

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 370**

51 Int. Cl.:

C12N 15/10 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2015 E 15182079 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2018 EP 3009510**

54 Título: **Método rápido de extracción de ácido nucleico y aparato**

30 Prioridad:

17.10.2014 US 201414517527

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

05.03.2018

73 Titular/es:

**LAI, DANIEL (100.0%)
Unit 1 25, Majesty Place Half Moon Bay
2012 Auckland, NZ**

72 Inventor/es:

LAI, DANIEL

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 657 370 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 rápido de extracción de ácido nucleico y aparato

Fundamento de la descripción

Campo de la descripción

- 5 La presente descripción se refiere a la extracción de ácido nucleico y en particular a la extracción de ácido nucleico por medio de un dispositivo o aparato de extracción.

Técnica relacionada

10 Los ácidos nucleicos son macromoléculas poliméricas esenciales para todas las formas de vida conocidas. Los ácidos nucleicos incluyen ADN (ácido desoxirribonucleico) y ARN (ácido ribonucleico) hechos a partir de monómeros conocidos como nucleótidos. Las macromoléculas más importantes encontradas en los seres vivos son ácidos nucleicos y proteínas, ya que funcionan en la codificación, transmisión y expresión de la información genética. Para examinar el ácido nucleico, se necesita un proceso de "extracción". Otros nombres para la "extracción" incluyen "purificación", "aislamiento" o "concentración". Se conocen complejos métodos de laboratorio para la extracción de ácido nucleico tales como extracción por medio de cromatografía en columna y separación basada en esferas magnéticas. El documento WO 97/32645 describe un sistema de procesado de muestras cerrado donde los fluidos de lavado se bombean desde recipientes cerrados, filtrándose cualquier aire que esté permitido en los recipientes. El aire que se bombea en el sistema de procesado de muestras, tal como para secar la fase sólida, se filtra.

Compendio

20 Se proporciona un método que comprende: construir una cápsula rompible que contiene un tampón de lavado; insertar dicha cápsula en un dispositivo de jeringa de manera que dicha cápsula se coloque por encima de un extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa y por debajo de un émbolo de dicho dispositivo de jeringa; insertar el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa en un recipiente que contenga una disolución que comprende un ácido nucleico, además el recipiente comprende una membrana configurada para capturar ácido nucleico; apretar el émbolo de dicho dispositivo de jeringa para forzar primero dicha disolución a través de dicha membrana de manera que la membrana retenga el ácido nucleico mientras pasan los componentes indeseados de la disolución a su través; provocar después de eso que dicha cápsula rompa para liberar dicho tampón de lavado; y hacer avanzar más al émbolo de dicho dispositivo de jeringa para expulsar dicho tampón de lavado por el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa y a través de dicha membrana dejando el ácido nucleico puro en dicha membrana.

30 También se proporciona un método de extracción rápida de ácido nucleico empleando un primer recipiente que tiene un extremo superior que comprende una abertura y un extremo inferior lleno con una membrana configurada para retener ácido nucleico y además que emplea un dispositivo de jeringa que comprende un cilindro y un émbolo montado de forma móvil en dicho cilindro, comprendiendo el método: construir una cápsula de liberación de tampón de lavado que contiene un líquido de tampón de lavado; insertar dicha cápsula de liberación de tampón de lavado en el dispositivo de jeringa; pre-llenar un segundo recipiente con una disolución de preparado de ácido nucleico seleccionado para abrir células de una muestra en bruto, liberar ácido nucleico, y conservar dicho ácido nucleico; introducir una muestra en bruto que contiene ácido nucleico en el segundo recipiente pre-llenado y agitar los contenidos del segundo recipiente para producir una disolución de ácido nucleico procesada lista para la extracción; llenar el primer recipiente con una cantidad seleccionada de la disolución procesada de ácido nucleico; insertar dicho dispositivo de jeringa en el primer recipiente; apretar el émbolo de dicho dispositivo de jeringa hacia abajo para provocar presión de aire para forzar primero a la disolución procesada de ácido nucleico a través de la membrana capturando de esta forma ácido nucleico en la membrana mientras pasan otros componentes de la disolución procesada de ácido nucleico a través de la membrana; provocar después de eso que dicha cápsula de liberación de tampón de lavado libere dicho tampón de lavado en una posición por debajo de dicho émbolo; y hacer avanzar más dicho émbolo hacia abajo para expulsar dicho tampón de lavado a través de dicha membrana dejando así ácido nucleico puro alojado en la membrana.

45 También se proporciona un método de extracción de ácido nucleico que emplea un dispositivo de jeringa que contiene una cápsula rompible que contiene un tampón de lavado colocado por encima de un extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa y debajo de un émbolo de dicho dispositivo de jeringa, comprendiendo el método: insertar el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa en un recipiente que contiene una disolución que comprende un ácido nucleico, también el recipiente comprende una membrana configurada para capturar el ácido nucleico; apretar el émbolo de dicho dispositivo de jeringa para forzar primero a dicha disolución a través de dicha membrana de manera que la membrana retiene el ácido nucleico mientras pasan los componentes indeseados de la disolución a su través; provocar después de eso que dicha cápsula rompa para liberar dicho tampón de lavado; y hacer avanzar más el émbolo de dicho dispositivo de jeringa para expulsar dicho tampón de lavado por el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa y a través de dicha membrana dejando ácido nucleico puro en dicha membrana.

Una selección de características opcionales se presenta en las reivindicaciones dependientes.

Breve descripción de los dibujos

- La Fig. 1 es un diagrama esquemático de las etapas de un procedimiento de preparación de disolución de ácido nucleico ilustrativo;
- 5 La Fig. 2 es una vista lateral que ilustra etapas adicionales y el aparato empleado en un proceso de extracción de ácido nucleico ilustrativo;
- La Fig. 3 es una vista lateral del aparato de la Fig. 2 en un estado montado;
- La Fig. 4 es una vista de sección lateral de una cápsula de tampón de lavado ilustrativo;
- La Fig. 5 es una vista de sección lateral de un componente del cuerpo de la cápsula de la Fig. 4;
- La Fig. 6 es una vista desde arriba de la cápsula de la Fig. 4;
- 10 La Fig. 7 es una vista lateral de un componente en punta de la cápsula de la Fig. 4;
- La Fig. 8 es una vista esquemática lateral que ilustra la disposición de una cápsula según la Fig. 4 en una jeringa en cooperación con el aparato ilustrado en las Figs. 2 y 3;
- La Fig. 8A es una vista de sección lateral que ilustra la cápsula de la Fig. 4 en una posición de liberación de tampón de lavado;
- 15 La Fig. 9 ilustra un proceso que emplea una segunda jeringa para conseguir ácido nucleico puro.
- La Fig. 10 es una vista de sección lateral de una realización de cápsula alternativa;
- La Fig. 11 ilustra una cápsula alternativa y un mecanismo de ruptura de la cápsula;
- La Fig. 12 ilustra una realización de un receptáculo de recogida de residuos;
- La Fig. 13 es una vista esquemática lateral de una realización alternativa; y
- 20 La Fig. 14 es una vista esquemática lateral de otra realización alternativa.

Descripción detallada

En una realización ilustrativa, según la Fig. 1, una muestra 11 o disolución 16, por ejemplo, saliva humana en un frotis de algodón, fluidos corporales tales como sangre, sudor u orina, piel, pelo, muestras de plantas, cultivos celulares, cultivos de microorganismos, suelo o cualquier muestra que comprende potencialmente ácidos nucleicos, se suministra a un recipiente 13, que se pre-llena con una disolución de preparado de ácido nucleico 14 que contiene tampones de pH apropiados y otros aditivos para abrir células de la muestra para liberar el ácido nucleico y para conservar el ácido nucleico, por ejemplo, evitando que las enzimas degraden el ácido nucleico. Los aditivos pueden comprender detergentes, agentes quelantes, sales, agentes caotrópicos, disolventes tales como etanol e isopropanol, ácidos, bases, con proteasa opcional, ADNasa o ARNasa. En una realización, la disolución de preparado 14 funciona como un diluyente y ajustador de pH. El recipiente 13 se somete entonces a una etapa de mezcla/agitación, que da por resultado una disolución de ácido nucleico 15 lista para la purificación/extracción.

25

Como se ilustra en la Fig. 2, un vial o primer recipiente 17 se llena entonces con una cantidad seleccionada de la disolución 15. En una realización, el vial 17 puede tener un segmento superior cilíndrico 19 y una parte ahusada de forma cónica 21 que forma una boquilla cilíndrica 23 que es de un diámetro menor que la del segmento cilíndrico 19 y se llena con una membrana 25. Los contenidos del vial 17 pueden denominarse como columna de unión de ácido nucleico, y la membrana 25 funciona reteniendo el ácido nucleico en la disolución 15 mientras los componentes indeseados se lavan a través de la membrana 25. En una realización, la membrana 25 puede estar basada en sílice. Se conocen muchas formas para fabricar una membrana 25 por los expertos en la técnica. En varias realizaciones, la membrana puede comprender sílice (SiO₂), óxido(s) de silicio, polvo de vidrio, alquil-sílice, silicato de aluminio (zeolita), sílice activo con -NH₂, o una mezcla que incluye cualquier número de los anteriores.

35

40

El aparato mostrado en las Figs. 2 y 3 incluye además un dispositivo de recogida de residuos 29, que puede ser, por ejemplo, en una realización, un recipiente de plástico cerrado con una abertura 33 en un extremo superior y formado para recibir y retener el vial 17 en una posición donde se dispone por encima de una parte de recogida de residuos 35. Para este propósito, en una realización, el vial 17 tiene un pico 18 alrededor de su borde superior o reborde con el propósito de descansar contra la superficie superior 19 del recipiente de recogida de residuos 29. Dicho pico 18 puede colocarse en cualquier lugar a lo largo del lateral del vial 17 en diversas realizaciones.

45

Además según la realización ilustrativa, se proporciona una cápsula contenedora y emisora de tampón de lavado 41, una de cuyas realizaciones se ilustra en las Figs. 4 a 7. La cápsula 41 ilustrativa incluye un cuerpo 43 (Fig. 5), que puede estar formado de plástico, y que tiene una cámara cilíndrica hueca 45 y ranuras primera y segunda 47, 49

formadas en su circunferencia externa 51 colocadas respectivamente cerca de los extremos superior e inferior del cuerpo 43. Las juntas tóricas primera y segunda 52, 54 (Fig. 4) se colocan respectivamente en las ranuras 47, 49.

5 En una realización, la cápsula 41 incluye además una punta 53 que puede estar formada de plástico, con una junta tórica 55. Un extremo de la punta 53 se extiende hasta la cámara 64, mientras que el extremo contrario se extiende fuera de la cámara 64 y tiene una parte de cola ahorquillada 66. En la realización ilustrativa, la punta 53 tiene además un final en punta 56.

10 En una realización, la cámara 64 de la cápsula 41 se llena con una disolución de tampón de lavado 67 (Fig. 8) y después se sella; por ejemplo, mediante una delgada lámina de metal 58 aplicada a través de la abertura superior 60. En varias realizaciones, la disolución de tampón de lavado puede comprender agua, tampones de pH, detergentes, agentes quelantes, sales, agentes caotrópicos, disolventes tales como etanol e isopropanol, ácidos, bases, con proteasa opcional, ADNasa o ARNasa.

15 Como puede verse con referencia a la Fig. 8, la cápsula 41 está conformada y dimensionada para subirse y bajarse en el cilindro 61 de una jeringa 59 con los juntas tóricas 52, 54 unidos herméticamente con la superficie del lado interno del cilindro 61 de la jeringa 59. En una realización, el extremo 62 de la jeringa 59 se ensarta en la parte superior del vial 17. En la realización ilustrativa, el sellado proporcionado por las juntas tóricas 52, 54 es un sello hermético de manera que cuando el émbolo o pistón conductor 60 de la jeringa 59 se activa para empujar la cápsula 41 hacia abajo, la presión del aire (neumática) actúa para empujar o expulsar todo el líquido del vial 17 a través de la membrana 25 y en el recipiente de recogida de residuos 29.

20 Cuando el émbolo 60 de la jeringa 59 continúa más hacia abajo, la cola ahorquillada 66 de la punta 53 de la cápsula 41 entra en contacto o se empotra en una parte del borde inferior interno 63 de la jeringa 59, parando el movimiento de la punta 53 y su junta tórica 55 y provocando que la punta 53 perfora el sello 58 a través de la parte superior de la cápsula 41, como se muestra en la Fig. 8A. Esta perforación del sello 58 libera la disolución de tampón de lavado 67, que es forzada entonces por el émbolo 60 dentro de la abertura 68 en el extremo o punta de la jeringa 59, y después a través de la membrana 25. Mientras la disolución de tampón de lavado 67 pasa a través de la membrana 25, lava el ácido nucleico soportado por la membrana 25, de manera que ahora se soporta ácido nucleico esencialmente puro en la membrana 25.

30 Como se muestra en la Fig. 9, una segunda jeringa 71 que contiene una cápsula 41a construida como la cápsula 41 de las Figs. 4-7, puede entonces atornillarse o unirse de forma hermética de otra forma al vial 17 y usarse para lavar adicionalmente el ácido nucleico puro con una disolución 75 para eluir o descargar un ácido nucleico seleccionado en un segundo recipiente o tubo 101. En una realización, si se desea liberar el ADN, ARN u otro ácido nucleico unido desde la membrana un lavado final puede comprender agua o tampones para el control de pH con aditivos opcionales para evitar o retardar la degradación del ácido nucleico, tal como agentes quelantes, como se conoce en la técnica.

35 Puede anotarse que diversos kits comerciales de "columna de centrifugado" pueden adaptarse para funcionar con el aparato como se describe en esta memoria, empleando dichos kits columnas de centrifugado que se basan en técnicas de absorción de sílice o similares. Un ejemplo son los kits de purificación de ARN/ADN de columna de centrifugado disponibles de Quiagen N.V. de Los Países Bajos, que pueden proporcionar una formulación de una disolución de preparado de ácido nucleico 14, un tampón de lavado 67 una disolución de dilución 75. Otros fabricantes de dichos kits incluyen Zymo Research, Invitrogen/Life Sciences, Bio-Rad, Thermo Scientific y Promega.

40 El aparato según las realizaciones ilustrativas puede emparejarse con otras técnicas para la detección rápida de ADN/ARN, tales como diagnósticos de enfermedades o trabajo/cribado de laboratorio.

45 El aparato de extracción rápida de ácido nucleico ilustrado en las Figs. 1-14 puede formar la primera etapa en una serie de etapas. En primer lugar, el ADN/ARN se extrae usando el dispositivo de extracción rápida de ácido nucleico. Después, un volumen de ácido nucleico purificado se transfiere usando un dispositivo de pipeteado, o cualquier otro método de transferencia de líquidos adecuado, etc., a un tubo que contiene un cóctel de enzimas, cebadores, dNTP, sales, tampón y agua. La muestra se somete entonces a un conjunto predeterminado de condiciones de termociclado u otras estrategias de amplificación tales como amplificación isoterma mediada por un bucle (LAMP). Finalmente, los contenidos del tubo pueden someterse a análisis para determinar si está presente un ADN o ARN diana.

50 El termociclado puede hacerse también portátil usando "máquinas PCR manuales" o similar. Para el uso en el terreno, el cóctel de enzimas, cebadores, etc. se afinan para cada diana. Dicho afinado puede depender fuertemente del conocimiento y experiencia para optimizar el proceso. La detección final de nuevo, puede hacerse también portátil.

55 Para Ébola y otros virus/dianas de ARN, puede realizarse un PCR de transcripción inversa. De nuevo, el éxito es altamente dependiente de las optimizaciones antes de la producción, y pueden hacerse suficientemente fuertes para el uso en el terreno por personal no entrenado en las ciencias biológicas.

Mientras las realizaciones ilustrativas proporcionan dispositivos convenientes y fácilmente usables con contenido de piezas relativamente bajo, pueden proporcionarse otras realizaciones en donde se emplean una serie de jeringas. Por ejemplo, una primera jeringa aplica presión de aire neumática para forzar a la disolución de ácido nucleico a través de una membrana 25, una segunda jeringa se usa después para lavar la membrana 25 con un tampón de lavado tal como tampón de lavado 67 (Véanse las Figs. 4, 8); una tercera jeringa aplica después presión de aire neumática, una cuarta jeringa después aplica la disolución de elución/tampón/agua, por ejemplo, 75 de la Fig. 9, con una quinta jeringa aplicando un "lavado" de aire neumática final. En otras realizaciones, una cápsula puede estar en el tubo por debajo de la cápsula para forzar a la disolución de ácido nucleico, por ejemplo 15, a través de la membrana. Un vacío puede aplicarse después de eso al puerto por debajo de la cápsula para empujar la cápsula hacia abajo para activar un mecanismo de ruptura y liberar un tampón de lavado, por ejemplo 67.

Las cápsulas, por ejemplo 41, pueden sellarse en uno o ambos extremos para contener contenidos precargados. Las cápsulas también pueden sellarse solo por un lado para permitir la carga de contenidos desde el extremo abierto. Varias realizaciones pueden implicar el uso de múltiples cápsulas juntas o en secuencia dependiendo de la necesidad o la aplicación. Aunque los cortes transversales de las jeringas y cápsulas de las realizaciones ilustrativas se han descrito como que son circulares, debe entenderse que otras geometrías de corte transversal, tales como, por ejemplo, cuadrada, rectangular o elíptica pueden usarse en otras realizaciones.

Como se ilustra en las Figs. 11 y 13-14, las varas o puntas de liberación de la cápsula, por ejemplo 103, 113 para la liberación de los contenidos de una cápsula, por ejemplo 102, pueden instalarse también cerca del extremo de un cilindro de la jeringa 105 o en el émbolo 107 en sí mismo y después se llevarse hacia abajo para pinchar o romper una cápsula 102.

La orientación de la cápsula puede invertirse también de manera que la punta, por ejemplo 53 está en la parte superior mirando hacia el émbolo, por ejemplo 60, con el extremo de perforación 55 mirando hacia abajo hacia el fondo de la jeringa. La Fig. 10 ilustra otra realización de cápsula 90 donde la cápsula está cerrada mediante un disco o tapón 91 unido a la parte superior de una vara 93, con los demás componentes de la cápsula que están contruidos de acuerdo con las Figs. 4-7.

Las juntas tóricas empleadas en las realizaciones ilustrativas pueden sustituirse con técnicas de sellado dinámico tales como rebordes de plástico blando, o sustituirse de forma alternativa mediante el uso de muelles, por ejemplo 109, 110 (Fig. 14) antes y después de la cápsula, para controlar la posición de la cápsula y los tiempos de liberación de la cápsula.

REIVINDICACIONES

1. Un método que comprende:

Construir una cápsula rompible (41) que contiene un tampón de lavado;

5 Insertar dicha cápsula (41) en un dispositivo de jeringa (59) de manera que dicha cápsula (41) se coloque por encima de un extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa (59) y por debajo de un émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59);

Insertar el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa (59) en un recipiente (17) que contiene una disolución que comprende un ácido nucleico, comprendiendo además el recipiente (17) una membrana (25) configurada para capturar el ácido nucleico;

10 Apretar el émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59) para forzar primero a dicha disolución a través de dicha membrana (25) de manera que la membrana (25) retenga el ácido nucleico mientras pasan los componentes indeseados de la disolución a su través;

Provocar después de eso que dicha cápsula (41) rompa para liberar dicho tampón de lavado; y

15 Hacer avanzar más el émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59) para expulsar dicho tampón de lavado por el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa (59) y a través de dicha membrana (25) dejando ácido nucleico puro en dicha membrana (25).

2. El método según la reivindicación 1 en donde la presión neumática generada mediante presión de dicho émbolo (60) fuerza a dicha disolución a través de dicha membrana (25).

20 3. El método según la reivindicación 1 o 2 que comprende emplear un segundo aparato de jeringa (71) configurado para lavar adicionalmente dicha membrana (25) para eluir un ácido nucleico seleccionado.

4. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en donde dicha cápsula rompible (41) comprende un componente del cuerpo hueco sólido (43) y un material unido a dicho componente del cuerpo hueco sólido (43) que es rompible para liberar dicho tampón de lavado.

25 5. El método según la reivindicación 4 en donde dicho material es una lámina metálica (58) y en donde se provoca que dicha cápsula (41) se rompa pinchando dicha lámina (58).

6. Un método de extracción rápida de ácido nucleico que emplea un primer recipiente (17) que tiene un extremo superior que comprende una abertura y un extremo inferior lleno con una membrana (25) configurada para retener ácido nucleico y que emplea además un dispositivo de jeringa (59) que comprende un cilindro (61) y un émbolo (60) montado de forma móvil en dicho cilindro (61), comprendiendo el método:

30 Construir una cápsula de liberación de tampón de lavado (41) que contiene un líquido de tampón de lavado;

Insertar dicha cápsula de liberación de tampón de lavado (41) en el dispositivo de jeringa (59);

Pre-llenar un segundo recipiente (14) con una disolución de preparado de ácido nucleico seleccionada para abrir células de una muestra en bruto, liberar ácido nucleico, y conservar dicho ácido nucleico;

35 Introducir una muestra en bruto que contiene ácido nucleico en el segundo recipiente pre-lleno (14) y agitar los contenidos del segundo recipiente (14) para producir una disolución procesada de ácido nucleico lista para la extracción;

Llenar el primer recipiente (17) con una cantidad seleccionada de la disolución procesada de ácido nucleico;

Insertar dicho dispositivo de jeringa (59) en el primer recipiente (17);

40 Apretar el émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59) hacia abajo para provocar que la presión de aire fuerce primero a la disolución procesada de ácido nucleico a través de dicha membrana (25) capturando así el ácido nucleico en la membrana (25) mientras pasan otros componentes de la disolución procesada de ácido nucleico a través de la membrana (25);

Provocar después de eso que dicha cápsula de liberación de tampón de lavado (41) libere dicho tampón de lavado en una posición por debajo de dicho émbolo (60); y

45 Hacer avanzar más dicho émbolo (60) hacia abajo para llevar a dicho tampón de lavado a través de dicha membrana (25) dejando así el ácido nucleico puro alojado en la membrana (25).

7. El método según la reivindicación 6 en donde dicha muestra en bruto comprende un material sólido o es un líquido.

8. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6-7 en donde los contenidos de dicho segundo recipiente (14) se agita empleando una etapa de agitación o mezclando la muestra con la disolución de preparación de ácido nucleico.
- 5 9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6-8 que comprende además emplear un segundo aparato de jeringa (71) para lavar adicionalmente dicha membrana (25) para eluir un ácido nucleico seleccionado.
10. El método según cualquiera de las reivindicaciones 6-9 en donde dicha cápsula (41) comprende un componente de cuerpo hueco sólido (43) y un material unido a dicho componente de cuerpo hueco sólido (43) que es rompible para liberar dicho tampón de lavado.
- 10 11. Un método de extracción de ácido nucleico que emplea un dispositivo de jeringa (59) que contiene una cápsula rompible (41) que contiene un tampón de lavado colocado por encima de un extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa (59) y por debajo de un émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59), comprendiendo el método:
- Insertar el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa (59) en un recipiente (17) que contiene una disolución que comprende un ácido nucleico, comprendiendo además el recipiente una membrana (25) configurada para capturar ácido nucleico;
- 15 Apretar el émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59) para forzar primero a dicha disolución a través de dicha membrana (25) de manera que la membrana (25) retiene el ácido nucleico mientras pasan los componentes indeseados de la disolución a su través;
- Provocar después de eso que dicha cápsula (41) rompa para liberar dicho tampón de lavado; y
- 20 Hacer avanzar más el émbolo (60) de dicho dispositivo de jeringa (59) para expulsar a dicho tampón de lavado por el extremo inferior de dicho dispositivo de jeringa (59) y a través de dicha membrana (25) dejando ácido nucleico puro en dicha membrana (25).
12. El método según la reivindicación 11 en donde la presión neumática generada mediante la presión de dicho émbolo (60) fuerza a dicha disolución a través de dicha membrana (25).
- 25 13. El método según la reivindicación 11 o 12 que comprende emplear un segundo aparato de jeringa (71) configurado para lavar adicionalmente dicha membrana (25) para eluir un ácido nucleico seleccionado.
14. El método según cualquiera de las reivindicaciones 11-13 en donde dicha cápsula rompible (41) comprende un componente de cuerpo hueco sólido (43) y un material unido a dicho componente de cuerpo hueco sólido (43) que es rompible para liberar dicho tampón de lavado.
- 30 15. El método según la reivindicación 3 o la reivindicación 9 o la reivindicación 13 en donde el ácido nucleico seleccionado comprende uno de: ARN, ADN, ADNc, ARNc, ADN modificado, ARN modificado, ARNt, ARNr, ARNtm, APN, ANB, AGN o ATN.

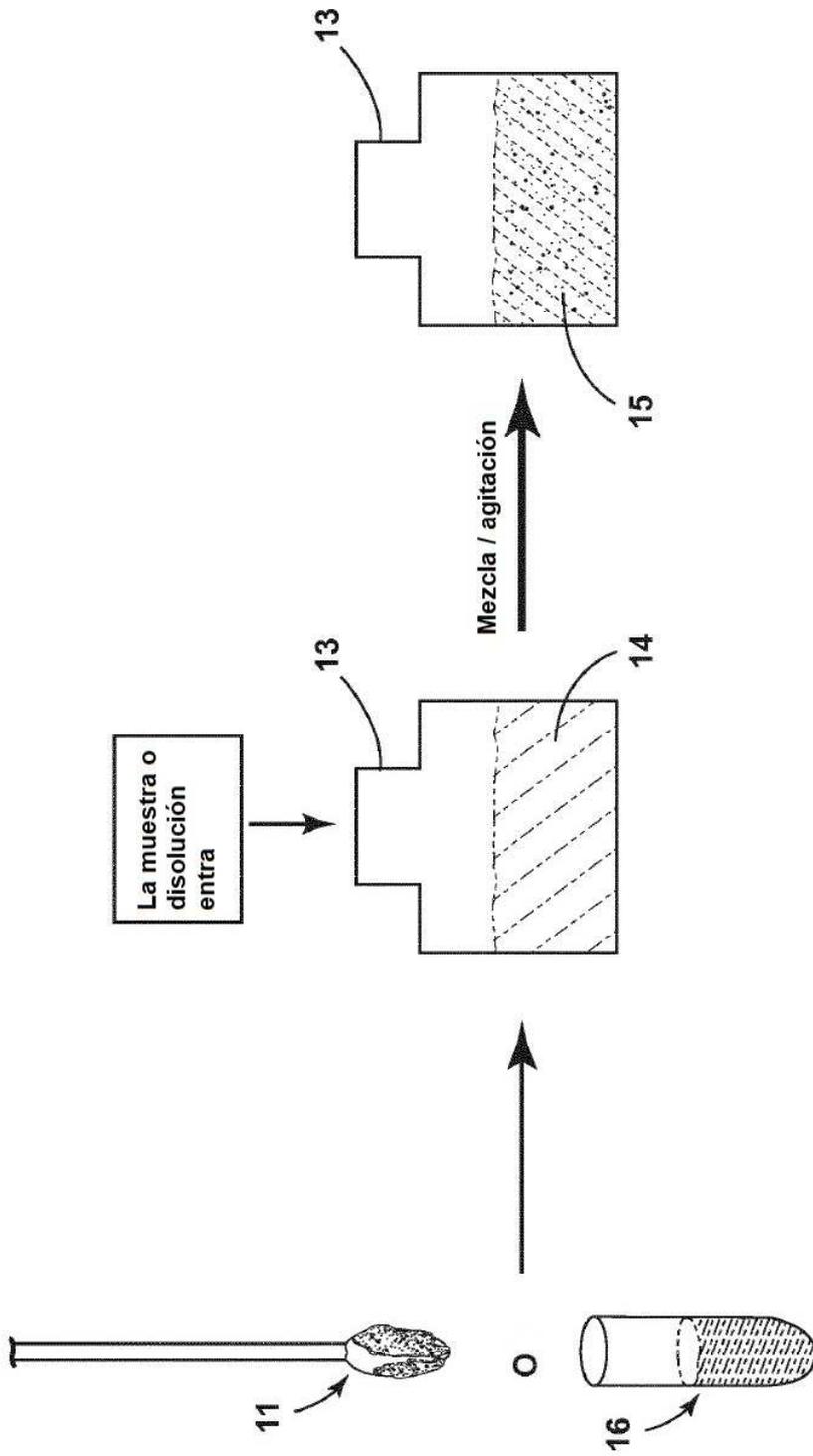


FIG. 1

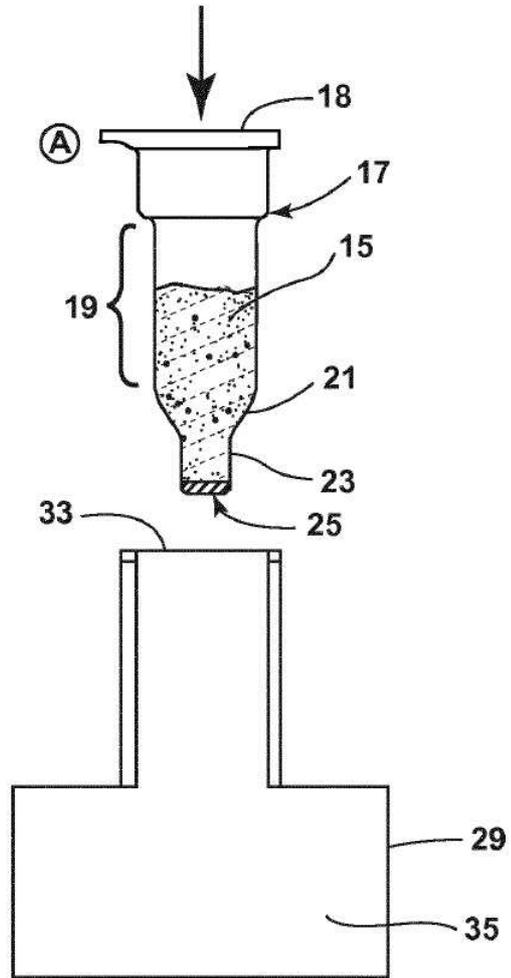


FIG. 2

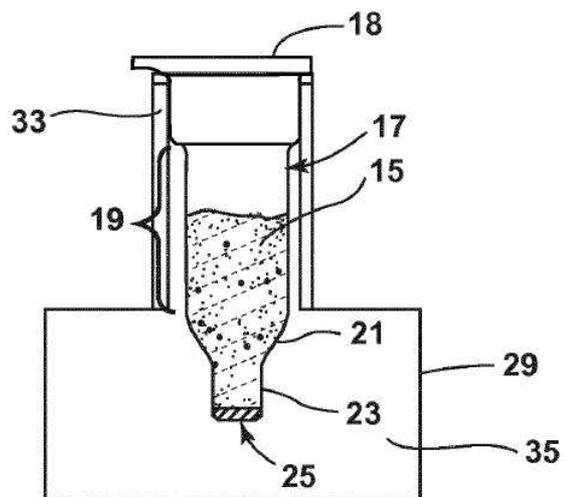


FIG. 3

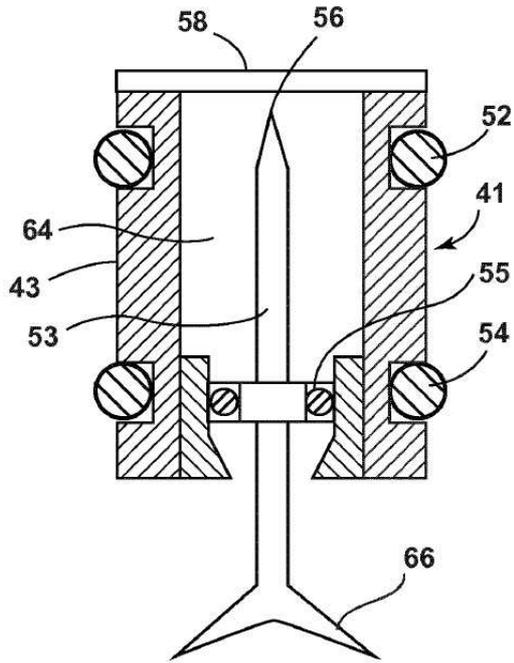


FIG. 4

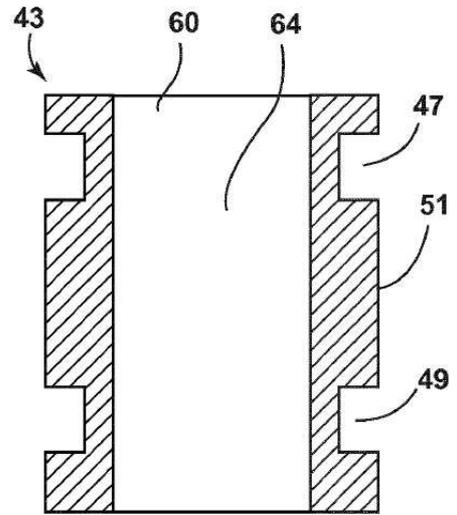


FIG. 5

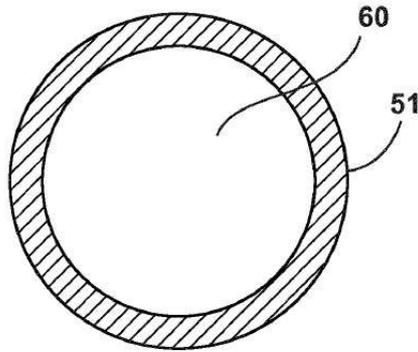


FIG. 6

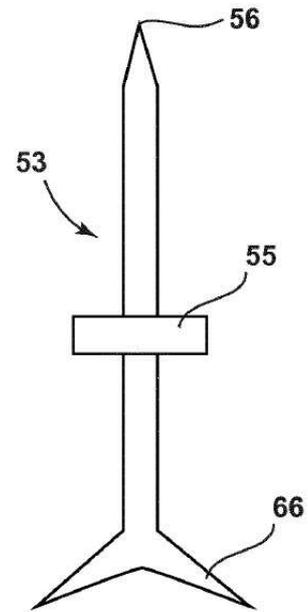


FIG. 7

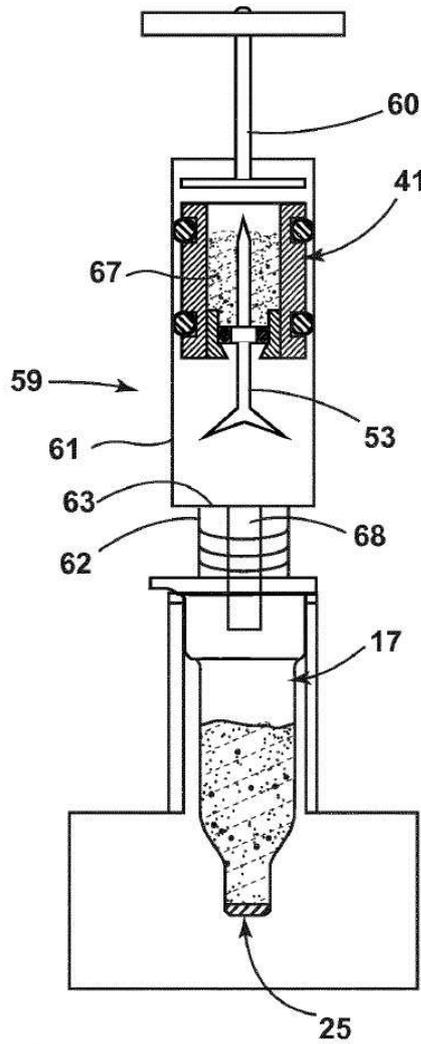


FIG. 8

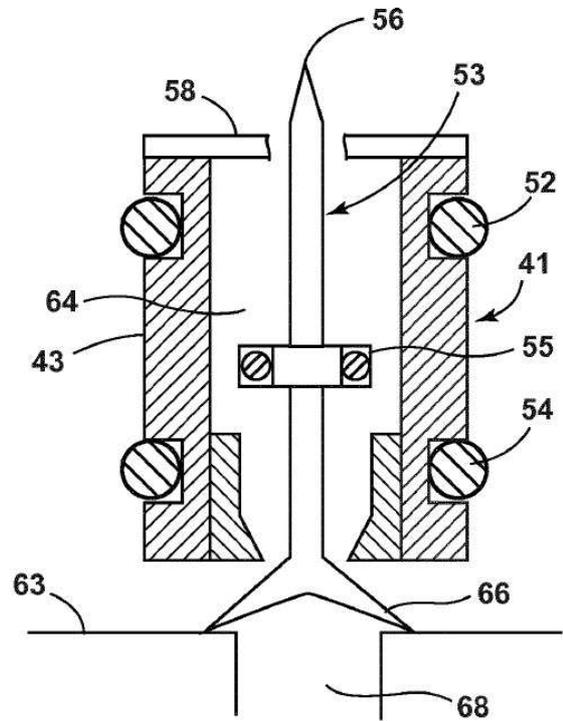


FIG. 8A

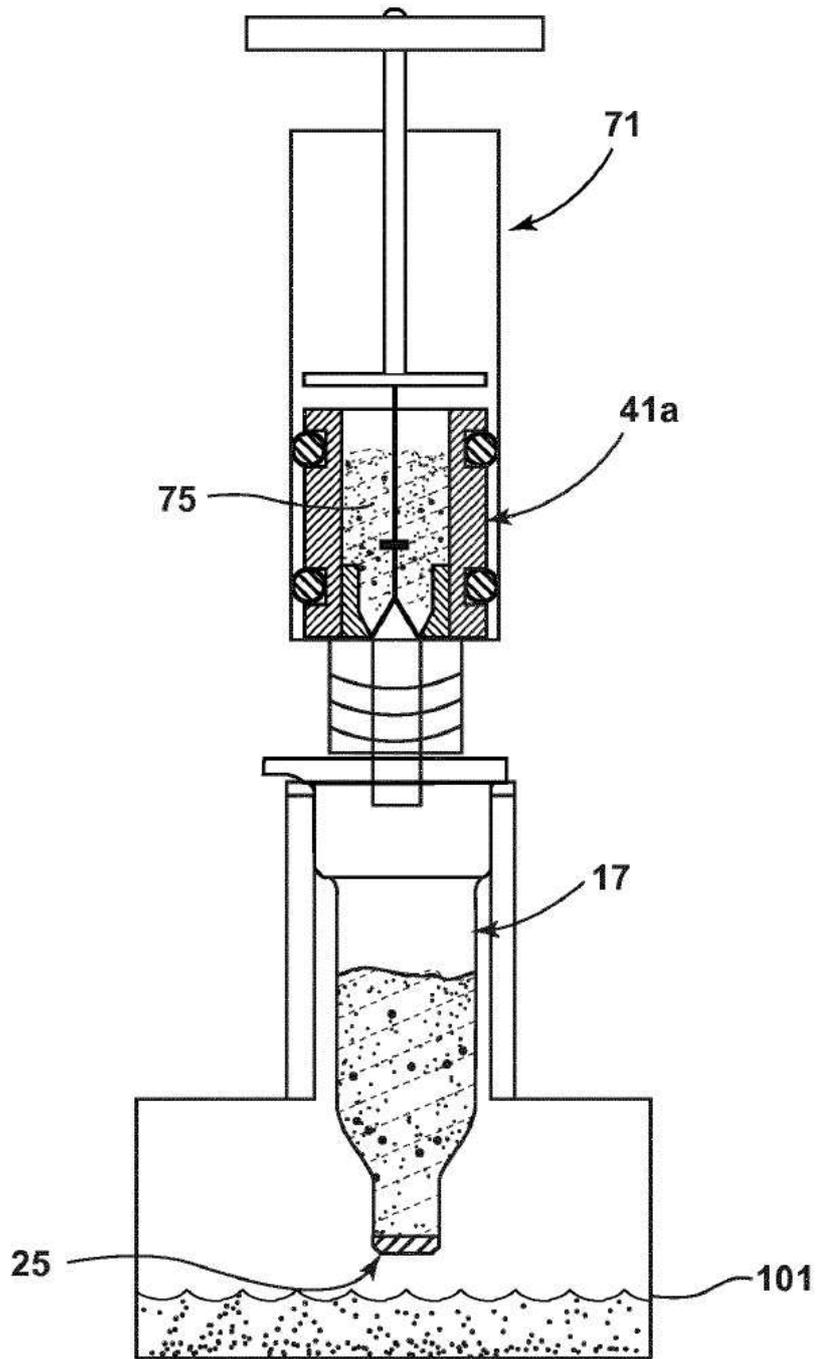


FIG. 9

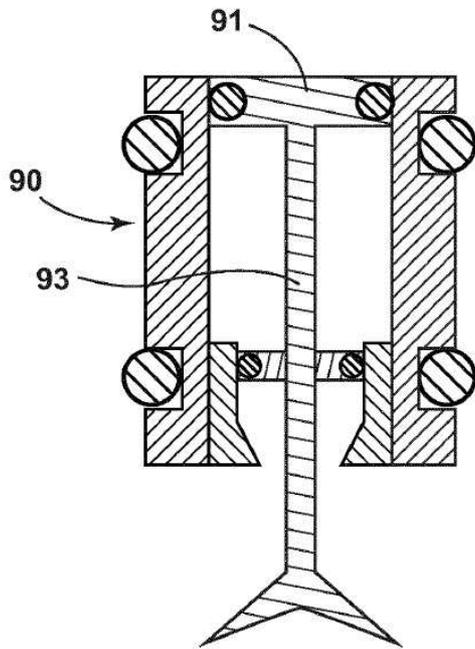


FIG. 10

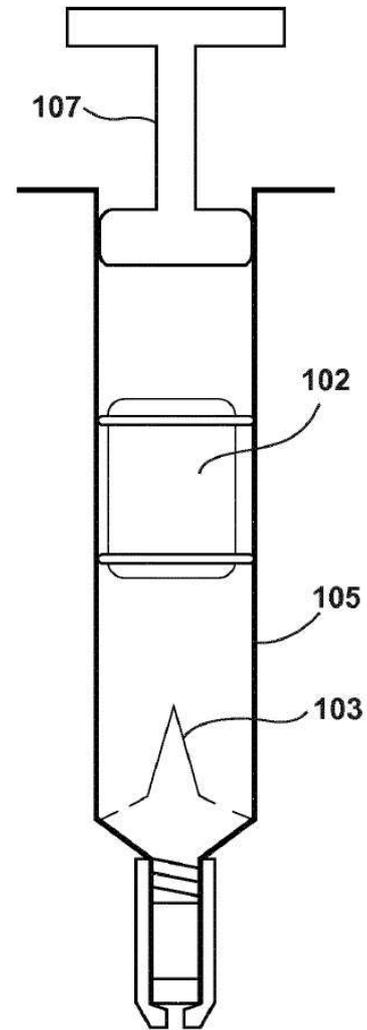


FIG. 11

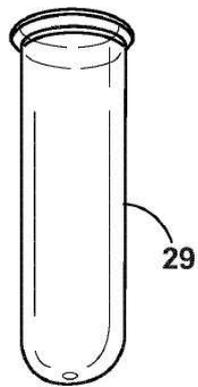


FIG. 12

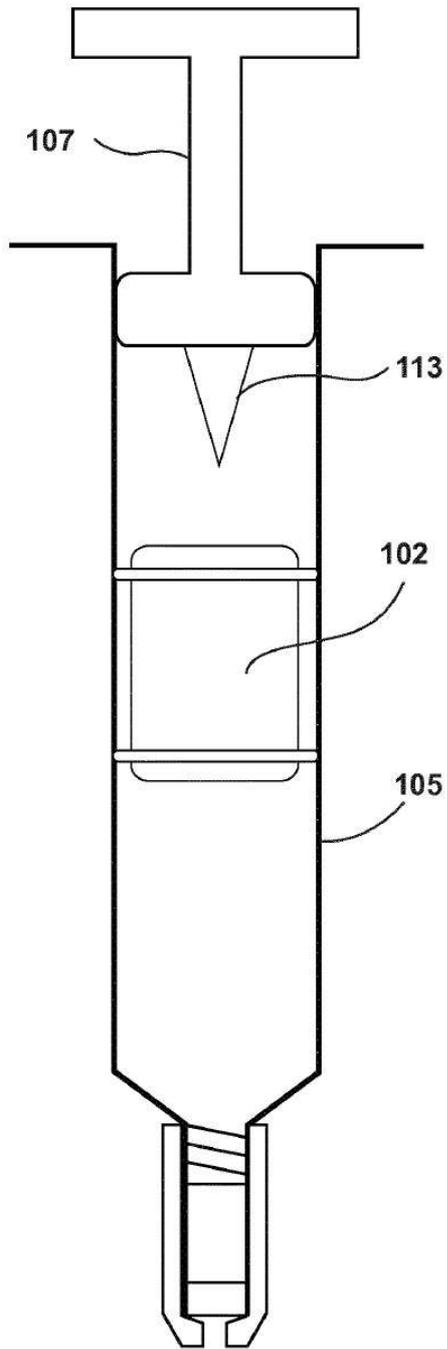


FIG. 13

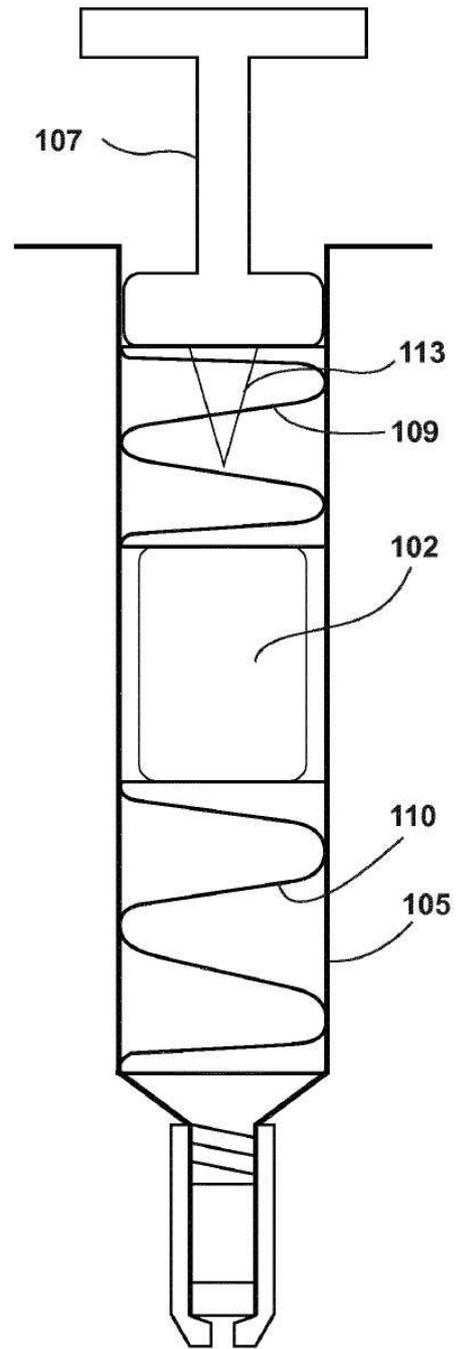


FIG. 14