

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 797**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2008.01)

**C12M 1/34** (2006.01)

**C12M 1/42** (2006.01)

**C12N 15/10** (2006.01)

**G01N 27/447** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.06.2012 PCT/CA2012/050404**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.12.2012 WO12171127**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2012 E 12801329 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2721182**

54 Título: **Selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos**

30 Prioridad:

**16.06.2011 US 201161497586 P**

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

**22.05.2018**

73 Titular/es:

**BRITISH COLUMBIA CANCER AGENCY BRANCH  
(100.0%)  
675 West 10th Avenue  
Vancouver, British Columbia V5Z 1L3, CA**

72 Inventor/es:

**COOPE, ROBIN J. NOEL y  
SLOBODAN, JARED RAYMOND**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 668 797 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

Selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos

### Campo técnico

5 Esta invención se refiere a la selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos. Los aspectos de la invención proporcionan métodos y aparatos útiles para seleccionar ácidos nucleicos de acuerdo con su tamaño.

### Antecedentes

Existe una amplia gama de aplicaciones en las que es deseable seleccionar ácidos nucleicos, tales como DNA o RNA, por tamaños. Por ejemplo, la selección por tamaños se utiliza en la producción de colecciones de DNA para uso en secuenciación y otras aplicaciones.

10 Existen diversas técnicas para la selección por tamaños del DNA. Algunas de estas técnicas requieren indeseablemente gran cantidad de trabajo. Un método para la selección por tamaños de DNA es realizar la electroforesis de una muestra que contiene DNA en un gel. Dado que el DNA de diferentes tamaños tiene diferentes movilidades en el gel, la electroforesis separa el DNA en diferentes bandas por tamaños. Se puede identificar una banda que contiene el DNA en el intervalo de tamaños deseado y luego cortar manualmente el gel. El DNA deseado se puede extraer luego del gel.

Algunos sistemas de electroforesis comprenden pocillos formados en un gel. El DNA se puede hacer correr para entrar en los pocillos por electroforesis. Los geles Invitrogen E y Lonza Flash Gel™ proporcionan dichos pocillos.

20 Las máquinas de selección por tamaños por un canal en Y son otra tecnología para la selección por tamaños del DNA. Algunos ejemplos son las máquinas Sage Pippin Prep™ y Caliper XT™. Estas máquinas pueden extraer DNA de un intervalo de tamaños deseado de una muestra desviando el DNA del intervalo de tamaños deseado a un canal lateral y recoger el DNA desviado por un filtro de límite de exclusión de peso molecular.

Se pueden usar perlas de inmovilización reversibles en fase sólida (SPRI) que están disponibles en Beckman Coulter, y otros, para atrapar el DNA de cierto tamaño y luego liberar el DNA después de lavado y cambio del pH.

25 Sigue existiendo la necesidad de una tecnología de selección por tamaños del DNA que pueda proporcionar un alto rendimiento. Sigue existiendo la necesidad de una tecnología para la selección por tamaños del DNA que pueda proporcionar una selección por tamaños del DNA con precisión y trabajo reducido.

### Sumario

30 Esta invención tiene una serie de aspectos que se pueden aplicar conjuntamente. Algunos de los aspectos tienen aplicación independiente. Un aspecto proporciona un aparato para la selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos. Otro aspecto proporciona un sistema informático para controlar el aparato para la selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos. Otro aspecto proporciona métodos para la selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos pueden comprender DNA y/o RNA. Otro aspecto proporciona cartuchos útiles, entre otros, para la selección automatizada por tamaños de ácidos nucleicos.

35 En una realización ilustrativa, los ácidos nucleicos se seleccionan por tamaños cargando individualmente muestras de DNA en canales de agarosa, cada uno de los cuales tiene un pocillo de carga en un extremo del canal y un pocillo de extracción aguas abajo. La electroforesis se realiza en los ácidos nucleicos después de la carga y los ácidos nucleicos se separan por tamaños a medida que migran hacia el pocillo de extracción. Durante este proceso se obtienen imágenes del canal a intervalos regulares y un algoritmo informático usa las imágenes para identificar las bandas de referencia y predecir el momento en el que los fragmentos de ácidos nucleicos deseados llegarán al pocillo de extracción. La corriente del canal también se puede controlar individualmente por modulación de la anchura de los impulsos del voltaje de la corriente continua (CC) de modo que si muestras adyacentes se desplazan a velocidades diferentes, los tiempos de extracción se pueden alterar para que no se necesiten extraer dos muestras en el mismo momento.

45 Otro aspecto de la invención proporciona métodos para la selección por tamaños de ácidos nucleicos, tales como DNA, RNA y similares. Dichos métodos comprenden mover ácidos nucleicos de una muestra a lo largo de un canal por electroforesis; monitorizar automáticamente el progreso de una fracción de referencia de los ácidos nucleicos a lo largo del canal; basándose en la monitorización, estimar un tiempo de llegada estimado de la fracción diana de los ácidos nucleicos a un pocillo de extracción en el canal; y extraer el fluido que contiene la fracción diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado. La fracción de referencia puede ser la misma o diferente de la fracción diana. Por ejemplo, en algunas realizaciones la fracción de referencia puede comprender ácidos nucleicos que son abundantes en la muestra (bien presentes originalmente en la muestra o añadidos a la muestra como un marcador de tamaños) y la fracción diana puede comprender ácidos nucleicos que tienen tamaños diferentes de los de la fracción de referencia. El progreso de la fracción diana a lo largo del canal puede ser deducido del progreso de la fracción de referencia. Por ejemplo, se puede saber que la fracción diana adelanta o deja atrás la fracción de

referencia por un cierto porcentaje. En algunas realizaciones, la fracción diana de los ácidos nucleicos comprende un adaptador unido a una molécula de ácido nucleico de interés, y la fracción de referencia de los ácidos nucleicos comprende el adaptador que no está unido a la molécula de ácidos nucleicos de interés. En algunas realizaciones, los métodos pueden comprender la monitorización automática del progreso de una pluralidad de fracciones de referencia de los ácidos nucleicos a lo largo del canal. La pluralidad de fracciones de referencia puede comprender una escala de DNA o RNA de tamaños conocidos.

En algunas realizaciones la monitorización comprende, en momentos separados, obtener imágenes del canal e identificar zonas en las imágenes correspondientes a la fracción de referencia. Las imágenes pueden, por ejemplo, ser tomadas por una cámara montada para enfocar el canal. La cámara puede tomar imágenes simultáneamente de un gran número de canales. El progreso de las fracciones de referencia (que no son necesariamente las mismas para canales diferentes) en canales múltiples se puede monitorizar utilizando el mismo conjunto de imágenes. El tiempo de llegada estimado de la fracción diana se puede estimar en algunos casos basándose en una velocidad media de la fracción diana que se basa a su vez en las diferencias entre las posiciones de la fracción de referencia en dos o más de las imágenes. Las imágenes pueden comprender imágenes de alta gama dinámica. Por ejemplo, las imágenes se pueden obtener usando un sensor de alta gama dinámica o pueden ensamblarse a partir de dos o más exposiciones diferentes. En algunas realizaciones, las imágenes tienen una profundidad de bites de 10 bites o 12 bites o más. En algunas realizaciones, la obtención de cada una de las imágenes comprende hacer funcionar un dispositivo de toma de imágenes para obtener una pluralidad de diferentes exposiciones del canal y combinar la pluralidad de las diferentes exposiciones para obtener la imagen, donde la imagen tiene una gama dinámica mayor que cualquiera de la pluralidad de las diferentes exposiciones.

Algunas realizaciones comprenden especificar un tamaño o intervalo de tamaños de la fracción diana. Por ejemplo, el tamaño o intervalo de tamaños de la fracción diana se puede especificar en términos absolutos o relativos a una o más de las fracciones de referencia. Por ejemplo, el tamaño o intervalo de tamaños de la fracción diana se puede especificar adelantando o dejando atrás la fracción de referencia por un determinado porcentaje. Algunas realizaciones comprenden programar un tiempo de llegada para la fracción diana al pocillo de extracción; comparar el tiempo de llegada programado con el tiempo de llegada estimado y ajustar uno o más parámetros de la electroforesis de una señal de electroforesis basándose en cualquier diferencia entre el tiempo de llegada programado y el tiempo de llegada estimado. En dichas realizaciones, se puede hacer que las fracciones diana en diferentes canales lleguen a los pocillos de extracción en diferentes tiempos (facilitando la extracción de las fracciones diana usando un único mecanismo, tal como un robot que lleva un pipeteador que da servicio a cada canal en el tiempo programado). También en dichas realizaciones se puede hacer que las fracciones diana en canales diferentes lleguen a los pocillos de extracción al mismo tiempo (facilitando la extracción de las fracciones diana usando un mecanismo multicanal, tal como un robot que lleva un pipeteador multicanal que da servicio a varios canales simultáneamente en el tiempo programado).

El ajuste de uno o más parámetros de la electroforesis puede comprender ajustar un ciclo de trabajo de la señal de electroforesis, ajustar los potenciales de la señal de electroforesis o ajustar otros parámetros que definen la señal de electroforesis.

En algunas realizaciones, el método determina una posición de un pocillo de extracción y/o un pocillo de carga en uno o más canales por análisis de imágenes. Esto facilita sistemas en los que los pocillos de extracción en diferentes canales están en diferentes posiciones y también facilita la compensación automática de las variaciones de las posiciones de los pocillos de extracción y/o los pocillos de carga.

Otro aspecto de la invención proporciona un aparato para la selección por tamaños de ácidos nucleicos. El aparato comprende: un canal que tiene un primer y un segundo extremos y un pocillo de extracción en el canal; un suministro eléctrico para electroforesis conectado para suministrar una señal de electroforesis al canal para mover los ácidos nucleicos de una muestra a lo largo del canal; un dispositivo de toma de imágenes montado para tomar imágenes del canal; un controlador conectado para obtener imágenes del dispositivo de toma de imágenes. El controlador está configurado para: monitorizar automáticamente el progreso de una fracción de referencia de los ácidos nucleicos a lo largo del canal por análisis de las imágenes; basándose en la monitorización, estimar un tiempo de llegada estimado de una fracción diana de los ácidos nucleicos al pocillo de extracción en el canal; y hacer funcionar un mecanismo para extraer el fluido que contiene la fracción diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado.

El dispositivo de toma de imágenes puede comprender una cámara electrónica. La cámara puede estar equipada con un filtro que atenúe la luz fuera de una banda de emisión de un colorante asociado con el ácido nucleico.

En algunas realizaciones, el mecanismo comprende un sistema robótico que comprende un pipeteador que funciona para transferir una muestra a un pocillo de carga en el canal y extraer el fluido del pocillo de extracción. En algunas realizaciones, el pipeteador comprende una pipeta multicanal capaz de introducir simultáneamente múltiples muestras en múltiples canales o extraer simultáneamente fluidos de pocillos de extracción en múltiples canales.

En algunas realizaciones, el canal comprende una ranura alargada que tiene un primer y segundo lados opuestos y un medio de electroforesis en la ranura y teniendo el primer y segundo lados escalones que se extienden

longitudinalmente a lo largo del primer y segundo lados, llenando el medio de electroforesis la ranura hasta los escalones.

El medio de electroforesis puede comprender, por ejemplo, un gel tal como un gel de agarosa, un gel de acrilamida, un gel de acrilamida desnaturalizante o similares.

- 5 En algunas realizaciones, el controlador está configurado para determinar una posición del pocillo de extracción en el canal por análisis de imágenes de una o más de las imágenes y para mover la punta de la pipeta a la posición determinada del pocillo de extracción.

10 En algunas realizaciones, el controlador está configurado para comparar el tiempo de llegada estimado de la fracción diana al pocillo de extracción con un tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción y para controlar el suministro eléctrico para electroforesis para ajustar uno o más parámetros de electroforesis de la señal de electroforesis basándose en cualquier diferencia entre el tiempo de llegada deseado y el tiempo de llegada estimado.

15 En algunas realizaciones, el controlador está configurado para controlar una velocidad de movimiento de los ácidos nucleicos a lo largo del canal por control de retroalimentación proporcional de uno o más parámetros de la electroforesis basándose en una señal de error que comprende una diferencia entre el tiempo de llegada estimado y un tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción.

En algunas realizaciones, el controlador comprende un programador configurado para generar el tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción.

20 El aparato puede comprender un controlador de retroalimentación proporcional configurado para controlar el suministro eléctrico para electroforesis para variar una velocidad media de la fracción diana a lo largo del canal en respuesta a una señal de error que representa una diferencia entre el tiempo de llegada estimado de la fracción diana al pocillo de extracción y un tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción. En algunas realizaciones, el controlador está configurado para reducir una diferencia entre el tiempo de llegada estimado y el tiempo de llegada deseado interrumpiendo temporalmente la aplicación de la señal de electroforesis al canal.

25 Otro aspecto de la invención proporciona un casete para uso en la selección por tamaños de ácidos nucleicos. El casete comprende una placa que tiene un canal formado en la placa, comprendiendo el canal una ranura alargada que tiene un primer y un segundo lados opuestos y un medio de electroforesis en la ranura, teniendo el primer y segundo lados escalones, y llenando el medio de electroforesis la ranura hasta los escalones. La placa puede tener uno o más orificios, ranuras u otras características para bloquear la placa en una posición conocida respecto a un robot. El canal puede incluir tanto un pocillo de carga como un pocillo de extracción en posiciones separadas a lo largo del canal. La placa puede ser opcionalmente transparente al menos en su parte debajo del canal.

30 Los aspectos adicionales de la invención y las características de las realizaciones ilustrativas de la invención se ilustran en los dibujos adjuntos y/o se describen a continuación.

### 35 **Breve descripción de los dibujos**

Los dibujos adjuntos representan realizaciones ilustrativas no limitativas de la invención.

La Figura 1 ilustra un método para seleccionar por tamaños un ácido nucleico de acuerdo con una realización ilustrativa.

La Figura 1A ilustra un método ilustrativo alternativo.

40 La Figura 2 ilustra esquemáticamente una imagen de un canal.

La Figura 2A es un gráfico que ilustra la densidad en función de la posición a lo largo del canal.

La Figura 3 ilustra un método para identificar un pico correspondiente al DNA de un tamaño predeterminado.

La Figura 4 ilustra un aparato de acuerdo con una realización ilustrativa.

La Figura 5 muestra un robot ilustrativo.

45 La Figura 5A muestra un panel ilustrativo.

La Figura 5B muestra un montaje de cámara ilustrativo.

La Figura 6 es una captura de pantalla de una presentación gráfica ilustrativa.

La Figura 7 es una vista en planta de una placa de canales ilustrativa.

La Figura 7A es una sección transversal de un canal individual.

La Figura 7B muestra un peine ilustrativo útil para formar pocillos de carga o de extracción.

La Figura 7C es una vista en planta de una placa de canales ilustrativa de acuerdo con otra realización.

5 La figura 7D es una vista en perspectiva de una placa de canales con peines acoplados para formar pocillos de fuente y de extracción.

### Descripción

10 A lo largo de la siguiente descripción, se exponen detalles específicos con el fin de proporcionar una comprensión más completa para los expertos en la técnica. Sin embargo, los elementos muy conocidos pueden no haberse mostrado o descrito con detalle para evitar innecesariamente complicar la descripción. En consecuencia, la descripción y los dibujos se deben considerar en un sentido ilustrativo, en lugar de restrictivo.

15 Un aspecto de la invención proporciona un método automatizado para la selección por tamaños de muestras de múltiples ácidos nucleicos. El método utiliza la toma de imágenes junto con algoritmos predictivos para extracciones temporales y proporciona ácidos nucleicos de tamaños seleccionados de un intervalo de tamaños deseado. El método se puede realizar ventajosamente junto con aparatos automatizados que comprenden uno o más canales de electroforesis, una cámara que adquiere imágenes del uno o más canales de electroforesis y un robot que comprende un pipeteador para introducir muestras en los canales correspondientes y extraer de los canales ácidos nucleicos seleccionados por tamaños. Los canales se pueden llenar, por ejemplo, con un gel de agarosa o un gel de acrilamida. Los canales pueden tener cada uno un pocillo de carga en el canal y un pocillo de extracción separado del pocillo de carga a lo largo del canal.

20 La siguiente descripción explica la construcción y el funcionamiento de las realizaciones ilustrativas que se usan para seleccionar por tamaños DNA. Por ejemplo, el DNA puede comprender cDNA derivado de RNA. El DNA para ser seleccionado por tamaños puede tener un tamaño en el intervalo de 10 pb a 10 kpb. Sin embargo, la invención se puede aplicar a la selección por tamaños de otros ácidos nucleicos, tales como RNA. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos comprenden ácidos nucleicos cizallados.

25 La Figura 1 ilustra un método 10 de acuerdo con una realización ilustrativa de la invención. En el bloque 11 una muestra que contiene DNA se introduce en un pocillo de carga en un canal que contiene un medio a través del cual se puede mover el DNA por electroforesis. La muestra que contiene el DNA puede comprender también un colorante (por ejemplo, colorante SYBR Green™ o bromuro de etidio) que se introduce en el pocillo de carga junto con el DNA. La función del colorante es facilitar la detección o toma de imágenes del DNA en el medio. En algunas realizaciones, 30 las moléculas de DNA de la muestra pueden comprender un adaptador, que puede ser útil para aplicaciones aguas abajo, tales como secuenciación del DNA. El medio puede comprender, por ejemplo, un gel de agarosa o acrilamida. En el bloque 12 comienza la electroforesis. La electroforesis se puede realizar aplicando una diferencia de potencial eléctrico entre electrodos en los extremos opuestos del canal. La diferencia de potencial puede comprender, por ejemplo, un potencial eléctrico de CC, un potencial eléctrico de CC pulsada o un potencial eléctrico de CA 35 desequilibrada. El potencial eléctrico aplicado impulsa al DNA a que migre desde el pocillo de carga a lo largo del canal hacia un pocillo de extracción. El DNA de diferentes tamaños tiene diferentes movilidades en el canal y, por tanto, el DNA llega a segregarse por tamaños.

40 El bloque opcional 13 proporciona un retraso para permitir que el DNA migre suficientemente lejos a lo largo del canal para que se puedan detectar concentraciones de DNA de diferentes tamaños. El bloque 14 comprende determinar la posición a lo largo del canal del DNA diana de un intervalo de tamaños deseado. En algunas realizaciones, el bloque 14 comprende obtener una secuencia de imágenes del canal con una cámara, detectar uno o más puntos de referencia en la(s) imagen(es) correspondiente(s) al DNA de uno o más tamaños conocidos y determinar la posición del DNA diana basándose en la(s) posición(es) del (de los) punto(s) de referencia. El resultado del bloque 14 es una secuencia de posiciones a lo largo del canal del DNA diana.

45 La(s) referencia(s) de tamaños (por ejemplo, puntos de referencia) se puede(n) especificar en el momento o antes del desplazamiento; si es una escala de DNA, o una característica inherente que se espera que esté presente en el electroforetograma. Si la referencia de tamaños utilizada es una escala de DNA, dicha escala de DNA se puede añadir a la muestra antes de cargar la muestra en los pocillos de carga. En algunas realizaciones, la referencia de tamaños está presente inherentemente en la muestra. Por ejemplo, para seleccionar por tamaños una muestra de 50 cDNA derivada de miRNA, la muestra puede comprender fragmentos de cDNA + adaptador (por ejemplo, que tienen un tamaño de 109 pb) así como fragmentos de adaptador-adaptador (por ejemplo, que tienen un tamaño de 80 pb). Los fragmentos de adaptador-adaptador se pueden usar como referencia de tamaños.

55 El intervalo de tamaños del DNA diana puede especificarse de diversas maneras, por ejemplo, en términos absolutos o relativos a referencia(s) dada(s), permitiendo la escisión de fracciones con tamaños dependientes o independientes del perfil del electroforetograma de la muestra de entrada. Por ejemplo, si la muestra de entrada es DNA genómico cizallado con un centro del pico esperado a ~250 pb, el intervalo de movilidad de la fracción diana se puede especificar con relación al centro del pico (por ejemplo, 110% - 90% de la movilidad al centro del pico), o la

diana se puede especificar como un intervalo de tamaños absoluto (por ejemplo, 150 pb - 200 pb) independiente de la movilidad real del centro del pico.

5 El bloque 15 determina una velocidad media del DNA diana a lo largo del canal. El bloque 15 puede ser, por ejemplo, tan simple como la división de una diferencia de dos posiciones del DNA diana por un tiempo transcurrido entre la toma de imágenes a partir de las cuales se determinaron las posiciones. El bloque 15 puede tener en cuenta más de dos posiciones. Por ejemplo, el bloque 15 puede hacer la media o encontrar la mediana de una pluralidad de velocidades.

10 El bloque 16 estima un tiempo de llegada del DNA diana al pocillo de extracción. Esta determinación se puede basar en una posición predeterminada conocida del pocillo de extracción. En algunas realizaciones, la posición del pocillo de extracción se determina en el bloque 17 localizando la imagen del pocillo de extracción en las imágenes obtenidas en el bloque 15 (o si no las imágenes separadas obtenidas con el fin de localizar el pocillo de extracción). Este reconocimiento de imágenes se puede basar en modelos (es decir, se sabe de antemano que imagen de un canal se espera que se asemeje a una imagen, dónde se espera que se encuentre cada canal en la imagen y que imagen de un pocillo de extracción se espera que se asemeje a la imagen). La localización del pocillo de extracción puede comprender, por ejemplo, encontrar una posición en la imagen en la que sea máxima la correlación con una imagen modelo de un pocillo de extracción. En otras realizaciones más simples, localizar el pocillo de extracción en la imagen comprende localizar uno o más bordes correspondientes al pocillo de extracción en la imagen.

15 Por ejemplo, el tiempo de llegada estimado se puede obtener añadiendo un tiempo de viaje estimado a un tiempo actual. El tiempo de viaje estimado se puede determinar, por ejemplo, dividiendo una distancia entre la posición del pocillo de extracción y la posición actual del DNA diana por la velocidad actual del DNA diana como se ha estimado en el bloque 15.

20 El bloque 18 extrae el DNA diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado. El bloque 18 puede comprender, por ejemplo, controlar un robot que lleva un pipeteador para colocarlo en el pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado o antes de él y retirar el fluido del pocillo de extracción con el pipeteador en el tiempo de llegada estimado. El robot puede dispensar el fluido recogido en un depósito donde el fluido puede ser retenido o suministrado para tratamiento posterior.

25 El método 10 tiene una gama de variaciones. En algunas realizaciones, se aplica la información respecto a la velocidad y/o posición del DNA diana para controlar la velocidad del DNA diana. La información de la posición obtenida de los electroforetogramas en el tiempo de recorrido y la información de tiempo se utilizan en un circuito de retroalimentación para controlar la velocidad de electroforesis de la fracción del DNA diana además de su tiempo de llegada al pocillo de extracción.

30 El control de realimentación se puede aplicar, por ejemplo, para ajustar el tiempo de llegada estimado del DNA diana al pocillo de extracción. El tiempo de llegada estimado se puede ajustar, por ejemplo, ajustando un ciclo de trabajo y/o el voltaje de un campo de electroforesis y/o interrumpiendo la aplicación del campo de electroforesis una o más veces. Las realizaciones que ajustan la velocidad del DNA diana ajustando el ciclo de trabajo pueden ser ventajosas, ya que la relación entre el ciclo de trabajo y la velocidad tiende a ser lineal o casi lineal. Esto simplifica el control. La velocidad de electroforesis y la programación de extracción se pueden controlar simultáneamente para un número arbitrario de muestras. En una realización, la programación de extracción trata 96 muestras que se desplazan en paralelo.

35 La Figura 1A ilustra un método ilustrativo alternativo 10A que es similar al método 10 excepto que incluye un bloque 19 que programa un tiempo de llegada programado para el DNA diana y un bloque 20 que compara el tiempo de llegada estimado del bloque 16 con el tiempo de llegada programado del DNA diana. El bloque 21 recibe una señal de control del bloque 20 y ajusta los parámetros de electroforesis basándose en la señal de control. El circuito 22 se puede repetir periódicamente a una velocidad suficiente para controlar el progreso del DNA diana de modo que el DNA diana llegue al pocillo de extracción en el tiempo programado.

40 En el bloque 21, los parámetros de electroforesis se pueden ajustar, según sea apropiado, para retardar el progreso del DNA diana, para acelerar el progreso del DNA diana o para mantener la velocidad actual del progreso del DNA diana. En algunas realizaciones, el ajuste depende simplemente del signo de la señal de control (es decir, si el tiempo de llegada estimado es anterior o posterior al tiempo de llegada programado). En otras realizaciones, el ajuste se basa, al menos en parte, en una magnitud de la diferencia entre el tiempo de llegada estimado y el tiempo de llegada programado (o análogamente a una magnitud de la diferencia entre una velocidad estimada y una velocidad que daría como resultado que el DNA diana llegara al pocillo de extracción en el tiempo programado).

45 En casos típicos, el DNA diana no tiene un tamaño específico si no que tiene un intervalo de tamaños. Por tanto, el DNA diana llegará a un pocillo de extracción durante un periodo de tiempo que tiene una duración determinada por el intervalo de tamaños en la fracción de DNA, así como por los parámetros de la electroforesis. En algunas realizaciones, una fracción diana se puede especificar inicialmente y ajustarse también continuamente hasta que se extrae la fracción.

- El control del tiempo en el que el DNA diana llega a un pocillo de extracción se puede aplicar con buenos resultados en el caso en que los canales de electroforesis múltiples estén funcionando al mismo tiempo. Por ejemplo, la electroforesis del DNA en cada uno de una pluralidad de canales se puede controlar para hacer que el DNA diana en cada canal llegue a un pocillo de extracción en un tiempo programado, de tal modo que los tiempos programados en diferentes canales sean diferentes. El DNA diana en diferentes canales puede ser el mismo o diferente. Esto puede facilitar la utilización de un robot para extraer el DNA diana de cada uno de los canales sin requerir que el mismo pipeteador del robot esté extrayendo fluido de dos pocillos de extracción al mismo tiempo. Los tiempos programados se pueden asignar para garantizar que haya suficiente tiempo para que el robot realice cada una de las extracciones programadas.
- El control de la velocidad de electroforesis se puede aplicar para compensar las variaciones entre canales de la velocidad de electroforesis (causadas, por ejemplo, por faltas de homogeneidad en el medio de electroforesis u otras diferencias en el medio de electroforesis utilizado en los diferentes canales). El control también se puede aplicar para compensar las diferencias en la posición del pocillo de extracción entre los canales. El control también se puede aplicar para compensar las diferencias en el DNA diana en los diferentes canales.
- Algunas realizaciones emplean un robot multicanal. Por ejemplo, dicho robot puede tener una pluralidad de pipeteadores dispuestos de modo que sus puntas puedan insertarse simultáneamente en una pluralidad de pocillos de extracción. Por ejemplo, el robot puede llevar 8, 16 o algún otro número de pipeteadores. En algunas de dichas realizaciones, los canales están dispuestos uno al lado del otro y el robot puede estar configurado para introducir simultáneamente fluido en N pocillos de carga adyacentes o para retirar simultáneamente fluido de N pocillos de extracción adyacentes.
- En algunas realizaciones que usan un robot multicanal, se controla la electroforesis en una pluralidad de canales para hacer que el DNA diana en la pluralidad de canales alcance los pocillos de extracción en el mismo tiempo programado. El DNA diana puede diferir entre la pluralidad de canales. El robot se puede controlar entonces para colocar las puntas de las pipetas en los pocillos de extracción de la pluralidad de canales en el tiempo programado y para extraer simultáneamente fluido de los pocillos de extracción. Dichas realizaciones permiten asignar diferentes tiempos de llegada programados a grupos de canales. La electroforesis en los canales individuales en cada grupo se puede controlar por separado para hacer que el DNA diana en cada canal del grupo llegue al pocillo de extracción correspondiente en el tiempo programado para dicho grupo. Los tiempos programados para los diferentes grupos de canales se pueden distanciar de manera que el robot tenga tiempo para realizar las extracciones programadas. Dichas realizaciones pueden proporcionar electroforesis de alto rendimiento.
- Los principios descritos anteriormente también se pueden aplicar a situaciones en las que se desea extraer dos o más fracciones de la misma muestra. Para dichas aplicaciones, la electroforesis se puede realizar para llevar una primera fracción diana a un pocillo de extracción y para extraer la primera fracción diana. Posteriormente, se puede realizar una electroforesis adicional para llevar una segunda fracción al pocillo de extracción. Se puede extraer entonces la segunda fracción. Si se desea, la primera y segunda fracciones diana se pueden mantener aisladas entre sí. Por ejemplo, cada una de la primera y segunda fracciones diana se puede transferir desde el pocillo de extracción a un pocillo de destino separado. También es posible, si se desea, transferir múltiples fracciones de la misma muestra al mismo pocillo de destino.
- En algunas aplicaciones, se pueden extraer de la misma muestra tres o más fracciones. Cuando se van a extraer dos o más fracciones diana de la misma muestra, entonces la extracción de cada una de las fracciones diana se puede programar por separado. Después que se ha extraído una primera fracción diana de un canal en un primer tiempo programado, se pueden controlar los parámetros de electroforesis del canal para llevar la segunda fracción diana al pocillo de extracción para su extracción en un segundo tiempo programado.
- En algunas realizaciones, se controla la electroforesis en una pluralidad de canales para llevar en un primer tiempo una pluralidad correspondiente de primeras fracciones diana a los pocillos de extracción en la pluralidad de canales. Entonces se puede aplicar un pipeteador multicanal u otro mecanismo de extracción multicanal para transferir las primeras fracciones diana a los correspondientes pocillos de destino. Se puede controlar entonces la electroforesis en la pluralidad de canales para llevar al mismo tiempo las segundas fracciones diana a los pocillos de extracción en los canales. No es necesario que la separación entre las primeras fracciones diana y las segundas fracciones diana sea la misma entre los diferentes canales. Se puede controlar la electroforesis para mover la segunda fracción diana hacia el pocillo de extracción de modo más rápido en unos canales que en otros. En algunas realizaciones, se controla la electroforesis para llevar al mismo tiempo las segundas fracciones diana a los pocillos de extracción en la pluralidad de canales, de manera que las segundas fracciones diana se puedan extraer simultáneamente utilizando el pipeteador multicanal.
- La Figura 2 ilustra esquemáticamente una imagen de un canal 24. El canal 24 comprende una tira 25 de un medio de electroforesis adecuado con un depósito de tampón 25A, 25B en cada extremo. Un pocillo de carga 26A está situado en el medio 25 próximo al depósito de tampón 25A. Un pocillo de extracción está situado en el medio 25 en una posición que está separada del pocillo de carga 26A hacia el depósito de tampón 25B.

En la Figura 2 también se muestran varias bandas de DNA que han sido llevadas por electroforesis a lo largo del medio 25 desde el pocillo de carga 26A. Debido a que el DNA de diferentes tamaños se mueve a diferentes velocidades bajo la electroforesis, las bandas en diferentes posiciones representan DNA de diferentes tamaños. Diferentes bandas pueden tener diferentes densidades en la imagen. Las bandas pueden representar todo el DNA que está presente en una muestra. En algunas realizaciones, se puede añadir a la muestra DNA de un tamaño conocido o un conjunto de tamaños conocidos (por ejemplo, una escala de DNA) con el fin de proporcionar una escala de tamaños que se puede usar para determinar la posición del DNA diana.

En algunas realizaciones, las referencias de tamaños, tales como las escalas de DNA, se desplazan en el mismo canal 24 como muestras de entrada. Esto asegura la exactitud de los tamaños en comparación con realizaciones en las que las referencias de tamaños y las muestras se desplazan en canales separados.

La Figura 2A es un gráfico que ilustra la densidad en función de la posición a lo largo del canal 24. Los picos en la curva 27 corresponden a las posiciones de las bandas mostradas en la Figura 2. Los métodos descritos anteriormente pueden identificar un pico en la curva 27 correspondiente al DNA diana o inferir una posición actual del DNA diana a partir de las posiciones de uno o más picos adicionales correspondientes al DNA que tiene una relación o relaciones de tamaños conocidas con el DNA diana.

Algunas realizaciones proporcionan un programador. El programador puede, por ejemplo, estar implementado en un programa informático. El programador puede programar: la transferencia de muestras a los pocillos fuente 26A en los canales 24, el comienzo de la electroforesis en los canales 24 y la extracción de las fracciones diana de los pocillos de extracción 26B. En algunas realizaciones, el programador funciona mientras las muestras están recorriendo los canales 24 y puede reprogramar la extracción de las fracciones diana en respuesta a la monitorización del progreso de la fracción diana (o una banda que tiene una relación conocida con la fracción diana). El programa puede programar inicialmente la extracción de una fracción diana en un intervalo de tiempo que está separado de un tiempo de comienzo de la electroforesis en un canal por un período que sea más largo que el período más corto en el que una fracción diana podría progresar posiblemente desde el pocillo fuente 26A al pocillo de extracción correspondiente 26B. El período de tiempo utilizado para esta programación inicial se puede determinar basándose en una distancia medida desde el pocillo fuente 26A hasta el pocillo de extracción 26B en algunas realizaciones. El período de tiempo se puede generar basándose en una supuesta velocidad media de la fracción diana que es menor que una velocidad máxima alcanzable en un intervalo disponible de parámetros de electroforesis. La supuesta velocidad media puede ser función de un tamaño de la fracción diana y las características del medio en el que se está realizando la electroforesis.

En algunas realizaciones, la duración de un período programado por el programador para la extracción de una fracción diana es variable y depende de los tamaños del ácido nucleico incluidos en la fracción diana (una fracción diana que incluye un intervalo de tamaños mayor llevará más tiempo su extracción que una fracción diana en la que el margen de tamaños es pequeño). En algunas realizaciones, los tiempos de inicio y finalización de la extracción de una fracción diana se ajustan basándose en los tiempos de llegada estimados al pocillo de extracción de los bordes delantero y trasero de la fracción diana.

En algunas realizaciones, el programador monitoriza los conflictos entre los tiempos de extracción de las fracciones diana de diferentes canales 24. En algunas de tales realizaciones, en el caso de un conflicto (es decir, períodos asignados a la extracción de fracciones diana de diferentes canales 24 que se solapan), el programador puede revisar el tiempo programado para la extracción de la fracción diana de uno de los canales 24 para eliminar el conflicto. El cambio del tiempo de extracción programado puede dar como resultado automáticamente que se alteren los parámetros de la electroforesis en el canal reprogramado 24 de modo que se controle el progreso de la fracción diana en el canal 24 para que la fracción diana llegue al pocillo de extracción en el tiempo reprogramado.

En algunas realizaciones, los parámetros de electroforesis para un canal 24 se controlan de modo que sobre el borde delantero de la fracción diana que llega al pocillo de extracción correspondiente 26B y que comienza la extracción, se aumente la velocidad de electroforesis, reduciendo con ello el tiempo en el que la extracción debe continuar para extraer toda la fracción diana.

La Figura 3 ilustra un método 30 para identificar un pico correspondiente al DNA de un tamaño predeterminado en el canal 24. El bloque 32 aplica la electroforesis a un canal usando parámetros de electroforesis conocidos durante un período de tiempo. El bloque 33 obtiene una imagen del canal al final del bloque 33. El bloque 34 identifica un intervalo de posiciones a lo largo del canal basándose en las características conocidas del DNA diana. Por ejemplo, se puede proporcionar una curva de calibración predeterminada 35 que relaciona la posición a lo largo del canal con el tamaño del DNA. En algunas realizaciones, se proporciona una pluralidad de diferentes curvas de calibración 35. Las diferentes curvas de calibración se pueden aplicar a diferentes medios que se pueden usar en los canales 24.

El bloque 34 estima una posición o gama de posiciones en las que se espera encontrar el DNA diana. La posición estimada puede ser función del período de tiempo en el que se ha llevado a cabo la electroforesis, el medio en el canal 24, los parámetros de electroforesis y las características (especialmente el tamaño) del DNA diana. Un operario puede introducir un tamaño o intervalo de tamaños para el DNA diana. El bloque 34 puede usar una curva de calibración apropiada 35 para identificar la posición esperada de un pico en la curva 27 correspondiente al DNA

diana. El bloque 36 establece un intervalo 37 (véase la Figura 2A) y busca la curva 27 para un pico dentro del intervalo 37. Si un pico es detectado satisfactoriamente (determinado por ejemplo por un resultado SÍ del bloque 39, entonces el pico se identifica como la posición inicial del DNA diana. Una vez que se ha identificado un pico correspondiente al DNA diana en una imagen, al pico se le puede seguir el rastro a través de imágenes posteriores a medida que se propaga a lo largo del canal. Las características destacadas del perfil del electroforetograma pueden ser identificadas en el tiempo de desplazamiento y ser usadas para ayudar a mantener la integridad de tamaños a medida que las referencias de tamaño que se mueven más rápidamente, salen del campo de visión.

El método 30 se puede aplicar para identificar uno o más picos correspondientes al DNA en una escala de DNA y/o una muestra. En algunas realizaciones, se identifican y se siguen el rastro de uno o más picos que son diferentes del DNA diana como se describió anteriormente. Se puede identificar una posición actual del DNA diana con respecto a dichos picos. Por ejemplo, un usuario puede especificar la cantidad por la cual se espera que el DNA diana adelante o quede detrás de uno o más de dichos picos.

La Figura 4 ilustra el aparato 40 de acuerdo con una realización ilustrativa. El aparato 40 comprende un robot 42 que comprende un pipeteador 44 que puede ser colocado por el robot 42 sobre posiciones deseadas en un campo 43. Por ejemplo, el robot 42 puede comprender una plataforma XYZ que soporta una bomba de pipetas de un solo canal, que también soporta una tubería de carga de tampón y un mecanismo de eyección de la punta. Una placa fuente 45 comprende una pluralidad de pocillos fuente 45A. Una placa de destino 46 comprende una pluralidad de pocillos de destino 46A. Se proporciona una pluralidad de canales 47 dentro del campo 43.

El robot 42 comprende un controlador 42A que puede controlar la posición del pipeteador 44. El controlador 42A puede controlar, por ejemplo, el robot 42 para cargar un canal de la manera siguiente: llevando una punta de pipeta 48 a una estación 48A, colocando la punta de pipeta sobre un pocillo fuente seleccionado 45A, haciendo descender la punta de la pipeta en el pocillo fuente 45A, y aspirando fluido en la punta de la pipeta 45A, elevando la punta de pipeta y colocándola de nuevo en un pocillo de carga de un canal seleccionado 47, haciendo descender la punta de pipeta en el pocillo de carga, haciendo funcionar el pipeteador para suministrar el fluido al pocillo fuente, elevando la punta de pipeta y moviendo la punta de pipeta hasta una zona de almacenamiento de puntas de pipetas usadas y desconectando la punta de pipeta usada.

El controlador 42A, puede controlar, por ejemplo, al robot 42 para recuperar DNA diana de un canal de la manera siguiente: llevando una punta de pipeta 48 a la estación 48A, colocando la punta de pipeta sobre el pocillo de extracción en el canal seleccionado justo antes de la llegada estimada del DNA diana, haciendo descender la punta de pipeta en el pocillo de extracción del canal, aspirando fluido en la punta de pipeta 45A durante un periodo de tiempo correspondiente a la llegada esperada del DNA diana, elevando la punta de pipeta y volviendo a colocarla sobre un pocillo de destino 46A, haciendo descender la punta de pipeta en el pocillo de destino, haciendo funcionar el pipeteador para suministrar el fluido en el pocillo de destino, elevando la punta de pipeta y moviendo la punta de pipeta a una zona de almacenamiento para puntas de pipeta usadas y desconectando la punta de pipeta usada.

El aparato tal como se describe en la presente memoria se puede configurar para procesar cualquier número razonable de muestras. En algunas realizaciones, el aparato como se describe en la presente memoria proporciona una selección por tamaños automatizada para 96 muestras al mismo tiempo. En otras realizaciones ilustrativas, el aparato procesa múltiplos de 96 muestras al mismo tiempo. Otras realizaciones ilustrativas están configuradas para procesar otros números de muestras.

Los robots adecuados para uso como robot 42 están disponibles comercialmente. Los robots adecuados para uso como robot 42 también se pueden fabricar a partir de componentes comercialmente disponibles de modos conocidos por los expertos en la técnica

El aparato 40 comprende un dispositivo de toma de imágenes 50 que puede comprender, por ejemplo, una cámara dispuesta para obtener imágenes de los canales 47. El dispositivo de toma de imágenes 50 puede comprender un dispositivo de toma de imágenes de alta gama dinámica. Por ejemplo, la cámara 50 o un controlador conectado para recibir imágenes de la cámara 50 pueden ser configurados para obtener y combinar imágenes tomadas con diferentes tiempos de exposición para expandir la gama dinámica detectable. Esto permite que las bandas borrosas sean visibles sin saturar las bandas más brillantes.

Una fuente de luz 52 ilumina los canales 47 para facilitar la toma de imágenes de los ácidos nucleicos que se propagan a lo largo de los canales. Cuando el DNA está asociado a un colorante, la fuente de luz puede emitir luz correspondiente a una banda de absorción del colorante (por ejemplo, una banda correspondiente a una longitud de onda que excita un fluoróforo del colorante). La fuente de luz 52 puede comprender un filtro que bloquea las longitudes de onda fuera de este intervalo. Por ejemplo, el colorante SYBR Green™ absorbe luz a 488 nm. La fuente de luz puede emitir luz azul. Por ejemplo, la fuente de luz puede comprender una disposición de LED azules. Alternativa o adicionalmente, la fuente de luz puede emitir luz UV. La cámara 50 puede incluir un filtro que preferentemente admite fluorescencia del colorante. Por ejemplo, el colorante SYBR Green™ emite luz a 520 nm. La cámara puede tener un filtro de paso de banda o de muesca que deja pasar luz a 520 nm, pero atenúa la luz de otras longitudes de onda.

Por ejemplo, la cámara puede estar fijada a un componente de robot 42, de tal modo que la cámara esté a una distancia fija de los canales 47. En una realización prototípica la cámara 50 y el iluminador de LED 52 están fijados a un brazo del eje Y del robot 42.

5 Un suministro eléctrico para electroforesis de multicanales 54 está configurado para proporcionar potenciales de electroforesis a través de los canales 47. El suministro eléctrico 54 puede comprender una única unidad o una pluralidad de unidades separadas. Un controlador 55 está conectado para recibir imágenes de la cámara 50 para controlar el suministro eléctrico 54 y para coordinar las acciones del robot 42. Una interfaz de usuario 56 permite a los usuarios proporcionar entradas de control e información para guiar el funcionamiento del aparato 40.

10 En el funcionamiento de un sistema ilustrativo, las placas fuente y de destino 45, 46 son cargadas junto con dos cajas de puntas que contienen puntas de pipetas. Las placas que comprenden los canales 47 están fijadas en el panel y las disposiciones de electrodos están colocadas de modo que sus electrodos estén en contacto eléctrico con los canales 47 en los extremos de la placa de canales. En algunas realizaciones los electrodos están montados en una estructura que les permite ser introducidos en pocillos de tampón en cada extremo de cada canal. Por ejemplo, el aparato puede comprender un bastidor con bisagras que lleva el primer y segundo electrodos correspondientes a cada canal. El primer y segundo electrodos pueden estar montados en el bastidor con bisagras y dicho bastidor con bisagras puede ser movable entre una primera posición, en donde el primer y segundo electrodos entran en el primer y segundo depósitos de tampón de un canal y una segunda posición en donde el primer y segundo electrodos son retirados del primer y segundo depósitos de tampón.

20 El programa informático de control se configura con la posición de las muestras (una placa completa de 96 pocillos o menos o más), el tipo de muestras y las posiciones de la(s) placa(s) de canales.

25 Cuando comienza un experimento están llenos los pocillos de tampón en las placas de canales. Las muestras se cargan secuencialmente (por ejemplo, por el robot en los pocillos de carga en los canales 47) y comienza la electroforesis. En una realización, la cámara 50 instalada se usa para localizar el pocillo de extracción en cada canal 47, evitando la necesidad de configurar manualmente la posición de los pocillos de extracción. Esto facilita la posibilidad proporcionar pocillos de extracción en diferentes posiciones dentro de sus canales 47.

30 Algunas realizaciones comprenden un mecanismo para medir y/o ajustar la posición Y de la punta de pipeta. Conocer la posición exacta de la punta de pipeta facilita la carga precisa y la recuperación de muestras de ácidos nucleicos en los pocillos pequeños. Dicho mecanismo es útil debido a que los extremos de diferentes puntas de pipeta pueden estar en posiciones algo diferentes con respecto al robot cuando están montadas en el pipeteador. En una realización ilustrativa el mecanismo comprende un interruptor (que puede ser por ejemplo un micro-interruptor, un interruptor de proximidad o similar) que cambia de estado cuando una punta de pipeta está en una posición predeterminada con relación al interruptor. El interruptor puede estar en una posición conveniente en el campo del robot.

35 En algunas realizaciones el interruptor está situado cerca de un suministro de puntas de pipeta sin usar de tal modo que la posición Y de cada nueva punta de pipeta puede ser ajustada moviendo el robot para llevar la punta de pipeta contra el interruptor. En dichas realizaciones, la punta de pipeta puede ser colocada cerca del interruptor y luego movida hacia el interruptor en la dirección de Y hasta que el interruptor cambia de estado. Este mecanismo se puede usar para medir individualmente la posición del extremo de cada punta de pipeta después que se carga una punta. La posición medida se puede usar para compensar las ligeras desalineaciones de las diferentes puntas de pipeta. El sistema ilustrado 40 comprende un interruptor 49 dispuesto para ser activado cuando una punta de pipeta presiona contra el interruptor en una dirección Y (una dirección paralela a los canales 47).

45 La Figura 5 muestra un robot ilustrativo. La Figura 5 muestra un panel inferior que acomoda controladores y suministros eléctricos, y un panel superior que acomoda placas de canales y los electrodos. Encima de esto está el cabezal pipeteador con la bomba, el sistema de suministro de tampón y la cámara y luces para la toma de imágenes de los canales.

50 La Figura 5A muestra un panel ilustrativo. La Figura 5A muestra placas posicionadoras del panel que mantienen el panel en su posición. Las cajas de puntas, las placas fuente, las placas de destino, y las placas de canales están todas montadas en el panel. Al menos las placas fuente, las placas de destino y las placas de canales son desmontables del tablero. Están provistos pasadores elásticos para mantener las placas contra los pasadores de los posicionadores de modo que los pocillos fuente, los pocillos de destino y los canales estarán en posiciones conocidas cuando las placas están instaladas en el panel.

La Figura 5B muestra un sistema de cámara ilustrativo que comprende una cámara 50 y disposiciones de LED 52. Las disposiciones de LED 52 comprenden fuentes luminosas que emiten de luz azul, tales como LED azules de LED cubiertos por filtros azules en algunas realizaciones.

55 En una realización ilustrativa, el controlador 55 comprende un procesador configurado para ejecutar instrucciones proporcionadas por un programa informático. El programa informático crea un protocolo de desplazamiento (que muestra se desplaza en que canales, en que orden, y en que pocillos de destino acabarán las extracciones respectivas) que se basa en la entrada de datos por el usuario. Esto se comunica al usuario gráficamente.

La Figura 6 es una captura de pantalla de una presentación gráfica ilustrativa. La Figura 6 muestra la presentación a la mitad del proceso. Las muestras han sido cargadas secuencialmente empezando en la parte inferior izquierda y las primeras dos y medias placas han completado los desplazamientos. Las muestras restantes a la derecha están desplazándose y se muestra gráficamente cada estado de los canales basándose en la imagen más reciente. El gráfico en la parte superior es un electroforetograma para un canal seleccionado por el usuario, que muestra un pico de referencia de tamaños 59A y una región diana 59B.

Otro aspecto de la invención que se puede usar junto con un robot como se ha descrito antes, pero que también puede tener otras aplicaciones, proporciona placas de canales para uso en la separación de ácidos nucleicos. En algunas realizaciones se proporcionan en una placa uno o más canales. La placa se puede colocar desmontablemente dentro del campo de un robot, por ejemplo, como se ha descrito antes. Proporcionar medios de separación de DNA en canales en lugar de planchas (por ejemplo, geles en planchas) tiene la ventaja de que se reduce la posibilidad de contaminación cruzada de una muestra con otra.

La Figura 7 es una vista en planta de una placa de canales ilustrativa 80. La placa 80 comprende elementos de posicionamiento 81, tales como agujeros (véase la Figura 7A) o muescas (véase la Figura 7C) para recibir pasadores de posicionamiento u otros elementos de posicionamiento que permiten que la placa 80 sea colocada repetitivamente en el campo de un robot u otro aparato. A lo largo de la placa 80 se extiende una pluralidad de canales 24. Cada canal 24 comprende una tira 25 de un medio de electroforesis adecuado. En cada extremo de la tira 25 está dispuesto un depósito de tampón 25A, 25B. Un pocillo de carga 26A está situado en la tira 25 cerca del depósito de tampón 25A. Un pocillo de extracción 26B está situado en la tira 25 en una posición que está separada del pocillo de carga 26A hacia el depósito de tampón 25B. En algunas aplicaciones, los pocillos de extracción 26B de diferentes canales están alineados unos con otros, pero esto no es obligatorio. En algunas aplicaciones puede ser conveniente proporcionar pocillos de extracción 26B que estén en diferentes posiciones a lo largo de la tira 25 en diferentes canales 24.

La Figura 7A es una vista en corte transversal de un canal individual 24. El canal 24 tiene opcionalmente un pequeño borde en escalón en cualquier lado de la tira 25. En la realización ilustrada se muestran escalones 83. Los escalones 83 proporcionan esquinas 84. Las esquinas 84 están situadas a lo largo de la tira 25 paralelas unas con respecto a las otras. En la realización ilustrada, las esquinas 84 son paralelas a las superficies superior e inferior planas 84A y 84B de la placa 80. El medio 86 (por ejemplo, un gel de agarosa, un gel de acrilamida o similar) llena la tira 25 hasta el nivel de las esquinas 84. Los escalones 83 ayudan a mantener la superficie superior del material 86 en la tira 85 plana a lo largo de la longitud de la tira 25. La presencia de esquinas 84 a medida que el material 86 se introduce en la tira 25 ayuda a reducir la tendencia de la tensión superficial del material 86 a formar un menisco en la superficie del material 86. Elementos opcionales, tales como pequeños terrones u surcos 89 (Véase la Figura 7C) pueden estar formados en las paredes de la tira 25 cerca de los extremos de la tira 25 con el fin bloquear mecánicamente el material 86 en su lugar.

Las dimensiones del canal 24 pueden ser variadas. En un ejemplo ilustrativo, la tira 25 tiene una profundidad en el intervalo de aproximadamente 6 a 12 mm, preferiblemente 8 a 10 mm. En una realización ilustrativa, la tira 25 tiene una anchura de 3 mm a 11 mm, preferiblemente 4 mm a 7 mm. Los principios descritos en la presente memoria se pueden aplicar, sin embargo, a canales de otras dimensiones.

La placa 80 puede estar hecha de plástico u otro material eléctricamente aislante adecuado. En algunas realizaciones, la placa 80 está moldeada por inyección, sin embargo, la placa 80 puede estar fabricada por mecanización o cualquier otra manera adecuada.

Una placa 80 se puede preparar represando o llenado temporalmente los depósitos de tampón 25A y 25B y vertiendo una cantidad adecuada de un material endurecible 86 en las tiras 25. Preferiblemente, el volumen completo de cada depósito de tampón está lleno mientras se vierte el material 86 de modo que el material 86 es incapaz de fluir en los depósitos de tampón. Por ejemplo, se puede verter un gel de agarosa en las tiras 25, mientras que el gel está en forma líquida y luego se deja endurecer en las tiras 25. La cantidad de material 86 introducida en cada tira puede ser justo la suficiente de modo que una superficie del material esté al nivel de las esquinas 84.

Los pocillos de carga y extracción pueden ser formados en el material 86 mientras que el material está siendo vertido en las tiras 25. En otras realizaciones, los pocillos de carga y/o extracción pueden ser formados después que ha endurecido el material 86. En algunas realizaciones, los pocillos de carga y/o extracción se forman colocando peines de carga y/o extracción en posiciones apropiadas a lo largo de las tiras 25. La Figura 7B muestra un peine ilustrativo 87. Cada peine 87 comprende una fila de pasadores 87A. Un peine 87 puede estar colocado en la placa 80 transversalmente a las tiras 25 de tal modo que los pasadores 87A estén dispuestos para que entren en las tiras 25 de los canales 24 atravesadas por el peine 87.

La placa 80 puede comprender elementos de posicionamiento 88 para colocar los peines 87 en el alineamiento deseado para formar pocillos de carga y/o pocillos de extracción. Pueden estar dispuestos múltiples conjuntos de elementos de posicionamiento 88 para facilitar la formación de los pocillos de extracción en diferentes posiciones a lo largo de las tiras 25. Como se ha indicado anteriormente, puede ser deseable proporcionar pocillos de extracción en una posición que este adaptada para que sea realizada la separación. La mejor longitud del canal de separación

entre el pocillo de carga 26A y el pocillo de extracción 26B depende de la longitud del DNA u otro ácido nucleico diana y el grado de separación deseado.

5 Un peine 87 para formar los pocillos de extracción puede tener pasadores 87A que son algo más anchos que los pasadores 87A usados para formar los pocillos de carga. Proporcionar pocillos de carga 26A que no ocupen la anchura completa de las tiras 25 ayuda a evitar pérdidas de muestra en los lados de un pocillo de carga. Los pocillos de extracción 26B pueden ocupar la anchura completa de las tiras 25 o casi la anchura completa de las tiras 25.

10 Una serie de realizaciones proporciona canales en los cuales los pocillos de carga son más anchos que los pocillos de extracción. En una realización ilustrativa particular, el pocillo de carga tiene una dimensión de 1,2 x 3,5 x 9 mm, y el pocillo de extracción tiene una dimensión de 1,2 x 5,5 x 9 mm (es decir, 2 mm más ancho que el pocillo de carga). Un pocillo de carga que tiene una dimensión de 1,2 x 3,5 x 9 mm permite que sea cargada una muestra que tenga un volumen de hasta 37,8 µL. Un pocillo de extracción que tenga una dimensión de 1,2 x 5,5 x 9 mm permite que sea retirado un volumen de hasta 59,4 µL.

15 Los peines 87 pueden ser diseñados de modo que los pasadores 87A que forman los pocillos puedan 'flotar' ligeramente (por ejemplo, aproximadamente 0,25 mm) en sus bastidores de montaje. Esto facilita retirar los peines 87 después de que ha endurecido el material 86.

Una placa 80 que comprende uno o más canales 24 puede estar dispuesta en forma de un casete pre-preparado dentro de un envase estéril. Este envase puede comprender, por ejemplo, una cubierta estéril que puede ser desprendida para destapar los canales 24. En algunas realizaciones, el casete puede ser suministrado con peines insertados en los pocillos de carga y/o de extracción. Un usuario puede retirar los peines antes de su uso.

20 La Figura 7C es una vista en planta de una placa de canales ilustrativa de acuerdo con otra realización.

La Figura 7D es una vista en perspectiva de una placa de canales con los peines 87-1 y 87-2 insertados en la preparación para verter un medio de electroforesis en los canales 24. En algunas realizaciones el peine 87-1 puede tener pasadores más estrechos que el peine 87-2.

25 Aunque una cámara proporciona una herramienta conveniente para la toma de imágenes de una pluralidad de canales y simultáneamente seguir el progreso de una o más fracciones de referencia en cada uno de los canales, se pueden usar otras herramientas en lugar de una cámara. Por ejemplo, se podría proporcionar un escáner de línea 1-D para medir una concentración de un ácido nucleico en función de su posición a lo largo de un canal. Además, no es obligatorio que la cámara enfoque los canales desde arriba. En algunas realizaciones, las bandejas que llevan los canales son transparentes, al menos en sus partes subyacentes a los canales y la cámara enfoca los canales desde abajo a través de las placas.

### Interpretación de los términos

A no ser que el contexto requiera claramente otra cosa, a través de la descripción y las reivindicaciones:

- "comprende", "que comprende", y similares han de ser entendidos en sentido inclusivo, contrario al sentido exclusivo o exhaustivo; es decir, en el sentido de "incluir, pero no estar limitado a".
- 35 • "conectado", "acoplado" o cualquiera de sus variantes, significa cualquier conexión o acoplamiento, directo o indirecto, entre dos o más elementos; el acoplamiento o conexión entre los elementos puede ser físico, lógico o una de sus combinaciones.
- "en la presente memoria", "anteriormente", "a continuación" y palabras de similar importancia, cuando se usan para describir esta memoria se referirán a esta memoria como un todo y no a cualesquiera porciones particulares de esta memoria.
- 40 • "o" con referencia a una lista de dos o más conceptos, cubre la totalidad de las siguientes interpretaciones de la palabra: cualquiera de los conceptos de la lista, todos los conceptos de la lista, y cualquier combinación de los conceptos de la lista.
- las formas singulares "un", "una/uno" y "el/la" incluyen también el significado de cualquiera de las formas plurales apropiadas.
- 45

50 Las palabras que indican direcciones como "vertical", "transversal", "horizontal", "hacia arriba", "hacia abajo", "hacia adelante", "hacia atrás", "hacia adentro", "hacia afuera", "vertical", "transversal", "izquierda", "derecha", "delante", "detrás", "arriba", "abajo", "por debajo", "por encima", "bajo", y similares, utilizadas en esta descripción y cualquiera de las reivindicaciones adjuntas (cuando estén presentes) dependen de la orientación específica del aparato descrito e ilustrado. El objeto descrito en la presente memoria puede adoptar diversas orientaciones alternativas. En consecuencia, estos términos direccionales no están estrictamente definidos y no deben interpretarse en sentido restrictivo.

Las realizaciones de la invención pueden ser implementadas utilizando equipo informático específicamente diseñado, equipo informático configurable, procesadores de datos programables configurados mediante la provisión de un programa informáticos (que opcionalmente puede comprender 'microprogramas') capaces de ser ejecutados en los procesadores de datos, ordenadores o procesadores de datos para fines especiales que son específicamente programados, configurados o contruidos para realizar una o más etapas de un método como se explica detalladamente en la presente memoria y/o combinaciones de dos o más de estos. Ejemplos de equipos informáticos diseñados específicamente son: circuitos lógicos, circuitos integrados específicos de la aplicación ("ASIC"), circuitos integrados a gran escala ("LSI"), circuitos integrados a muy gran escala ("VLSI") y similares. Ejemplos de equipos informáticos configurables son: uno o más dispositivos lógicos programables, tales como lógica de matriz programable ("PAL"), matrices lógicas programables ("PLA") y matrices de puertas programables de ("FPGA"). Los ejemplos de procesadores de datos programables son: microprocesadores, procesadores de señales digitales (DSP), procesadores integrados, procesadores gráficos, coprocesadores matemáticos, ordenadores para fines generales, ordenadores servidores, computaciones en la nube, ordenadores centrales, estaciones de trabajo de ordenadores y similares. Por ejemplo, uno o más procesadores de datos en un circuito de control para un dispositivo pueden implementar métodos como se describe en la presente memoria mediante la ejecución de instrucciones de programas informáticos en una memoria de programa accesible para los procesadores.

El procesamiento puede ser centralizado o distribuido. Cuando se distribuye el procesamiento, la información que incluye el programa informático y/o los datos puede mantenerse centralizada o distribuida. Dicha información puede intercambiarse entre diferentes unidades funcionales por medio de una red de comunicaciones, como una red de área local (LAN), red de área extensa (WAN) o Internet, enlaces de datos por cable o inalámbricos, señales electromagnéticas u otro canal de comunicación de datos.

Por ejemplo, aunque los procesos o bloques se presentan en un orden determinado, los ejemplos alternativos pueden realizar rutinas que tengas etapas, o emplear sistemas que tienen bloques, en un orden diferente, y algunos procesos o bloques se pueden eliminar, mover, añadir, subdividir, combinar y/o modificar para proporcionar alternativas o sub-combinaciones. Cada uno de estos procesos o bloques puede ser implementado en una variedad de formas diferentes. Además, aunque los procesos o bloques se muestren a veces como realizados en serie, estos procesos o bloques pueden ser realizados en su lugar en paralelo o pueden se realizados en momentos diferentes. Además, aunque los elementos se muestren a veces en forma secuencial, en su lugar pueden realizarse simultáneamente o en diferentes secuencias.

Los programas y otros módulos pueden residir en servidores, estaciones de trabajo, ordenadores personales, procesadores integrados, controladores de proceso, tabletas y otros dispositivos adecuados para los fines descritos en la presente memoria.

La invención también se puede proporcionar en forma de un producto de programa. El producto de programa puede comprender cualquier medio no transitorio que lleva un conjunto de instrucciones legibles por ordenador que, cuando son ejecutadas por un procesador de datos, hacen que el procesador de datos ejecute un método de la invención. Por ejemplo, las instrucciones legibles por ordenador pueden programar un ordenador para controlar un sistema robótico de selección por tamaños de ácidos nucleicos como se describe en la presente memoria y/o para programar operaciones en un sistema de selección por tamaños de ácidos nucleicos como se describe en la presente memoria. Los productos del programa de acuerdo con la invención pueden estar en cualquiera de una amplia variedad de formas. El producto de programa puede comprender, por ejemplo, medios no transitorios, tales como medios magnéticos de almacenamiento de datos que incluyen disquetes, unidades de disco duro, medios ópticos de almacenamiento de datos incluyendo CD ROM, DVD, medios electrónicos de almacenamiento de datos que incluyen ROM, memoria RAM, EPROM, chips cableados o preprogramados (por ejemplo, chips semiconductores EEPROM), memoria de nanotecnología o similares. Las señales legibles por ordenador en el producto del programa pueden opcionalmente ser comprimidas o encriptadas.

En algunas realizaciones, la invención puede implementarse en programas informáticos. Para mayor claridad, el "programa informático" incluye cualquier instrucción ejecutada en un procesador, y puede incluir (pero sin limitación) microprogramas, programa residente, microcódigo y similares. Tanto el equipo como el programa informáticos del procesador pueden estar centralizados o distribuidos (o una de sus combinaciones), en todo o en parte, como saben los expertos en la técnica. Por ejemplo, el programa informático y otros módulos pueden ser accesibles a través de la memoria local, a través de una red, a través de un navegador u otra aplicación en un contexto informático distribuido, o por otros medios adecuados para los fines descritos anteriormente.

Cuando se hace referencia a un componente (por ejemplo, un módulo de programa, procesador, conjunto, dispositivo, circuito, etc.), a menos que se indique lo contrario, la referencia a ese componente (incluida una referencia a un "medio") debe interpretarse que incluye equivalentes de dicho componente, cualquier componente que realiza la función del componente descrito (es decir, que es funcionalmente equivalente), que incluye componentes que no son estructuralmente equivalentes a la estructura descrita que realiza la función en las realizaciones ilustrativas de la invención.

En la presente memoria se han descrito ejemplos específicos de sistemas, métodos y aparatos para fines de ilustración. Estos son solo ejemplos. La tecnología proporcionada en esta memoria se puede aplicar a sistemas

5 distintos de los sistemas ilustrativos descritos anteriormente. Son posibles dentro de la práctica de esta invención muchas alteraciones, modificaciones, adiciones, omisiones y permutaciones. Esta invención incluye variaciones en las realizaciones descritas que serán evidentes para el destinatario experto, incluyendo las variaciones obtenidas por: la sustitución de características, elementos y/o actos por características, elementos y/o actos equivalentes; la mezcla y el emparejamiento de características, elementos y/o actos de diferentes realizaciones; la combinación de características, elementos y/o actos de realizaciones como se describen en la presente memoria con características, elementos y/o actos de otra tecnología; y/o la omisión de la combinación de características, elementos y/o actos de las realizaciones descritas.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para la selección por tamaños de ácidos nucleicos, comprendiendo el método:
  - mover los ácidos nucleicos de una muestra a lo largo de un canal por electroforesis;
  - 5 monitorizar automáticamente el progreso de una fracción de referencia de los ácidos nucleicos a lo largo del canal;
  - basándose en la monitorización, estimar un tiempo de llegada estimado de una fracción diana de los ácidos nucleicos a un pocillo de extracción en el canal; y
  - extraer el fluido que contiene la fracción diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado.
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fracción de referencia es diferente de la fracción diana y la estimación del tiempo de llegada estimado de la fracción diana comprende estimar una diferencia entre un tiempo de llegada estimado de la fracción de referencia al pocillo de extracción y el tiempo de llegada estimado de la fracción diana al pocillo de extracción.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende, antes de mover los ácidos nucleicos a lo largo del canal, combinar los ácidos nucleicos con un colorante donde la obtención de cada una de las imágenes comprende hacer funcionar un dispositivo de toma de imágenes para obtener una pluralidad de diferentes exposiciones del canal y combinar la pluralidad de las diferentes exposiciones para obtener la imagen, en donde la imagen tiene una gama dinámica mayor que cualquiera de la pluralidad de las diferentes exposiciones.
4. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende programar un tiempo de llegada para la fracción diana al pocillo de extracción; comparar el tiempo de llegada programado con el tiempo de llegada estimado y ajustar uno o más parámetros de la electroforesis de una señal de electroforesis basándose en cualquier diferencia entre el tiempo de llegada programado y el tiempo de llegada estimado.
5. Un método de acuerdo con la reivindicación 4, que comprende controlar una velocidad de movimiento de los ácidos nucleicos a lo largo del canal por el control de la retroalimentación proporcional del uno o más parámetros de la electroforesis basándose en una señal de error que comprende una diferencia entre el tiempo de llegada programado y el tiempo de llegada estimado, comprendiendo preferiblemente el uno o más parámetros de la electroforesis uno o ambos de un ciclo de trabajo de la señal de electroforesis y un potencial de la señal de electroforesis.
6. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende determinar una posición del pocillo de extracción en el canal por análisis de imágenes y en donde la estimación del tiempo de llegada estimado de la fracción diana de los ácidos nucleicos al pocillo de extracción se basa en parte en la posición del pocillo de extracción determinada por el análisis de imágenes.
7. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende controlar automáticamente la electroforesis para el canal de modo que en el borde delantero de la fracción diana que llega al pocillo de extracción se aumenta la velocidad de electroforesis.
8. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el canal es uno de una pluralidad de canales y el método se realiza en paralelo para procesar una pluralidad de muestras en la pluralidad de canales, en donde los parámetros de la electroforesis de cada uno de la pluralidad de canales se controlan independientemente, comprendiendo además el método hacer funcionar un sistema robótico que comprende un pipeteador para transferir la pluralidad de muestras a la pluralidad de canales, en donde la extracción del fluido que contiene la fracción diana del pocillo de extracción comprende hacer funcionar el sistema robótico para colocar una punta de pipeta en el pocillo de extracción, hacer funcionar el pipeteador para retirar el fluido del pocillo de extracción y hacer funcionar el sistema robótico para transferir el fluido retirado a un pocillo de destino, en donde el pipeteador comprende un pipeteador multicanal y la extracción del fluido que contiene la fracción diana del pocillo de extracción se realiza simultáneamente para una pluralidad de los canales haciendo funcionar el sistema robótico para que coloque las puntas de pipeta para los canales del pipeteador multicanal en los pocillos de extracción de una pluralidad correspondiente de los canales, haciendo funcionar el pipeteador para que retire el fluido de los pocillos de extracción y hacer funcionar el sistema robótico para que transfiera el fluido retirado a una pluralidad correspondiente de pocillos de destino.
9. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde los ácidos nucleicos comprenden al menos una primera fracción diana y una segunda fracción diana, y las etapas de estimación y extracción comprenden:
  - estimar un tiempo de llegada estimado de la primera fracción diana al pocillo de extracción en el canal;
  - extraer el fluido que contiene la primera fracción diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado de la primera fracción diana;

continuar la electroforesis en el canal;

estimar un tiempo de llegada estimado de la segunda fracción diana al pocillo de extracción en el canal; y

extraer el fluido que contiene la segunda fracción diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado de la segunda fracción diana.

5 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende programar un primer tiempo programado para extraer la primera fracción diana y programar un segundo tiempo programado para extraer la segunda fracción diana, que comprende controlar uno o más parámetros de la electroforesis para el canal que lleva la primera fracción diana al pocillo de extracción en el primer tiempo programado y que comprende controlar uno o más parámetros de la electroforesis para el canal que lleva la segunda fracción diana al pocillo de extracción en el segundo tiempo programado después de que se ha extraído la primera fracción diana.

10 11. Aparato para la selección por tamaños de ácidos nucleicos, comprendiendo dicho aparato:  
un canal que tiene un primer y un segundo extremos y un pocillo de extracción en el canal;  
un suministro eléctrico para electroforesis conectado para suministrar una señal de electroforesis al canal para mover los ácidos nucleicos de una muestra a lo largo del canal;  
15 un dispositivo de toma de imágenes montado para tomar imágenes del canal;  
un controlador conectado para obtener imágenes del dispositivo de toma de imágenes y configurado para:  
monitorizar automáticamente el progreso de una fracción de referencia de los ácidos nucleicos a lo largo del canal por análisis de las imágenes;  
20 basándose en la monitorización, estimar un tiempo de llegada estimado de una fracción diana de los ácidos nucleicos al pocillo de extracción en el canal; y  
hacer funcionar un mecanismo para extraer el fluido que contiene la fracción diana del pocillo de extracción en el tiempo de llegada estimado;

en donde el mecanismo comprende un sistema robótico que comprende un pipeteador que funciona para transferir una muestra a un pocillo de carga en el canal y extraer el fluido del pocillo de extracción.

25 12. Aparato de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el mecanismo comprende un robot que lleva un pipeteador y el controlador está configurado para mover una punta de pipeta del pipeteador hasta una posición sobre el pocillo de extracción, bajar la punta de la pipeta al pocillo de extracción y aspirar el fluido con la punta de la pipeta, donde el controlador está configurado para determinar una posición del pocillo de extracción en el canal por análisis de imágenes de una o más de las imágenes y para mover la punta de la pipeta hasta la posición determinada del pocillo de extracción.

30 13. Aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, en donde el controlador está configurado para comparar el tiempo de llegada estimado de la fracción diana al pocillo de extracción con un tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción y para controlar el suministro eléctrico para electroforesis para ajustar uno o más parámetros de la electroforesis de la señal de electroforesis basándose en cualquier diferencia entre el tiempo de llegada deseado y el tiempo de llegada estimado.

35 14. Aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en donde el controlador está configurado para controlar una velocidad de movimiento de los ácidos nucleicos a lo largo del canal por control de retroalimentación proporcional del uno o más parámetros de la electroforesis basándose en una señal de error que comprende una diferencia entre el tiempo de llegada estimado y un tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción, comprendiendo el aparato un controlador de retroalimentación proporcional configurado para controlar el suministro eléctrico para electroforesis para que varíe la velocidad media de la fracción diana a lo largo del canal en respuesta a un señal de error que representa una diferencia entre el tiempo de llegada estimado de la fracción diana al pocillo de extracción y un tiempo de llegada deseado de la fracción diana al pocillo de extracción.

40 15. Aparato de acuerdo con la reivindicación 14, que comprende una pluralidad de canales en donde el canal es uno de la pluralidad de canales y el controlador está configurado para controlar la señal de electroforesis para cada uno de la pluralidad de canales de manera que el tiempo de llegada estimado de las fracciones diana para cada uno de la pluralidad de canales es el mismo, en donde el mecanismo comprende un pipeteador multicanal configurado para soportar una pluralidad de puntas de pipeta y las puntas de pipeta están espaciadas para su inserción simultánea en los pocillos de extracción de la pluralidad de canales.

50

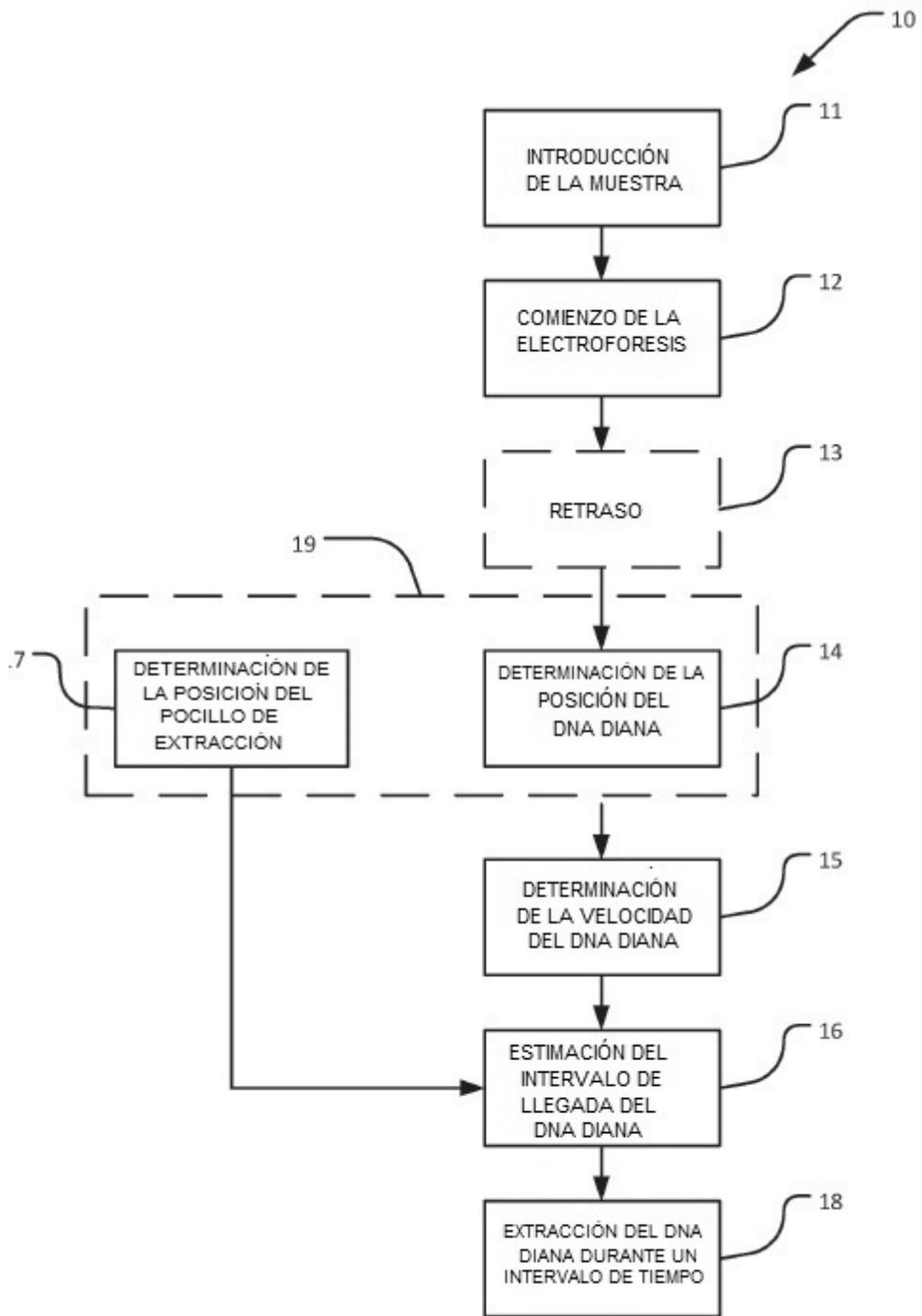


FIGURA 1

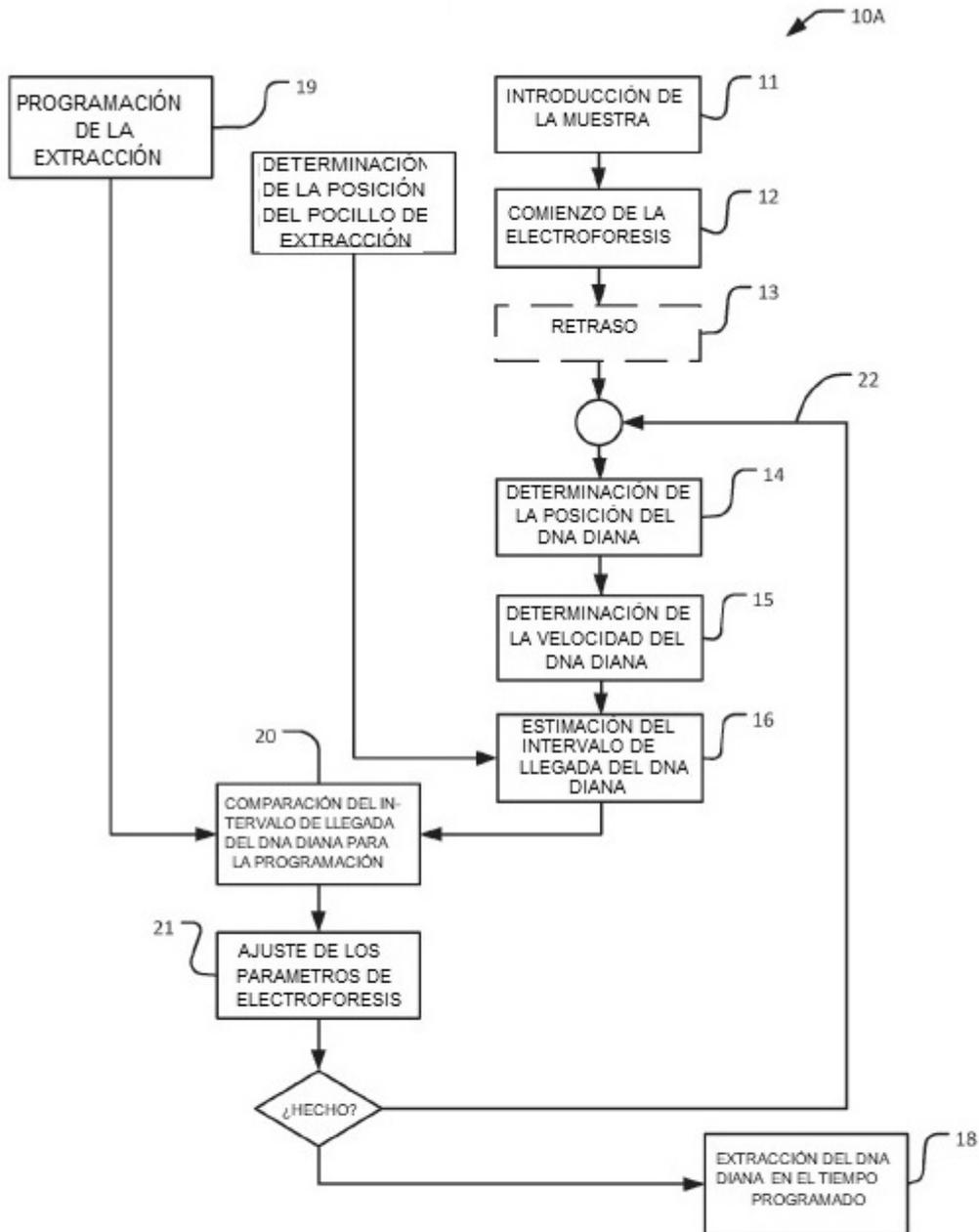


FIGURA 1A

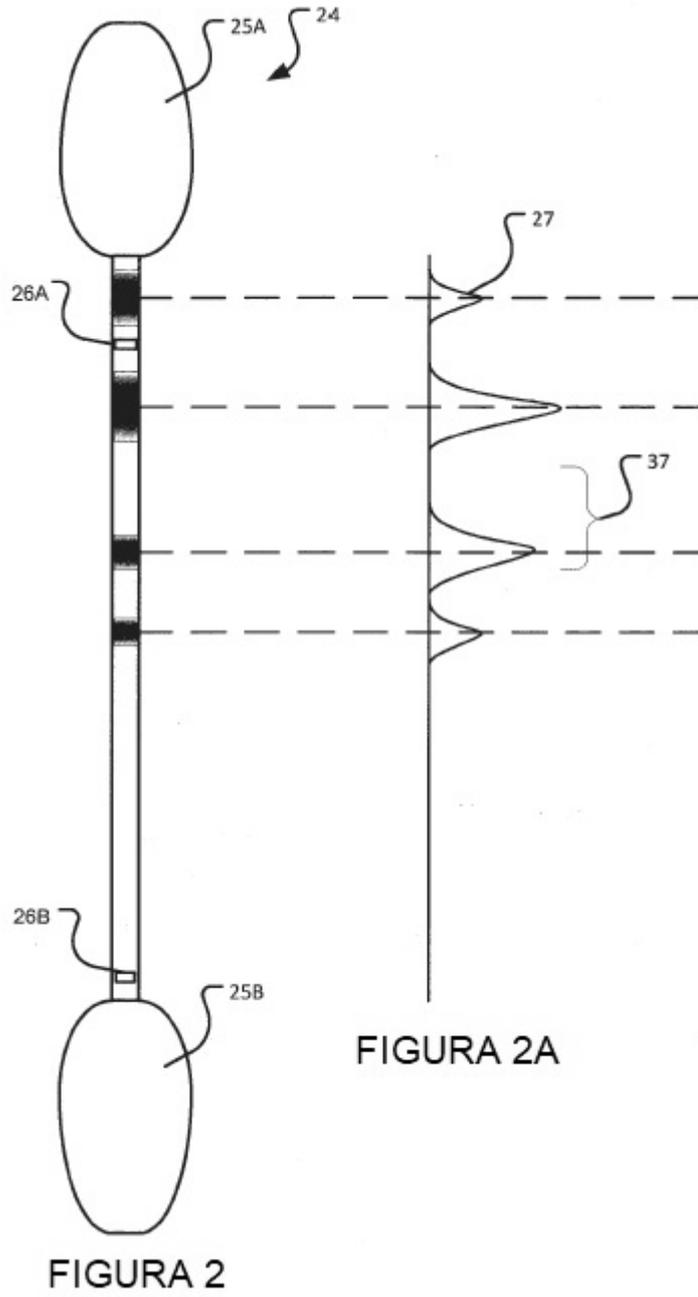


FIGURA 2

FIGURA 2A

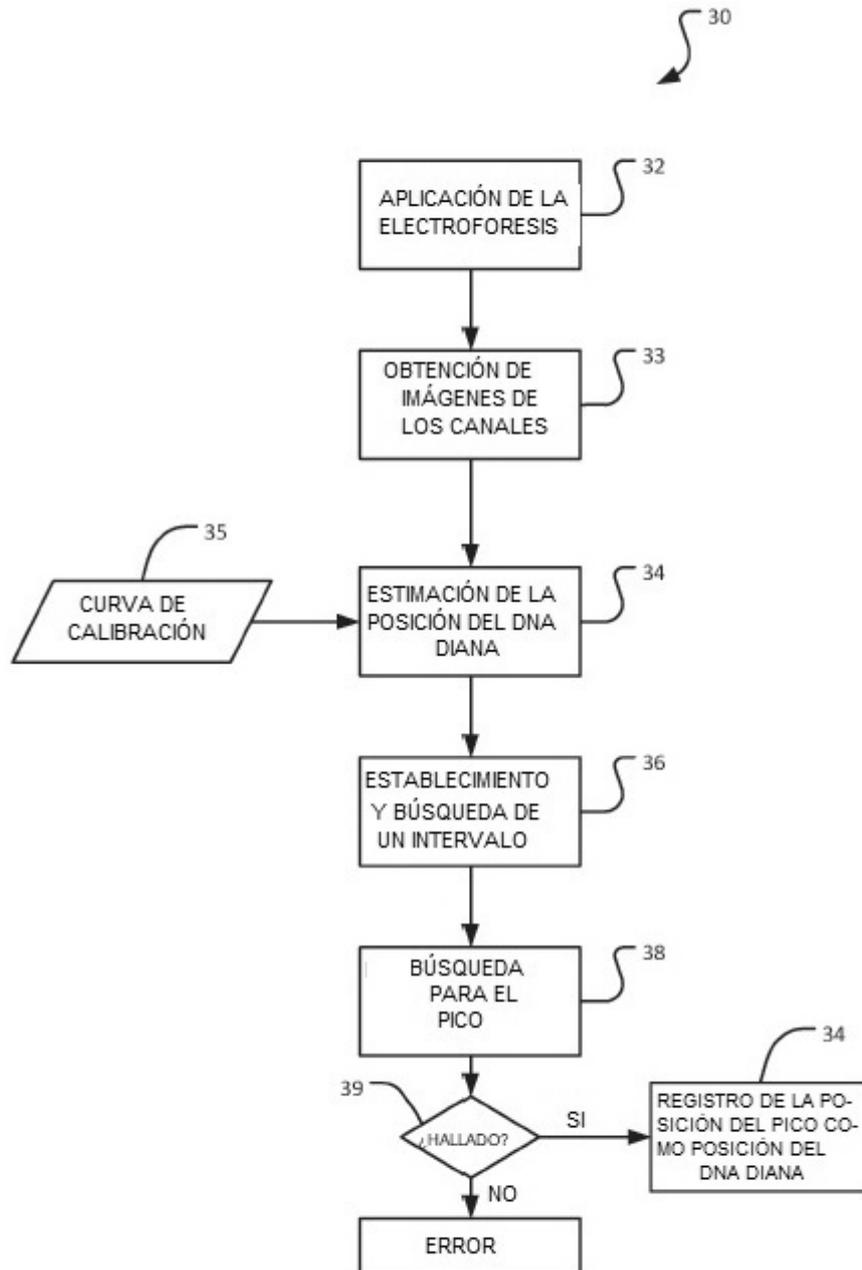


FIGURA 3

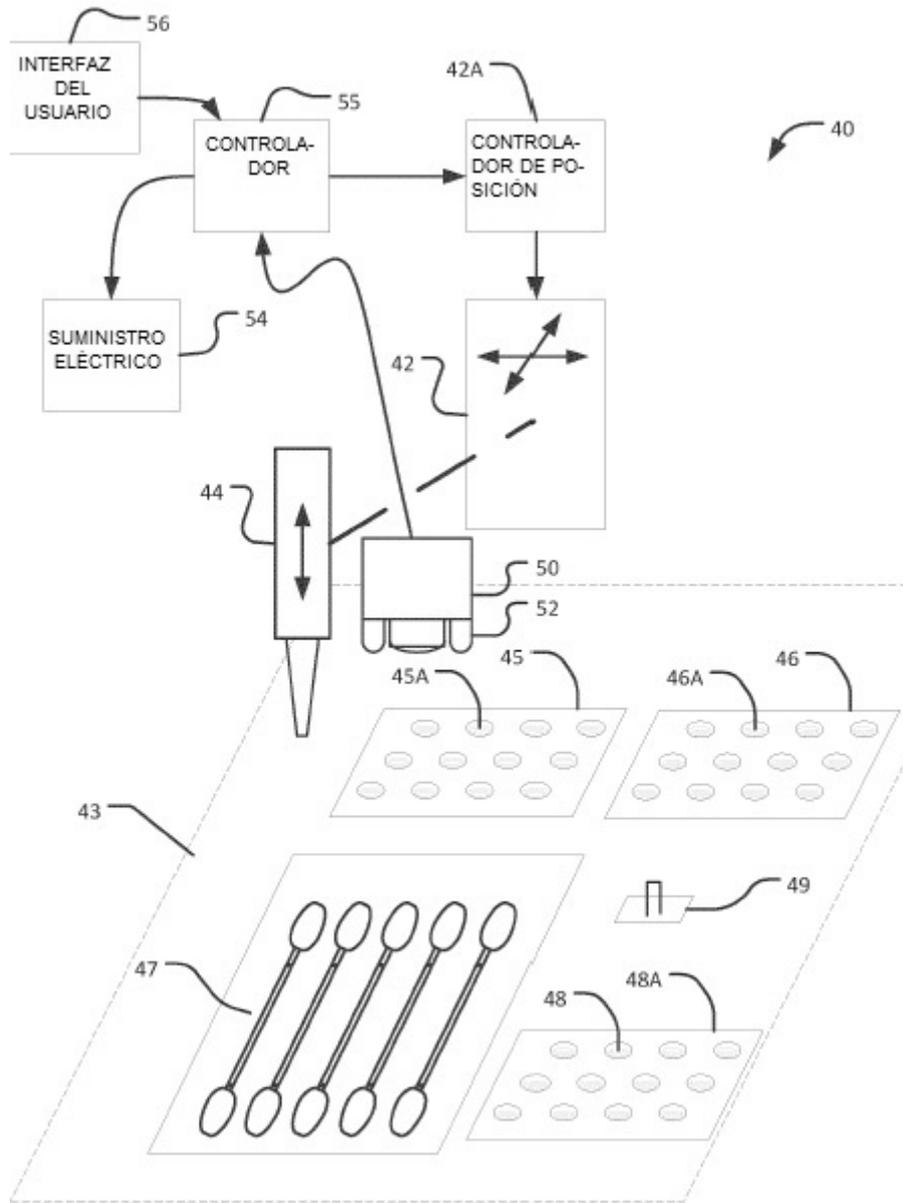


FIGURA 4

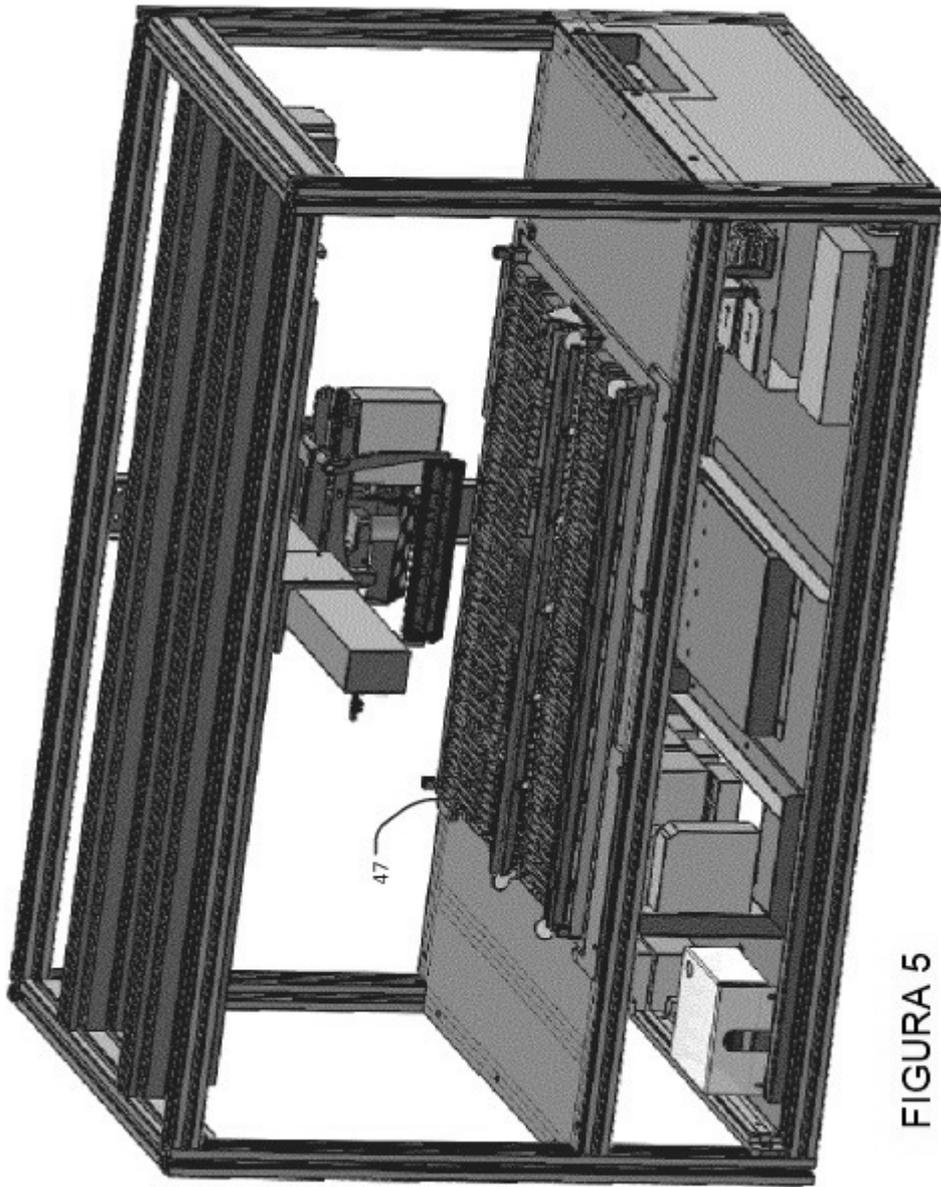


FIGURA 5

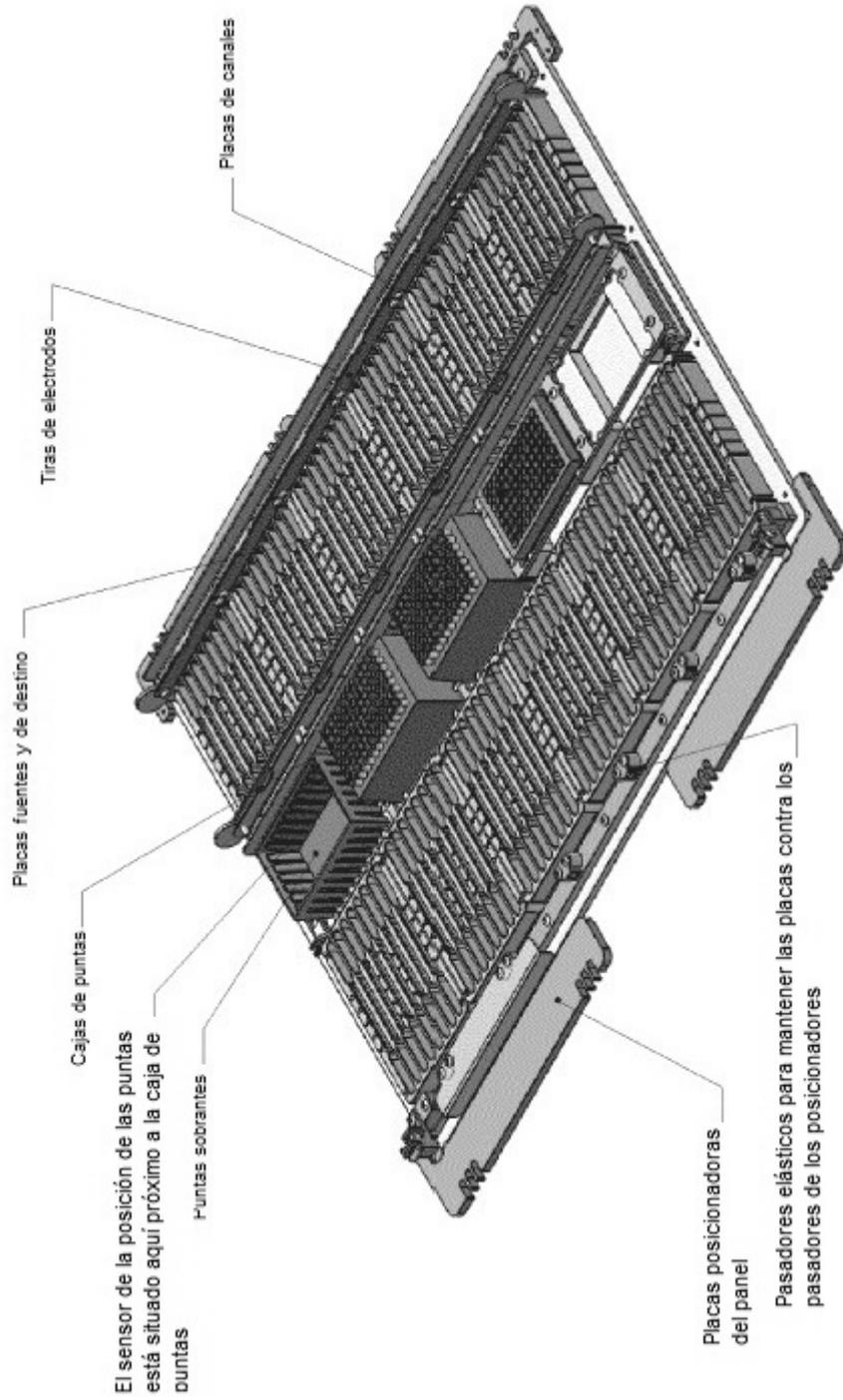


FIGURA 5A

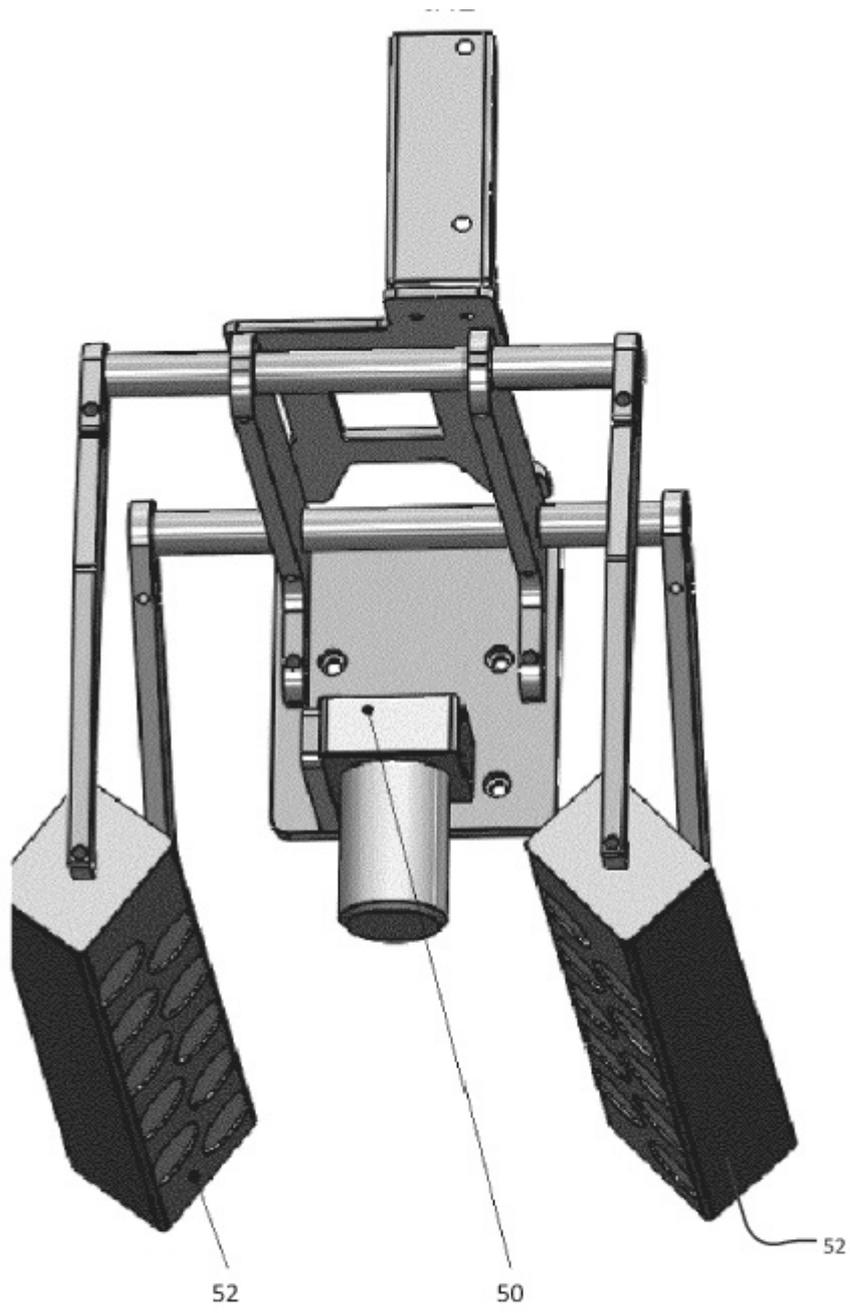


FIGURA 5B

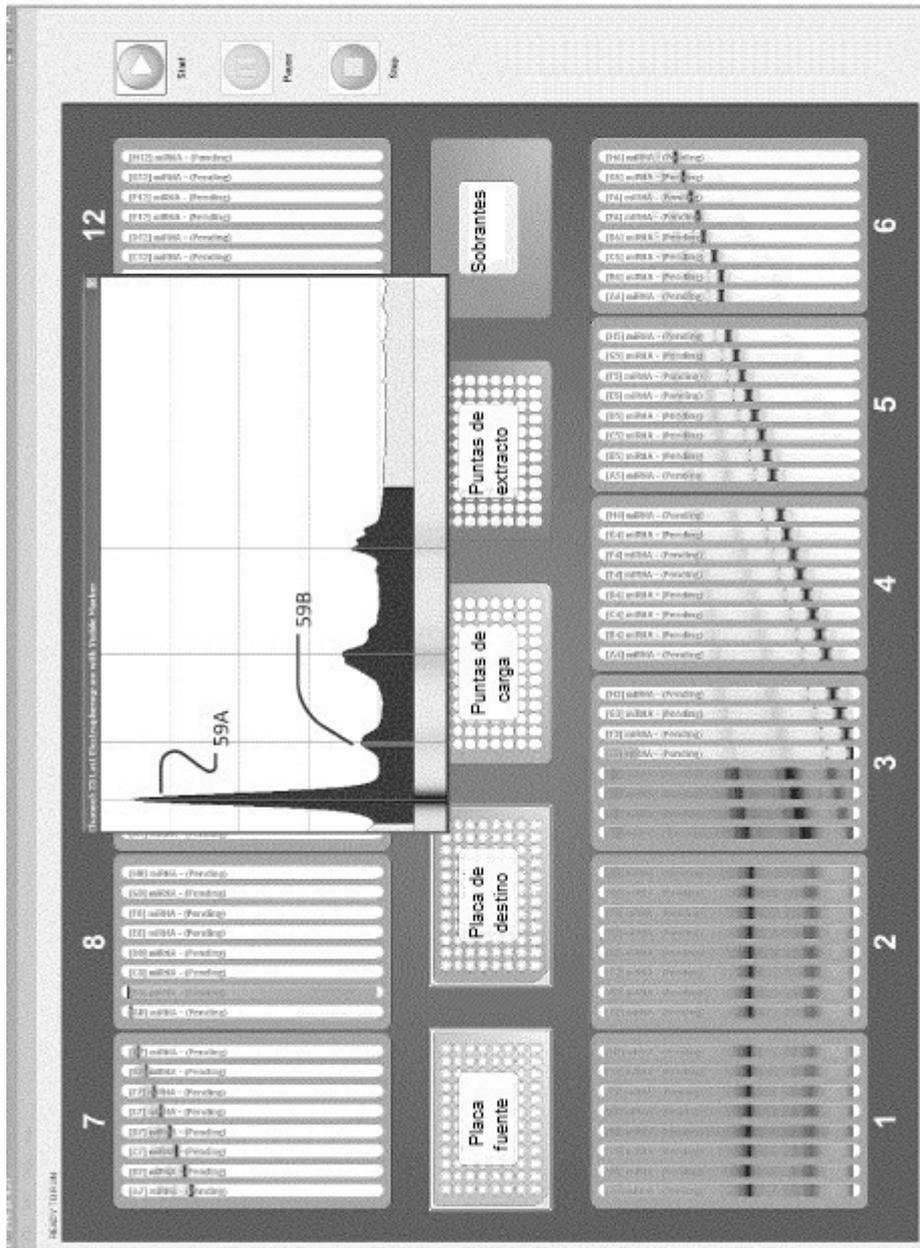
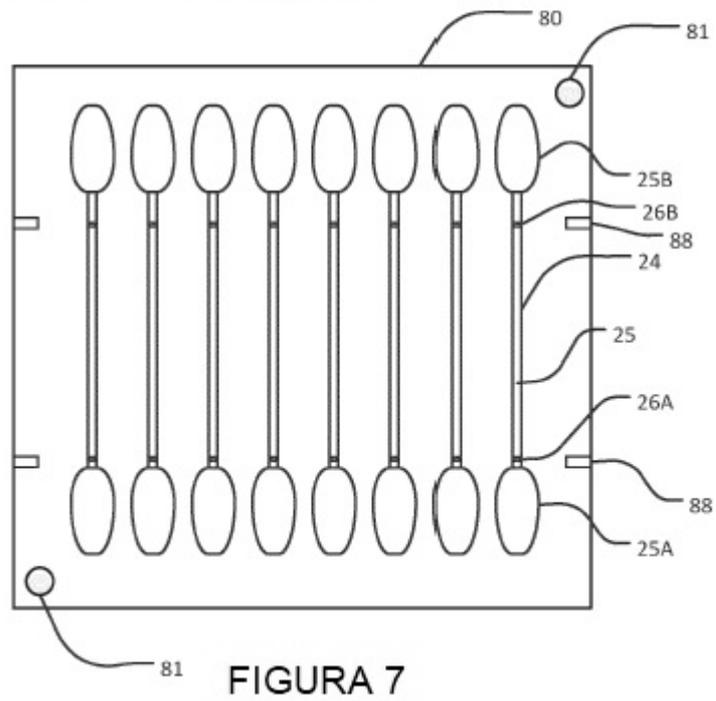
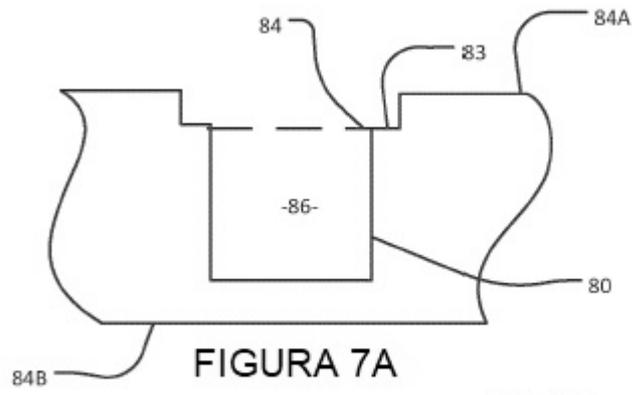


FIGURA 6



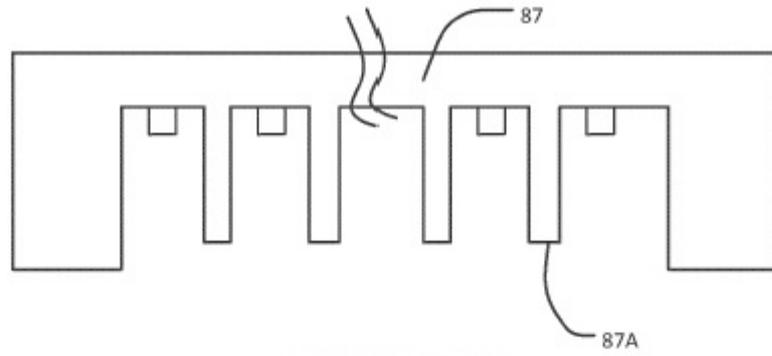


FIGURA 7B

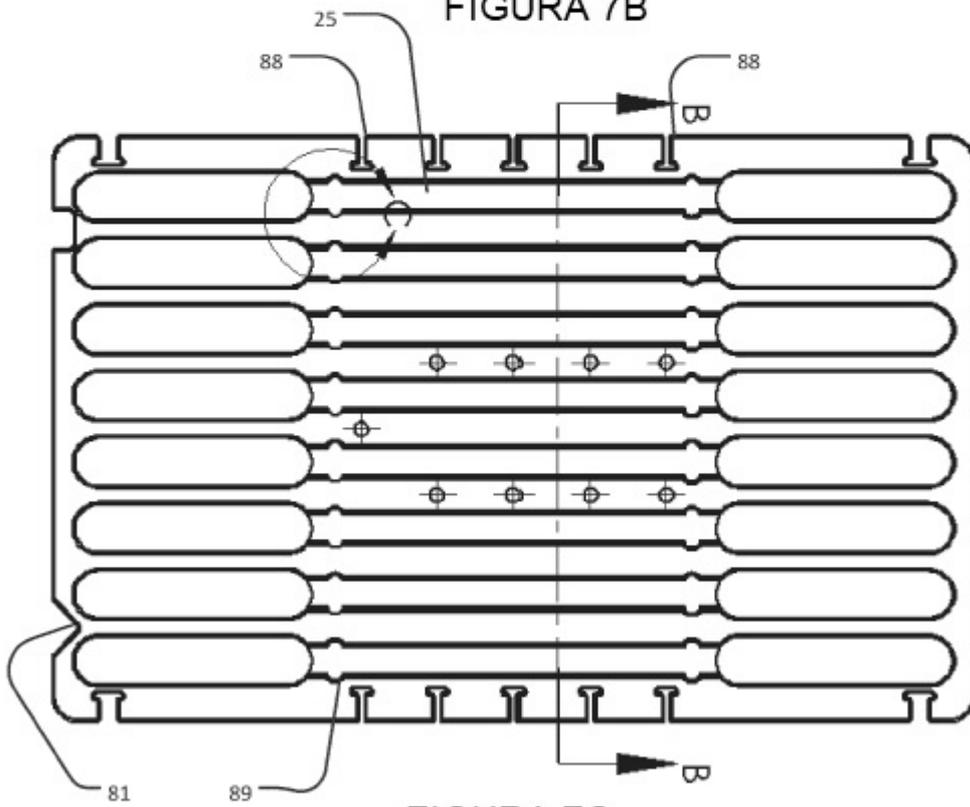


FIGURA 7C

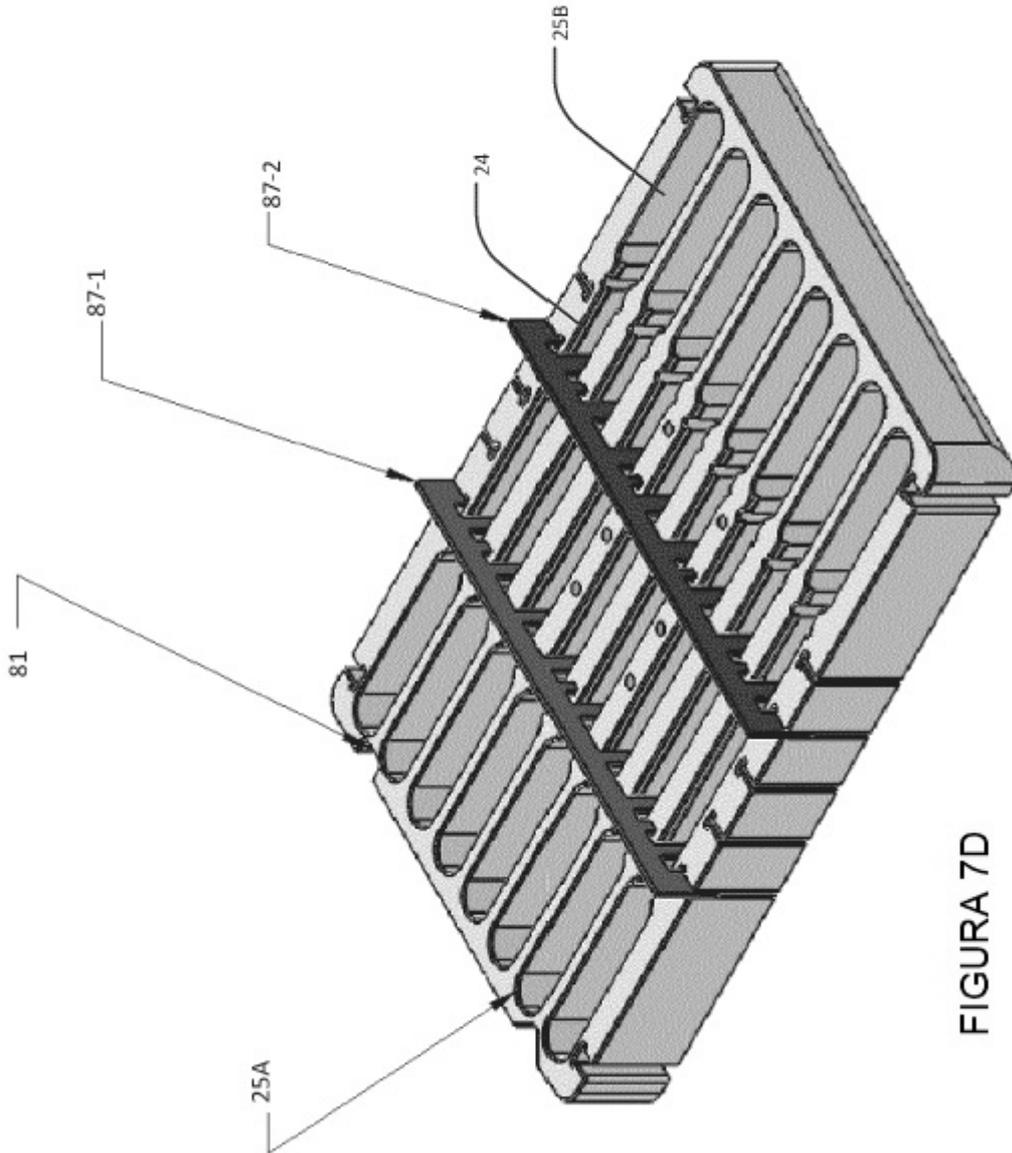


FIGURA 7D