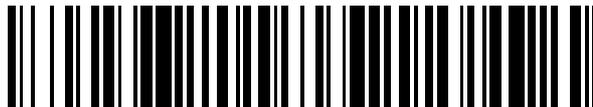


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 376**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/02** (2006.01)

**G01N 1/28** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2008 E 08153320 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 1975594**

54 Título: **Micromatriz de sorción**

30 Prioridad:

**28.03.2007 EP 07105148**

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

**18.12.2015**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)  
GRENZACHERSTRASSE, 124  
4070 BASEL, CH**

72 Inventor/es:

**FATTINGER, CHRISTOPH y  
BERNDT, PETER**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 554 376 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

Micromatriz de sorción

## 5 Campo técnico

**[0001]** La presente invención se refiere a una micromatriz de sorción y más concretamente a un sistema de obtención de imágenes y un método de obtención de imágenes.

## 10 Estado de la técnica

**[0002]** En diversas aplicaciones médicas, químicas, bioquímicas o farmacéuticas, es importante analizar la distribución espacial y la redistribución dinámica de sustancias, es decir, moléculas, átomos, complejos moleculares y similares, en una muestra de ensayo, por ejemplo, células vivas o fijadas, tejidos y órganos. Por ejemplo, la (re)distribución temporal y espacial de las moléculas y los complejos moleculares es fundamental para los procesos biológicos del cuerpo humano o animal, tales como el desarrollo de enfermedades o la acción de los fármacos. Con el fin de recabar información sobre la (re)distribución de una sustancia en una muestra de ensayo, se emplean varios "métodos de obtención de imágenes químicas" en los que se generan imágenes finales en una escala de trama de milímetros, micrómetros o nanómetros.

**[0003]** Por ejemplo, estos métodos de obtención de imágenes químicas consisten en la obtención de imágenes ópticas de secciones de tejido teñidas o de moléculas marcadas mediante fluorescencia en una muestra de ensayo, la tomografía por emisión de positrones, autorradiografías, microscopía electrónica y microscopía de fuerza atómica. Si bien todos estos métodos pueden generar imágenes multidimensionales con las resoluciones a escala entre milimétrica y nanométrica, estos métodos generan información química más bien limitada que en muchos casos es tan importante como las características morfológicas de la muestra de ensayo analizada.

**[0004]** Otros ejemplos de métodos de imagen química que generan gran cantidad de información química son la espectroscopia por infrarrojos, la espectroscopia de Raman y la obtención de imágenes mediante resonancia magnética nuclear. Si bien ofrecen mucha información química, estos métodos suelen carecer de suficiente sensibilidad y resolución espacial para proporcionar información de forma satisfactoria sobre la microdistribución temporal y espacial de sustancias en muestras biológicas, especialmente en células, tejidos y órganos.

**[0005]** Otra estrategia de gran sensibilidad que se emplea para obtener imágenes químicas es la espectrometría de masas. Ya se han desarrollado varios métodos de espectrometría de masas de obtención de imágenes. La espectrometría de masas es un método analítico que mide las proporciones entre masa y carga de los iones que permiten detectar sustancias conocidas así como también desconocidas. Un requisito general para el análisis de espectrometría de masas es que la sustancia que se quiere analizar se debe transferir a la fase gaseosa e ionizar. Esto puede conseguirse, por ejemplo, mediante la desorción inducida mediante un haz de iones, un láser de desorción o una ionización mediante electrospray. En la obtención de imágenes mediante espectrometría de masas, se transfieren las sustancias de varios puntos espaciales predefinidos de una muestra de ensayo a la fase gaseosa, se ionizan y luego se analizan mediante espectrometría de masas, una tras otra. Los resultados del análisis de espectrometría de masas junto con la información espacial de los puntos pueden servir para generar una imagen final química correspondiente a la muestra de ensayo.

**[0006]** Algunos métodos de espectrometría de masas para obtención de imágenes son, entre otros, la desorción inducida mediante un haz de iones para realizar la ionización y el bombardeo iónico de sustancias mediante un haz de iones de gran energía. Este haz de iones se suele generar por medio de un campo eléctrico, y se le hace impactar contra la superficie de la muestra de ensayo con el fin de inducir colisiones. De este modo se expulsan algunas de las sustancias de la muestra de ensayo de la superficie a la fase gaseosa. Típicamente, la desorción inducida mediante un haz de iones hace que se produzcan pequeños fragmentos de iones y átomos y no es adecuada para obtener imágenes de moléculas más grandes, sobre todo biomoléculas.

**[0007]** Otros métodos de espectrometría de masas para la obtención de imágenes son la desorción mediante láser, en la que en lugar de los iones de gran energía descritos anteriormente se emplean fotones de un haz de láser. También con este método se generan pequeños fragmentos de iones y átomos, de modo que no se pueden obtener imágenes satisfactorias de imágenes más grandes. Se ha seguido desarrollando la desorción mediante láser y con ello se ha llegado a la ionización mediante desorción con láser con el auxilio de una matriz (MALDI, por sus siglas en inglés), especialmente para obtener imágenes de moléculas de mayor tamaño. Con este método, la

muestra de ensayo queda recubierta por una matriz primaria y se extraen ciertas sustancias se extraen. A continuación, un foco de láser adecuado atraviesa la muestra de análisis, por lo general mediante un patrón de trama. La matriz que lleva a las sustancias que se desean ionizar y liberar de la matriz absorbe la radiación del láser a nivel local. Durante este proceso de desorción se fragmentan muy pocas de las sustancias, lo cual hace que la ionización mediante desorción con láser con una matriz auxiliar sea apta para muchas aplicaciones de obtención de imágenes químicas. No obstante, el desarrollo y la selección de un material de matriz adecuado para la desorción de una gran variedad de sustancias es una tarea ardua. Además, en muchos casos, la matriz no extrae verticalmente las sustancias de la muestra de ensayo y la difusión horizontal de las moléculas se produce dentro de la matriz. Por último, el volumen de plasma de la matriz que se desea generará para ionizar las biomoléculas no puede hacerse infinitamente pequeño, de modo que la extracción de iones solo empieza después de un umbral de volumen finito. Estos efectos deterioran la resolución espacial de los métodos de obtención de imágenes químicas mediante espectrometría de masas con ionización mediante desorción láser con matriz auxiliar.

**[0008]** Es más, los métodos de espectrometría de masas para la obtención de imágenes también pueden contemplar el uso de alta tensión para extraer sustancias de la muestra de ensayo y para retener las sustancias en un extractor. Este uso de alta tensión hace que se fragmenten las moléculas y tampoco es adecuado para obtener imágenes químicas de moléculas más grandes, sobre todo biomoléculas.

**[0009]** Además de los métodos de ionización descritos que se emplean en la espectrometría de masas para la obtención de imágenes, se conocen otros métodos de ionización para los que aún no se ha encontrado aplicación en la obtención de imágenes de los biomateriales. Entre estos métodos se encuentra la ionización por electrospray, en la que se forma un aerosol de gotitas muy ionizadas compuestas de disolventes volátiles y sustancias de analitos no volátiles en un campo eléctrico. A las gotitas se les reduce posteriormente el tamaño mediante una combinación de evaporación del disolvente y explosiones coulombicas de disolvente hasta que se producen sustancias ionizadas en fase gaseosa. La ionización mediante electrospray hace que las sustancias se fragmenten muy poco. No obstante, en las muestras de ensayo con concentraciones elevadas de sales inorgánicas, detergentes u otras sustancias no volátiles en la forma en que se presentan en secciones de tejido y otros biomateriales, los métodos de espectrometría de masas con ionización mediante electrospray directo no son adecuados.

**[0010]** Por lo tanto hay necesidad de obtener un dispositivo que permita obtener imágenes químicas de forma económica y exacta de moléculas comparativamente grandes, en especial de biomoléculas en muestras de ensayo.

**[0011]** La patente de Estados Unidos 2006/115383 A1 describe un dispositivo de extracción mediante sorción en la superficie de una placa de un flujo transversal a un pocillo.

**[0012]** La patente de Estados Unidos 2005/0276726 A1 da a conocer un sensor químico-mecánico microeléctrico.

### Descripción de la invención

**[0013]** De acuerdo con la invención, esta necesidad se resuelve mediante una micromatriz de sorción definida por las características de la reivindicación independiente 1, mediante un sistema de obtención de imágenes definido por las características de la reivindicación 10 y mediante un método definido por las características de la reivindicación 15. Las realizaciones preferentes se detallan en las reivindicaciones dependientes.

**[0014]** En particular, la invención se refiere a una micromatriz de sorción de una sustancia de una muestra de ensayo. Se compone de un soporte y de varios elementos de sorción dispuestos con características geométricas definidas en relación con el soporte. La distancia entre cada elemento de sorción y su elemento de sorción adyacente está predefinida. El término "sustancia" tal como se utiliza aquí se refiere a cualquier tipo de molécula o entidad molecular química y/o biológica, por ejemplo, azúcares, lípidos, hormonas, proteínas, péptidos y ácidos nucleicos. Además, el término "muestra de ensayo", tal como se usa aquí, se refiere a organismos, tejidos o cultivos de células fijados mediante métodos químicos o congelados, lo cual incluye muestras liofilizadas, o bien porciones, secciones o extractos de estos, incluidos frotis. Es más, el término "sorción", así como los derivados de este en la forma en que se utiliza aquí se refieren a mecanismos de enlace no covalente reversible aptos para asimilar una sustancia en el elemento de sorción.

**[0015]** Con el fin de obtener una micromatriz de sorción que sea sólida y económica de fabricar, el soporte se puede hacer, por ejemplo, con un material polimérico, con una lámina de metal o con una silicón cristalina. Los elementos de sorción se fabricarán preferiblemente con un material apto para absorber sustancias cuya presencia,

concentración y/o distribución se deseen detectar y visualizar. En particular, los elementos de sorción se pueden fabricar con un material cromatográfico y más concretamente con un material cromatográfico de fase inversa. Se pueden optimizar la forma y el tamaño del elemento de sorción para las condiciones quimicofísicas de las sustancias, la muestra de ensayo y la micromatriz de sorción. Por ejemplo, la micromatriz de sorción puede estar provista de elementos de sorción comparativamente grandes si una comparativamente gran cantidad de moléculas si se desea absorber una cantidad de moléculas necesaria para la detección comparativamente grande. Es preferible que los elementos de sorción de una micromatriz de sorción tengan las mismas (o similares) propiedades mecánicas (p. ej., altura del ápice, resistencia, etc.), geométricas (p. ej., forma) y químicas (p. ej., absorción). El término "similar" en este contexto significa, que, en condiciones idénticas (es decir, en el punto de contacto con la muestra está presente la misma cantidad de sustancia y los elementos de sorción se presionan contra la muestra con la misma fuerza), se une la misma cantidad de sustancia a los elementos de sorción.

**[0016]** En uso, la micromatriz de sorción puede quedar situada en una posición predefinida en contacto con la muestra de ensayo de tal manera que los elementos de sorción puedan absorber una o varias sustancias de la muestra de ensayo. Las sustancias absorbidas se pueden analizar de forma cualitativa y/o cuantitativa mediante una unidad de análisis adecuada en la que normalmente se tengan que preprocesar las sustancias antes de analizarlas. Por ejemplo, cuando se utilizan elementos de sorción fabricados mediante un material cromatográfico, es posible que se tengan que eluir las sustancias de los elementos de sorción y luego se tenga que analizar el eluido mediante una unidad de análisis adecuada. En este contexto, el término "elución", así como sus derivados contempla todos los procedimientos adecuados para la desorción de una sustancia o partes de esta de un elemento de sorción que haya absorbido la sustancia tal como se describe anteriormente. Para el análisis se pueden emplear distintas unidades de análisis; en función de la sustancia que se desee detectar, la muestra de análisis y las condiciones de análisis, puede ser más o menos conveniente utilizar distintas unidades de análisis. Por ejemplo, en una realización preferente, se pueden emplear espectrómetros de masas de ionización mediante electrospray para detectar e identificar sustancias. Otras unidades de análisis especialmente adecuadas para analizar biomoléculas son, por ejemplo, los dispositivos de espectrometría de masas y cromatografía de gases, los dispositivos de infrarrojos mediante transformación de Fourier, los dispositivos de desorción/ionización mediante láser con matriz auxiliar, las matrices de anticuerpos multiplexados y los dispositivos de reacción en cadena de la polimerasa.

**[0017]** Dado que en la micromatriz de sorción conforme con la invención todos los elementos de sorción están dispuestos en un lugar bien definido de la micromatriz de sorción, es decir, con unas características geométricas establecidas con distancias bien definidas entre sí, el resultado del análisis de cada elemento de sorción se puede asignar de forma exacta a una ubicación bien definida de la muestra de ensayo. De esta manera, se puede proporcionar una imagen final exacta química de la microdistribución de las sustancias de la muestra de ensayo. El término "imagen final" en este contexto incluye todo el almacenamiento de datos o la visualización de estos para describir la distribución de las sustancias en la muestra de ensayo. Por ejemplo, incluye la combinación de la información obtenida mediante la unidad de análisis con información de la ubicación de la muestra de ensayo, como, por ejemplo, las coordenadas de los elementos de sorción en la muestra de ensayo, en una base de datos o en la representación gráfica de estos.

**[0018]** Por lo tanto, la micromatriz de sorción conforme con la invención permite extraer con cuidado y de forma localizada sustancias a partir de una muestra de ensayo esencialmente sin deteriorar las sustancias, y se producen el análisis de las sustancias extraídas en una unidad de análisis exclusiva en la que se lleva a la elución y el análisis de las sustancias extraídas con el fin de generar una imagen química de la muestra de ensayo. Además, la micromatriz conforme con la invención brinda la posibilidad de que la muestra de ensayo y la unidad de análisis están separadas localmente una de la otra y de que las sustancias absorbidas de la muestra de ensayo se puedan transferir a la unidad de análisis distante.

**[0019]** En una realización preferente, los distintos elementos de sorción se disponen en una fila, y la distancia entre cada elemento de sorción y el adyacente está predefinida. Tal disposición de los elementos de sorción en una fila ofrece una distribución geométrica sencilla que permite asignar fácilmente una ubicación a la muestra de ensayo. En otra realización preferente, la micromatriz de sorción consta de varias filas de elementos de sorción, y la distancia entre cada fila y la fila adyacente está predefinida. De esta manera, se puede generar una imagen final de forma más eficiente que con las realizaciones en las que se emplean elementos de sorción individuales o filas individuales de elementos de sorción. En especial, cuando se utilizan elementos de sorción fabricados con un material cromatográfico, el proceso de sorción de las sustancias de la muestra de ensayo o de elución de estos en un eluido puede llevar mucho más tiempo que en el proceso de análisis de las sustancias. Por este motivo puede resultar más eficiente llevar a cabo la sorción de las sustancias en varios lugares externos a la muestra de ensayo en paralelo.

**[0020]** Preferiblemente, la distancia de cada elemento de sorción y su elemento de sorción adyacente es menor de 100 micrómetros (micras), preferiblemente menor de 30 micras. Con esta disposición de los elementos de sorción, se puede obtener una micromatriz de sorción compacta que puede ofrecer de forma eficiente una imagen final a una escala y una resolución adecuadas que represente la microdistribución de las sustancias en la muestra de ensayo. En especial con la sorción de biomoléculas, la distancia será preferiblemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ , y, en función de las sustancias concretas, la distancia suele ser ventajosamente inferior a 30  $\mu\text{m}$ .

**[0021]** En una realización preferente, la micromatriz de sorción tiene una forma fundamentalmente rectangular, y los lados tienen una longitud inferior a 1  $\mu\text{m}$ . Esta micromatriz de sorción ofrece una disposición relativamente compacta de la micromatriz de sorción que tiene una cantidad suficiente de elementos de sorción como para absorber sustancias a una resolución satisfactoria.

**[0022]** En una realización preferente, la micromatriz de sorción consta además de varios voladizos que tienen cada uno una primera región longitudinal en un extremo y una segunda región longitudinal en el otro extremo; cada una de las primeras regiones de los extremos está conectada al soporte y cada una de las segundas regiones de los extremos está conectada a uno de los elementos de sorción. Estos voladizos ofrecen una interconexión elástica entre los elementos de sorción y el soporte que permite compensar la posible irregularidad de la muestra de ensayo, así como también empujar levemente los elementos de sorción, es decir, aplicar una pequeña fuerza sobre los elementos de sorción sobre la muestra de ensayo mientras se absorben las sustancias.

**[0023]** Además, la micromatriz de sorción consta preferiblemente de varias puntas que se conectan al soporte en el que cada elemento de sorción se coloca en el ápice de cada una de las puntas. Con los elementos de sorción dispuestos en los ápices de las puntas, el elemento de sorción se recorta contra el soporte de manera que se pueden poner en contacto fácilmente los elementos de sorción y la muestra de ensayo. Cuando la micromatriz de sorción consta de voladizos como los que se describieron anteriormente, cada punta queda dispuesta en la segunda región longitudinal de un extremo de uno de los voladizos. Esto facilita, además, compensar una posible irregularidad de la muestra de ensayo, así como también empujar levemente los elementos de sorción sobre la muestra de ensayo.

**[0024]** En una realización preferente, cada punta tiene un canal longitudinal en el que uno de los elementos de sorción queda dispuesto de forma que se solapa con el ápice de la punta correspondiente. En esta disposición, los elementos de sorción se pueden conectar directamente con la elución a través de los canales, de tal manera que las sustancias absorbidas se pueden eluir de cada elemento de sorción a través del canal que lo abarca. Además, cada elemento de sorción puede tener un volumen relativamente grande, lo cual permite absorber cantidades relativamente grandes de sustancias y/o de sustancias de tamaño relativamente grande. En particular, cuando se utiliza la micromatriz de sorción para obtener imágenes de la microdistribución de biomoléculas en muestras de ensayo, se tiene que absorber una determinada cantidad mínima de biomoléculas en un solo elemento de sorción con el fin de que la unidad de análisis pueda detectarla. Cuando se utilizan unidades de análisis conformes con el estado de la técnica, tales como, por ejemplo, espectrometría de masas, tiene que haber una cantidad mínima de aproximadamente 100 moles atómicos de biomoléculas en un picolitro para que se la pueda detectar.

**[0025]** Cada elemento de sorción puede tener una forma en punta que sobresale hacia fuera del soporte. Con esta forma puntiaguda, se puede perforar la muestra de ensayo. Por ejemplo, cuando la muestra de ensayo consta de células, las membranas de las células se pueden perforar de manera que se pueda alcanzar el interior de las células mediante la micromatriz de sorción. Los elementos de sorción se pueden disponer en el interior de canales longitudinales del interior de las puntas de la forma que se describió anteriormente, así como también de cualquier otra manera adecuada.

**[0026]** En una segunda forma de realización preferente, cada elemento de absorción tiene forma de glóbulo con un diámetro de menos de 50  $\mu\text{m}$ , preferiblemente inferior a 20  $\mu\text{m}$  y de forma más preferible aún inferior a 2  $\mu\text{m}$ . Con esta disposición de los elementos de sorción en una escala relativamente pequeña y compacta, es decir, nanométrica, se puede obtener una micromatriz en la que cada elemento de sorción tenga suficiente capacidad de enlace como para detectar sustancias en una unidad de análisis adecuada. Con el fin de lograr una absorción lo más eficiente posible con una resolución tan elevada como se pueda obtener, los diámetros del glóbulo entran en los intervalos mencionados anteriormente en función del tipo de biomoléculas que se desea absorber. Además, estos elementos de sorción en forma de glóbulos se pueden fabricar fácilmente.

**[0027]** Preferiblemente, la micromatriz de sorción está coloreada de tal manera que cada uno de los elementos de sorción se puede calentar mediante un haz de luz o radiación infrarroja. Por ejemplo, la superficie del

soporte apartado hacia los elementos de sorción o los puntos de la superficie adyacente a los elementos de sorción se pueden colorear con un color oscuro, en especial con negro. Cuando se apunta un haz de luz o radiación infrarroja a dichos puntos, se pueden calentar el soporte y los elementos adyacentes de sorción. Especialmente cuando se usan muestras de ensayo congeladas, como pueden ser muestras de ensayo de secciones de tejido congelado, se pueden descongelar áreas pequeñas de la muestra de ensayo a la vez que se absorben las sustancias. Dado que los procesos de sorción son más eficientes en fase líquida que en fase congelada, una micromatriz de sorción coloreada de esta forma ofrece una sorción más eficiente de las sustancias. Además, permite descongelar solo pequeñas áreas de la muestra de ensayo que estén en contacto con elementos de sorción y mantener el resto de la muestra de ensayo en estado congelado. Así se puede evitar la difusión longitudinal y se pueden obtener imágenes de gran resolución.

**[0028]** Un segundo aspecto de la invención se ocupa de un sistema de obtención de imágenes que consta de la micromatriz de sorción descrita anteriormente. El sistema de obtención de imágenes consta, además, de un chip de microfluidos con un canal de fluidos por el que puede circular un eluyente, y de un sumidero de elución para colocar uno de los elementos de sorción en contacto con el canal de fluidos. El eluyente puede ser cualquier fluido, incluidos líquidos y gases, lo cual lo hace adecuado para eluir sustancias fuera de los elementos de sorción. Como se describe más adelante, la combinación de la micromatriz de sorción y el chip de microfluidos en un sistema de obtención de imágenes permite obtener imágenes de una muestra de ensayo de forma cómoda y eficiente.

**[0029]** Con el sistema de obtención de imágenes conforme con la invención, se pueden absorber una o varias sustancias para extraerlas de una muestra de ensayo por medio de la micromatriz de sorción descrita anteriormente. Después de esta sorción, se puede recolocar la micromatriz de sorción y ubicarla en el chip de microfluidos de forma tal que uno de los elementos de sorción quede colocado en el sumidero de elución. El eluyente se puede hacer pasar a través del canal de fluidos y a través del sumidero de elución. Si el elemento de sorción que se está colocando en el sumidero de elución ha absorbido las sustancias, el eluyente puede extraer estas del elemento de sorción mediante elución. El eluido se puede pasar entonces a una unidad de análisis donde se puede analizar. Los datos de los resultados de este análisis junto con la información de la posición de la muestra de ensayo se pueden guardar para generar una imagen final. En pasos posteriores se puede colocar un elemento de sorción tras otro en el sumidero de elución y se puede eluir hasta que todos los elementos de sorción de la micromatriz de sorción de hayan eluido. La micromatriz de sorción de puede volver a poner en contacto con la muestra de ensayo en un lugar predefinido diferente, y después de la sorción se puede volver a colocar en el chip de microfluidos. Como es obvio para una persona experta en la técnica, la micromatriz de sorción se puede regenerar también antes de colocarla de nuevo en contacto con la muestra de ensayo, o bien se puede utilizar una sola vez y luego desecharla. Los pasos de sorción, elución y análisis se pueden repetir hasta que se obtenga una imagen final a una escala y una resolución preferentes.

**[0030]** Preferiblemente, el chip de microfluidos consta además de una válvula dispuesta en el canal de fluidos más arriba del sumidero de elución para controlar el eluyente que pasa por el sumidero de elución. Con una válvula de este tipo se puede controlar fácilmente el paso del eluyente a través del canal de fluidos. Por ejemplo, la válvula puede abrirse durante un tiempo determinado mientras uno de los elementos de sorción está colocado en el sumidero de elución. Esto permite, por ejemplo, que esté suficientemente despejado en cualquier momento en que se eluya el elemento de sorción y en que se analice el eluido.

**[0031]** Preferiblemente, el chip de microfluidos consta además de un calentador para calentar el sumidero de elución. Con un calentador de este tipo, se puede optimizar la temperatura para realizar la elución mientras se coloca uno de los elementos de sorción en el sumidero de elución de forma tal que se pueda conseguir una elución mejor.

**[0032]** En una realización preferente, el chip de microfluidos tiene varios canales de fluidos y varios sumideros de elución dispuestos de forma que contengan los elementos de sorción de una fila de los elementos de sorción a la vez. Con esta disposición, los elementos de sorción de la micromatriz de sorción se pueden eluir sin recolocar la micromatriz de sorción después de la elución de cada uno de los elementos de sorción. Esto permite eluir de forma más eficiente todos los elementos de sorción de la micromatriz de sorción.

**[0033]** Preferiblemente, el chip de microfluidos contiene además huecos para colocar todos los demás elementos de sorción que no se colocan en un sumidero de elución cuando al menos uno de los elementos de sorción está colocado en el fregadero de elución. Con esta disposición, los elementos de sorción que no se colocan en un sumidero de elución se pueden mantener de forma organizada y protegida.

**[0034]** Un tercer aspecto de la invención se refiere a un método para obtener imágenes de la distribución de al menos una sustancia en una muestra de ensayo mediante el sistema de obtención de imágenes descrito anteriormente. El método comprende las etapas de

- 5 (a) colocación de la micromatriz de sorción en contacto con la muestra de ensayo en una posición predefinida;
- (b) la sorción de la al menos una sustancia de la muestra de ensayo en los elementos de sorción de la micromatriz de sorción;
- (c) la recolocación de la micromatriz de sorción a partir de la muestra de ensayo y la colocación de esta en el chip de microfluidos de tal manera que al menos un elemento de sorción quede colocado en al menos un sumidero de
- 10 elución del chip de microfluidos;
- (d) la elución de al menos una sustancia para extraerla de al menos un elemento de sorción colocado en al menos un sumidero de sorción;
- (e) paso del eluido a una unidad de análisis para analizar al menos una sustancia;
- (f) recogida de los resultados de análisis para obtener una imagen final que represente la muestra de ensayo;
- 15 (g) la repetición de los pasos (c) a (f) con por lo menos el siguiente elemento de sorción de la micromatriz de sorción hasta que cada uno de los elementos de sorción de la micromatriz de sorción haya quedado colocado en al menos un sumidero de elución; y
- (f) la repetición de los pasos (a) a (g) con un cambio de las posiciones predefinidas hasta que la imagen final tenga una escala y una resolución predefinidas.

20

**[0035]** Con este método es posible obtener de forma eficiente una imagen final que represente la microdistribución de una sustancia en una muestra de ensayo.

- 25 **[0036]** Preferiblemente, al menos un canal de fluidos con al menos un sumidero de elución del chip de microfluidos correspondiente ya se habrá llenado de eluyente mientras que el al menos un elemento de sorción quedará colocado en el al menos un sumidero de elución (paso (c)). Para hacer pasar el eluyente a la unidad de análisis, se podrá conectar directamente el chip de microfluidos a la unidad de análisis. Otra opción es que el eluyente, que constará de al menos una sustancia, se pueda hacer pasar también principalmente a un dispositivo de
- 30 transferencia y/o almacenamiento, como puede ser una microplaca con varios pocillos, y que luego se analice. En particular, la microplaca de pocillos múltiples puede ser una microplaca de pocillos múltiples estandarizada dispuesta conforme a las normas elaboradas por la Society for Biomolecular Screening (SBS) y aprobadas por el American National Standards Institute (ANSI) [ver **Society for Biomolecular Screening**, ANSI/SBS 1-2004: Dimensiones de volumen de las microplacas, ANSI / SBS 2-2004: Dimensiones de altura de las microplacas, ANSI / SBS 3-2004: Dimensiones de flancos externos a la parte inferior de las microplacas y ANSI / SBS -2004: Posiciones de las microplacas de pocillos. <http://www.sbsonline.org>: Society for Biomolecular Screening, 2004.]. Cuando se utiliza un chip de microfluidos adecuado, también se pueden colocar todos los elementos de sorción de la micromatriz de sorción en los sumideros de elución del chip de microfluidos de una vez, de tal forma que los pasos (c) a (f) solamente se tengan que realizar una vez y no se tengan que repetir.

40

- 45 **[0037]** En una realización preferente, la muestra de ensayo está presente en una sección congelada y cada uno de los elementos de sorción se calienta, preferiblemente mediante un haz de luz o mediante radiación infrarroja, a la vez que se absorbe al menos una sustancia de la muestra de ensayo en los elementos de sorción de la micromatriz de sorción. Para implantar este método, se utilizará preferentemente una micromatriz de sorción coloreada tal como la descrita anteriormente. De igual forma, se pueden descongelar pequeños puntos de la muestra de ensayo con un tamaño suficiente como para que se puedan absorber sustancias mediante elementos de sorción individuales. La otra muestra de ensayo completa se puede conservar en una fase congelada y estable para que a esta solo le afecte donde se realice la sorción. De esta forma, la obtención de imágenes podrá ser precisa y sin alteraciones. Breve descripción de los dibujos

50

**[0038]** A continuación se describen con más detalle la micromatriz de sorción conforme con la invención, el sistema de obtención de imágenes conforme con la invención y el procedimiento conforme con la invención mediante ejemplos de realización y con referencia a los dibujos adjuntos, en donde:

- 55 **[0039]** La figura 1 presenta una vista en perspectiva de una sección de una micromatriz de sorción esquemática conforme con la invención de una primera forma de realización de un sistema de obtención de imágenes conforme con la invención;

**[0040]** La figura 2 presenta una vista superior de la micromatriz de sorción de la figura 1;

- [0041] La figura 3 presenta una vista en sección transversal a lo largo de la línea A-A de la micromatriz de sorción a partir de la figura 2;
- 5 [0042] La figura 4 presenta una vista en sección transversal a lo largo de la línea B-B de la micromatriz de sorción a partir de la figura 2;
- [0043] La figura 5 presenta una vista superior de un chip de microfluidos del sistema de obtención de imágenes de la figura 1;
- 10 [0044] La figura 6 presenta una vista lateral del chip de microfluidos de la fig. 5;
- [0045] La figura 7 presenta una vista superior de la micromatriz de sorción y el chip de microfluidos del sistema de obtención de imágenes de la figura 1 en la que una esquina de la micromatriz de sorción está cortada;
- 15 [0046] La figura 8 presenta una vista en sección transversal a lo largo de la línea A-A del sistema de obtención de imágenes de la figura 7;
- [0047] La figura 9 presenta una vista en perspectiva de una sección del sistema de obtención de imágenes de la figura 7;
- 20 [0048] La figura 10 muestra una vista en perspectiva de una sección de la micromatriz de sorción del sistema de obtención de imágenes de la figura 7 que interactúa con una sección de una muestra de ensayo en una forma de realización de un método conforme con la invención;
- 25 [0049] La figura 11 presenta una vista en perspectiva de la sección de la micromatriz de sorción de la figura 10 que interactúa con el chip de microfluidos del sistema de obtención de imágenes de la figura 7 en el método de la figura 10;
- 30 [0050] La figura 12 presenta una vista en perspectiva de la sección de la micromatriz de sorción de la figura 10 que interactúa con una unidad de regeneración del método de la figura 10;
- [0051] La figura 13 presenta una vista superior de una micromatriz de sorción y un chip de microfluidos de una segunda forma de realización del sistema de obtención de imágenes conforme con la invención;
- 35 [0052] La figura 14 presenta una sección en torno a un sumidero de elución de una vista en sección transversal a lo largo de la línea A-A del sistema de obtención de imágenes de la figura 13;
- [0053] La figura 15 muestra una vista superior de una micromatriz de sorción y un chip de microfluidos de una tercera forma de realización del sistema de obtención de imágenes conforme con la invención;
- 40 [0054] La figura 16 presenta una vista en sección transversal a lo largo de la línea A-A del sistema de obtención de imágenes de la figura 15;
- [0055] La figura 17 presenta una vista en perspectiva de una sección de otra forma de realización de un esquema de micromatrices de sorción conforme con la invención;
- 45 [0056] La figura 18 presenta una sección de una vista en sección transversal de la micromatriz de sorción de la figura 17 transversal a los voladizos;
- 50 [0057] La figura 19 presenta una vista en perspectiva de una sección de otra forma de realización de un esquema de micromatrices de sorción conforme con la invención;
- [0058] La figura 20 presenta una sección de una vista en sección transversal de la micromatriz de sorción de la figura 19 transversal a los voladizos;
- 55 [0059] La figura 21 presenta una vista en sección transversal de la micromatriz de sorción de la figura 19 transversal a los voladizos en la parte superior de un chip de microfluidos de una cuarta forma de realización del sistema de obtención de imágenes conforme con la invención; y

[0060] La figura 22 presenta una sección de la vista en sección transversal de la figura 21 rodeada de la línea punteada A.

## 5 Modo(s) de llevar a cabo la invención

[0061] En la siguiente descripción se emplean determinados términos por motivos de conveniencia y no deben interpretarse como excluyentes. Los términos "derecha", "izquierda", "hacia arriba" y "encima" se refieren a direcciones en las figuras. La terminología abarca los términos mencionados explícitamente, así como los derivados  
10 y los términos con un significado similar.

[0062] En la **fig. 1** se muestra una micromatriz de sorción que consta de un soporte 11 y varios voladizos 12. En la primera región del extremo longitudinal 121, cada uno de los voladizos 12 pasa al soporte 11. En la segunda región del extremo longitudinal 122 de cada uno de los voladizos 12 se dispone una punta piramidal 13 con un ápice  
15 131. Además, en el ápice 131 de cada una de las puntas 13a se dispone un elemento de sorción 14 con forma de glóbulo.

[0063] Lo siguiente se aplica al resto de esta descripción. Si, con el fin de aclarar los dibujos, una figura contiene signos de referencia que no se explican en la parte de la descripción asociada directamente, se hace  
20 referencia a partes anteriores de la descripción.

[0064] Tal como se puede ver con mayor claridad en la **fig. 2**, la micromatriz de sorción 1 tiene la forma de un cuadrado y consta de sesenta y cuatro elementos de sorción 14 dispuestos en ocho filas paralelas. Cada fila contiene ocho elementos de sorción 14, y la distancia entre cada elemento de sorción 14 y el elemento de sorción  
25 adyacente 14 está predefinida. La distancia entre cada fila y su fila adyacente es igual a la distancia entre los elementos de sorción 14. Tal como se puede ver con mayor claridad en la **fig. 2** junto con la **fig. 3**, los voladizos 12 y el soporte 11 están fabricados con una sola pieza plana y cuadrada en la que cada voladizo 12 se forma disponiendo tres ranuras a que atraviesan la pieza a la vez y que juntas constituyen los dos lados longitudinales y un  
30 lado a lo ancho de un rectángulo. La pieza puede ser de cualquier material adecuado, como, por ejemplo, un material polimérico, una lámina de metal o silicona.

[0065] Cada voladizo 12 está dispuesto en paralelo al voladizo adyacente 12 en una dirección y en línea con el voladizo adyacente 12 en la otra dirección, de forma que la segunda región del extremo 122 de todos los voladizos 12 queden en el extremo derecho de los voladizos 12 y la primera región del extremo 121 de todos los  
35 voladizos 12 queden en el extremo izquierdo de los voladizos 12. En la segunda región del extremo 122 de cada uno de los voladizos 12 se dispone una de las puntas 13; las puntas 13 están fabricadas también de la pieza individual mencionada anteriormente.

[0066] La **fig. 4** presenta una fila de elementos de sorción 14. Los elementos de sorción 14 tienen forma de glóbulo; pueden estar hechos de cualquier material de sorción adecuado, como, por ejemplo, un material  
40 cromatográfico y en especial un material cromatográfico de fase inversa.

[0067] La **fig. 5** y la **fig. 6** presentan un chip de microfluidos 2 con nueve canales de fluidos 21 que empiezan en una sola entrada 211 y que terminan en una sola entrada 212. Ocho de los canales de fluidos 21 están  
45 dispuestos fundamentalmente en paralelo unos a otros, y cada uno de ellos pasa por un sumidero de elución 23 de forma tal que los ocho sumideros de elución 23 quedan en una fila. En cada uno de los canales de fluidos 21 hay dispuesta una válvula 22 en posición anterior al sumidero de elución 23, respectivamente, entre la entrada 211 y la salida 212 del noveno canal de fluidos 21 que no pasa por uno de los sumideros de elución. Además, siete filas de los ocho huecos 24 correspondientes se disponen en el lado izquierdo de la fila de los sumideros de elución, al  
50 tiempo que se disponen siete filas de los ocho huecos 24 correspondientes en el lado derecho de la fila de los sumideros de elución 23.

[0068] En su aplicación, se puede hacer pasar un fluido a los canales de fluidos 21 mediante la entrada 211. Dependiendo del estado de las válvulas 22, el fluido queda bloqueado dentro de los canales de fluidos 21 o bien se  
55 puede hacer pasar a través de los canales de fluidos correspondientes para salir del chip de microfluidos 2 mediante la salida 212. Los canales de fluidos 21 se abren en dirección ascendente. Como el diámetro de los canales de fluidos 21 suelen ser muy pequeños, por ejemplo, en un rango de  $\mu\text{m}$ , el fluido se puede mantener dentro de los canales de fluidos 21 mediante fuerzas capilares. Así, dependiendo de las propiedades del fluido utilizado en el chip de microfluidos 2, el fluido no puede escapar involuntariamente los canales de fluidos 21.

**[0069]** La fig. 7, la fig. 8 y la fig. 9 presentan un sistema de obtención de imágenes que consta de la micromatriz de sorción 1 descrita anteriormente y el chip de microfluidos 2 que también se describió anteriormente. En su aplicación, después de que se haya hecho entrar en contacto la micromatriz de sorción 1 con la muestra de ensayo y se haya podido absorber una sustancia, se puede colocar la micromatriz de sorción de forma que la primera fila de elementos de sorción 14 cercana a la parte frontal de la micromatriz de sorción 1 quede colocada dentro de la fila de los sumideros de elución 23. Al mismo tiempo, las otras siete filas de los elementos de sorción 14 de la micromatriz de sorción 1 quedan colocados dentro de las siete filas de los huecos 24 a la izquierda de la fila de sumideros de elución 23. En este estado, se puede hacer pasar un fluido adecuado, es decir, un eluyente, a través de un sumidero de elución 23 después que otro abriendo y cerrando una válvula 22 después que la otra. De esta forma, la sustancia que pueden absorber los elementos de sorción 14 se puede eluir del elemento de sorción 14 y el eluido se puede hacer pasar a través de la salida 212 a un dispositivo de análisis adecuado. Después de que se hayan eluido todos los elementos de sorción 14 de la primera fila de elementos de sorción 14, la micromatriz de sorción 1 se puede recolocar de forma que la siguiente fila de elementos de sorción 14 quede colocada dentro de la fila de sumideros de elución 23. Por lo tanto, la primera fila de elementos de sorción 14 queda colocada dentro de la primera fila de huecos 24 situada a la derecha de la fila de sumideros de elución 23 y las otras seis filas de elementos de sorción 14 quedan colocadas dentro de las seis filas de huecos 24 a la izquierda de la fila de sumideros de elución 23. Este procesamiento por filas de los elementos de sorción 13 se puede seguir ejecutando hasta que se hayan eluido todos los elementos de sorción 14.

**[0070]** Como los elementos de sorción 14 se procesan secuencialmente uno detrás de otro en el chip de microfluidos 2, siempre hay la posibilidad de asegurarse de qué eluido correspondiente a qué elemento de sorción 14 se está analizado cada vez. De esta manera se puede establecer de qué punto de la muestra de análisis se ha tomado una sustancia analizada, de forma que el resultado del análisis de cada eluido se pueda asignar a una posición bien definida de la muestra de análisis. Por lo tanto, es posible obtener una imagen final exacta de la muestra de ensayo.

**[0071]** La fig. 10, la fig. 11 y la fig. 12 ilustran un método conforme con la invención en el que se ha empleado un sistema de obtención de imágenes como el descrito anteriormente. La figura 10 presenta los pasos que se realizan en interacción con una muestra de ensayo 3, como, por ejemplo, una sección congelada de un tejido. La micromatriz de sorción 1 está colocada en una posición bien definida en contacto con la muestra de ensayo 3 en los primeros puntos de sorción 31. Para colocarla de esta forma se puede emplear cualquier sistema de colocación, como pueden ser sistemas de colocación conocidos como de microscopía de fuerza atómica que permitan colocar la muestra con una precisión aproximadamente medio nanómetro. Mientras están en contacto con la muestra de ensayo 3, se absorben sustancias, como pueden ser biomoléculas, presentes en la muestra de ensayo y que los elementos de sorción 14 pueden absorber de la muestra de ensayo 3 en los elementos de sorción 14. Después de la sorción, la micromatriz de sorción 1 se recoloca con respecto a la muestra 3 y se coloca en el chip de microfluidos 2. Tal como se puede ver con más claridad en la fig. 11, se coloca una fila de elementos de sorción 14 en la fila correspondiente de los sumideros de elución 23 del chip de microfluidos 2. Mientras tanto, las demás filas de elementos de sorción 14 que no se coloquen dentro de la fila de sumideros de elución 23 queda dentro de las filas correspondientes de huecos 24. En esta fase, se abre una válvula 22 después de otra de tal manera que pase un eluyente adecuado a través de un sumidero de elución 23 después de otro. Las sustancias de un elemento de sorción 14 después de otro se eluyen y se hacen pasan los eluidos correspondientes, ya sea directamente o a través de una unidad de transferencia, a un dispositivo de análisis adecuado. Después se eluyen todos los elementos de sorción 14 de la micromatriz de sorción 1 de la forma descrita anteriormente y se recoloca la micromatriz de sorción 1 en una unidad de regeneración 4 que tenga una capa de regeneración 41. Tal como se puede ver en la fig. 12, los elementos de sorción 14 se mantienen en la capa de regeneración 41 hasta que se ha realizado una regeneración optimizada de los elementos de sorción 14.

**[0072]** Después de la regeneración, se dispone la micromatriz de sorción en una posición bien definida en contacto con la muestra de ensayo 3 en otros puntos para una segunda sorción 32 y se vuelven a realizar los demás pasos del método de la forma descrita anteriormente en un segundo ciclo. Después de este segundo ciclo, se dispone la micromatriz de sorción en una posición bien definida en contacto con la muestra de ensayo 3 en otros puntos para una tercera sorción 33 y se vuelven a realizar los demás pasos del método de la forma descrita anteriormente en un segundo ciclo. En el método conforme con la invención, se realizan tanto ciclos de procesamiento como se desee para obtener una imagen final con una escala y una resolución predefinidas. Durante el procesamiento o en una fase posterior, se pueden recoger todos los resultados de análisis del dispositivo de análisis, como, por ejemplo, información cualitativa y cuantitativa de biomoléculas, y se puede combinar con la información espacial de la muestra de ensayo 3. De esta forma se puede obtener una imagen final exacta que

represente la muestra de ensayo 3.

**[0073]** En la **fig. 13** y la **fig. 14** se muestra otra forma de realización de un sistema de obtención de imágenes conforme con la invención. Este se compone de una micromatriz de sorción 19 con un soporte 119, voladizos 129, 5 puntas 139 y elementos de sorción 149 dispuestos como en la micromatriz de sorción 1 descrita anteriormente. Además, consta de un chip de microfluidos 29 con canales de fluidos 219, una entrada 2119, una salida 2129, válvulas 229, 239, sumideros de elución 239 y huecos 249 como en el chip de microfluidos 2 descrito anteriormente. El chip de microfluidos 29 tiene además una resistencia calefactora 259 dispuesta en torno a los sumideros de elución 239. Por medio de esta resistencia calefactora 259, se puede calentar el sumidero de elución 239 mientras 10 se disponen los elementos de sorción 149 dentro del sumidero de elución 239 de forma que se pueda procesar la elución a una temperatura elevada. La elución a una temperatura elevada puede ser significativamente más eficiente que a una temperatura baja, con lo que se puede procesar la elución de los elementos de sorción 149 a mayor velocidad y/o de una forma más completa.

15 **[0074]** Además se dispone una cubierta 269 en la parte superior del chip de microfluidos 29 en la que la cubierta 269 tiene orificios transversales correspondientes a los sumideros de elución 239 y los huecos 249 del chip de microfluidos 29. Por medio de esta cubierta se puede evitar el escape indeseado de fluido de los canales de fluido 219. Esto es especialmente ventajoso si se emplean canales de fluido 219 con diámetros relativamente grandes, si se emplea un líquido con propiedades de fuerza capilar escasa y en concreto si se utiliza un fluido 20 gaseoso.

**[0075]** En la **fig. 15** y la **fig. 16** se muestra otra forma de realización más de un sistema de obtención de imágenes conforme con la invención. Este se compone de una micromatriz de sorción 18 con un soporte 118, voladizos 128, puntas 138 y elementos de sorción 148 dispuestos como en la micromatriz de sorción 1 y como en la 25 micromatriz de sorción 19 descrita anteriormente. Además, consta de un chip de microfluidos 28 con canales de fluidos 218, una entrada 2118, sumideros de elución 238, huecos 268, una resistencia calefactora 258 y una cubierta 269 dispuesta básicamente como en el chip de microfluidos 29 descrito anteriormente. Además de los chips de microfluidos 2 y 29 descritos anteriormente, el chip de microfluidos 28 no contiene válvulas ni un noveno canal de fluidos que no pase por uno de los sumideros de elución 238. Además, el chip de microfluidos 28 tiene forma de T y 30 una porción de vástago 278, así como también una porción cruzada 288. La entrada 2118, los sumideros de elución 238, los huecos 248 y la resistencia calefactora 258 están dispuestos en la porción de vástago 278. La porción cruzada 288 consta de una fila de ocho salidas 2128 que están conectadas a uno de los canales de fluidos 218.

**[0076]** Como los canales de fluidos 218 se ensanchan en la porción cruzada 288 antes de terminar en las 35 salidas 2128, las salidas 2128 están separadas por una distancia relativamente grande. Por lo tanto, se pueden conectar fácilmente a un dispositivo de transferencia y/o de almacenamiento adecuado, como, por ejemplo, una microplaca con varios pocillos. En su aplicación, todos los elementos de sorción 148 de una fila de los elementos de sorción 148 de la micromatriz de sorción 18 se pueden eluir en un paso cuando se disponen dentro de la fila de sumideros de elución 238 mediante el paso del fluido, es decir, el eluyente, a través de la entrada 2118 y los canales 40 de fluido 218 por medio de los sumideros de elución 238. Después de pasar por las salidas 2128, el eluido se puede recoger en un dispositivo de almacenamiento y/o transferencia.

**[0077]** La **fig. 17** y la **fig. 18** presentan otra forma de realización de una micromatriz de sorción 17 conforme con la invención que consta de un soporte 117 y varios voladizos 127. En la primera región del extremo longitudinal 45 1217, cada uno de los voladizos 127 pasa al soporte 117. En la segunda región del extremo longitudinal 1227 de cada uno de los voladizos 127 se dispone una punta piramidal 137 con un ápice 1317. Cada punta 137 tiene un canal 1327 que se prolonga a través de la punta 137 en dirección longitudinal. Dentro de cada canal 1327 se dispone un elemento de sorción cilíndrica 147 de forma tal que se solapa con el ápice 1317 de su punta correspondiente 137.

50 **[0078]** Los elementos de sorción cilíndricos 147 tienen un volumen relativamente grande que puede absorber una cantidad relativamente grande sustancias y/o absorber moléculas relativamente grandes. Además, los canales 1327 se pueden conectar a una fuente de eluyente de forma tal que después de que se haya absorbido una sustancia se puedan eluir directamente los elementos de sorción 137 mediante los canales 1327.

55 **[0079]** La **fig. 19** y la **fig. 20** presentan otra forma de realización de una micromatriz de sorción 16 conforme con la invención que consta de un soporte 116 y varios voladizos 126. En la primera región del extremo longitudinal 1216, cada uno de los voladizos 126 pasa al soporte 116. En la segunda región del extremo longitudinal 1226 de cada uno de los voladizos 126 se dispone una punta piramidal 136 con un ápice 1316. Cada punta 136 tiene un

canal 1326 que se prolonga a través de la punta 136 en dirección longitudinal. Dentro de cada canal hay dispuesto un elemento de sorción cilíndrico 146 superpuesto al ápice 1316 de la punta 136 correspondiente y con un extremo puntiagudo que se proyecta hacia afuera del soporte 116.

5 **[0080]** Además de lo que se ha descrito en la forma de realización de la fig. 17 y la fig. 18, se pueden emplear los elementos de sorción 146 con los extremos puntiagudos para perforar una muestra de ensayo. En concreto, los elementos de sorción 146, por ejemplo, se pueden emplear para perforar la membrana de una muestra de ensayo de células biológicas para acceder al interior de la célula.

10 **[0081]** En la fig. 21 y la fig. 22 se muestra otra forma de realización más de un sistema de obtención de imágenes conforme con la invención. El sistema de obtención de imágenes consta de la micromatriz de sorción 16, un chip de microfluidos 27 y una pipeta 297. El chip de microfluidos 27 tiene sumideros de elución 237, cada uno de ellos con una parte con forma de embudo 2317 conectada a una boquilla 2327 apta para espectrometría de masas mediante ionización con electrospray.

15

**[0082]** Para eluir los elementos de sorción 146 de la micromatriz de sorción 16, la micromatriz de sorción 16 se puede colocar en la parte superior del chip de microfluidos 27 de forma tal que el extremo inferior de una fila de los elementos de sorción 146 junto con la parte inferior de los ápices correspondientes 1316 quede colocada dentro de las partes con forma de embudo 2317 de una fila de sumideros de elución 237 del chip de microfluidos 27. Luego, la pipeta 297 queda dispuesta en uno de los canales 1326 de la fila de los elementos de sorción 146 uno detrás de otro. Mientras está dentro de uno de los canales 1326, la pipeta 297 administra un eluyente en el elemento de sorción correspondiente 146. El eluido se transfiere del elemento de sorción 146 a la boquilla correspondiente 2327 o bien se recoge, por ejemplo, de la forma descrita anteriormente con otras formas de realización de chips de microfluidos. Para disponer de opciones de accesibilidad más avanzadas, las aberturas superiores de los canales 25 1326 están ensanchadas de forma tal que se pueda introducir fácilmente la pipeta 297.

**[0083]** Se pueden idear otras formas de realización alternativas de la micromatriz de sorción conforme con la invención, el sistema de obtención de imágenes y el método conforme con la invención. En este contexto se menciona explícitamente lo siguiente:

30

- La micromatriz de sorción puede tener también una forma distinta de la de un cuadrado. También se puede disponer un número de filas de elementos de sorción distinto de ocho en la micromatriz de sorción; cada fila podrá contar también con un número de elementos de sorción distinto de ocho. En concreto, la disposición de los elementos de sorción se puede adaptar conforme al dispositivo de transferencia y/o almacenamiento.

35 • Los elementos de sorción pueden disponerse directamente sobre los voladizos o directamente sobre el soporte.

- Las puntas pueden tener una forma adecuada distinta de la de una pirámide.

40 • También se pueden disponer los ápices de las puntas o incluso partes de los voladizos o del soporte como elementos de sorción. La disposición de la micromatriz de sorción con distintas filas de elementos de sorción puede ser tal que la distancia entre cada fila de elementos de sorción y la fila adyacente sea diferente de la distancia entre los elementos de sorción y los elementos de sorción adyacentes.

45 • Cuando se emplee una micromatriz de sorción con puntas que contengan canales, tal como la descrita anteriormente, un dispositivo de elución adecuado con una fuente de eluyente conectada a los canales puede eluir los elementos de sorción directamente mediante los canales. Por ejemplo, después de haber absorbido sustancias de una muestra de ensayo, se puede recolocar la micromatriz de sorción en una estación de recogida y se pueden purgar los elementos de sorción mediante el eluyente de forma tal que se eluyan las sustancias de los elementos de sorción.

## REIVINDICACIONES

1. Una micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) para la sorción de una sustancia de una muestra de ensayo, que consta de un soporte (11; 116; 117; 118; 119) y varios elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) dispuestos según unas características geométricas bien definidas en relación con el soporte (11; 116; 117; 118; 119), en el que la distancia entre cada elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) y el elemento de sorción adyacente (14; 146; 147; 148; 149) está predefinido, la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) consta además de varias puntas (13; 136; 137; 138; 139) conectadas al soporte (11; 116; 117; 118; 119), con cada elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) está dispuesto en un ápice (131; 1.316; 1317) de una de las puntas (13; 136; 137; 138; 139), **caracterizada porque** la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) consta además de varios voladizos (12; 126; 127; 128; 129) de los que cada uno tiene una primera región en un extremo longitudinal (121; 1216; 1.217) y una segunda región en un extremo longitudinal (122; 1226; 1.227), donde cada una de las primeras regiones de un extremo (121; 1216; 1217) están conectadas al soporte (11; 116; 117; 118; 119) y cada una de las segundas regiones de un extremo (122; 1226; 1227) están conectadas a uno de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) dispuestos en los ápices (131; 1316; 1317) de las puntas (13; 136; 137; 138; 139).
2. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de la reivindicación 1, en la que los distintos elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) están dispuestos en una fila y la distancia entre cada elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) y el adyacente (14; 146; 147; 148; 149) está predefinida.
3. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de la reivindicación 2, que consta de varias filas de elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149), en la que la distancia entre cada fila y su fila adyacente está predefinida.
4. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en las que la distancia entre cada elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) y el elemento de sorción adyacente (14; 146; 147; 148; 149) es menor de 100  $\mu\text{m}$ , preferiblemente menor que 30  $\mu\text{m}$ .
5. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que tiene una forma básicamente rectangular, en la que los lados son menores de 1  $\mu\text{m}$ .
6. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de la reivindicación 1 a 5, en la que cada punta (13; 136; 137; 138; 139) tiene un canal longitudinal en el que hay dispuesto uno de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) superpuesto al ápice (131; 1316; 1317) de la punta correspondiente (13; 136; 137; 138; 139).
7. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que cada elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) tiene una forma puntiaguda que sobresale fuera del soporte (11; 116; 117; 118; 119).
8. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en las que cada elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) tiene forma de glóbulo con un diámetro inferior a 50  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 20  $\mu\text{m}$  y más preferentemente aún inferior a 2  $\mu\text{m}$ .
9. La micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, coloreada de tal manera que cada uno de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) se pueda calentar mediante un haz de luz o radiación infrarroja.
10. Un sistema de obtención de imágenes que consta de una unidad de análisis, un dispositivo de almacenamiento y/o de visualización de datos, una micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) y un chip de microfluidos (2; 28; 29) con un canal de fluido (21; 218; 219) por el que puede circular un eluyente, y un sumidero de elución (23; 238; 239) que puede contener un elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) en conexión con el canal de fluidos (21; 218; 219), en el que los medios de almacenamiento y/o de visualización de datos están diseñados para ofrecer una representación gráfica de la información obtenida de la unidad de análisis junto con información de ubicación de la muestra de ensayo correspondiente, **caracterizado porque** la micromatriz de sorción es una micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) conforme con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
11. El sistema de obtención de imágenes de la reivindicación 10, en el que el chip de microfluidos (2; 28; 29) consta además de una válvula (22; 228) está dispuesto en el canal de fluidos (21; 218; 219) en posición anterior

con respecto al sumidero de elución (23; 238; 239) para controlar el eluyente que pasa por el sumidero de elución (23; 238; 239).

12. El sistema de obtención de imágenes de la reivindicación 10 u 11, en el que el chip de microfluidos (2; 28; 29) consta además de una resistencia calefactora (258, 259) para calentar el sumidero de elución (23; 238; 239).

13. El sistema de obtención de imágenes de cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que el chip de microfluidos (2; 28; 29) tiene varios canales de fluidos (21; 218; 219) y varios sumideros de elución (23; 238; 239) dispuestos para colocar los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) de una fila de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) de una vez.

14. El sistema de obtención de imágenes de cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en el que el chip de microfluidos (2; 28; 29) contiene también huecos (24; 248; 249) para colocar todos los demás elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) que no se coloquen en un sumidero de elución (23; 238; 239) cuando se coloque al menos uno de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) en el sumidero de elución).

15. Un método para obtener imágenes de la distribución de al menos una sustancia en una muestra de ensayo mediante un sistema de obtención de imágenes conforme con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, que contempla los pasos de:

20 (a) colocación de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) en contacto con la muestra de ensayo en una posición predefinida;

(b) sorción de al menos una sustancia de la muestra de ensayo en los elementos de sorción (14; 146; 148; 7; 149) de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19);

25 (c) reubicación de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) de la muestra de ensayo y colocación de esta en el chip de microfluidos (2; 28; 29) de tal manera que al menos un elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) quede colocado en al menos un sumidero de elución (23; 238; 239) del chip de microfluidos (2; 28; 29);

(d) elución de al menos una sustancia para extraerla de al menos un elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) colocado en al menos un sumidero de sorción (23; 238; 239);

30 (e) paso del eluido a una unidad de análisis para analizar al menos una sustancia;

(f) recogida de los resultados de análisis para obtener una imagen final que represente la muestra de ensayo;

(g) repetición de las etapas (c) a (f) con al menos el siguiente elemento de sorción (14; 146; 147; 148; 149) de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) hasta que cada de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19) hayan quedado colocados en al menos un sumidero de elución; y (f)

35 repetición de los pasos (a) a (g) cambiando las posiciones predefinidas hasta que la imagen final tenga una escala y una resolución predefinidas.

16. El método de la reivindicación 15, en el que la muestra de ensayo está presente en una sección congelada y cada uno de los elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) se calienta mientras se absorbe al menos una sustancia de la muestra de ensayo en elementos de sorción (14; 146; 147; 148; 149) de la micromatriz de sorción (1; 16; 17; 18; 19).

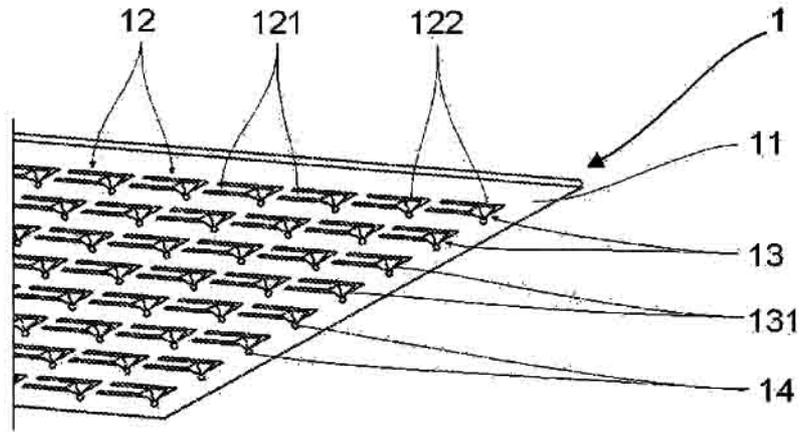


Fig. 1

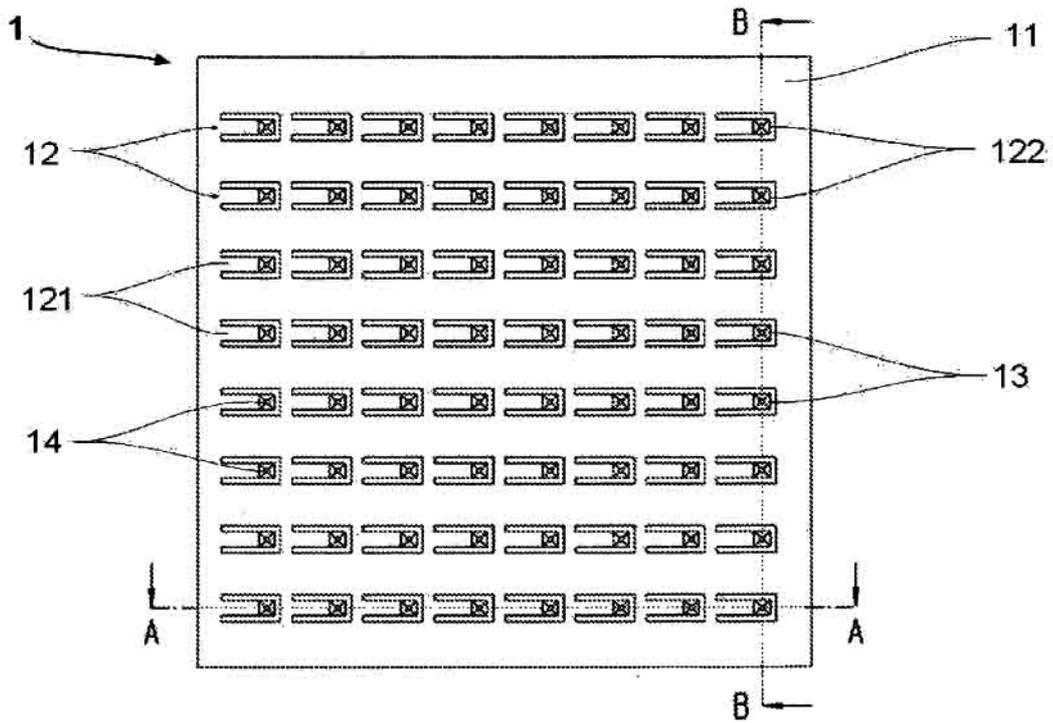


Fig. 2

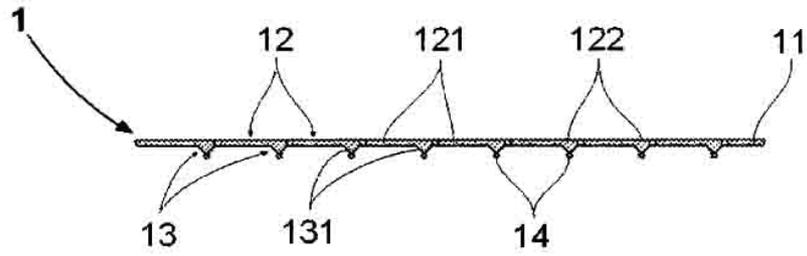


Fig. 3

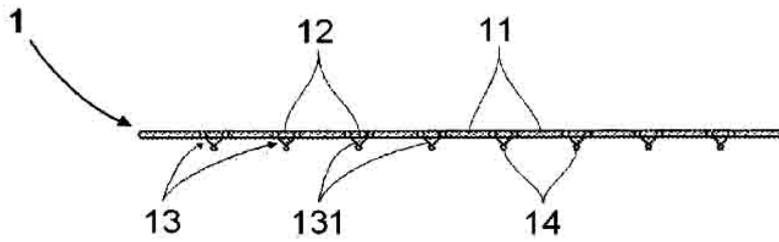


Fig. 4

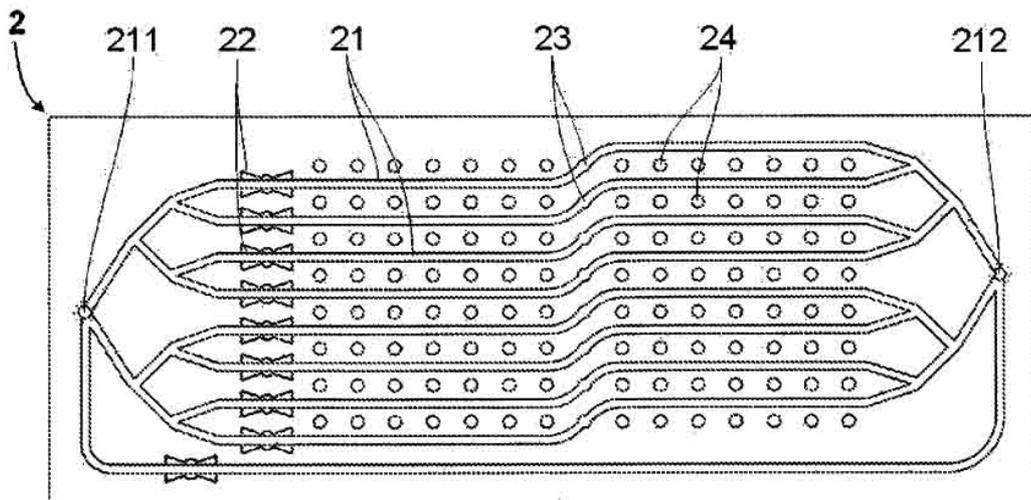


Fig. 5



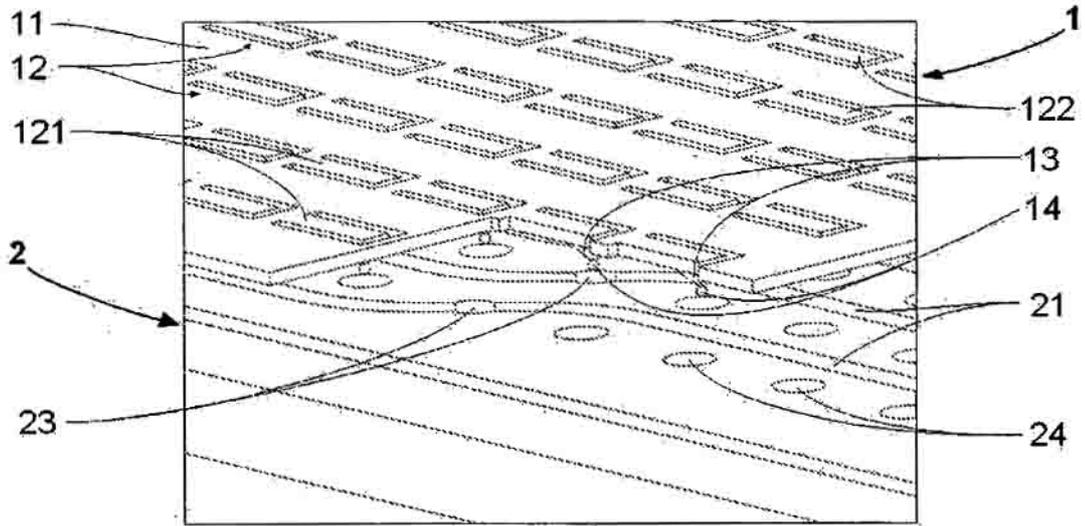


Fig. 9

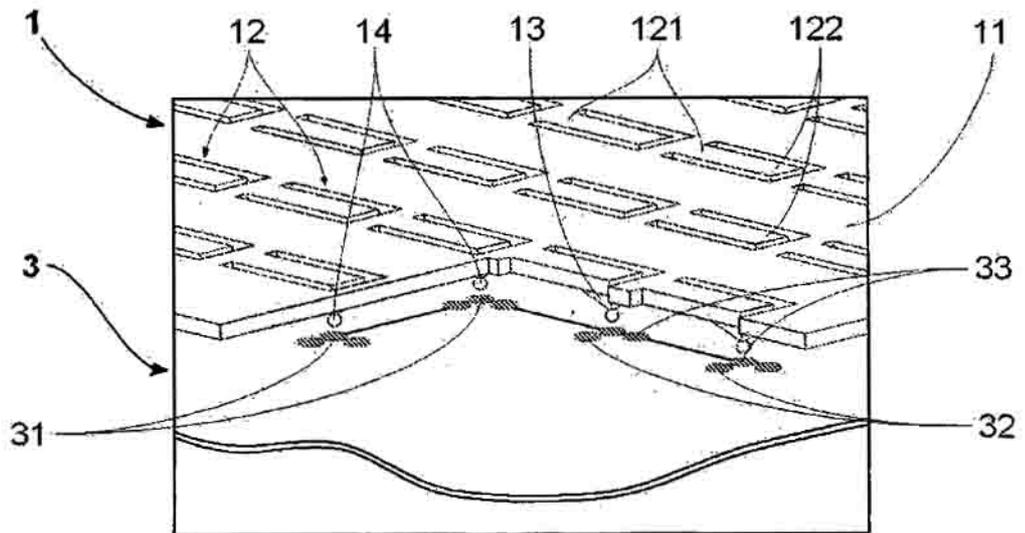


Fig. 10

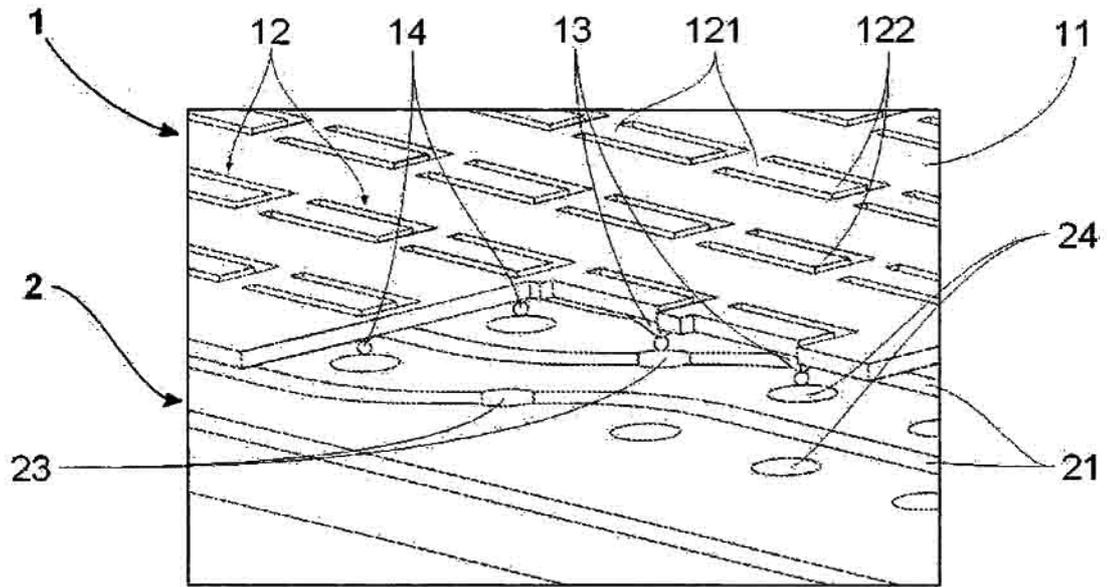


Fig. 11

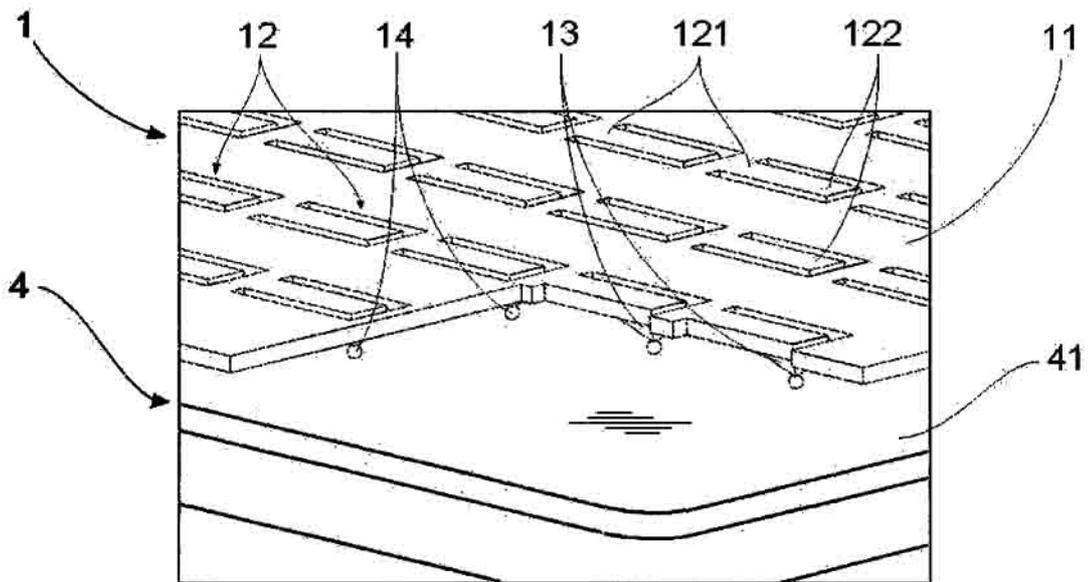


Fig. 12

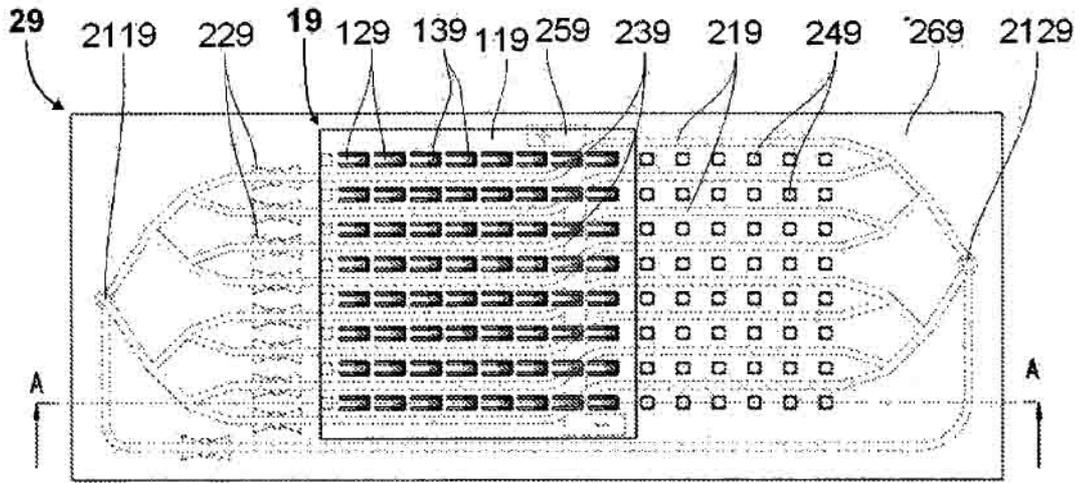


Fig. 13

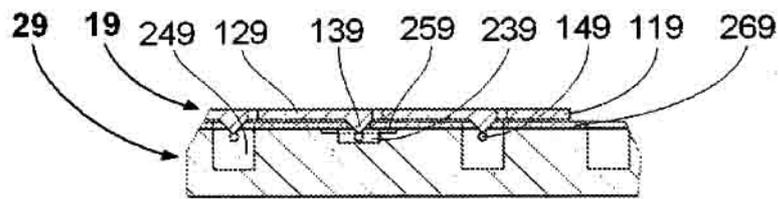


Fig. 14

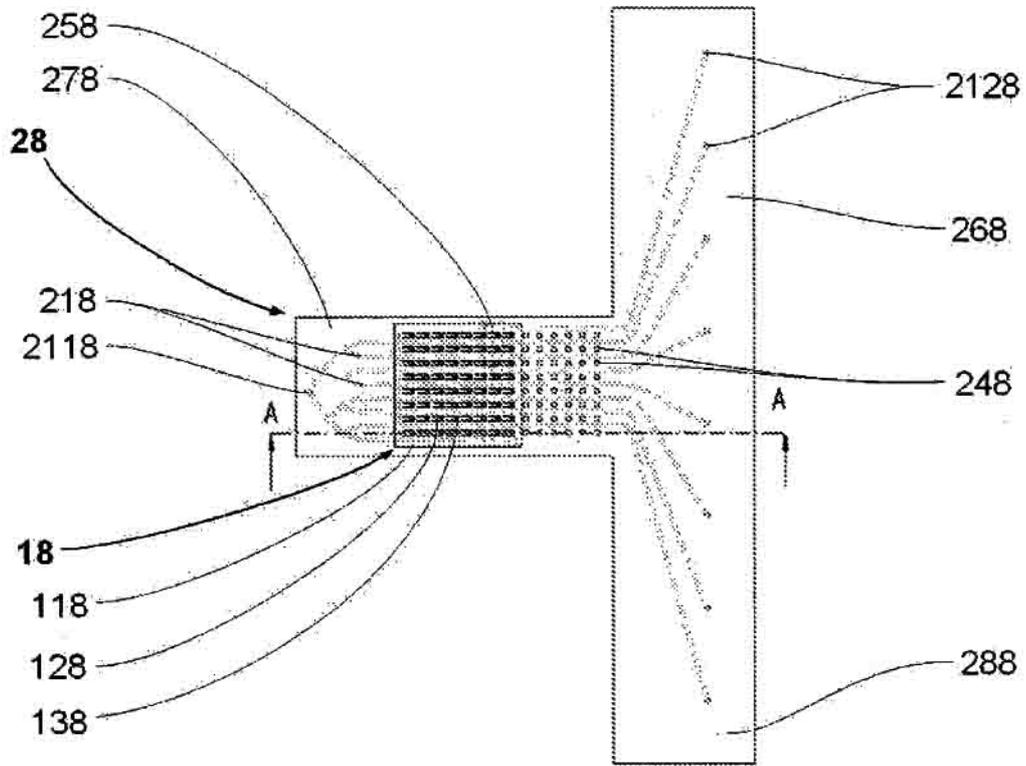


Fig. 15

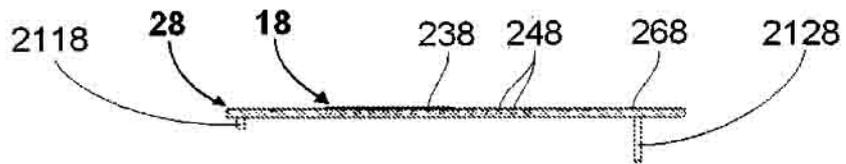


Fig. 16

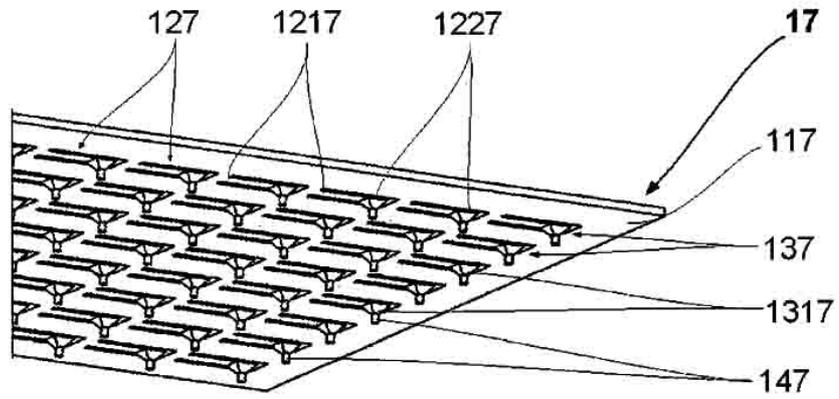


Fig. 17

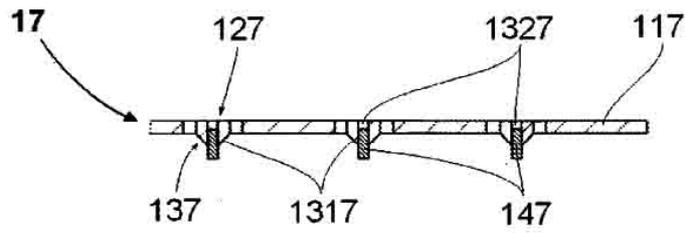


Fig. 18

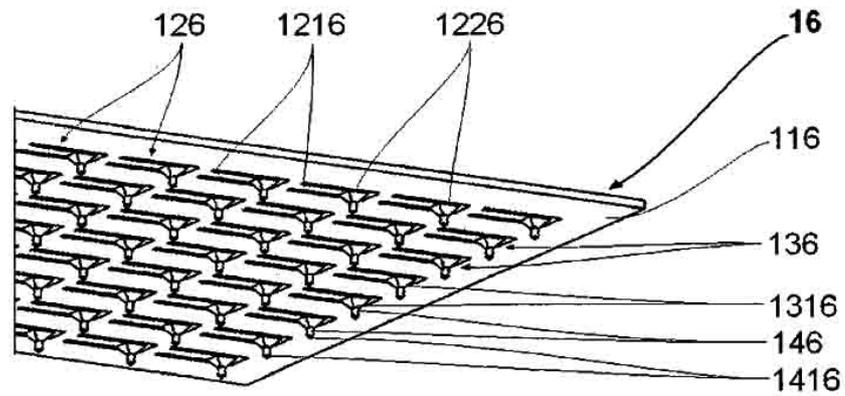


Fig. 19

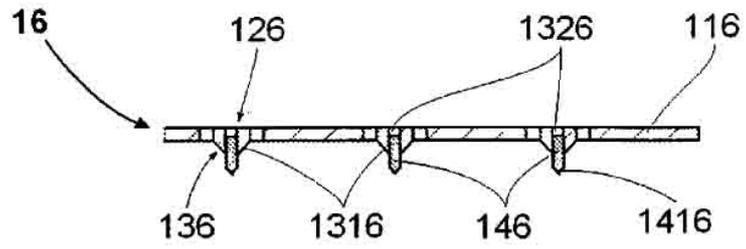


Fig. 20

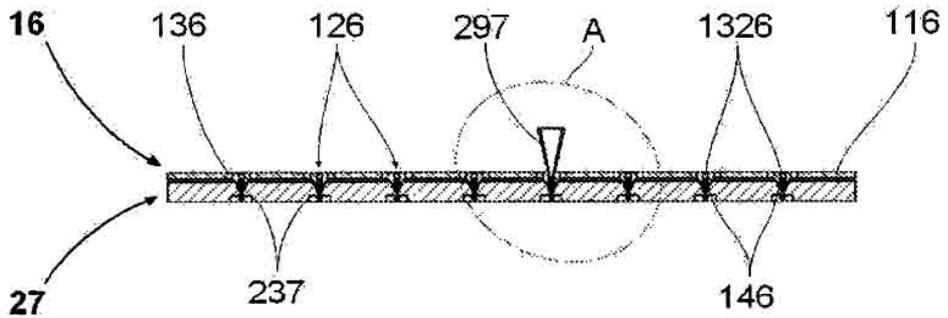


Fig 21

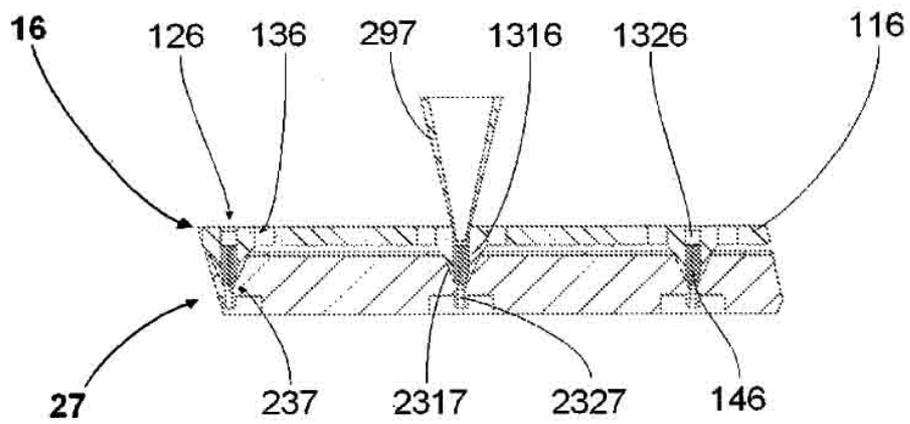


Fig. 22