

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 662 596**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B01J 19/00 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

C40B 60/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.11.2001 PCT/DE2001/04437**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.10.2017 WO02041992**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2001 E 01997349 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.01.2018 EP 1339495**

54 Título: **Procedimientos para la analítica bioquímica y disposición correspondiente**

30 Prioridad:

24.11.2000 DE 10058394

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.04.2018

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH
(100.0%)**

**Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**MUND, KONRAD;
GUMBRECHT, WALTER;
STANZEL, MANFRED y
HINTSCHE, RAINER**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 662 596 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

Procedimientos para la analítica bioquímica y disposición correspondiente

5 La invención se refiere a un procedimiento para la analítica bioquímica mediante el uso de una matriz de microrreacción con al menos dos espacios de reacción para el alojamiento de sustancias que reaccionan química o bioquímicamente con otras sustancias. Además, la invención también se refiere a una disposición para la realización del procedimiento.

10 Para el desarrollo de nuevos principios activos en la industria de las ciencias biológicas (fármacos), la tecnología alimentaria, la técnica agraria (fitoprotección), en el diagnóstico médico, pero también solucionar las más diversas tareas en la biotecnología general, actualmente se aplican cada vez en mayor medida métodos de síntesis o análisis combinatorio. Para esto se usan, por ejemplo, las denominadas técnicas de placas de microtitulación con cubetas de reacción con estructura de matriz, que emplean, para la reacción simultánea en una superficie de matriz de, por ejemplo, aproximadamente 12x8 cm², 96 o incluso 384 cubetas. La densidad de estas matrices continuará aumentando en el futuro, lo que significa que tienen que tener lugar reacciones químicas de los tipos más diversos en espacios de reacción dispuestos de forma cada vez más densa.

15 La situación es extrema por ejemplo en el caso de una matriz de distintas moléculas de captura de ADN, que están dispuestas con una separación de solo unas pocas decenas de micrómetros y una densidad de, por ejemplo, algunos cientos de posiciones por pocos mm² sobre un sustrato plano, el denominado chip de ADN. Si en la detección analítica, por ejemplo, de ADN desconocido intervienen moléculas que se pueden mover libremente, en el caso de matrices tan densas se produce una interferencia química.

20 El documento US 6.143.496 A desvela un procedimiento para la detección y la amplificación de ácidos nucleicos mediante el uso de una matriz de cámaras de muestra. Las cámaras de muestra de la matriz están unidas unas con otras a través de un canal de flujo, consiguiéndose un aislamiento de las cámaras de muestra a través de un líquido de desplazamiento. Después de la amplificación se detectan las fluorescencias de las muestras mediante microscopía de láser.

25 El documento US 5.604.130 A desvela una cubierta separable para la estanqueización de recipientes con muchas cavidades para el alojamiento de muestras líquidas. La estanqueización mediante una cubierta se realiza a este respecto durante una etapa de calentamiento o de movimiento de las muestras. Además, la cubierta presenta listones dirigidos hacia las aberturas de las cavidades, que se pueden comprimir en presencia de una presión dirigida hacia abajo, de tal manera que las aberturas de las cavidades se estanqueizan al menos sustancialmente por la cubierta. La expansión de los listones después de la relajación de la presión dirigida hacia abajo causa una anulación de la estanqueización entre la cubierta y las aberturas de las cavidades.

30 Por una serie de motivos, por ejemplo, a causa de la elevada especificidad y el bajo límite de detección, en la analítica bioquímica se usan con frecuencia procedimientos de detección acoplados a enzima. En el diagnóstico médico y en el campo de la investigación están muy extendidos, por ejemplo, los denominados ensayos ELISA (por las siglas en inglés de ensayo de inmunoadsorción enzimática). (Bibliografía véase más adelante B. Alberts et al. (eds.), Molekularbiologie der Zelle (1997), 3^a ed., página 216, (VHC Weinheim). También para aplicaciones en el campo del chip de ADN se emplean procedimientos con marcadores enzimáticos en un método conocido del (re)ciclaje redox (A. v. d. Berg, P. Bergveld (eds.) Proceedings of the uTAS '94 Workshop (1994), páginas 249 a 254, Kluwer Academic Publishers Dordrecht).

35 En todos los casos mencionados en la bibliografía especializada, la enzima no está presente libre en la fase líquida de la disposición denominada ensayo, sino que está unida y marca de este modo, como "marcador enzimático", la sustancia que se debe detectar ante todo. A este respecto, la "unión" de las moléculas enzimáticas a la sustancia que se va a detectar siempre es estequiométrica. Se produce la amplificación, es decir la intensificación, al convertir la enzima las moléculas de sustrato añadidas a alta velocidad. Esta conversión, en función del sustrato usado o del producto producido, se cuantifica por ejemplo de forma óptica o electroquímica. Para esto se hace un seguimiento, independientemente del procedimiento empleado, en particular del aumento de la concentración del producto P, es decir, de la función dependiente del tiempo $dc(P)/dt$.

40 Si tales ensayos se llevan a cabo en una matriz, como está descrito en el estado de la técnica en particular, los productos de reacción con libre movilidad, formados por la enzima, pueden alcanzar también posiciones adyacentes de la matriz sin enzima y simular ahí la presencia de los marcadores enzimáticos. Se habla de una interferencia, lo que conduce a errores de medición y puede proporcionar, con ello, falsos resultados.

45 Partiendo de esto, el objetivo de la invención es indicar procedimientos y disposiciones correspondientes con los que quede garantizada una mayor fiabilidad con respecto al estado de la técnica evitando la interferencia y, con ello, descartando resultados de "falsos positivos". Se ha de conseguir con una mayor precisión mejoras, en particular en la efectividad de las mediciones.

El objetivo se resuelve de acuerdo con la invención en un procedimiento del tipo que se ha mencionado al principio gracias a las medidas de la reivindicación 1. Están indicados perfeccionamientos en las reivindicaciones de procedimiento dependientes. Una disposición correspondiente es objeto de la reivindicación 5. Están indicados perfeccionamientos a este respecto en las reivindicaciones dependientes de la disposición.

En el procedimiento de acuerdo con la invención se usan espacios de reacción delimitados localmente como primer volumen, pudiendo unirse unos con otros los espacios de reacción a través de un segundo volumen, el denominado volumen de alimentación, y transcurriendo en los espacios de reacción individuales reacciones químicas o bioquímicas diferentes cuantitativamente y/o en cuanto a especie. Por reacciones diferentes en cuanto a especie se entiende procesos cualitativamente diferentes o cualitativamente distintos. A este respecto se permite o se evita del mismo modo el intercambio de sustancias entre los espacios de reacción y el volumen de alimentación en función de la necesidad en una o en ambas direcciones.

Una ventaja esencial de la invención es que, a pesar de los espacios de reacción estrechamente adyacentes, ahora se hace imposible una interferencia alteradora, que puede falsear los resultados de la medición y, por tanto, se mejora la selectividad. Además, gracias a la invención se aumenta también la sensibilidad de detección, es decir, el límite de detección se desplaza hacia cantidades menores.

Para la realización en la práctica del aumento de la sensibilidad de la detección es razonable aumentar, en la medida de lo posible, el cambio en el tiempo de la concentración de sustrato/producto. Esto se consigue en el procedimiento de acuerdo con la invención gracias a una reducción dirigida del volumen de reacción a claramente menos de 1 μl , en particular a alrededor de un nanolitro (1 nl), y un aumento asociado a ello de los cambios de la concentración de sustrato-producto.

En el caso de la disposición de acuerdo con la invención se trata, en cada caso, de matrices con más de dos, pero típicamente con algunos cientos de posiciones en pocos milímetros cuadrados, preferentemente de 1 a aproximadamente 10 mm^2 , que está dispuestas sobre un sustrato plano. La respectiva matriz está realizada como matriz de espacios de reacción o de cámara de reacción y es parte de un recipiente con un volumen de alimentación accesible de forma común para los espacios de reacción. Un volumen de alimentación de este tipo se puede realizar, por ejemplo, mediante la inclusión de la matriz de cámara de reacción en una celda de flujo, a través de la cual se puede desarrollar todo el manejo de fluido de las sustancias químicas/bioquímicas necesarias para la reacción de detección o de síntesis.

Mediante una membrana o capa elástica opuesta en la celda de flujo al sustrato plano, que se puede componer, por ejemplo, de caucho de silicona, en una primera forma de realización preferente de la invención mediante compresión de un dispositivo mecánico contra el sustrato se separan unos de otros los espacios de reacción formados por las posiciones individuales de la matriz, de tal modo que se evita de forma eficaz una interferencia. Un dispositivo de este tipo puede estar configurado, por ejemplo, en forma de una tapa, de un pistón o de una membrana de obturación, con los que se cierran las cavidades formadas por los espacios de reacción. Con el cierre de las cavidades tiene lugar también una reducción del volumen de los espacios de líquido a lo largo de las posiciones individuales de la matriz, de tal manera que se aumenta el cambio de concentración de sustrato/producto desencadenado por las reacciones químicas/bioquímicas. De este modo se aumenta, por tanto, así mismo ventajosamente la sensibilidad de detección.

Se puede conseguir esto mismo mediante una superposición con un líquido de barrera en una forma de realización no reivindicada. En cuanto un líquido de barrera adecuado, que no es miscible con el líquido en las cavidades de reacción, llena el canal de flujo, se producen los mismos efectos que con el cierre de las cavidades de la matriz mediante un pistón de silicona. A este respecto, el líquido de barrera es, por ejemplo, aceite de silicona. En una variante ventajosa de esta forma de realización, los espacios de reacción se llenan con hidrogel para otorgar estabilidad mecánica de este modo a los espacios de reacción que contienen agua cuando el líquido de barrera entra en el canal de flujo. Como hidrogel se puede usar por ejemplo poliacrilamida, que presenta las propiedades requeridas con respecto al aceite de silicona. En otro procedimiento no reivindicado se puede aprovechar también un diferente comportamiento de solubilidad química de las materias y sustancias que intervienen. También en esta forma de realización de la disposición de acuerdo con la invención, los espacios de reacción se llenan ventajosamente con un hidrogel. Un comportamiento diferente de solubilidad entre el espacio de reacción con hidrogel y una fase líquida adecuada en el canal de flujo del volumen de alimentación sirve entonces para que los ductos de la reacción pasen de la fase líquida a la fase de hidrogel, sin embargo, los productos de reacción ya no puedan abandonar la fase de hidrogel. Un ducto de reacción de este tipo es, por ejemplo, el sustrato enzimático.

Se desprenden otras particularidades y ventajas de la invención a partir de la siguiente descripción de las figuras de ejemplos de realización mediante el dibujo junto con las reivindicaciones. Muestran en cada caso en representación esquemática

La figura 1 una estructura de medición de acuerdo con el estado de la técnica a partir de la cual se puede ver el procedimiento de medición, por un lado, y la interferencia alteradora, por otro lado,

- La figura 2, en tres subetapas, una disposición ilustrativa para el cierre mecánico de cavidades,
- La figura 3, en tres subetapas, una disposición correspondiente para el cierre de las cavidades mediante medios de barrera y
- La figura 4, en tres subetapas, una tercera disposición, en la que se consigue el cierre de las cavidades gracias al diferente comportamiento de solubilidad de los medios que intervienen.

En las figuras, las partes iguales o con la misma acción tienen referencias iguales o correspondientes. Las figuras se describen a continuación en parte conjuntamente.

En la figura 1 se indica con 1 un sustrato con una superficie plana, que está formada por ejemplo por la superficie cristalográfica de un chip de silicio. Sobre el sustrato 1 está realizada una matriz de detectores eléctricos 2, 2', ... en las posiciones de matriz 8, 8', ..., con los que se efectúan exámenes bioanalíticos con las denominadas reacciones acopladas a enzima, para lo que se usan, por un lado, moléculas de captura y, por otro lado, moléculas de analito. En las posiciones de matriz 8, 8', ... se encuentran diferentes moléculas de captura 110, 120, ..., de tal manera que en cada posición específica de la matriz se pueden detectar diferentes moléculas de analito.

En particular, en la figura 1, en un procedimiento para exámenes bioanalíticos, una primera molécula de captura está indicada con 110 en la posición de matriz 8 y una segunda molécula de captura con 120 en la posición de matriz 8', una molécula de analito con 200 y un denominado marcador enzimático con 300. A este respecto, por ejemplo, la molécula de captura 110 reacciona de forma específica con una molécula de analito 200 complementaria e inmoviliza así en la matriz con especificidad de posición un marcador enzimático 300. Un sustrato de enzima 400 añadido a continuación como educto se convierte, gracias al efecto catalítico del marcador enzimático 300, en un producto 500.

La molécula de analito 200 puede reaccionar en la Figura 1, por tanto, solo con la molécula de captura 110, pero no con la molécula de captura 120. En cada posición de matriz 8, 8', ... de la oblea 1 se puede medir, con ayuda del detector eléctrico 2, 2', ... localizado allí, el aumento/la disminución de sustrato/producto. En especial los detectores eléctricos tienen las ventajas en la técnica de medición.

De forma correspondiente al estado de la técnica se procura configurar lo más pequeñas posibles las posiciones de la matriz 8, 8', ... y sus separaciones. En el estado de la técnica es problemático que puede aparecer una denominada interferencia química entre las posiciones 8, 8', ... individuales. Esto significa que puede llegar sustrato enzimático 400, que se ha definido anteriormente como educto, o el producto de reacción 500 de una primera posición de matriz 8 a una segunda posición de matriz 8'. En caso de que se haya alcanzado una posición vecina, se genera una señal falsa que simula un resultado positivo. En la práctica se habla también de una señal "falsa positiva". En las figuras 2 a 4, para diferentes alternativas están dispuestos espacios de reacción 10, 10', ... individuales con un volumen individual de, en cada caso, menos de 1 µl en una configuración de matriz. Los espacios de reacción 10, 10', ... a este respecto están separados uno de otro en cuanto al funcionamiento.

En la figura 2, en tres subetapas se aclara la activación de una disposición, en la que los espacios de reacción 10, 10', ... están separados por paredes 11, 11', Las paredes 11, 11' pueden realizarse, en una forma de realización geométrica particular, por anillos de polímero circulares, fotoestructurados, de, por ejemplo, 150 µm de diámetro interno, 180 µm de diámetro externo así como 50 µm de altura. Los espacios de reacción 10, 10', ... están llenos, por ejemplo, con un educto de reacción, por ejemplo un sustrato enzimático, disuelto en un electrolito 7, suministrándose el electrolito 2 a través de un volumen de alimentación 4 a los espacios de reacción individuales.

Los espacios de reacción 10, 10', ... se pueden cerrar en la figura 2 por una parte superior de carcasa 5 mediante un pistón 6 mecánico. En el estado abierto se encuentra sobre las cavidades un volumen de alimentación 4 con un electrolito líquido. En la figura 2 se llenan en primer lugar los espacios de reacción 10', 10', ..., como cámaras abiertas con la parte superior de carcasa 5 retirada, en el flujo continuo con el electrolito/educto 7, no estando representado el depósito para el electrolito 7 en este caso en particular. Después del llenado de las cavidades de reacción 10, 10', ... con el electrolito/educto 7, mediante el pistón 6 se aplica la parte superior de carcasa 5, que se puede componer por ejemplo de una membrana de silicona, sobre las paredes 11, 11', ..., que, como ya se ha mencionado, se componen de polimida. De este modo se cierran los espacios de reacción 10, 10', ..., de tal manera que a continuación se evita un intercambio de sustancias.

En la figura 3, en una realización no reivindicada, la zona inferior está estructurada de forma similar a la figura 2. Las paredes 11, 11', ... pueden estar realizadas en una forma de realización particular, lo que no se puede ver en la reproducción del dibujo de la Figura 3, en especial por anillos de polímero circulares, fotoestructurados, con un diámetro interno d ($d=2r$) de, por ejemplo, $d=150 \mu\text{m}$, un diámetro externo D de, por ejemplo, $D=180 \mu\text{m}$, una altura h de, por ejemplo, así como $h=5 \mu\text{m}$. Las cavidades de reacción que resultan a partir de estas dimensiones con un volumen de llenado de aproximadamente 0,1 nl ($r^2\pi h = (75 \mu\text{m})^2 \cdot 3,14 \cdot 5 \mu\text{m}$) se llenan, en esta forma de realización particular, con un hidrogel 3 con una elevada capacidad de absorción de agua, por ejemplo poliacrilamida. En el

hidrogel 3 se puede introducir entonces un ADN de captura de forma inmovilizada para una detección de ADN específica.

5 Para la realización del ensayo se alimentan los espacios de reacción 10, 10', ... a su vez a través del volumen de alimentación 4 común con tampón, reactivos y, finalmente, sustrato enzimático. Después de que el hidrogel 3 de cada uno de los espacios de reacción 10, 10' se haya llevado al equilibrio con tampón que contiene sustrato enzimático y haya comenzado la reacción enzimática, se inundó el volumen de alimentación 4 con un líquido de barrera, por ejemplo, aceite de silicona. Esto causa que el líquido sea desplazado por aceite de silicona a lo largo de los espacios de reacción. La estructura del hidrogel sirve para la estabilidad mecánica de los espacios de reacción. A causa de la insolubilidad del producto enzimático en aceite de silicona se evita la difusión del mismo fuera del hidrogel hacia espacios de reacción vecinos. De este modo, el producto de reacción se puede acumular mucho en los espacios de reacción sin llegar hasta los espacios de reacción vecinos. Por tanto, existe al mismo tiempo una elevada sensibilidad y una elevada selectividad.

15 En los dos ejemplos de realización de acuerdo con las figuras 2 y 3 es esencial que las cavidades de reacción 10, 10', ... individuales se llenan en primer lugar con el electrolito 7 de un modo continuo desde el volumen de alimentación 4 y después se aplica un material, por ejemplo un aceite de silicona 9, que forma límites de fase con el electrolito 7. Gracias al límite de fase se consigue que ahora ya no sea posible un intercambio de sustancias y que queden descartadas distorsiones alteradoras.

20 En la variante específica de la forma de realización de acuerdo con la figura 3 se llenan los espacios de reacción 10, 10', ... con hidrogel 3, por ejemplo poliacrilamida, para otorgar así a los espacios de reacción 10, 10', ... que contienen agua una estabilidad mecánica cuando el líquido de barrera 9, por ejemplo, aceite de silicona, entra en el canal de flujo. El ejemplo de realización no reivindicado de acuerdo con la figura 4 se corresponde, en cuanto a la estructura, en esencia a su vez con la figura 2. Los espacios de reacción 10, 10', ... se llenan, de forma correspondiente con la figura 2 y la figura 3, de un modo continuo desde el volumen de alimentación 4. Pero en este caso, los eductos de reacción, que en el presente documento están indicados con E, tienen la capacidad, gracias a su comportamiento de solubilidad específico, de penetrar en el electrolito 7 que se encuentra en los espacios de reacción 10, 10', ... después del llenado.

30 En la disposición de acuerdo con la figura 4, la reacción en las cámaras de reacción transcurre entonces como ya se ha descrito anteriormente. Gracias al comportamiento de solubilidad específico del producto de reacción producido, que está indicado en el presente documento con P, no obstante, en la reacción no es posible una salida de sustancia de P. Por tanto, se evita con ello así mismo la interferencia alteradora. También en esta forma de realización, de forma correspondiente a la figura 3, los espacios de reacción se llenan ventajosamente con un hidrogel 3.

35 El procedimiento descrito y las disposiciones correspondientes se pueden emplear en particular con éxito en el diagnóstico médico y en la biotecnología. Gracias a que se ha conseguido ahora descartar la interferencia como fuente de error esencial, se pueden conseguir con ello resultados más precisos que hasta la fecha.

40

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la analítica bioquímica mediante el uso de una matriz de microrreacción dispuesta sobre un sustrato plano (1) con al menos dos espacios de reacción (10, 10', ...) formados por posiciones de matriz (8, 8', ...) para el alojamiento de sustancias que reaccionan entre sí química o bioquímicamente, con las siguientes medidas:
- se usan espacios de reacción (10, 10', ...) delimitados localmente como primer volumen, presentando los espacios de reacción (10, 10', ...) en cada caso un volumen de menos de 1 µl,
 - los espacios de reacción (10, 10', ...) están unidos entre sí a través de un segundo volumen, el denominado volumen de alimentación (4), y como espacios huecos llenos de líquido están abiertos con el fin del intercambio de sustancias, de tal manera que se encuentran en contacto con el volumen de alimentación (4) y, de este modo, se pueden llenar al mismo tiempo,
 - en los espacios de reacción (10, 10', ...) individuales transcurren reacciones químicas o bioquímicas diferentes cuantitativamente y/o en cuanto a especie y
 - el intercambio de sustancias entre los espacios de reacción (10, 10', ...) y el volumen de alimentación (4) se permite o se evita en función de la necesidad en una o en ambas direcciones, caracterizado por que a través de una matriz de detectores eléctricos (2, 2', ...) en las posiciones de matriz (8, 8', ...) se efectúan exámenes bioanalíticos con reacciones acopladas a enzima con formación de productos de reacción (500) con libre movilidad, para lo que se usan moléculas de captura (110, 120, ...), por un lado, y moléculas de analito, por otro lado, encontrándose en las posiciones de matriz (8, 8', ...) diferentes moléculas de captura (110, 120, ...), de tal manera que en cada posición específica de la matriz se pueden detectar diferentes moléculas de analito, y por que mediante compresión de un dispositivo mecánico contra el sustrato (1) se separan unos de otros los espacios de reacción (10, 10', ...), de tal manera que se evita de forma eficaz que los productos de reacción (500) lleguen desde una primera posición de matriz (8) a una segunda posición de matriz (8').
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el dispositivo mecánico está configurado en forma de una tapa, de un pistón o de una membrana de obturación.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que en un primer momento (t1) se produce un intercambio de sustancias definido entre los espacios de reacción (10, 10', ...) y el volumen de alimentación y en un segundo momento (t2) se reprime sustancialmente o se evita el intercambio de sustancias entre los espacios de reacción (10, 10', ...).
4. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por la aplicación en el reciclaje redox.
5. Disposición para la realización del procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4 mediante el uso de una matriz de microrreacción sobre un sustrato plano (1), presentando la matriz de microrreacción al menos dos espacios de reacción (10, 10', ...) formados por posiciones de matriz (8, 8', ...) para el alojamiento de sustancias de un volumen de alimentación (4), presentando los espacios de reacción (10, 10', ...) en cada caso un volumen de menos de 1 µl, siendo los espacios de reacción (10, 10', ...) espacios huecos llenos de líquido que están abiertos con el fin del intercambio de sustancias, de tal manera que se encuentran en contacto con el volumen de alimentación (4) y, de este modo, se pueden llenar al mismo tiempo, estando configurada la disposición para permitir o evitar el intercambio de sustancias entre espacios de reacción (10, 10', ...) y el volumen de alimentación (4) en función de la necesidad en una o en ambas direcciones, caracterizada por que la disposición está configurada para la realización de exámenes bioanalíticos con reacciones acopladas a enzima con formación de productos de reacción con libre movilidad y presenta una matriz de detectores electrónicos (2, 2', ...) en las posiciones de matriz (8, 8', ...), encontrándose en las posiciones de matriz (8, 8', ...) de la matriz de microrreacción diferentes moléculas de captura (110, 120, ...), de tal manera que en cada posición específica de la matriz se pueden detectar diferentes moléculas de analito y por que está previsto un dispositivo mecánico, que mediante compresión contra el sustrato (1) separa unos de otros los espacios de reacción (10, 10', ...), de tal manera que se evita de forma eficaz que los productos de reacción (500) lleguen desde una primera posición de matriz (8) a una segunda posición de matriz (8').
6. Disposición de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizada por que el dispositivo mecánico está configurado en forma de una tapa, de un pistón o de una membrana de obturación.
7. Disposición de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, caracterizada por que la matriz (8, 8', ...) plana está aplicada sobre un sustrato de silicio (1).
8. Disposición de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada por que los espacios de reacción (10, 10', ...) están separados unos de otros por una capa de polímero (11) aplicada sobre silicio.

9. Disposición de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada por que los espacios de reacción (10, 10', ...) están introducidos en el sustrato de silicio (1) mediante la técnica de microestructuración.

5 10. Disposición de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizada por que el cierre se realiza mediante una capa de polímero (5) plana parcialmente elástica, tal como por ejemplo caucho de silicona, y por que se realiza preferentemente el cierre de la abertura de los espacios de reacción (10, 10', ...) mediante el desplazamiento del volumen de alimentación (4).

10 11. Disposición de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizada por que para el desplazamiento del volumen de alimentación (4) está presente gas, por ejemplo aire, o un líquido (9) no miscible.

15 12. Disposición de acuerdo con una de las reivindicaciones 5 a 11, caracterizada por que los espacios de reacción (10, 10', ...) están realizados por espacios huecos (3) llenos de gel que, con el fin del intercambio de sustancias, poseen un límite de fase gel/volumen de alimentación.

13. Disposición de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizada por que se puede evitar, mediante el cierre del límite de fase, el intercambio de sustancias de los espacios de reacción (10, 10', ...) llenos de gel.

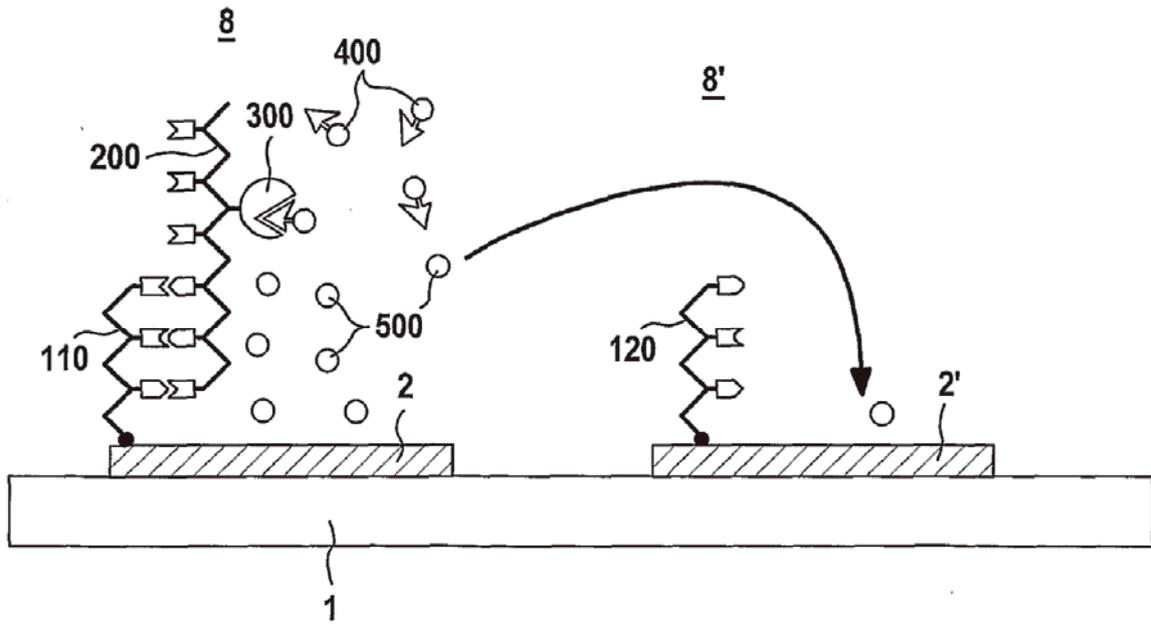


FIG 1

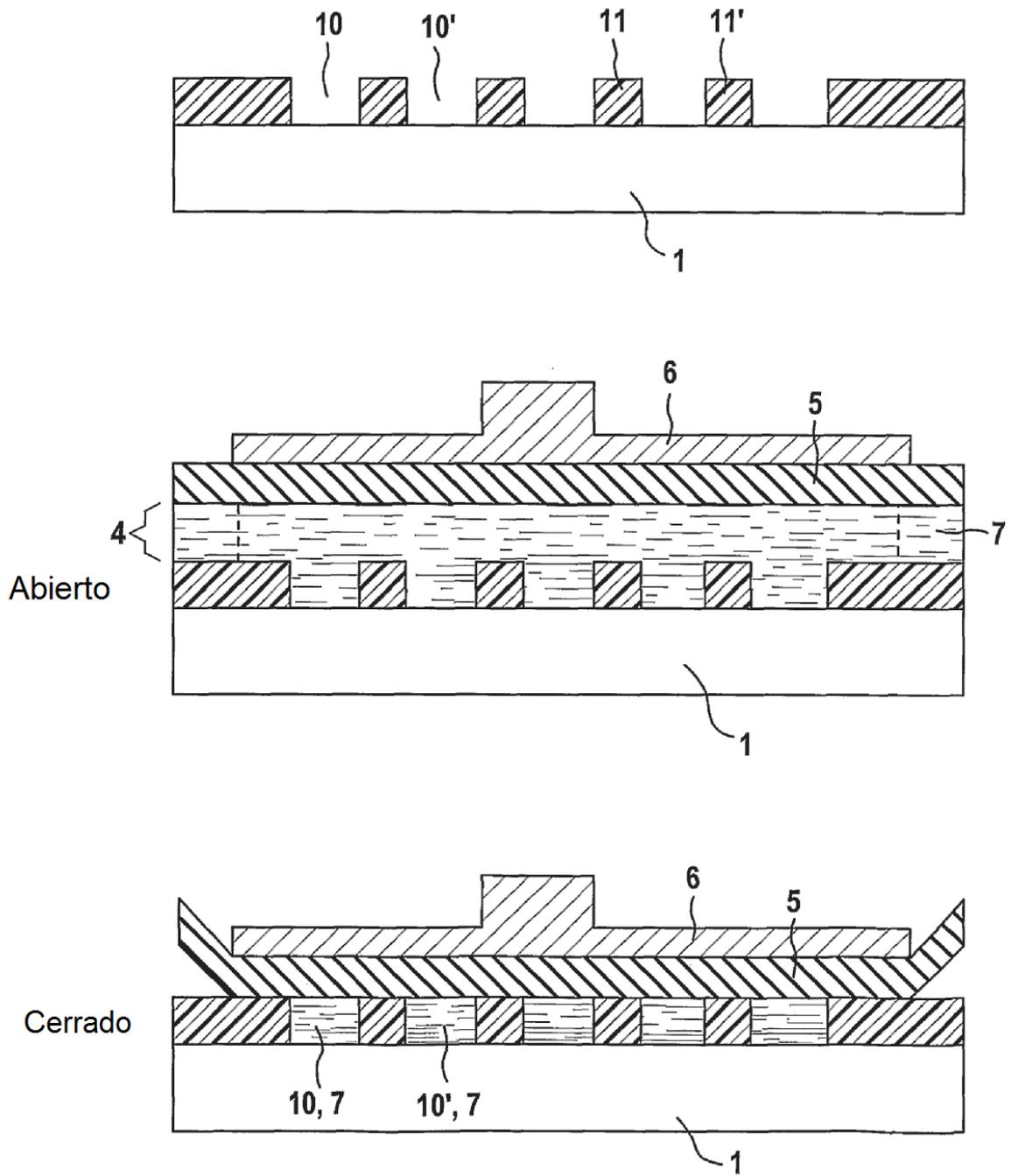


FIG 2

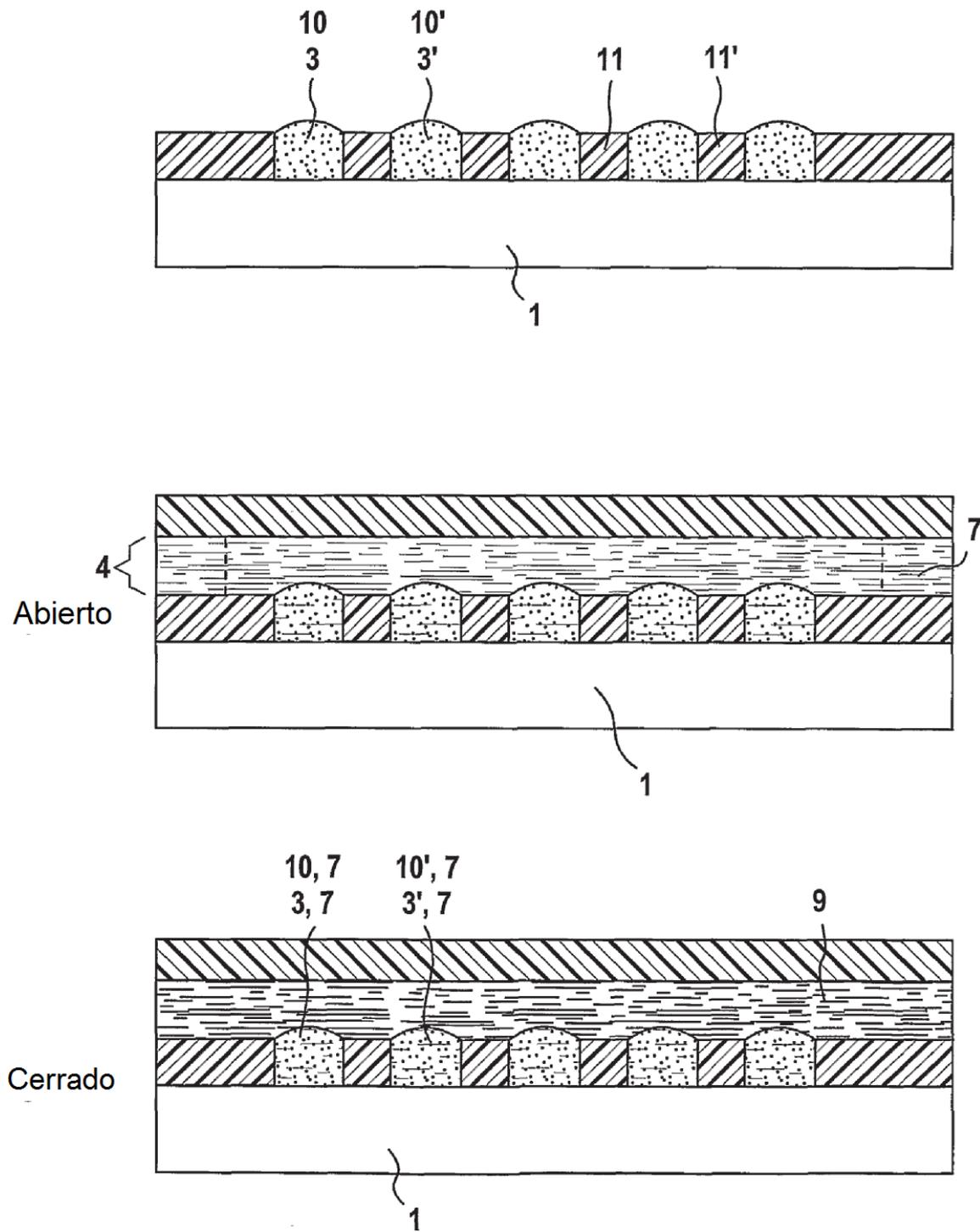


FIG 3

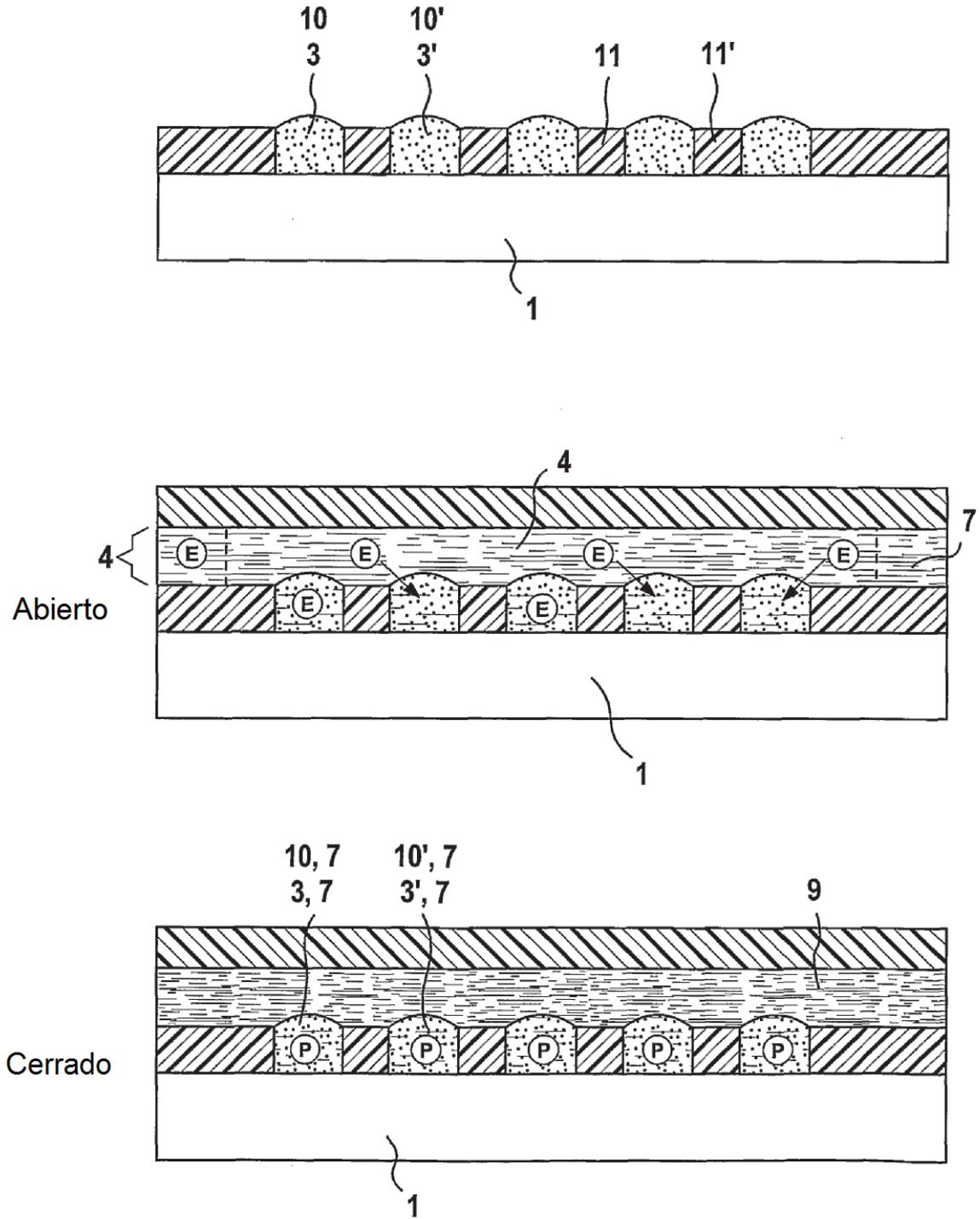


FIG 4