

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 672 366**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)
F16K 99/00 (2006.01)
B03C 5/00 (2006.01)
B03C 5/02 (2006.01)
G01N 15/10 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2010 PCT/IB2010/000615**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.09.2010 WO10106434**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2010 E 10716872 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018 EP 2408562**

54 Título: **Dispositivo microfluídico para el aislamiento de celdas**

30 Prioridad:

17.03.2009 IT BO20090152
17.03.2009 IT BO20090153

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.06.2018

73 Titular/es:

MENARINI SILICON BIOSYSTEMS S.P.A. (100.0%)
Via dei Lapidari, 12
40129 Bologna, IT

72 Inventor/es:

MEDORO, GIANNI;
PEROZZIELLO, GERARDO;
CALANCA, ALEX;
SIMONE, GIUSEPPINA y
MANARESI, NICOLÒ

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 672 366 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

Dispositivo microfluídico para el aislamiento de celdas

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un sistema microfluídico, un aparato para el aislamiento de partículas, un dispositivo microfluídico y un método para el aislamiento de partículas.

10 Técnica anterior

Se conoce en la técnica un dispositivo para el aislamiento de partículas de un tipo dado, que comprende una cámara principal, en la que un operador, utilizando una pipeta, introduce una muestra a través de un orificio de la cámara principal, y una cámara de recuperación, de donde el operador, una vez más utilizando una pipeta, extrae las partículas del tipo dado a través de un orificio de la cámara de recuperación.

15

Los documentos Nos. US2003/0073110 y EP1179585 divulgan dispositivos complejos para la manipulación de muestras, que comprenden una pluralidad de válvulas completamente contenidas en los propios dispositivos.

20

El documento No. US2004/0209354 divulga solo algunos aspectos de un sistema para la manipulación de partículas, no se especifican los detalles de la estructura del dispositivo y de su funcionamiento.

Los dispositivos conocidos tienen varios problemas de precisión durante las etapas de separación, introducción y recuperación. Además, los resultados no siempre son reproducibles, a veces la contaminación de la muestra ocurre durante las diversas etapas, y la intervención de operadores con habilidades manuales particulares es frecuentemente necesaria.

25

Divulgación de la invención

30

El objetivo de la presente invención es proporcionar un sistema microfluídico, un aparato para el aislamiento de partículas, un dispositivo microfluídico y un método para el aislamiento de partículas, que permitirá superar los inconvenientes de la técnica actual, al menos parcialmente, y al mismo tiempo será fácil y económicamente ventajoso de producir.

35

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un sistema microfluídico de acuerdo con lo que se especifica en las siguientes reivindicaciones independientes y, preferiblemente, en una cualquiera de las reivindicaciones que dependen directa o indirectamente de las reivindicaciones independientes.

A menos que se especifique explícitamente lo contrario, en el presente texto los siguientes términos tienen el significado indicado más adelante.

40

Por "diámetro equivalente" de una sección transversal se entiende el diámetro de un círculo que tiene la misma área que la sección transversal.

45

Por "sección transversal" de un canal o de un conducto se entiende la sección sustancialmente perpendicular a la extensión longitudinal del canal (o conducto), es decir, a la dirección de avance del fluido en el canal (o conducto).

Por "diámetro equivalente" de un orificio se entiende el diámetro de un círculo que tiene la misma área que la sección transversal de las dimensiones más pequeñas del orificio en sí mismo.

50

Por "sistema (o dispositivo) microfluídico" se entiende un sistema (o dispositivo) que comprende al menos un canal (o conducto) microfluídico.

Por "canal (o conducto) microfluídico" se entiende un canal (o conducto) que tiene una sección transversal con diámetro equivalente de menos de 1 mm.

55

Las dimensiones de los canales o conductos se pueden medir de forma estándar utilizando perfiles de perfil.

En el presente texto, por "partícula" se entiende un corpúsculo que tiene su dimensión mayor de menos de 500 μm (ventajosamente menos de 150 μm). Los ejemplos no limitantes de partículas son: células, detritus celulares (en particular, fragmentos de células), agregados celulares (tales como, por ejemplo, pequeños grupos de células derivadas de células madre, tales como neuroesferas o mammosferas), bacterias, lipoesferas, (microesferas de poliestireno y/o magnéticas) y nanoesferas complejas (por ejemplo, nanoesferas de hasta 100 nm) formadas por microesferas unidas a células. Ventajosamente, las partículas son células.

60

65

De acuerdo con algunas realizaciones, las partículas (ventajosamente células y/o detritus celular) tienen una dimensión mayor de menos de 60 μm .

Las dimensiones de las partículas se pueden medir de forma estándar utilizando microscopios con escala graduada o microscopios normales usados con portaobjetos de escala graduada (sobre los que se depositan las partículas).

5 En el presente texto, por “dimensiones” de una partícula se entiende la longitud, el ancho y el grosor de la partícula.

El término “sustancialmente selectivo” se utiliza para identificar un desplazamiento (u otros términos análogos que indican un movimiento y/o una separación) de partículas, en el que las partículas que se desplazan y/o separan son partículas para la gran mayoría de uno o más tipos dados. Ventajosamente, un desplazamiento sustancialmente selectivo (u otros términos análogos que indiquen un movimiento y/o una separación) prevé el desplazamiento de partículas con al menos el 90% (ventajosamente el 95%) de partículas del tipo o tipos dados (porcentaje dado por el número de partículas del tipo o tipos dados con respecto al número total de partículas).

15 Breve descripción de los dibujos

La invención se describe a continuación con referencia a los dibujos adjuntos, que ilustran algunos ejemplos no limitativos de realizaciones de los mismos y en los que:

- 20 - la Figura 1 es una ilustración esquemática de un sistema construido de acuerdo con la presente invención;
- La Figura 2 es una ilustración esquemática de una realización alternativa de un sistema construido de acuerdo con la presente invención;
- 25 - la Figura 3 es una vista lateral esquemática del sistema de la Figura 1;
- la figura 4 es una vista en perspectiva en despiece ordenado de un dispositivo construido de acuerdo con la presente invención;
- 30 - la Figura 5 es una vista en planta superior de un componente del dispositivo de la Figura 4;
- la Figura 6 es una vista en planta desde abajo del componente de la Figura 5;
- la Figura 7 es una vista en perspectiva de los componentes del dispositivo de la Figura 4;
- 35 - la Figura 8 es una vista en perspectiva en despiece de un componente del dispositivo de la Figura 4;
- la Figura 9 es una vista en planta superior del componente de la Figura 8;
- 40 - la Figura 10 es una vista en perspectiva parcial con elementos eliminados por razones de claridad de un aparato construido de acuerdo con la presente invención;
- la figura 11 es una vista en perspectiva parcial con elementos retirados por razones de claridad del aparato de la figura 10 en una posición operativa diferente;
- 45 - la figura 12 es una vista en perspectiva desde abajo de un detalle del aparato de las figuras 10 y 11;
- la Figura 13 es una vista en planta superior de una parte del aparato de las Figuras 10 y 11, con elementos retirados por razones de claridad;
- 50 - las Figuras 14 y 15 ilustran en sección transversal parcial un detalle de los sistemas de las Figuras 1 a 3 en dos posiciones operativas diferentes;
- la Figura 16 ilustra en sección transversal parcial un detalle de los sistemas de las Figuras 1 a 3;
- 55 - la Figura 17 es una vista en perspectiva de una parte del detalle ilustrado en las Figuras 14 y 15;
- la Figura 18 es una vista en perspectiva en despiece ordenado del detalle de la figura 17;
- las Figuras 19 y 20 ilustran un detalle del dispositivo de la Figura 4 en diversas etapas operativas;
- 60 - la Figura 21 es una vista en planta superior de un dispositivo de la Figura 4;
- la Figura 22 ilustra fotografías de pruebas realizadas utilizando el sistema de la Figura 1;
- 65 - la Figura 23 ilustra a escala ampliada una realización de un detalle de las Figuras 1 y 2;

- la figura 24 es una vista en perspectiva de una variante de la parte ilustrada en la figura 17;
- la Figura 25 es una vista en perspectiva en despiece ordenado de la variante de la Figura 24;
- 5 - la Figura 26 es una vista en sección transversal lateral de la variante de la Figura 24;
- las Figuras 27 y 28 ilustran un detalle del dispositivo de la Figura 31 en diversas etapas operativas;
- la figura 29 es una vista en perspectiva en despiece de un componente del dispositivo de la figura 31;
- 10 - la Figura 30 es una vista en planta superior del componente de la Figura 29;
- la Figura 31 es una vista en planta superior de un dispositivo construido de acuerdo con la presente invención;
- 15 - la Figura 32 es una vista en planta desde abajo de una variante del componente de la Figura 6 y, en particular, un componente del dispositivo de la Figura 31; y
- la Figura 33 ilustra a escala ampliada un detalle de la Figura 32.

20 Mejor modo de llevar a cabo la invención

Sistema microfluidoico

25 Se proporciona de acuerdo con un primer aspecto de la presente invención un sistema 1 microfluidoico para el aislamiento sustancial de partículas C1 (ilustradas esquemáticamente en la Figura 20) de al menos un tipo dado a partir de una muestra. El sistema 1 (Figura 1) comprende: una entrada 2, a través de la cual, en uso, la muestra se introduce en el sistema 1; una unidad 3 de separación, que está diseñada para separar de manera sustancialmente selectiva al menos una parte de las partículas C1 del tipo dado de partículas adicionales C2 de la muestra (ilustrada esquemáticamente en la Figura 20); y una salida 8, que está conectada a la unidad 3 de separación y, en particular, a través de la cual, en uso, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado separadas de manera sustancialmente selectiva salen del sistema 1. La unidad 3 de separación está conectado a la entrada 2.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende: una válvula 9, colocada entre la entrada 2 y la unidad 3 de separación (en particular, entre la entrada 2 y la cámara 4 principal); y una válvula 12, dispuesta entre la salida 8 y la unidad 3 de separación. En particular, el sistema 1 comprende un conjunto de válvulas entre la unidad 3 de separación y cada abertura del sistema 1 hacia el exterior.

35 De acuerdo con algunas realizaciones, la unidad 3 de separación comprende una cámara 4 principal y una cámara 5 de recuperación y está diseñada para transferir al menos parte de las partículas C1 del tipo dado desde la cámara 4 principal hasta la cámara 5 de recuperación en una forma sustancialmente selectiva con respecto a las partículas adicionales C2 de la muestra.

40 La unidad 3 de separación comprende además un canal 5, que conecta (es decir, permite la etapa de fluido entre) las cámaras 4 y 5 y tiene dimensiones (en particular, largo y ancho) mucho más pequeñas que las de ambas cámaras 4 y 5 ellos mismos.

45 El sistema 1 está equipado con: una salida 7, conectada a la cámara 4 principal para permitir que la muestra entre libremente dentro de la cámara 4 principal, funcione de esta manera como respiradero; y la salida 8, que está conectada a la cámara 5 de recuperación y a través de la cual, en uso, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado recogidas en la cámara 5 de recuperación salen del sistema 1.

50 El sistema 1 comprende, además: la válvula 9, dispuesta corriente arriba de la cámara 4 principal; una válvula 10, dispuesta entre la cámara 4 principal y la salida 7; una válvula 11, conectada a la cámara 5 de recuperación; y la válvula 12, dispuesta entre la cámara 5 de recuperación y la salida 8. En particular, la válvula 11 se coloca entre la cámara 5 de recuperación y una fuente de un líquido portador.

55 Más precisamente, la cámara 5 de recuperación se coloca entre la cámara 4 principal en un lado y las válvulas 11 y 12 en el otro lado; la cámara 4 principal se coloca entre la cámara 5 de recuperación en un lado y las válvulas 9 y 10 en el otro lado.

60 Las válvulas 9 y 10 están diseñadas para regular el flujo de entrada de la muestra a la cámara 4 principal.

65 Las válvulas 11 y 12 están diseñadas para regular el flujo de entrada de un líquido portador a la cámara 5 de recuperación y el flujo de salida del líquido portador junto con las partículas C1 del tipo dado desde la cámara 5 de recuperación a través de la salida 8.

ES 2 672 366 T3

Si, en uso, las válvulas 9 y 12 están cerradas y las válvulas 11 y 10 están abiertas, se lleva a cabo un barrido de la cámara 4 principal; en otras palabras, las partículas adicionales C2 de la muestra se descargan (es decir, se hacen fluir) desde la cámara 4 principal.

5 De acuerdo con realizaciones específicas, el líquido portador es una solución tampón, en particular solución salina tamponada con fosfato (PBS).

10 De acuerdo con la realización ilustrada en la figura 1, el sistema 1 comprende: un depósito 13, que se coloca entre la entrada 2 y la válvula 9 y está diseñado para recoger la muestra introducida a través de la propia entrada 1; y un depósito 14 para contener el líquido portador, que está diseñado para llenar la cámara 5 de recuperación. En otras palabras, el depósito 14 funciona como fuente del líquido portador. El sistema 1 comprende además un depósito 7', que está dispuesto en la salida 7 y está diseñado para recoger los fluidos procedentes de la cámara 4 principal.

15 La válvula 9 se coloca entre la entrada 2 y la cámara 4 principal, en particular entre el depósito 13 y la cámara 4 principal, y está diseñada para conectar o aislar la entrada 2 y la cámara 4 principal una con respecto a la otra.

20 Ventajosamente, el sistema 1 comprende además una fuente 15 de presión para imponer una diferencia de presión entre el depósito 13 y la cámara 5 principal en una dirección de suministro de la presión dada. En particular, la fuente 15 de presión está diseñada para imponer una presión desde el depósito 13 hacia la cámara 5 principal en una dirección de suministro de la presión dada. De acuerdo con algunas realizaciones, el depósito 13 se coloca entre la fuente 15 de presión y la válvula 9.

En particular, el depósito 13 se coloca entre la fuente 15 de presión y la cámara 4 principal.

25 De acuerdo con realizaciones específicas, el sistema 1 comprende un conducto 16, que conecta (es decir, permite la etapa de fluido entre) la fuente 15 de presión y la cámara 4 principal y a lo largo de la cual se establecen el depósito 13 y la válvula 9. El conducto 16 tiene una sección transversal de diámetro equivalente menor o igual a 2 mm; ventajosamente, el conducto 16 tiene una sección transversal de diámetro equivalente mayor que o igual a 50 μm . El conducto 16 comprende al menos un tramo, que tiene una sección transversal con un diámetro equivalente inferior o igual a 0.9 mm.

30 El sistema 1 comprende además un dispositivo 17 de vibración, que está diseñado para provocar la variación de una manera oscilante de la presión ejercida sobre la muestra al menos en un área desde la entrada 2 a la cámara 4 principal y se coloca entre la fuente 15 de presión y el depósito 13. De esta manera, las partículas C1 y C2 de la muestra presentes en el depósito 13 y/o en el conducto 16 y/o en la cámara 4 principal se hacen vibrar; El flujo de entrada de las partículas C1 y C2 de la muestra desde el depósito 13 a la cámara 4 principal se mejora. Las partículas C1 y C2 tienen una tendencia menor a agruparse o adherirse a las paredes del depósito 13 y/o del conducto 16 y/o de la cámara 4 principal. La homogeneidad de la distribución de las partículas C1 y C2 dentro de la cámara 4 principal está mejorada.

40 Ventajosamente, el dispositivo 17 de vibración comprende un diafragma 18 oscilante, conectado, en particular por medio de una junta en T 19, al conducto 16. De acuerdo con realizaciones específicas, el diafragma oscilante es una microbomba (Thinxs® MDP2205) con entrada y salida en cortocircuito.

45 De acuerdo con algunas realizaciones (no ilustradas en la figura 1), la entrada 2 se coloca a lo largo del conducto 16, entre la fuente 15 de presión (en particular, la junta 19) y el depósito 13.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende un conducto 20, que se coloca entre la cámara 4 principal y la salida 7 y tiene al menos un tramo 20' que tiene una sección transversal más pequeña que la sección transversal del conducto 16. En particular, la sección transversal del tramo 20' es menor en al menos 100 μm que la sección transversal del conducto 16. Ventajosamente, el tramo 20' se coloca inmediatamente corriente abajo (es decir, sin interposición de otros tramos o elementos) de la cámara 4 principal.

55 El tramo 20' tiene un ancho de menos de 150 μm , una profundidad de menos de 110 μm y una longitud superior a 2 mm. Ventajosamente, el tramo 20' tiene una anchura superior a 100 μm , una profundidad superior a 30 μm y, en particular, una longitud inferior a 6 mm.

De acuerdo con algunas realizaciones, el conducto 20 comprende un tramo 20'', que se coloca entre el tramo 20' y la salida 7 y tiene una sección transversal de diámetro equivalente, mayor que el tramo 20' (en particular, sustancialmente igual a la del conducto 16).

60 En general, de acuerdo con diferentes realizaciones, el sistema 1 comprende: un sensor para detectar directa o indirectamente cuando la muestra comienza a entrar en el conducto 20; un dispositivo de bloqueo para bloquear el flujo de entrada de la muestra hacia la cámara principal; y un montaje de control conectado al sensor y al dispositivo de bloqueo para accionar el dispositivo de bloqueo de acuerdo con lo que detecta el sensor (en particular, cuando la muestra comienza a entrar en el conducto 20).

65

De acuerdo con algunas realizaciones específicas, el sistema 1 comprende: un sensor 21 de presión para detectar variaciones de presión a lo largo del conducto 16 y/o en la cámara 4 principal; y un dispositivo 22 de bloqueo para bloquear el flujo de entrada de la muestra hacia la cámara 4 principal. El sistema 1 comprende además un montaje 23 de control conectado al sensor 21 de presión y al dispositivo 22 de bloqueo para accionar el dispositivo 22 de bloqueo en función de la variación de presión detectada. En particular, durante el uso, el montaje 23 de control acciona el dispositivo 22 de bloqueo cuando el sensor 21 de presión detecta una presión mayor que una presión umbral dada.

De acuerdo con otras realizaciones específicas, el sistema 1 comprende, además o como alternativa al sensor 21 de presión, uno o más de entre los siguientes elementos: un sensor óptico, dispuesto a la entrada del tramo 20'; un detector de conductividad eléctrica, que se coloca a la entrada del tramo 20' para detectar variaciones de conductividad debido al inicio de la etapa de la muestra; un detector de permitividad eléctrica, que se coloca en la entrada del tramo 20' para detectar variaciones de permitividad debido al inicio de la etapa de la muestra; un detector de resistencia térmica, que se coloca a la entrada del tramo 20' para detectar variaciones de resistencia térmica debido al inicio de la etapa de la muestra; y un detector de capacidad térmica, que se coloca a la entrada del tramo 20' para detectar variaciones de capacidad térmica debido al inicio de la etapa de la muestra. En todos estos casos, el montaje 23 de control está conectado a los detectores/detectores y está diseñado para accionar el dispositivo de bloqueo 20 en función de las variaciones detectadas por el detector/detectores.

De acuerdo con algunas realizaciones, el sensor óptico es un fotodiodo integrado o una cámara de video externa (posiblemente con un sistema para ampliación de imagen).

Con referencia particular a la figura 23, el dispositivo 22 de bloqueo comprende una válvula 22' de alivio y está, ventajosamente, dispuesto entre la fuente 15 de presión y el depósito 13; cuando se acciona el dispositivo 22 de bloqueo, la válvula 22' de alivio se abre, y el chorro de aire procedente de la fuente 15 de presión se libera hacia el exterior, y la presión a lo largo del conducto 16 disminuye. La válvula 22' de alivio está conectada hidráulicamente al conducto 16 por medio de una junta en T 22".

En particular, el dispositivo 22 de bloqueo se coloca entre la junta 19 y la fuente 15 de presión, específicamente corriente arriba del sensor 21 de presión con respecto a la dirección de suministro de la presión a la cámara 4 principal.

A partir de lo expuesto anteriormente, puede inferirse que la introducción de la muestra en la unidad 3 de separación se mejora, reduciendo así el riesgo de que una parte significativa de la muestra pase más allá de la propia unidad 3 de separación.

Según realizaciones alternativas, el dispositivo 22 de bloqueo no está presente, la función de bloqueo la realiza la válvula 9, que está conectada al montaje 23 de control. En otras palabras, el montaje 23 de control, en uso, cierra la válvula 9 cuando el sensor 21 de presión detecta una presión superior a la presión umbral dada.

Ventajosamente, el montaje 23 de control está conectado a las válvulas 9, 10, 11 y 12.

La conexión entre el montaje de control y otros elementos (dispositivos, unidades de válvula, etc.) puede proporcionarse a través de conexiones eléctricas tradicionales (cables conductores) o bien a través de ondas electromagnéticas (por ejemplo, mediante ondas de radio, microondas, etc.).

De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende una entrada 24. El depósito 14 se coloca entre la entrada 24 y la válvula 11 y está diseñado para recoger el líquido portador introducido a través de la entrada 24.

La válvula 11 se coloca entre la entrada 24 y la cámara 5 de recuperación y está diseñada para conectar o aislar la entrada 24 y la cámara 5 de recuperación una con respecto a la otra. En particular, la válvula 11 se coloca entre el depósito 14 y la cámara 5 de recuperación y está diseñada para conectar o aislar el depósito 14 y la cámara 5 de recuperación entre sí.

Según algunas realizaciones, el sistema 1 comprende una fuente 25 de presión para imponer una diferencia de presión entre el depósito 14 y la cámara 5 de recuperación. En particular, la fuente 25 de presión impone una presión desde el depósito 14 hacia la cámara 5 de recuperación.

Ventajosamente, el depósito 14 se coloca entre la fuente 25 de presión y la válvula 11. En particular, el sistema 1 comprende un conducto 26, que conecta (es decir, permite la etapa de fluido entre) la fuente 25 de presión y la cámara 5 de recuperación y a lo largo de los cuales se establecen el depósito 14 y la válvula 13.

De acuerdo con algunas realizaciones, la entrada 24 se coloca a lo largo del conducto 26, en particular entre la fuente 25 de presión y el depósito 14.

Con referencia particular a la figura 3, el sistema 1 comprende un dispositivo 17a de vibración, que es similar al dispositivo 17 de vibración y está diseñado para provocar una variación en una forma oscilante de la presión al menos en un área de la cámara 5 de recuperación. De esta manera, se hacen vibrar las partículas C1 del tipo dado presente dentro de la cámara 5 de recuperación, y se mejora el flujo de salida de las partículas C1 del tipo dado desde la cámara 5 de

recuperación hacia la salida. Las partículas C1 tienen una tendencia reducida a agruparse o adherirse a las paredes de la cámara 5 de recuperación y/o de un conducto 27 que conecta (es decir, permite la etapa de fluido entre) la cámara 5 de recuperación a la salida 8. La válvula 12 es establecer entre la cámara 5 de recuperación y la salida 8.

5 Ventajosamente, el dispositivo 17a de vibración comprende una bomba 18a de diafragma conectada, en particular por medio de una junta en T 19a, al conducto 26.

De acuerdo con las realizaciones (no ilustradas), el sistema para llenar la cámara 5 es similar al de la cámara 4.

10 En consecuencia, en dichos casos, se coloca un dispositivo de bloqueo (no ilustrado) entre la fuente 25 de presión y el depósito 14; además, uno o más sensores y/o detectores (no ilustrados) análogos a los descritos anteriormente con referencia a la cámara 4 principal están dispuestos a la entrada del conducto 27 o en otras posiciones apropiadas.

15 De acuerdo con las realizaciones (no ilustradas), el sistema 1 comprende un detector (en particular, un detector óptico o impedimentométrico o de ultrasonido), que se coloca en la salida 8, está conectado al montaje 23 de control, y está diseñado para detectar un líquido que sale de la salida 8. El montaje 23 de control está diseñado para regular la apertura de la válvula 11 y/o 12 en función de lo que detecta el sensor óptico. En particular, en uso, cuando el sensor óptico detecta al menos una gota de líquido transportador (en el que está presente al menos parte de las partículas C1 del tipo dado), el montaje 23 de control acciona una válvula de alivio, que lleva la presión de accionamiento a cero, bloqueando así el flujo del líquido.

Además, o como alternativa, cuando el sensor óptico detecta al menos una gota de líquido portador (en el que está presente al menos parte de las partículas C1 del tipo dado), el montaje 23 de control cierra la válvula 12 y/o la válvula 11.

25 De esta forma, es posible obtener las partículas C1 en un volumen muy pequeño de líquido. Esto facilita las siguientes etapas de análisis.

30 La Figura 2 ilustra una realización del sistema 1 que difiere del sistema 1 de la Figura 1 para la posición del conducto 26 con respecto a la cámara 5 de recuperación y porque comprende un conducto 28, que conecta la cámara 5 de recuperación a la salida 7 (o a otra salida, no ilustrada) y a lo largo de la cual se coloca una válvula 29, conectada al montaje 23 de control. El conducto 26 se conecta hasta la cámara 5 de recuperación entre los conductos 27 y 28. En particular, el conducto 26 se conecta a la cámara 5 de recuperación sustancialmente delante del canal 6.

35 Con referencia particular a las Figuras 14 y 15, de acuerdo con algunas realizaciones, al menos una de entre las válvulas 9, 10, 11 y 12 (en particular, cada válvula 9, 10, 11 y 12) tiene una estructura particular descrita a continuación con referencia a una válvula V particular (en otras palabras, una o más de las válvulas 9, 10, 11 y 12 tiene la estructura de la válvula V que se describe a continuación).

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona una válvula V.

40 La válvula V está equipada con un elemento 30 de cierre, que comprende (en particular, está hecho de) un material sustancialmente elástico, y está diseñado para pasar entre una posición de bloqueo (ilustrada en la figura 14), en la que el elemento 30 de cierre separa dos tramos 31 y 32 de un conducto respectivo, y una posición de apertura (ilustrada en la figura 15), en la que el elemento 30 de cierre se coloca de tal manera que se permite la etapa de fluido entre los tramos 31 y 32.

45 La válvula V comprende un diafragma 33, que se coloca entre los dos tramos 31 y 32. Cuando el elemento 30 de cierre se coloca en la posición de bloqueo, el propio elemento 30 de cierre está en contacto con el diafragma 33 para separarlo los tramos 31 y 32. Cuando el elemento 30 de cierre se coloca en la posición de apertura, el propio elemento 30 de cierre se ajusta a una distancia del diafragma 33 para permitir la etapa de fluido entre los tramos 31 y 32.

50 La válvula V comprende además un elemento 34 de presión mecánica respectivo, que empuja el elemento 30 de cierre hacia los tramos 31 y 32 (en particular, hacia el diafragma 33) para mantener el propio elemento 30 de cierre en la posición de bloqueo. Ventajosamente, el elemento 34 de presión mecánica comprende (en particular, es) un resorte, que se comprime cuando el elemento 34 de cierre pasa de la posición de bloqueo a la posición de apertura y se extiende cuando el elemento 34 de cierre pasa de la posición de apertura a la posición de bloqueo.

55 La válvula V comprende un accionador 35 fluido dinámico, que a su vez comprende una boquilla 36 de accionamiento equipada con un elemento 37 hueco, que aloja el elemento 34 de presión mecánica. El elemento 37 hueco tiene un canal 38 interno y un extremo abierto (en particular, provisto de un orificio 39 de accionamiento) puesto en contacto con el elemento 34 de cierre.

60 El accionador 35 fluidodinámico comprende un elemento 40 de sellado, que está diseñado para deslizarse de manera hermética a los fluidos a lo largo del canal 38 interno y se coloca en una posición correspondiente al orificio 39 del accionador en contacto con el elemento de presión mecánica.

65

ES 2 672 366 T3

El accionador 35 dinámico de fluido comprende además una unidad 41 de succión, que, a su vez, comprende un conducto 42 que conecta la boquilla 36 de actuador a una fuente 43 de succión (ilustrada en la figura 3).

5 En uso, cuando se hace funcionar la unidad 41 de succión, el elemento 30 de sellado es aspirado hacia atrás y empuja el elemento 40 de sellado, que se desliza dentro del canal 38 interno para comprimir el elemento 34 de presión mecánica. Dicha presión negativa mueve el elemento 30 de cierre alejado del diafragma 33 de tal manera que el elemento 30 de cierre alcanza la posición de apertura. Cuando la unidad de succión está desactivada, el elemento 34 de presión mecánica empuja el elemento 40 de sellado hacia el exterior a través del orificio 39 de accionamiento. El elemento 40 de sellado empuja a su vez el elemento 30 de cierre contra el diafragma 33 de tal manera que el elemento 30 de cierre en sí mismo alcanza la posición de bloqueo.

10 El elemento 30 de cierre (también ilustrado en la Figura 7) tiene una porción 44 de membrana y un saliente 45 que se extiende a lo largo de un borde perimetral de la porción 44 de membrana. En otras palabras, el elemento 30 de cierre tiene un mayor espesor en el perimetral borde. Esto permite la mejora de la resistencia mecánica de la membrana y la hermeticidad del fluido entre el elemento 30 de cierre y la boquilla 36 de actuador (en particular, el elemento 37 hueco). La proyección 45 tiene una forma anular.

15 De acuerdo con realizaciones específicas, la porción 44 de membrana tiene una forma sustancialmente cilíndrica; en este caso, la proyección 45 tiene la forma de un anillo circular.

20 De acuerdo con algunas realizaciones, el elemento 30 de cierre está hecho de un único material elastomérico (es decir, un elastómero) o también mediante una combinación (por ejemplo, una mezcla) de una cantidad de materiales elastoméricos que son diferentes entre sí.

25 Ventajosamente, el elastómero comprende (en particular, consiste en) una silicona, en particular un caucho de silicona. De acuerdo con algunas realizaciones, la silicona tiene la siguiente fórmula:



30 donde n es un número entero mayor que 4, cada R se elige, independientemente de los demás, en el grupo que consiste en: metilo, etilo, propilo.

35 De acuerdo con algunas realizaciones, el elastómero comprende (es decir, está constituido por) solo una silicona o, alternativamente, varias siliconas que son diferentes entre sí.

De acuerdo con algunas realizaciones, debajo de la boquilla 36 de accionamiento hay un elemento 46 de presión mecánica (en particular, un resorte) para empujar la boquilla 36 de accionamiento misma contra el elemento 30 de cierre.

40 De acuerdo con una variante, el accionador 35 fluido-dinámico tiene la estructura ilustrada en las Figuras 24 a 26, en la que el elemento 40 de sellado comprende dos componentes 40' y 40'', que pueden desmontarse.

Se debe enfatizar que la estructura particular de la válvula V tiene ventajas significativas sobre la técnica anterior.

45 Una primera ventaja consiste en el menor riesgo de contaminación por gas (en particular, aire) de la muestra. A este respecto, debe observarse que usualmente el elemento 30 de cierre es parcialmente permeable al gas y que en la solución propuesta no es necesario suministrar un chorro de aire para mantener el elemento 30 de cierre en la posición de bloqueo (suministrando el chorro). de aire, parte del chorro de aire entraría en el conducto).

50 Una segunda ventaja consiste en la reducción de las pérdidas de carga cuando la fuente de succión está funcionando (las piezas se ajustan juntas para presentar una alta hermeticidad a los fluidos).

55 En la realización de la figura 3, las válvulas 9 y 11 se ilustran esquemática y sustancialmente tienen la misma estructura que la válvula V descrita anteriormente. En este caso, ventajosamente, las válvulas 9 y 11 están conectadas cada una a una fuente 43 de succión respectiva.

60 De acuerdo con algunas realizaciones (no ilustradas), el sistema 1 no comprende las fuentes 15 y 25 de presión. En este caso, las válvulas 9 y/u 11, en lugar de ser válvulas individuales comprenden una pluralidad de válvulas dispuestas en sucesión a lo largo del conducto 16 y/o 26. En uso, las válvulas dispuestas en sucesión se abren y se cierran en secuencia para suministrar la muestra y/o el líquido portador a la unidad 3 de separación. De esta manera, las válvulas dispuestas en sucesión funcionan en una forma similar a una bomba peristáltica.

Se debe observar que, para trabajar como una bomba peristáltica, normalmente son necesarias al menos tres válvulas dispuestas en sucesión.

ES 2 672 366 T3

De acuerdo con algunas realizaciones, sin embargo, las válvulas 9 y/o 11 comprenden cada una (en particular, consisten en) dos válvulas dispuestas en sucesión. En estos casos, dichas válvulas funcionan en combinación con las válvulas 10 y/o 12 para funcionar como una bomba peristáltica.

5 Estas realizaciones presentan algunas ventajas: no requieren la integración de fuentes de presión engorrosas; y permiten de manera muy precisa la regulación de la cantidad de fluido que se alimenta a la unidad 3 de separación.

10 De acuerdo con la realización ilustrada en la Figura 3, el sistema 1 comprende un sistema de dielectrofóresis. La unidad 3 de separación comprende al menos una parte del sistema de dielectrofóresis. De acuerdo con algunas realizaciones, la unidad 3 de separación comprende el sistema de dielectrofóresis (en su totalidad).

15 En particular, el sistema 1 (específicamente el sistema de dielectrofóresis) comprende un sensor 47 óptico. El montaje 23 de control está conectado al sensor 47 óptico y a la unidad 3 de separación. Ventajosamente, el sensor óptico 46 comprende una cámara 48 de video. En uso, el montaje 23 de control acciona diferentes componentes activos de las cámaras 4 y 5 en función de lo que detecta el sensor 47 óptico.

De acuerdo con algunas realizaciones, la unidad 3 de separación comprende además una interfaz 49 de operador (interfaz hombre/máquina). Ventajosamente, la interfaz 49 de operador comprende un ordenador personal.

20 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema de dielectrofóresis y/o su funcionamiento son/es como se describe en al menos una de las solicitudes de patente números WO0069565, WO2007010367, WO2007049120. De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 (figura 2) comprende un montaje 50 de refrigeración, que está diseñado para enfriar al menos parte de la unidad 3 de separación, en particular la cámara 4 principal y la cámara 5 de recuperación.

25 El montaje 50 de refrigeración, de acuerdo con algunas realizaciones, es un conjunto Peltier y comprende: una placa 51 de enfriamiento que tiene una superficie 52 activa, diseñada para absorber el calor de la unidad 3 de separación; y una superficie 53 de descarga para producir calor. Ventajosamente, la superficie 52 activa tiene una extensión menor que la superficie 53 de descarga.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, el ajuste entre la superficie 52 activa y la unidad 3 de separación es una estera (en sí misma conocida) hecha de un material polimérico conductor del calor.

35 El montaje 50 de refrigeración comprende además una placa 54 de transferencia de calor conectada a un circuito 55 de acondicionamiento, que funciona como un dispositivo intercambiador de calor.

El circuito 55 comprende: dos conductos 56; un radiador 57, que se coloca entre los dos conductos 56; una pluralidad de ventiladores 58 para enfriar un líquido acondicionador mientras fluye dentro del radiador 57; y una bomba 59 para hacer que el líquido acondicionador fluya a lo largo de los conductos 56 y a través del radiador 57.

40 De acuerdo con la realización ilustrada en la figura 3, el sistema 1 comprende al menos un elemento 60 de presión mecánica (en el caso de cuatro) (en particular, un resorte) para empujar el montaje 50 de refrigeración hacia la cámara 4 principal y la cámara 5 de recuperación.

45 Con referencia particular a las Figuras 16, 18, 13 y 3, el sistema 1 comprende además dos boquillas 61 y 61a de suministro de presión dispuestas entre dos tramos del conducto 16 y del conducto 26, respectivamente.

La boquilla 61 de suministro de presión comprende un cuerpo 62 hueco, que está conectado a un dispositivo 64 de presión, y tiene un orificio 63 de suministro de presión ajustado en un extremo opuesto con respecto al dispositivo 64 de presión.

50 El dispositivo 64 de presión comprende una unidad 65 de presión que, a su vez, comprende la fuente 15 de presión y un conducto (en particular, un primer tramo del conducto 16), que conecta la fuente 15 de presión a la boquilla 61 de suministro de presión.

55 La fijación entre el orificio 63 de suministro de presión y un segundo tramo del conducto 16 es un anillo 66 de sellado (ilustrado en las Figuras 7, 16) que comprende (en particular, que consiste en) un material sustancialmente elástico.

Ventajosamente, el material sustancialmente elástico se define como se describe anteriormente con referencia al elemento 30 de cierre.

60 De acuerdo con algunas realizaciones, el anillo 66 de sellado es sustancialmente circular y tiene: un orificio 67 sustancialmente central; una porción interna que delimita el orificio 67; y una parte periférica que tiene un grosor mayor que una parte interna.

65 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende además al menos un elemento 68 de presión mecánica (en particular, un resorte), que se ajusta para empujar la boquilla 63 de suministro de presión hacia (en particular, contra) el anillo 66 de sellado. De esta manera, se obtiene una menor dispersión de la presión (es decir, un mejor sellado) entre

la boquilla 63 de suministro de presión, el anillo 66 de sellado y el segundo tramo del conducto 16. El elemento 68 de presión mecánica tiene la función importante de compensar cualquier posible falta de planeidad del dispositivo y regular las fuerzas de contacto aplicadas.

5 De acuerdo con realizaciones ventajosas, la boquilla 61a de suministro de presión tiene la misma estructura que la boquilla 61 de suministro de presión, está conectada al dispositivo 64 de presión y es empujada hacia un anillo 66a de sello respectivo por un elemento 68a de presión mecánica correspondiente.

10 El sistema 1 comprende además un asiento 69 (ilustrado parcialmente en la figura 13), que está diseñado para alojar un colector extraíble (por ejemplo, un tubo de ensayo), de un tipo en sí mismo conocido y no ilustrado, y se dispone en la salida 8.

15 Colocado entre el conducto 27 y el asiento 69 hay un anillo 70 de sellado, que está diseñado para garantizar una dispersión más pequeña (es decir, un mejor sellado) entre el conducto 27 y el asiento 69. El anillo 70 de sellado comprende (en particular, consiste en) un material sustancialmente elástico.

Ventajosamente, el material sustancialmente elástico se define como se describe anteriormente con referencia al elemento 30 de cierre.

20 De acuerdo con algunas realizaciones, el anillo 70 de sellado es sustancialmente circular y tiene: un orificio 71 sustancialmente central; una porción interna que delimita el orificio 71; y una parte periférica que tiene un grosor mayor que una parte interna.

25 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende dos partes separables: un aparato sustancialmente fijo 72 (una realización del aparato 72 se ilustra parcialmente en las Figuras 10 y 11) y un dispositivo 73 (se ilustra una realización del dispositivo 73 en la vista en planta superior en la Figura 21 y en la vista en despiece ordenado en la Figura 4).

30 De acuerdo con un aspecto particular de la presente invención, se proporciona un sistema microfluídico para el aislamiento de partículas C1 de al menos un tipo dado de una muestra, el sistema 1 comprende: una primera entrada 2, a través de la cual, en uso, la muestra se introduce en el sistema 1; una unidad 3 de separación, que comprende una cámara 4 principal y una cámara 5 de recuperación y está diseñada para transferir al menos parte de las partículas C1 del tipo dado desde la cámara 4 principal hasta la cámara 5 de recuperación de una manera sustancialmente selectiva con respecto a otras partículas C2 de la muestra; una primera salida 7, conectada a la cámara 4 principal; y una segunda salida 8, que está conectada a la cámara 5 de recuperación, a través de la cual, en uso, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado recogidas en la cámara 5 de recuperación salen del sistema 1; el sistema 1 se caracteriza porque comprende: una primera válvula 9, dispuesta corriente arriba de la cámara 4 principal; una segunda válvula 10, dispuesta entre la cámara 4 principal y la primera salida 7; una tercera válvula 11, dispuesta corriente arriba de la cámara 5 de recuperación; y una cuarta válvula 12, dispuesta entre la cámara 5 de recuperación y la segunda salida 8.

40 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema comprende una o más de las características descritas anteriormente de acuerdo con los aspectos primero y segundo de la presente invención.

En uso, el sistema 1 (de acuerdo con uno o más de los aspectos de la invención referidos anteriormente) se utiliza de acuerdo con el método descrito a continuación.

45 Método

50 Se proporciona de acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención un método para el aislamiento de partículas C1 de al menos un tipo dado de una muestra por medio de un sistema microfluídico. El sistema microfluídico es el sistema 1 o un sistema microfluídico similar al sistema 1. Ventajosamente, el sistema microfluídico es el sistema 1 como se describió anteriormente de acuerdo con uno de los aspectos precedentes de la presente invención. En cualquier caso, por razones de simplicidad en la siguiente descripción del método, el sistema microfluídico y sus partes se identificarán con los números de referencia usados anteriormente para identificar el sistema 1 y partes similares o idénticas, respectivamente.

55 El método comprende: una etapa de introducción de la muestra en un sistema 1 a través de una entrada 2 del sistema 1; una etapa de separación, durante la cual al menos parte de las partículas C1 del tipo dado se separan de otras partículas C2 dentro de una unidad 3 de separación del sistema 1; una primera etapa de suministro, que al menos parcialmente precede a la etapa de separación y durante la cual al menos parte de la muestra se alimenta a la unidad 3 de separación (la primera etapa de suministro se ilustra esquemáticamente en las Figuras 19e-19j); y una etapa de recuperación, que es al menos parcialmente posterior a la etapa de separación y durante la cual al menos parte de las partículas C1 del tipo dado separadas de manera sustancialmente selectiva fluyen desde la unidad 3 de separación a través de una salida 8 del sistema 1 (la etapa de recuperación se ilustra esquemáticamente en las Figuras 20c y 20d).

ES 2 672 366 T3

De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende: una válvula 9 ajustada entre la entrada 2 y la unidad 3 de separación; y una válvula 12 colocada entre la salida 8 y la unidad 3 de separación. Durante la etapa de separación, las válvulas 9 y 12 se mantienen cerradas.

5 En particular, el sistema 1 comprende un conjunto de válvulas entre cada abertura (por ejemplo, entradas y/o salidas) del sistema 1 hacia el exterior y la unidad 3 de separación. Durante la etapa de separación, cada una de estas válvulas se mantienen cerradas.

De acuerdo con algunas realizaciones, la etapa de recuperación es completamente posterior a la etapa de separación.

10 De acuerdo con algunas realizaciones, la etapa de separación es completamente posterior a la primera etapa de suministro.

15 De acuerdo con algunas realizaciones, durante la etapa de separación, las partículas C1 del tipo dado se transfieren desde una cámara 4 principal a una cámara 5 de recuperación de la unidad 3 de separación de una manera sustancialmente selectiva con respecto a partículas adicionales C2 de la muestra (el final de la etapa de separación se ilustra en la Figura 20a).

20 De acuerdo con algunas realizaciones, durante la etapa de separación, utilizando un sistema como se describe en la figura 2, las partículas C1 de una cantidad de tipos dados se transfieren desde una cámara 4 principal hasta un área particular de la cámara 5 de recuperación aislada mediante resistencia de fluido de la cámara de recuperación.

Una salida 7 y una salida 8 del sistema 1 están conectadas a la cámara 4 principal y a la cámara 5 de recuperación, respectivamente.

25 Ventajosamente, el sistema 1 comprende: la válvula 9, que está colocada corriente arriba de la cámara 4 principal; una válvula 10, dispuesta corriente abajo de la cámara 4 principal; una válvula 11, dispuesta corriente arriba de la cámara 5 de recuperación; la válvula 12, dispuesta corriente abajo de la cámara 5 de recuperación. Durante la etapa de separación, las válvulas 9, 10, 11, 12 están cerradas, en particular para aislar la cámara 4 principal y la cámara 5 de recuperación con respecto al exterior.

30 El método comprende además: la primera etapa de suministro, que al menos parcialmente precede a la etapa de separación y durante la cual al menos parte de la muestra se alimenta a la cámara 4 principal (la primera etapa de suministro se ilustra esquemáticamente en las Figuras 19e-19i); y una segunda etapa de suministro, que al menos parcialmente precede a la etapa de separación y durante la cual el líquido portador se alimenta a la cámara 5 de recuperación (la segunda etapa de suministro se ilustra en las Figuras 19a-19d).

35 El método comprende además la etapa de recuperación, durante la cual el líquido portador, junto con al menos parte de las partículas C1 del tipo dado, fluye desde la cámara 5 de recuperación a través de la salida 8 (la etapa de recuperación se ilustra esquemáticamente en Figuras 20c y 20d).

De acuerdo con algunas realizaciones, durante la etapa de introducción, al menos parte de la muestra se introduce en un depósito 13 del sistema 1.

45 Ventajosamente, la etapa de separación se produce por dielectroforesis. Al menos durante la etapa de separación, la unidad 3 de separación se enfría.

De acuerdo con algunas realizaciones, al menos una o ambas etapas de suministro primera y segunda son completamente anteriores a la etapa de separación.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, la segunda etapa de suministro al menos parcialmente precede a la segunda etapa de suministro. Ventajosamente, la segunda etapa de suministro es completamente anterior a la segunda etapa de suministro.

55 De acuerdo con algunas realizaciones, se coloca una primera presión para suministrar la muestra a la cámara 4 principal.

En particular, la primera presión empuja la muestra desde el depósito 13 hacia la cámara 4 principal.

60 De acuerdo con algunas realizaciones, la primera presión se ejerce al menos antes y durante la primera etapa de suministro.

Ventajosamente, durante la etapa de recuperación, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado se someten a vibración; en particular, están sujetos a una presión que varía de forma oscilante (la frecuencia de vibración es de entre 2 Hz y 80 Hz, ventajosamente de 5 Hz a 40 Hz).

65

Ventajosamente, durante la primera etapa de suministro, se coloca una válvula 9 del sistema 1, dicha válvula 9 corriente arriba de la cámara 4 principal, y una válvula 10 del sistema 1, dicha válvula 10 que se coloca entre la cámara 4 principal y la salida 7, están abiertos. En particular, durante la primera etapa de suministro, la muestra pasa a través de la válvula 9.

5

De acuerdo con algunas realizaciones, durante la primera etapa de suministro, la muestra se somete a vibración; en particular, está sometido a una presión que varía de forma oscilante (la frecuencia de vibración es de entre 2 Hz y 80 Hz, ventajosamente de 5 Hz a 40 Hz).

10

De acuerdo con realizaciones particulares, el sistema 1 comprende: un conducto 16 para conectar la entrada 2 a la cámara 4 principal; y un conducto 20, que se coloca entre la cámara 4 principal y la salida 7 y tiene una sección transversal más pequeña, en particular por al menos 100 µm, que la sección transversal del conducto 16; durante la primera etapa de suministro, se detecta la presión de la muestra; el suministro de la muestra se bloquea de acuerdo con la presión detectada, en particular cuando se detecta una presión superior a un valor determinado.

15

De acuerdo con otras realizaciones, además o como alternativa a la detección de presión, se realiza una o más de las siguientes detecciones: detección óptica de la etapa de la muestra entre la cámara 4 y el conducto 20; detección de la variación de la conductividad eléctrica en un área de conexión entre la cámara 4 y el conducto 20 debido al inicio de la etapa de la muestra; detección de la variación de la permitividad eléctrica en un área de conexión entre la cámara 4 y el conducto 20 debido al inicio de la etapa de la muestra; detección de la variación de la resistencia térmica en un área de conexión entre la cámara 4 y el conducto 20 debido al inicio de la etapa de la muestra; y detección de la variación de la capacidad térmica en un área de conexión entre la cámara 4 y el conducto 20 debido al inicio de la etapa de la muestra.

20

En todos los casos anteriores, el flujo de entrada de la muestra 40 se bloquea cuando se encuentra que la muestra comienza a entrar en el conducto 20.

25

De acuerdo con algunas realizaciones, durante la segunda etapa de suministro, una válvula 11 del sistema 1, dicha válvula 11 se coloca corriente arriba de la cámara 5 de recuperación, y una válvula 12, dicha válvula 12 que está entre la cámara 5 de recuperación y la salida 8, están abiertas.

30

Ventajosamente, se fija una segunda presión para suministrar el líquido portador a la cámara 5 de recuperación. En particular, la segunda presión empuja el líquido portador desde un depósito 14 del sistema 1 hacia la cámara 5 de recuperación. Durante la segunda etapa de suministro, el líquido portador pasa a través de la válvula 11.

35

De acuerdo con algunas realizaciones, la segunda presión se ejerce al menos antes y durante la segunda etapa de suministro.

Durante la etapa de recuperación, las válvulas 11 y 12 están abiertas.

40

Según algunas realizaciones, el método comprende una etapa de descarga, que es al menos parcialmente posterior a la etapa de separación y al menos parcialmente antes de la etapa de recuperación y durante la cual al menos parte de las partículas adicionales C2 de la muestra se hacen para que fluyan lejos de la cámara 4 principal a través de la salida 7; la etapa de descarga se ilustra esquemáticamente en las Figuras 20b y 20c. Ventajosamente, la etapa de descarga es completamente posterior a la etapa de separación y/o completamente anterior a la etapa de recuperación.

45

Durante la etapa de descarga, las válvulas 10 y 11 están abiertas para suministrar el líquido portador a la cámara 4 principal.

50

La realización de la etapa de descarga permite la reducción de los riesgos de que parte de las partículas adicionales C2 retiradas de la cámara 4 principal por el flujo del líquido portador a través de la cámara 5 de recuperación pasen, durante la etapa de recuperación, a través de la salida 8.

55

En la práctica, de acuerdo con algunas realizaciones, las válvulas 11 y 12 se abren para llenar la cámara 5 de recuperación con el líquido portador. En este punto, las válvulas 9 y 10 están abiertas, de tal forma que la muestra llenará la cámara 4 principal. Las válvulas 9, 10, 11 y 12 son, entonces, cerradas, y las partículas C1 del tipo dado se ponen de una manera sustancialmente selectiva desde la cámara 4 principal hasta la cámara 5 de recuperación. En este punto, las válvulas 11 y 10 se abren para hacer que al menos parte de las partículas adicionales C2 fluyan fuera de la cámara 4.

60

De acuerdo con algunas realizaciones, las partículas C1 del tipo dado están dispuestas dentro de la cámara 5 de recuperación de tal manera que, durante la etapa de descarga, permanecen al menos en parte dentro de la propia cámara 5 de recuperación. En particular, las partículas C1 del tipo dado están dispuestas lateralmente con respecto a (es decir, no delante de) un canal 6 para la conexión entre la cámara 4 principal y la cámara 5 de recuperación. Específicamente, las partículas C2 están dispuestas entre el canal 6 y un conducto 26 para conexión a la salida 8.

65

De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende una válvula 29 (Figuras 2 y 27), que se coloca entre la cámara de recuperación y la salida 7 (o una salida adicional no ilustrada). La cámara 5 comprende: una primera área 5'

que está conectada hidráulicamente al conducto 27 (y por lo tanto a la válvula 12); una segunda área 5", conectada hidráulicamente al conducto 28 (y por lo tanto a la válvula 29); y un área adicional, que define un tramo terminal del conducto 26 (y, por lo tanto, está conectado a la válvula 11).

5 Durante la segunda etapa de llenado, las válvulas 12 y 11 están abiertas para llenar la primera área 5' de la cámara 5 de recuperación, que conecta las válvulas 12 y 11; las válvulas 11 y 29 están abiertas para llenar la segunda área 5" de la cámara 5 de recuperación que conecta las válvulas 11 y 29.

10 De acuerdo con realizaciones específicas, las válvulas 12, 11 y 29 se abren para llenar la primera área 5' (Figuras 27b y 27c); en este punto, la válvula 12 está cerrada y la segunda área 5" está llena (Figura 27d).

15 Durante la etapa de separación, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado y al menos parte de las partículas C3 de al menos un segundo tipo dado se transfieren a la cámara 5 de recuperación (Figuras 28a y 28b) (en particular, en la segunda área 5"). La etapa de recuperación comprende una primera subetapa de recuperación, durante la cual al menos parte de las partículas C1 del tipo dado se lleva de una manera sustancialmente selectiva a la primera área 5' (Figura 28d) y, posteriormente, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado se hace fluir desde la primera área 5' a través de la salida 8 suministrando a la cámara 5 de recuperación más líquido portador (Figura 28e).

20 La etapa de recuperación comprende una segunda subetapa de recuperación, durante la cual al menos parte de las partículas C3 se hace salir de la cámara 5 de recuperación a través de la salida 8 suministrando a la cámara 5 de recuperación líquido portador adicional.

25 Ventajosamente, durante la segunda subetapa de recuperación, al menos parte de las partículas C3 se lleva a la primera área 5' (Figuras 28e y 28f) y, posteriormente, al menos parte de las partículas C3 se hace fluir desde la primera área 5' a través de la salida 8 (figura 28g).

30 Según algunas realizaciones, el método comprende una etapa de descarga, durante la cual partículas adicionales C2 presentes en la cámara 4 principal se retiran del canal 6. Durante la etapa de descarga, las válvulas 11 y 10 se abren (figura 28c). Ventajosamente, durante la etapa de descarga, la válvula 29 se cierra y las partículas C1 y C3 están dispuestas en la segunda área 5". Ventajosamente, durante la etapa de descarga, la válvula 12 se cierra. Ventajosamente, durante la etapa de descarga, la válvula 9 está cerrado.

35 Ventajosamente, la etapa de descarga es al menos parcialmente (en particular, completamente) posterior a la etapa de recuperación y al menos parcialmente (en particular, completamente) antes de la etapa de recuperación.

De acuerdo con algunas realizaciones, durante la etapa de recuperación, se detecta la primera gota de líquido transportador que sale de la salida 8; cuando se detecta la primera gota, el flujo de salida de la cámara 5 de recuperación se bloquea.

40 De acuerdo con algunas realizaciones, se suceden varias etapas de recuperación, cambiando los contenedores dispuestos en la proximidad de la salida 8 cada vez que se detecta al menos una gota.

45 De acuerdo con algunas realizaciones, el dióxido de carbono se alimenta al sistema 1. De esta manera, la presencia de oxígeno dentro del sistema 1 se reduce o elimina. La presencia de oxígeno dentro del sistema puede conducir a la formación de burbujas durante las diversas etapas del método.

De acuerdo con realizaciones alternativas, el líquido portador (y/o posiblemente la muestra) se desgasifica por medio de ultrasonidos antes de la introducción en el sistema 1 (o en la unidad 3 de separación).

50 Ventajosamente, la muestra y el líquido portador se usan a una temperatura superior a 20°C, en particular superior a 25°C. También esto reduce el riesgo de formación de burbujas.

De acuerdo con algunas realizaciones, el método se aplica utilizando un sistema 1 definido de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención.

55 De acuerdo con algunas realizaciones, el sistema 1 comprende dos partes separables: un aparato 72 sustancialmente fijo (una realización del aparato 72 se ilustra parcialmente en las Figuras 10 y 11) y un dispositivo 73 (se ilustra una realización del dispositivo 73 en la vista en planta superior en la Figura 21 y en la vista en despiece ordenado en la Figura 4). El dispositivo 73 es ventajosamente desechable y está diseñado para conectarse al aparato 72.

60 De acuerdo con algunas realizaciones, solo parte de la muestra se lleva a la cámara 4 principal. En la práctica, la muestra se somete a una pluralidad de separaciones parciales sucesivas.

Dispositivo microfluídico

65

5 Se proporciona de acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención el dispositivo 73 para el aislamiento de partículas C1 de al menos un tipo dado de una muestra. El dispositivo 73 comprende: la entrada 2, a través de la cual, en uso, la muestra se introduce en el dispositivo 73; y la unidad 3 de separación, que comprende una cámara 4 principal y una cámara 5 de recuperación. La cámara de separación 3 (en particular, la cámara 4 principal) está conectada a la entrada 2. En particular, la unidad 3 de separación comprende parte del sistema de dielectrofóresis.

10 En uso, cuando el dispositivo 73 está montado dentro del aparato 72, la unidad 3 de separación está diseñada para transferir al menos parte de las partículas C1 del tipo dado desde la cámara 4 principal hasta la cámara 5 de recuperación de una manera sustancialmente selectiva con respecto a otras partículas C2 de la muestra.

15 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende la salida 7 conectada a la cámara 4 principal; la salida 8 está conectada a la cámara 5 de recuperación.

A través de la salida 8, en uso, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado recogidas en la cámara 5 de recuperación sale del dispositivo 73.

20 La salida 7 está diseñada para permitir que la muestra entre libremente dentro de la cámara 4 principal, funcionando, así como un respirador.

El dispositivo 73 comprende, además; una porción 74 de válvula, que se coloca corriente arriba de la cámara 4 principal (en particular, entre la cámara 4 principal y la entrada 2); y una porción de válvula 75, que se coloca entre la cámara 4 principal y la salida 7.

25 La parte 74 de válvula está diseñada para formar parte de la válvula 9. La porción 75 de válvula está diseñada para formar parte de la válvula 10.

El dispositivo también comprende: una porción 76 de válvula, que está conectada a la cámara 5 de recuperación; y una porción 77 de válvula, que se coloca entre la cámara 5 de recuperación y la salida 8.

30 En particular, la cámara 5 de recuperación se coloca entre la cámara 4 principal en un lado y las partes 76, 77 de válvula tercera y cuarta en el otro lado; la cámara 4 principal se coloca entre la cámara 5 de recuperación en un lado y las porciones de válvula primera y segunda 74 y 75 en el otro lado.

35 La porción 75 de válvula está diseñada para formar parte de la válvula 11. La porción 76 de válvula está diseñada para formar parte de la válvula 12.

40 De acuerdo con algunas realizaciones, al menos una de las partes 74, 75, 76 y 77 de válvula comprende el elemento 30 de cierre, que se coloca para pasar entre una posición de bloqueo, en la que el elemento 30 de cierre se dispone para separar dos tramos de un canal respectivo del dispositivo 73, y una posición de apertura, en la que el elemento 30 de cierre se coloca de tal manera que los dos tramos se conectan entre sí. Ventajosamente, cada parte 74, 75, 76 y 77 de válvula comprende un elemento 30 de cierre respectivo.

45 Ventajosamente, el elemento 30 de cierre se define como se describió anteriormente en relación con el sistema 1. En particular, el elemento 30 de cierre tiene una parte de membrana, que comprende, se hace en particular, de un material sustancialmente elástico.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, al menos uno, en particular cada uno, de las porciones 74, 75, 76 y 77 de válvula, comprende el diafragma 33, que se coloca entre los dos tramos del conducto del dispositivo 73. En la posición de bloqueo, el elemento 30 de cierre está en contacto con el diafragma 33; en la posición de apertura, el elemento 30 de cierre se coloca a una distancia del diafragma 33.

55 Al menos uno, en particular cada uno, de las porciones 74, 75, 76 y 77 de válvula comprende al menos un orificio en un canal del dispositivo 73. En particular, cada elemento 30 de cierre se coloca en un punto correspondiente a dos orificios respectivos de un canal correspondiente, estando dichos orificios separados entre sí por un diafragma 33 respectivo. Cada uno de estos orificios tiene un diámetro que varía de 0.1 a 0.7 mm. De acuerdo con realizaciones específicas, cada orificio tiene un diámetro de aproximadamente 0.5 mm.

60 De acuerdo con algunas realizaciones, cada porción 74, 75, 76 y 77 de válvula corresponde a una parte de la válvula V descrita anteriormente sin el accionador 35 fluido dinámico.

65 Al menos uno de los elementos 30 de cierre puede ser accionado por un actuador externo al dispositivo 73; en particular, el accionador externo forma parte del aparato 72. Más específicamente, cada uno de los elementos 30 de cierre puede ser accionado por un accionador respectivo externo al dispositivo 73; en particular, los actuadores externos forman parte del aparato 72.

ES 2 672 366 T3

Al menos uno, en particular cada uno, de los elementos 30 de cierre está al menos parcialmente expuesto y orientado hacia afuera. De esta manera, se hace más conveniente la posibilidad de acoplar el elemento 30 de cierre con el accionador externo respectivo y una interacción del mismo.

- 5 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende, además: el depósito 13, que se coloca entre la entrada 2 y la porción 74 de válvula y está diseñado para recoger la muestra introducida a través de la entrada 2; y un canal 78, que conecta el depósito 13 a la cámara 4 principal y a lo largo de la cual se coloca la porción 74 de válvula. En particular, el canal 78 constituye una parte del conducto 16.
- 10 Ventajosamente, el canal 78 tiene una sección transversal de diámetro equivalente que varía de 0.9 mm a 50 μm . En particular, el canal 78 tiene un ancho que varía de 0.7 a 0.1 mm y una profundidad que varía de 1.00 a 0.15 mm. De acuerdo con realizaciones específicas, el canal 78 tiene un ancho de aproximadamente 0.5 mm y una profundidad de aproximadamente 0.25 a aproximadamente 0.5 mm. Las trayectorias particulares del canal 78 contribuyen a la reducción del riesgo de que el aire entre en el dispositivo 73.
- 15 Ventajosamente, el depósito 13 tiene un volumen de 5 μl a 100 μl , en particular un ancho que varía de 3 a 0.8 mm y una profundidad que varía de 1.5 a 0.25 mm.
- 20 De acuerdo con realizaciones específicas, el depósito 13 tiene un volumen de aproximadamente 35 μl , un ancho de aproximadamente 1 mm y una profundidad de aproximadamente 0.5 mm.
- Ventajosamente, la porción 74 de válvula se coloca entre el depósito 13 y la cámara 4 principal.
- 25 Según algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende un orificio 79 de suministro. En particular, el orificio 79 de suministro se coloca en la entrada 2. El depósito 13 se coloca entre el orificio 79 de suministro y la cámara 4 principal. El canal 78 conecta el orificio 79 de suministro a la cámara 4 principal.
- 30 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende el anillo 66 de sellado, que rodea el orificio 79 de suministro hacia fuera.
- 35 Ventajosamente, el anillo 66 de sellado se define como se describió anteriormente en relación con el sistema 1 y, en particular, está diseñado para acoplarse con una boquilla 61 de suministro de presión respectiva.
- De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende un canal 80 (que corresponde a parte del conducto 20), que se coloca entre la cámara 4 principal y la salida 7 y comprende el tramo 20'. El tramo 20' tiene una sección transversal más pequeña, en particular por al menos 100 μm , que la sección transversal del canal 78 (el tramo 20' se ilustra más claramente en la figura 9).
- 40 Ventajosamente, el tramo 20' tiene un ancho de menos de 150 μm , una profundidad de menos de 110 μm y una longitud superior a 2 mm. Ventajosamente, el tramo 20' tiene una anchura superior a 100 μm , una profundidad superior a 30 μm y, en particular, una longitud inferior a 6 mm.
- 45 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende el depósito 14, que está diseñado para contener el líquido portador.
- 50 Ventajosamente, el depósito 14 tiene un volumen que varía de 10 ml a 100 μl , un ancho que varía de 5 a 0.8 mm, y una profundidad que varía de 1.5 a 0.25 mm.
- De acuerdo con realizaciones específicas, el depósito 14 tiene un volumen de aproximadamente 150 μl , un ancho de aproximadamente 1 mm y una profundidad de aproximadamente 0.5 mm.
- El dispositivo 73 comprende un canal 81, que conecta el depósito 14 a la cámara 5 de recuperación y a lo largo de la cual se coloca la porción 76 de válvula.
- 55 En particular, el canal 81 constituye una parte del conducto 26.
- 60 Ventajosamente, el canal 81 tiene una sección transversal de diámetro equivalente que varía de 0.9 mm a 200 μm . En particular, el canal 81 tiene un ancho que varía de 0.7 a 0.25 mm y una profundidad que varía de 0.7 a 0.15 mm. De acuerdo con realizaciones específicas, el canal 81 tiene un ancho de aproximadamente 0.5 mm y una profundidad de aproximadamente 0.25 mm.
- Las rutas particulares del canal 81 contribuyen a la reducción del riesgo de que el aire ingrese al dispositivo 73.
- 65 De acuerdo con algunas realizaciones, la porción 76 de válvula se coloca entre el depósito 14 y la cámara 5 de recuperación. De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende un orificio 82 de suministro. El depósito

14 se coloca entre el orificio 82 de suministro y la cámara 5 de recuperación, el canal 81 que conecta el orificio de suministro 82 a la cámara 5 de recuperación.

5 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende el anillo 66a de sellado, que rodea el orificio de suministro 82 hacia fuera.

Ventajosamente, el anillo 66a de sellado se define como se describió anteriormente en relación con el sistema 1 y, en particular, está diseñado para acoplarse con una boquilla 61a de suministro de presión respectiva.

10 El dispositivo 73 comprende conectores 83 eléctricos (ilustrados en la Figura 3) para la conexión eléctrica del propio dispositivo 73 al aparato 72. Ventajosamente, los conectores 83 eléctricos comprenden (en particular, consisten en) al menos un circuito eléctrico, en particular un circuito impreso eléctrico de conexión (PCB).

15 De acuerdo con la realización ilustrada en la figura 31, el dispositivo 73 comprende una porción 29' de válvula adicional diseñada para formar una parte de la válvula 29. En este caso, la porción 29' de válvula se coloca entre la cámara 5 de recuperación y una salida del dispositivo 73 (es decir, del sistema 1). Dicha salida puede ser una salida adicional con respecto a las salidas 7 y 8 descritas anteriormente o puede coincidir con la salida 7 o la salida 8 (en la realización ilustrada en la figura 31, dicha salida corresponde con la salida 7).

20 En consecuencia, de acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 comprende una salida adicional; la porción 29' de válvula se establece entre la cámara 5 de recuperación y la otra salida; opcionalmente, la otra salida corresponde a la salida 7.

25 El dispositivo 73 comprende además el conducto 28, que conecta hidráulicamente la cámara 5 (en particular, la segunda área 5") con la otra salida. La porción 29' de válvula se coloca en una posición correspondiente al conducto 28.

30 En estos casos, la cámara 5 comprende: la primera área 5', que está conectada hidráulicamente al conducto 27 (y por lo tanto a la parte 77 de válvula); la segunda área 5", que está conectada hidráulicamente al conducto 28 (y por lo tanto a la porción 29' de válvula); y el área adicional, que define un tramo terminal del canal 81 (es decir, del conducto 26) (y, por lo tanto, está conectado a la porción 76 de válvula).

35 El conducto 28 tiene una sección transversal de diámetro equivalente que varía de 0.9 mm a 200 µm. En particular, el conducto 28 tiene un ancho que varía de 0.7 a 0.25 mm y una profundidad que varía de 0.7 a 0.15 mm. De acuerdo con realizaciones específicas, el conducto 28 tiene un ancho de aproximadamente 0.5 mm y una profundidad de aproximadamente 0.25 mm.

El dispositivo 73 de la figura 31 está diseñado para formar parte del sistema 1 ilustrado en la figura 2 y para funcionar de acuerdo con lo que se ilustra en las figuras 27 y 28.

40 Aparato

De acuerdo con un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona un aparato 72 para el aislamiento de partículas C2 de al menos un tipo dado a partir de una muestra.

45 El aparato 72 comprende: un asiento 84 (ilustrado abierto en la Figura 11 y cerrado en la Figura 10) para alojar un dispositivo microfluídico (en particular, el dispositivo 73) para el aislamiento de las partículas C1 del tipo dado de la muestra; conectores 85 eléctricos (ilustrados en las Figuras 3 y 13) para la conexión eléctrica del aparato 1 al dispositivo microfluídico; y el montaje 23 de control, conectado a los conectores 85 eléctricos. De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende parte del sistema de dielectroforesis.

50 De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende una escotilla 86, que se ilustra en una posición elevada en la figura 11 y en una posición bajada en la figura 10. La cara inferior de la escotilla 86 se ilustra en la figura 12.

55 El aparato 72 comprende: al menos cuatro accionadores dinámicos de fluido 35, cada uno de los cuales está diseñado para formar una parte de una válvula respectiva y comprende una boquilla 36 de actuador respectiva (ver, en particular, la Figura 13), que tiene un orificio 39 de actuador respectivo; y al menos dos boquillas 61 y 61a de suministro de presión, que tienen cada una un orificio 63 y 63a de suministro de presión respectivo.

60 Cada actuador 35 dinámico de fluido está diseñado para mover un elemento 30 de cierre respectivo externo al aparato 72, en particular que pertenece a dicho dispositivo microfluídico 73. En particular, cada actuador 35 dinámico de fluido está diseñado para acoplarse (entrar en contacto) con un elemento 30 de cierre respectivo.

65 El aparato comprende: al menos el dispositivo 64 de presión, conectado a las boquillas de suministro de presión 61 para determinar una presión en los orificios 63 y 63a de suministro de presión; y al menos un dispositivo 87 de presión, que está conectado a las boquillas 36 de actuador (figura 3) y está diseñado para provocar la succión en una región correspondiente a al menos uno de los orificios de actuador (figuras 14 y 15).

ES 2 672 366 T3

- 5 Cuando la escotilla 86 está en una posición elevada, el asiento 84 está abierto y es accesible desde el exterior (figura 11); en particular, cuando la escotilla 86 está en una posición elevada, el dispositivo microfluídico (en particular, el dispositivo 73) puede insertarse debajo de la escotilla 86 propiamente dicha. En uso, una vez que el dispositivo microfluídico se ha insertado debajo de la escotilla 86, la escotilla 86 se baja (Figura 10) y el dispositivo microfluídico se lleva al asiento 84. Esto se hace girando las manijas 88, que tienen en un extremo del mismo. perfiles 89 de leva. Los perfiles 89 de leva, al girar, empujan la escotilla 86 hacia abajo, superando la resistencia de los resortes (que son por sí mismos conocidos y no se ilustran), que tienden a mantener la escotilla 86 en una posición elevada.
- 10 De acuerdo con lo que se ilustra en la figura 12, la escotilla 86 comprende orificios 86a para inspeccionar las válvulas 9, 10, 11 y 12 y una abertura 86b para hacer visibles las cámaras 4 y 5.
- 15 De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende un montaje 90 de presión (figura 3), que comprende los dispositivos 64 y 87 de presión. El montaje 90 de presión comprende al menos una bomba.
- 20 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 64 de presión comprende la unidad 65 de presión y al menos una unidad de presión 65a, cada una de las cuales está conectada a la boquilla 61 y 61a de suministro de presión respectiva. Las unidades 65 y 65a de presión pueden funcionar por separado y están diseñadas para definir una presión en (en particular, un chorro de aire a través de) el orificio 63 y 63a de suministro de presión correspondiente.
- 25 De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 64 de presión comprende al menos una fuente 15 de presión (y/o 25) (Figuras 1, 2 y 3). Al menos uno entre la unidad 65 de presión y la unidad de presión 65a comprende un conducto correspondiente (en particular, para la unidad 65 de presión, un primer tramo del conducto 16; para la unidad 65a de presión, un primer tramo del conducto 26), que conecta la fuente 15 y/o 25 de presión a la boquilla 61 de suministro de presión respectiva y/o 61a.
- 30 El aparato 72 comprende: el sensor 21 de presión para detectar la presión a lo largo del conducto mencionado anteriormente; y el dispositivo 22 de bloqueo, que está diseñado para interrumpir la transmisión de presión a la boquilla 61 y/o 61a de suministro de presión respectiva. El montaje 23 de control está conectado al sensor 21 de presión y al dispositivo 22 de bloqueo para accionar el dispositivo 22 de bloqueo en función de la presión detectada.
- 35 De acuerdo con algunas realizaciones, el sensor 21 de presión se coloca en una posición correspondiente al dispositivo 64 de presión.
- 40 De manera ventajosa, el dispositivo 22 de bloqueo comprende una válvula de alivio, que está, en particular, dispuesta a lo largo del conducto mencionado anteriormente (un primer tramo del conducto 16 y/o un primer tramo del conducto 26).
- 45 De acuerdo con las realizaciones ilustradas en las Figuras 1 y 2, el dispositivo 22 de bloqueo se coloca a lo largo de un primer tramo del conducto 16, y el sensor 21 de presión se diseña para detectar la presión dentro del propio conducto 16.
- 50 De acuerdo con algunas realizaciones (no ilustradas), el aparato 72 comprende un sensor de presión para detectar la presión en el conducto 26 y un dispositivo de bloqueo. El sensor de presión y el dispositivo de bloqueo están definidos y dispuestos de forma similar a lo que se ha descrito anteriormente con referencia al sensor 21 de presión y al dispositivo 22 de bloqueo.
- 55 De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende al menos un dispositivo 17 y/o 17a de vibración, que está dispuesto a lo largo del conducto mencionado anteriormente (un primer tramo del conducto 16 y/o un primer tramo del conducto 26) y está diseñado para provocar variación en una forma oscilante de la presión definida por la fuente 15 y/o 25 de presión en el orificio 63 y/o 63a de suministro de presión respectivo (Figura 3).
- 60 Ventajosamente, el dispositivo 17 y/o 17a de vibración comprende una bomba de diafragma.
- 65 Ventajosamente, el aparato 72 comprende dos dispositivos 17 y 17a de vibración, que están dispuestos a lo largo de un primer tramo del conducto 16 y un primer tramo del conducto 26, respectivamente. Los dispositivos 17 y 17a de vibración están diseñados para provocar una variación en una forma oscilante de la presión definida por las fuentes 15 y 25 de presión correspondientes en los orificios 63 y 63a de suministro de presión, respectivamente.
- Según algunas realizaciones, el dispositivo 87 de presión comprende al menos cuatro unidades 41 de succión, cada una conectada a una boquilla 36 de actuador respectiva. Las unidades 41 de succión pueden funcionar separadas entre sí y están diseñadas para llevar a cabo al menos una operación de succión en el orificio 39 del actuador correspondiente.
- Ventajosamente, el dispositivo 87 de presión comprende al menos una fuente 43 de succión. Al menos una de las unidades 41 de succión comprende: un conducto 42 respectivo, que conecta la fuente 43 de succión a la boquilla 36 de actuador respectiva; y un dispositivo de bloqueo (en sí mismo conocido y no ilustrado), que está diseñado para interrumpir la transmisión de la succión a dicha boquilla 36 de actuador respectiva.

ES 2 672 366 T3

Ventajosamente, el dispositivo de bloqueo mencionado anteriormente comprende un elemento elegido en un grupo que consiste en: una válvula dispuesta a lo largo del conducto 42 y un accionamiento de la fuente 43 de presión, dicha actuación se diseña para activar o desactivar la propia fuente 43 de presión.

5 De acuerdo con algunas realizaciones, al menos una de las boquillas 36 de accionador comprende (Figuras 14 y 15) un elemento 34 de presión mecánica correspondiente, que está diseñado para ejercer una presión a través del orificio 39 de actuador respectivo hacia el exterior.

10 Ventajosamente, el elemento 34 de presión mecánica comprende un resorte, en un extremo externo del cual está dispuesto el elemento 40 de sellado.

15 Ventajosamente, una o más de las boquillas 36 de actuador comprenden un elemento 37 hueco para alojar el elemento 34 de presión mecánica y para conectar la unidad 41 de succión respectiva al orificio 39 de actuador correspondiente. El elemento 37 hueco está equipado con un extremo que tiene el orificio 39 del actuador correspondiente.

De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende al menos un elemento 46 de presión mecánica para empujar una o más de las boquillas 36 de actuador hacia el dispositivo microfluídico. Ventajosamente, el elemento 46 de presión mecánica comprende (en particular, está constituido por) un resorte.

20 Ventajosamente, el aparato 72 comprende una pluralidad de elementos 46 de presión mecánica, cada uno para empujar una boquilla 36 de actuador respectiva hacia el dispositivo microfluídico. En particular, cada elemento 46 de presión mecánica está diseñado para empujar una boquilla de actuador respectiva hacia (contra) un elemento 30 de cierre correspondiente.

25 De acuerdo con algunas realizaciones, uno o más (en particular, todos) los accionadores 35 dinámicos de fluido se definen como se describió anteriormente en relación con el sistema 1.

30 De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende al menos un elemento 68 y/o 68a de presión mecánica para empujar al menos una boquilla 61 y/o 61a de suministro de presión respectiva hacia (en particular, contra) el dispositivo microfluídico.

35 De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende el conjunto 50 de enfriamiento, que está diseñado para enfriar al menos parte del dispositivo microfluídico. En particular, la parte del dispositivo microfluídico a partir del cual se absorbe el calor es la unidad 3 de separación.

Ventajosamente, el montaje 50 de refrigeración se define de acuerdo con lo que se ha descrito en relación con el sistema 1.

40 En particular, el montaje 50 de refrigeración comprende: una placa 51 de refrigeración que tiene una superficie 52 activa diseñada para absorber calor del dispositivo microfluídico; y una superficie 53 de descarga para producir calor. La superficie 52 activa es de dimensiones más pequeñas que la superficie 53 de descarga.

45 Ventajosamente, el montaje 50 de refrigeración comprende un Peltier y un dispositivo de intercambio de calor (en particular, el circuito 55 de acondicionamiento) conectado al Peltier.

Ventajosamente, el aparato 72 comprende al menos un elemento 60 de presión mecánica (en particular, una pluralidad de los mismos) para empujar el montaje 50 de refrigeración hacia el dispositivo microfluídico.

50 De acuerdo con una realización (no ilustrada), el aparato 72 comprende al menos una boquilla de actuador adicional 36 y una unidad 41 de succión adicional correspondiente.

55 De acuerdo con algunas realizaciones, el montaje 23 de control está conectado a los dispositivos 64 y 87 de presión para regular la presión y/o la succión en cada boquilla 36 de actuador y/o cada boquilla 61 de suministro de presión independientemente la una de la otra.

60 De acuerdo con algunas realizaciones, el aparato 72 comprende una unidad de recogida para recoger un líquido portador que contiene al menos parte de las partículas C1 del tipo dado. En particular, la unidad de recogida comprende un asiento 69 (figura 13), que está diseñado para alojar un colector extraíble (por ejemplo, un tubo de ensayo), de un tipo en sí mismo conocido y no ilustrado, y está dispuesto en la salida 8.

Ventajosamente, el aparato 72 comprende un detector (por ejemplo, una videocámara en sí misma conocida y no ilustrada) para detectar cuándo una gota de dicho líquido transportador entra en la unidad de recogida.

65 Dicho detector está conectado al montaje 23 de control. En uso, cuando el detector detecta la etapa de una gota, el montaje de control interrumpe el flujo de salida del líquido portador desde la cámara 5 de recuperación.

De acuerdo con algunas realizaciones, las partes del dispositivo 73 y/o del aparato 72 se definen, incluso solo en lo que respecta a algunos aspectos tomados por separado de los otros, como las partes similares del sistema 1 y/o viceversa.

Dispositivo microfluídico

5

Se proporciona, según un aspecto adicional de la presente invención, un dispositivo 73 para el aislamiento sustancial de partículas C1 de al menos un tipo dado a partir de una muestra. El dispositivo 73 comprende: la entrada 2, a través de la cual, en uso, la muestra se introduce en el dispositivo 73; una unidad 3 de separación, que está diseñada para separar de manera sustancialmente selectiva al menos una parte de las partículas C1 del tipo dado de otras partículas C2 de la muestra; y una salida 8, que está conectada a la unidad 3 de separación y a través de la cual, en uso, al menos parte de las partículas C1 del tipo dado separadas de manera sustancialmente selectiva salen del dispositivo 73.

10

El dispositivo 73 comprende: una porción 74 de válvula, colocada entre la entrada 2 y la unidad 3 de separación; y una parte 77 de válvula, dispuesta entre la salida 8 y la unidad 3 de separación. En particular, el dispositivo 73 comprende una porción de válvula colocada entre cada abertura del dispositivo 73 hacia el exterior y la unidad 3 de separación.

15

De acuerdo con algunas realizaciones, el dispositivo 73 se define, incluso solo en lo que respecta a algunos aspectos tomados por separado de los demás, de acuerdo con el cuarto aspecto de la presente invención.

20

Ventajas

Se debe enfatizar que la presente invención tiene varias ventajas, además de las referidas anteriormente, en comparación con el estado de la técnica. Entre estos, mencionamos lo siguiente.

25

Las partículas C1 del tipo dado se pueden llevar a la cámara 5 de recuperación mientras que la unidad 3 de separación se aísla del exterior (las válvulas 9-10 están cerradas). De esta forma, se evita sustancialmente tanto la evaporación de la parte líquida de la muestra como del líquido portador. Evitando la evaporación, no se producen corrientes de retorno desde la cámara 5 de recuperación a la cámara 4 principal (o viceversa), reduciendo así el riesgo de que las partículas C1 y/o C2 se muevan de forma no controlada (específicamente, partículas C1 llevados a la cámara 5 de recuperación no regresan a la cámara 4 principal; asimismo, otras células C2 no son retiradas a la cámara 5 de recuperación). Además, evitando la evaporación, no ocurre un aumento en la concentración de las sales en la unidad 3 de separación. El aumento de las concentraciones de las sales puede provocar aumentos en la conductividad y disipación de potencia local con problemas correspondientes (daño a posibles electrodos presentes en las cámaras 4 y 5).

30

35

Las diversas etapas están controlados por el montaje 23 de control. Esto determina un mayor grado de reproducibilidad (de acuerdo con la técnica anterior, un operador tenía que introducir la muestra y el líquido de recuperación por medio de una pipeta).

40

La presencia de dióxido de carbono dentro del dispositivo 73 antes de cargar la muestra reduce el riesgo de formación de burbujas dentro de las cámaras 4 y 5. Las burbujas reducen el volumen de la muestra analizada y pueden evitar la recuperación de las partículas C1 de la muestra dada escriba sobre todo si ocupan una región correspondiente al canal 6.

45

La muestra entra en contacto solo con el dispositivo 73, que es ventajosamente desechable. De esta forma, no es necesario lavar las diversas partes del sistema 1, y los riesgos de contaminación entre muestras sucesivas se reducen drásticamente. A este respecto, también debe enfatizarse que la mayoría de los componentes activos, que son más complejos y costosos, se colocan en el aparato 72, que no es desechable.

50

El sistema 1 presenta volúmenes extremadamente pequeños no utilizados gracias al hecho de que la muestra se mantiene en el depósito 13 muy cerca de la unidad 3 de separación. Los depósitos 13 y 14 forman ambas partes del dispositivo 73.

55

La presente solicitud de patente reivindica la prioridad de dos solicitudes de patente italianas (específicamente, BO2009A000152, BO2009A000153), cuyos contenidos se recogen integralmente aquí. En particular, las solicitudes de patente italianas se incorporan aquí como referencia.

Otras características de la presente invención surgirán de la siguiente descripción de algunos ejemplos meramente ilustrativos y no limitativos de la realización del dispositivo 73 y del funcionamiento del sistema 1.

60

Ejemplo 1

Este ejemplo describe la producción de un chip 91 basado en silicio de la unidad 3 de separación. El chip se representa más claramente en la figura 9 y en una vista en despiece ordenado en la figura 8.

65

El chip tiene un ancho de 19.9 mm, una longitud de 24.5 mm y un espesor de 1.2 mm y comprende: un sustrato de silicio 92 (espesor: 600 μm); un elemento separador 93, que delimita las cámaras 4 y 5 y el canal 6 (espesor: 90 μm); y una tapa transparente 94, en particular hecha de borosilicato o cuarzo (500 μm).

El sustrato 92 se obtuvo utilizando tecnologías estándar CMOS (semiconductor de óxido de metal complementario). Laminado a 90° sobre el sustrato 92 había una capa de fotopolímero (Dryresist® en particular Ordyl SY300, Elga Europe) (espesor: 90 µm). La capa de fotopolímero se protegió parcialmente con una máscara fotolitográfica (una diapositiva transparente impresa con una resolución de 24000 DPI) y se sometió a radiación UV (150 W) durante 15 segundos para polimerizar las áreas de la capa de foto-polímero expuesto (es decir, no cubierto por las partes oscuras de la máscara). Una vez que se completó la polimerización selectiva, la parte no polimerizada se eliminó sumergiendo el sustrato laminado en un revelador (desarrollador de BMR - mezcla de xileno, acetato de 2-butoxietilo, mezcla de isómeros).

En este punto, el sustrato 91 con el elemento separador 93 correspondiente así obtenido se colocó en un horno a 50°C durante una hora para obtener el secado.

La tapa 94 (hecha de vidrio y que tiene un espesor de 500 µm) se obtuvo mediante molienda. Los orificios de la tapa 94 presentaban una forma troncocónica con la parte inferior con un diámetro de 700 µm y la parte superior con un diámetro de 1200 µm.

La tapa 94 se presionó contra el elemento separador 8 durante 80 minutos a una temperatura de 95°C para obtener un enlace térmico.

Ejemplo 2

Este ejemplo describe una PCB (placa de circuito impreso) 95 parcialmente ilustrada en perspectiva en la figura 4.

El PCB 95 comprendía cuatro capas de cobre preparadas utilizando técnicas fotográficas litográficas de un tipo conocido (véase, por ejemplo, el ejemplo anterior).

El PCB 95 tenía una estructura principal hecha de material compuesto de polímero epoxi y fibra de vidrio. La forma de la PCB 95 ilustrada en la figura 4 se obtuvo moliendo la estructura principal.

Las capas de cobre se incrustaron en la estructura principal y se expusieron hacia afuera con cuatrocientas almohadillas orientadas (en la Figura 4) hacia arriba (es decir, hacia el chip 91) y dispuestas (doscientas, en el área indicada por la flecha 96 y, doscientas, en el área indicada por la flecha 97) en lados opuestos de una abertura 98 de la misma PCB 95.

Estas almohadillas se conectaron eléctricamente a otras cuatrocientas almohadillas orientadas (en la Figura 4) hacia abajo; doscientos de las almohadillas adicionales estaban dispuestas en un borde de la PCB en el área indicada por la flecha 99; doscientos de las almohadillas adicionales se dispusieron en una posición correspondiente a un borde de la PCB 95 en el área indicada por la flecha 100.

Las almohadillas dispuestas en las áreas 96 y 97 estaban recubiertas con oro diseñado para conectar eléctricamente la PCB 95 al chip 91.

Las almohadillas dispuestas en las áreas 98 y 99 se recubrieron con oro y funcionaron como conectores eléctricos para la conexión eléctrica del dispositivo 73 al aparato 72 y, en particular, al montaje 23 de control.

La PCB 95 tenía un espesor de aproximadamente 1.6 mm.

Ejemplo 3

Este ejemplo describe la conexión entre el chip 91 y la PCB 95.

El chip 91 se alineó con el centro de la PCB 95 utilizando un dispositivo "recoger y colocar" y se pegó en la misma PCB 95 con un adhesivo.

Las cuatrocientas almohadillas de la PCB 95 dispuestas en las áreas 96 y 97 se conectaron al chip 91 por medio de técnicas conocidas de unión por cable con alambres de aluminio, cada una de las cuales conectaba una almohadilla respectiva a un lado 101 o 101a del chip 95. Los alambres se recubrieron entonces con una resina epoxi que se hizo para polimerizar a fin de proteger los propios cables.

En este punto, se introdujo una cantidad de 1 µl de pintura que contiene plata en cada una de las cuatro cámaras 102 (figura 9) que estaban dispuestas en las esquinas del chip 91 a través de cuatro de los orificios de la tapa 94 (dichos orificios son designado en las Figuras 8 y 9 por el número 103). La pintura se usó para crear una conexión eléctrica entre el sustrato de silicio 92 y la tapa 94.

Las figuras 29 y 30 ilustran una variante del chip 91. Dicha variante puede producirse y ensamblarse para obtener el dispositivo 73 ilustrado en la figura 31 de una manera similar a lo que se ha descrito en los ejemplos 1 a 3.

Ejemplo 4

Este ejemplo describe la producción de una placa 104 intermedia hecha de PMMA, una placa 105 superior hecha de plexiglás y una placa 106 de soporte hecha de plexiglás (figura 4).

Las placas 104, 105 y 106 tenían un espesor de aproximadamente 1 mm y se obtuvieron mediante molienda. Después de la molienda, se llevó a cabo un acabado satinado para eliminar las rebabas derivadas de la molienda. Las placas 104, 105 y 106 se lavaron a continuación con un baño de ultrasonidos.

La placa 104 se ilustra en una vista en planta superior en la figura 5 y en una vista en planta desde abajo en la figura 6. Como puede observarse fácilmente, en la superficie superior de la placa 104 (figura 5) parte de los canales (por ejemplo, 78, 80, 81), se obtuvieron los depósitos (por ejemplo, 13, 7' y 14) y los orificios (por ejemplo, 79, 82, 107, 107', 107'' y 108) del dispositivo 73. Los orificios (107) eran orificios pasantes que atraviesan todo el grosor de la placa (104) y se encontraban en pares de elementos componentes de las porciones de válvula (74, 75, 76 y 77) (figura 21).

El orificio 108 se estableció en la salida 8; a través del orificio 108, en uso, el líquido portador fluye junto con las partículas C2. Los orificios 107' y 107'' eran orificios pasantes para la conexión al chip 91.

En la superficie inferior de la placa 104 alrededor de cada par de orificios 107 y alrededor del orificio 108 se estableció una cavidad 109 respectiva. Cada cavidad tenía una forma anular y tenía un diámetro de aproximadamente 0.5 mm y una profundidad de aproximadamente 0.25 mm. La presencia de la cavidad 109 redujo el área que los elementos 30 de cierre y el anillo 70 de sellado tenían que presionar para permanecer en contacto hermético a los fluidos (con respecto a los elementos 30 de cierre para cerrar los orificios 107).

Las placas 104, 105 y 106 tenían orificios 109 pasantes respectivos. Durante el montaje del dispositivo 75, las placas 104, 105 y 106 estaban dispuestas de tal manera que las barras lineales fijas se extendían a través de los orificios 110; de esta manera, fue posible alinear las placas 104, 105 y 106 con precisión. Las placas 104, 105 y 106 tenían respectivas aberturas centrales a través de las cuales, una vez que se ensambló el dispositivo 73, era posible observar los contenidos de las cámaras 4 y 5.

La placa 106 tenía aberturas 111, que, una vez que se ensambló el dispositivo 73, permitieron que los elementos 30 de cierre y los anillos de sello 66 y 70 se expusieran hacia fuera. Colocado alrededor de cada abertura 111 había una cavidad anular respectiva, que permitía un mejor posicionamiento y un mejor sellado de los elementos 30 de cierre y de los anillos 66 y 70 de sellado. En la práctica, dichas cavidades funcionaban como alojamientos para los elementos 30 de cierre y los anillos 66 y 70 de sello.

Además, los canales, depósitos, cavidades, aberturas y orificios antes mencionados se obtuvieron por micromolido.

Las figuras 32 y 33 ilustran una variante de la placa 104. En este caso, cada cavidad 109 tiene un canal perimetral 119, que es, en particular, sustancialmente circular. Para cada porción 74, 75, 76 y 77 de válvula, un orificio 107 se coloca en una posición correspondiente al canal 119 y un orificio 107 se coloca en la cavidad 109 fuera del canal 119. Esta configuración particular permite la reducción de las perturbaciones (en particular, movimiento - succión - de fluido) durante la apertura de la válvula V (Figuras 14 y 15). La apertura de la válvula V es relativamente gradual y, por lo tanto, la presión negativa que se crea en la propia válvula V durante la apertura es relativamente baja.

Ejemplo 5

Los elementos de cierre 30, los anillos 66 y 70 de sello, y un elemento 112 de conexión se obtuvieron mediante técnicas de moldeo por inyección en sí mismas conocidas. El material utilizado se trató con Elastosil® para obtener un grado de dureza de 60 shore para los elementos 30 de cierre y 50 shore para los anillos 66 y 70 de sello y el elemento 112 de conexión.

El elemento 112 de conexión tenía una abertura central 113 y orificios pasantes 114, que, una vez que el dispositivo 73 había sido ensamblado, conectaba el chip 91 a la placa 104. En particular, los orificios 114 conectaban los orificios 107' con los orificios 115 del sustrato 92 y los orificios 107'' con orificios 116 del sustrato 92.

Ejemplo 6

Este ejemplo describe el montaje de los diversos componentes descritos anteriormente para obtener el dispositivo 73. Como ya se ha mencionado, para alinear los diversos componentes se usaron varillas lineales fijas.

Las placas 104 y 105 se conectaron con un enlace de etanol. Se aplicó una capa 117 biadhesiva (Duplobond® fabricada por Elcom SpA - espesor: 0.325 mm) en la cara superior de la placa 106. La capa 117 biadhesiva tenía una forma adecuada (en particular, con una abertura central y orificios correspondientes a los orificios 110) se obtuvieron, por ejemplo, de una cinta continua, que se cortó mediante láser o una máquina de tinción. Los elementos de cierre 30, los anillos 66 y 70 de sello, y el elemento 111 de conexión se montaron en la placa 106. En este punto, se depositó una capa

5 de organosilano sobre la superficie inferior de la placa 104 y se eliminó selectivamente por medio de plasma para formar solo un enlace cuando sea necesario (se describe un método para la unión selectiva entre los elementos de silicona y PMMA - polimetil metacrilato - en la solicitud de patente No. IT BO2007A000588). En particular, el organosilano se eliminó o no se aplicó en las áreas correspondientes a los orificios de suministro 79 y 82 y a los orificios 107, 107' y 107". Los elementos de cierre 30, los anillos 66 y 70 de sello, y el elemento 111 de conexión se activaron por medio de plasma. Las placas 104 y 106 se pusieron en contacto y se presionaron una contra la otra.

10 En este punto, se aplicó una capa adicional biadhensiva 118 (Duplobond® fabricada por Lohmann S.p.A. - espesor: 0.325 mm) en la cara inferior de la placa 106.

10 La placa 106 se presionó entonces contra la cara superior de la PCB 95, el chip 91 ya se había montado en dicha cara.

Ejemplo 7

15 Este ejemplo describe pruebas realizadas para optimizar el funcionamiento del sistema 1. La sedimentación de las partículas C1 y/o C2 representa una de las causas de adhesión de las partículas en el depósito 13 y/o en el conducto 78.

20 Usualmente, antes de que la muestra se introduzca en la cámara 4, la muestra misma permanece en el depósito 13 durante bastante tiempo (en particular, aproximadamente media hora). Durante este período, las partículas C1 y C2 se depositan en el fondo del depósito. Para separar las partículas del fondo, generalmente es necesaria una fuerza fuerte. Además, las partículas C1 y C2 se desplazan generalmente más lentamente que la parte líquida de la muestra dentro de la cámara 4. Por consiguiente, las partículas C1 y C2 entran en la cámara 4 cuando la cámara 4 ya ha estado ocupada al menos en parte por la parte líquida de la muestra y se las arreglan para distribuir solo en la parte central de la cámara 4 y no uniformemente (no logran alcanzar las partes de esquina periféricas de la cámara 4). Se puede observar que también existe el riesgo marcado de que no todas las partículas C1 y C2 lleguen a la cámara 4.

25 La distribución no uniforme de las partículas C1 y C2 dentro de la cámara 4 produce una separación más problemática de las partículas C1 de las partículas C2 y la transferencia de las partículas C1 mismas a la cámara 5.

30 Dos pruebas de carga de la cámara 4 se realizaron, consecuentemente, manteniendo el dispositivo 17 de vibración (que comprende una microbomba Thinxxs® MDP2205 en cortocircuito) apagado durante la primera prueba y operado (a una frecuencia de 30 Hz) durante la segunda prueba.

35 Las muestras usadas se prepararon utilizando un cultivo de células K562 (la concentración de las muestras era de aproximadamente 1250 partículas/ μ l) marcadas con DAPI.

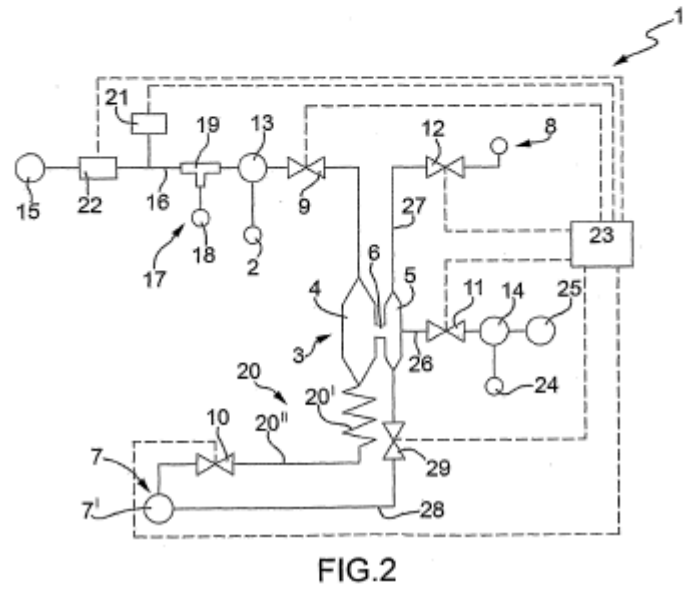
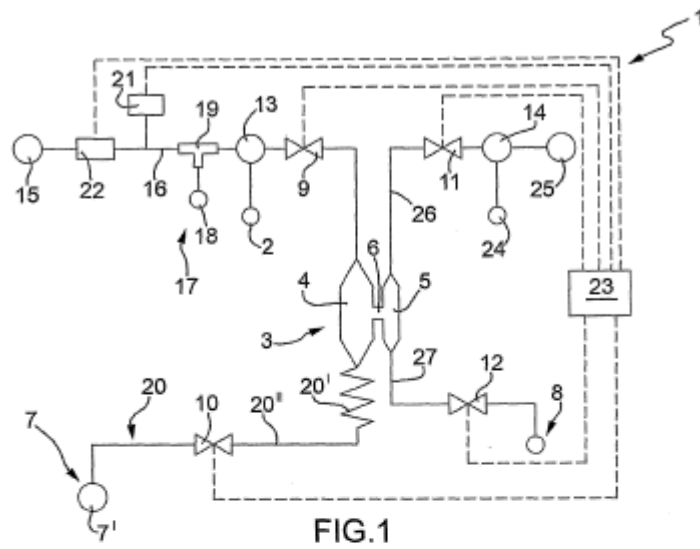
40 Los resultados de las pruebas con el dispositivo 17 de vibración desactivado se ilustran en las fotografías de la columna izquierda de la Figura 22. Los resultados de las pruebas con el dispositivo 17 de vibración activado se ilustran en las fotografías de la columna de la derecha de Figura 22. Las fotografías fueron tomadas en diferentes condiciones ópticas.

45 Como puede observarse fácilmente, cuando se activó el dispositivo 17 de vibración, las partículas C1 y C2 se distribuyeron de manera más homogénea también dentro de las esquinas de la cámara 4, lo que conduce a una reducción significativa de los volúmenes no utilizados.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo microfluídico para el aislamiento de partículas (C1) de al menos un tipo dado de una muestra; el dispositivo (73) está diseñado para conectarse a un aparato (72); el dispositivo (73) microfluídico que comprende:
 5 conectores eléctricos para conectar el propio dispositivo (73) al aparato; una primera entrada (2), a través de la cual, en uso, la muestra se introduce en el dispositivo (73) microfluídico; una unidad (3) de separación, que está conectada a la primera entrada (2), comprende una cámara (4) principal y una cámara (5) de recuperación, y está diseñada para transferir al menos parte de las partículas (C1) del tipo dado desde la cámara (4) principal hasta la cámara (5) de recuperación de forma selectiva con respecto a otras partículas (C2) de la muestra; una primera salida (7), conectada a la cámara (4) principal; y una segunda salida (8), que está conectada a la cámara (5) de recuperación, y, en particular, a través de la cual, en uso, al menos parte de las partículas (C1) del tipo dado recogidas en la cámara (5) de recuperación de salida del dispositivo (73) microfluídico; el dispositivo (73) microfluídico se caracteriza porque comprende: una primera porción (74) de válvula diseñada para formar parte de una primera válvula (9), estando dicha primera porción (74) de válvula dispuesta corriente arriba de la cámara (4) principal, concretamente entre la primera entrada (2) y la cámara (4) principal; una segunda porción (75) de válvula, diseñada para formar parte de una segunda válvula (10), dicha segunda porción (75) de válvula se coloca entre la cámara (4) principal y la primera salida (7); una tercera porción (76) de válvula, diseñada para formar parte de una tercera válvula (11), dicha tercera porción (76) de válvula se conecta a la cámara (5) de recuperación; y una cuarta porción (77) de válvula, diseñada para formar parte de una cuarta válvula (12), dicha cuarta porción (77) de válvula está dispuesta entre la cámara (5) de recuperación y la segunda salida (8); la cámara (5) de recuperación se coloca entre la cámara (4) principal en un lado y las porciones (76, 77) de válvula tercera y cuarta en el otro lado; la cámara (4) principal se coloca entre la cámara (5) de recuperación en un lado y las porciones (74, 75) de válvula primera y segunda en el otro lado; al menos una, en particular cada una de dichas porciones (74, 75, 76, 77) de válvula comprende un elemento (30) de cierre, que está diseñado para pasar entre una posición de bloqueo, en la que el elemento (30) de cierre se dispone para separar dos tramos (31, 32) de un canal respectivo del dispositivo (73) microfluídico, y una posición de apertura, en la que el elemento (30) de cierre se coloca de tal manera que los dos tramos (31, 32) están conectados el uno con el otro; al menos uno, en particular cada uno, de los elementos (30) de cierre que puede funcionar mediante un actuador respectivo externo al dispositivo (73) microfluídico, en particular que pertenece a dicho aparato (72); el dispositivo también comprende un canal (6) que conecta la cámara (4) principal y la cámara (5) de recuperación.
2. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende un canal (6) que conecta la cámara (4) principal y la cámara (5) de recuperación y tiene dimensiones menores que las de la cámara (4) principal y de la cámara (5) de recuperación.
3. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, la unidad (3) de separación comprende al menos parte de un sistema de dielectrofóresis.
4. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos uno, en particular cada uno de los elementos de cierre está al menos parcialmente expuesto y orientado hacia fuera.
5. El dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, en el que al menos uno, en particular cada uno, de dichas porciones (74, 75, 76, 77) de válvula comprende un diafragma (33), que se coloca entre dos tramos (31, 32) de un canal del dispositivo (73) microfluídico; en particular, en la posición de bloqueo, el elemento (30) de cierre está en contacto con el diafragma (33); en la posición de apertura, el elemento (30) de cierre se coloca a una distancia del diafragma (33).
6. El dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, y que comprende: una tercera salida; y una quinta porción (29') de válvula diseñada para formar una parte de una quinta válvula (29), dicha porción (29') de válvula se coloca entre la cámara (5) de recuperación y la tercera salida; opcionalmente, la tercera salida correspondiente a la primera salida.
7. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, y que comprende: un primer depósito (13), que se coloca entre la primera entrada (2) y la primera porción (74) de válvula y está diseñado para recoger la muestra introducida a través de la primera entrada (2); y un primer canal (78), que conecta el primer depósito (13) a la cámara (4) principal y a lo largo de la cual se coloca la primera porción (74) de válvula.
8. El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 7, y que comprende un primer orificio (79) de suministro; el primer depósito (13) se coloca entre el primer orificio (79) de suministro y la cámara (4) principal; el primer canal (78) que conecta el primer orificio (79) de suministro a la cámara (4) principal; el dispositivo comprende adicionalmente
- 60 un primer anillo (66) de sellado que comprende, en particular, material elástico, dicho anillo (66) de sellado rodea hacia afuera el primer orificio (79) de suministro y está diseñado para acoplarse con una boquilla (61) de suministro de presión respectiva.
9. El dispositivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 u 8, y que comprende un segundo canal (80), que está establecido entre la cámara (4) principal y la primera salida (7) y tiene una sección transversal más pequeña, en particular por al menos 100 micrómetros que la sección transversal del primer canal (78).

10. Un aparato para el aislamiento de células (C1) de al menos un tipo dado de una muestra; el aparato (72) comprende: un asiento (84) para alojar un dispositivo (73) microfluídico y un dispositivo microfluídico de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores; conectores (85) eléctricos para conectar eléctricamente el aparato (72) al dispositivo (73) microfluídico; un montaje (23) de control, conectado a los conectores (85) eléctricos; al menos cuatro accionadores (35) dinámicos de fluido, cada uno de los cuales está diseñado para formar una parte de una válvula respectiva (V; 9, 10, 11, 12) y comprende una boquilla (36) de actuador respectiva, que tiene un orificio (39) actuador respectivo; al menos dos boquillas (61, 61a) de suministro de presión, que tienen cada una un orificio (63, 63a) de suministro de presión respectivo; al menos un primer dispositivo (64) de presión conectado a las boquillas (61, 61a) de suministro de presión para determinar una presión en los orificios (63, 63a) de suministro de presión; y al menos un segundo dispositivo (87) de presión, que está conectado a las boquillas (36) de actuador y está al menos diseñado para provocar una succión en los orificios (39) de accionamiento; cada actuador (35) dinámico de fluido está diseñado para mover un elemento (30) de cierre respectivo externo al aparato (72) y que pertenece a dicho dispositivo (73) microfluídico.
11. El aparato de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el primer dispositivo (64) de presión comprende al menos una fuente (15; 25) de presión; al menos uno entre la primera y la segunda unidad (65, 65a) de presión que comprende: un primer conducto correspondiente, que conecta la fuente (15; 25) de presión a la boquilla (61; 61a) de suministro de presión respectiva; y al menos un dispositivo (17; 17a) de vibración, que está dispuesto a lo largo del primer conducto y está diseñado para provocar una variación en la forma oscilante de la presión definida por la fuente (15; 25) de presión en el orificio (63; 63a) de suministro de presión respectivo.
12. El aparato de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, en el que el segundo dispositivo (87) de presión comprende una primera unidad de succión, una segunda unidad de succión, una tercera unidad de succión y al menos una cuarta unidad (41) de succión conectadas cada una a la boquilla (36) de actuador respectiva; la primera, segunda, tercera y cuarta unidades (41) de succión son operables por separado una de la otra y están diseñadas, cada una, para definir al menos una succión en un orificio (39) de actuador correspondiente.
13. El aparato de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 12, donde al menos una primera boquilla (36) de actuador de las boquillas de actuador comprende un primer elemento (34) de presión mecánica correspondiente, que está diseñado para ejercer presión a través del orificio (39) de actuador respectivo hacia afuera.
14. El aparato de acuerdo con la reivindicación 13, donde la primera boquilla (36) de actuador comprende un elemento (37) hueco para alojar el primer elemento (34) de presión mecánica y para conectar la unidad (41) de succión respectiva al orificio (39) de actuador correspondiente; el elemento (37) hueco tiene un extremo que tiene el orificio (39) del actuador correspondiente.
15. El aparato de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 14, y que comprende al menos un segundo elemento (46) de presión mecánica para empujar una boquilla (36) de actuador respectiva hacia dicho dispositivo (73) microfluídico.
16. El aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, y que comprende un montaje (50) de refrigeración, que está diseñado para enfriar al menos una parte del dispositivo (73) microfluídico; el montaje (50) de refrigeración comprende un Peltier y un dispositivo (55) intercambiador de calor conectado al Peltier.
17. Aparato de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 16, en el que el montaje (23) de control está conectado al primer dispositivo (64) de presión y al segundo dispositivo (87) de presión para regular la presión y/o la succión en cada uno de la boquilla (36) de accionamiento y cada boquilla (61; 61a) de suministro de presión independientemente la una de la otra.
18. El aparato de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 17, y que comprende una unidad de recogida para recoger un líquido portador que contiene al menos parte de las células (C1) del tipo dado.
19. El aparato de acuerdo con la reivindicación 18, y que comprende un detector para detectar cuándo una gota de dicho líquido portador entra en la unidad de recogida.



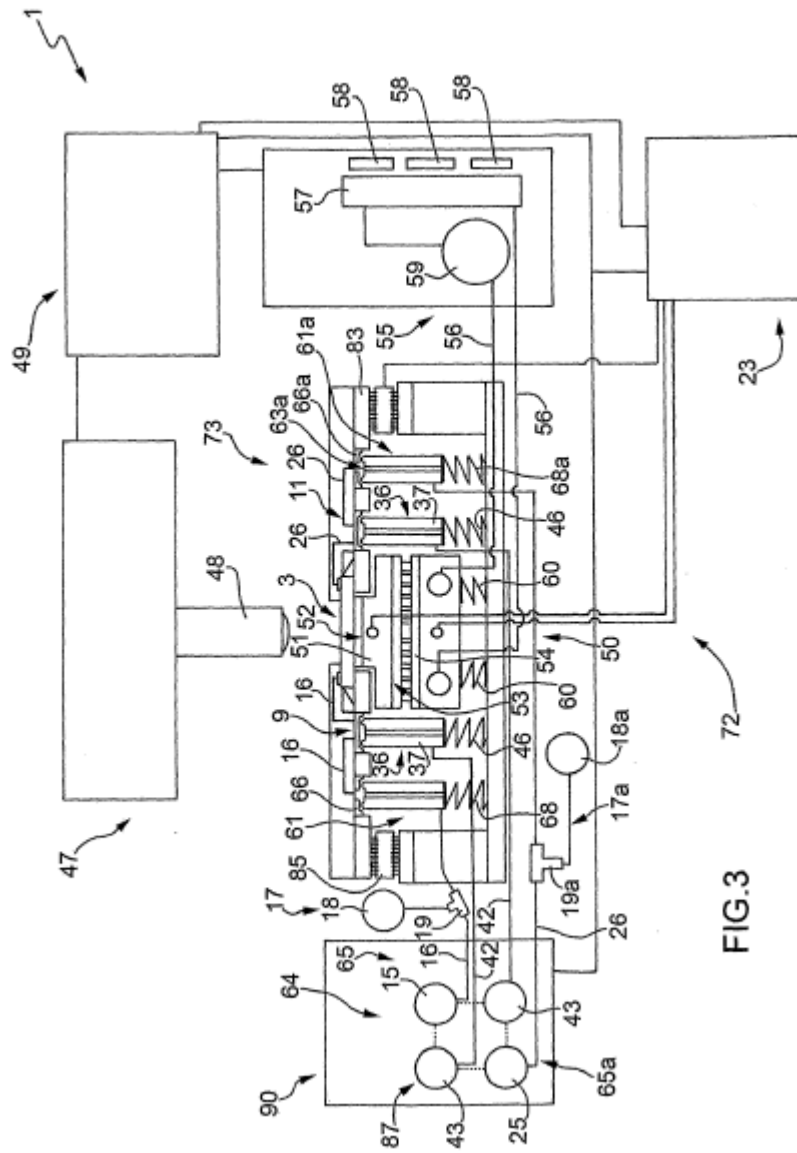
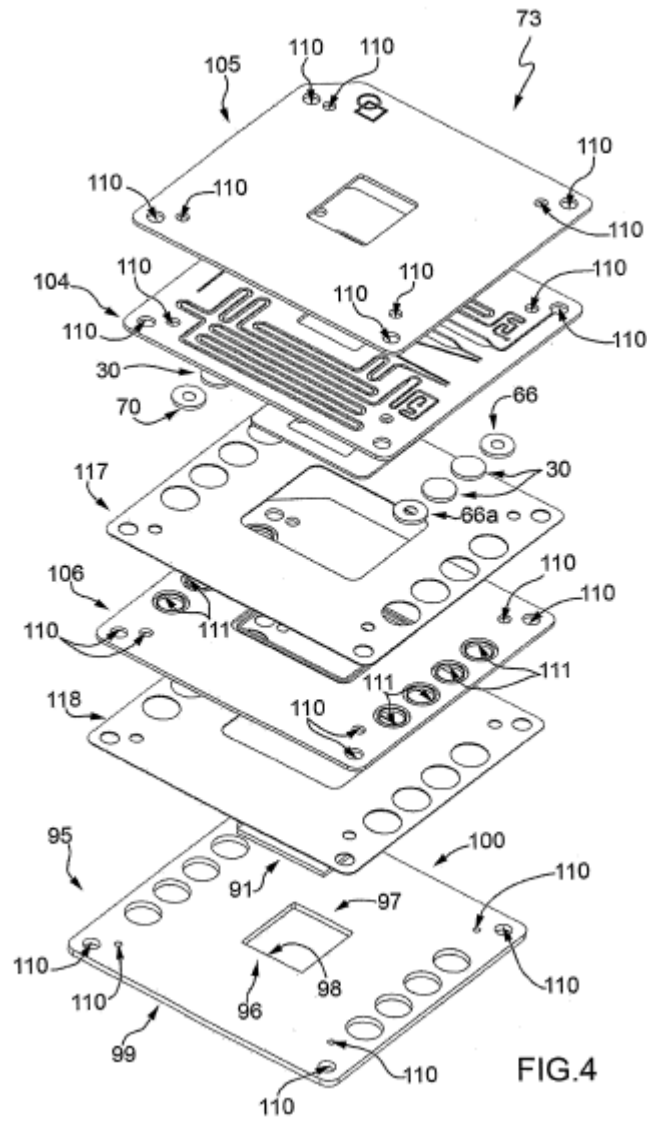


FIG. 3



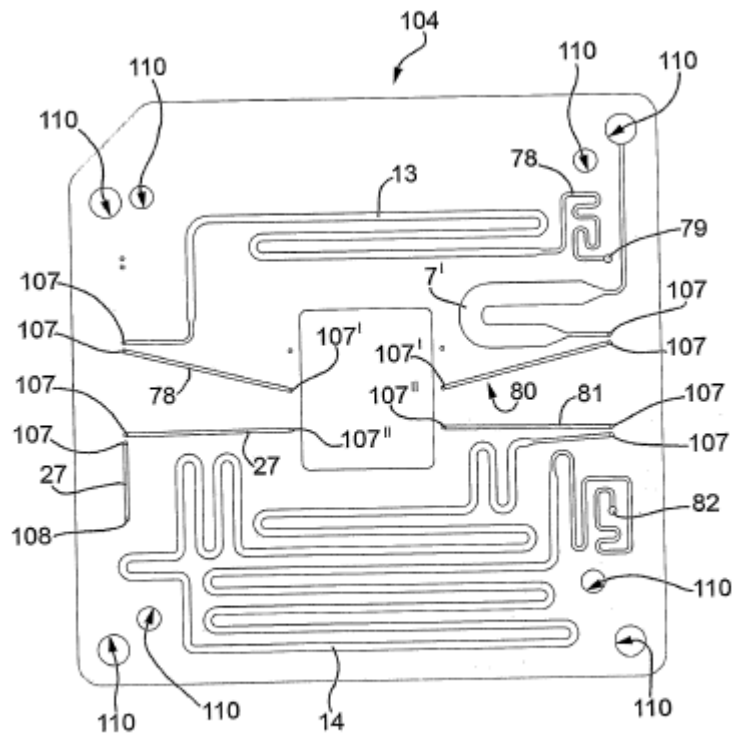


FIG.5

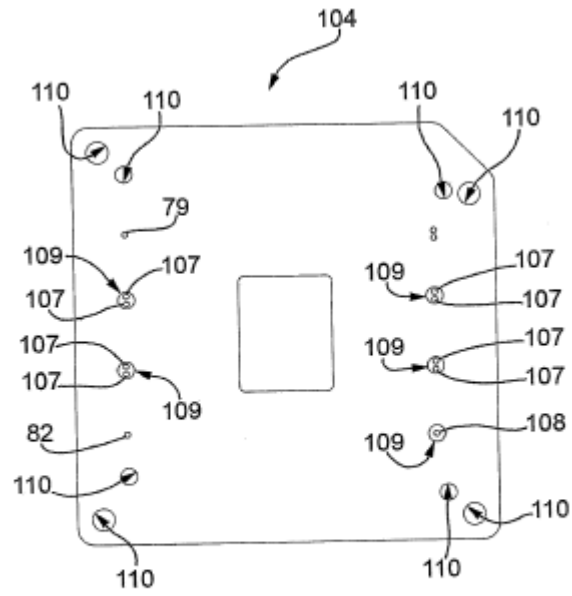


FIG.6

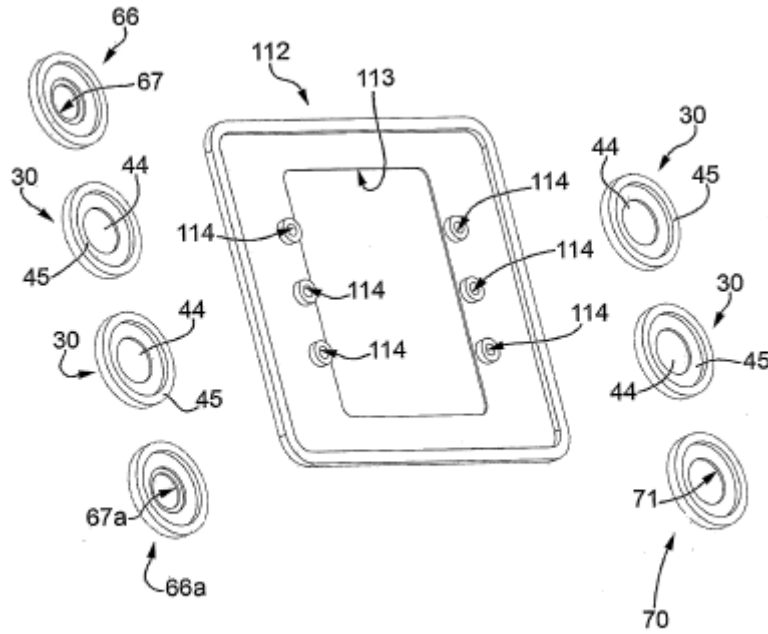


FIG.7

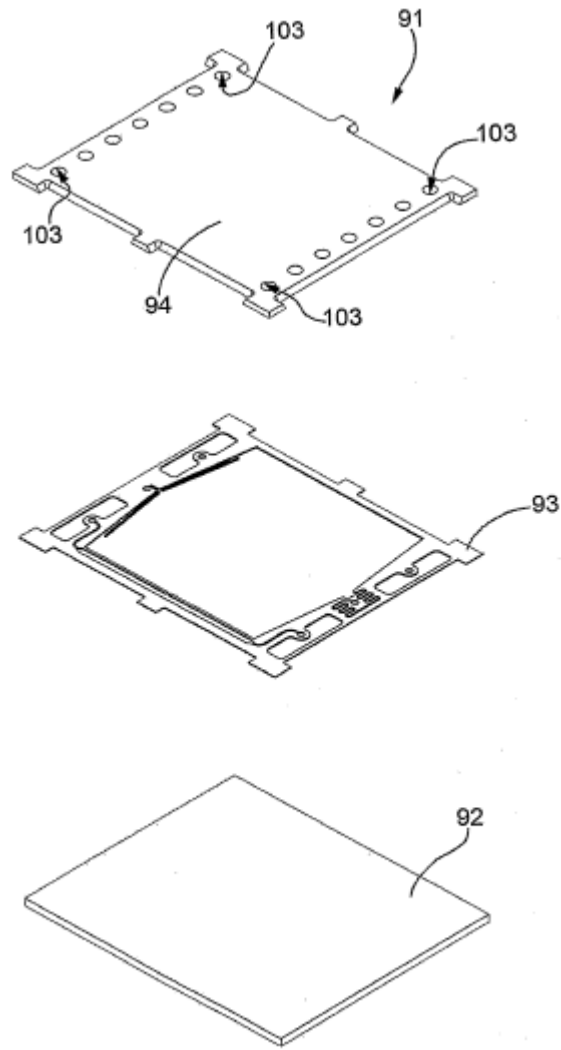


FIG.8

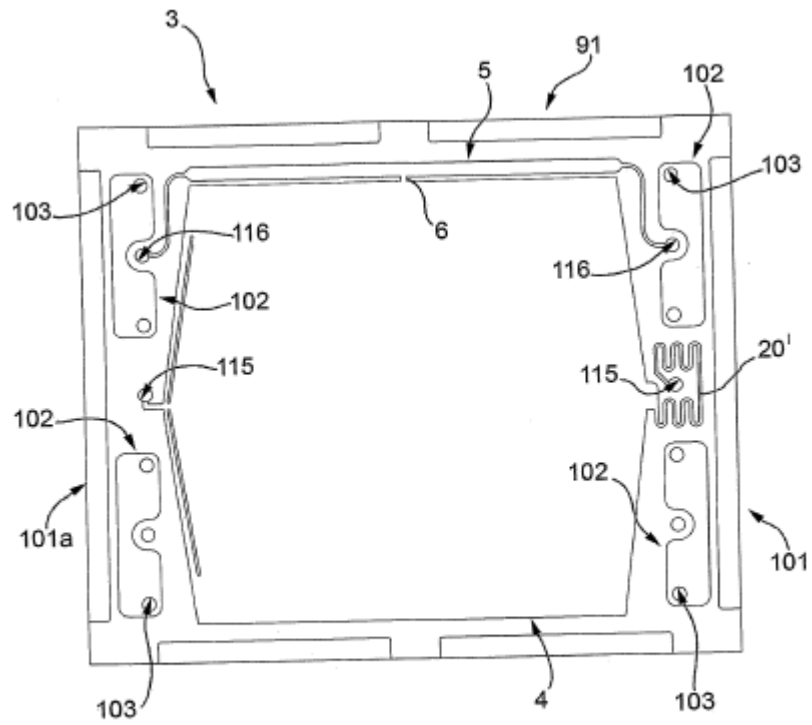


FIG.9

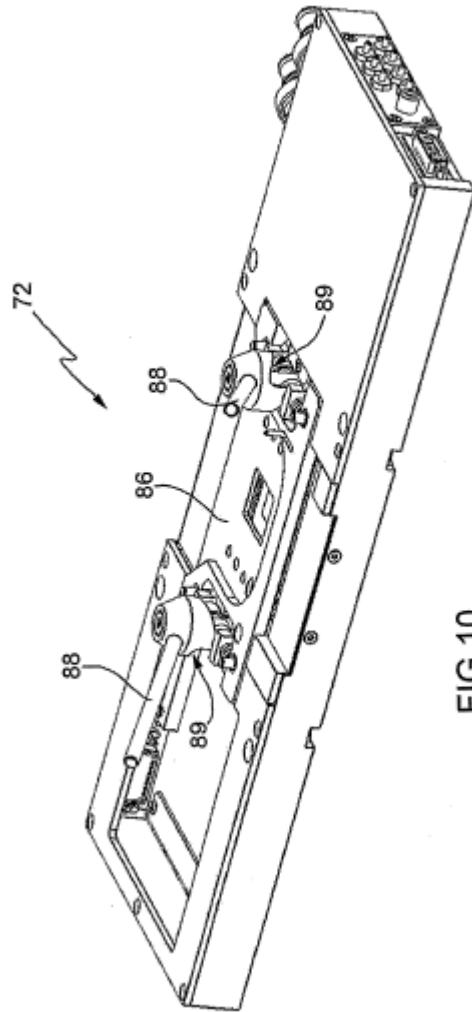


FIG.10

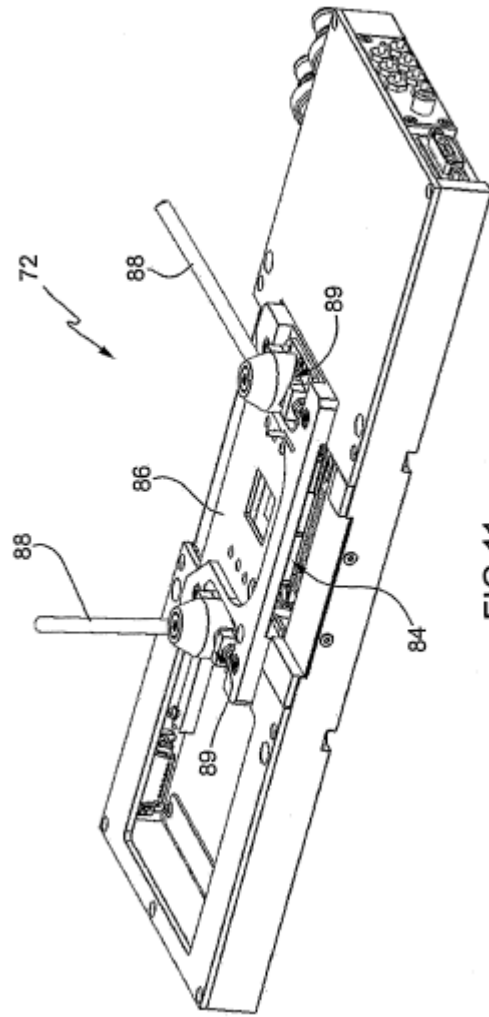


FIG.11

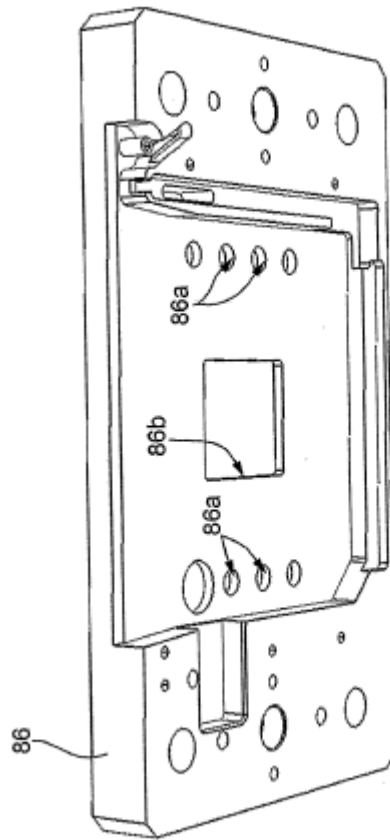


FIG.12

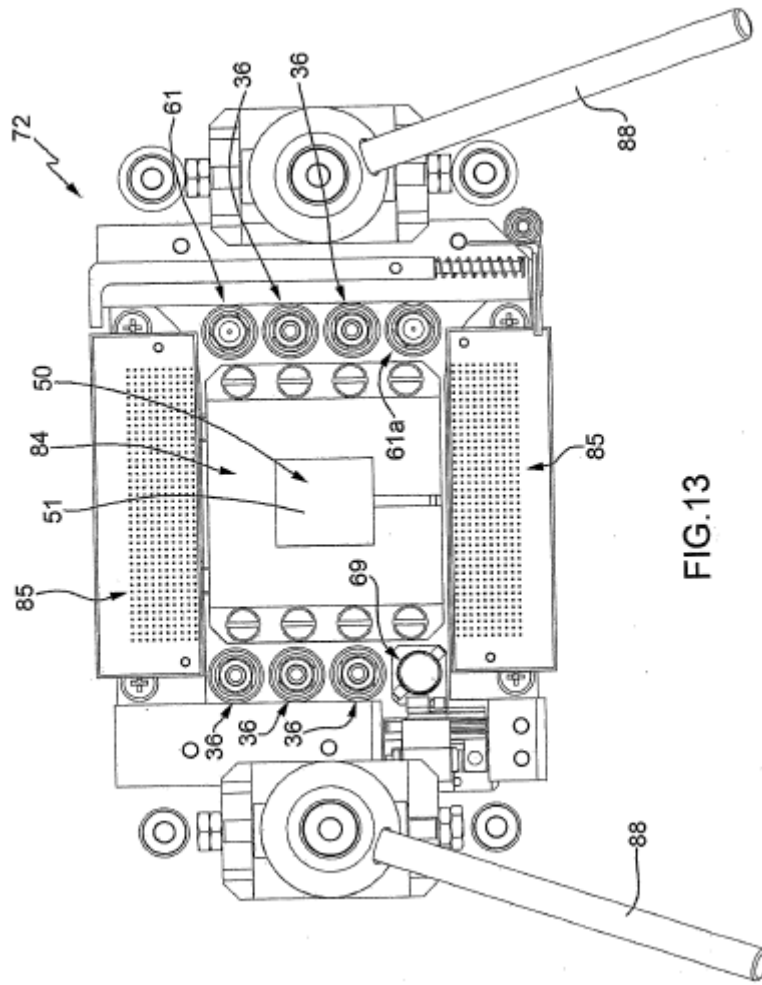


FIG.13

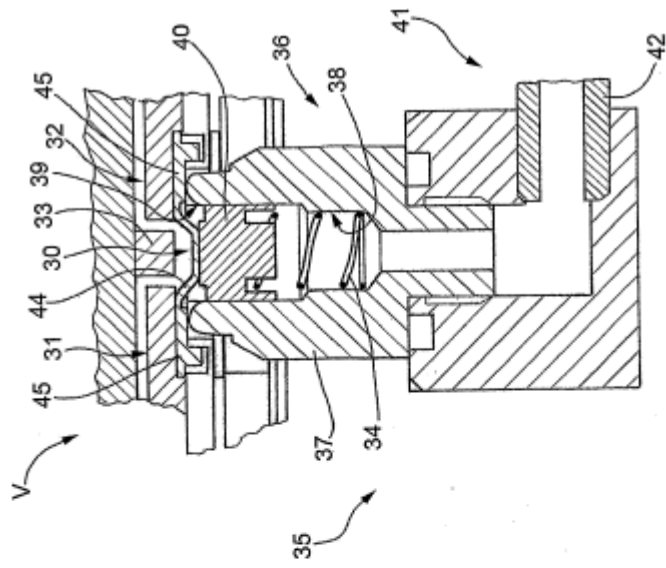


FIG.15

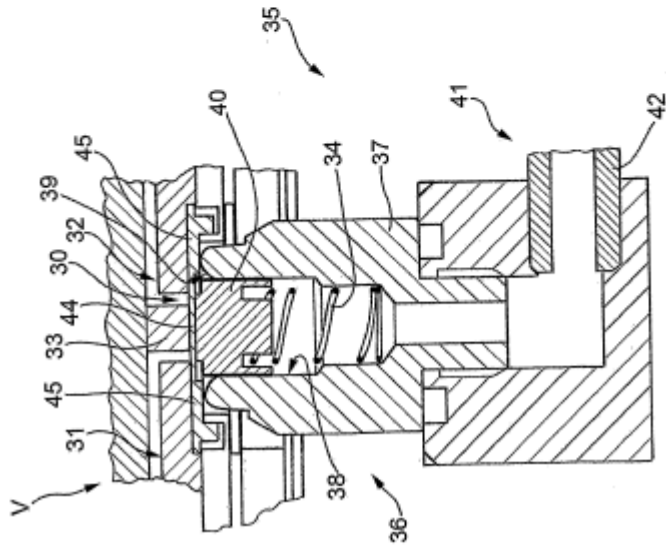
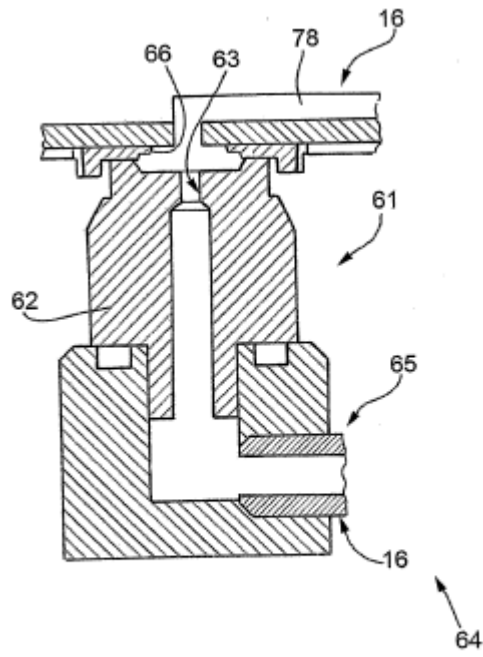


FIG.14



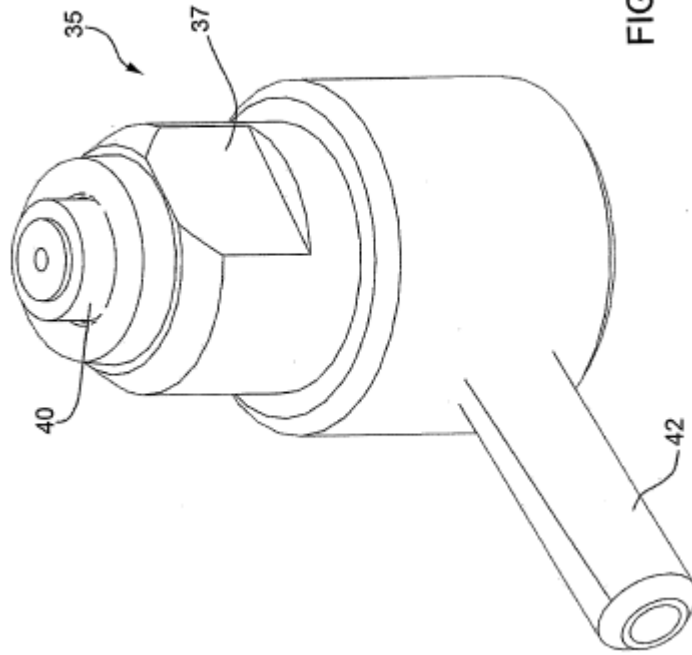


FIG.17

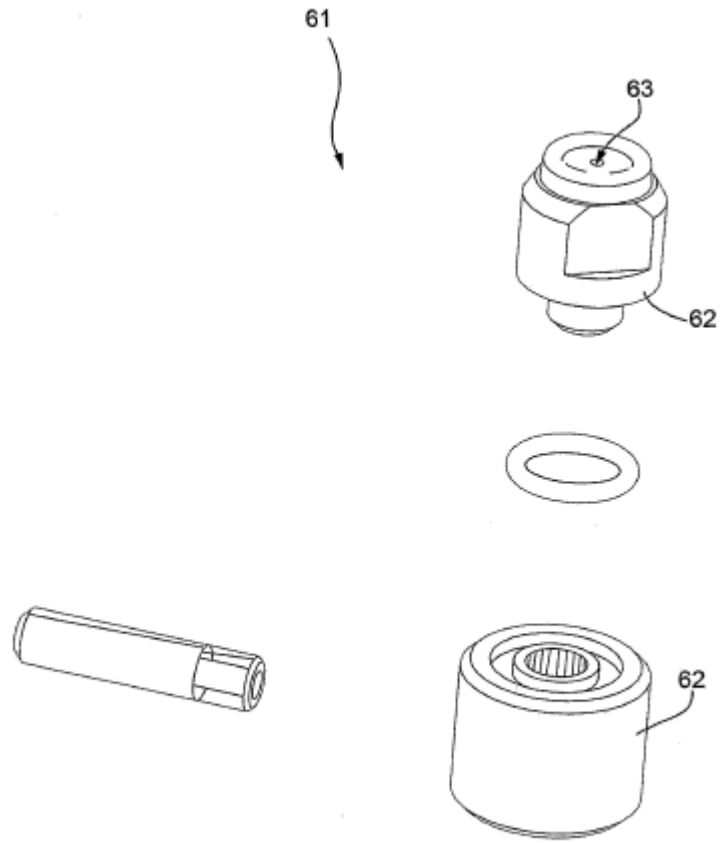


FIG.18

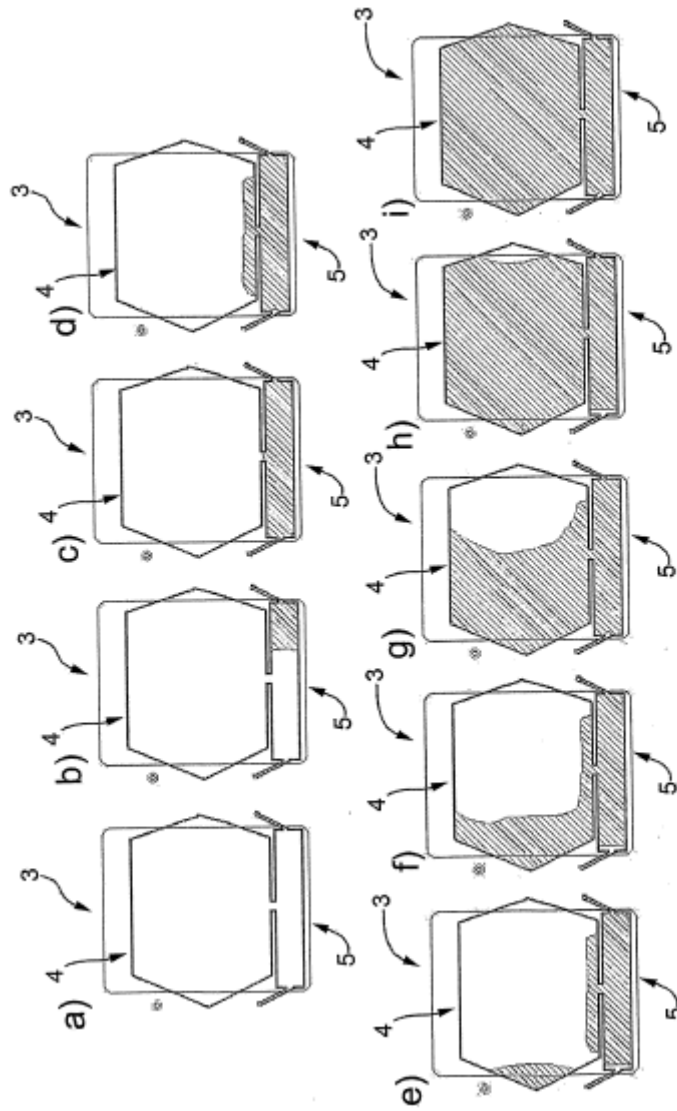


FIG.19

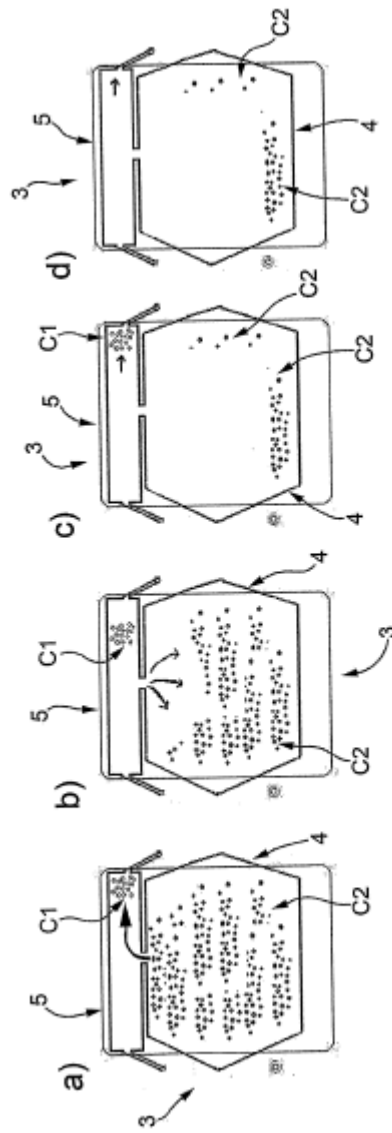


FIG.20

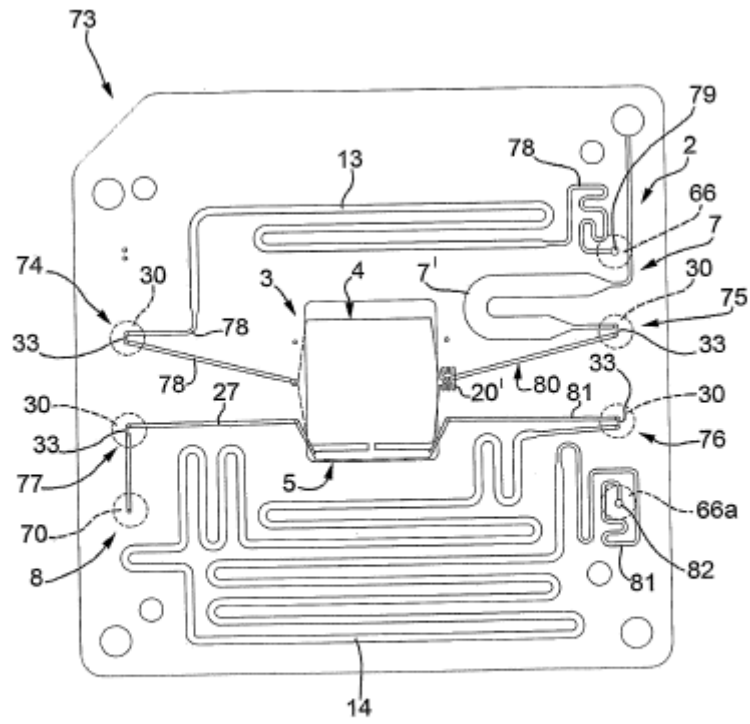


FIG.21

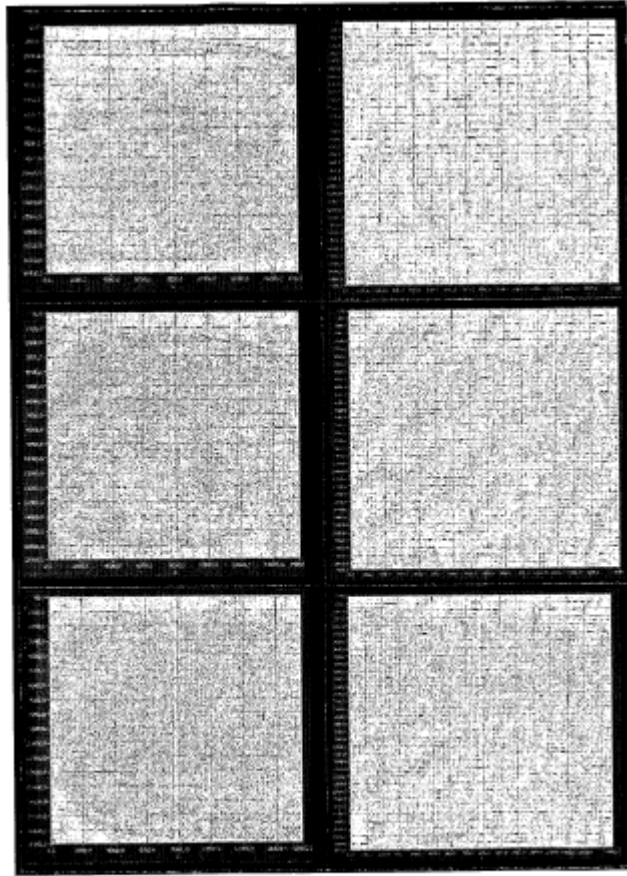


FIG.22

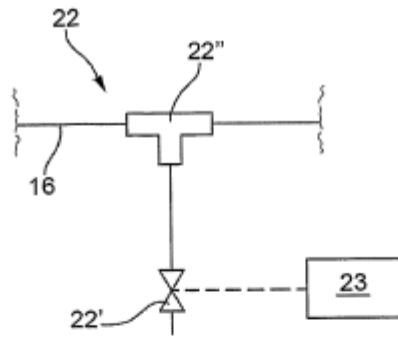


FIG.23

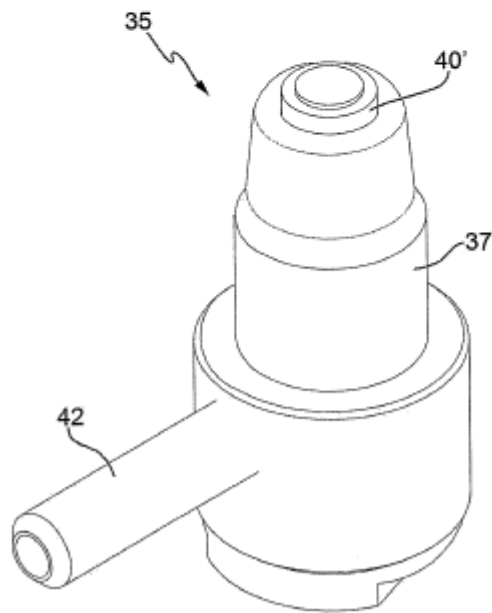
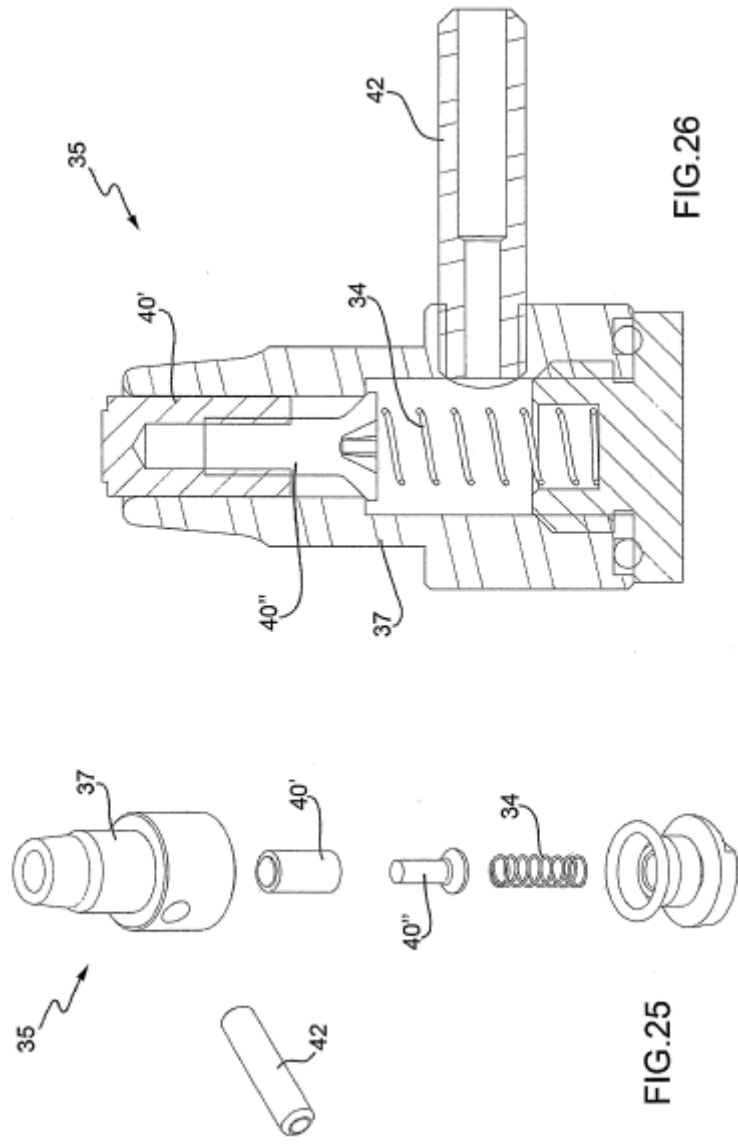


FIG.24



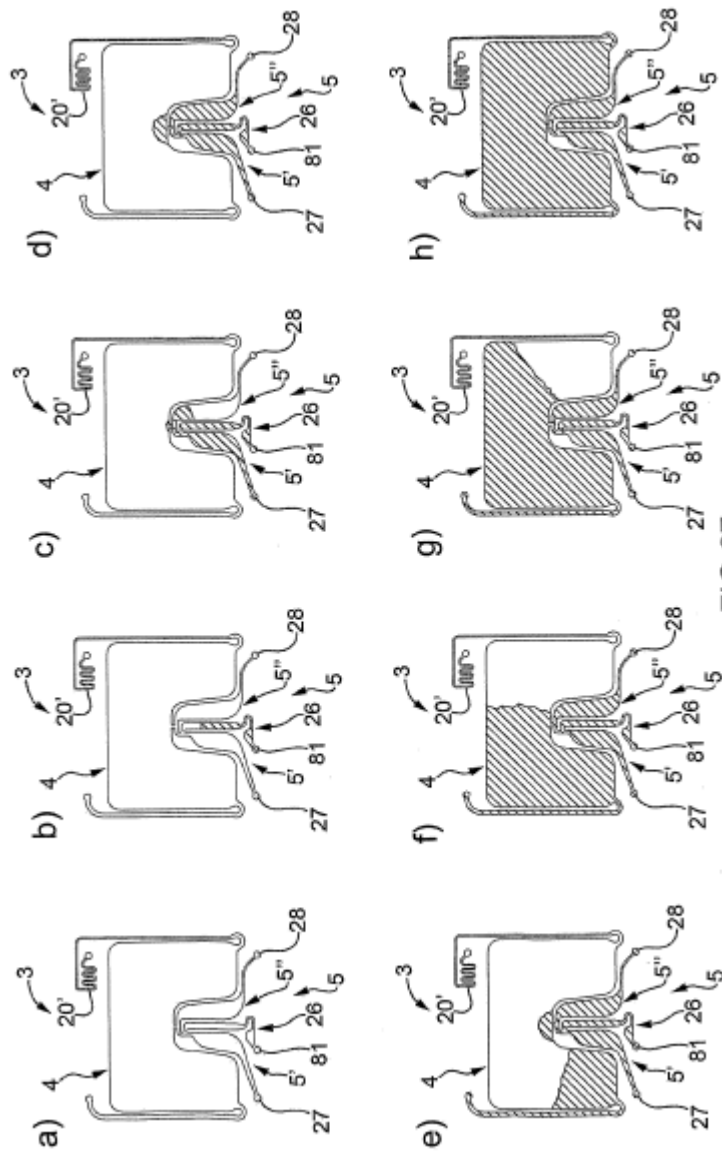


FIG. 27

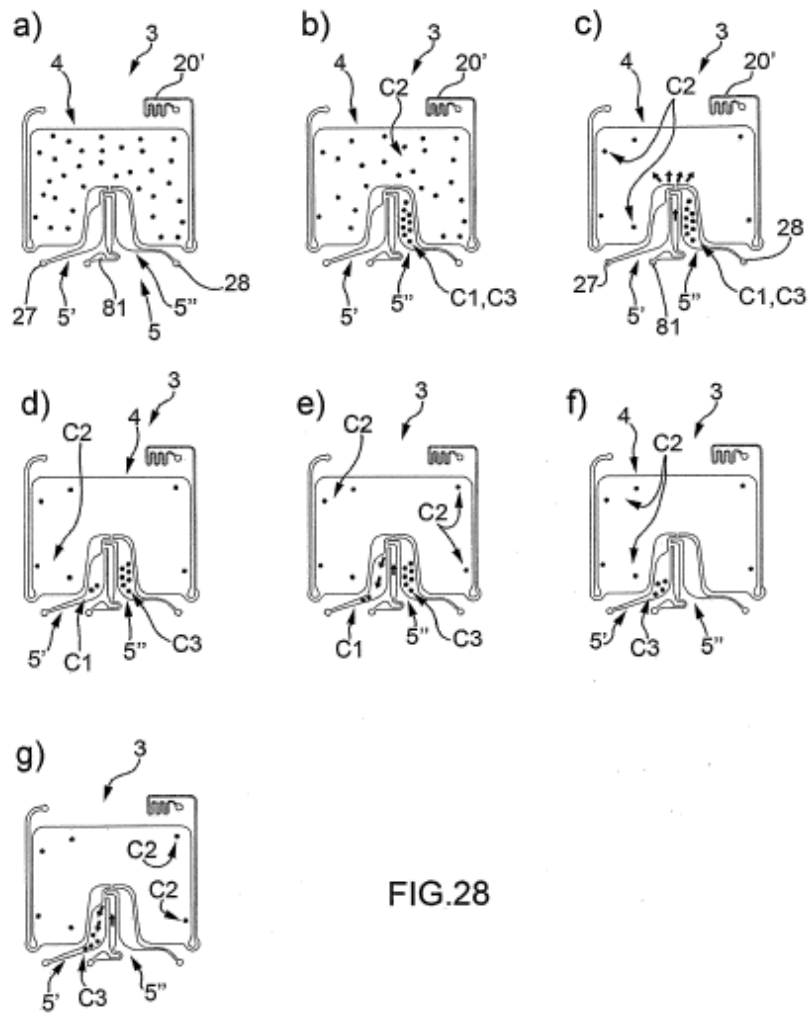


FIG.28

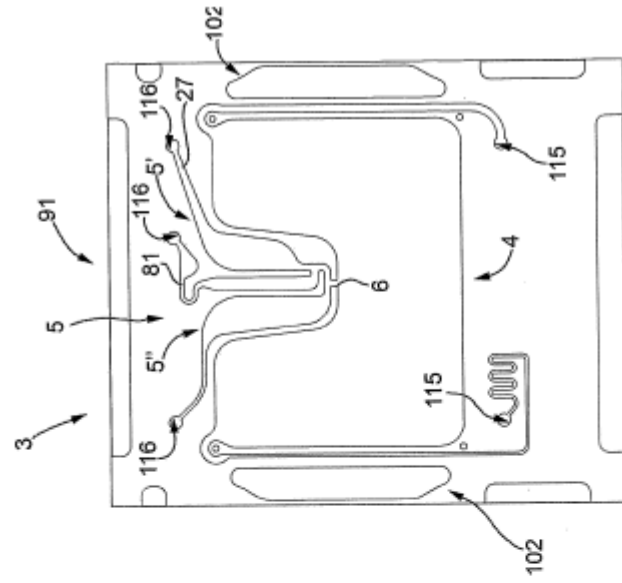


FIG.30

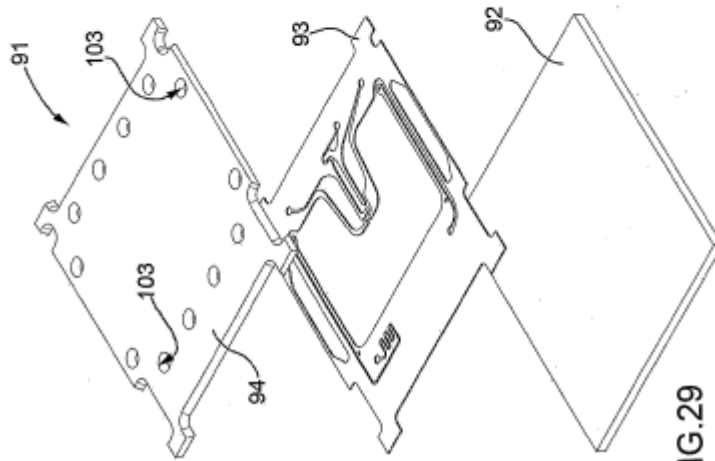


FIG.29

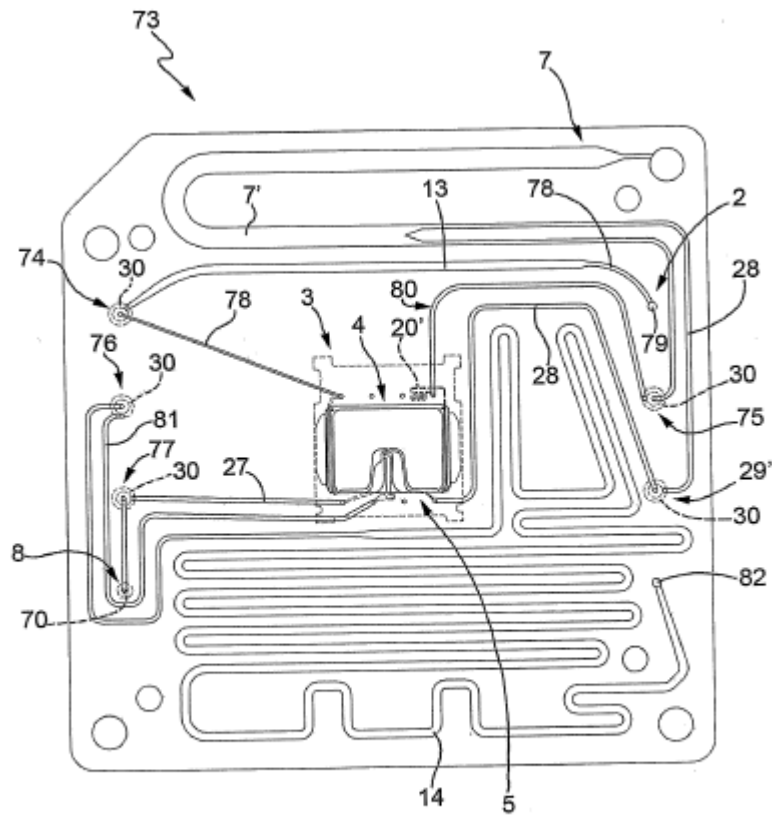


FIG.31

