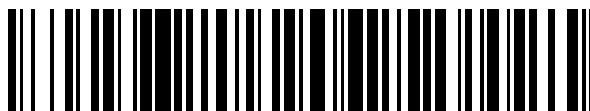


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 854**

51 Int. Cl.:

G01N 21/03

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2010** **PCT/GB2010/050661**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.10.2010** **WO10122346**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2010** **E 10721546 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2017** **EP 2422184**

54 Título: **Unidad que comprende un conjunto de contenedores de muestra**

30 Prioridad:

23.04.2009 GB 0906986

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

30.11.2017

73 Titular/es:

**UNCHAINED LABS (100.0%)
6940 Koll Center Parkway, Suite 200
Pleasanton, California 94566, US**

72 Inventor/es:

WEBSTER, SIMON

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 644 854 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

Unidad que comprende un conjunto de contenedores de muestra

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a unidades para el uso en aparatos para permitir que se realicen múltiples tipos de diferentes medidas ópticas de forma simultánea de una muestra para proporcionar información sobre la muestra.

En particular, la invención se refiere a unidades para el uso en la adquisición simultánea de múltiples tipos diferentes de medidas analíticas ópticas a partir de un conjunto de muestras.

Antecedentes de la invención

10 Una variedad de técnicas analíticas que emplean medios ópticos están disponibles para proporcionar información sobre sustancias de interés. Típicamente, el ejemplo de interés es iluminado con luz y, dependiendo de la técnica empleada, se recolecta la luz emitida, dispersada transmitida resultante, analizada de forma espectral como sea apropiado y después detectado utilizando alguna forma de detector óptico.

Las técnicas analíticas ópticas en uso común incluyen espectroscopia de fluorescencia, espectroscopia de absorción óptica, espectroscopia de absorción de infrarrojos, dispersión de luz y espectroscopia de Raman.

15 Cada forma de técnica de análisis óptico puede proporcionar diferente información sobre una sustancia de interés y es por lo tanto a menudo ventajoso realizar múltiples diferentes formas de análisis óptico en una muestra dada con el fin de proporcionar una comprensión más profunda de las propiedades de la muestra.

20 Una variedad de contenedores está disponible para permitir la realización de medidas ópticas individuales a partir de muestras de líquido individuales y estas son generalmente descritas como "cubetas". Se utilizan en general diferentes diseños para diferentes técnicas de medida óptica aunque en principio una cubeta de sección transversal cuadrada simple con cuatro paredes transparentes podría utilizarse para técnicas de análisis óptico múltiple. Están disponibles bloques de calentamiento/enfriamiento para controlar la temperatura de las cubetas convencionales. Aunque las cubetas están disponibles en un amplio rango de volúmenes de muestra, estos volúmenes de muestra son generalmente más grandes de 50-100 µl, aunque están disponibles cubetas especiales que pueden utilizarse en 25 circunstancias favorables tan pequeñas como de 12µl.

Conjunto de con tenedores múltiples utilizados ampliamente son placas de "micro-titulación de 96 pocillos, 384 pocillos y 1536 pocillos conforme a los estándares publicados por la sociedad de evaluación biomolecular. Éstos pueden verse bien desde arriba o en algunos casos a través de la parte inferior del pocillo. Estas placas de muestra no permiten sin embargo la iluminación o recolección de luz en un amplio rango de ángulos y por tanto no se puede 30 lograr la configuración óptima para muchas de las técnicas analíticas ópticas. Aunque es posible realizar un rango de técnicas analíticas ópticas en estas placas, por lo tanto, los volúmenes de muestra generalmente tienen que ser relativamente grandes para compensar la configuración óptica sub-óptima.

Un problema particular surge cuando las medidas de absorción óptica son realizadas en placas de micro-titulación estándar debido a que la longitud del recorrido óptico afectado tanto por el volumen de muestra como por los efectos 35 de menisco puede llevar a medidas inexactas. Aunque las placas de micro-titulación estándar pueden calentarse y enfriarse su diseño hace que la aplicación simultánea de técnicas analíticas ópticas múltiples sea difícil. Los termocicladores de reacción de cadena de polimerasa en tiempo real (RT-PCR) representan el estado actual de la técnica en un control de temperatura de muestra de pocillo múltiple sin embargo estos permiten medidas de fluorescencia visible y la falta de una geometría de excitación/recolección optimizada requiere que se necesiten grandes volúmenes de muestra. 40

Hay un amplio rango de espectrómetros e instrumentos de dispersión de luz disponible para realizar un tipo simple de análisis óptico sobre una muestra a un mismo tiempo. Ejemplos incluyen espectrómetros de fluorescencia ejemplificados por el RF-5301PC de Shimadzu, espectrómetros de absorción óptica como el ejemplificado por UV-2450PC de Shimadzu e instrumentos de dispersión de luz ejemplificados por el Zetasizer Nano de Malvern 45 instrumentos, espectrómetros de Raman ejemplificados por el espectrómetro inVia de Renishaw plc y espectrómetros de dicroísmo circular (CD) ejemplificados por el espectrómetro J-815 de Jasco y el espectrómetro Chirascan de Applied Photophysics. En general, los instrumentos descritos anteriormente pueden registrar sólo un tipo único de datos analíticos ópticos a partir de una muestra simple. Los espectrómetros CD de JASCO y Applied Photophysics pueden, sin embargo, ser modificados para adquirir también medidas de absorción óptica y de intensidad de fluorescencia básica aunque, de nuevo, estas son solo adecuadas para cubetas de muestra sencillas. Cambiadores 50 de muestras motorizados están disponibles para algunos instrumentos que normalmente contienen más de 6 cubetas individuales.

Los espectrómetros que realizan un tipo sencillo de medida de forma secuencial sobre muestras múltiples en placas de micro-titulación estándar SBS de una forma automatizada también están disponibles. Éstas están ejemplificadas 55 por el espectrómetro SpectraMax® 190 y el SpectraMax® Gemini de Molecular Devices.

Están disponibles instrumentos que son compatibles con las placas de micro-titulación estándar SBS descritas anteriormente que permiten que se realicen medidas tanto de la fluorescencia como de la absorción óptica en el mismo instrumento. Ejemplos incluyen el Infinite® 200 de Tecan. Típicamente estos iluminan y recolectan tanto por arriba como por abajo las muestras que presentan varios problemas para los diferentes tipos de medida. Por ejemplo, suceden problemas en las medidas de absorción óptica debido a los efectos de menisco y a la dependencia de la longitud del recorrido en el mismo volumen. Los problemas aumentan a medida que los volúmenes de muestra son reducidos.

Un rotor de cubeta múltiple desechable es divulgado en la patente US 4,226,531 en la cual las celdas de ejemplo están dispuestas en una configuración radial con las celdas disponiéndose en la circunferencia del disco. Aunque en esta configuración, las celdas pueden tener tres ventanas ópticas, que permiten que se realicen de forma potencial tanto medidas de absorción óptica como de fluorescencia o de dispersión de luz, ninguna de dichas aplicaciones son descritas y de hecho el dispositivo tal y como se describe no se podía prestar en sí mismo para ser utilizado para realizar medidas ópticas múltiples simultáneas. No sólo la configuración radial de las celdas limita el número total de celdas que se pueden acomodar en una placa de muestra dada sino que también limita el acceso óptico a sólo tres ventanas ópticas. Por otro lado, como las muestras de líquido no contactan con las tres ventanas ópticas, las medidas de absorción óptica están por lo tanto sujetas a errores debido a las diferencias en la profundidad de muestra y a los efectos de menisco.

En el documento US 3,854,050 A se describe un fluorómetro para medidas biológicas que comprende un portador de celda circular que puede contener múltiples celdas de muestra, con ventanas ópticas ortogonales que miran hacia el exterior del conjunto.

El documento DE 31 08 474 A1 describe un aparato de muestra de fluorímetro que comprende un portador de muestra móvil linealmente que tiene una pluralidad de portadores de muestra dispuestos diagonalmente con respecto al eje longitudinal de la placa base. En la posición de medida, el contenedor de cubeta está alineado con una abertura de entrada de radiación de excitación y una abertura de salida de radiación de fluorescencia.

En un número de aplicaciones importante, tal como en medidas de la estabilidad térmica de proteína, las muestras están disponibles sólo en cantidades muy pequeñas y no son reutilizables entre los ensayos lo cual puede evitar la aplicación separada de medidas ópticas múltiples. Por lo tanto sería ventajoso si se pudieran realizar análisis ópticos de múltiples tipos de forma simultánea en pequeños volúmenes de muestra. De forma adicional la realización de forma simultánea de medidas analíticas múltiples a partir del mismo volumen de muestra podría acelerar potencialmente las medidas de grandes números de muestras en aplicación tales como evaluación de alto impacto.

A medida que los volúmenes de muestra disminuyen se hace de forma creciente importante recolectar la luz dispersada, emitida o transmitida de la muestra con una eficiencia tan alta como sea posible y esto se logra mejor utilizando ópticas de apertura numérica alta. Sin embargo, los contenedores de muestra agrupados existentes tales como las ampliamente usadas placas de 96 pocillos, restringen el acceso óptico al volumen de muestra, perjudicando la eficiencia de la recolección de luz.

Cada uno de los diferentes métodos de análisis óptico tiene su propia configuración geométrica para la iluminación y recolección de la luz en la cual se puede mejorar la relación de señal con respecto al ruido de los datos adquiridos. A medida que los volúmenes de muestra se reducen la necesidad de optimizar la configuración óptica llega a ser de forma creciente importante dado que la cantidad de señal deseable disminuye con el volumen de muestra mientras que aumenta la independencia no deseada debido a la dispersión o auto-fluorescencia del contenedor. Un contenedor de muestra que permite que se mantenga de forma simultánea la configuración óptica óptima para múltiples métodos analíticos podría por lo tanto ser ventajoso.

Adicionalmente en muchas aplicaciones es deseable ser capaz de analizar de forma secuencial múltiples muestras de una manera automatizada con el fin de que se puedan realizar más experimentos en menos tiempo y con menos dependencia de la pericia humana.

Otro requerimiento común para muchas aplicaciones bioquímicas y otras de la facilidad de controlar la temperatura de las muestras a medida que son analizadas. Debería por tanto ser deseable para cualquier conjunto de contenedor de muestra ser compatibles con un calentamiento y enfriamiento eficientes de la muestra durante la aplicación de múltiples técnicas analíticas ópticas.

Además, en muchas aplicaciones es deseable tener contenedores de muestra que se han lo suficientemente baratos para ser desechables debido al coste y la dificultad de la limpieza efectiva.

Como es evidente a partir de la discusión anterior, por lo tanto persiste una necesidad continua para el desarrollo de un sistema mejorado para obtener medidas ópticas de modos múltiples a partir de muestras múltiples, en particular que permita que se lleve a cabo el análisis de forma rápida y de forma automática, adecuadamente de una manera con alto rendimiento.

Resumen de la invención

En un primer aspecto, la invención proporciona una unidad como se define por la reivindicación 1. Características opcionales son definidas por las reivindicaciones dependientes.

Utilizando una unidad de acuerdo con la invención, se pueden evitar problemas experimentados de forma común en conjuntos de contenedores múltiples existentes que resultan de efectos de menisco y de longitudes de recorrido variables debido a diferentes volúmenes de muestra. La unidad puede ser cargada de forma conveniente utilizando sistemas de manipulación de fluidos existentes y puede ser fabricada fácilmente a partir de materiales de bajo coste, permitiendo la ser desechable. En combinación con un sistema de componentes ópticos para permitir a la luz de diferentes fuentes de luz múltiples ser dirigida a través de una o más ventanas de cada contenedor de muestra, el aparato permite que se apliquen de forma simultánea métodos analíticos ópticos diferentes múltiples a pequeños volúmenes de muestra mientras que se mantiene la configuración óptica óptima para cada uno de estos métodos analíticos, permite la iluminación simultánea de la muestra a partir de múltiples ángulos y también la recolección simultánea de luz emitida, dispersa o transmitida a partir de la muestra en ángulos múltiples.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra de forma esquemática una unidad de muestra de contenedor múltiple de acuerdo con la invención, con la figura 1.1 mostrando dos vistas ortogonales que indican el sistema de coordenadas y el plano de la unidad y la figura 1.2 mostrando configuraciones vertical y horizontal de la placa de muestra;

La figura 1.3 muestra vistas lateral y plana de una placa de micro-titulación convencional;

La figura 2 muestra vistas en sección transversal de contenedores adecuados para su uso en la unidad de la invención que ilustran ventanas ópticas múltiples y recorridos ópticos posibles múltiples dentro y fuera del contenedor;

La figura 3.1 ilustra un modo de realización de la unidad de la invención con contenedores de sección transversal cuadrada (girados 45 grados) para dar cuatro ventanas, con el acceso óptico mostrado;

Las figuras 3.2 y 3.3 ilustran de forma esquemática el suministro y la recolección de luz desde una placa de micro-titulación convencional con un recorrido de suministro y recolección de luz a ambos lados de la placa mostrada en la figura 3.2 y recorridos de haz separador mostrados en la figura 3.3;

Las figuras 3.4 y 3.5 muestran unidades comparativas que tienen contenedores de las mismas dimensiones que en la unidad de la figura 3.1 pero giradas 45 grados;

Las figuras 4.1 y 4.2 ilustran de forma esquemática el paso de la luz dentro y fuera de la muestra en los contenedores de muestra de la unidad de la invención;

La figura 5 ilustra de forma esquemática métodos de carga de los contenedores de muestra de una unidad de la invención;

La figura 5.1 ilustra de forma esquemática como el contenedor de muestra puede ser llenado completamente proporcionando un canal de llenado con una entrada por encima del nivel de la parte superior del contenedor de muestra;

La figura 5.2 ilustra de forma esquemática como los contenedores de muestra pueden ser llenados en una configuración horizontal y después centrifugados para empujar al líquido a un extremo del contenedor en donde se mantiene posteriormente en su lugar mediante fuerzas de capilaridad mientras se realizan las medidas ópticas;

La figura 5.3 ilustra de forma esquemática la carga de los contenedores de muestra en una configuración horizontal después girando la placa 90 grados en la configuración vertical de tal manera que la gravedad tire de la muestra de líquido hasta un extremo del contenedor para la medida óptica;

Las figuras 6.1 y 6.2 muestran de forma esquemática modos de realización de la unidad de la invención con canales integrados para la carga de muestras y para la realización de operaciones de manipulación de fluido;

La figura 7 ilustra de forma esquemática un método de fabricación de una unidad de la invención mediante una formación por vacío de dos películas termo plásticas delgadas y después la unión de las mismas;

Las figuras 8.1 y 8.2 ilustran de forma esquemática modos de realización de la unidad de la invención en los cuales un espejo situado por debajo de la placa de muestra facilita las medidas de absorción mientras que mantiene todos los componentes ópticos sobre el mismo lado de la placa de muestra;

Las figuras 9.1 y 9.2 ilustran estrategias para controlar la temperatura de las muestras en contenedores de muestras múltiples de las unidades de la invención;

Las figuras 10.1, 10.2 y 10.3 muestran diferentes configuraciones ópticas para su uso en combinación con las unidades de la invención para permitir que se realicen de forma simultánea técnicas de medida óptica diferentes múltiples en una muestra en un contenedor de muestra;

- 5 Las figuras 11.1 y 11.2 ilustran modos de realización de los sistemas ópticos en los que un espectrógrafo de obtención de imagen y un detector de conjunto son utilizados en combinación con el aparato y un conjunto óptico adecuado para realizar de forma simultánea y/o de forma secuencial múltiples tipos de medidas ópticas utilizando el mismo detector.

Descripción detallada de la invención

- 10 La presente invención se refiere a una unidad para permitir que se realicen de forma simultánea múltiples tipos diferentes de medidas ópticas a partir de un conjunto de muestras, mientras que se mantiene la configuración óptica óptima para cada técnica de medida de tal manera que se mejora la eficiencia de recolección óptica y la relación señal con respecto al ruido para las medidas.

- 15 En particular, los presentes inventores han desarrollado un aparato y sistemas, que no forman parte de la presente invención, para llevar a cabo un ensayo utilizando dicha unidad la cual facilita el análisis automatizado de muestras múltiples, es bien adecuada para medidas sensibles para pequeños volúmenes de muestra debida a la deficiencia de suministro y recolección de luz lo cual es permisible y es compatible con el calentamiento y el enfriamiento de los volúmenes de muestra durante las medidas.

Los contenedores de muestra de la unidad de acuerdo con la invención contienen de forma adecuada muestras de líquido.

- 20 De forma conveniente, cada contenedor de muestra es un poliedro. De forma adecuada, el contenedor puede tener una forma triangular, cuadrada, hexagonal u octogonal.

En un modo de realización, los contenedores están dispuestos en un conjunto cuadrado o rectangular regular.

De acuerdo con la invención, los contenedores de muestra en el conjunto están dispuestos de tal manera que se extienden por encima y por debajo del plano del conjunto.

- 25 De forma conveniente, un poliedro tal como un hexaedro o un octaedro es orientado en el plano de la placa de muestra de tal manera que las ventanas transparentes ópticamente pueden ser accedidas con una eficiencia óptica alta tanto desde arriba como desde abajo del plano de la placa de muestra.

De acuerdo con la invención, al menos una de las ventanas de cada contenedor está inclinada con respecto al plano del conjunto.

- 30 De forma adecuada, al menos una de las ventanas de cada contenedor forma un ángulo incluido respecto al plano del conjunto mayor que cero y menor de 90 grados. En otro modo de realización, el contenedor comprende una esfera con un plano de la placa de muestra que pasa través del centro de la esfera de tal manera que hay un hemisferio en cada lado del plano de la placa.

En un modo de realización, todas las paredes del contenedor comprenden ventanas transparentes ópticamente.

- 35 De forma adecuada, el conjunto tendrá un total de entre 16 y 384 contenedores de muestra. En un modo de realización particular, el conjunto tiene 16 contenedores de muestra. En un modo de realización, las dimensiones exteriores del conjunto están de forma adecuada entre 10 mm por 50 mm y 128 mm por 172 mm.

- 40 De forma conveniente, las posiciones relativas de los contenedores de muestra en el conjunto corresponderá a las dimensiones estándar establecidas por la sociedad de evaluación biomolecular para placas de 96, 384 o 1536 micro-pocillos.

De forma preferible, el área de sección transversal de cada uno de los contenedores estará en el rango de 0,04 mm² a 4 mm².

De forma adecuada, la longitud de cada contenedor estará en el rango de 1 mm a 10 mm.

- 45 El volumen de la muestra de líquido en cada uno de los contenedores está de forma conveniente en el rango de 0,04 µl a 40 µl, de forma de adecuada de 1 µl a 10 µl.

- 50 De forma preferible las dimensiones de la sección transversal le cada uno de los contenedores son suficientemente pequeñas para que las fuerzas de tensión superficial aseguren que la muestra de líquido alcanza el área de sección transversal del contenedor de tal manera que la muestra de líquido está en contacto con todas las ventanas del contenedor independientemente de la orientación del contenedor con respecto al campo gravitacional. Esto permite la posibilidad de utilizar la unidad en el plano horizontal que es más fácilmente compatible con la tecnología de manipulación de líquido automatizada existente. También, como la muestra de líquido está en contacto con todas las

ventanas del contenedor, la longitud del recorrido óptico es fijada y no se forman meniscos, permitiendo que se realicen medidas de absorción óptica sin problemas; también se minimizan problemas que suceden con otras técnicas de medida óptica, con una reflexión y una dispersión de luz reducidas lo que lleva a una señal mejorada del ruido para las medidas de fluorescencia y de dispersión de luz.

- 5 En un modo de realización en el que las dimensiones en sección transversal y las propiedades superficiales de los contenedores significan que la tensión superficial no es suficiente para asegurar que el líquido permanezca en contacto con las ventanas del contenedor cuando la placa está horizontal, entonces la placa puede ser cargada en un plano horizontal y después girada 90 grados en el plano vertical de manera que la muestra de líquido está en contacto con las ventanas para la interrogación óptica.

- 10 En un modo de realización, la placa puede ser cargada en una configuración horizontal y después ser centrifugada de manera que la muestra de líquido se mueve hasta el extremo de la cámara de muestra y se mantiene por consiguiente en su lugar mediante la acción de capilaridad durante la interrogación óptica.

En un modo de realización, cada contenedor de muestra tiene múltiples ventanas transparentes ópticamente no paralelas.

- 15 En un modo de realización, las ventanas son transparentes en el rango de longitud de onda de 250 nm – 1000 nm.

Una unidad de acuerdo con la invención comprende contenedores de muestra múltiples cada uno que tiene múltiples ventanas ópticas conectadas entre sí.

- 20 De forma conveniente, las posiciones y orientaciones de las ventanas múltiples de cada contenedor están dispuestas de tal manera que cada ventana tiene un eje óptico asociado que se dispone ortogonal a esa ventana, y que pasa través de esa ventana, con todos los ejes ópticos múltiples siendo coincidentes en un punto aproximadamente en el centro del volumen de muestra definido por el contenedor.

En un modo de realización particular, al menos una de las ventanas de cada contenedor está inclinada formando un ángulo de 45 grados con el plano del conjunto.

- 25 Los ejes ópticos independientes múltiples que intersectan en aproximadamente el mismo. Cerca del centro del volumen de muestra permiten que se apliquen múltiples técnicas analíticas ópticas diferentes al mismo volumen de muestra mientras que se minimiza cualquier interferencia entre las diferentes técnicas por lo tanto asegurando una buena calidad de datos de señal-a-ruido de cada una de las técnicas.

- 30 Teniendo el volumen de muestra óptico efectivo dispuesto aproximadamente en el centro del contenedor de muestra se minimiza la interferencia en las señales analíticas debido a la dispersión o auto-fluorescencia de las ventanas del contenedor de muestra que es particularmente importante para contenedores de muestra fabricados a partir de materiales poliméricos en los que la auto-fluorescencia y la dispersión se ha observado que son peores que para contenedores de cuarzo de un coste más alto. Esto también minimiza el volumen de muestra requerido para una medida de señal-a- ruido dada en la que el ruido es predominante debido a la auto-fluorescencia y dispersión de la ventana del contenedor.

- 35 Los contenedores múltiples están conectados juntos por medio de lo cual se permite un acceso óptico suficiente al contenedor de muestra individual para permitir recorridos de haz de entrada y de salida múltiples, de forma preferible cada uno con una apertura numérica grande.

- 40 De acuerdo con la invención, los contenedores múltiples están conectados mediante una red de unión delgada. El plano de la red de unión pasa aproximadamente a través del centro de los volúmenes de muestra, con las ventanas ópticas disponiéndose por encima y por debajo del plano de la red de unión.

- 45 Una red de unión delgada, el plano de la cual discurre aproximadamente a través del centro de los contenedores de muestra múltiples, permite que un sea constituido conjunto de contenedores de muestra para formar una placa de contenedores múltiples en donde cada contenedor puede ser accedido ópticamente de forma simultánea desde arriba y desde abajo del plano del conjunto. Se puede lograr un suministro óptico de apertura alto (y por tanto una eficiencia de recolección más alta) de ventanas ópticas múltiples que se dispone tanto por encima o por debajo del plano de la placa de muestra, por lo tanto mejorando la sensibilidad de las medidas ópticas.

- 50 De forma adicional, una banda o red de unión delgada permite a la placa ser movida fácilmente en el plano de la placa de manera que cada contenedor, a su vez, puede ser posicionado de tal manera que el volumen de prueba óptico se dispone en el centro de cada volumen de muestra utilizando un sistema de posicionamiento simple de uno o de dos ejes. Esto evita tener que utilizar un sistema de tres ejes como se requeriría de forma general para otras configuraciones convencionales.

Configurando la unidad tal que el eje óptico de cada haz de luz pase aproximadamente de forma ortogonal al plano de la ventana correspondiente, se minimizan las pérdidas de reflexión y las distorsiones ópticas, por tanto aumentando la sensibilidad de las medidas ópticas.

La configuración permite a las ventanas del contenedor ser delgadas por tanto mejorando la transmisión óptica, reduciendo las distorsiones ópticas y reduciendo cualquier auto-fluorescencia de las ventanas del contenedor que puede interferir con la señal de la muestra. Esto es particularmente importante para volúmenes de muestra pequeños y para ventanas de contenedor de polímero.

- 5 El uso de una red de unión delgada también significa que el área de superficie máxima de cada contenedor está disponible para la transferencia eficiente del calor dentro y fuera de cada volumen de muestra lo cual es importante para un número de aplicaciones bioquímicas. De forma adecuada, el material de unión es suficientemente delgado para permitir un acceso óptico fácil desde ambos lados del plano de la placa de muestra, permitiendo un suministro y una recolección de apertura numérica altos de la luz a través de cada una de las ventanas de cada contenedor en el conjunto. De forma conveniente, el espesor de ventana están el rango de 20–500 μm y el material de unión tiene un espesor en el rango de 200 μm –2000 μm

En un modo de realización, la luz emitida, dispersada o transmitida es recolectada con una lente a un sistema de lentes con una apertura numérica en el rango de 0,2 a 0,7.

De forma conveniente, toda la placa es fabricada a partir de una o dos partes ópticamente transparentes contiguas.

- 15 En un modo de realización, la placa es termo-formada a partir de un termoplástico ópticamente transparente. Puede que sea adecuado que se formen canales y estructuras funcionales en la placa termo formada con el fin de suministrar y controlar el suministro del fluido a las celdas.

De forma conveniente, la placa es formada por vacío a partir de dos hojas delgadas de un termo polímero ópticamente transparente que son después unidas para formar contenedores cerrados.

- 20 En un modo de realización, la placa está hecha a partir de un copolímero de olefina cíclica con una transparencia en el rango de 250 nm a 1000 nm.

De forma adecuada, la placa de muestra se pone en contacto con un medio térmicamente conductor de tal manera que las muestras en los contenedores sean calentadas enfriadas sin evitar el acceso óptico a las ventanas de los contenedores.

- 25 En un modo de realización, la placa de contenedores múltiples está contenida dentro de una funda de metal con un perfil interno que coincide con la forma de la placa de contenedores múltiples y agujeros en la funda de metal de tal manera que se mantiene el acceso óptico a al menos alguna de las ventanas de contenedor de muestra de manera que el calentamiento y el enfriamiento de la funda de metal resulta en un calentamiento y un enfriamiento de las muestras en la placa de contenedores múltiples.

- 30 En uso, la unidad descrita anteriormente es cargada en un aparato adaptado para recibirla. La luz que ilumina es pasada en el volumen de muestra definido por cada contenedor de muestra a través de una o más ventanas y la luz dispersada, emitida o transmitida resultante pasa fuera del contenedor de muestra a través de una o más ventanas. El aparato puede estar adaptado para recibir más de una unidad a un mismo tiempo, permitiendo que se capturen los datos de muchas muestras de forma simultánea.

- 35 En un modo de realización, los medios para iluminar una muestra contenida en la unidad comprenden una o más fuentes de luz de iluminación seleccionadas de, láseres, lámparas o diodos emisores de luz.

De forma conveniente, las fuentes de luz de iluminación múltiple son utilizadas y seleccionadas de, láser de 266 nm, de 370 nm, láser de 473 nm, láser de 532 nm, láser de 785 nm, LED de 280 nm, LED de 370 nm, LED de 473 nm, una lámpara alógena, una lámpara de xenón.

- 40 De forma preferible cualquier luz dispersada o emitida desde una muestra en un contenedor de muestra en el conjunto que pasa fuera a través de las ventanas es pasada a uno o más detectores ópticos.

De forma adecuada, las muestras en los contenedores son analizadas utilizando una o más técnicas analíticas ópticas seleccionadas de, espectroscopia de fluorescencia, espectroscopia de absorción óptica ultravioleta a visible, espectroscopia cercana al infrarrojo, espectroscopia de Raman, dispersión de luz.

- 45 De forma adecuada, el detector(s) óptico es seleccionado de, una cámara CCD, una cámara CMOS, un tubo fotomultiplicador, un fotodiodo.

La luz emitida, dispersa o transmitida puede ser analizada espectral mente antes de la detección.

Para medidas de fluorescencia, el ángulo incluido entre el recorrido de recolección de la luz de iluminación y la luz emitida está, de forma adecuada, en el rango de 30 grados a 150 grados.

- 50 En un modo de realización, las medidas de eflorescencia, el ángulo incluido entre el recorrido de recolección de la luz de iluminación y la luz emitida desde 90 grados o de 60 grados.

Para las medidas de dispersión de luz el ángulo incluido entre el recorrido de recolección de la luz e iluminación y la luz emitida está, de forma adecuada, en el rango de 5 grados a 179 grados.

En un modo de realización, el ángulo incluido entre el recorrido de recolección de la luz de iluminación y la luz emitida para las medidas de dispersión de luz es de 90 grados a 60 grados.

- 5 Para las medidas de absorción óptica y de infrarrojos el ángulo incluido entre el haz de luz de iluminación y el haz de luz transmitida es de forma adecuada de 180 grados.

De forma preferible para la espectroscopia de Raman, el ángulo incluido entre el recorrido de recolección de la luz de iluminación y de la luz dispersa es de 0 grados, 60 grados o 90 grados.

- 10 Dependiendo de la disposición de los contenedores en el conjunto, los medios de iluminación y de detección pueden estar posicionados en cualquiera o en ambos lados del plano del conjunto.

En un modo de realización, se coloca un espejo por debajo de la placa y paralelo al plano de la placa de tal manera que la luz dispersa, iluminada o transmitida que pasa a través de las ventanas del contenedor en el mismo lado del plano de la placa que el del espejo es reflejada a un sistema óptico en el lado opuesto del plano de la placa.

- 15 El aparato además comprende, de forma adecuada, medios para calentar o enfriar las muestras en las unidades de una manera controlable.

En un aspecto adicional, el aparato comprende, de forma adecuada, medios para posicionar el conjunto de manera que se mueve cada muestra individual contenida en el conjunto a la posición deseada con el fin de que se realice el análisis.

- 20 El aparato además comprende, de forma adecuada, un sistema de control, tal como un sistema de control de ordenador, para efectuar el procedimiento de ensayo deseado controlando los medios de posicionamiento del conjunto. También se pueden proporcionar medios para controlar los medios de iluminación y de detección de una manera programada, de tal manera que el usuario pueda seleccionar un procedimiento de ensayo programado previamente.

- 25 También se pueden proporcionar de forma adecuada para registrar y/o mostrar los resultados del análisis, tales como una pantalla de muestra de un ordenador.

Una unidad y un aparato como se ha definido anteriormente pueden ser combinados en un sistema para llevar a cabo técnicas analíticas ópticas múltiples de forma simultánea en una muestra.

La unidad de acuerdo con la invención encuentra una aplicación particular en métodos para estudiar la estabilidad de proteínas.

- 30 En un modo de realización, la muestra es una proteína en solución y se utiliza una fluorescencia excitada de UV para monitorizar la estructura terciaria de la proteína, dispersión de luz para monitorizar la agregación de la proteína y absorción de UV visible para monitorizar la concentración de la proteína y la estructura terciaria como una función de la temperatura, la concentración desnaturizante térmica y otros factores que puedan afectar a las propiedades de estabilidad o de agregación de la proteína.

- 35 De forma conveniente, la unidad es utilizada en combinación con un sistema de elementos ópticos para permitir dirigir la luz desde múltiples fuentes de luz diferentes a través de una o más ventanas de cada contenedor de muestra.

- 40 De forma preferible, la unidad es utilizada en combinación con un sistema de componentes ópticos que recolecta luz dispersa, emitida o transmitida desde una o más de las ventanas de contenedor de muestra y pasa esta luz a un sistema o sistemas de discriminación espectral y/o detección.

En un modo de realización, se emplean tres láseres para iluminar la muestra y los haces de estos están dispuestos para ser colineales y pasar a través de una ventana de los contenedores de muestra y dentro de la muestra y se recolecta cualquier luz dispersa o emitida resultante de la muestra a lo largo de un recorrido que se dispone a 60 grados o 90 grados con respecto al recorrido del haz incidente.

- 45 La unidad de la invención puede ser utilizada de forma adecuada en ciencia de proteína y en inmunodiagnósticos y otros ensayos.

- 50 La comprensión de la propensión de las proteínas a desplegarse y agregarse cuando se exponen a diferentes entornos es de considerable interés tanto para la investigación biológica fundamental como para el desarrollo de proteínas terapéuticas. Muy a menudo las proteínas de interés tienen un suministro reducido y es altamente recomendable ser capaces de realizar de forma simultánea medidas analíticas múltiples a partir de una cantidad muy pequeña de muestra mientras se están estresando, por ejemplo mediante calentamiento, ya que se reduce la cantidad de muestra requerida para proporcionar una cantidad dada de información. Adicionalmente, hay muchos

ejemplos en los que el investigador puede querer o bien realizar estas medidas sobre diferentes proteínas o sobre una proteína única mezcla de solución con un amplio rango de diferentes aditivos y por lo tanto es altamente deseable un conjunto de contenedores de muestra y una adquisición de datos automatizada. Una forma común de expresar una proteína es calentándola. Una aplicación biotecnológica típica de la invención podría ser en la evaluación de un amplio rango de diferentes combinaciones de aditivos para añadir a una proteína dada con el fin de identificar cual combinación da a la proteína la mayor resistencia para desplegarse y la agregación a elevadas temperaturas.

Utilizándola el aparato, pequeñas cantidades de proteína pueden disolverse en un amplio rango de diferentes soluciones siendo colocada cada muestra en un contenedor individual de la placa de muestra de contenedores múltiples y calentar las muestras de forma gradual. En incrementos de temperatura pre definidos, se pueden aplicar a su vez métodos analíticos ópticos complementarios múltiples a cada contenedor de muestra. Por ejemplo, se puede utilizar una espectroscopia de fluorescencia para monitorizar la estructura terciaria de la proteína, se puede utilizar una dispersión de luz para monitorizar la agregación de la proteína y una absorción óptica puede proporcionar información acerca de los cambios en la estructura secundaria y si la proteína agregada está precipitando.

Analizando muestras utilizando de forma simultánea técnicas ortogonales múltiples, de esta manera, se pueden realizar análisis biofísicos detallados de pequeños volúmenes de muestra de proteínas u otras moléculas, permitiendo que se reduzcan los tiempos y costes de desarrollo biofarmacéuticos permitiendo una identificación mejor informada de candidatos principales para el desarrollo. Los estudios críticos tales como estudios de formulación previa y estabilidad pueden por lo tanto realizarse de forma más temprana en el proceso de desarrollo, reduciendo el riesgo de agotamiento del candidato de medicamento de etapa tardía.

Los ensayos cianóticos basados en la unión altamente específica de anticuerpos a moléculas blanco se usan ampliamente tanto en medicina clínica como en investigación biológica. Un rango de técnicas ópticas son utilizadas en general para detectar la unión de anticuerpos de prueba a la molécula blanco incluyendo la solución óptica, la fluorescencia, la químico-luminiscencia y la turbidez (ensayos de "aglutinación"). El aparato descrito en el presente documento es adecuado para leer ensayos basados en mecanismos de lectura precedentes y de hecho ofrece el potencial de realizar de forma simultánea múltiples ensayos diferentes en el mismo modo volumen de muestra, utilizando cada uno un mecanismo de lectura diferente. En muchas aplicaciones de inmuno-ensayo es altamente deseable utilizar la cantidad mínima de muestra posible y tener una realización automatizada de las muestras múltiples, por ejemplo, en aplicaciones de descubrimiento de medicamentos. El uso de contenedores de muestra desechables es también altamente recomendable dado que incluso pequeñas cantidades de contaminación pueden afectar a los resultados del inmuno-ensayo. El aparato descrito en el presente documento cumple estos criterios.

La invención puede ser ilustrada adicionalmente a modo de ejemplo sólo con referencia los dibujos que acompañan.

La unidad de la invención comprende un conjunto plano de contenedores (1) de muestra ópticamente transparentes acoplados físicamente entre sí en una configuración plana para formar un conjunto (2) de contenedores múltiples, también referido en el presente documento como una (placa de muestra). El plano de esta placa define un plano de coordenadas XY con la coordenada Z disponiéndose ortogonal a este plano.

La figura 1.1 que ilustra el sistema de coordenadas utilizado en el texto y el plano de la placa. La placa puede ser orientada horizontalmente o verticalmente con respecto al campo gravitacional.

El conjunto puede ser de cualquier tamaño y disposición. Como un ejemplo, el tamaño de la placa y las localizaciones de los contenedores pueden conformar los estándares publicados por la sociedad de evaluación biomolecular para un conjunto de 8 por 12 (dando 96 contenedores) o un conjunto de 16 por 24 (384 contenedores) o un conjunto de 32 por 48 (1536 contenedores). (<http://www.sbsonline.com/msdc/approved.php>).

Los contenedores son fabricados a partir de un material ópticamente transparente de manera que los contenedores pueden ser interrogados utilizando los medios (3) ópticos desde cualquiera o ambos lados del plano de la placa (ilustrados de forma esquemática en la figura 1.2).

Los contenedores pueden ser de una forma de sección transversal circular, cuadrada, hexagonal, octogonal u otras en los planos XZ, XY e YZ de tal manera que se forman ventanas ópticamente transparentes múltiples con diferentes orientaciones con respecto al plano de la placa. Si los contenedores son de una sección transversal circular entonces hay efectivamente una ventana curvada dispuesta sobre cualquier lado del plano de la placa.

Donde la sección transversal de los contenedores es un polígono entonces se formarán ventanas ópticamente transparentes múltiples a través de las cuales puede pasar la luz dentro o fuera del volumen de muestra lo largo de recorridos ópticos separados.

Los ángulos entre los recorridos de look de entrada y de salida (ángulo incluido) pueden tener un amplio rango de valores o más sin embargo, en la configuración más simple, los recorridos de haz de entrada y de salida podrán tener un ángulo incluido de 0, 90 o 180 grados.

Algunas formas de ejemplo de sección transversal son mostradas en la figura 2.1. Con algunos ejemplos de recorridos de luz dentro y fuera de los contenedores de muestra que ilustran cómo el ángulo entre los haces de luz dentro y de salida se puede variar dependiendo cuales ventana de entrada y de salida se utilicen. La figura 2.2 ilustra un ejemplo de una forma de contenedor que tiene una sección transversal aproximadamente hexagonal en los planos XZ e YZ y una sección transversal cuadrada en el plano XY dando un total de diez ventanas ópticas. La figura 2.3 ilustra una planta y una vista lateral de un contenedor en forma de octaedro con el plano de la placa y el material de unión delgado que pasa a través de las bases de dos pirámides unidas que constituyen el octaedro. En este modo de realización, cada contenedor individual tiene cuatro ventanas por encima (y cuatro ventanas por debajo) del plano de muestra. Donde, como en el modo de realización mostrado, las ventanas están orientadas a 45 grados con respecto al plano de la placa, los haces de luz que pasan a lo largo de los ejes ópticos ortogonales a esas ventanas (en las direcciones indicadas por las flechas) interceptarán en el centro del volumen octogonal. Si se unen varios de dichos contenedores mediante una red delgada entonces la luz puede ser recolectada desde cada ventana desde cada contenedor en un ángulo de recolección próximo a 90 grados (AN 0.71).

La figura 3.1 muestra un modo de realización de ejemplo de la placa con contenedores de sección transversal cuadrada (girados 45 grados) que dan cuatro ventanas [301]. La figura también muestra cuatro lentes para entregar y recolectar luz en el volumen [302-305] de muestra. La cantidad de luz recolectada por las lentes es proporcional a la apertura numérica de las lentes cuadradas donde la apertura numérica es definida como el seno de la mitad del ángulo de recolección. Se puede apreciar en la figura 3.1 que el ángulo de recolección para cada ventana está próximo a 90 grados (AN=0.7) y por tanto recolecta una gran cantidad de cualquier luz emitida o dispersa. El mantenimiento simultáneo de cuatro ángulos de recolección grandes se hace posible por el material de unión Delgado, la orientación de las ventanas y el hecho de que los contenedores de muestra se extiendan a ambos lados del plano de la placa.

La figura 3.2 muestra un ejemplo esquemático de una placa de micro/titulación al estilo tradicional con un recorrido de suministro y de recolección de luz en cada lado de la placa. En la figura 3.2 el ángulo de recolección de la lente (4) superior está limitado por el hecho de que el pocillo no está completamente lleno de muestra y adicionalmente, si se usa en una configuración denominada de epi-iluminación (donde la luz de entrada y de salida comparten el mismo recorrido) la reflexión de la luz de excitación del menisco de muestra y/o la ventana del contenedor pueden interferir de forma significativa con la señal de la propia muestra, en algunos casos haciendo imposible la medida. La iluminación desde abajo permite un ángulo de recolección más grande pero mantiene el problema de reflexiones no deseadas y auto-fluorescencia del contenedor que puede oscurecer la señal de la muestra. La figura 3.3 muestra como recorridos de haz separados se pueden utilizar para el suministro y la recolección de luz desde una placa de multi-pocillos convencional, sin embargo se puede apreciar que los ángulos de recolección son mucho más pequeños que los mostrados en la figura 3.1 para la misma placa de la presente invención. A modo de ilustración, el ángulo de recolección en la figura 3.1 es aproximadamente seis veces mayor que en la figura 3.2 (placa de micro-titulación convencional) por tanto dando una eficiencia de recolección por lente aproximadamente 36 veces mayor.

La figura 3.4 ilustra un contenedor de muestra de las mismas dimensiones que aquellos en la placa ilustrado en la figura 3.1, pero girados 45 grados y con el material (5) de unión dispuesto en un lado de los pocillos. Se puede apreciar que es posible tener una alta recolección de NA pero sólo a través de dos de las ventanas, limitando tanto la cantidad total de luz que puede ser recolectada como evitando el ángulo incluido de 90 grados entre los haces de luz de iluminación y de recolección que es óptimo para un número de técnicas analíticas ópticas tales como la fluorescencia y la dispersión de luz. Adicionalmente, el ángulo de recolección alto se puede mantener solamente para una configuración de epi-iluminación con las desventajas asociadas discutidas anteriormente o una configuración directa que es adecuada para la mayoría de las técnicas analíticas ópticas excepto la absorción óptica. La figura 3.5 ilustra la misma placa iluminada con cuatro lentes para permitir una iluminación distinta de la epi-iluminación y distinta de la iluminación directa. En este caso, el ángulo de recolección cuando se utilizan cuatro lentes es aproximadamente la mitad del de la configuración en la figura 3.1 y por tanto la eficiencia de recolección es aproximadamente un cuarto de la posible con el diseño de placa de la presente invención.

Los contenedores pueden ser de cualquier tamaño con la cantidad de muestra requerida para cada pocillo siendo definida por las dimensiones del pocillo. En una configuración típica, el contenedor puede tener una sección transversal cuadrada de un diámetro interno de 1 mm y de una longitud de 1 mm lo cual podría dar un volumen de contenedor de 1 μ l.

La placa de contenedores múltiples puede estar orientada verticalmente (plano XY paralelo al campo gravitacional) durante la medida de tal manera que no hay un espacio de aire y menisco entre el líquido de muestra y la pared de contenedor a través de la cual pasan los recorridos de luz de entrada y de salida (figura 4.1).

Cuando se coloca en una configuración horizontal, si las dimensiones en sección transversal del contenedor son lo suficientemente pequeñas entonces la tensión superficial de la muestra de líquido permite la ausencia de un espacio de aire y de un menisco entre el líquido de muestra y la pared del contenedor a través de la cual pasan los recorridos de luz de entrada y de salida (figura 4.2). De forma alternativa, para dimensiones de muestra más grandes se pueden diseñar configuraciones que aseguren que la interfaz aire-muestra no interfiera con el acceso óptico a la muestra proporcionando un canal de llenado con una entrada por encima del nivel de la parte superior del contenedor (6) de muestra (ilustrado en la figura 5.1, dirección de llenado indicada por flechas abiertas. La placa

puede estar configurada de tal manera que se puede cargar con muestra en una configuración horizontal, lo cual asegura la compatibilidad con equipos de manipulación de fluido convencionales y después colocarse en el instrumento de medida en una configuración vertical (ilustrada en la figura 5.3).

Si los contenedores de muestra son pequeños se puede utilizar entonces la aplicación de una fuerza centrífuga a la placa para asegurar que la muestra esté situada en el extremo del contenedor (ilustrado en la figura 5.2). Esto es ventajoso dado que significa que todo el contenedor no necesita ser llenado para que se conozca la posición de la muestra del contenedor, lo cual es requerido durante las medidas ópticas. Por ejemplo, una muestra de líquido de 1 μ l puede ser cargada en un contenedor de 10 μ l (una sección cuadrada de 1 mm, 10 mm de largo) y centrifugada para asegurar que la longitud de 1 mm de la muestra este situada en el extremo del contenedor.

En un modo de realización, la placa de muestra puede incorporar una serie de canales a través de los cuales puede fluir la muestra dentro de los contenedores tales como los mostrados en la figura 6.1, donde un canal discurre desde un puerto (7) de carga en el borde de la placa dentro del contenedor de muestra y un segundo discurre fuera de la placa para permitir salir al aire a medida que el contenedor es llenado.

El flujo puede ser dirigido mediante varios medios conocidos en el estado de la técnica tal como la aplicación de una fuerza centrífuga o una fuerza neumática. Estos canales también pueden contener estructuras funcionales tales como separadores y mezcladores conocidos en el estado de la técnica y aplicados en el campo de micro-fluídica. Un ejemplo de estructura de separación simple es mostrada la figura 6.2 en el la cual se puede cargar una muestra en un puerto (8) de carga principal y después es separada en nueve partes alícuotas a medida que pasa a través de la estructura de canal. El diseño de la placa es particularmente susceptible de fabricarse a partir de películas de polímero ópticamente transparentes formadas por vacío o estampado. Una ilustración esquemática del proceso de formación por vacío es presentada en la figura 7. Dos hojas (9, 10) de termo-polímero transparente son situadas entre dos mitades de un molde (11, 12) que tiene características hembras correspondientes al perfil deseado de la placa final (figura 7.1), el aire es entonces retirado de los espacios entre los moldes y las hojas y el polímero es después calentado (vacío indicado por las flechas). Cuando se ha calentado el polímero se hace más blando y la diferencia de presión hace que la hoja adopte el perfil del muelle (figura 7.2). Mientras que el polímero está todavía blando las dos mitades del molde pueden entonces ser presionadas entre sí para unir las dos mitades de polímero (figura 7.3) antes de que el conjunto se enfríe y la placa de muestra finalizada sea retirada del molde (figura 7.4). Dicho método de fabricación es ventajoso ya que es adecuado para la producción en masa a bajo coste y utiliza sólo pequeñas cantidades de polímero para fabricar cada placa, la película delgada tiene una buena transparencia óptica, y tiende a generar menos interferencia de auto-fluorescencia que un material en bruto, lo cual es particularmente importante para volúmenes de muestra pequeños. Una película delgada también permite un buen contacto térmico entre la muestra dentro y el calentamiento/enfriamiento externo facilitando un buen control de la temperatura de muestra y una rápida ecualización térmica.

De forma alternativa, la placa puede ser fabricada a partir de un termo-plástico adecuado utilizando técnicas de moldeo por inyección. La fabricación utilizando materiales de bajo coste tales como termo-polímeros transparentes tiene el potencial de hacer las placas de muestra desechables viables desde el punto de vista económico; las placas desechables son deseables en muchas aplicaciones dado que son más eficientes en costes y tiempo que el lavado de las placas y debido a que se elimina la posibilidad de una contaminación de la muestra. Un método de fabricación alternativo adicional es utilizar secciones de un tubo de polímero ópticamente transparente, cristal o cuarzo unido a una placa mecanizada o moldeada por inyección.

Otra ventaja clave de mantener la configuración óptima para cada tipo de medida óptica es la interferencia de auto-fluorescencia reducida del contenedor en las medidas ópticas. Esto es particularmente importante para una fluorescencia excitada UV profunda y para una espectroscopia de Raman. Esto a su vez tiene la ventaja de que se pueden utilizar materiales más baratos para fabricar la placa de muestra por tanto reduciendo los costes de fabricación y haciendo las placas de muestra desechables que sean viables desde el punto de vista económico con los beneficios asociados marcados anteriormente. De forma adicional, una señal en segundo plano reducida significa que se pueden estudiar unos volúmenes o concentraciones de muestra más pequeños, lo cual es importante en muchas aplicaciones.

En un modo de realización, la placa de muestra está configurada de tal manera que la luz que pasa a través del contenedor (1) de muestra es reflejada desde un espejo (13) dispuesto perpendicular al plano de la placa de muestra de tal manera que la luz que sale es reflejada en 90 grados. La figura 8 ilustra el uso de un espejo para facilitar las medidas de absorción. Este puede ser utilizado, por ejemplo, para permitir que se realice una espectroscopia de absorción mientras que se mantienen todos los componentes ópticos distintos de los espejos en el mismo lado del plano de la placa simplificando tanto el diseño óptico como el diseño de los sistemas de calentamiento y enfriamiento de la muestra dado que el sistema de calentamiento/enfriamiento por debajo de la placa de muestra no necesita ser ópticamente transparente. La figura 8.1 muestra un recorrido de entrada único y recorridos de salida múltiples, la figura 8.2 ilustra recorridos de entrada múltiples y un recorrido de salida único.

De forma conveniente, la placa puede estar o bien hecha a partir de un material térmicamente conductor, tener partes térmicamente conductoras o estar contenido en una envolvente térmicamente conductora. Esto puede entonces ser utilizado para transferir calor a o desde la muestra en el contenedor para facilitar el control de

temperatura de la muestra. Este es un requisito común en muchas aplicaciones bioquímicas potenciales. La figura 9.1 ilustra una placa demuestra asentada en una etapa (14) de calentamiento/enfriamiento con la configuración despejo descrita en el párrafo anterior permitiendo que se realicen las medidas de absorción óptica. La figura 9.2 muestra una placa demuestra encerrada en una funda (15) hecha de un material térmicamente conductor con agujeros de acceso ópticos proporcionados para permitir la iluminación y recolección de luz desde la muestra.

La presente invención permite que sean utilizadas múltiples fuentes de luz diferentes para iluminar de forma simultánea y/o en serie el volumen de muestra desde múltiples direcciones de entrada. Esto es ventajoso dado que diferentes tipos de medidas ópticas requieren diferentes tipos de fuentes de luz y rangos de longitud de onda de la luz.

Se divulga una configuración óptica que permite que se recolecte la luz saliente de forma simultánea o en serie en múltiples ángulos incluidos con respecto a la luz de entrada. Estos ventajoso dado que la configuración óptica óptima es diferente para diferentes técnicas de medida ópticas y también permite que se realicen múltiples tipos de medida de forma simultánea, ilustrado de forma esquemática en la figura 10. Tal y como se muestra en la figura 10.1, una o más fuentes [101] de iluminación pasan por encima y paralelas al plano de la placa [102] de muestra hasta un espejo [103] que dirige el haz hacia abajo a través de una de las ventanas de uno de los contenedores de muestra. De forma alternativa, el haz de luz que ilumina puede ser dirigido mediante un separador o filtro [104] de haz óptico en un ángulo diferente a través de una ventana diferente en el contenedor de muestra. La luz dispersa o emitida pasa a otro espejo [105] y después a un separador de haz óptico adicional o a un espejo [106] hasta el sistema [107] de detección óptica. Modos de realización alternativos de esta configuración básica son mostrados en las figuras 10.2 (entrada única, salida doble) y 10.3 (recorrido de entrada único, recorrido de salida doble, sin espejo).

En la figura 10.2 fuentes de iluminación comparten un recorrido óptico coincidente en el volumen [110] demuestra y la luz transmitida y emitida/dispersa pasa al sistema de detección a lo largo de dos recorridos [111] ópticos separados pero paralelos.

En un modo de realización alternativo de la figura 10.3, la luz que ilumina desde múltiples fuentes es suministrada a lo largo de un solo recorrido de luz coincidente y recolectada en múltiples ángulos. En este modo de realización, sin embargo, no se sitúa ningún espejo bajo la placa demuestra y la luz transmitida pasa a un sistema [112] detector separado.

Diferentes tipos de medida ópticos compatibles con la presente invención con indicaciones del tipo de fuente de luz y la configuración óptima y las trayectorias de entrada y de salida son enumerados en la tabla 1 más abajo:

Método de medida óptica	Fuente de luz típica	Rango de longitud de onda	Ángulo incluido óptimo entre la luz de entrada y de salida
Espectroscopia fluorescente	Lámpara láser o filtrada	Estrecho	90 grados ^a
Dispersión de luz	Láser	Estrecho	90 grados o ángulos múltiples ^b
Espectroscopia de absorción óptica (UV-visible)	Lámpara	Ancho	180 grados
Espectroscopia de absorción óptica (NIR)	Lámpara	Ancho	180 grados
Espectroscopia de Raman	Láser	Ancho	90 grados
^a la configuración de 90 grados resulta en menos interferencia de luz de excitación en el espectro y una auto-fluorescencia reducida del contenedor de la muestra ^b la configuración de 90 grados reduce la señal en segundo plano debido a las reflexiones en las paredes del contenedor. Los ángulos múltiples pueden dar información con respecto a un tamaño de partícula más grande.			

La luz de salida puede pasarse a uno o más tipos de análisis espectral y sistemas de detección. La luz puede ser dirigida a canales de análisis y de detección múltiples con cada uno siendo diseñado para uno o más tipos de medida óptica (ejemplo presentado en la figura 10.3). De forma alternativa, se puede emplear un único canal de análisis y detección que es adecuado para todos los tipos de medida que se van a emplear (ejemplos presentados en las figuras 10.1 y 10.2).

En un modo de realización de la invención se puede utilizar un espectrógrafo de obtención de imagen y un detector de conjunto tal como una cámara CCD en combinación con la placa demuestra y un conjunto óptico adecuado para realizar de forma simultánea y/o de forma secuencial múltiples tipos de medida óptica utilizando el mismo detector, ilustrado de forma esquemática en la figura 11.

5 La figura 11.1 ilustra de forma esquemática el área de un detector de conjunto en el plano focal de un espectrógrafo de obtención de imagen. Los rangos de longitud de onda de cada una de las técnicas de análisis óptico son diferentes y por lo tanto pueden leerse de forma simultánea en una única exposición del detector de conjunto. La figura 11.1 muestra como la absorción UV, la fluorescencia, la dispersión de luz y el espectro de Raman, pueden ser todos ellos registrados de forma simultánea (tal y como se muestra, la región A es la absorción UV, la región B es la fluorescencia, la región C es la dispersión de luz y la región D es el espectro de Raman).

En una configuración alternativa de la figura 11.2, la luz separada espectralmente para las diferentes técnicas es dispuesta en el detector de conjunto en bandas perpendiculares de manera que una vez de nuevo toda la información puede ser adquirida en una única exposición del detector.

10 A través de la descripción y de las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, las palabras “comprende” y “contiene” y variaciones de las palabras, por ejemplo “que comprende” y “comprende”, significan que “incluyen pero no están limitadas a” y que no excluyen otras porciones, aditivos, componentes, números enteros o etapas.

15 A través de la descripción y de las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, el singular engloba el plural a menos que el contexto requiera lo contrario. En particular, cuando se utiliza el artículo indefinido, la memoria descriptiva se ha de entender como que contempla la pluralidad así como la singularidad, a menos que el contexto requiera lo contrario. Características preferidas de cada aspecto de la invención pueden ser descritas en conexión con cualquiera de los otros aspectos.

REIVINDICACIONES

1. Una unidad que comprende un conjunto (2) de contenedores (1) de muestra, dichos contenedores (1) estando conectados juntos y dispuestos en una configuración plana, cada contenedor (1) que tiene múltiples ventanas ópticamente transparentes con al menos una de las ventanas de cada contenedor (1) estando inclinada con respecto al plano del conjunto (2) caracterizada porque los contenedores (1) de muestra están conectados mediante una red de unión, que tiene un plano que pasa a través del centro de los volúmenes de muestra definidos por los contenedores (1), con cualquiera de las ventanas dispuestas por encima y por debajo de un plano de la red de unión, o, si los contenedores son de sección circular, con una ventana curvada dispuesta en cualquier lado del plano de la red de unión.
2. Una unidad de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los contenedores (1) de muestra son de sección transversal poligonal o circular.
3. Una unidad de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las ventanas en cada contenedor (1) de muestra incluyen múltiples ventanas ópticamente transparentes no paralelas.
4. Una unidad de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el conjunto (2) comprende un material térmicamente conductor.
5. Una unidad de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende uno o más canales a través de los cuales se pueden llenar dichas muestras en los contenedores (1).
6. Una unidad de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, formada a partir de un material termoplástico ópticamente transparente.
7. Una unidad de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende un espejo, estando situado el espejo por debajo del conjunto (2) de contenedores (1) y paralelo al plano del conjunto (2).
8. Una unidad de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el conjunto (2) está encerrado en una funda térmicamente conductor a con agujeros de acceso óptico estando revistos en la funda para permitir la iluminación y recolección de luz desde una muestra.

Figura 1:

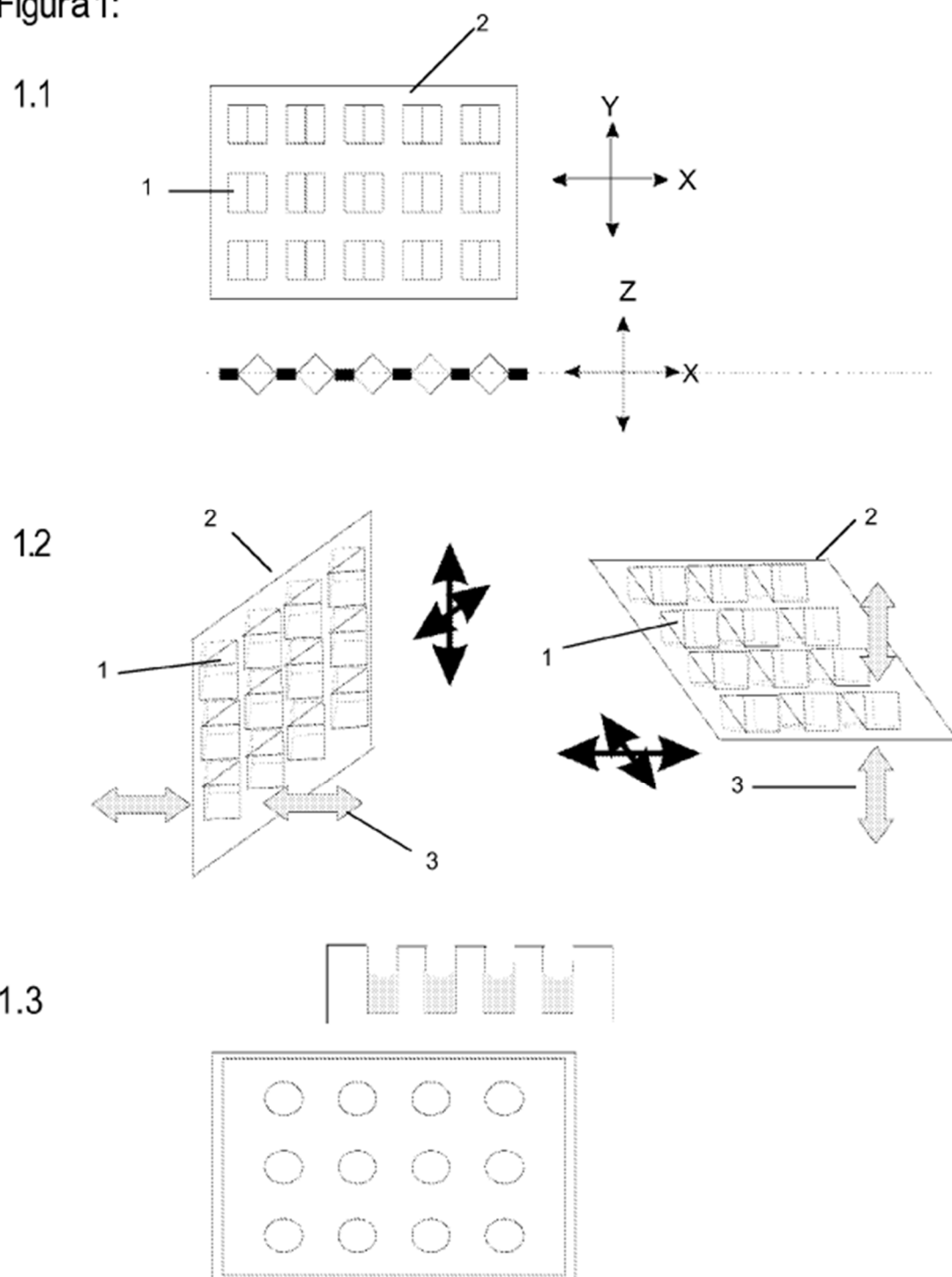
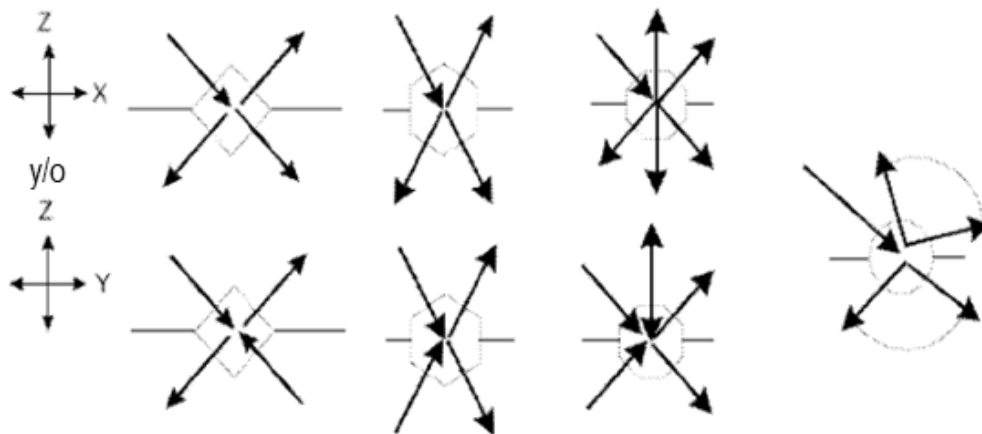
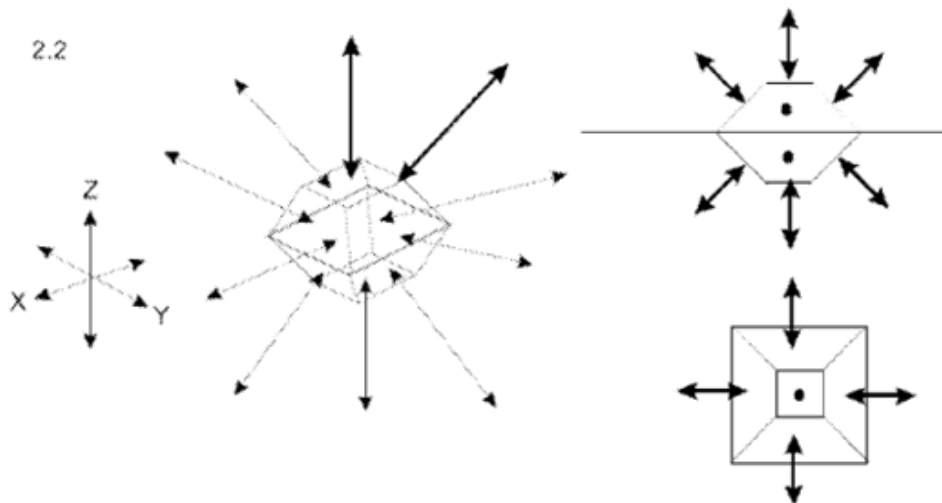


Figura 2:

2.1



2.2



2.3

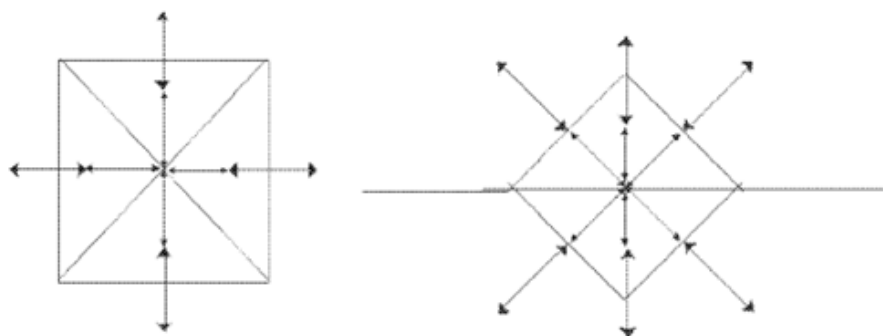


Figura 3:

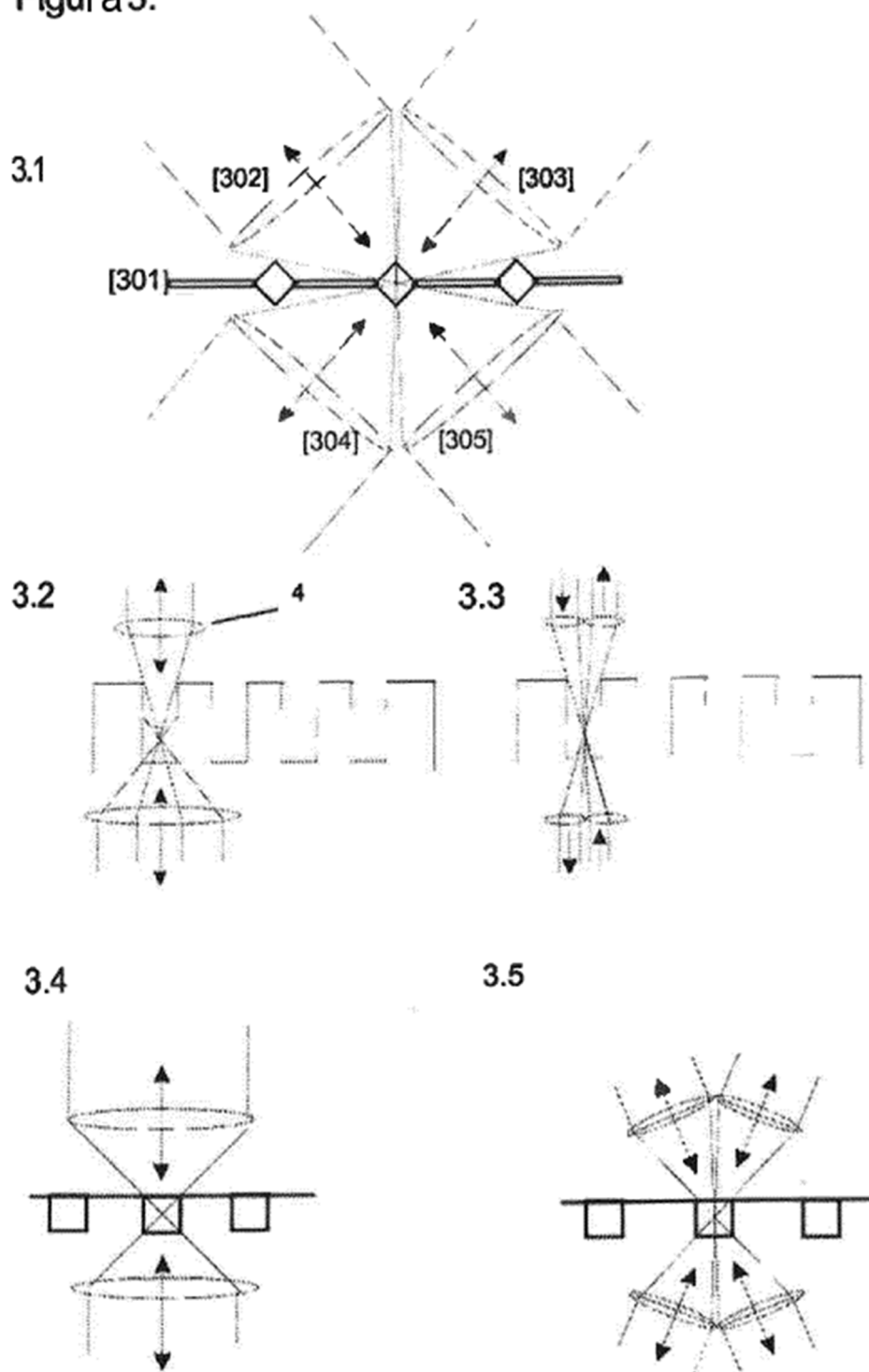


Figura 4:

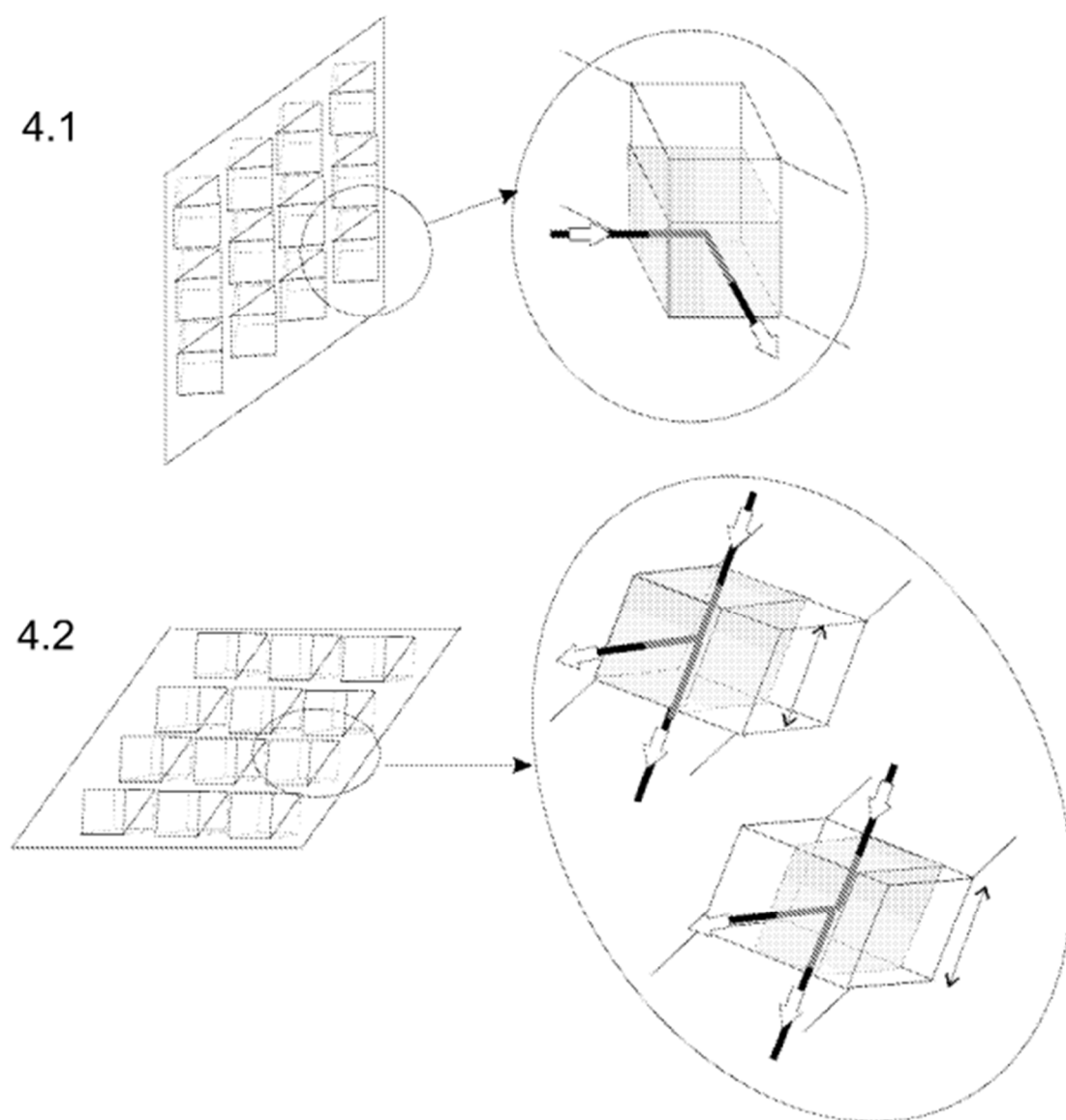
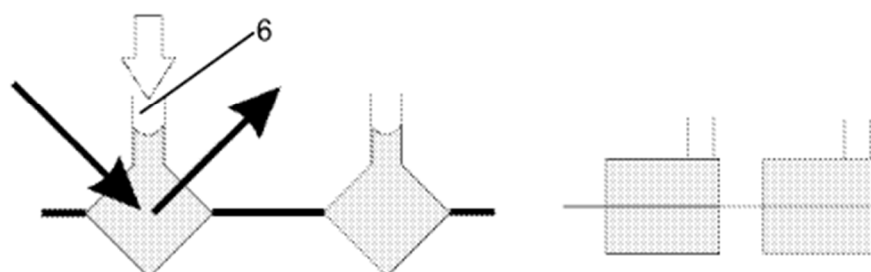
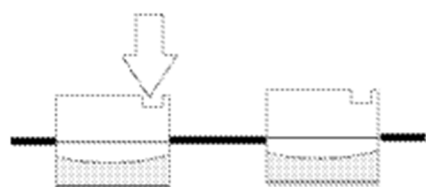


Figura 5:

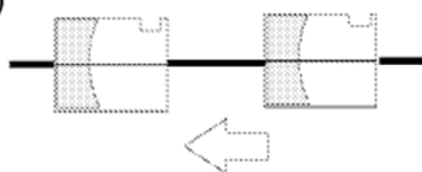
5.1



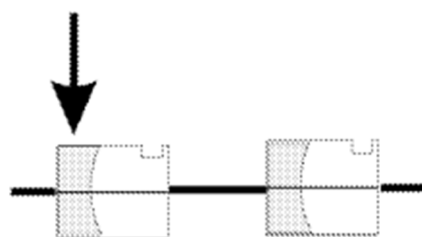
5.2



ii)



iii)



5.3

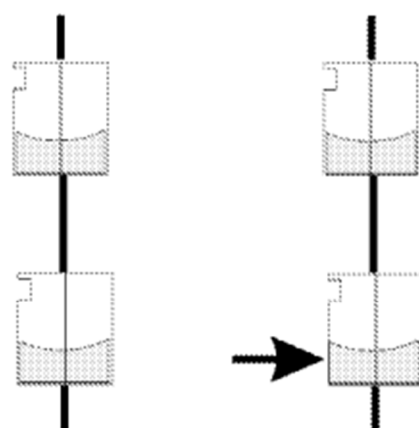
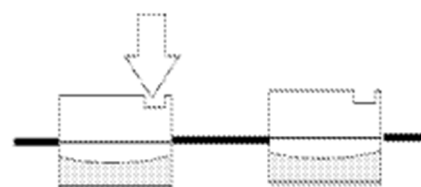
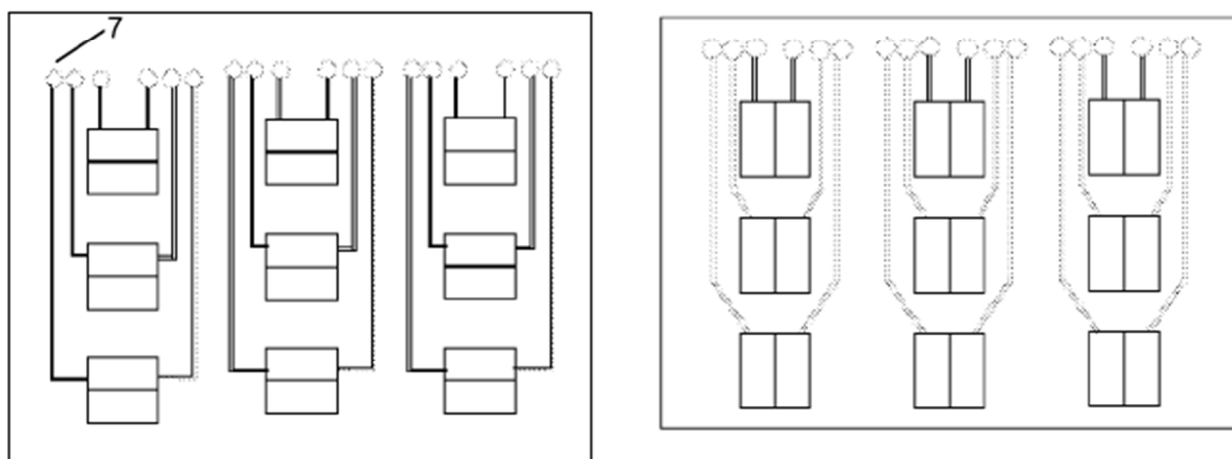


Figura 6:

6.1



6.2

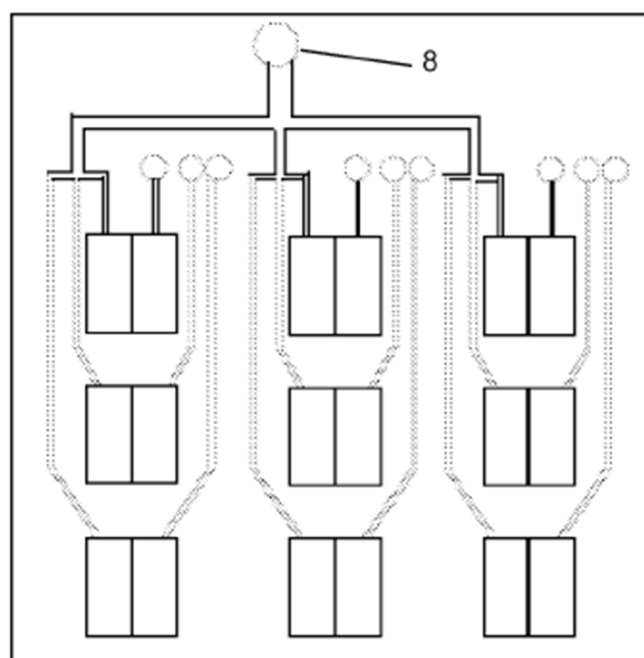
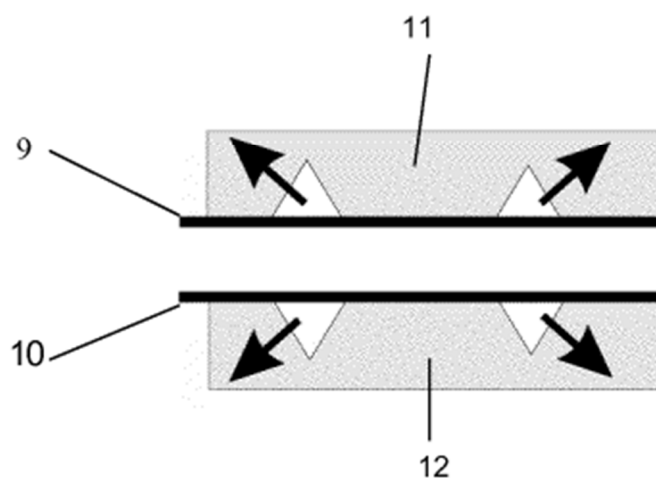
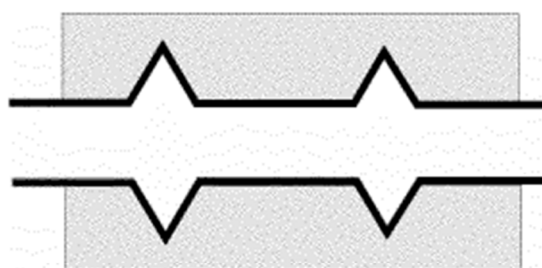


Figura 7:

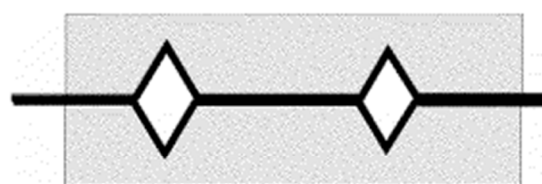
7.1



7.2



7.3



7.4

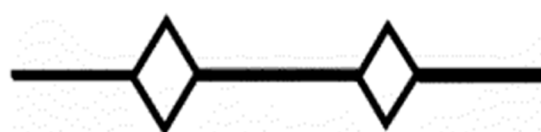
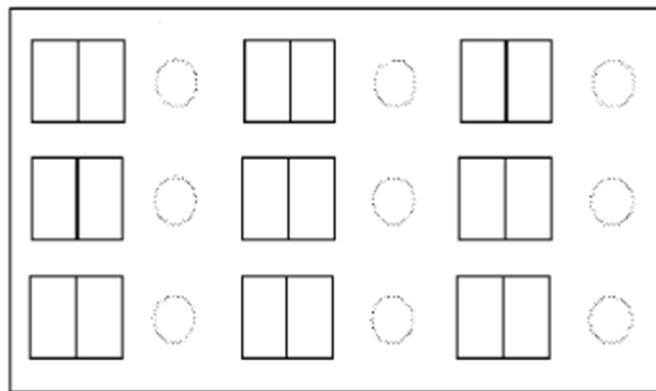
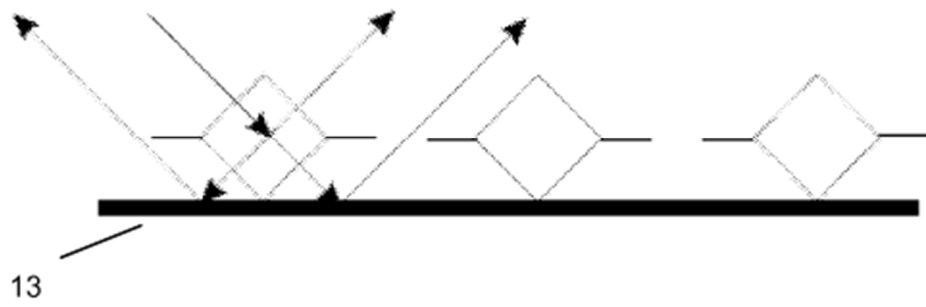


Figura 8:

8.1



8.2

(a)

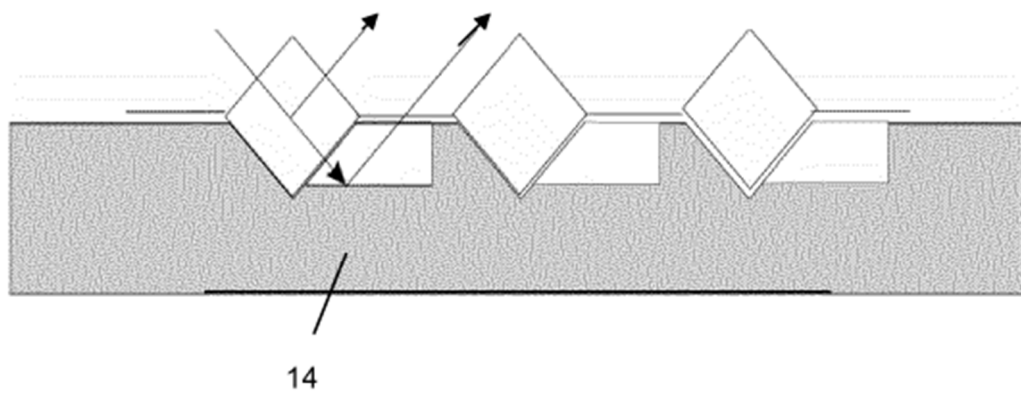


(b)



Figura 9:

9.1



9.2

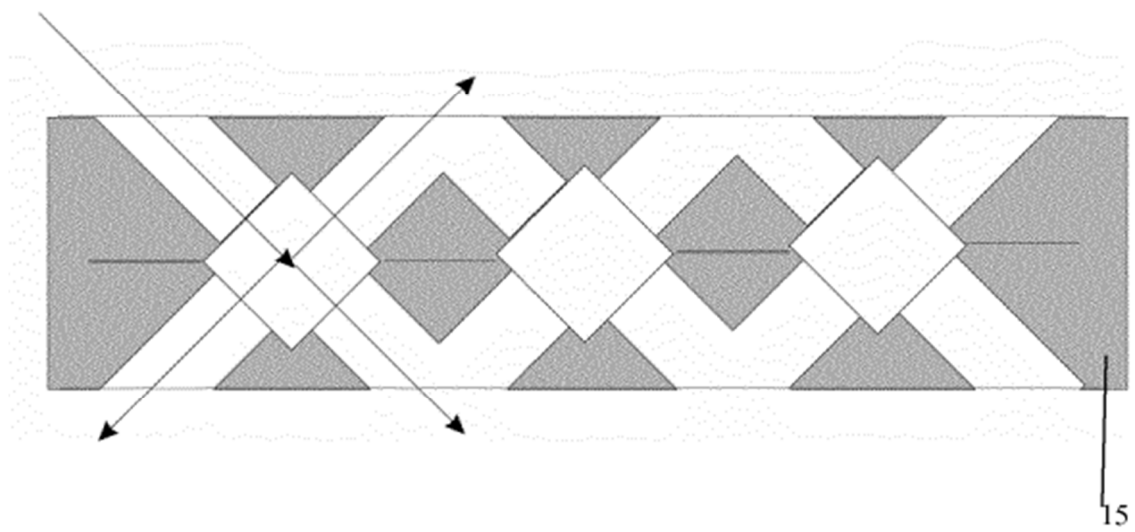
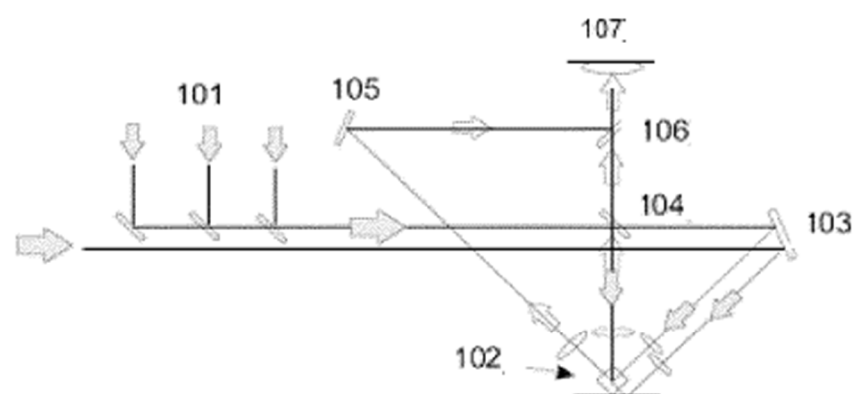
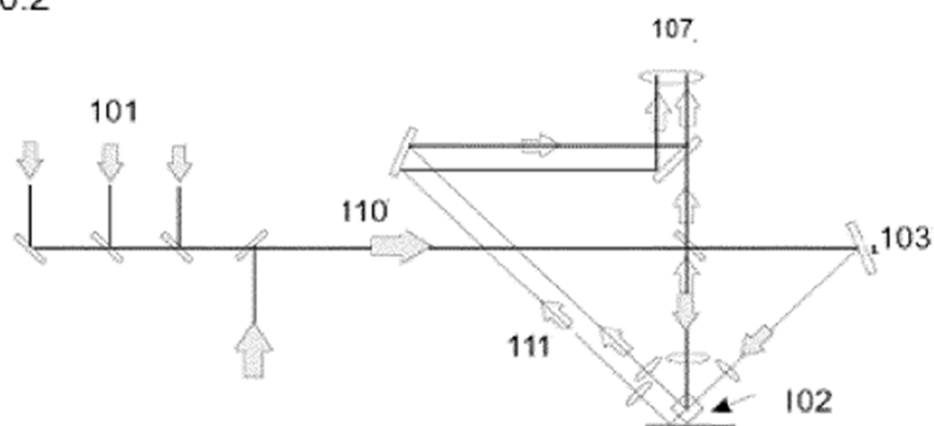


Figura 10:

10.1



10.2



10.3

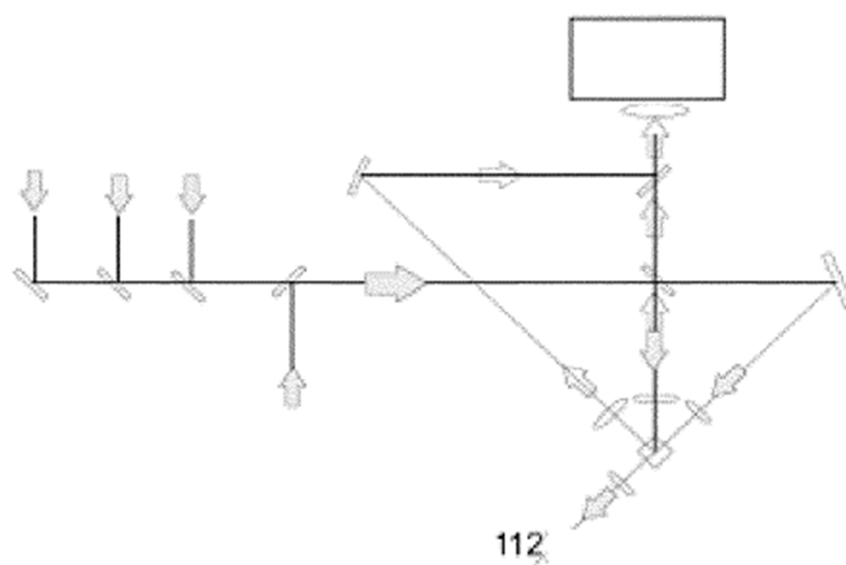
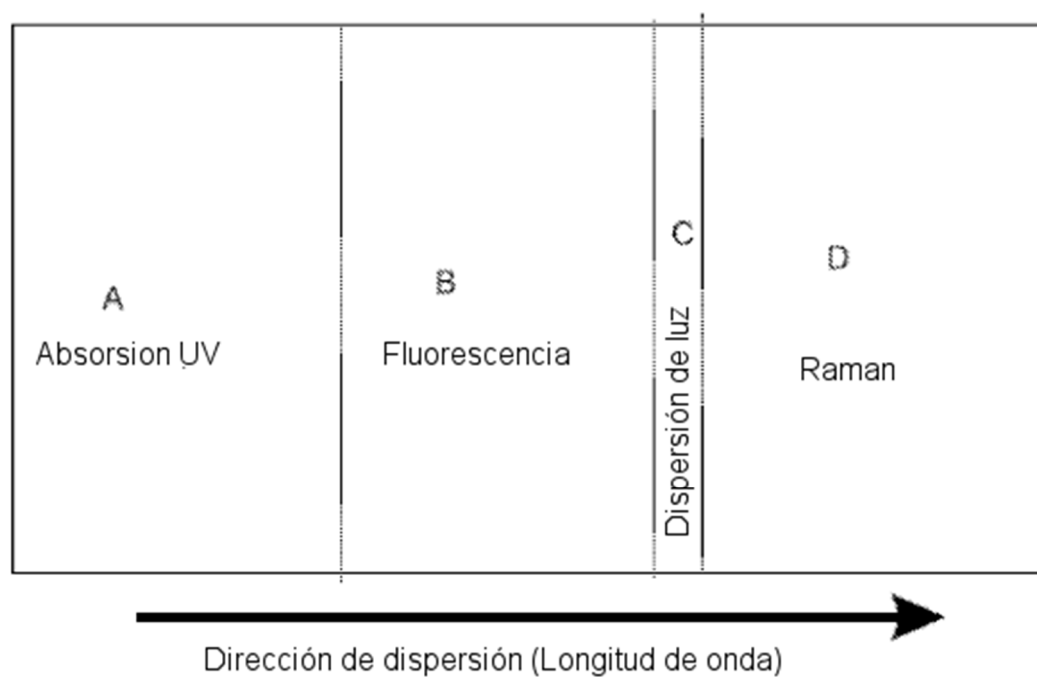


Figura 11:

11.1



11.2

