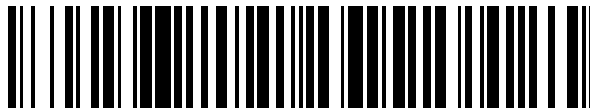


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 629 420**

51 Int. Cl.:

B01L 3/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.11.2006 PCT/NL2006/000566**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2007 WO07055573**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2006 E 06824260 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017 EP 1963016**

54 Título: **Método para eliminar un fluido de un contenedor y dispositivo para ello**

30 Prioridad:

14.11.2005 NL 1030409

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

09.08.2017

73 Titular/es:

**RIJK ZWAAN ZAADTEELT EN ZAADHANDEL B.V.
(100.0%)
BURGEMEESTER CREZEELAAN 40
2678 KX DE LIER, NL**

72 Inventor/es:

**DE WIT, JACOBUS, PETRUS, CORNELIS;
DIRKS, ROBERT, HELENE, GHISLAIN;
VAN ZON, EDWIN y
WOUDEBERG, LEENDERT, JACOBUS**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 629 420 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

Método para eliminar un fluido de un contenedor y dispositivo para ello

Campo de la invención

5 La presente invención hace referencia a un método para extraer un líquido de un contenedor de manera sencilla. La invención hace referencia, además, a un dispositivo para adecuar un contenedor para su uso en el método.

Antecedentes de la invención

10 A menudo se realizan una pluralidad de etapas de centrifugación en muchos procedimientos microbiológicos y biológicos moleculares como, por ejemplo, en el aislamiento del ADN. En estos procedimientos, se centrifuga un contenedor con una muestra en su interior para separar los constituyentes sólidos (denominados gránulos o residuos) del líquido (el sobrenadante). Tras la centrifugación, se extrae el sobrenadante de cada contenedor con muestra. Debido a que a menudo hay más de una decena de muestras, este procedimiento resulta muy laborioso y requiere mucha atención, además de costosos materiales de plástico desechables como las puntas de pipeta.

Compendio de la invención

15 La invención tiene por objeto proporcionar un método para extraer un líquido, en particular, un sobrenadante, de un tubo de manera más sencilla. Asimismo, la presente invención tiene por objeto proporcionar un dispositivo que adapte los contenedores para el uso de este método.

El primer objetivo de la invención se logra mediante un método en el que se proporciona un contenedor con una muestra que consiste en constituyentes sólidos y un líquido, y se dispone una abertura en el contenedor para, posteriormente, centrifugarlo de tal forma que el líquido salga de dicho contenedor.

20 La abertura se dispone, preferiblemente, a una distancia determinada del fondo del contenedor antes de la etapa de centrifugación. A continuación, se centrifuga el contenedor y el líquido saldrá del tubo a través de la abertura dispuesta, mientras que los gránulos se quedan atrás. Gracias a la invención, se hace innecesario que el sobrenadante rebose en la pipeta, por lo que ya no se requiere una etapa de pipeteo.

25 La posición de la abertura a cierta distancia del fondo del contenedor garantiza que las sustancias sólidas permanezcan en el contenedor y sólo el líquido salga. Esto impide, además, el bloqueo de la abertura por los constituyentes sólidos de la solución, tales como componentes celulares o esferas magnéticas. La posición de la abertura se elige, preferiblemente, a una distancia lo bastante cercana al fondo para permitir, en gran medida, que todo el líquido salga. Sin embargo, la abertura no se realiza, preferiblemente, en el fondo del contenedor.

30 La disposición de una abertura en el contenedor puede llevarse a cabo de diversas maneras como, por ejemplo, mediante agujereado, combustión, un chorro de agua, taladrado, etc. En una realización especialmente ventajosa, se hace uso de un láser.

35 Se pueden aplicar diferentes técnicas para evitar que el líquido salga de inmediato durante la disposición de la abertura. Por ejemplo, se puede dar la vuelta a los contenedores para que el fondo quede arriba y no entre en contacto con el líquido. El líquido también puede quedar inmovilizado temporalmente, por ejemplo, mediante un proceso de congelación o gelificación del líquido. Este último proceso puede llevarse a cabo con alginato de calcio. La gelificación se puede revertir con la eliminación de los iones de calcio mediante el citrato sódico o el fosfato sódico, tras lo cual se puede extraer el líquido por centrifugación. Véase también la obra de O. Smidsrød, G. Skjåk-Braek. 1990. *Alginate as immobilization matrix for cells* [El alginato como base de inmovilización para las células]. Tibtech – Vol. 8, Marzo 1990, 71-78.

40 Se pueden disponer una o más aberturas por contenedor.

Según la invención, un dispositivo comprende medios de perforación para disponer una abertura en un contenedor con una muestra que consiste en constituyentes sólidos y un líquido. También puede estar presente en el interior del dispositivo un soporte para los contenedores a perforar, aunque dicho soporte también puede proporcionarse por separado.

45 Asimismo, los medios de posicionamiento se proporcionan preferiblemente de una manera ventajosa con los que el contenedor a perforar se pone en contacto con los medios de perforación. Los medios de perforación pueden estar formados por todo dispositivo con el que se pueda disponer una abertura en el contenedor. Algunos ejemplos de estos dispositivos son un taladro, un dispositivo de agujereado, un chorro de agua a presión, un elemento de calentamiento, un láser y similares. Se pueden colocar una pluralidad de medios de perforación unos junto a otros para realizar una pluralidad de aberturas de manera simultánea. Por lo tanto, se puede hacer uso de una especie de cama de clavos en la que los medios de perforación están a la misma distancia unos de otros que los contenedores a perforar en la gradilla. Con un solo movimiento, los medios de perforación, en concreto los medios de agujereado, pueden entonces presionarse de manera simultánea a través de una pluralidad de tubos.

50

Según una realización preferida de la invención, la abertura se dispone mediante un láser. La ventaja de dicha realización radica en que la abertura dispuesta se calienta de manera simultánea. Tampoco entra en contacto físico con los tubos. Se evita, por lo tanto, la contaminación cruzada.

5 La invención es adecuada para todos los contenedores de los que ha de extraerse el líquido mientras que los constituyentes sólidos deben permanecer detrás. La invención se utiliza en contenedores utilizados en laboratorios, tales como placas microtituladoras, tubos de reacción, también conocidos como tubos Eppendorf, pocillos profundos, tubos de ensayo, etc. Los contenedores pueden fabricarse a partir de diversos materiales como plástico o vidrio.

10 En una realización específica, la invención comprende los denominados pocillos profundos a perforar a una determinada altura con un láser. Dichos contenedores se utilizan mucho, por ejemplo, en trabajos de microbiología y biología molecular.

La perforación se realiza, por ejemplo, varios mm por encima del fondo. Los residuos llegan a descansar en el fondo del tubo y la abertura debe estar por encima de éstos. Después de realizar el agujero con el láser, los pocillos profundos se colocan en una centrífuga, tras lo cual el sobrenadante entra en la gradilla que rodea los pocillos profundos durante la centrifugación.

15 La invención se ilustra, además, en las figuras adjuntas.

La Fig. 1 muestra el principio de la invención.

La Fig. 2 muestra una vista en perspectiva de un dispositivo según la invención.

La Fig. 3 muestra una vista detallada del dispositivo de la Fig. 2.

La Fig. 4 muestra una vista en perspectiva con partes despiezadas del soporte de los contenedores a perforar.

20 La Fig. 1A muestra un contenedor invertido 1 con líquido 2. Una abertura 4 se dispone, a continuación, a cierta distancia del fondo 3 mediante un rayo láser 5 (Fig. 1B). A continuación, se le da la vuelta al contenedor (Fig. 1C) y se coloca en una centrífuga tal y como se indica esquemáticamente con una flecha 6, por lo que el líquido 2 en el tubo sale a través de la abertura 4 (Fig. 1D).

25 La Fig. 2 muestra una vista en perspectiva de un dispositivo según la invención. Colocado sobre un bastidor 9, hay un tablero 10 sobre el cual está previsto un alojamiento de protección 12 equipado con una cubierta de acceso 11. Situado en el alojamiento, hay un dispositivo láser 13 que produce un rayo láser 14. Se coloca una gradilla 15 para que los contenedores 16 a perforar estén en la trayectoria del rayo láser 14. La posición de la gradilla 15 con contenedores 16 se controla mediante células fotoeléctricas 17.

30 El láser utilizado proviene, por ejemplo, de la empresa Synrad Inc., Mukilteo, Washington, EE. UU., y es del tipo Synrad 25W Láser de marcado FSV25SFB con cabezal de marcado inteligente; tamaño del campo 110x100 (FH30-200).

Los tubos y soportes que pueden utilizarse en la máquina mostrada provienen, por ejemplo, de la empresa Matrix Technologies Corp., Hudson, NH, EE.UU. Los pocillos profundos son, por ejemplo, tubos correspondientes al artículo 4430 según el catálogo. El soporte es, por ejemplo, un Snaprack (artículo 4893).

35 La Fig. 3 muestra el posicionamiento de la gradilla 15 mediante un dispositivo de posicionamiento 19 que consiste en dos carros 20 y 21 móviles uno respecto del otro. El carro 20 puede moverse en dirección X y el carro 21 en dirección Y. Como se muestra en la Fig.2, el dispositivo de posicionamiento 19 está situado durante el uso bajo el tablero 10 provisto de un hueco 18, a través del cual sobresale la gradilla 15 con contenedores 16. El dispositivo láser 13 produce un rayo láser 14 que incide a través de la unidad de espejo 22 sobre el contenedor y dispone allí una abertura.

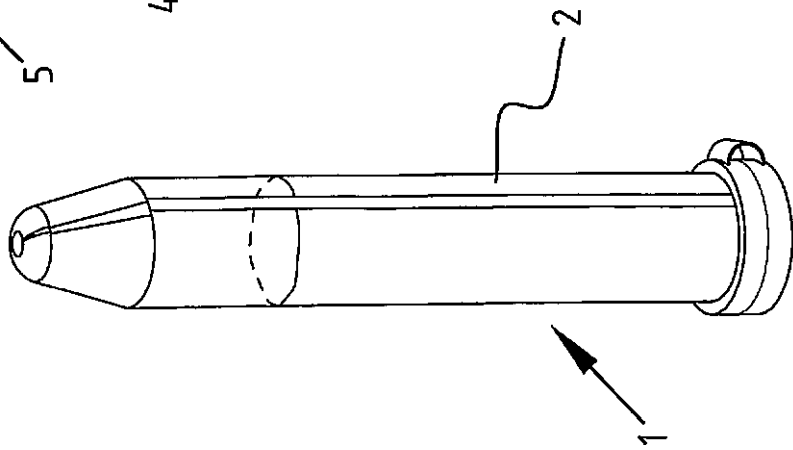
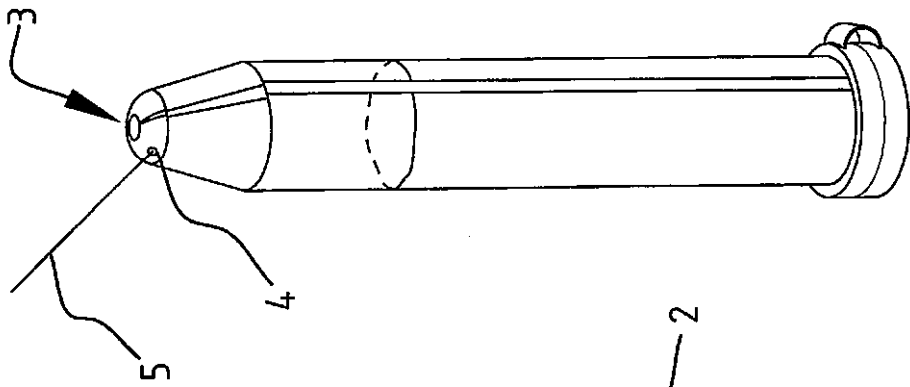
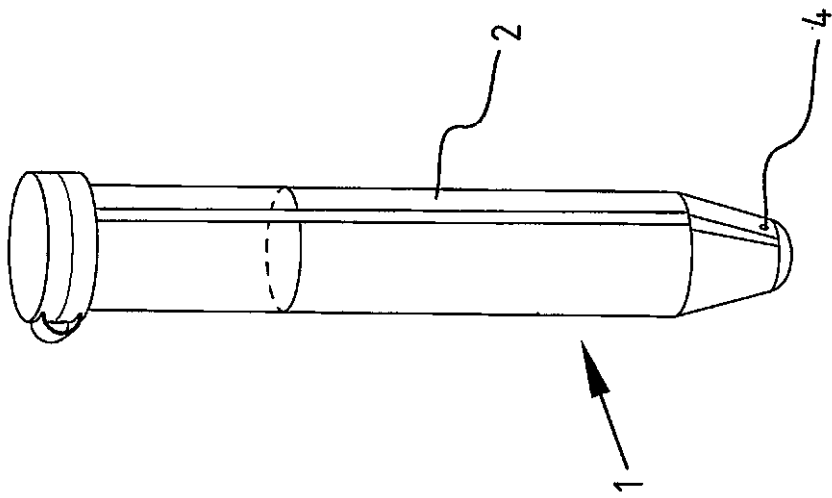
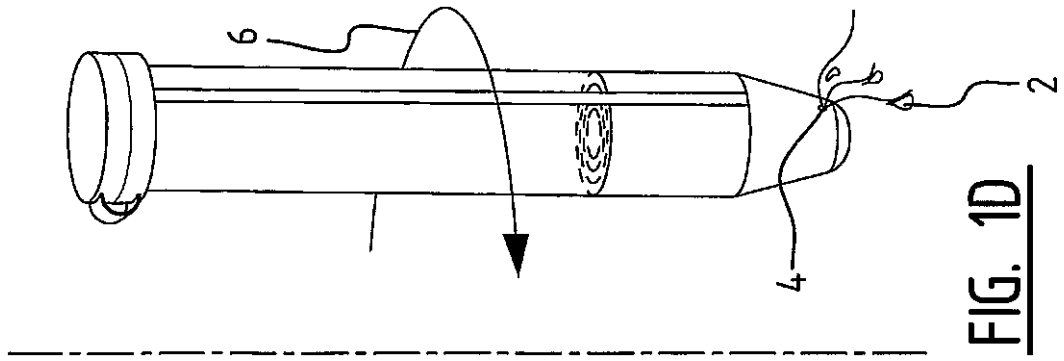
40 Para disponer las aberturas en el lugar correcto, se desea un posicionamiento preciso de los contenedores. La Fig. 4 muestra la gradilla 15 para los contenedores 16 a perforar, con una parte del dispositivo de posicionamiento 19. La gradilla 15, en la que se colocan los tubos al revés, está fijada sobre una plataforma 22. Situados sobre la plataforma 22, hay pasadores de centrado 23 que aseguran que la gradilla esté posicionada correctamente con respecto al dispositivo láser. Los propios contenedores se mantienen en la posición correcta mediante un bloque separador 24 provisto de huecos para recibir los contenedores. La plataforma 22 está montada sobre uno de los carros 20 del dispositivo de posicionamiento 19 a través de un bloque de relleno 25.

45 El dispositivo mostrado en las figuras es tan solo una realización del dispositivo según la invención. Muchas variaciones del mismo principio son posibles y todas forman parte de la invención.

50

REIVINDICACIONES

- 5 1. El método para extraer un líquido (2) de un contenedor (1) que se utiliza en laboratorios con una muestra, y que consiste en proporcionar un contenedor (1) con una muestra compuesta de constituyentes sólidos y un líquido (2), disponer una abertura (4) en el contenedor (1) y posteriormente centrifugar el contenedor (1) para provocar que el líquido (2) salga del contenedor (1), se caracteriza por que la abertura (4) está dispuesta a una distancia del fondo (3) del contenedor (1) que garantiza que las sustancias sólidas permanezcan en el contenedor y lo suficiente cercanas al fondo (3) para permitir que salga sustancialmente todo el líquido.
2. El método según se reivindica en la reivindicación 1 se caracteriza por que la abertura (4) está dispuesta mediante agujereado, combustión, chorro de agua, taladrado, láser.
- 10 3. El método según se reivindica en las reivindicaciones 1 o 2 se caracteriza por que se evita la salida precipitada del líquido (2) al colocar el contenedor (1) al revés de la disposición de la abertura (4).
4. El método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 se caracteriza por que el líquido (2) del contenedor (1) se inmoviliza antes de disponer la abertura (4), y la inmovilización se revierte antes de la centrifugación.
- 15 5. El método según se reivindica en la reivindicación 4 se caracteriza por que el líquido (2) queda inmovilizado mediante un proceso de congelación y la inmovilización se revierte mediante el calentamiento.
6. El método según se reivindica en la reivindicación 4 se caracteriza por que el líquido (2) queda inmovilizado mediante un proceso de gelificación.
- 20 7. El método según se reivindica en la reivindicación 6 se caracteriza por que la gelificación se realiza mediante el alginato de calcio, y la gelificación se revierte mediante la eliminación de los iones de calcio, por ejemplo, con el citrato sódico o el fosfato sódico.
8. En el método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el líquido es un sobrenadante.



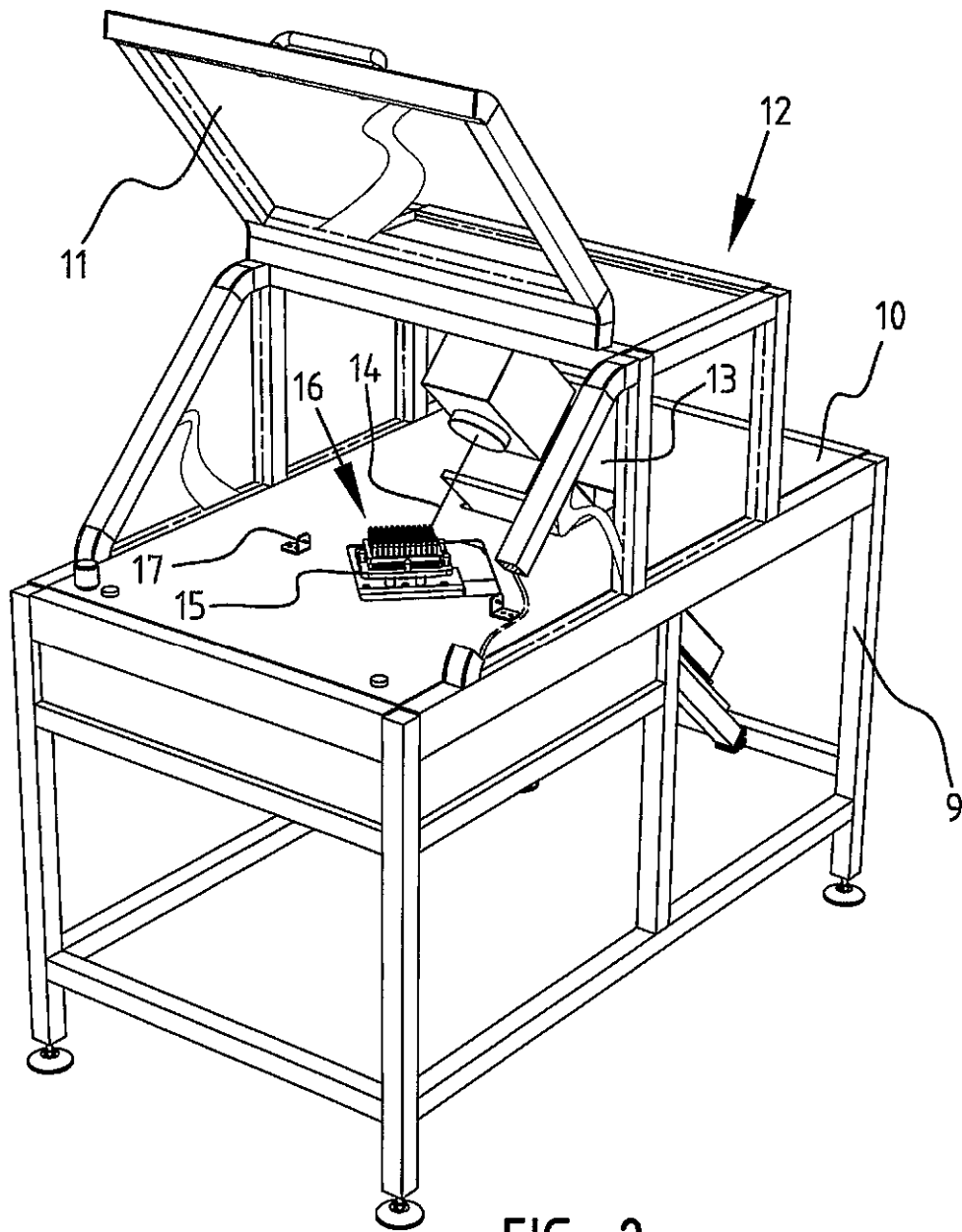


FIG. 2

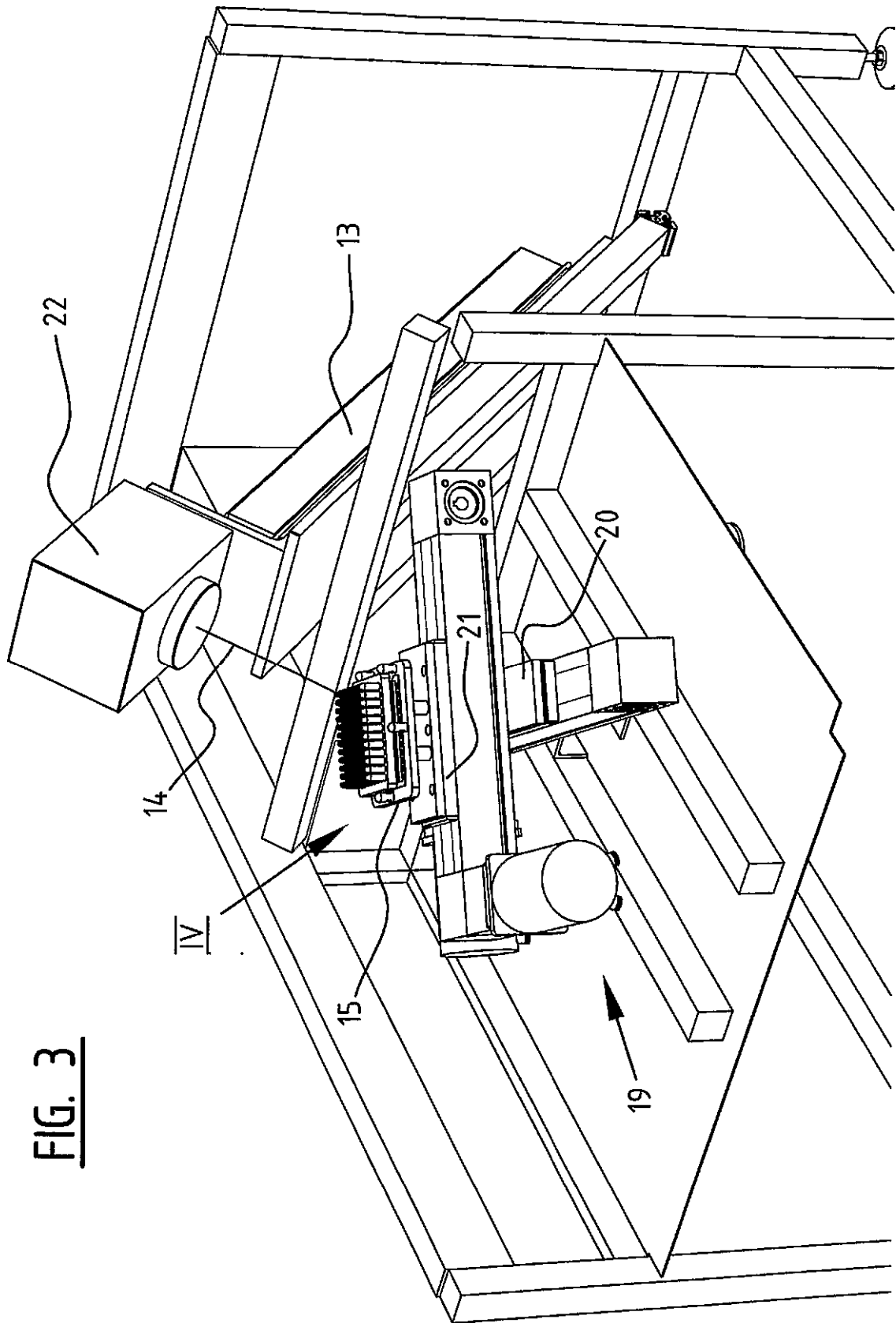


FIG. 3

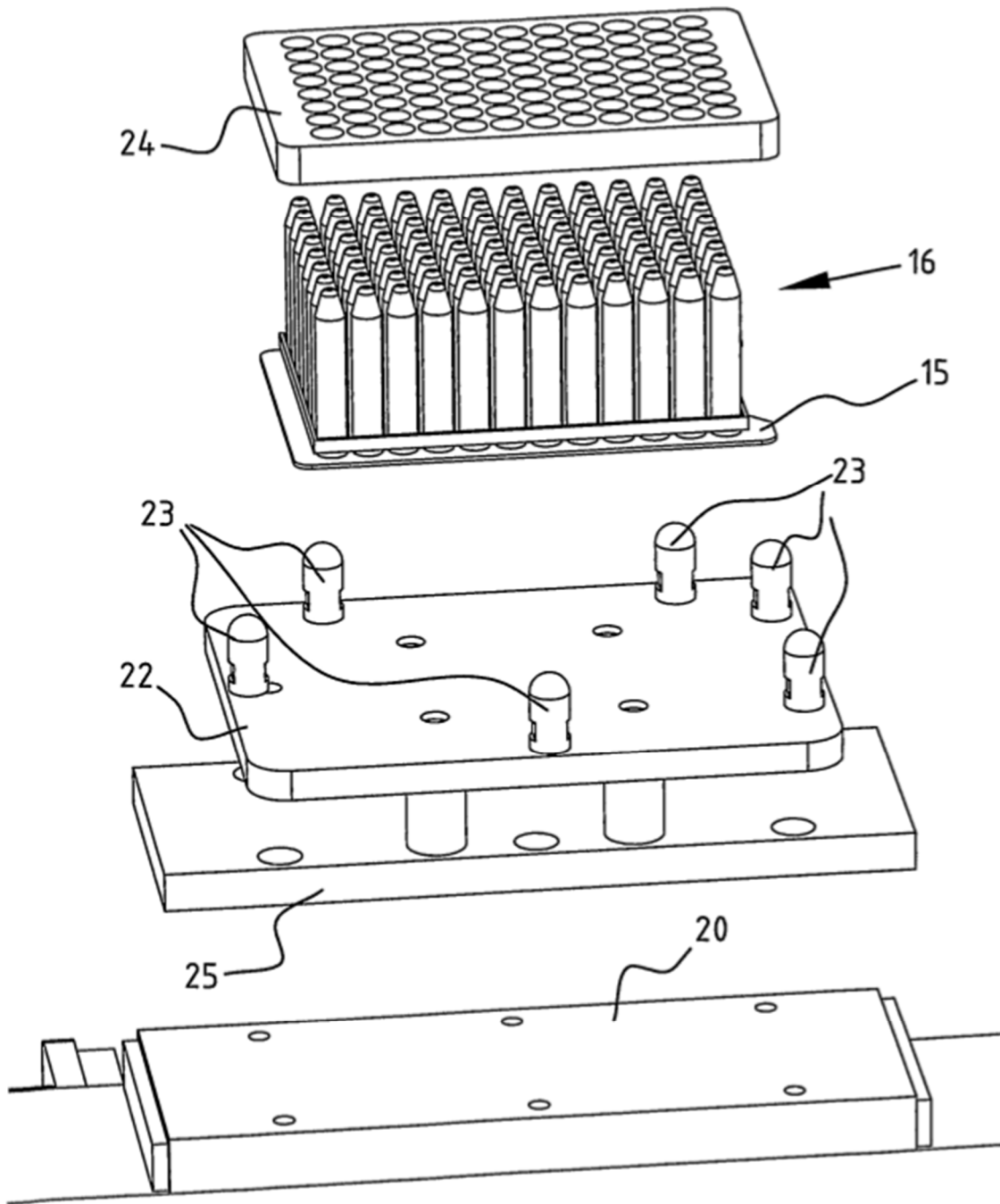


FIG. 4