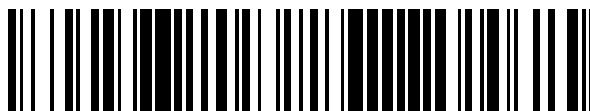


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 067**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/10** (2006.01)

**G01N 35/02** (2006.01)

**G01N 35/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2008 E 08170320 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.03.2016 EP 2192186**

54 Título: **Sistema y método para la extracción automática de ácidos nucleicos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.04.2016**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BACHMANN, HANS-RUDOLF;**  
**HAACK, CARSTEN;**  
**KNOBEL, ROLF;**  
**BARMETTLER, KURT;**  
**BURCH, HERBERT y**  
**BURMESTER, JÖRG**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 567 067 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**

Sistema y método para la extracción automática de ácidos nucleicos

5 CAMPO TÉCNICO

El presente invento se refiere al procesado de muestras que contienen ácidos nucleicos y mas particularmente se refiere a un sistema y método para la extracción automática de ácidos nucleicos.

10 ANTECEDENTES DEL INVENTO

15 Los ácidos nucleicos (ADN = ácidos desoxirribonucleicos, ARN = ácido ribonucleico) se utilizan frecuentemente como material de partida para varios análisis y ensayos en investigación médica y farmacéutica, diagnosis clínica y huellas digitales genético que típicamente requiere alta cantidad de admisión de ácidos nucleicos. En estos días pueden obtenerse fácilmente cantidades adecuadas de ácidos nucleicos con varias técnicas de amplificación de ácidos nucleicos in-vitro automáticas, por ejemplo basadas en la reacción de cadena de polimerasa bien conocida (PCR), que usualmente requiere la extracción (purificación) de los ácidos nucleicos antes de su amplificación.

20 Básicamente, la extracción de ácidos nucleicos de células o virus intactos implica la liberación de ácidos nucleicos de sus envoltentes tales como membranas celulares en el medio circundante y la separación y elución de los ácidos nucleicos liberados del resto. Si bien los ácidos nucleicos pueden liberarse fácilmente en la mezcla de los ácidos nucleicos que contienen muestras con reactivos específicos, seguido de incubación térmica de las mezclas de muestra-reactivo obtenidas para causar la lisis de las envoltentes, la separación y elución de los ácidos nucleicos liberados es algo mas difícil. Una técnica de separación utilizada frecuentemente en la práctica clínica hoy día reside en una matriz de adsorción sólida tal como partículas magnéticas que pueden volverse ligantes de forma reversible (de forma específica o no específica) a los ácidos nucleicos. Cuando se aplica un campo magnético las partículas unidas de los ácidos nucleicos pueden, por ejemplo, extraerse y ser retenidas en la pared interna de la cavidad que retiene la muestra facultando que el medio circundante se aparte y sea sustituido por otro fluido para resuspender los ácidos nucleicos contenidos.

25 En consideración a que existe un número creciente de análisis y ensayos que requieren alta cantidad de entrada de ácidos nucleicos, puede observarse una fuerte demanda para la extracción automática de ácidos nucleicos antes de su amplificación.

30 Sin embargo los sistemas automatizados de extracción de ácidos nucleicos como se encuentran actualmente disponibles en el mercado adolecen de un consumo altamente indeseable de desechables tales como boquillas de pipeteado y placas de múltiples pocillos que amplia desventajosamente los costos globales del procesado de muestras y debido a las frecuentes operaciones de rellenado pueden causar un agobio de trabajo para los técnicos. Por otra parte, cuando se reutilizan las boquillas de pipeteado y las placas de pocillos múltiples varias veces, es probable que se produzca un problema de transporte de sustancias y contaminación cruzada de las muestras lo que deteriora la pureza de los ácidos nucleicos obtenidos perjudicando la fiabilidad del sistema.

35 La patente europea nº 1615037 A1 se refiere a un instrumento y método para manipular líquidos que comprende una primera área de trabajo diseñada para acomodar las muestras y ponerlas en forma lista para ser analizadas y una segunda área de trabajo diseñada para aislar los componentes de la muestra. Específicamente, en el caso de aislamiento de ácidos nucleicos, el líquido como se recibe de la primera área de trabajo contiene reactivos para lisado de células y partículas magnéticas de vidrio así como reactivos que asisten en la unión de los ácidos nucleicos a las superficies de vidrio. Estos recipientes que contienen estas mezclas de muestras y reactivos se transfieren a la segunda área de trabajo. Luego cada mezcla se aspira y dispensa en otro recipiente para incubación, liberación de los ácidos nucleicos y eliminación de los componentes celulares restantes.

40 La patente europea nº 0977039 se refiere a un aparato y método de análisis para manipular fluidos corporales sin utilizar procesado, reactivos y producción de placas para procesar fluidos. Este documento silencia también el proporcionar reactivos para la mezcla posterior con muestras.

45 El presente invento se ha obtenido en vista de los problemas antes citados. Constituye por tanto un objeto del invento el proporcionar un nuevo sistema para la extracción de ácidos nucleicos antes de la amplificación lo que permite una reducción de los disponibles consumidos por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple sin correr el riesgo de transporte de sustancias y contaminación cruzada de muestras respectivamente.

50 SUMARIO DEL INVENTO

Este objeto se obtiene con un sistema y proceso de conformidad con las reivindicaciones dependientes. Las realizaciones preferidas se ofrecen en las sub-reivindicaciones.

De conformidad con un primer aspecto el invento proporciona un nuevo sistema para la extracción automática de ácidos nucleicos de sus envoltentes de una pluralidad de muestras que contienen ácidos nucleicos tal como ácidos nucleicos que contienen soluciones de células.

5 Por consiguiente se proporciona un sistema para la extracción automática de ácidos nucleicos de muestras que contienen ácidos nucleicos que comprende por lo menos un juego de tres placas, cada una de las cuales tiene una pluralidad de cavidades, que incluye una placa de proceso para procesar las muestras para extraer los ácidos nucleicos, una placa de reactivo para proporcionar reactivos para mezcla con las muestras y una placa de salida para guardar los ácidos nucleicos extraídos. Cada una de la placas puede, por ejemplo, estar incorporada como una  
10 placa multi-pocillos desechable que tiene una disposición planar de cavidades (pocillos) y, por ejemplo, puede moldearse con técnicas de moldeo por inyección convencionales.

Los ácidos nucleicos que contienen muestras que han de procesarse para la extracción de ácidos nucleicos están contenidas en cavidades de la placa de proceso. Las cavidades de la placa de proceso son llenadas de forma manual o automáticamente con las muestras que ocupan por lo menos alguna de todas las cavidades de la placa de proceso.  
15

El sistema comprende además un dispositivo de pipeteado de reactivo que incluye una pluralidad de pipetas de reactivo, cada una de las cuales está provista con una punta de pipeta re-utilizable (utilizable varias veces, apta para transferir reactivos a las cavidades de la placa de reactivos. Cuando se transfieren reactivos a las cavidades de la placa de reactivos se evita el contacto de las puntas de pipeta reutilizables con las paredes de las cavidades y la inmersión de las puntas de pipeta en los reactivos dispensados. Las puntas de pipeta re-utilizables se fijan firmemente a las pipetas de reactivo del dispositivo de pipeteado de reactivo y se obtienen de preferencia de un material metálico tal como acero. Los reactivos se proporcionan en cavidades de la placa de reactivos utilizando las  
20 puntas de pipeta reutilizables del dispositivo de pipeteado de reactivo. Las puntas de pipeta reutilizables pueden utilizarse repetidamente para transferir reactivos, por ejemplo, de contenedores de reactivos alojados en el sistema a la placa de reactivos.  
25

En el presente invento el término "reactivo" tiene por objeto incluir también fluidos que no reaccionen con las muestras (o sea adyuvantes) tal como soluciones de lavado.  
30

El número de cavidades de la placa de reactivos puede ser menor que, o igual a, el número de cavidades de la placa de proceso.

35 El sistema comprende además un dispositivo de pipeteado de muestras que incluye una pluralidad de pipetas de muestras, cada una de las cuales está provista con una punta de pipeta desechable, apta para transferir los fluidos a, o de, las cavidades de reactivo, placas de proceso o de salida. Las puntas de pipeta desechables se fijan de modo separable a las pipetas de muestras para sustituirse fácilmente y se obtienen de preferencia de material plástico. En contraste a las puntas de pipeta re-utilizables del dispositivo de pipeteado de reactivos que han de utilizarse varias veces y, típicamente se lavan entre operaciones de pipeteado consecutivas, las puntas de pipeta desechables han de utilizarse solo para operaciones de pipeteado de una muestra o de fluidos resultantes de la propia muestra.  
40

Con el empleo de puntas de pipeta desechables del dispositivo de pipeteado de muestras, los reactivos que están contenidos en las cavidades de la placa de reactivos se transfieren a las muestras para así obtener mezclas de muestra-reactivo, en donde cada cavidad de la placa de reactivo es asignada (recíprocamente) una-a-una a una muestra. Puede llevarse a cabo una o mas etapas de mezcla, por ejemplo utilizando las puntas de pipeta desechables para succión-vaciado-mezcla.  
45

50 Las mezclas de muestra-reactivo obtenidas se incuban en las cavidades de la placa de proceso por medio de un dispositivo de incubación tal como un dispositivo calefactor para causar lisis de las envoltentes que contienen ácidos nucleicos con el fin de liberar los ácidos nucleicos en el medio circundante para obtener de este modo fluidos conteniendo ácidos nucleicos liberados.

55 Después de la lisis (o puede ser aún antes o durante) se adicionan regularmente partículas sensibles magnéticamente en forma de una suspensión que contiene las partículas. Las partículas magnéticamente sensibles son aptas para unirse a los ácidos nucleicos. En el arte se conocen diversos tipos de estas partículas. La unión no específica puede obtenerse con partículas que tienen una superficie con afinidad a los ácidos nucleicos en general, tal como, por ejemplo, dióxido de silicio. Alternativamente puede utilizarse también partículas específicamente ligantes. Estas partículas, por ejemplo, tienen sobre su superficie sondas de captura de ácido nucleico que se unen específicamente para aparearse con ácidos nucleicos.  
60

El sistema comprende además un dispositivo de separación para separar partículas magnéticamente sensibles contenidas en los ácidos nucleicos liberados que contiene fluidos contenidos en las cavidades de la placa de proceso para de este modo separar magnéticamente los ácidos nucleicos unidos con partículas liberados de los fluidos. Esto puede llevarse a cabo de forma relativa con la transferencia de fluidos en las cavidades de la placa de  
65

proceso, seguido de la aplicación de un campo magnético y eliminando los sobrenadantes por medio del dispositivo de pipeteado de muestras.

5 Con el empleo de las puntas de pipeta desechables del dispositivo de pipeteado de muestras se transfieren los fluidos que contienen los ácidos nucleicos extraídos a las cavidades de la placa de salida, en donde cada cavidad de la placa de proceso que contiene ácidos nucleicos extraídos se asigna (recíprocamente) una-a-una a una cavidad de la placa de salida.

10 Así pues, las puntas de pipeta desechables se utilizan para transferir los reactivos de la placa de reactivos a la placa de proceso y para transferir los fluidos que contienen los ácidos nucleicos extraídos a la placa de salida, en donde cada muestra se asigna una a una a ambas de una cavidad en la placa de reactivo y una cavidad de la placa de salida. Además, cada muestra, o sea una cavidad de la placa de proceso que contiene la muestra, se asigna una a una a por lo menos una punta de pipeta disponible utilizada para llevar a cabo las operaciones de pipeteado anteriores. Esto significa que una punta de pipeta desechable individual se utiliza solo para el pipeteado de fluidos relativos a la misma muestra pero no para operaciones de pipeteado de otra muestra o fluidos resultantes de estas.

15 Expuesto mas particularmente, una muestra individual, o sea, una cavidad de la placa de proceso que contiene la muestra, una cavidad de la placa de reactivos y una cavidad de la placa de salida, junto con por lo menos una punta de pipeta desechable utilizada para operaciones de pipeteado constituye mutuamente una canal de proceso de muestras individual para extracción de ácidos nucleicos, de modo que se utiliza un canal de proceso de muestras independiente para procesar una muestra individual. Con el empleo de canales de proceso de muestras individuales se evita, ventajosamente la contaminación cruzada entre muestras. Además, debido a que solo se utilizan puntas de pipeta reutilizables de los dispositivos de pipeteado de reactivo para la transferencia de reactivos (por ejemplo de los contenedores de reactivos) a la cavidades de la placa de reactivos obviando el contacto de las paredes de las cavidades de la placa de reactivos cuando se suministran los reactivos y obviando la inmersión en los reactivos dispensados, se evita ventajosamente la transferencia de sustancias en los contenedores de reactivos.

20 Un controlador que, por ejemplo, puede incorporarse como un controlador lógico programable portador de un programa legible por máquina provisto con instrucciones para desempeñar operaciones de conformidad con un plan de operación de proceso predeterminado puede utilizarse para controlar las etapas llevadas a cabo para extraer ácidos nucleicos de las muestras que contienen ácidos nucleicos. En este caso el controlador se conecta eléctricamente a los componentes del sistema que requieren control como lo especifique el plan de operación del proceso que incluye el reactivo y los dispositivos de pipeteado de muestras, dispositivos de incubación y separación. Expuesto mas particularmente el controlador recibe información de los diferentes componentes del sistema y genera y transmite señales de control correspondientes para controlar los componentes de conformidad con el plan de operación del proceso.

25 Así pues, el controlador portador de un programa leible por máquina se configura para controlar: uso repetido de las puntas de pipeta re-utilizables del dispositivo de pipeteado de reactivo para proporcionar reactivos en cavidades de la placa de reactivo; transferir los reactivos a las muestras que utilizan las puntas de pipeta desechables del dispositivo de pipeteado de muestras para obtener mezclas de muestra-reactivo; incubación de las mezclas de muestra-reactivo en cavidades de la placa de proceso para liberar los ácidos nucleicos para obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos liberados; separar los ácidos nucleicos liberados contenidos en los ácidos nucleicos liberados que contienen fluidos en cavidades de las placas de proceso utilizando el dispositivo de separación para obtener fluidos que contienen ácidos nucleicos extraídos; y transferencia de los ácidos nucleicos extraídos que contienen fluidos a las cavidades de la placa de salida utilizando las puntas de pipeta desechables del dispositivo de pipeteado de muestras.

30 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

35 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

40 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

45 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

50 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

55 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

60 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

65 Así pues el sistema del presente invento supera los problemas de los sistemas de extracción convencionales al proporcionar y procesar las muestras en una misma placa de proceso consumiendo de este modo un número inferior de placas disponibles por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple. Debido a que los reactivos se proporcionan utilizando puntas de pipeta reutilizables, el consumo de puntas de pipeta desechables puede reducirse ventajosamente. Además, utilizando puntas de pipeta reutilizables para transferir los reactivos a la placa de reactivos y utilizando puntas de pipeta desechables para transferir los reactivos entre el reactivo, placas de procesos y producción, puede evitarse ventajosamente el trasiego de sustancias. Además, puede obtenerse una alta pureza de los ácidos nucleicos extraídos utilizando canales de proceso de muestras separados para cada una de las muestras conteniendo ácidos nucleicos, evitando ventajosamente contaminación cruzada entre las muestras.

individuales a cavidades de las placas de reactivo y salida se establece un proceso paralelo simultáneo de las muestras que contienen ácidos nucleicos en la placa de proceso.

De conformidad con otra modalidad preferida del sistema del invento un primer rango de movimientos del dispositivo de pipeteado de reactivo y un segundo rango de movimientos del dispositivo de pipeteado de muestras solapa exclusivamente a un área que contiene una placa de reactivo que, aparte de reducir los costes del sistema, en vista de un peligro reducido de colisión, permite, ventajosamente, un control simplificado de los dispositivos de pipeteado. Además la separación espacial de los dispositivos de pipeteado fuera del área que contiene la placa de reactivo contribuye ventajosamente a evitar el trasiego de sustancias y contaminación cruzada de muestras.

De conformidad con otra modalidad preferida del invento el sistema comprende un dispositivo de lavado, apto para el lavado de las puntas de pipeteado re-utilizables del dispositivo de pipeteado de reactivo. El controlador se configura de preferencia para controlar el lavado de las puntas de pipeteado reutilizables del dispositivo de pipeteado de reactivo entre operaciones de pipeteado consecutivas. Esta modalidad evita ventajosamente la contaminación de trasiego o cruzada cuando se transfieren diferentes reactivos a las cavidades de la placa de reactivos.

De conformidad con otra modalidad preferida del invento la separación de los ácidos nucleicos en los fluidos que contienen ácido nucleico liberado implica el uso de partículas magnéticamente sensibles (o sea partículas magnéticamente atraíbles o repelibles que pueden ser atraídas o repelidas por un campo magnético que no han de ser necesariamente de por sí magnéticas) que puede hacerse que se unan (de forma específica o no específica) a los ácidos nucleicos. En este caso el controlador puede, por ejemplo, ser configurado para controlar: la adición de las partículas magnéticamente sensibles a las mezclas de muestra-reactivo y unión de las partículas a los ácidos nucleicos; aplicar un campo magnético por medio de un dispositivo de generación de campo magnético para atraer las partículas unidas al ácido nucleico a las paredes internas de las cavidades de la placa de proceso y separar los componentes de muestra no unidos de las cavidades de la placa de proceso; desprender los ácidos nucleicos de las partículas magnéticas (elución); separar las partículas magnéticas; y transferir los fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos a cavidades de una placa de salida.

En la modalidad anterior del invento puede preferirse fijar los dispositivos de calentamiento y generación de campo magnético a un portador común para mover cada uno de estos en una posición operativa en donde es operable para procesar las muestras contenidas en la placa de reactivo y una posición inoperante, respectivamente, que ahorra ventajosamente espacio para disminuir las dimensiones globales del sistema. Además facilita que modalidades preferidas en donde la placa de proceso se mantiene estacionaria durante el procesado. Mas concretamente, los dispositivos de generación del calentamiento y campo magnético, por ejemplo, se mueven para pasar a posiciones operativas e inoperantes incluyendo el giro de los dispositivos entorno de un eje de rotación común que facilita una construcción altamente compacta del sistema en donde cada dispositivo puede enfrentar las cavidades de la placa de proceso o puede girarse apartándose de estas.

De conformidad con otra modalidad preferida del invento el sistema comprende por lo menos un agarrador, de preferencia un colgador, para soportar las placas, estando el agarrador soportado de forma móvil (por ejemplo deslizadamente) por medio de un miembro estructural del sistema tal como una placa de trabajo que faculta el movimiento del agarrador a una posición inoperante, apta para cargar o descargar las placas y una posición de agarrador operativa, apta para procesar las muestras contenidas en las cavidades de la placa de proceso. Típicamente, cuando se posiciona en posición inoperante, el agarrador puede residir por lo menos parcialmente fuera de un alojamiento del sistema para carga/descarga de las placas y, cuando se posiciona en posición operativa, reside en el interior del alojamiento del sistema para procesado de las muestras que contienen ácidos nucleicos contenidas en la placa de proceso. Esta modalidad permite ventajosamente que las placas se carguen fácilmente en el sistema o se separen de este. El llenado de las cavidades de la placa de proceso con las muestras que contienen ácidos nucleicos pueden de este modo llevarse a cabo fácilmente, por ejemplo, en el llenado de las muestras en las cavidades de la placa de proceso, seguido de la disposición de la placas de proceso en el agarrador o, en disponer la placa de proceso en el agarrador, seguido del llenado de las muestras en las cavidades de la placa de proceso.

Puede ser particularmente preferido proporcionar un agarrador soportado de forma móvil para acomodar las placas de proceso y salida mediante un mismo agarrador. Puede ser preferido específicamente que el agarrador facilite el acceso a las cavidades de la placa de proceso a partir de sus lados inferiores para extracción de los ácidos nucleicos contenidos en esta utilizando los dispositivos de generación de calor y campo magnético.

De conformidad con otra modalidad preferida del invento el sistema comprende por lo menos una placa de desecho de fluido que tiene cavidades plurales para recibir fluidos de desecho que se producen en la extracción de los ácidos nucleicos, de modo que la placa de desecho de fluido puede utilizarse ventajosamente para descartar el fluido de desecho que se produce en pasadas consecutivas de los sistemas para así proporcionar espacio adicional para el procesado de las muestras que contienen ácidos nucleicos.

5 De conformidad con otra modalidad preferida del invento el sistema comprende por lo menos una placa de descarga de desechos de puntas que tiene cavidades plurales para recibir puntas de pipetas desechables que se producen en la extracción de los ácidos nucleicos, de modo que la placa de desechos de puntas puede utilizarse ventajosamente para descartar las puntas de pipeta utilizadas que se producen en pruebas consecutivas de los sistemas para así proporcionar espacio adicional para el procesamiento de muestras que contienen ácidos nucleicos.

10 De conformidad con otra modalidad preferida del invento la por lo menos una placa de desecho de fluido y la por lo menos una placa de desecho de puntas están soportadas por un mismo soporte que facilita que el material de desecho sea convenientemente apartado del sistema.

15 De conformidad con otra modalidad preferida del invento el sistema comprende además por lo menos una placa de puntas que tiene una pluralidad de cavidades llena de puntas de pipeta desechables para utilizarse por el dispositivo de pipeteado de muestras en la extracción de ácidos nucleicos que permite ventajosamente un almacenamiento de las puntas de pipeta desechables en el sistema para de este modo facilitar pruebas consecutivas plurales del sistema. En este caso puede ser altamente preferible soportar las placas de puntas plurales por medio de un mismo soporte, de modo que el sistema puede cargarse convenientemente con las placas de puntas.

20 El sistema como se ha descrito antes puede acomodarse en un alojamiento de sistema para protegerse de influencias ambientales (externas).

De conformidad con un segundo aspecto el invento propone un nuevo método para la extracción automática de ácidos nucleicos de sus envoltentes tales como membranas de células de una pluralidad de muestras conteniendo ácidos nucleicos.

25 Así pues se proporciona un método para la extracción automática de ácidos nucleicos de muestras que contienen ácidos nucleicos que comprende las etapas siguientes:

- (a) proporcionar las muestras conteniendo ácidos nucleicos en cavidades de una placa de proceso;
- 30 (b) utilizar repetidamente puntas de pipeta reutilizables para proporcionar reactivos para mezcla con las muestras en cavidades de una placa de reactivos;
- (c) transferir los reactivos a dichas muestras utilizando puntas de pipeta desechables, en donde cada una de las muestras se asigna una a una ambas a una cavidad de la placa de reactivos y una punta de pipeta desechable para así obtener mezclas de muestra-reactivo;
- 35 (d) incubar las mezclas de muestra-reactivo en las cavidades de la placa de proceso para así liberar los ácidos nucleicos para obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos liberados;
- 40 (e) separar los ácidos nucleicos liberados contenidos en los fluidos que contienen ácidos nucleicos liberados en las cavidades de la placa de proceso para obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos; y
- (f) transferir los fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos a cavidades de una placa de salida utilizando puntas de pipeta desechables, en donde cada uno de los fluidos conteniendo ácidos nucleicos separados se asigna uno-a-uno a la vez a una cavidad de la placa de salida y a una punta de pipeta desechable.
- 45

50 De conformidad con una modalidad preferida del proceso del invento, por cada muestra, se utiliza solo una punta de pipeta desechable para transferir reactivo desde una cavidad de la placa de reactivo a una cavidad de la placa de proceso que contiene la muestra que contiene ácidos nucleicos asignada uno-a-uno y para transferir el fluido que contiene ácidos nucleicos extraídos obtenidos de este a una cavidad de la placa de salida asignados uno-a-uno a esta. Esta modalidad al tiempo que permite extracción de ácidos nucleicos de alta pureza debido a canales de proceso de muestras separadas, permite ventajosamente un consumo particularmente pequeño de puntas de pipeta desechables.

55 Alternativamente, de conformidad con otra modalidad preferida del proceso del invento, para cada muestra se utiliza una punta de pipeta desechable para transferir un reactivo a la muestra que contiene ácidos nucleicos asignado uno a uno a esta y se utiliza otra (una) punta de pipeta desechable para transferir fluido que contiene ácidos nucleicos extraídos obtenido de esta a una cavidad de la placa de salida asignado uno-a-uno a esta. Mientras que se permite un pequeño consumo de puntas de pipeta desechables, puede obtenerse extracción de ácidos nucleicos de pureza particularmente alta debido a transferir los ácidos nucleicos extraídos a la placa de salida utilizando una punta de pipeta desechable fresca.

60

65 De conformidad con otra modalidad preferida del procedimiento del invento las puntas de pipeta reutilizables se lavan en medio de operaciones de pipetado consecutivas para de este modo prevenir el trasiego o contaminación cruzada de sustancias.

De conformidad con otra modalidad preferida el número de puntas de pipeta desechables es el número de veces de puntas de pipeta reutilizables un número entero.

5 De conformidad con otra modalidad preferida del procedimiento del invento las puntas de pipeta desechables se utilizan para transferir fluidos de desecho que se producen en la extracción de los ácidos nucleicos a cavidades de una placa de desecho de fluido, por ejemplo, para proporcionar espacio adicional para el procesado de muestras conteniendo ácidos nucleicos.

10 De conformidad con otra modalidad preferida del procedimiento del invento puntas de pipeta desechables procedentes de la extracción de ácidos nucleicos se almacenan en cavidades de una placa de desecho de puntas, por ejemplo, para proporcionar espacio adicional para el procesado de muestras conteniendo ácidos nucleicos.

15 De conformidad con otra modalidad preferida del invento la placa de proceso se mantiene estacionaria durante y entre la liberación de los ácidos nucleicos, separación de los ácidos nucleicos de los componentes de célula restantes y transferencia (elución) de los ácidos nucleicos lo cual evita ventajosamente el derrame y/o contaminación de las muestras.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

20 Otros objetos, características y ventajas del invento aparecerán mas ampliamente a partir de la siguiente descripción. Los dibujos que se acompañan, que se incorporan y constituyen una parte de la descripción, ilustran una modalidad preferida del invento, y junto con la descripción general dada antes y la descripción detallada dada a continuación, sirve para explicar los principios del invento.

25 Figura 1 es una vista en alzado esquemática de una modalidad de ejemplo del sistema del invento.

Figura 2 es una vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 que ilustra una operación de pipetado del dispositivo de pipetado de reactivos;

30 Figura 3 es otra vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 ilustrando otra operación de pipetado del dispositivo de pipetado de reactivos;

Figura 4 es otra vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 ilustrando una operación del dispositivo de pipetado de muestras;

35 Figura 5 es otra vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 ilustrando otra operación de pipetado del dispositivo de pipetado de muestras;

40 Figura 6 es otra vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 ilustrando otra operación de pipetado del dispositivo de pipetado de muestras;

Figura 7 es otra vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 ilustrando todavía otra operación de pipetado del dispositivo de pipetado de muestras;

45 Figura 8 es otra vista fragmentaria ampliada del sistema de la figura 1 ilustrando todavía otra operación de pipetado del dispositivo de pipetado de muestras.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

50 El presente invento se describirá con detalle a continuación con referencia a los dibujos que se acompañan, en donde designaciones iguales denotan elementos iguales o similares. Haciendo ahora referencia a las figuras 1 a 8 se explica una modalidad de ejemplo del sistema y método de conformidad con el invento.

55 Consecuentemente, se describe un sistema 1 para el procesado en paralelo de muestras conteniendo ácidos nucleicos plurales tales como ácidos nucleicos que contienen soluciones de células para la extracción de ácidos nucleicos antes de ulterior procesado tal como amplificación. El sistema 1 incluye una placa de trabajo horizontal 2 que está soportada por una estructura 3 que descansa sobre una placa de base horizontal 4 sobre la que puede disponerse el sistema 1 sobre un banco de laboratorio o cualquier otra superficie apropiada.

60 La placa de trabajo 2 está provista con una pluralidad de cavidades rectangulares 5 dispuestas colateralmente entre si, siendo apta cada una de estas para acomodar soportes alargados 6-11. Como se ilustra en la figura 1, el sistema comprende seis soportes 6-11, concretamente un soporte de desechos 6, un soporte de procesado 7, un soporte de puntas 8, un primer soporte de reactivo 9, un segundo soporte de reactivo 10 y un soporte de botella 11. Cada soporte está provisto con secciones de retención plurales 15, aptas para acomodar varios objetos tales como placas y contenedores.

65

En la figura 1, el soporte de desechos 6 se muestra cargado con tres placas de desechos de puntas de 96 pipetas que están dispuestas en serie entre sí, cada una de las cuales tiene una disposición planar de 96 cavidades para recibir puntas de pipeta desechables y una placa de desechos fluidos de 96 pocillos 17 que tiene una disposición planar de 96 pocillos para recibir fluidos de desecho procedentes de la extracción de ácidos nucleicos. El soporte de procesado 7 se muestra para ser cargado con cuatro placas de 96 pocillos dispuestas en serie entre sí, que son dos placas de proceso 18, cada una de las cuales tiene 96 pocillos de placa de proceso 41 para recibir muestras que contienen ácidos nucleicos utilizados como materiales de partida para la extracción de ácidos nucleicos y dos placas de salida 19, cada una de las cuales tiene 96 pocillos de placa de salida 42 para recibir fluidos que contienen ácidos nucleicos extraídos. El soporte de puntas 8 se muestra para ser cargado con cuatro placas de puntas de 96 pipetas 20 dispuestas en serie entre sí, que tienen una construcción similar a las placas de desecho de puntas 16 para ser re-llenadas con 96 puntas de pipeta desechables. El primer y segundo soporte de reactivos 9, 10 respectivamente se muestran para ser cargados con una placa de reactivos de 96 pocillos 21 que tiene 96 pocillos de placa de reactivos 40 para recibir reactivos para mezcla con las muestras que contienen ácidos nucleicos y una pluralidad de contenedores de reactivo 37 que contienen reactivos diversos para mezcla con las muestras tales como tampón de lisis, soluciones de lavado y elución. El soporte de botellas 11 se muestra para ser cargado con diversas botellas 23 que contienen suspensiones de partículas magnéticamente sensibles, enzimas y reactivos de control. Las botellas 23 que contienen suspensiones de partículas magnéticamente sensibles pueden ser agitadas por un agitador 22 para resuspender las partículas que contienen.

A cada cavidad 5 puede accederse mediante una abertura a modo de ranura 12 en un lateral frontal del sistema 1 permitiendo que los soportes 6-11 se inserten en las cavidades 5 y se extraigan de estas, respectivamente. Para esta finalidad cada soporte 6-11 está provisto con dos nervios laterales 13 que se extienden linealmente en paralelo entre sí que, cuando se insertan los soportes 6-11 en las cavidades 5, entran en empeño de acoplamiento con las ranuras 14 formadas por la placa de trabajo 2 para soportar de modo deslizante los soportes 6-11. Cada uno de los soportes 6-11 se puede extraer por completo de su cavidad 5 para cargarse o descargarse con placas o contenedores, respectivamente. De otro modo, cada soporte 6-11 puede insertarse totalmente en su cavidad 5 en cuya posición una superficie frontal 28 de cada uno de los soportes 6-11 está en contacto con una superficie adyacente 27 de la cavidad 5.

Como se ha detallado antes el soporte de procesado 7 acomoda dos placas de proceso 18 para llenarse con las muestras que contienen ácidos nucleicos utilizados como materiales de partida para la extracción de ácidos nucleicos. Para este fin, el soporte de procesado 7 está provisto con dos secciones de retención sin fondo 15 para acomodar las placas de proceso 18 permitiendo que las placas de proceso 18 sean accesibles desde abajo para procesar las muestras que contienen ácidos nucleicos acomodadas en estas. Mas particularmente en el caso de que el soporte de procesado 7 esté totalmente insertado en su cavidad 5, las muestras que contienen ácidos nucleicos contenidas en cada una de las placas de proceso 18 pueden procesarse para la extracción de ácidos nucleicos por medio de un dispositivo de calentamiento 24 y un dispositivo de generación de campo magnético (no detallado en las figuras), disponiéndose ambos por debajo del soporte de procesado 7 pueden moverse hacia cada una de las placas de proceso 18 o separarse de estas por medio de un mecanismo de movimiento (no detallado adicionalmente aquí). El dispositivo de calentamiento 24 está provisto con una disposición planar de espigas de calentamiento en proyección 25 dispuestas de conformidad con vacíos formados entre los pocillos 41 de una placa de proceso individual 18 de modo que las espigas de calentamiento 25 pueden sumergirse en los vacíos cuando el dispositivo de calentamiento 24 se mueve hacia cada una de las placas de proceso 18. Con la aplicación de una corriente eléctrica al dispositivo de calentamiento 24 se produce el calentamiento de las espigas 25 para generar calor óhmico con el fin de aplicar energía térmica a las muestras que contienen ácidos nucleicos acomodadas en los pocillos 41 de las placas de proceso 18. De modo análogo el dispositivo de generación de campo magnético está provisto con una disposición planar de espigas magnéticas en proyección, que se disponen de conformidad con los vacíos entre los pocillos de las placas de proceso 18 de modo que las espigas magnéticas pueden sumergirse en los vacíos cuando el dispositivo de generación de campo magnético se mueve hacia una placa de proceso individual 18. Las espigas magnéticas se obtienen de material magnético permanente, que cuando se sumergen en los vacíos entre los pocillos 41 causa que las partículas sensibles magnéticamente ligadas a ácido nucleico contenidas se extraigan y retengan sobre las paredes internas de los pocillos llenados con las muestras que contienen ácidos nucleicos. Alternativamente, las espigas magnéticas pueden incorporarse como electroimanes que pueden magnetizarse cuando se aplica una corriente eléctrica. Los dispositivos de calentamiento generación de campo magnético se fijan a un portador 26 en relación opuesta entre sí. El portador 26 es accionado giratoriamente entorno de un eje rotacional de modo que los dispositivos de generación de calentamiento y campo magnético pueden alternativamente enfrenar una placa de proceso individual 18 o pueden apartarse de esta. Combinando la operación de giro del portador 26 con su movimiento de translación, los dispositivos de calentamiento y generación de campo magnético pueden moverse en una posición operativa e inoperante, respectivamente, con respecto a una placa de proceso individual 18, en donde cuando está en posición operativa las espigas de calentamiento o magnéticas pueden sumergirse en los huecos de los pocillos 41 de una placa de proceso individual 18 para procesar las muestras que contienen ácidos nucleicos acomodadas en estos. Por ejemplo, a partir del dispositivo de calentamiento 24 en posición operativa, el dispositivo magnético puede moverse en posición operativa descendiendo verticalmente el portador 26, girando este en 180°, seguido de su elevación en vertical hacia la placa de proceso 18.



Como se ilustra en las figuras 2 y 3 el sistema 1 incluye además un pipetador de reactivo 29 (dispositivo de multi-pipetado) provisto con cuatro pipetas de reactivo 30 que se disponen en serie entre sí y aptas para transferir reactivos a cada una de las placas de reactivo 21. Cada pipeta de reactivo 30 está provista con una punta de pipeta re-utilizable 31 obtenida de acero y fijada firmemente a la pipeta de reactivo 30.

Un dispositivo de lavado 35 que comprende cuatro cavidades de lavado 35 que pueden llenarse con fluido de lavado (por ejemplo fluido del sistema líquido del pipetador de reactivo 29) mediante las pipetas de reactivo 30 pueden utilizarse para lavar las puntas de pipeta re-utilizables 31 entre operaciones de pipetado consecutivas. Las cavidades de lavado 36 se disponen en serie entre sí de conformidad con una interdistancia de las puntas de pipeta reutilizables 31.

En base a un sistema de posicionado de pipeteador de reactivo (no detallado aquí mas adelante), el pipeteador de reactivo 29 puede moverse dentro de un rango de movimiento que cubre un área que incluye el soporte de botellas 11, el primer y segundo soportes de reactivo 9, 10 y el dispositivo de lavado 35, pero sin incluir el soporte de puntas 8, el soporte de procesado 7 y el soporte de desechos 6. El sistema de posicionado de pipeteador de reactivo tiene componentes de movimiento en dos direcciones de desplazamiento en un plano y una tercera dirección de desplazamiento vertical tal como un sistema de translación de tres barras convencional.

Como se ilustra en las figuras 4 a 8, el sistema 1 incluye además un pipeteador de muestras 32 (dispositivo de multi-pipeteado), que está provisto con 96 pipetas de muestra 33 dispuestas en un orden, aptas para transferir fluidos a, o de, cada una de las placas de reactivo 21, las placas de proceso 18 y las placas de salida 19. En base a un sistema de posicionado de pipeteadores de muestra (no detallado aquí mas adelante), el pipeteador de muestras 32 puede moverse dentro de un rango de movimiento que cubre un área que incluye el primer y segundo soportes de reactivos 9, 10, el soporte de puntas 8, el soporte de procesado 7 y el soporte de desechos 6, pero no incluye el soporte de botellas 11. El sistema de posicionado de pipeteador tiene componentes de movimiento en dos direcciones de desplazamiento en un plano y una tercera dirección de desplazamiento vertical a este, tal como un sistema de translación de tres barras convencional.

Así pues, el reactivo y pipeteador de muestras tiene rangos de movimientos que se solapan en un área que incluye exclusivamente el primer y segundo soporte de reactivos 9, 10.

Cada pipeta de muestras 33 está provista con una punta de pipeta desechable de material plástico que se empeña por fricción con la pipeta de muestras 33 para fijarse esta de modo separable. Básicamente el acoplamiento entre puntas de pipeta y pipetas es bien conocido por los expertos en el arte y, por ejemplo, se describe en la patente europea nº 1171240.

El sistema 1 todavía comprende además un controlador (no mostrado en las figuras) para controlar la extracción automática de ácidos nucleicos de conformidad con un plan de operación de proceso predeterminado que, por ejemplo, puede incorporarse como un controlador lógico programable que ejecuta un programa legible por ordenador provisto con instrucciones para desempeñar operaciones de conformidad con el plan de operación del proceso.

Si bien en las figuras se muestran números específicos de placas y contenedores de fluido ha de entenderse que el número de estos componentes puede variar de conformidad con necesidades específicas para la extracción de ácidos nucleicos. En lugar de placas de 96 pocillos y placas de 96 puntas de pipeta como se muestra para cargarse en los soportes, puede utilizarse alternativamente placas de diferentes tamaños tal como placas de 48 pocillos y placas de 48 puntas de pipeta de conformidad con necesidades específicas para la extracción de ácidos nucleicos.

Con referencia a la figura 2 a 8, se expone una modalidad de ejemplo del método para extraer ácidos nucleicos.

El proceso se inicia proporcionando una pluralidad de muestras que contienen ácidos nucleicos (por ejemplo soluciones de células) que se llenan directamente en una o ambas de las placas de proceso 18 para utilizarse como materiales de partida para la extracción de ácidos nucleicos (lo cual no se detalla en las figuras). Cada placa de proceso 18 puede re-llenarse de forma manual o automática con muestras que contienen ácidos nucleicos y luego pueden cargarse en un soporte de procesado 7 o pueden llenarse alternativamente con las muestras cuando el soporte de procesado 7 se ha situado ya en posición operativa. Para cuanto sigue se considera que se pre-llenan manualmente con muestras que contienen ácidos nucleicos 96 pocillos de placa de proceso de solo una placa de proceso 18.

Como se ilustra en las figuras 2 y 3 se transfiere el tampón de lisis contenido en contenedores de fluido 37 a una (o alternativamente ambas) de las placas de reactivo 21 utilizando el pipeteador de reactivo 29. Mas concretamente, disponiendo las puntas de pipeta re-utilizables 31 sobre un contenedor de reactivo 37 que contiene cuatro compartimientos de reactivo separados, las puntas de pipeta reutilizables 31 obtenidas de acero se mueven en direcciones hacia abajo verticales para penetrar a través de láminas metálicas de cada uno de los compartimientos del contenedor de reactivos 37 para sumergirse en el reactivo contenido en estos para succionar el reactivo y transferirlo a los pocillos de placa de reactivos 40 de la placa de reactivos 21 lo cual se repite con tanta frecuencia

como sea necesario hasta que se ha obtenido un número de 96 reactivos en la placa de reactivos 21. Mas concretamente, cuando se lleva a cabo una operación de pipeteado simple los reactivos pueden ser transferidos en paralelo a cuatro pocillos 40 de la placa de reactivos 21 de modo que han de llevarse a cabo de 1 a 24 operaciones de pipeteado proporcionando 96 reactivos que utilizan (las mismas) puntas de pipeta reutilizables 31 del pipeteador de reactivo 29. Sin embargo debe entenderse que el instrumento puede ser operable con menos de 96 muestras y por consiguiente deben ser suficientes menos operaciones de pipeteado para añadir reactivo a las muestras.

Como se ilustra en las figuras 4 y 5, utilizando las puntas de pipeta desechables del pipeteador de muestras 32, los reactivos (tampón de lisis) que se han transferido a la placa de reactivos 21 se transfieren simultáneamente en paralelo de los pocillos de placa de reactivos 40 a los pocillos de placa de proceso llenados de muestra 42 de la placa de proceso 18. Como se especifica en el plan de operación de proceso, el reactivo contenido en un pocillo de placa de reactivo 40 que se asigna uno a uno a una muestra conteniendo ácidos nucleicos se transfiere a esta muestra utilizando una punta de pipeta desechable 34 asignada una-a-una a esta muestra (esta asignación una a una significa también que una cavidad de la placa de reactivos se asigna una-a-una a una cavidad de la placa de proceso). Por consiguiente se utilizan 96 puntas de pipeta desechables para transferir 96 reactivos a las 96 muestras que contienen ácidos nucleicos en paralelo.

Luego se mezclan los reactivos (tampón de lisis) con las muestras que desempeñan una o mas operaciones de succión-y-escupido utilizando las mismas puntas de pipeta desechables 34 utilizándose las puntas de pipeta desechables 34 para transferir los reactivos y mezclar los reactivos transferidos con las muestras.

Como se ilustra en la figura 6, las mezclas de muestra-reactivo obtenidas se procesan luego para liberar los ácidos nucleicos contenidos. En primer lugar, incubando las células, se mueve el dispositivo calefactor 24 hacia la placa de proceso 18 que contiene las mezclas de muestra-reactivo, de modo que las espigas de calentamiento 25 pueden sumergirse en los vacíos entre los pocillos de la placa de proceso 41. Con la aplicación de corriente eléctrica al dispositivo de calentamiento 24 se genera calor óhmico y se transfiere conductivamente a las muestras para incubar las células con el fin de que revienten y liberen los ácidos nucleicos en el medio circundante. La placa de proceso 18 se mantiene de preferencia estacionaria durante la incubación de las células.

Después de haber sido eliminado el tampón de lisis de la placa de reactivo, las suspensiones de las partículas magnéticamente sensibles de las botellas 23, que se han sacudido recientemente mediante el sacudidor 22 para resuspender las partículas contenidas, se transfieren a los pocillos de la placa de reactivos 40 mediante las puntas de pipeteado reutilizables 31 del pipeteador de reactivos 29. Las partículas magnéticamente sensibles que contienen suspensiones se transfieren luego de los pocillos de la placa de reactivos 40 a los pocillos de la placa de proceso 41 vía las puntas desechables. Para tomar estas suspensiones las partículas que eventualmente podrían haberse sedimentado se re-suspenden mediante operaciones de succión y escupido con las puntas desechables. Las partículas magnéticamente sensibles contenidas en las mezclas de muestra-reactivo (por ejemplo las partículas de vidrio magnéticas que tienen una superficie vítrea y un núcleo magnéticamente sensible) se ligan a los ácidos nucleicos liberados para de este modo obtener partículas sensibles magnéticamente ligadas a ácido nucleico.

Después de ligar las partículas magnéticamente sensibles con ácidos nucleicos, se lleva a cabo una etapa de separación magnética que incluye manipulación de las partículas magnéticas ligadas a molécula en donde el dispositivo de generación de campo magnético (no ilustrado) se mueve hacia la placa de proceso 18, de modo que las espigas magnéticas puedan sumergirse en los vacíos entre los pocillos de la placa de proceso 41 de la placa de proceso 18 para de este modo aplicar campos magnéticos que causan que las partículas magnéticas unidas a la molécula sean extraídas y retenidas sobre las paredes internas de los pocillos. La retención de las partículas magnéticas unidas a molécula sobre las paredes internas de los pocillos, pueden aspirarse fluidos sobrenadantes (fluidos de desecho) de las muestras y verterse en la placa de desechos 17 del soporte de desechos 6 utilizando las puntas de pipeta desechables 34 como se ilustra en la figura 7.

Después de la separación de los fluidos sobrenadantes, se lleva a cabo por lo menos otra etapa de lavado incluyendo manipulación de las partículas magnéticas unidas a molécula. El tampón de lavado se transfiere de los contenedores de fluido 37 al pipeteador de reactivo 29. El tampón de lavado se transfiere luego de los pocillos de la placa de reactivo 40 a los pocillos de la placa de proceso utilizando las puntas de pipeta desechables 34. Cada vez que solución de lavado fresca se transfiere a los pocillos de la placa de proceso 41 se elimina el campo magnético y se resuspenden las partículas magnéticamente sensibles unidas a molécula en el tampón de lavado. La resuspensión puede realizarse mediante operaciones de succión y escupido con la solución de lavado en la placa de proceso. Luego los fluidos sobrenadantes se separan después de aplicar un campo magnético para separar las partículas magnéticas.

El tampón de elución que se ha transferido a los pocillos 40 de la placa de reactivo mediante las puntas de pipeteado reutilizables 31 del pipeteador de reactivo 29, se transfiere de los pocillos de la placa de reactivos 40 a los pocillos de la placa de proceso 41 utilizando las puntas de pipeta desechables 34. Luego los ácidos nucleicos se hace que se separen de las partículas magnéticamente sensibles mediante tampón de elución. Las partículas magnéticamente sensibles se separan de nuevo aplicando el campo magnético y el fluido sobrenadante que contiene los ácidos nucleicos extraídos se aspira mediante puntas desechables y se dispensa en la placa de salida.

Se utiliza de preferencia puntas de pipeta desechables frescas 34 para de este modo obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos puros. Cada uno de los fluidos conteniendo ácidos nucleicos separados (o sea los fluidos sobrenadantes) se asignan uno a uno a la vez a una cavidad de la placa de salida y a una punta de pipeta desechable 34. Los fluidos que contienen ácidos nucleicos separados pueden utilizarse para ulterior procesado o análisis de los ácidos nucleicos, tal como amplificación de ácidos nucleicos.

La placa de proceso 18 se mantiene de preferencia estacionaria durante y entre las etapas de incubación y separación magnética. En las operaciones de pipeteado utilizando puntas de pipeta desechables 34 del pipeteador de muestras 32, se mantiene una cesión uno a uno entre las muestras que contienen ácidos nucleicos (o sea pocillos de la placa de proceso 41) y ambos, los pocillos de placa de salida 42 y las puntas de pipeta desechables 34, utilizadas para las operaciones de pipeteado de varios reactivos.

Las puntas de pipeta reutilizables 31 del pipeteador de reactivos 29 pueden lavarse entre el pipeteado de un reactivo igual o diferente antes de transferir los reactivos desde contenedores de fluido 37 y botellas 23, respectivamente, a los pocillos de la placa de salida 42 de la placa de reactivo 21 utilizando el dispositivo de lavado 35. El lavado de las puntas de pipeteado re-utilizables puede llevarse a cabo mediante el descenso vertical de las puntas de pipeta reutilizables 31 hacia las cavidades de lavado 36, escupiendo fluido del sistema de líquido en los contenedores hasta que las puntas de pipeteado reutilizables 31 se sumergen en el fluido del sistema de líquido para lavar también su superficie.

Por lo tanto,

- (a) proporcionando los reactivos en una placa de reactivos dedicada 21 utilizando las puntas de pipeta reutilizables 31,
- (b) transfiriendo los reactivos a las muestras que contienen ácidos nucleicos proporcionados en la placa de proceso 18 utilizando las puntas de pipeta desechables 34,
- (c) llevando a cabo la liberación de ácidos nucleicos y separación magnética en la placa de proceso 18 utilizando las mismas puntas de pipeteado desechables 34, mientras se mantiene una cesión una-a-una entre las muestras (o sea pocillos de la placa de proceso 41) y tanto los pocillos de la placa de reactivo como las puntas de pipeta desechables 34, y
- (d) transfiriendo los ácidos nucleicos extraídos a los pocillos de la placa de salida 42 de la placa de salida 19 utilizando las mismas puntas de pipeteado frescas o desechables, mientras que se mantiene una cesión una-a-una entre los pocillos de la placa de proceso 41 y tanto los pocillos de la placa de salida 42 como las puntas de pipeta desechables 34,

puede obtenerse un consumo comparablemente bajo de desechables por prueba de extracción de ácidos nucleicos simple sin riesgo mayor de transportar sustancias y contaminación cruzada de muestras debido a canales de proceso de muestras separadas para cada una de las muestras. Además manteniendo la placa de proceso 18 estacionaria durante y entre las etapas de incubación y separación magnética se reduce ventajosamente el riesgo de contaminación y/o derrame de las muestras cuando se lleva a cabo la extracción de ácidos nucleicos.

Obviamente son posibles muchas modificaciones y variaciones del presente invento en vista de la anterior descripción. Por consiguiente debe entenderse que dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas el invento puede llevarse a la práctica de otro modo al diseñado de forma específica.

Lista de referencias

- 1 Sistema
- 2 Placa de trabajo
- 3 Subestructura
- 4 Placa de base
- 5 Cavidad
- 6 Soporte de desechos
- 7 Soporte de procesado
- 8 Soporte de puntas
- 9 Soporte de primer reactivo
- 10 Soporte de segundo reactivo
- 11 Soporte de botella
- 12 Abertura
- 13 Nervio
- 14 Ranura
- 15 Sección de retención
- 16 Placa de desecho de puntas
- 17 Placa de desecho de fluido

	18	Placa de proceso
	19	Placa de salida
	20	Placa de puntas
	21	Placa de reactivo
5	22	Agitador
	23	Botella
	24	Dispositivo de calentamiento
	25	Espiga de calentamiento
	26	Vehículo
10	27	Superficie de adyacencia
	28	Superficie frontal
	29	Pipeteador de reactivo
	30	Pipeta de reactivo
	31	Punta de pipeta reutilizable
15	32	Pipeteador de muestras
	33	Pipeta de muestras
	34	Punta de pipeta desechable
	35	Dispositivo de lavado
	36	Cavidad de lavado
20	37	Contenedor de fluido
	38	Tapa de contenedor
	39	Tapa de botella
	40	Pocillo de placa de reactivo
	41	Pocillo de placa de proceso
25	42	Pocillo de placa de salida

## REIVINDICACIONES

1. Un sistema (1) para la extracción automática de ácidos nucleicos de muestras que contienen ácidos nucleicos, que comprende por lo menos un juego de tres placas (18, 19, 21), cada de las cuales tiene cavidades plurales (40-42), incluyendo una placa de proceso (18) para procesar dichos ácidos nucleicos, una placa de reactivo (21) para proporcionar reactivos para mezclar con dichas muestras y una placa de salida (19) para salida de dichos ácidos nucleicos extraídos, en donde dichas muestras están contenidas en cavidades (41) de dicha placa de proceso (18), que comprende:
- 5 un dispositivo de pipeteado de reactivo (29) que comprende una pluralidad de pipetas de reactivo (30) provistas con puntas de pipeta reutilizables (31) utilizadas repetidamente para proporcionar dichos reactivos en dichas cavidades (40) de dicha placa de reactivos (21), en donde las puntas de pipeta reutilizables (31) se aseguran fijamente a las pipetas de reactivo (30) y se obtienen de un material metálico;
- 10 un dispositivo de pipeteado de muestras (32) que comprende una pluralidad de pipetas de muestras (33) provistas con puntas de pipeta desechables (34) para pipeteado de dichos reactivos de dichas cavidades (40) de dicha placa de reactivos (21) a dichas muestras contenidas en dichas cavidades (41) de dicha placa de proceso (18) para obtener mezclas de muestra-reactivo y para transferir fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos de dichas cavidades (41) de dicha placa de proceso (18) a dichas cavidades (42) de dicha placa de salida (19),
- 15 un dispositivo de incubación (24, 25) para incubar dichas mezclas de muestra-reactivo en dichas cavidades (41) de dicha placa de proceso (18) para liberar los ácidos nucleicos;
- 20 un dispositivo de separación para separar dichos ácidos nucleicos liberados en dichas cavidades (41) de dicha placa de proceso (18) para obtener dichos fluidos que contienen ácidos nucleicos extraídos;
- 25 un controlador para controlar etapas para extraer ácidos nucleicos de dichas muestras que contienen ácidos nucleicos, configurado para controlar: uso repetido de las puntas de pipeta re-utilizables (31) del dispositivo de pipeteado de reactivo (29) para proporcionar reactivos en las cavidades (40) de dicha placa de reactivos (21); transferir los reactivos a las muestras utilizando las puntas de pipeta desechables (34) del dispositivo de pipeteado de muestras (32) para obtener mezclas de muestra-reactivo; incubar las mezclas de muestra-reactivo en cavidades (41) de la placa de proceso (18) utilizando el dispositivo de incubación (24,25) para liberar los ácidos nucleicos para obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos liberados; separar los ácidos nucleicos liberados contenidos en los fluidos que contienen ácidos nucleicos liberados en cavidades (41) de la placa de proceso (18) utilizando el dispositivo de separación para obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos liberados; y transferir los fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos a cavidades (42) de la placa de salida (19) utilizando las puntas de pipeta desechables (34) del dispositivo de pipeteado de muestras (32);
- 30 en donde el número de cavidades (41) que contienen dichas muestras es igual al número de cavidades (40) que contienen dichos reactivos, en donde cada una de dichas muestras se asigna una-a-una a una cavidad (40) de dicha placa de reactivos (21), en por lo menos una punta de pipeta desechable (34) y una cavidad (42) de dicha placa de salida (19).
- 35
2. El sistema (1) de conformidad con la reivindicación 1, que comprende además un dispositivo de lavado (35), apto para lavar las puntas de pipeteado re-utilizables.
- 40
3. El sistema (1) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 y 2, que comprende por lo menos un soporte (6-11) para soportar las placas (18, 19, 21), siendo móvil el soporte entre por lo menos una posición de soporte inoperante, apta para cargar o descargar las placas, y una posición de soporte operativa apta para extracción de los ácidos nucleicos.
- 45
4. El sistema (1) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 3, que comprende además por lo menos una placa de desecho de fluido (17) que tiene plurales cavidades para recibir fluidos de desecho procedentes de la extracción de los ácidos nucleicos.
- 50
5. El sistema (1) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 4, que comprende además por lo menos una placa de desecho de puntas (16) que tiene plurales cavidades para recibir puntas de pipeta utilizadas (34) procedentes de la extracción de ácidos nucleicos.
- 55
6. El sistema (1) de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 5, que comprende además por lo menos una placa de puntas (20) que tiene una pluralidad de cavidades para ser llenadas con puntas de pipeta desechables utilizadas (34) procedentes de la extracción de los ácidos nucleicos.
- 60
7. Un procedimiento para la extracción automática de ácidos nucleicos de muestras conteniendo ácidos nucleicos utilizando un sistema de conformidad con la reivindicación 1, que comprende las etapas siguientes de:
- disponer dichas muestras en cavidades (41) de una placa de proceso (18);
- utilizar repetidamente las puntas de pipeta reutilizables (31) para proporcionar reactivos para reaccionar con dichas muestras en cavidades (40) de una placa de reactivo (21);

- transferir dichos reactivos a dichas muestras utilizando puntas de pipeta desechables (34), en donde cada una de dichas muestras se destina una-a-una a la vez a una cavidad (40) de dicha placa de reactivo (21) y a una punta de pipeta desechable (34) para obtener mezclas de muestra-reactivo;
- 5      incubar las mezclas de muestra-reactivo en la placa de proceso (18) para liberar los ácidos nucleicos;
- 5      separar dichos ácidos nucleicos liberados acomodados en la placa de proceso (18) para obtener fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos;
- 10     transferir dichos fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos a cavidades (42) de una placa de salida (19) utilizando puntas de pipeta desechables (34), en donde cada uno de los fluidos conteniendo ácidos nucleicos extraídos se asigna uno-a-uno, a la vez, a una cavidad de la placa de salida (19) y a una punta de pipeta desechable (34).
- 15     8. El procedimiento de la reivindicación 7, en donde, para cada una de las muestras se utiliza una punta de pipeta desechable (34) para transferir un reactivo a la muestra y para transferir el fluido que contiene ácidos nucleicos extraídos obtenido de esta reacción a una cavidad (42) de dicha placa de salida (19).
- 20     9. El procedimiento de la reivindicación 7, en donde para cada una de las muestras se utiliza una punta de pipeta desechable (34) para transferir un reactivo a la muestra y se utiliza otra punta de pipeta desechable (34) para transferir los ácidos nucleicos extraídos que contienen fluido obtenido de esta reacción a una cavidad (42) de dicha placa de salida (19).
- 25     10. El procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 7 a 9, en donde dichas puntas de pipeta reutilizables (31) se lavan en el intervalo entre operaciones de pipeteado consecutivas.
- 30     11. El procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 7 a 10, en donde dichas puntas de pipeta rechazables (34) se utilizan para transferir fluido de desecho procedente de la extracción de ácidos nucleicos a cavidades de una placa de desechos de fluido (1).
- 35     12. El procedimiento, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 7 a 11, en donde las puntas de pipeta desechables utilizadas (34) procedentes de la extracción de los ácidos nucleicos se almacenan en cavidades de una placa de desechos de puntas (16).
- 40     13. El procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 7 a 12, en donde dicha placa de proceso (18) se mantiene estacionaria durante y en el intervalo entre la liberación y separación de los ácidos nucleicos.
- 40     14. El procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes 7 a 13, en donde dichas puntas de pipeta reutilizables (31) se mueven en un primer rango de movimientos y dichas puntas de pipeta rechazables (34) se mueven en un segundo rango de movimientos, solapándose dicho primer y segundo rango de movimientos exclusivamente en un área de placa de reactivo (21) que contenga dicha placa de reactivo (21).

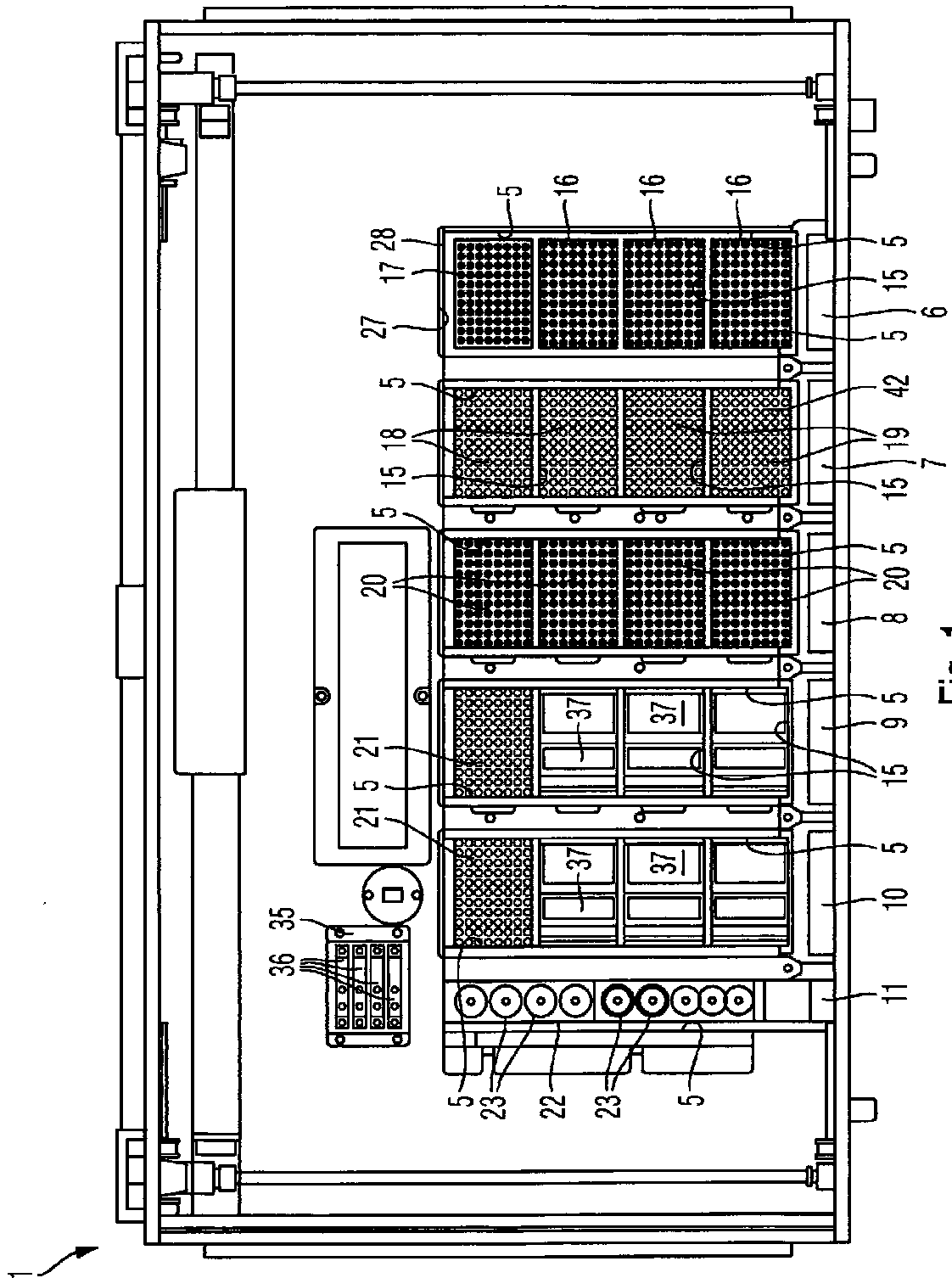


Fig. 1

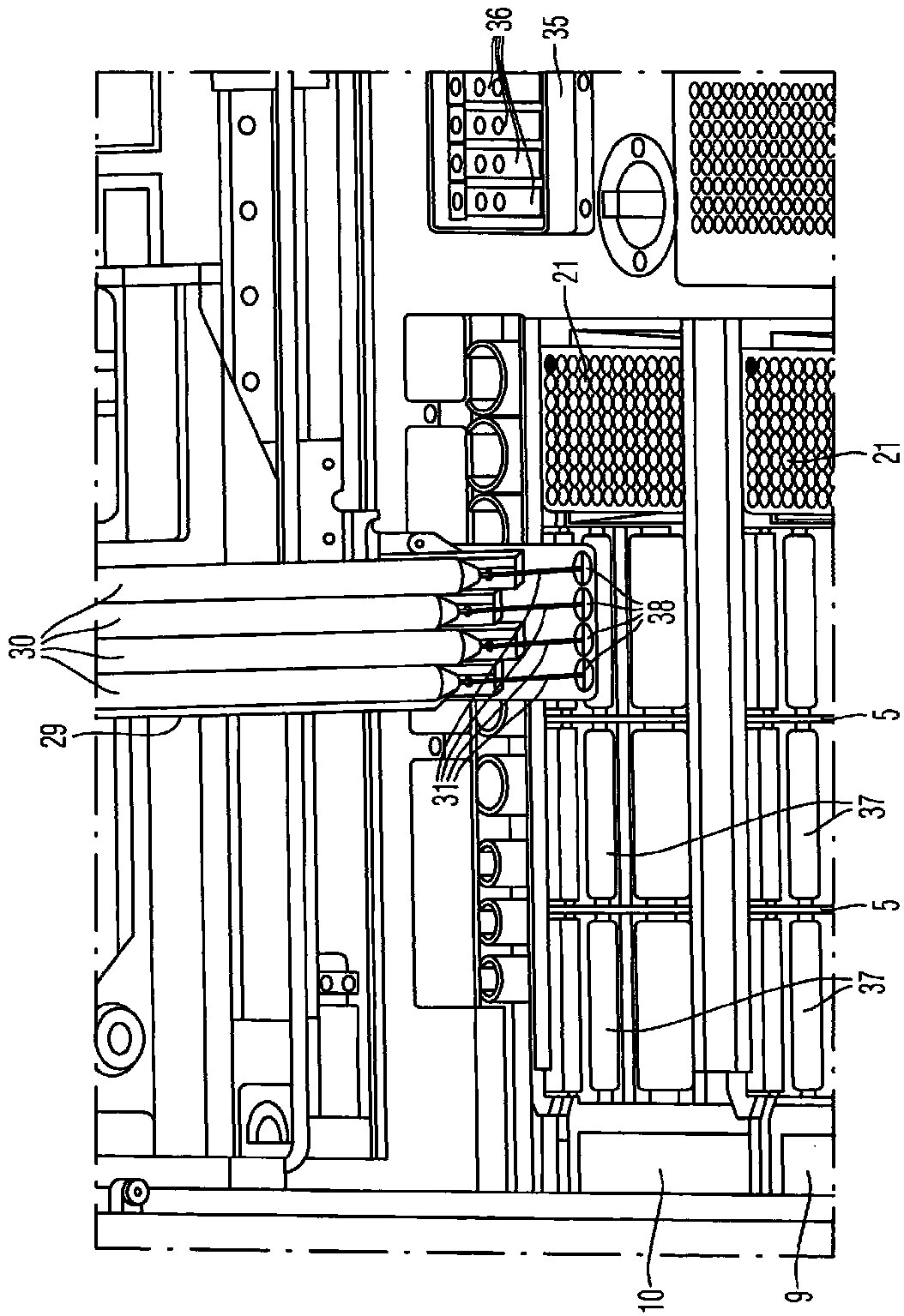


Fig. 2



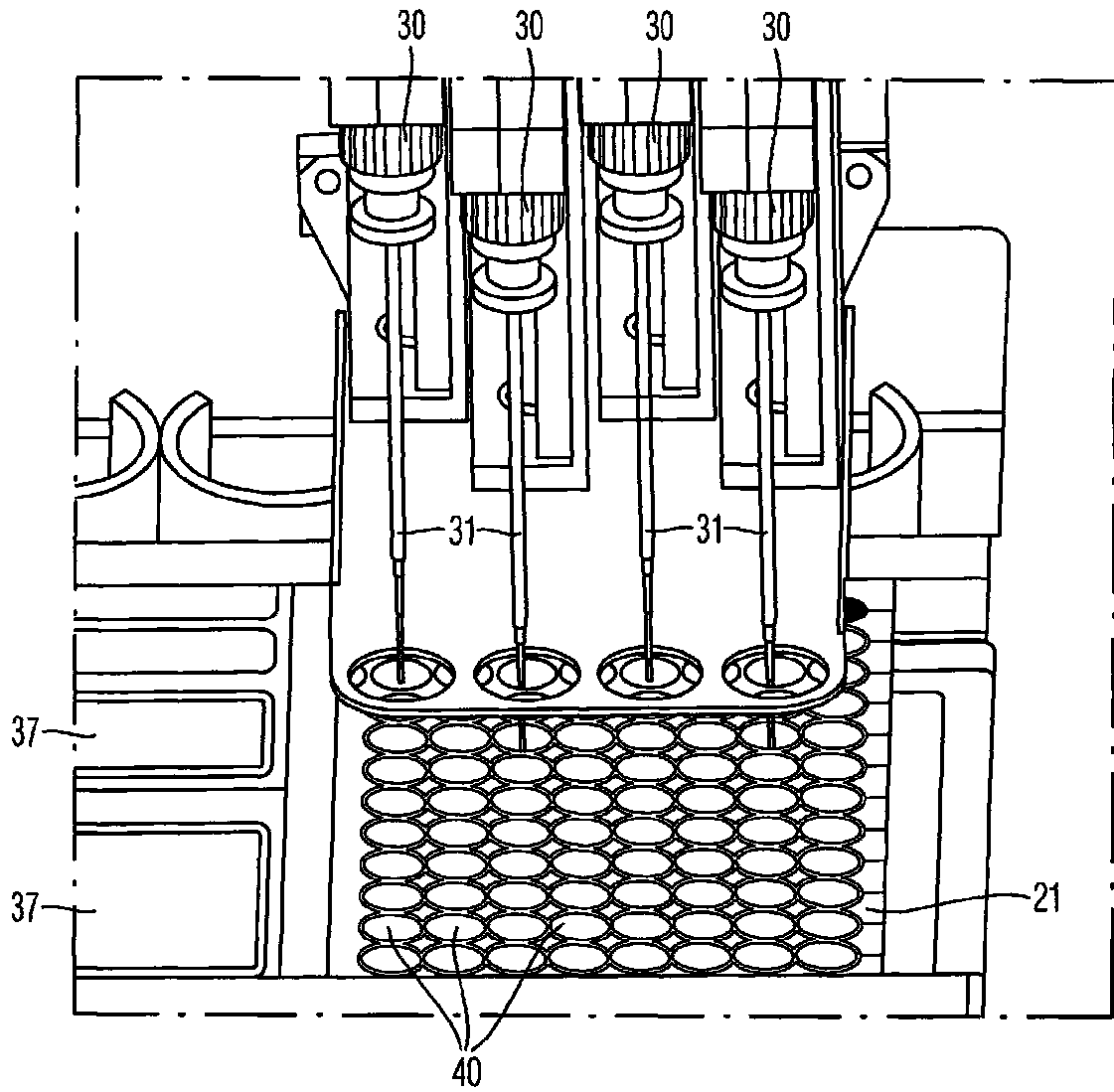


Fig. 3

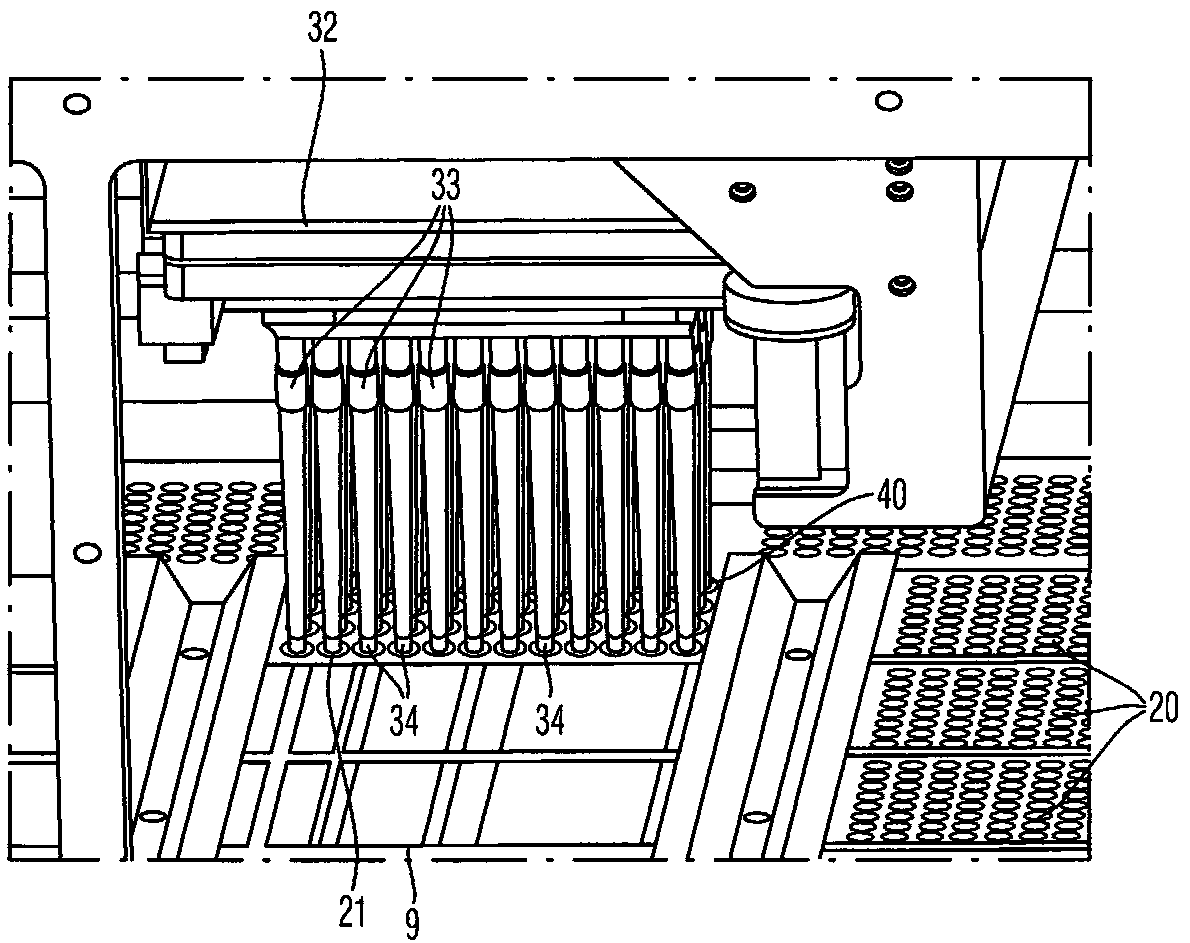


Fig. 4

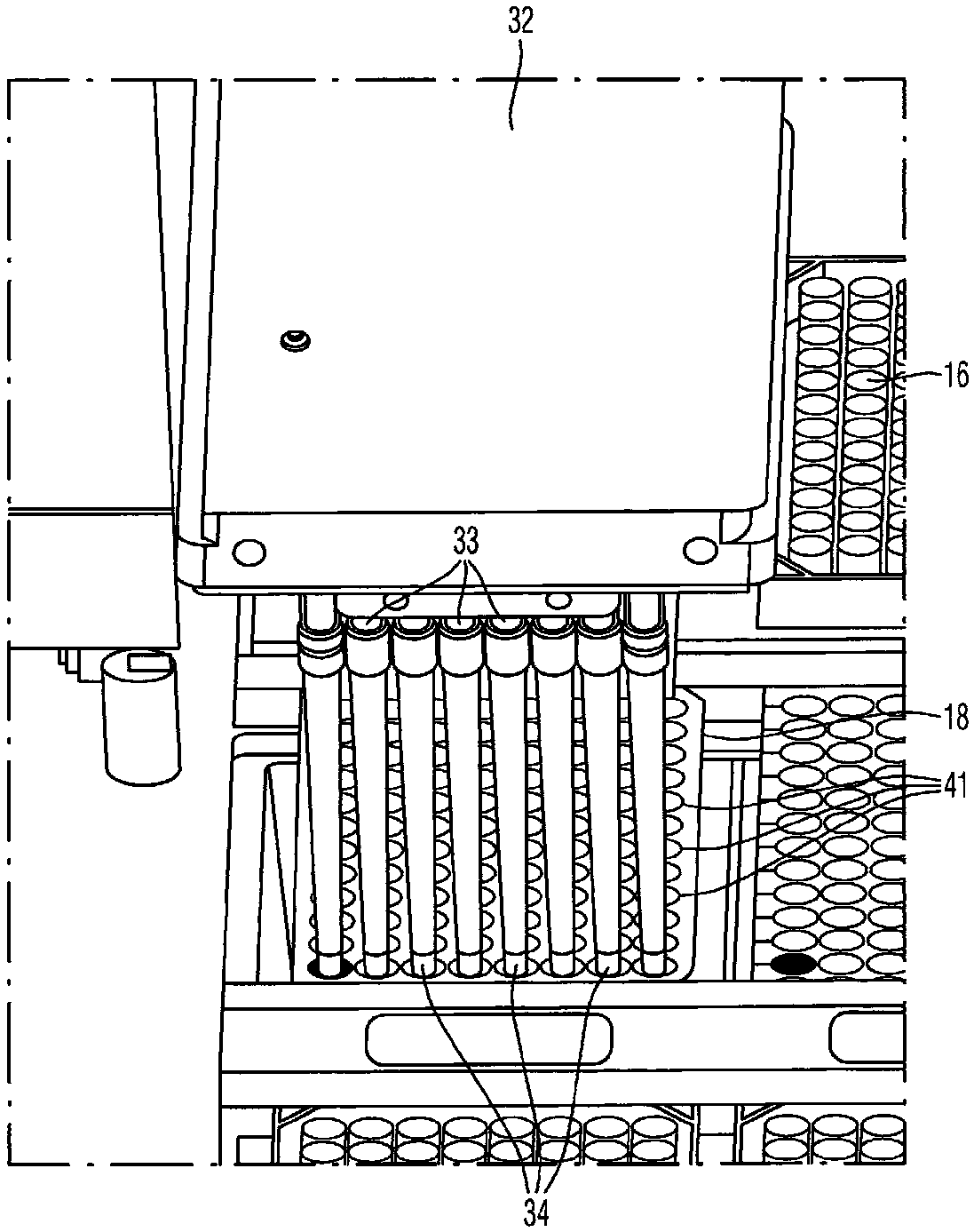


Fig. 5

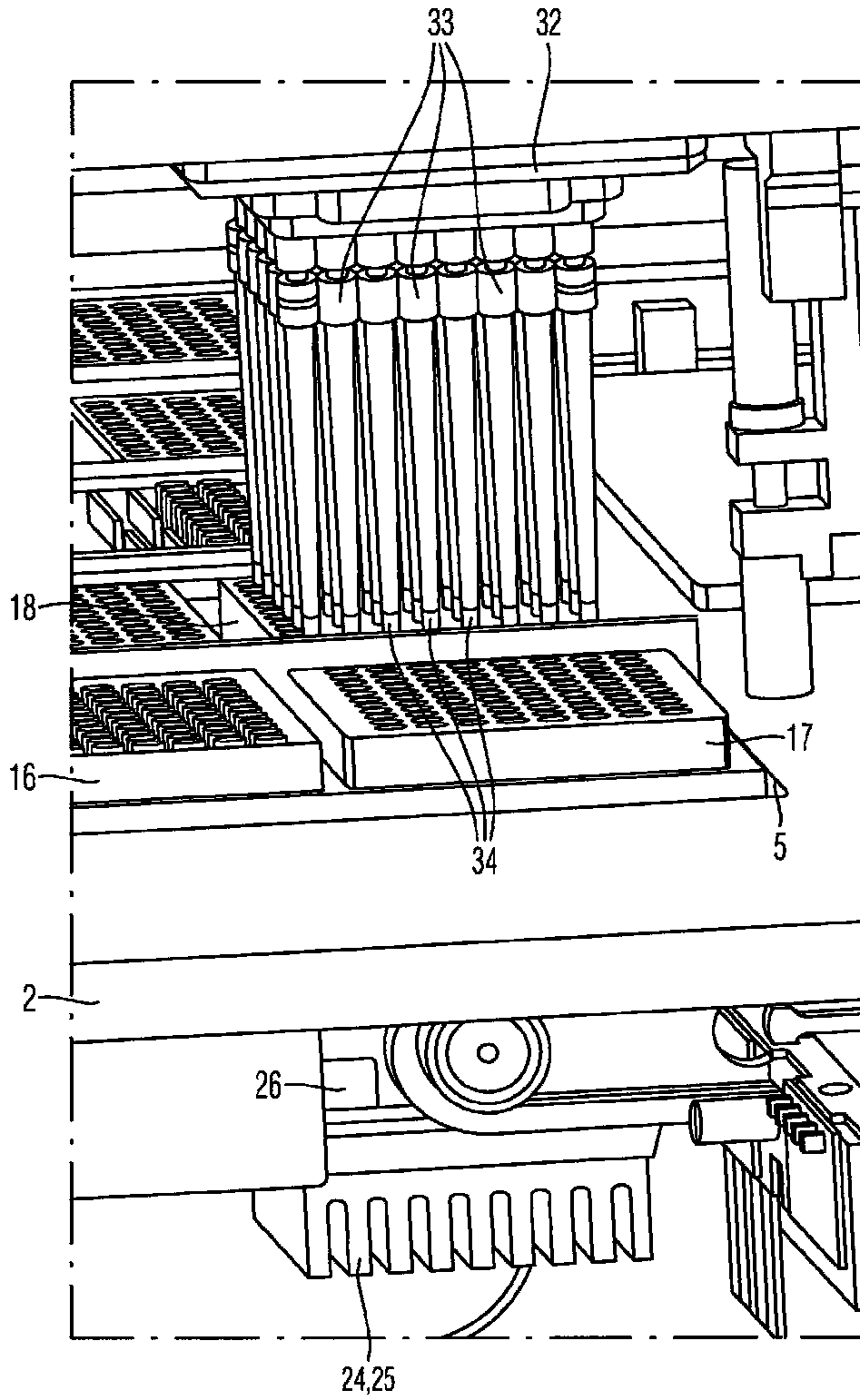


Fig. 6

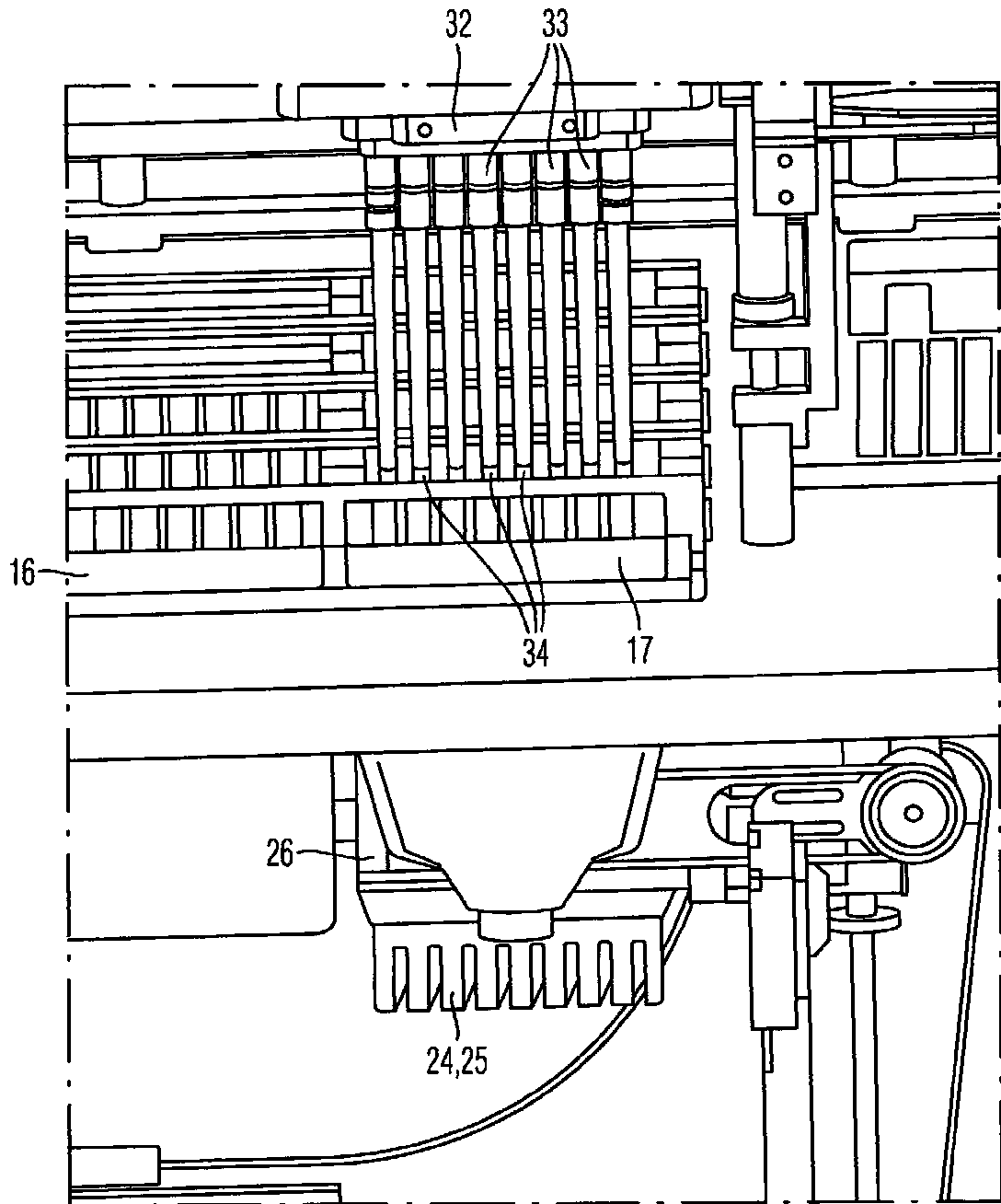


Fig. 7

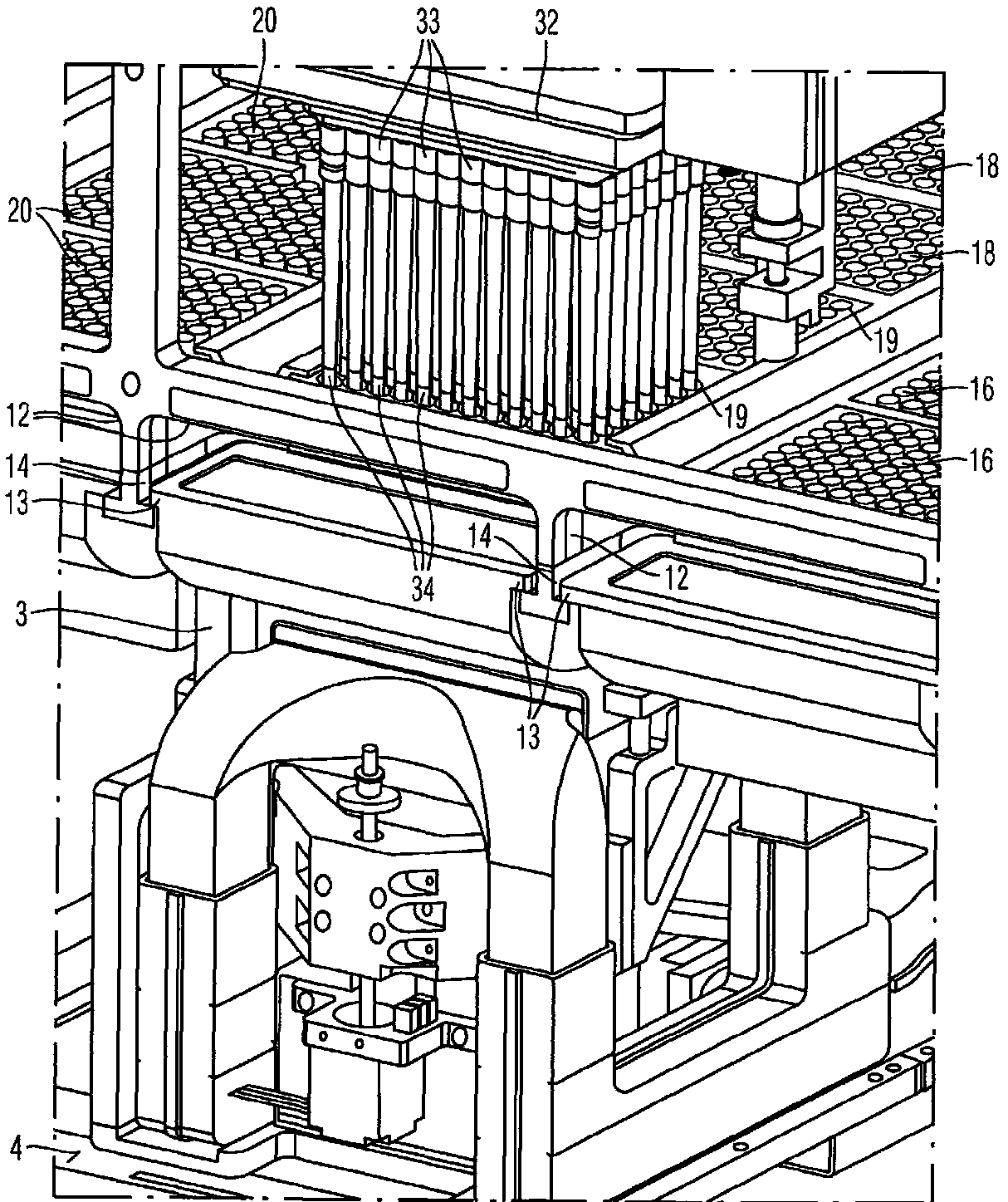


Fig. 8