnéticas secas. Breve agitación del recipiente de reacción y nueva separación de las partículas magnéticas mediante inserción del recipiente de reacción en el módulo de separación magnético. El sobrante contiene el ácido nucleico aislado y se puede transferir a un recipiente de reacción limpio.

45 En el caso de una realización alternativa de la invención según la reivindicación 6 se puede prescindir del intercambio del recipiente de reacción entre el módulo de separación magnético y calefactor. La acumulación de las partículas magnéticas se realiza en este caso mediante la inserción de un imán en la escotadura junto al módulo de separación magnético calefactor o mediante encendido del electroimán.

50 El ácido nucleico aislado ahora está a disposición inmediatamente para el procedimiento de análisis previsto.

La manipulación sencilla de aparato portátil en combinación con los reactivos de extracción preparados y accesorios de plástico a manejar de forma sencilla posibilita por consiguiente la realización de un aislamiento de ácidos nucleicos bajo condiciones de campo. La sencillez de los desarrollos del procedimiento necesarios permite además la realización del aislamiento de ácidos nucleicos por “no especialistas”. Además, el aislamiento de ácidos nucleicos se puede realizar en principio a partir de cualquier muestra interesante. El requisito específico se realiza mediante kits de reacción específicos. El aparato portátil mantiene en este caso el componente constante.

Debido a la sencillez técnica está disponible un sistema de aparatos muy económico gracias al aparato portátil según la invención para un aislamiento móvil de ácidos nucleicos. Un aparato portátil complejo semejante también

se puede usar por consiguiente de manera más ideal para tests de diagnóstico en los países en desarrollo. La universalidad del aparato portátil posibilita además también el aislamiento de los ácidos nucleicos bajo "condiciones de campo" reales, por ejemplo, en el contexto con indicaciones médico-militares. En este caso con el aparato portátil según la invención se puede realizar un aislamiento de ácidos nucleicos de forma universal e independiente de la muestra de partida y el ácido nucleico aislado se puede alimentar entonces, por ejemplo, en aparatos de diagnóstico portátiles.

Los ejemplos siguientes esbozan la estructura posible del aparato portátil para el aislamiento móvil de ácidos nucleicos y no representan una limitación de la estructura.

10

Ejemplo de realización

Ejemplo 1

15 La figura 2 muestra una representación esquemática de un aparato portátil para el aislamiento de ácidos nucleicos para el aislamiento móvil de ácidos nucleicos in situ e instrumental de test para la realización del procedimiento de extracción. Las figuras 3 y 4 muestran una forma de realización alternativa.

El instrumental de test para el aislamiento de ácidos nucleicos in situ mediante el aparato portátil contiene:

20

1. Pipetas desechables (p. ej. pipetas Pasteur)

2. Botella para desechos reactivos

25 3. Suspensión con partículas magnéticas o paramagnéticas

4. Recipientes de reacción

5. Tampón de lisis, así como opcionalmente encimas proteolíticas en forma líquida o recipientes de reacción para la lisis de la muestra con formulaciones sólidas estables durante el almacenamiento en reactivos de lisis y encimas proteolíticas

30

6. Tampón de unión

35 7. Tampón de lavado

8. Tampón de elución.

Preferentemente todos los reactivos de extracción y las pipetas desechables necesarias se sitúan en una maleta de transporte

40

La realización de un aislamiento de ácidos nucleicos in situ específico se realiza mediante el aparato portátil según la invención en la secuencia descrita.

45 **Ejemplo 2:**

La figura 1 muestra el aparato según la invención en una forma de realización preferida. El bloque calefactor y el bloque de separación magnético se pueden retirar de la recepción de bloques de muestras. La recepción de bloques de muestras contiene un dispositivo agitador y eventualmente elementos calefactores y se puede retirar del aparato base.

50

Lista de referencias

Figura 1:

55

1. Bloque calefactor

2. Bloque de separación magnético

3. Elemento calefactor

4. Imán

5 5. Dispositivo agitador eventualmente con elemento calefactor

6. Recepción de bloques de muestras

7. Base del aparato

10

Figura 2	Figura 3	Figura 4
1 Módulo calefactor con cuerpo calefactor	1 Módulo calefactor y de separación con cuerpo calefactor	
2 Platina		
3 Acumulador / batería		
4 Placa de vibración		
5 Banda magnética	5 Electroimán encendible	5 Imán insertable
6 Módulo de separación		
7 Depresión para recipientes de reacción		

REIVINDICACIONES

1. Aparato portátil para el aislamiento móvil de ácidos nucleicos, que comprende:
- 5 • al menos un bloque de muestras (1, 2) para la inserción de los recipientes de muestras
- una recepción de bloques de muestras (6) con orificios o escotaduras para la recepción de los bloques de muestras (1, 2)
- 10 • una base del aparato (7) con unidades de control electrónico para los bloques de muestras, una fuente de tensión, así como una conexión a la recepción de bloques de muestras
- un kit de test para el aislamiento de ácidos nucleicos,
- 15 **caracterizado porque**
- a) los bloques de muestras (1, 2) están conectados con la recepción de bloques de muestras (6) y la recepción de bloques de muestras (6) con la base del aparato (7) a través de un conector enchufable o una conexión magnética, y
- 20 b) tanto los bloques de muestras (1, 2) se pueden retirar de la recepción de bloques de muestras (6), como también la recepción de bloques de muestras (6) se puede retirar de la base del aparato (7),
- c) y **porque** un bloque de muestras comprende un módulo de separación magnético (2).
- 25 2. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizado porque** los bloques de muestras (1, 2) contienen al menos un módulo calefactor (3).
- 30 3. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizada porque** el módulo de separación magnético (2) presenta uno o varios imanes.
4. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizado porque** en el bloque de muestras (2) se sitúa una ventana de observación.
- 35 5. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizado porque** la recepción de bloques de muestras (6) contiene un dispositivo agitador o vibrador (5), así como uno o varios puntos de conexión reversibles para los bloques intercambiables.
- 40 6. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizado porque** la recepción de bloques de muestras (6) contiene un dispositivo calefactor adicional.
7. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizado porque** una batería o un acumulador sirve como fuente de tensión.
- 45 8. Aparato portátil según una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** comprende adicionalmente una conexión para una fuente de tensión externa.
9. Aparato portátil según una de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** posee las dimensiones siguientes:
- 50 • altura entre 6 y 10 cm, preferentemente 8 cm
- profundidad entre 2 y 4 cm, preferentemente 3 cm
 - anchura entre 4 y 8 cm, preferentemente 5 cm.
- 55 10. Aparato portátil según una de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** el módulo calefactor (1) sirve simultáneamente como módulo de separación magnético (2) y
- a) **porque** junto a este módulo de separación magnético calefactor se sitúa una escotadura para la recepción de un

imán o

b) este módulo de separación magnético calefactor contiene un electroimán encendible.

5 11. Aparato portátil según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el instrumental de test comprende:

a) pipetas desechables (p. ej. pipetas Pasteur)

b) botella para desechos reactivos

10

c) suspensión con partículas magnéticas o paramagnéticas

d) recipientes de reacción

15 e) tampón de lisis, así como opcionalmente encimas proteolíticas en forma líquida o recipientes de reacción para la lisis de la muestra con formulaciones sólidas estables durante el almacenamiento en reactivos de lisis y encimas proteolíticas

f) tampón de unión

20

g) tampón de lavado

h) tampón de elución.

25 12. Contenedor de transporte, que contiene el aparato portátil según una de las reivindicaciones 1 a 11.

13. Uso del aparato portátil según una de las reivindicaciones 1 a 11 para el aislamiento móvil de ácidos nucleicos, que comprende las etapas siguientes:

30 • lisis de la muestra

• unión del ADN a partículas magnéticas

• separación de las partículas magnéticas con el ácido nucleico unido

35

• lavado de las partículas magnéticas con el ácido nucleico unido

• secado de las partículas magnéticas

40 • elución del ácido nucleico de las partículas magnéticas.

Figura 1

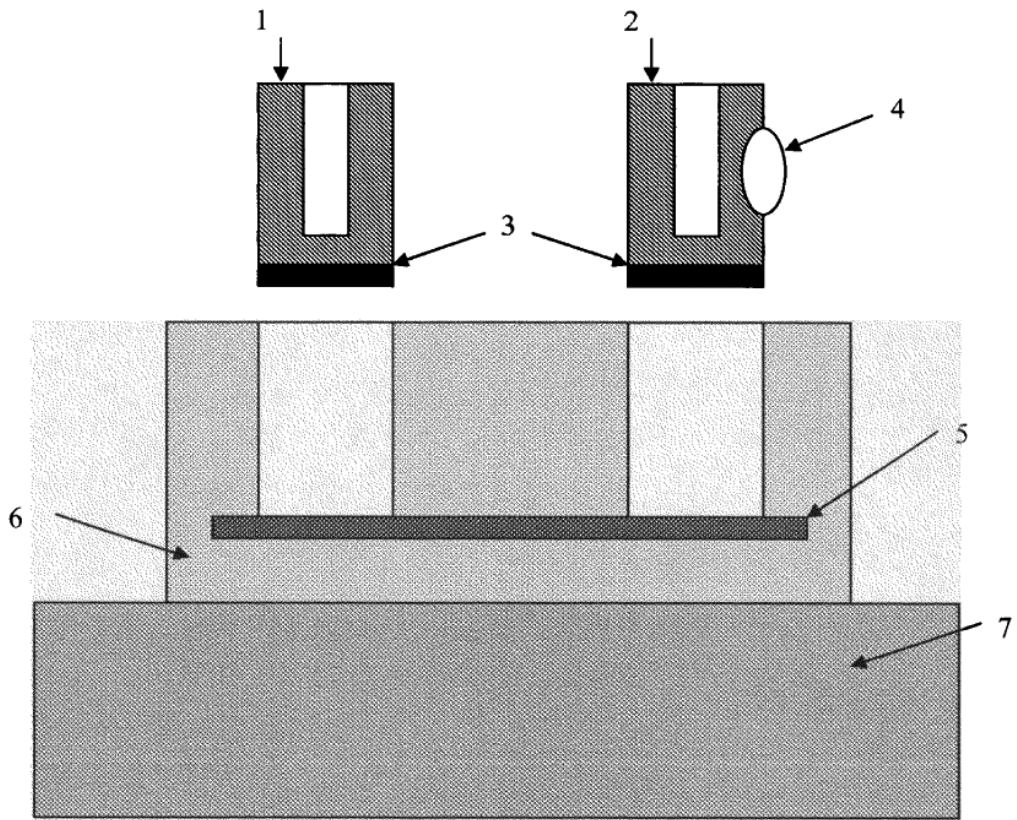


Figura 2

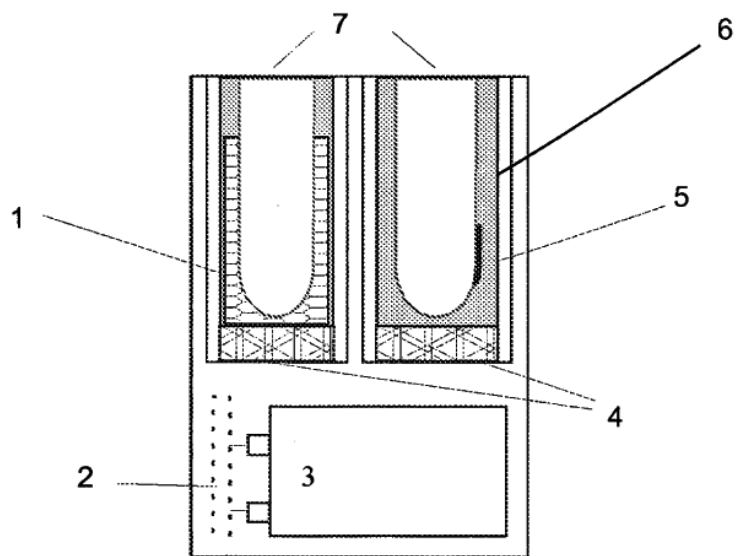


Figura 3

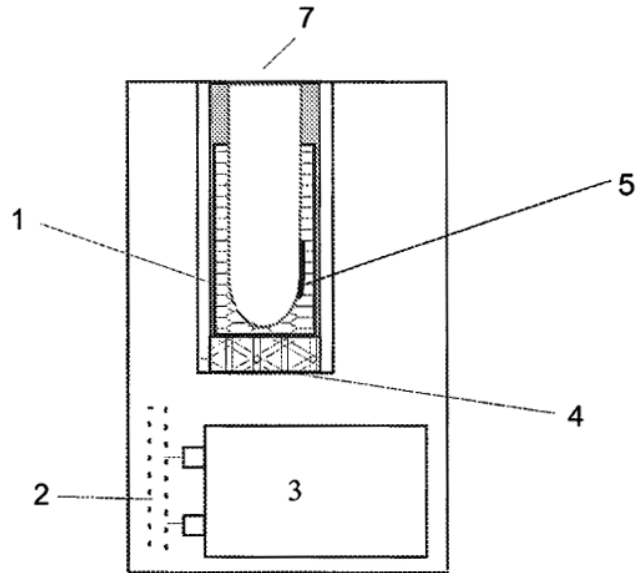


Figura 4

