

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 946**

51 Int. Cl.:

**B03C 1/28**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2004 E 12155122 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2465612**

54 Título: **Sistema que comprende una unidad del reactor para micropartículas y una unidad magnética**

30 Prioridad:

**20.10.2003 FI 20031535**

**02.02.2004 FI 20040159**

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

**13.07.2018**

73 Titular/es:

**BIOCONTROL SYSTEMS, INC. (100.0%)**

**12822 SE 32nd Street**

**Bellevue, WA 98005, US**

72 Inventor/es:

**KORPELA, MATTI y**

**RUNDT, KENNETH**

74 Agente/Representante:

**LLAGOSTERA SOTO, María Del Carmen**

**ES 2 675 946 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

Sistema que comprende una unidad del reactor para micropartículas y una unidad magnética.

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a un sistema que comprende una unidad del reactor cerrada y una unidad magnética para un método de enriquecimiento magnético, en el cual el componente biológico deseado se recoge de una solución por medio de un imán, componente que posteriormente se concentra en un líquido.

10

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Método de transferencia magnética se refiere a toda acción relacionada con el movimiento de partículas por medio de magnetismo, tal como clasificación, recogida, transferencia, mezcladura y dosificación dentro de una solución o de una solución a otra.

15

Partículas, micropartículas o partículas magnéticas se refieren a la totalidad de tales partículas pequeñas cuyo diámetro está comprendido en el intervalo de micrómetros, y que se pueden mover por medio de magnetismo.

20

Existen diversas partículas conocidas que son transferibles con un imán, y las aplicaciones en las que se utilizan las mismas son también muy variadas. Por ejemplo, las partículas utilizadas en microbiología tienen usualmente un tamaño de 0,01-100  $\mu\text{m}$ , muy frecuentemente 0,05-10  $\mu\text{m}$ . Tales partículas conocidas son, por ejemplo, partículas que contienen material ferromagnético, paramagnético o supra-magnético. Las partículas también pueden ser magnéticas en sí mismas, en cuyo caso pueden moverse por medio de cualquier objeto ferromagnético.

25

En un dispositivo destinado a tratar micropartículas, existe una unidad que aprovecha el magnetismo, a la que se hace referencia en lo sucesivo como un imán. El mismo puede ser un imán permanente o un electroimán que atrae las partículas, tales como partículas ferromagnéticas, paramagnéticas o superparamagnéticas, o un objeto ferromagnético que no es magnético en sí mismo, pero atrae todavía las partículas magnéticas.

30

Un imán es usualmente con preferencia un imán de barra redondeada. Puede ser también una barra de cualquier otra forma. Sin embargo, un imán no necesita en absoluto ser una barra. Puede ser también un objeto corto y ancho o un objeto de cualquier forma. Un imán puede estar constituido también por uno o más objetos, tales como imanes u objetos ferromagnéticos. El imán puede estar conectado también a objetos constituidos por material no ferromagnético.

35

Tiene que existir un blindaje que cubra el imán, que proteja el imán de diversas condiciones perjudiciales y que permita el tratamiento de las micropartículas, tal como la fijación y el desprendimiento. La estructura del blindaje puede variar ampliamente, pudiendo ser, por ejemplo, una membrana delgada constituida por un material flexible o elástico o incluso un vaso constituido por plástico rígido.

40

Las micropartículas se utilizan comúnmente como fase sólida para la fijación de diversos componentes biológicos, tales como ácidos nucleicos, proteínas, toxinas, orgánulos celulares, bacterias o células. Por ejemplo, anticuerpos, oligonucleótidos, polipéptidos y lectinas específicos pueden inmovilizarse en la superficie de micropartículas. Por ejemplo, pueden inmovilizarse enzimas en la superficie de micropartículas, después de lo cual el tratamiento y la utilización posterior de las enzimas es eficiente. La mayoría de las denominadas nanopartículas magnéticas (< 50 nm) no son adecuadas para ser tratadas con imanes permanentes regulares o electroimanes, sino que requieren la utilización de un gradiente magnético especialmente fuerte, tal como se describe en EP 0842704 (Miltenyi Biotec). Las partículas magnéticas, tales como micropartículas que tienen un diámetro de aproximadamente 0,1  $\mu\text{m}$  o mayor, pueden tratarse usualmente con imanes permanentes regulares o electroimanes. La viscosidad de la solución puede dificultar también considerablemente la captura de las partículas. Las partículas a capturar pueden estar suspendidas originalmente en la solución, en el caso de que se desee fijar una sustancia, por ejemplo, células, en la superficie de las micropartículas. Es de particular importancia poder utilizar grandes volúmenes iniciales en aplicaciones, en las que se desea aislar componentes para análisis. Por ejemplo, el enriquecimiento eficiente de bacterias patológicas a partir de un volumen de muestra grande a uno pequeño es crítico, dado que tiene efecto sobre la sensibilidad y el tiempo necesarios para el análisis de un ensayo directo. Actualmente, no existe forma alguna suficiente para realizar el enriquecimiento de un gran volumen a un volumen pequeño por medio de micropartículas. Sería preferible que un comportamiento como el arriba descrito fuese lo más simple y eficiente posible.

55

## 60 TÉCNICA ANTERIOR

Micropartículas tratadas por medio de un imán se han utilizado desde la década de 1970. Esta técnica se hizo muy popular en inmunoensayos, entre otros. La utilización de micropartículas en inmunoensayos para separar el complejo antígeno-anticuerpo fijado de la fracción libre proporcionaba una ventaja considerable especialmente en la velocidad de reacción. El desarrollo principal concerniente al aprovechamiento de micropartículas en los últimos años ha tenido punto en el campo de biología molecular, microbiología y biología celular.

65

En un método clásico, las partículas magnéticas presentes en la solución de reacción, tales como micropartículas, se capturan por medio de un imán externo en un punto dado en la superficie interna del tubo. Después de ello, se realiza un esfuerzo para separar cuidadosamente la solución que rodea las micropartículas. En un método clásico, los líquidos se tratan activamente y las partículas magnéticas permanecen en la misma vasija durante todo el procedimiento.

En otro procedimiento se utiliza un imán para transferir micropartículas activamente. El imán se introduce en una solución que contiene las micropartículas, después de lo cual el imán atrae las micropartículas contenidas en la solución y las mismas forman un precipitado sólido. Después de ello el imán y las micropartículas pueden separarse del líquido. El imán, junto con sus micropartículas, puede impregnarse luego en un líquido en otro tubo de ensayo, en el que las micropartículas pueden desprenderse del imán. En este método, las fases de tratamiento, pipeteado y aspiración se minimizan hasta el extremo.

Las Patentes US 3.985.649 (Eddelman), US 4.272.510 (Smith et al.), US 4.649.116 (Daty et al.), US 4.751.053 (Dodin et al.) y US 5.567.326 (Ekenberg et al.) describen soluciones, en las que el material imantable se recoge en cada una de ellas directamente de la solución con un imán. También es común a estas publicaciones que los imanes no están protegidos con blindajes de plástico separados. Estas soluciones requieren también el lavado de la punta del imán antes de tratar la muestra siguiente para eliminar el riesgo de contaminación y el efecto de arrastre de impurezas.

La Solicitud de Patente WO 87/05536 (Schröder) describe la utilización de un imán permanente, que puede moverse dentro del blindaje de plástico, para capturar material ferromagnético de una solución que lo contiene. El material ferromagnético se acumula en la punta de la unidad magnética, mientras el imán se encuentra en su posición más baja. La publicación describe la transferencia del material ferromagnético así recogido a una solución en otra vasija y el desprendimiento del material de la punta en ella. Se describe el desprendimiento del material ferromagnético por medio del diseño del blindaje de plástico que evita que el material se mueva mientras el imán se desplaza hacia arriba.

La patente US 5.837.144 (Bienhaus et al.) describe un método para la recogida de micropartículas por medio de un imán equipado con un blindaje de plástico particular. Esta publicación describe la fijación de micropartículas desde una solución, que se lleva a cabo fuera de la vasija mediante diversas disposiciones. Por el movimiento del imán, las micropartículas pueden desprenderse de la superficie del blindaje protector.

Las Patentes US 5.942.124 (Tuunanen), 6.020.211 (Tuunanen), 6.040.192 (Tuunanen), 6.065.605 (Korpela y otros), 6.207.463 (Tuunanen) y la Solicitud de Patente US 20010022948 (Tuunanen) describen también dispositivos equipados con un blindaje de plástico para recogida de micropartículas de una solución y transferencia de las mismas a otra solución. Estas publicaciones describen fundamentalmente soluciones, cuyo objetivo es tratar micropartículas en volúmenes muy pequeños. La Patente US 5.942.124 (Tuunanen) describe un dispositivo, por medio del cual pueden enriquecerse micropartículas directamente en la punta de la unidad magnética. La Patente US 6.020.211 (Tuunanen) describe la utilización del dispositivo presentado en la publicación anterior para transferencia de micropartículas reunidas por medio de un imán de gran tamaño, denominado imán clásico, a vasijas más pequeñas. La Patente US 6.040.192 describe un método automático para utilización de micropartículas en ensayos específicos y para tratamiento de volúmenes pequeños. La Patente US 6.065.605 (Korpela et al.) continúa aplicando ulteriormente la solución descrita en la Patente US 5.942.124 (Tuunanen) para tratamiento de volúmenes moderadamente grandes. Se describe ahora un método, en el cual se han recogido primeramente micropartículas por medio de una unidad magnética particular que contiene un imán de gran tamaño. Después de ello, se utiliza la unidad magnética descrita en la Patente US 5.942.124 (Tuunanen) para transferir el pélet de micropartículas ulteriormente a vasijas más pequeñas. La Patente US 6.207.463 aplica también la unidad magnética descrita anteriormente, por medio de la cual pueden recogerse las partículas magnéticas exactamente en la punta del dispositivo. La Solicitud de Patente US 20010022948 (Tuunanen) describe también el tratamiento de una cantidad muy pequeña de micropartículas en vasijas particulares diseñadas para este fin.

La patente US 6.403.038 (Heermann) describe un dispositivo que tiene un blindaje de plástico y un imán permanente unido a una barra particular. Las micropartículas se recogen en la punta del blindaje de plástico y el método está destinado particularmente a tratar volúmenes pequeños. La barra tiene una parte saliente particular, por medio de la cual el imán y la barra se mantienen inmóviles en el tubo protector.

El documento EP 1058851 (Korpela) y la Solicitud de Patente WO 01/60967 (Korpela) describen dispositivos que tienen una membrana protectora de elastómero elástica. En estas soluciones, las micropartículas se recogen en la superficie de la membrana protectora elástica, tras lo cual pueden transferirse a otra vasija. El blindaje protector del imán está hecho de material elástico, por lo cual la membrana es lo más delgada posible cuando se estira. De esta manera, se consigue una distancia lo más pequeña posible desde el imán al líquido.

Particularmente, las Patentes US 5.942.124 (Tuunanen), US 6.020.211 (Tuunanen), US 6.065.605 (Korpela et al.) y US 6.207.463 (Tuunanen) y el documento EP 0 787 296 (Tuunanen) describen una gran cantidad de micropartículas que están destinadas a ser recogidas de una vasija bastante grande por medio de un imán muy pequeño en la pequeña punta de una barra muy afilada y estrecha, lo cual es prácticamente imposible.

Una gran cantidad de micropartículas no puede transferirse a un volumen pequeño alrededor de un pequeño punto,

dado que las medidas físicas del pélet formado por la masa de micropartículas aumentan rápidamente junto con el volumen de líquido a tratar. Una gran masa de micropartículas tiene que recogerse en un área grande o en una cavidad particular.

5 Las Patentes US 4.738.773 (Muller-Rucholtz et al.), US 5.972.721 (Bruno et al.) y US 6.143.577 (Biscontee Scontee De Saint Julien; Jean Claude) describen el tratamiento de micropartículas en volúmenes moderadamente grandes por medio de diversas soluciones de célula de flujo. La publicación 6.159.689 (Adrian Parton) describe también un método basado en flujo de líquido, y en esta publicación el líquido se hace girar también en una tubería, con lo cual aumenta la eficacia de recogida de las micropartículas.

10 En la práctica, existen varias limitaciones para la utilización de micropartículas en grandes volúmenes a fin de fijar los componentes biológicos deseados, tales como virus, bacterias, levaduras o parásitos. La utilización de grandes cantidades de micropartículas, por ejemplo, en ensayos de rutina de bacterias patógenas, es imposible por razones de rentabilidad. Debería ser posible utilizar micropartículas lo más pequeñas posible, pero en cantidad suficiente, particularmente en aplicaciones en las que se desea determinar la presencia o cantidad de componentes biológicos en una muestra. Un requisito previo adicional para la solución de esta área de aplicación es que las micropartículas que se han utilizado para capturar los componentes deseados de la solución, deberían ser transportables hasta el paso de detección. Usualmente no puede transportarse una cantidad grande de micropartículas directamente hasta el paso de detección, dado que los volúmenes utilizados en la detección son a menudo sólo de 10-200 µl de tamaño.

15 La utilización de pequeñas cantidades de micropartículas es ineficaz debido a grandes volúmenes de solución y materiales de muestra problemáticos. La velocidad de reacción, es decir, el tiempo necesario para que los componentes biológicos se adhieran a la superficie de las micropartículas disminuye y la recogida de las micropartículas se vuelve considerablemente más difícil. Cada vez que las micropartículas se fijan con un imán y se desprenden a una solución para el paso de recogida siguiente, pueden perderse algunas micropartículas en la solución previa. Este problema llega a ser particularmente importante en el caso de grandes volúmenes de solución y en el caso en que la muestra contiene una gran cantidad de material particular. Ejemplos de tales muestras incluyen muestras de alimentos y homogeneizados bacterianos.

20 Ninguna de las patentes descritas anteriormente describe un método, por el cual las micropartículas podrían ser recogidas eficientemente a partir de volúmenes de líquido muy grandes y las micropartículas recogidas pudieran desprenderse en un volumen líquido más pequeño. Las publicaciones arriba mencionadas describen más bien el tratamiento de volúmenes líquidos moderadamente pequeños, tales como 0,1-10 µl. Si se desea fijar proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, células, bacterias, virus u otros componentes a partir de un gran volumen en la superficie de las micropartículas, existen ciertos requisitos básicos previos para la utilización de la cantidad óptima de partículas. Dependiendo de las micropartículas a utilizar, una cantidad preferible de partículas por mililitro de líquido a aislar puede ser, por ejemplo, al menos  $10^7$  micropartículas con un diámetro de, por ejemplo, 1-5 µm. La cantidad de partículas necesarias aumenta aún más, si se desea fijar un componente, que se encuentra en número reducido, lo más fiablemente posible a partir de una cierta unidad de volumen.

25 Ninguna de las publicaciones de patente arriba mencionadas describe tampoco un método eficiente para la recogida de los componentes biológicos deseados (v.g. bacterias) a partir de grandes volúmenes utilizando una cantidad relativamente pequeña de micropartículas y el enriquecimiento de las micropartículas recogidas y/o el componente biológico fijado a las micropartículas a un volumen pequeño.

#### 40 MÉTODO DE ENRIQUECIMIENTO MAGNÉTICO

Esta invención está orientada al desarrollo de un sistema de este tipo que es adecuado para un método de aislamiento y enriquecimiento, por ejemplo, de componentes biológicos u organismos en condiciones controladas que no tiene las desventajas presentadas anteriormente. Es característico de un método de enriquecimiento magnético conforme a la invención,

- que, por medio de las micropartículas, fijadas al imán o fijadas por medio de al menos un imán, se recoge al menos un componente biológico en una vasija del reactor cerrada,
- 55 - y que al menos un componente biológico se enriquece de tal manera que el componente deseado se desprende en la solución.

La descripción se refiere en particular a la utilización de micropartículas en diferentes vasijas de reactor, a su recogida, enriquecimiento y transferencia de una solución a otra. La fijación de micropartículas en un área amplia en la parte superior del blindaje protector provoca una gran área y capacidad de fijación que pueden utilizarse cuando se fijan componentes a partir de un gran volumen y los componentes fijados se desprenden en un volumen pequeño. El método y el equipo que tratan también grandes cantidades de partículas magnéticas en condiciones controladas se describen en la exposición. El método puede utilizarse tanto con un dispositivo manual como en un dispositivo automático, pudiendo llevarse a cabo diversas transferencias, lavados e incubaciones de micropartículas. La posibilidad de regular y controlar las condiciones siguientes, entre otras, el valor de pH y la fuerza iónica de la solución, la presión parcial del gas y la mezcladura de la solución en una unidad del reactor particular, es esencial para la

invención. Es posible conectar al dispositivo unidades que están destinadas a detectar, por ejemplo, reacciones PCR y diversos marcadores.

#### UNIDAD DEL REACTOR PARA MICROPARTÍCULAS

5 Es característico de una unidad del reactor para micropartículas conforme a la invención que la unidad del reactor es una vasija cerrada, en la cual pueden controlarse las condiciones prevalecientes.

10 La unidad del reactor es una vasija o un reactor que puede estar constituida por diversos materiales y tener diversas formas. La vasija forma una cámara de reactor que puede contener uno o más cavidades para los líquidos de entrada y salida. En la vasija puede existir un dispositivo que hace girar el líquido que se trata en el interior de la vasija. La vasija puede formar parte de una entidad de mayor tamaño, pudiendo estar conectadas unas a otras varias vasijas diferentes de distintos tamaños de manera adecuada. En una realización preferida de la invención, la unidad magnética conforme a la invención puede formar también una unidad del reactor.

#### 15 UNIDAD MAGNÉTICA

20 Es característico de la unidad magnética conforme a la invención que la forma y localización de la unidad magnética se ajustan de una manera preferible para la recogida del componente biológico deseado.

25 En una realización de la invención, existe un tubo ferromagnético dentro de la unidad magnética, mediante el cual se pueden regular la fuerza y el ajuste del campo magnético al blindaje protector circundante, alrededor del cual se recogen las micropartículas. El imán puede moverse hacia dentro y hacia fuera en relación con el tubo ferromagnético, con lo cual se modifica el campo magnético del imán. Mientras el imán está fuera, un campo magnético igual a la cantidad de imán fuera del tubo ferromagnético se ajusta al blindaje protector. Entonces, las micropartículas pueden recogerse fuera del blindaje protector. Cuando el imán está desplazado completamente dentro del tubo ferromagnético, no existe un campo magnético considerable que se ajuste hacia fuera. En este caso, las micropartículas no se acumulan alrededor de la membrana protectora, sino que permanecen en solución. El tubo puede ser fijo o ajustable a fin de obtener la mejor eficiencia posible para la recogida.

30 La unidad magnética puede estar constituida también por un imán sin un blindaje o membrana protectora separado. En este caso, el imán puede estar recubierto de manera adecuada, por ejemplo, con un recubrimiento de epoxi, fosfato o níquel.

35 En una realización, la unidad magnética está dispuesta en una vasija o reactor cerrado, al que puede añadirse líquido cuando es necesario, y que puede contener una válvula para retirar el líquido tratado, por lo cual pueden tratarse volúmenes de líquido muy grandes con la solución obtenida. En otra realización, el imán puede tener la forma de, por ejemplo, una barra, pero puede ser también de cualquier otra forma. El imán está recubierto con un recubrimiento protector, o existe una capa protectora alrededor del imán, tal como, por ejemplo, un blindaje de protección rígido separado o una membrana protectora elástica.

40 Si el tipo de reactor arriba descrito está apoyado sobre su costado y la unidad magnética puede hacerse girar en relación con los blindajes protectores del reactor, entonces puede obtenerse también la mezcla con una solución de este tipo mientras se tratan muestras líquidas y las micropartículas. Las micropartículas pueden fijarse también fácilmente a la unidad magnética o las mismas pueden fijarse de manera apropiada durante el proceso en la parte superior de la unidad magnética y, por tanto, habrá una gran cantidad de superficie activa en el reactor. Por la mezcla, el líquido a tratar puede hacerse fluir entre las micropartículas de tal manera que los componentes biológicos deseados, tales como, por ejemplo, proteínas, ácidos nucleicos, virus o bacterias se fijan a las micropartículas en la parte superior de la unidad magnética. La mezcla puede organizarse moviendo la unidad magnética en relación con la vasija circundante o viceversa. La mezcla puede organizarse también disponiendo la vasija del reactor totalmente dentro de un mezclador o aparato de sacudidas particular. Por otro lado, el líquido puede hacerse pasar entre las micropartículas organizando el flujo de líquido de una manera adecuada dentro de la vasija o el reactor.

55 La mezcla puede realizarse también mezclando por medio de la superficie exterior del reactor, en cuyo caso pueden existir salientes o depresiones adecuados en la superficie externa a fin de provocar un movimiento eficiente del líquido en el interior de la vasija del reactor. En este caso, la unidad magnética no se mueve dentro de la vasija del reactor. La mezcla provocada con la unidad magnética no precisa ser un movimiento de rotación, sino que puede conseguirse la mezcla moviendo la unidad magnética de manera adecuada en el interior de la vasija del reactor. La unidad magnética no precisa estar fijada simétricamente en la vasija del reactor, sino que puede encontrarse en un lado de la vasija del reactor o en cierto ángulo con la vasija del reactor. El objetivo es conseguir por medio de diversas modalidades de mezcla un evento de mezcla eficiente y/o una eficiencia satisfactoria para la recogida de las micropartículas.

65 El presente dispositivo puede utilizarse para recogida de micropartículas de varias vasijas diferentes, o bien puede organizarse una disposición, en la cual el flujo de líquido pasa por la unidad magnética. El último caso presenta la

ventaja de que pueden manipularse incluso grandes volúmenes de una manera relativamente fácil. Las micropartículas pueden estar inicialmente libres en la solución, de la cual se recogen luego por medio del método conforme a la invención en la parte superior de la unidad magnética. Las micropartículas pueden fijarse también fácilmente a la parte superior de la unidad magnética o la membrana protectora de la unidad magnética.

La longitud de la vasija del reactor de forma cilíndrica puede variar. Un tanque muy largo puede ser preferible en algunos casos, cuando se desea que la distancia máxima entre el líquido y el imán se mantenga lo más corta posible. Las bolsas destinadas para homogeneización, bolsas que se utilizan en los diagnósticos de alimentos para el pretratamiento de las muestras, pueden funcionar también como una vasija del reactor conforme a la invención.

La vasija del reactor puede ser una vasija de este tipo que tiene diversas estructuras en su interior, tales como, por ejemplo, áreas más estrechas, alerones en las paredes, protuberancias y entalladuras. Éstas están destinadas a provocar, por ejemplo, corrientes en la solución o a aumentar la acumulación de las micropartículas en la superficie de la unidad magnética. Una posible forma de la vasija del reactor es una estructura semejante a un reloj de arena, por la cual la corriente puede enfocarse en el punto más estrecho de la vasija. El estrechamiento puede extenderse adecuadamente y en el mismo puede estar dispuesta una unidad magnética. El ascenso y descenso de los extremos del reactor puede provocar corrientes de vasija en el interior de la vasija del reactor.

La unidad del reactor puede ser también un dispositivo, dispuesto verticalmente, con una estructura flexible o depresible particular, tal como pliegues en el fondo. Por la utilización de una vasija de este tipo se consigue una mezcladura eficiente en la vasija.

Una unidad magnética conforme a una realización de la invención tiene la característica técnica esencial de que la fuerza y el ajuste del campo magnético pueden regularse en relación con la membrana protectora que rodea el imán. Esto puede conseguirse moviendo el imán dentro del tubo ferromagnético de tal manera que el mismo puede encontrarse completamente dentro del tubo, en cuyo caso la eficiencia del imán es insignificante o inexistente, o bien puede estar parcial o completamente fuera del tubo, en cuyo caso la eficiencia y el área de recogida del imán están en relación con la parte saliente del imán. Combinando estas características para la transferencia de micropartículas a vasijas de tamaños apropiados se consigue un evento de recogida y enriquecimiento muy eficiente.

El equipo y el método descritos pueden emplearse cuando se tratan volúmenes muy grandes y, por otra parte, puede aplicarse también para volúmenes pequeños. El método es particularmente eficiente cuando la unidad magnética, la vasija a utilizar y los volúmenes de líquido están optimizados mutuamente. En particular, la utilización del volumen de líquido desplazado por la unidad magnética para ajustar la altura de la superficie del líquido es un medio muy eficiente en el paso de enriquecimiento de micropartículas y componentes biológicos en el método. Por primera vez se introducen un dispositivo y un método, mediante los cuales el área de recogida de las micropartículas y la concentración, así como la localización física de las micropartículas pueden ajustarse a las necesidades respectivas. Se describe un método, conforme al cual la unidad magnética se extrae de la unidad del reactor y las micropartículas acumuladas alrededor de la unidad magnética se enriquecen en un pequeño volumen de solución. Las micropartículas desprendidas en un pequeño volumen de solución pueden fijarse ulteriormente a la unidad magnética y transferirse a las vasijas siguientes.

El modo de enriquecimiento puede utilizarse también con un imán sin blindaje, en la parte superior del cual se recogen las micropartículas. En este caso, el imán puede estar recubierto adecuadamente. No es necesario que las micropartículas recogidas en la parte superior del imán se desprendan en este caso en una solución, sino que los componentes biológicos fijados a las micropartículas se desprenden en una solución. El desprendimiento de los componentes biológicos de la superficie de las micropartículas puede organizarse químicamente (por ejemplo, cambiando el valor de pH o la fuerza iónica de la solución o por medio de reactivos particulares) o físicamente (por ejemplo, mediante calentamiento y ultrasonidos). Se describen formas de utilización de pequeñas cantidades de micropartículas en vasijas grandes y con materiales de muestra problemáticos, así como para llevar las partículas magnéticas directamente a un volumen pequeño, por ejemplo, para su determinación ulterior. Se describe un método eficiente para la recogida de micropartículas partiendo de un gran volumen y también un modo de fijación de las micropartículas en la superficie de recogida, que se utiliza para capturar componentes biológicos deseados de una solución.

Por la fijación de las micropartículas sobre una superficie adecuada, se consigue un área de recogida muy grande. Las micropartículas fijadas a la superficie pueden recubrirse, por ejemplo, con anticuerpos, por los cuales los componentes biológicos deseados se capturan de la solución. Una manera eficiente de recogida se consigue cuando se utiliza un área lo mayor posible para la recogida de micropartículas sobre la misma. Las micropartículas no precisan formar una capa gruesa sobre la superficie, pero es preferible conseguir una superficie de recogida cubierta con micropartículas tan delgada y amplia como sea posible. Por medio de un campo magnético homogéneo, la superficie deseada puede cubrirse con micropartículas mezclando las micropartículas en la solución de una manera apropiada.

La superficie de la membrana protectora de una unidad magnética o la superficie de un imán puede cubrirse con micropartículas para obtener una superficie de recogida eficiente como se ha descrito arriba. El recubrimiento puede hacerse en una vasija del reactor u otras vasijas, en donde se procura una mezcladura suficiente de las micropartículas

5 para conseguir una cobertura uniforme. La superficie interna de la superficie exterior de la unidad del reactor puede cubrirse con micropartículas por medio de imanes situados fuera. De esta manera se obtiene un área mucho mayor para el recubrimiento de las micropartículas. El recubrimiento se realiza moviendo la vasija del reactor de manera adecuada o moviendo la solución de micropartículas dentro de la vasija del reactor de cualquier otro modo. Tanto la superficie de la unidad magnética como la superficie interna de la superficie exterior de la unidad del reactor pueden en un caso cubrirse simultáneamente por micropartículas. En este caso, los campos magnéticos fuera de la vasija del reactor deben suprimirse en la etapa en la que se desea recoger las micropartículas alrededor de la unidad de imán para tratamiento ulterior.

10 El enriquecimiento de micropartículas y componentes biológicos puede realizarse de diversas maneras, una de las cuales es la utilización del volumen muerto en una vasija adecuada. De esta manera, la unidad magnética, en la que se recogen las micropartículas, se transfiere a una vasija apropiada y la unidad magnética desplaza la solución en la vasija de tal manera que la superficie de la solución asciende a lo largo de la unidad magnética. Por la elección de la vasija, el volumen de la solución y la unidad magnética de una manera apropiada, se produce una situación en la que la solución asciende sobre las micropartículas recogidas en la unidad magnética. Al retirar el campo magnético de la unidad magnética, las micropartículas pueden desprenderse en la solución. El campo magnético puede eliminarse desplazando el imán rápidamente fuera del lado interior del blindaje elastómero o no elastómero de la unidad magnética, por medio de un tubo ferromagnético o por desconexión del electroimán. Después de ello, por movimiento de la vasija y la unidad magnética hacia arriba y hacia abajo una con respecto a otra, se obtiene una corriente satisfactoria en la solución y se mejora el desprendimiento de las micropartículas de la superficie de la membrana protectora. Como resultado, las micropartículas recogidas de un gran volumen o en la superficie de la unidad magnética se encuentran en un pequeño volumen de solución. Por la utilización de un imán sin blindaje en la unidad magnética y las micropartículas acumuladas en la superficie del imán, los componentes biológicos fijados a las micropartículas pueden desprenderse de las micropartículas utilizando el denominado volumen muerto mencionado anteriormente.

25 Una forma preferible de desprendimiento consiste en utilizar una vasija de este tipo que tiene una estructura flexible o deprimible particular, tal como, por ejemplo, pliegues en el fondo. Por la utilización de una vasija de este tipo, se consigue una variación en la superficie del líquido en la vasija y una corriente eficiente en el desprendimiento de las micropartículas. Seleccionando cuidadosamente la vasija a utilizar y las formas de la unidad magnética, se encuentran soluciones eficientes adecuadas para el tratamiento de un pequeño volumen de solución.

30 Otra forma de desprender las micropartículas de la superficie de la membrana protectora de la unidad magnética consiste en utilizar una vasija oblonga de este tipo, en la que la unidad magnética está dispuesta de modo que descansa a lo largo de su longitud. En una realización, la vasija oblonga puede ser la unidad del reactor. El campo magnético se retira de la unidad magnética de las maneras descritas anteriormente y el líquido existente en el interior de la vasija está en contacto en toda su longitud con la membrana protectora de la unidad magnética. En este caso, las micropartículas se desprenden haciendo girar la unidad magnética alrededor de su eje longitudinal en la solución dentro de la vasija. El movimiento promueve el desprendimiento de las micropartículas en la solución. Como resultado, las micropartículas se desprenden en una pequeña cantidad de solución.

35 Un tubo ferromagnético puede estar constituido por hierro u otro material adecuado, que tiene características apropiadas para evitar que la corriente magnética atravesase el tubo. La eficiencia del imán puede regularse cambiando el punto del imán en relación con el tubo ferromagnético de tal manera que una parte del imán esté dentro del tubo. Alternativamente, el imán puede dejarse en reposo y el tubo ferromagnético se mueve en relación con el imán. El imán está unido a una barra que puede ser ferromagnética o no ferromagnética, y por medio de la cual el imán puede moverse en el tubo ferromagnético.

40 El tubo ferromagnético descrito en la invención puede ser un tubo individual, un conjunto de varios tubos unidos o una disposición en la que tubos individuales dan punto a una formación particular de tubos.

45 En particular, cuando se tratan grandes volúmenes puede ser preferible incorporar varias unidades magnéticas en un grupo de unidades magnéticas, con lo cual el área de recogida para grandes masas de micropartículas puede aumentarse adicionalmente. Además, por el diseño de la membrana protectora pueden encontrarse alternativas preferibles para el tratamiento de grandes masas de partículas.

50 Conforme a la invención, pueden existir varias barras magnéticas dentro de una sola membrana protectora dispuesta adecuadamente por el círculo interior de la membrana protectora. Esto es aplicable en particular al caso de una membrana protectora de tamaño muy grande, en el cual se tratan volúmenes muy grandes de líquido. Otra alternativa consiste en utilizar una sola barra magnética muy grande dentro de una membrana protectora de gran tamaño.

55 Conforme a una realización preferida de la invención, la solución contiene unidades magnéticas separadas para la recogida de micropartículas y un dispositivo o barra particular para mover la superficie del líquido de una manera adecuada descrita en la invención. Esta solución permite enfoques, en los cuales las unidades magnéticas no se mueven en absoluto, pero el movimiento del líquido y las micropartículas se realiza por medio de una unidad diseñada

particularmente para este propósito. La vasija o reactor utilizada en una solución de este tipo está diseñada adecuadamente para corresponder a las necesidades descritas.

5 En una realización conforme a la invención, existen varias barras magnéticas separadas, cada una de las cuales incluye su propia membrana protectora. Estas barras magnéticas pueden agruparse en una formación adecuada, tal como, por ejemplo, semejante a un ventilador en línea, a lo largo del arco de un círculo o varios arcos de un círculo unos dentro de otros, en cuyo caso cada barra acumula una cantidad adecuada de partículas a su alrededor.

10 En un caso, el tubo ferromagnético no tiene que utilizarse necesariamente, cuando se desea recoger micropartículas partiendo de un gran volumen y enriquecer las mismas en un volumen pequeño. En este caso, se utiliza el imán que está imantado transversalmente, como se describe en la invención, y el enriquecimiento se realiza utilizando el volumen muerto de la herramienta magnética, respectivamente. En este caso, el imán se eleva rápidamente hacia arriba en el interior de la membrana protectora de tal manera que las micropartículas no le siguen. Esta opción es practicable también cuando no hay espacio suficiente dentro de la membrana protectora para utilizar un tubo ferromagnético. Ejemplos de estos casos son las vasijas muy estrechas, en cuales que se desea que se desprendan de las micropartículas.

20 El imán puede tener la forma de una barra redondeada o una espiga, pero puede tener también cualquier otra forma. El eje de imantación del imán puede variar también. El eje de imantación puede ser longitudinal, en cuyo caso el mismo es paralelo al eje longitudinal de la barra, y los polos del imán se encuentran en los extremos de la barra. Entonces, la imantación es paralela al tubo ferromagnético, es decir paralela a la dirección de movimiento del imán o el tubo.

25 Sin embargo, el eje de imantación del imán puede ser también transversal, en cuyo caso el mismo es perpendicular en relación con el eje longitudinal tanto del tubo ferromagnético como del imán de tipo barra. Entonces, la dirección de imantación es transversal a la dirección de movimiento del imán o el tubo.

30 Por otra parte, el imán puede estar constituido también por varios imanes separados que pueden ser iguales o diferentes y que pueden estar unidos unos a otros por medio de fuerza magnética o por un material que es ferromagnético o no ferromagnético. El imán puede ser también una combinación de material magnético y ferromagnético. El imán puede ser también un imán permanente o un electroimán.

35 Como una aplicación, el imán puede estar compuesto por un imán que está imantado longitudinal y transversalmente. Entre los imanes puede existir material ferromagnético o no ferromagnético. En este caso especial, existe un imán situado en el extremo de la unidad magnética, imán que recoge las micropartículas muy cerca de la punta, es decir la dirección de imantación es la misma que el eje longitudinal de la unidad magnética. Este imán es preferiblemente un imán NdFeB de pequeño tamaño que puede tener una ratio entre su diámetro y su longitud de, por ejemplo, 1:1. Esta solución de imán está pensada para mejorar las propiedades de enriquecimiento y tratamiento de micropartículas en volúmenes pequeños. La membrana protectora está preformada en este caso adecuadamente o es elástica, y por tanto aplicable para tratamiento de micropartículas en volúmenes pequeños. Por el diseño de la forma de la superficie exterior del blindaje de plástico o el elastómero de una manera particular, se consigue un soporte suficiente para la recogida de la masa de micropartículas que se desea recoger alrededor del blindaje de una manera preferible y fiable. El término diseño o forma particular se refiere, por ejemplo, a hendiduras, ranuras y/o protuberancias de tamaños y profundidades diferentes. Cuando se acumula entre estas formaciones, el pélet de micropartículas proporciona un soporte particular por el blindaje, mientras que la unidad magnética se mueve contra las corrientes líquidas. El efecto producido por muestras viscosas es muy importante, lo que significa en el peor de los casos que las micropartículas no se mantienen unidas a un lado del blindaje, sino que permanecen en solución. El diseño de la forma arriba descrito presenta, por supuesto, una gran ventaja para la fiabilidad de recogida, cuando se tratan grandes volúmenes.

50 La membrana protectora puede estar constituida por material inelástico, tal como, por ejemplo, polipropileno, poliestireno, policarbonato, polisulfona y polietileno. La membrana protectora puede estar constituida también por un metal no ferromagnético o un metal ferromagnético. La membrana protectora puede estar constituida también por material elastómero elástico, tal como, por ejemplo, caucho de silicona, fluoroelastómero, policloropreno, poliuretano o polietileno clorosulfonado. La membrana protectora puede tratarse también con agentes particulares y alterar por tanto las propiedades de la membrana protectora. Así, la membrana protectora puede recubrirse, por ejemplo, con teflón (PTFE, politetrafluoroetileno). Es particularmente importante poder seleccionar el material protector y el posible tratamiento adicional de tal manera que el resultado permita la acción conforme a la invención incluso con productos químicos muy fuertes o corrosivos. La forma de la membrana protectora puede ser la de un tubo, de una placa o puede ser de diseño irregular. Existen particularmente muchas alternativas cuando se utiliza una membrana protectora elastómera, dado que entonces el imán interno y el tubo ferromagnético pueden dar forma también a la membrana protectora.

65 Una alternativa preferida para la membrana protectora es una membrana protectora plana o en forma de placa constituida por material elástico. Una membrana protectora de este tipo puede ser una membrana elástica individual en un marco particular. El marco está destinado para facilitar la utilización de la membrana protectora y para conseguir propiedades adecuadas para el estiramiento de la membrana. La utilización de una membrana protectora de este tipo,

constituida por una placa, es una alternativa recomendada cuando se desea evitar el consumo de material en los eventos de aislamiento y lavado. La utilización de una membrana protectora que tiene forma de placa es también económicamente más ventajosa que la utilización de membranas protectoras de gran tamaño que se han preparado y diseñado con herramientas de moldeo.

5 La membrana protectora puede estar diseñada de hecho de tal manera que las micropartículas permanezcan unidas lo mejor posible a la membrana protectora mientras se mueve el dispositivo de transferencia a pesar de las corrientes emergentes y a pesar de la penetración de la superficie del líquido y el efecto de la tensión superficial sobre la superficie del líquido. Para ello, pueden practicarse diversas cavidades y protuberancias en la membrana protectora, con lo cual se consigue una transferencia fiable de las micropartículas recogidas a otra solución. En este caso, la membrana protectora puede estar constituida por material elástico o inelástico.

10 La membrana protectora hecha de material elástico puede tener un diseño particular que asegura la recogida y transferencia fiables de una gran cantidad de micropartículas de una vasija a otra. A este fin, los bordes de la membrana protectora pueden tener protuberancias y cavidades particulares, en los cuales se acumulan las micropartículas. Entonces es preferible utilizar un imán imantado transversalmente, por medio del cual las micropartículas pueden ser recogidas sobre un área amplia. Por el diseño de la membrana protectora se consiguen estructuras particulares que soportan masas de micropartículas. El diseño influye también en los efectos perturbadores de las corrientes líquidas y la tensión del líquido. Cuando se utilizan materiales elásticos y puntos de espesor variable, las protuberancias y las cavidades de la membrana protectora se estiran de diversas maneras. Este fenómeno puede utilizarse eficientemente tanto en el desprendimiento de las micropartículas como especialmente en la consecución de una mezcla eficiente en la solución.

15 Las micropartículas pueden contener ligandos de afinidad, enzimas, anticuerpos, bacterias, células u orgánulos celulares. La fijación de los componentes deseados puede conseguirse también eligiendo las propiedades de superficie de las micropartículas a utilizar y la composición de los tampones de manera apropiada, preferible para fijar los componentes deseados de las muestras. Ejemplos incluyen cromatografía de intercambio iónico, hidrófoba y de fase inversa. Entonces, por ejemplo, la fijación y el desprendimiento de las proteínas de la superficie de las micropartículas se realiza por medio de tampones y soluciones elegidos adecuadamente. Por ejemplo, el contenido de sal y el valor del pH son entonces factores muy importantes.

20 Un ligando de afinidad puede ser, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos mono- o bicatenaria, tal como, por ejemplo, DNA (ácido desoxirribonucleico), RNA, mRNA, cDNA (DNA complementario) o PNA (ácido nucleico peptídico), una proteína, un péptido, un polisacárido, un oligosacárido, un compuesto molecular pequeño o una lectina. Un ligando de afinidad puede ser también uno de los siguientes: Ovomucoide, Proteína A, Ácido Aminofenil Borónico, Rojo Procion, Fosforil Etanolamina, Proteína G, Fenil Alanina, Proteamina, Pepstatina, Sulfato de Dextrano, EDTA (Ácido Etilenodiamina-tetraacético), PEG (Polietilenglicol), N-acetilglucosamina, Gelatina, Glutión, Heparina, Ácido Iminodiacético, NTA (Ácido nitrilotriacético), Lectina de lenteja, Lisina, NAD (Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido), Aminobenzamida, Acriflavina, AMP, Aprotinina, Avidina, Estreptavidina, Seroalbúmina Bovina (BSA), Biotina, Concanavalina A (ConA) y Azul Cibacron.

25 La inmovilización de una enzima o un ligando de afinidad significa que una enzima o un ligando de afinidad se fija a la superficie de las partículas o que el mismo se captura dentro de una partícula "tipo jaula", sin embargo, de tal manera que la solución circundante está en contacto con ella.

30 La fijación de la enzima o el ligando de afinidad a las micropartículas puede realizarse por medio de un enlace covalente, por ejemplo, por medio de los grupos amino e hidroxilo existentes en el portador. Alternativamente, la fijación puede conseguirse por medio de un par de bioafinidad, por ejemplo, un par biotina/estreptavidina. Conforme a un procedimiento, la enzima a inmovilizar se produce con tecnología de DNA, por ejemplo, en bacterias *Escherichia coli* y se ha preparado una cola enzimática particular para la enzima. Esta cola de afinidad se fija a las micropartículas, a las cuales está fuertemente unido en la cola de afinidad en cuestión el componente de fijación de manera adecuada. La cola de afinidad puede ser un compuesto molecular pequeño o una proteína. Con esta disposición, las micropartículas podrían utilizarse de manera eficiente mientras se purifica la enzima deseada y, al mismo tiempo, la enzima unida a las micropartículas se inmovilizaría fácilmente en la superficie de las micropartículas a utilizar en el método descrito. La fijación de la enzima o el ligando de afinidad puede ser también inespecífica, no covalente, tal como por adsorción.

Las herramientas conforme a la invención permiten las soluciones y propiedades siguientes:

- 60
1. La utilización de micropartículas en condiciones controladas utilizando una vasija del reactor particular.
  2. Enriquecimiento eficiente de micropartículas.
  3. Recogida de las micropartículas únicamente en un extremo de la herramienta magnética o sobre toda la superficie del imán.
  4. Recogida de las micropartículas partiendo de un gran volumen de líquido.
  5. Recogida de una gran cantidad de micropartículas.
  6. Preparación de una superficie de recogida conseguida con una pequeña cantidad de micropartículas.
- 65

7. Recogida de las micropartículas mientras se utiliza un blindaje de plástico rígido.
8. Recogida de micropartículas mientras se utiliza un blindaje de plástico elastómero elástico.
9. Recogida de micropartículas sin un blindaje particular.
10. Utilización de diversas vasijas en el enriquecimiento.
11. Utilización de la solución desplazada provocada por medio de la herramienta magnética en el enriquecimiento de micropartículas.
12. Transferencia de micropartículas a lo largo de pasos de recogida y lavado hasta el paso de detección.
13. Utilización de diversos imanes para generar una geometría óptima de recogida de las micropartículas.
14. Mezcladura eficiente en la vasija del reactor y en la vasija de enriquecimiento para las micropartículas.

Por medio de la invención, se alcanza una solución, que es óptima para uso general en la recogida y transferencia de micropartículas partiendo de volúmenes de líquido tanto grandes como pequeños. En particular, la invención promueve la recogida de partículas en grandes volúmenes de líquido y su desprendimiento en volúmenes de líquido pequeños.

El dispositivo conforme a la invención no se limita, por ejemplo, a biología molecular o purificación de proteínas, sino que es aplicable generalmente en campos, en los que pueden utilizarse ligandos fijados a micropartículas para sintetizar, fijar, aislar, purificar o enriquecer componentes biológicos partiendo de diversas muestras: aplicaciones de diagnóstico, biomedicina, enriquecimiento de patógenos, síntesis de productos químicos, aislamiento de venenos, virus, bacterias, levaduras y células.

#### APLICACIONES DE LA INVENCION

El dispositivo conforme a la invención es aplicable para ser utilizado en un gran número de áreas de aplicación, por ejemplo, química de proteínas, biología molecular, microbiología, biología celular y proteómica. La invención tiene aplicaciones en la industria, diagnósticos, análisis e investigación.

Para la purificación de proteínas son necesarios experimentos de purificación en pequeños volúmenes y, por otra parte, aumentos de la capacidad hasta incluso volúmenes muy grandes. Por medio de la invención descrita pueden realizarse, en caso necesario, purificaciones de proteínas partiendo de diversos volúmenes de muestra. Los químicos expertos en proteínas precisan poder purificar una proteína a partir de una muestra que ha sido pretratada lo menos posible, tal como, por ejemplo, lisados celulares. También es importante modificar la capacidad de purificación conforme a las necesidades, siempre cambiantes. Actualmente, esto es posible cambiando los tamaños de columna a utilizar. A medida que progresa la purificación, el enriquecimiento de la proteína es una de las operaciones esenciales. En la práctica, esto significa una disminución del volumen de líquido sin pérdida o desnaturalización significativa alguna de las proteínas. En la actualidad, los métodos utilizados más generalmente incluyen diálisis o filtración. Ambos métodos requieren mucho tiempo. Por medio del dispositivo descrito en esta invención, puede proporcionarse en el campo de las proteínas un método versátil que es aplicable a volúmenes de muestra muy variables. El cambio de capacidad es fácil sin compra o preparación de nuevas columnas. Para un volumen de muestra mayor, se elige simplemente una cantidad mayor de micropartículas y, después de que se ha fijado la proteína, se recogen las micropartículas y la proteína de la solución por medio del dispositivo y el método descritos en la invención. Los pasos de lavado pueden realizarse en la misma vasija o cambiando la vasija. En el caso anterior, los tampones de lavado utilizados deben retirarse de la vasija y sustituirse por un tampón de lavado nuevo. El cambio del tampón puede hacerse también por medio de diversos dispositivos de válvulas o por aspiración. Después de los lavados, las proteínas unidas a las micropartículas pueden desprenderse en un volumen pequeño y la solución de proteína puede enriquecerse eficientemente.

En caso necesario, la disminución del volumen puede realizarse por etapas hasta un volumen más pequeño.

Por medio del dispositivo descrito en la invención, por ejemplo, pueden realizarse purificaciones por cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de fase inversa, cromatografía hidrófoba y cromatografía de afinidad. También puede realizarse la filtración en gel con el dispositivo descrito, si bien ello requiere llevar a cabo la filtración con gel en una columna y recoger después de ello las micropartículas por medio de un dispositivo conforme a la invención y el flujo de salida de las proteínas en un volumen pequeño. El método permite, por ejemplo, eliminar sal de las muestras sin aumentar en gran medida el volumen en comparación con las columnas clásicas de filtración con gel.

La utilización de enzimas inmovilizadas para procesar diversas proteínas, azúcares, grasas y diversos de los denominados biopolímeros es un área de aplicación muy importante para la invención descrita. Una característica importante comparada con la utilización de enzimas solubles es la posibilidad de reutilizar fácilmente las enzimas inmovilizadas. El lavado de la enzima movilizada por medio de la invención descrita para su utilización posterior es muy fácil y eficiente.

Ejemplos de grupos esenciales de enzimas y enzimas individuales, utilizadas por ejemplo en la industria, incluyen:

- CARBOHIDRASAS: Alfa-amilasas, Beta-Amilasas, Celulasa, Dextranasa, Alfa-glucosidasa, Alfa-Galactosidasa, Glucoamilasa, Hemicelulasa, Pentosanasa, Xilanasa, Invertasa, Lactasa, Pectinasa, Pululanasa

- PROTEASAS: Proteasa Ácida, Proteasa Alcalina, Bromelina, Ficina, Proteasas Neutras, Papaína, Pepsina, Peptidasas, Rennina, Quimosina, Subtilisina, Termolisina, Tripsina
- LIPASAS Y ESTERASAS: Trigliceridasas, Fosfolipasas, Esterasas, Acetilcolinesterasa, Fosfatasas, Fitasa, Amidasas, Aminoacilasa, Glutaminasa, Lisozima, Penicilin-Acilasa
- 5 - ISOMERASAS: Glucosa Isomerasa, epimerasas, racemasas
- OXIDORREDUCTASAS: Aminoácido-oxidasa, Catalasa, Cloroperoxidasa, Glucosa-oxidasa, Hidroxiesteroide-deshidrogenasa, Alcohol-deshidrogenasa, Aldehído-deshidrogenasa, Peroxidasas
- LIASAS: Acetolactato-descarboxilasa, Betadescarboxilasa aspártica, Fumarasa, Histidasa, DOPA-descarboxilasa
- 10 - TRANSFERASAS: Ciclodextrina-glicosiltransferasa, Metiltransferasa, Transaminasa, Quinasas
- LIGASAS
- FOSFATASAS: Fosfatasa alcalina

15 La utilización de enzimas es muy común en muchas ramas de la industria, algunos ejemplos de las cuales se indican a continuación: la síntesis y modificación de lípidos, proteínas, péptidos, esteroides, azúcares, aminoácidos, medicinas, plásticos, perfumes, productos químicos y los denominados productos químicos quirales. Diversas enzimas de síntesis y escisión asociadas a la glicobiología, tales como, por ejemplo, endo- y exoglicosidasas, están también dentro del alcance de la invención. Enzimas familiares de aplicaciones de biología molecular, tales como enzimas de restricción, nucleasas, ribozimas, polimerasas, ligasas, transcriptasas inversas, quinasas y fosfatasas están también dentro del alcance del método descrito en asociación con la invención. Como ejemplos de enzimas modificadoras de DNA/RNA se pueden mencionar los siguientes: CIAP (Fosfatasa alcalina intestinal de ternera), fosfatasa alcalina de E. Coli, exonucleasas (por ejemplo, nucleasa P1, nucleasa S1), ribonucleasas, RNasas (por ejemplo, RNasa pancreática, RNasa H, RNasa T1, RNasa M, RNasa T2), DNA ligasas, RNA ligasas, DNA polimerasas, enzima Klenow, RNA polimerasas, DNA quinasas, RNA quinasas, transferasas terminales, transcriptasa inversa AMV y fosfodiesterasas. La utilización de estas y otras enzimas modificadoras de DNA/RNA es muy polimorfa tanto en investigación como en aplicaciones de biología molecular. Las proteasas son enzimas muy importantes en proteómica y química de las proteínas, ejemplos de las cuales incluyen tripsina, quimotripsina, papaína, pepsina, collagenasa, dipeptidil-peptidasa IV y diversas endoproteinasas. Enzimas sintéticas, anticuerpos catalíticos y complejos multienzimáticos pueden utilizarse de las maneras descritas en la invención. La utilización de la invención no está limitada por la utilización de enzimas y otros componentes catalíticos en condiciones anhidras, por ejemplo, en disolventes orgánicos.

35 La biocatálisis se refiere comúnmente a la utilización de bacterias, enzimas y otros componentes que contienen enzimas en el proceso. Las enzimas o bacterias pueden inmovilizarse en un transportador sólido adecuado, y el agente de que se trata se pone en contacto con los componentes inmovilizados utilizando, por ejemplo, columnas clásicas. Conforme a esta invención, pueden fijarse células o enzimas a las micropartículas de una manera adecuada, pudiendo utilizarse luego dichas micropartículas conforme a la invención para realizar diversas reacciones enzimáticas.

40 El método descrito para cultivo y aislamiento de células puede utilizarse ampliamente. Células de interés incluyen, por ejemplo, células madre, linfocitos B, linfocitos T, células endoteliales, granulocitos, células de Langerhans, leucocitos, monocitos, macrófagos, células mieloides, células asesinas naturales, reticulocitos, trofoblastos, células cancerosas, células transfectadas y células de hibridoma. Métodos comúnmente conocidos, tales como, por ejemplo, un método de aislamiento directo o indirecto, pueden utilizarse en el aislamiento de células. En el primero de ellos, el método de aislamiento directo, las células deseadas se separan por fijación de las mismas a la superficie de micropartículas utilizando, por ejemplo, anticuerpos específicos. En el método indirecto, se fijan a las micropartículas, no las células deseadas, sino todas las otras células. Las células deseadas permanecen en este caso en la solución.

50 El método descrito se aplica satisfactoriamente al cultivo, aislamiento, purificación y/o enriquecimiento de bacterias, virus, levaduras y muchos otros organismos unicelulares o multicelulares. Un área de aplicación particularmente importante es el enriquecimiento de bacterias patógenas, tales como, por ejemplo, Salmonella, Listeria, Campylobacter, E. Coli 0157 y Clostridium, virus, parásitos, protozoos u otros pequeños organismos a partir de un gran volumen de líquido. El dispositivo descrito en la invención puede aprovecharse también en estas áreas de aplicación.

55 El aislamiento de orgánulos celulares y diversas fracciones celulares está también dentro del alcance del área de aplicación de la invención. Los orgánulos celulares se pueden purificar de una manera normal utilizando, por ejemplo, anticuerpos específicos y diversos ligandos de afinidad.

60 Existen diferentes necesidades para purificación de ácidos nucleicos, que van desde la purificación de cantidades minúsculas de DNA (ácido desoxirribonucleico), RNA (ácido ribonucleico) o mRNA (RNA mensajero) hasta grandes volúmenes de varios litros. El método puede utilizarse eficientemente para aislar eficientemente ácidos nucleicos partiendo de volúmenes de muestra tanto grandes como pequeños.

65 Por medio del método, puede formarse una cadena entre eventos de cultivo/crecimiento, aislamiento y purificación conforme a diversas necesidades. Las células deseadas pueden, por ejemplo, cultivarse primeramente en condiciones

adecuadas y enriquecerse después del cultivo. Posteriormente, por ejemplo, los orgánulos celulares pueden aislarse de las células. Los orgánulos celulares se purifican y el proceso puede continuar, por ejemplo, con la purificación de DNA o proteínas. Micropartículas equipadas con diversos recubrimientos y características pueden utilizarse en etapas durante el proceso. La última etapa puede ser, por ejemplo, enriquecimiento del producto purificado en el volumen deseado, amplificación y detección del producto.

5

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- Fig. 1            presenta una vista lateral parcialmente en corte de una realización de la unidad magnética.
- Fig. 2            presenta una vista lateral en corte de una vasija del reactor conforme a la invención.
- Fig. 3            presenta una vista lateral parcialmente en corte de una unidad del reactor conforme a la invención.
- Fig. 4            presenta la unidad del reactor de la figura 3 en posición horizontal.
- Fig. 5            presenta una vista en perspectiva de un armario ambiental conforme a la invención.
- Fig. 6            presenta una vista lateral en corte de un tubo.
- Fig. 7            presenta una vista lateral en corte de una unidad magnética conectada con el tubo, encontrándose el manguito de la unidad magnética en la primera posición.
- Fig. 8            corresponde a la figura 7 e ilustra una situación, en la que el manguito de la unidad magnética se encuentra en la segunda posición.
- Fig. 9            corresponde a la figura 7 e ilustra una situación, en la que el manguito de la unidad magnética se encuentra en la tercera posición.
- Fig. 10           corresponde a la figura 6 y presenta el tubo en otra situación.
- Fig. 11           presenta una vista diagramática desde arriba de unidades magnéticas paralelas dispuestas en una configuración circular.
- Fig. 12           presenta una unidad del reactor conforme a la invención.
- Fig. 13a          presenta una vista lateral en corte vertical de otra unidad del reactor conforme a la invención.
- Fig. 13b          presenta un corte tomado de Fig. 13a a lo largo de la línea A-A.
- Fig. 14a          presenta una unidad magnética situada en una vasija de mezcladura equipada con un elemento flexible.
- Fig. 14b          corresponde a Fig. 14a y presenta la vasija de mezcladura equipada con un elemento flexible en otra posición.
- Fig. 15a-c        presentan vistas laterales en corte vertical de las diversas etapas cuando se utiliza la unidad magnética junto con un tubo constituido por material elástico.
- Fig. 16a-f        presentan vistas laterales en corte vertical de las diversas etapas para tratamiento de la solución en el tubo por medio de una unidad magnética.
- Fig. 17           presenta una vista lateral parcialmente en corte de una realización de la unidad magnética equipada con una membrana protectora.
- Fig. 18           corresponde a Fig. 17 y presenta la acción de la unidad magnética en otra etapa.
- Fig. 19           corresponde a Fig. 17 y presenta la acción de la unidad magnética en la tercera etapa.
- Fig. 20           corresponde a Fig. 17 y presenta la acción de la unidad magnética en la cuarta etapa.
- Fig. 21           presenta una vista lateral parcialmente en corte de otra realización adicional de la unidad magnética equipada con otra clase de membrana protectora.

#### 10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LOS DIBUJOS

Fig. 1 presenta una unidad magnética 10 conforme a la invención, cuyo imán contiene un imán imantado transversalmente 13 y un tubo o manguito ferrometálico 12, que es transferible en dirección axial en la parte superior del imán 13. El imán 13 está protegido por una membrana protectora 21, que puede estar constituida por material elástico o rígido, con preferencia plástico o caucho de silicona. Adicionalmente, están incluidos en la unidad magnética 10 una junta de brida 33 y un eje de rotación 28, por medio de los cuales el eje de rotación del imán 13 y la membrana protectora 21 dentro de la unidad magnética 10 pueden hacerse girar alrededor de sus ejes longitudinales.

15

Fig. 2 presenta una vasija del reactor 61 conforme a la invención, que contiene canales 62 equipados con válvulas 63. La vasija del reactor 61 contiene líquido 23 necesario en el proceso. La vasija del reactor 61 y la unidad magnética 10 presentadas en Fig. 13 forman juntas una unidad del reactor 60, como se describe en Fig. 15.

20

Fig. 3 presenta una unidad del reactor 60 conforme a la invención, unidad del reactor que contiene una vasija del reactor 61 que contiene el líquido 23 necesario en el proceso, que incluye, por ejemplo, medio de cultivo, muestra, solución tampón y partículas magnéticas 22, tales como micropartículas. Agentes, tales como soluciones y partículas magnéticas apropiadas, pueden añadirse al reactor 60 en caso necesario, o pueden retirarse líquidos a través de canales 62 conectados a la vasija del reactor, canales que contienen válvulas 63. Los canales 62 o las entradas correspondientes pueden estar localizados en los lados o en los extremos de la vasija del reactor, y pueden existir varios de ellos en diversas partes de la unidad del reactor. Por medio de los canales 62, por ejemplo, se pueden controlar los gases, el valor de pH y el contenido de sal en la unidad del reactor 60. A través del canal de entrada 62 puede introducirse también más muestra en la unidad del reactor 60 y/o puede retirarse la muestra que ha estado dentro de la unidad del reactor 60. Estas entradas pueden tener filtros adecuados, por medio de los cuales el gas o la

25

30

solución contenida en su interior pueden mantenerse estériles. Las partículas magnéticas 22 se han acumulado en la superficie de la membrana protectora 21 en Fig. 15.

Fig. 4 presenta la unidad del reactor 60 de Fig. 3 en posición horizontal. Si la unidad del reactor 60 se mantiene sobre su costado en esta posición y el imán 13 y la membrana protectora 21 de la unidad magnética 10 se hacen girar en relación con el blindaje protector de la unidad magnética 10, se consigue una mezclado eficiente en el líquido 23 dentro de la unidad del reactor 60. Entonces, las partículas magnéticas se mezclan también en el líquido. La altura de la superficie del líquido 25 dentro de la unidad del reactor 60 puede regularse y optimizarse conforme a la aplicación utilizada.

Para aumentar la eficiencia de mezclado del líquido 23 dentro de la unidad del reactor 60, la membrana protectora 21 del imán 13 puede estar equipada con alerones adecuados. Mientras giran la membrana protectora 21 y los alerones, se consigue el movimiento y la mezclado del líquido 23 en la vasija del reactor 63. En punto de alerones, la superficie de la membrana protectora 21 puede estar diseñada de diversas maneras. La membrana protectora 21 puede tener también un diseño adecuado en su punta 64, que soporta con ello la unidad magnética, mientras la misma está dispuesta horizontalmente sobre su costado.

En el proceso a utilizar, las partículas magnéticas pueden estar fijadas fácilmente al blindaje protector 21 del imán 13, o pueden fijarse al mismo de una manera adecuada durante el proceso. La recogida y el desprendimiento de las partículas magnéticas de la membrana protectora 21 se consigue conforme a la invención por medio de un manguito ferromagnético 12, que se transfiere longitudinalmente encima de o fuera del imán 13. El imán 13, utilizado en la presente realización, es un imán imantado longitudinalmente. En este caso es esencial que las partículas magnéticas puedan recogerse en la unidad del reactor 60 a lo largo de una gran área alrededor de la membrana protectora 21.

Mientras las partículas magnéticas están fijadas a la membrana protectora 21, la herramienta tiene mucha superficie activa para la recogida de, por ejemplo, proteínas, células, DNA o bacterias del líquido 23 en la vasija del reactor 61. Por mezclado de la solución, se hace que la solución a tratar fluya entre las partículas magnéticas fijadas a la membrana protectora 21 de tal manera que los componentes deseados se fijen a las partículas magnéticas. También es posible en la unidad del reactor 60 el desprendimiento de vez en cuando de las partículas magnéticas a la solución de la manera descrita en la invención y la captura de las partículas magnéticas nuevamente de la solución en la superficie de la membrana protectora 21.

Fig. 5 presenta un armario ambiental 70, en el que pueden estar dispuestas simultáneamente varias unidades de reactor. Por medio de un motor 71 y un mecanismo de impulsión 72 conectado al armario ambiental 70, los imanes 13 y las membranas protectoras 21 dentro de las unidades de reactor 60 pueden hacerse girar simultáneamente. Por ejemplo, la temperatura, la velocidad de rotación de los imanes y los blindajes protectores, el intercambio de gases entre las unidades de reactor, la toma de muestras de la unidad del reactor y las adiciones de muestra o soluciones a las unidades de reactor pueden regularse en el armario ambiental 70.

Una solución de este tipo es particularmente útil en el control de calidad microbiológico, en el cual, por ejemplo, pueden cultivarse bacterias patógenas en las unidades de reactor 60. En un momento apropiado, las unidades del reactor 60 se retiran del armario ambiental 70. Entonces, las micropartículas se acumulan en la superficie de la membrana protectora 21 en la unidad magnética 10. La unidad magnética 10 del reactor 60 se retira de la vasija del reactor 61, con lo cual las partículas magnéticas pueden, por ejemplo, lavarse y enriquecerse en vasijas separadas. Cualquier otra cosa excepto las partículas magnéticas se mantendrá en la vasija del reactor liberada 61. Con el equipo pueden tratarse volúmenes muy grandes.

Fig. 6 presenta un tubo 26, que contiene un líquido apropiado 23, tal como fluido de lavado. La unidad magnética 10 desprendida del reactor 60 se lleva al tubo 26 de la manera expuesta en Fig. 7. Las partículas magnéticas 22 se acumulan todavía en este punto en la superficie de la membrana protectora 21. En esta situación, la superficie 25 del líquido de la solución 23 tiene que encontrarse por encima del área de fijación de las partículas magnéticas 22 en la superficie de la membrana protectora 21 de tal manera que las partículas magnéticas 22 se encuentran por debajo la superficie 25 del líquido.

Fig. 8 presenta una situación, en la cual el manguito ferromagnético 12 de la unidad magnética 10 está desplazado hacia abajo en la figura. En Fig. 8 se ve que el manguito ferromagnético 12 está situado ya parcialmente encima del imán 13. La transferencia del manguito ferromagnético 12 encima del imán 13 provoca la eliminación del campo magnético en dicho punto, con lo cual una parte las partículas magnéticas 22a se desprenden de la superficie de la membrana protectora 21 desde arriba. En el punto en que el manguito ferromagnético 12 no está todavía encima del imán 13, el campo magnético mantiene todavía la otra parte las partículas magnéticas 22b fijadas a la superficie de la membrana protectora 21.

En Fig. 9, el manguito ferromagnético 12 está transferido completamente encima del imán 13. Entonces, el manguito ferromagnético 12 ha provocado una eliminación completa del campo magnético, con lo cual las partículas magnéticas 22 se desprenden de la superficie de la membrana protectora 21 a la solución 23.

- En Fig. 10, la unidad magnética 10 se retira del tubo 26, con lo cual el enriquecimiento de las partículas magnéticas 22 y los componentes fijados a éstas, tales como, por ejemplo, bacterias, tiene punto en el tubo 26 fuera de la unidad del reactor 60. Por la utilización de la misma unidad magnética 10, el procesamiento de la muestra puede continuarse ahora en volúmenes más pequeños de tal manera que el área de recogida de las partículas magnéticas 22 está limitada por medio del manguito ferromagnético 12 exactamente a la punta de la membrana protectora 21. Las partículas magnéticas 22 pueden recogerse del tubo 26 a tubos siguientes y, por ejemplo, lavarse en una cantidad suficiente.
- 5
- 10 También es posible aislar DNA, RNA, proteína o antígeno de superficie de bacterias a partir de la unidad del reactor 60 por medio de reactivos propuestos para ello. Usualmente, las bacterias requieren descomposición por medio de diversos dispositivos y/o reactivos antes de los análisis ulteriores. A continuación, las micropartículas siguientes con diversas propiedades de fijación se pueden agregar al lisado bacteriano. Por medio de partículas magnéticas con una nueva característica, por ejemplo, pueden recogerse del lisado bacteriano la proteína, antígeno, DNA, rRNA, RNA o mRNA de la bacteria deseados. Las partículas magnéticas 22 destinadas a recoger las bacterias en la unidad del reactor 60 pueden haberse retirado antes que se hayan introducido en el proceso partículas magnéticas con nuevas características.
- 15
- 20 Los componentes arriba mencionados pueden aislarse, lavarse y desprenderse para el análisis primario con el método descrito en la invención. Los métodos de análisis pueden incluir, por ejemplo, amplificación PCR o un ensayo ELISA. En la vasija del reactor descrito 61 pueden cultivarse microorganismos aerobios y anaerobios. También es posible el cultivo de células eucariotas utilizando la vasija del reactor conforme a la invención.
- 25 Fig. 11 presenta un dispositivo de transferencia multicanal 40, en el que las unidades magnéticas 10 forman un círculo. Cada unidad magnética 10 puede tener una membrana protectora separada, pero conforme a otra realización, existe una sola membrana protectora compartida para todas las unidades magnéticas 10.
- 30 Fig. 12 presenta una unidad del reactor 60 conforme a la invención, en donde el líquido 23 necesario para el proceso se encuentra en la vasija del reactor 61. El líquido 23 puede contener el líquido necesario para el proceso, medio de cultivo, muestra, solución tampón y micropartículas 22. La vasija del reactor 61 está conectada y con preferencia también sellada a la junta de brida 33 de la unidad magnética 10. Existe un estrechamiento 73 en el centro de la unidad magnética 10 y la unidad magnética 10 está enfocada en el mismo punto dentro de la vasija del reactor 61. El estrechamiento 73 divide longitudinalmente el espacio interno de la vasija del reactor 61 en dos compartimentos separados 74a y 74b. Por el movimiento de la unidad del reactor 60, por ejemplo, alrededor de su eje longitudinal, se provoca una corriente eficiente alrededor de la unidad magnética 10 en la vasija del reactor 61 por el estrechamiento 73. El movimiento de la unidad del reactor 60 puede ser diferente, por ejemplo, de tal manera que la unidad del reactor 60 se balancea alrededor de su eje transversal, con lo cual los extremos se encuentran sucesivamente más altos o más bajos que el extremo opuesto.
- 35
- 40 Fig. 13a y 13b presentan otra unidad del reactor 60 conforme a la invención, en la cual el líquido 23 necesario en el proceso está situado en la vasija del reactor 61. El líquido 23 contiene la solución necesaria para el proceso, tal como medio de cultivo, muestra, solución tampón y micropartículas 22. La vasija del reactor 61 está conectada a una junta de brida 33 de la unidad magnética 10, con lo que se forma una vasija del reactor cerrada 60.
- 45 Un corte horizontal de la unidad del reactor 60 presentada en Fig. 13b muestra que existe un estrechamiento 73 en el centro de la unidad del reactor 60 y la unidad magnética 10 está enfocada en el mismo punto dentro de la vasija del reactor 61. El estrechamiento 73 divide transversalmente la vasija del reactor 61 en dos compartimentos separados 74a y 74b que están situados uno encima del otro en Fig. 13b. El líquido 23 se encuentra en Fig. 13b completamente en el compartimento inferior 74b. Cuando la unidad del reactor 60 gira alrededor de su eje longitudinal, la posición de los compartimentos 74a y 74b cambia en relación mutua. Entonces los compartimentos 74a y 74b están sucesivamente uno encima del otro, con lo que se provoca una corriente eficiente alrededor de la unidad magnética 10 por el estrechamiento 73 en la vasija del reactor 61.
- 50
- 55 Fig. 14a y 14b presentan una unidad magnética 10 y otra vasija, que puede actuar también como unidad del reactor 60 y/o tubo 26 conforme a la invención. En Fig. 14a la vasija contiene una unidad magnética 10 y líquido 23. En Fig. 14a, la superficie del líquido 23 se halla a la altura h1. La vasija 26 contiene un elemento flexible 75, que en Fig. 14a se encuentra en su posición básica. En Fig. 14b, el elemento flexible 75 está desplazado hacia abajo, con lo cual la superficie del líquido 23 se ha elevado a la altura h2. Al cambiar la longitud del elemento flexible 75, la corriente y la superficie del líquido 23 en la vasija pueden verse afectadas.
- 60
- 65 Fig. 15a presenta un tubo 26 constituido por material elástico, tubo que contiene la solución 23. En Fig. 15b, la unidad magnética 10 se introduce en la vasija, unidad magnética que se ha utilizado para desplazar hacia abajo el fondo del tubo 26 constituido por un material elástico. En la etapa estirada, se hace que la superficie de la solución 23 se eleve de manera eficiente a lo largo de la unidad magnética 10. Fig. 15c presenta una situación, en la que la unidad magnética 10 se ha retirado del tubo 26 y la superficie del líquido 23 ha descendido nuevamente al nivel original. Una solución de este tipo puede utilizarse en el enriquecimiento de micropartículas conforme a la invención.

Fig. 16a-f presentan un método realizado conforme a la invención para enriquecimiento de micropartículas 22 en un volumen pequeño y transferencia de las micropartículas 22 a la vasija siguiente en la punta de la unidad magnética 10. En Fig. 16a existe un tubo 26, tubo que contiene la solución 23. En Fig. 16b, la unidad magnética 10 que contiene micropartículas 22 que rodean su membrana protectora 21, se introduce en el tubo 26. La unidad magnética 10 y un tubo 26 seleccionado adecuadamente elevan la superficie 25 de la solución 23 de manera adecuada sobre las micropartículas 22 recogidas por el imán 13a. La unidad magnética 10 contiene un grupo de unidades magnéticas 41 que incluye a la vez un primer imán 13a imantado transversalmente a su eje longitudinal y un segundo imán 13b pequeño imantado a lo largo de su eje longitudinal exactamente en la punta de la unidad magnética 10, que se presenta en la parte inferior de Fig. 16b. El pequeño imán 13b está destinado a actuar en la transferencia de las micropartículas 22 a pequeñas vasijas en las etapas subsiguientes del proceso.

Fig. 16c presenta una situación en la que un grupo de unidades magnéticas 41 se retira rápidamente de la membrana protectora 21. Entonces las micropartículas no se desplazan junto con los imanes 13a y 13b, sino que permanecen en el punto en el que se encontraban antes del movimiento rápido de los imanes. Fig. 16d presenta una situación, en la que la membrana protectora 21 se ha movido en el tubo 26 y se ha hecho que las micropartículas 22 se desprendan de la superficie de la membrana protectora 21 a la solución 23. Fig. 16e presenta la utilización de la unidad magnética 10 mientras se recogen las micropartículas 22 existentes en el tubo 26 exactamente en la punta de la unidad magnética 10 por medio del pequeño imán 13b. En Fig. 16f, todas las micropartículas se han recogido de la solución 23 y se han transferido por medio de la unidad magnética 10 a, por ejemplo, las vasijas siguientes que contienen otras soluciones elegidas adecuadamente.

Fig. 17 presenta una unidad magnética 10 que incluye un imán 13 imantado transversalmente, un manguito ferromagnético 12 y una membrana protectora 21 que contiene nervios 29 en su superficie exterior. Entre los nervios 29 existen cavidades en las que se acumulan las micropartículas 22 y por medio de las cuales se asegura una recogida fiable de una gran cantidad de micropartículas en superficies amplias y su transferencia desde una vasija a otra.

Fig. 18 presenta la unidad magnética 10 de Fig. 17 en una posición, en la cual el imán (13) está desplazado completamente fuera del manguito ferromagnético 12. Entonces el imán imantado transversalmente 13 recoge las micropartículas 22 en su membrana protectora 21 en toda su longitud. Cuando se desplaza el imán 13 hacia fuera, la membrana protectora 21 se estira con ello de tal manera que se formarán grandes cavidades o bolsas entre los nervios 29. Las micropartículas 22 permanecerán en estas bolsas de tal manera que será fácil mantenerlas quietas en su punto mientras se eleva la unidad magnética 10. Las corrientes líquidas causadas por el movimiento de la unidad magnética 10 y el efecto perturbador de la tensión superficial provocado por la penetración de la superficie no desprenden las micropartículas 22 de las bolsas.

Fig. 19 presenta una situación, en la que el imán 13 está desplazado completamente fuera del manguito ferromagnético 12 y simultáneamente el manguito ferromagnético 12 está desplazado también completamente fuera. Entonces el manguito ferromagnético 12 desplazado encima del imán 13 neutraliza la fuerza magnética del imán 13 y las micropartículas 22 se desprenden de la membrana protectora y se transfieren al líquido.

Fig. 20 presenta nuevamente una situación, en la que sólo está desplazado completamente fuera el manguito ferromagnético 12. En este caso, el imán 13 no tiene fuerza magnética alguna, por lo que las micropartículas 22 no se acumulan en la superficie de la membrana protectora 21. En su lugar, puede utilizarse esta etapa, presentada en Fig. 26, sucesivamente con la etapa presentada en Fig. 23, con lo que se consigue eficientemente en el líquido un efecto de bomba de mezcladura. Asimismo, las etapas presentadas en Fig. 18 y 19 pueden utilizarse naturalmente de manera sucesiva, es decir, mientras que el imán 13 está desplazado completamente fuera, sólo el manguito ferromagnético 12 se mueve hacia atrás y adelante. De esta manera se consigue también en el líquido un efecto de bomba de mezcladura.

Fig. 21 presenta otra unidad magnética 10 que incluye un imán 13 imantado longitudinalmente, un manguito ferromagnético 12 y una membrana protectora 21 que tiene una bolsa 42 en su extremo para las micropartículas 22. Por medio de una estructura de este tipo, puede recogerse una gran cantidad de partículas 22, partículas que no se desprenden fácilmente de la superficie de la membrana protectora 21 durante la transferencia.

Fig. 22 presenta de manera general una unidad del reactor 60 conforme a la invención que incluye en su forma simple una vasija del reactor 61 y una tapa 33, por medio de la cual la vasija del reactor 61 puede cerrarse en la unidad del reactor 60. La vasija del reactor 61 contiene el líquido 23 necesario para el proceso, líquido que contiene el líquido necesario para el proceso, tal como medio de cultivo, muestra, solución tampón y micropartículas 22. En esta realización, la unidad magnética 10 está conectada a la tapa 33 de la vasija del reactor 61, tapa que actúa simultáneamente como una junta de brida para la unidad magnética 10. En el caso más simple, el imán de la unidad magnética 10, incluido en la unidad del reactor 60, es simplemente un imán que no tiene membrana protectora alguna, por lo que no cae dentro del alcance de la invención. Conforme a las realizaciones presentadas anteriormente y otras, el imán está recubierto con un recubrimiento protector o existe un blindaje o membrana protectora separado constituido por un material elastómero o no elastómero en conexión con el imán.

Las realizaciones mencionadas anteriormente sirven sólo tales como ejemplos de aplicación de la idea conforme a la invención. Es evidente para los expertos en la materia que pueden existir diversas realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones que siguen más adelante.

5 LISTA DE REFERENCIAS

	10 unidad magnética
	12 tubo o manguito ferromagnético
	13 imán
10	21 membrana protectora
	22 micropartículas
	23 solución
	25 superficie líquida
	26 vasija
15	28 eje de rotación
	29 nervio de la membrana protectora
	40 dispositivo de transferencia multicanal para micropartículas
	41 grupo de unidades magnéticas
	42 bolsa
20	60 unidad del reactor
	61 vasija del reactor
	62 canal
	63 válvula
	64 punta
25	70 armario ambiental
	71 motor
	72 mecanismo de impulsión
	73 estrechamiento
	74 compartimento
30	75 elemento elástico

## REIVINDICACIONES

1. Un sistema que comprende una unidad del reactor cerrada (60) que comprende una unidad magnética (10) para la recogida de micropartículas (22) y una vasija (26, 61), comprendiendo la unidad magnética (10) un blindaje protector, una membrana (21) o un recubrimiento;  
 5 en donde la unidad magnética (10) comprende al menos un imán (13) para la recogida de micropartículas y un tubo ferromagnético (12), en donde el al menos un imán (13) y el tubo ferromagnético (12) pueden moverse uno con relación al otro para ajustar la intensidad del campo magnético del al menos un imán (13) y en donde la unidad magnética (10) está dentro de la vasija (26, 61) comprendida en la unidad del reactor (60), y en donde la forma y la localización de la  
 10 unidad magnética (10) en la vasija (26, 61) son ajustables de una manera preferible para la recogida de un componente u organismo biológico deseado a fin de sintetizar, modificar, y/o enriquecer componentes, compuestos o polímeros que son de origen biológico o sintético.
2. El sistema conforme a la reivindicación 1, que comprende:  
 15 - una parte de tapa (33), en particular una junta de brida para unir la unidad magnética (10) a la vasija del reactor (26, 61);  
 en donde la parte de tapa (33) y la vasija (61) se combinan para formar la unidad del reactor (60).
3. El sistema conforme a la reivindicación 1 ó 2, en el que el al menos un imán (13) comprende un recubrimiento de epóxido, fosfato o níquel o en el que el blindaje o membrana protectora (21) comprende un blindaje protector rígido o una membrana protectora elástica.  
 20
4. El sistema conforme a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la unidad magnética (10) se encuentra a un lado de la vasija del reactor (26, 61).  
 25
5. El sistema conforme a cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que la unidad magnética (10) comprende un grupo de imanes (41) que incluye tanto un primer imán (13a) imantado transversalmente a su eje longitudinal y un segundo imán (13b) imantado a lo largo de su eje longitudinal exactamente en una punta de la unidad magnética (10).  
 30
6. El sistema conforme a la reivindicación 5, en el que la membrana protectora (21) de la unidad magnética (10) está preformada o es flexible tanto en el primer imán (13a) como en el segundo imán (13b).  
 35
7. El sistema conforme a cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, el que la membrana protectora (21) de la unidad magnética (10) incluye nervios (29).  
 40
8. El sistema conforme a cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7, en el que la membrana protectora (21) incluye una punta (64) para soportar la unidad magnética (10) mientras la misma está dispuesta horizontalmente sobre su costado.  
 45
9. El sistema conforme a la reivindicación 1, en el que el sistema está dispuesto de tal manera que las condiciones prevalecientes en la vasija pueden controlarse.  
 50
10. El sistema conforme a la reivindicación 1, en el que la unidad del reactor (60) está equipada con canales (62) provistos de válvulas como elementos de cierre (63).  
 55
11. El sistema conforme a la reivindicación 1, en el que dentro de la unidad del reactor (60) existen salientes, alerones o depresiones a fin de provocar el movimiento de una solución (23) dentro de la vasija (26, 61).  
 50
12. El sistema conforme a la reivindicación 1, en el que la forma de la vasija (26, 61) es una estructura semejante a un reloj de arena, que está dispuesta de tal manera que una corriente de líquido está enfocada en el punto más estrecho de la vasija, en el que está situada la unidad magnética (10).  
 55
13. El sistema conforme a la reivindicación 1, en el que la vasija (26, 61) es:  
 -una bolsa; o  
 -una vasija con un elemento flexible (75).

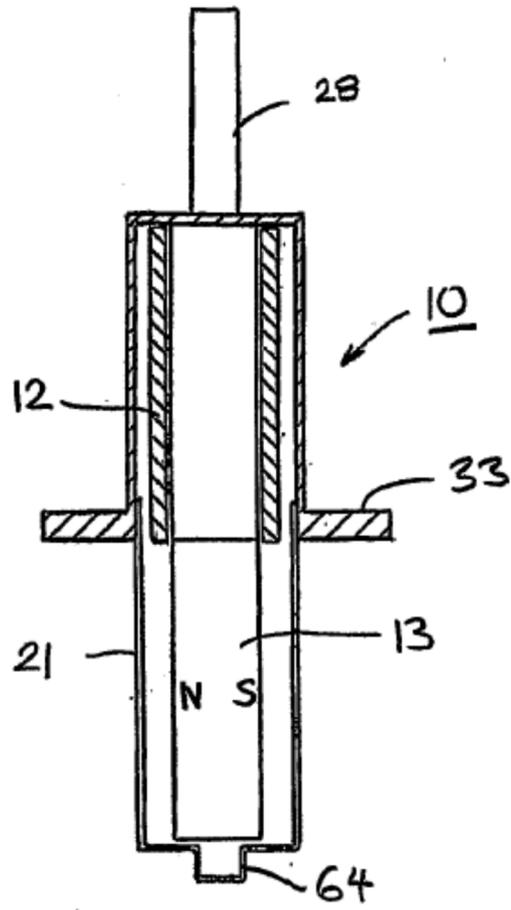


FIG. 1

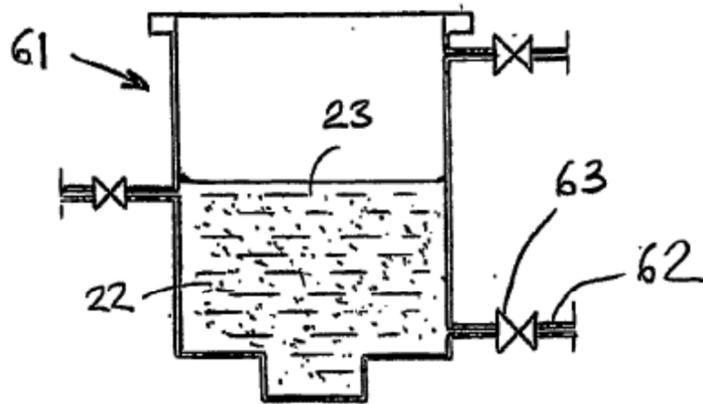


FIG. 2

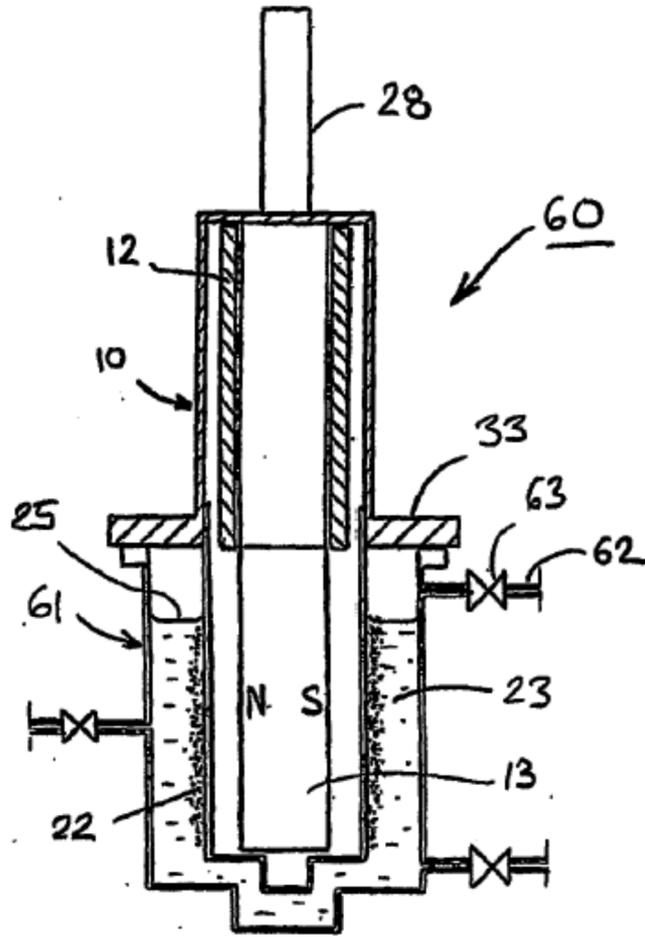


FIG. 3

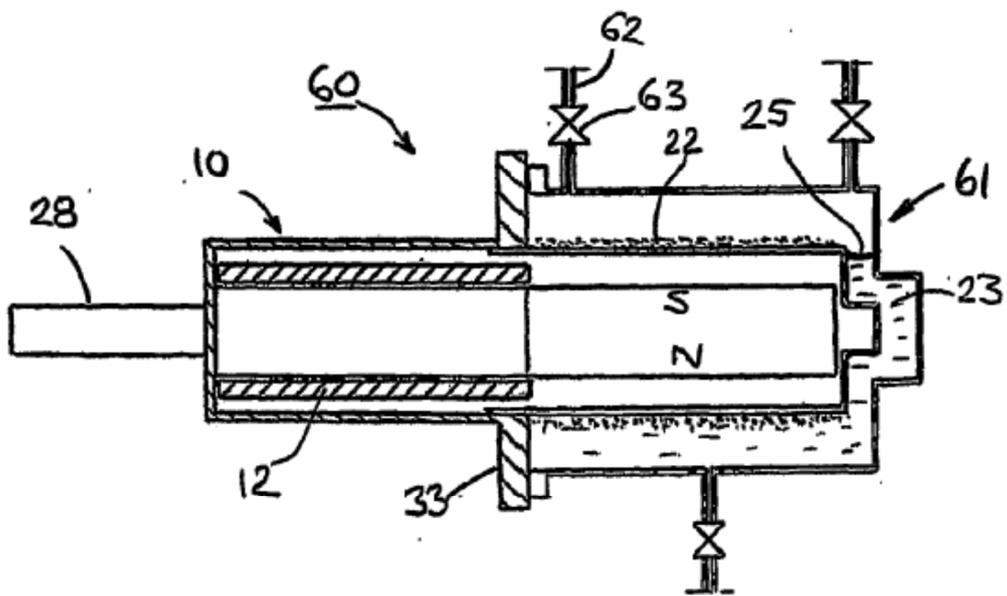


FIG. 4

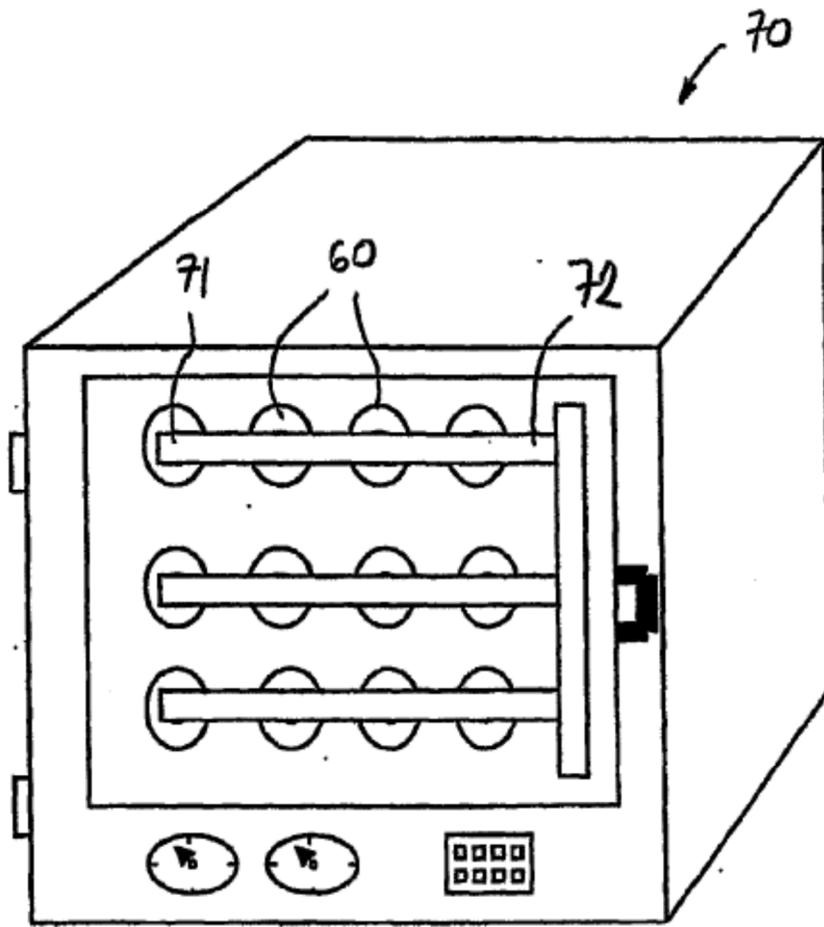


FIG. 5

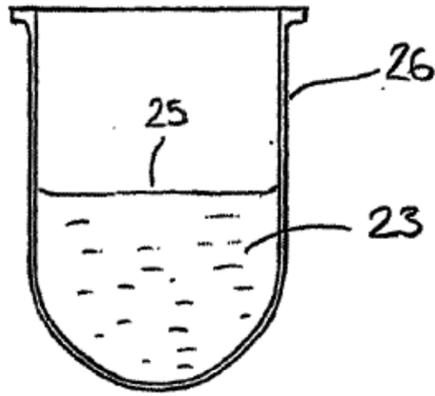


FIG. 6

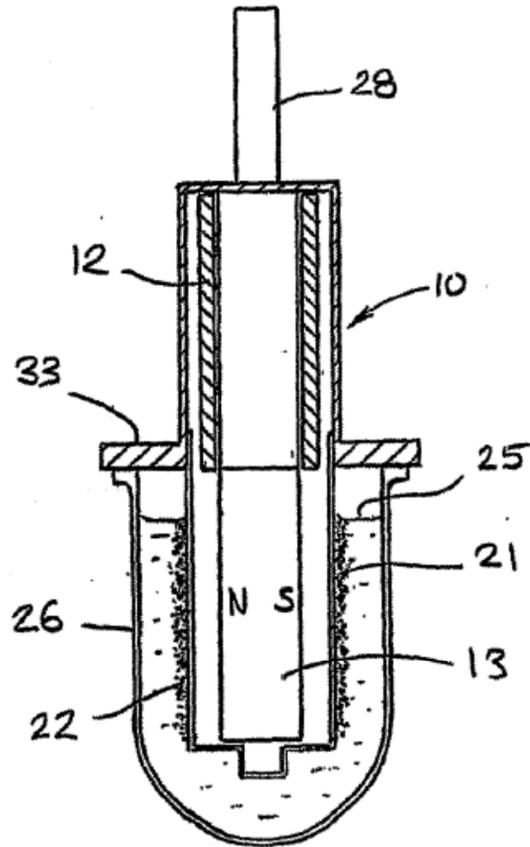


Fig. 7

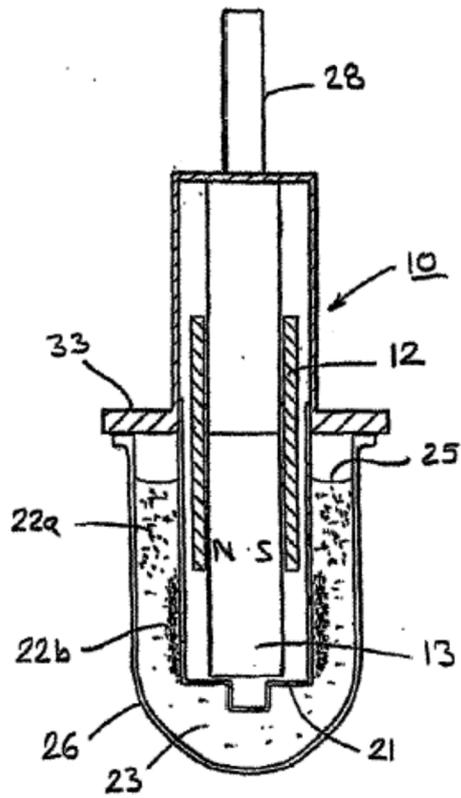


FIG. 8

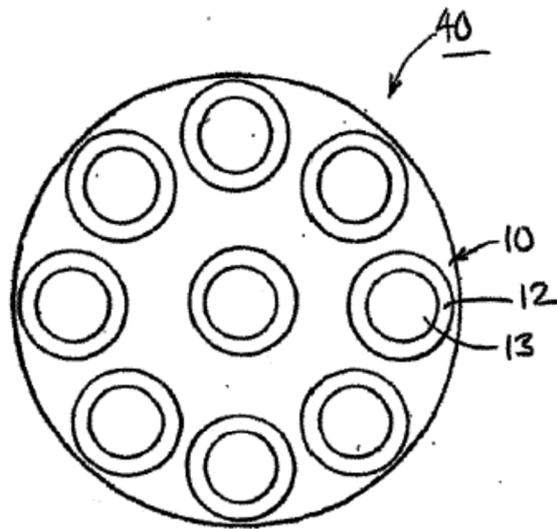


FIG. 11

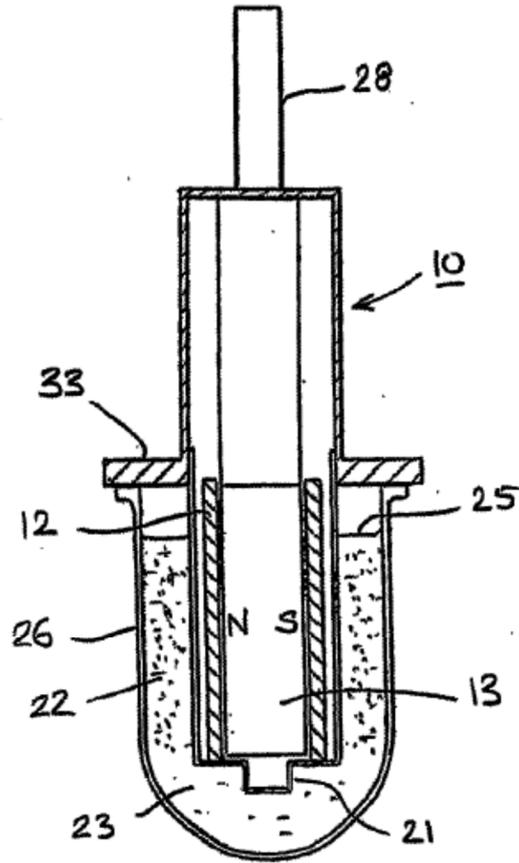


FIG. 9

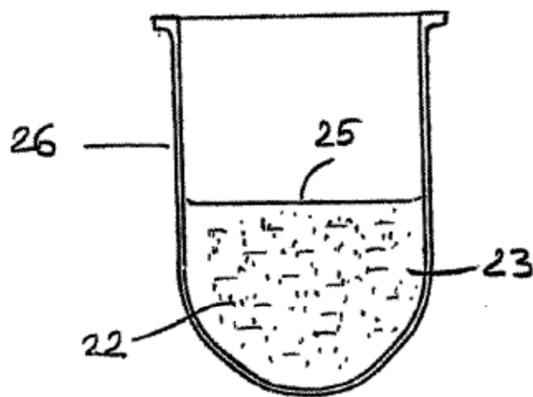


Fig. 10

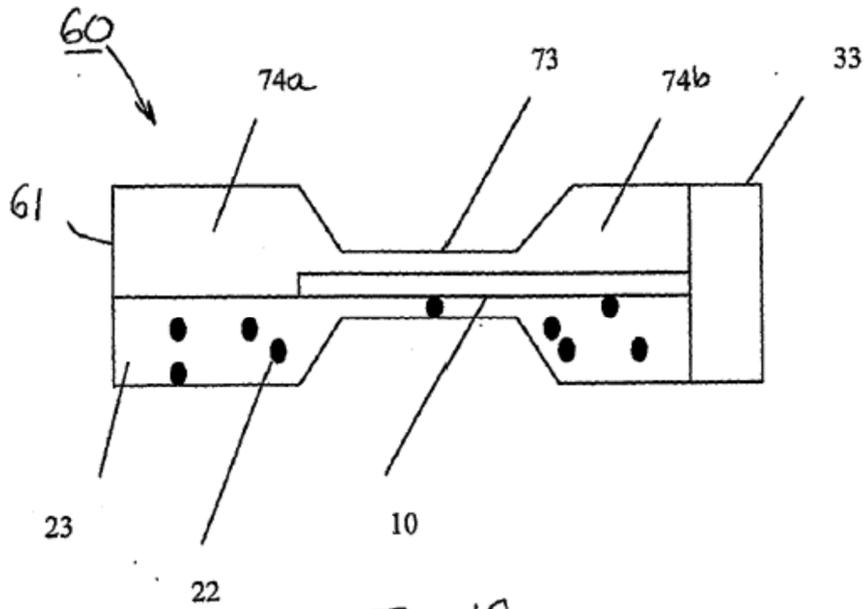


Fig. 12

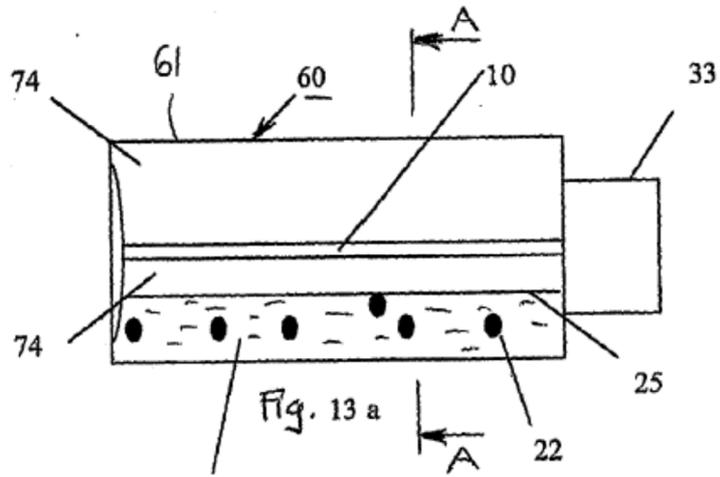


Fig. 13 a

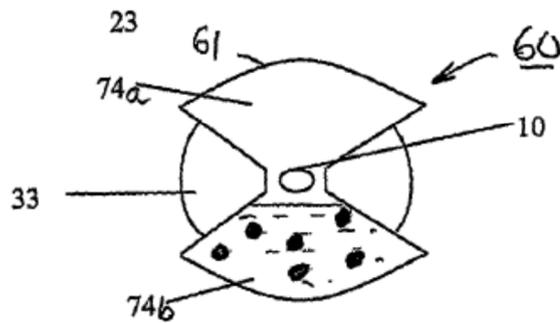
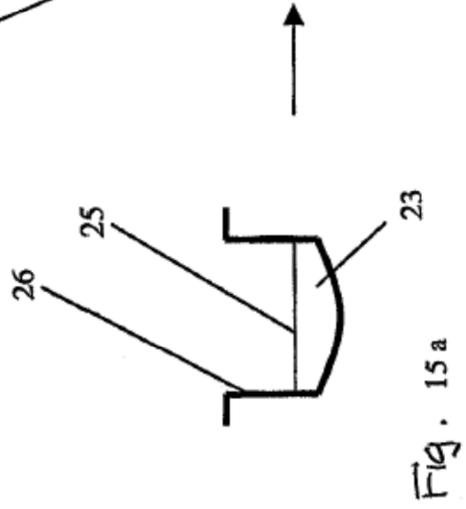
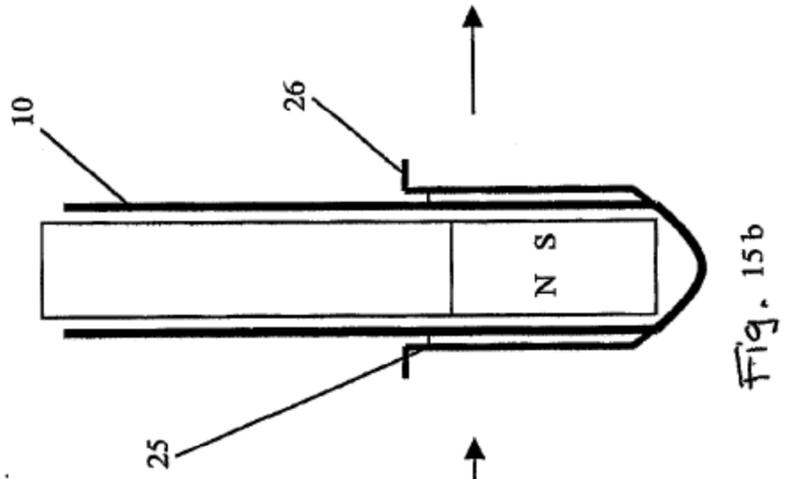
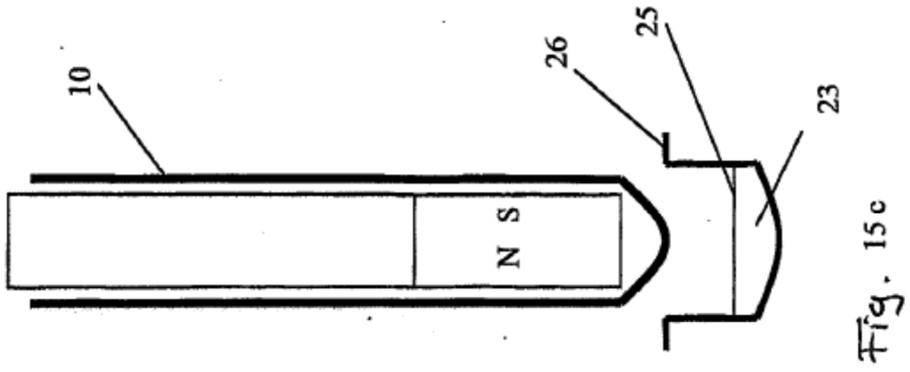
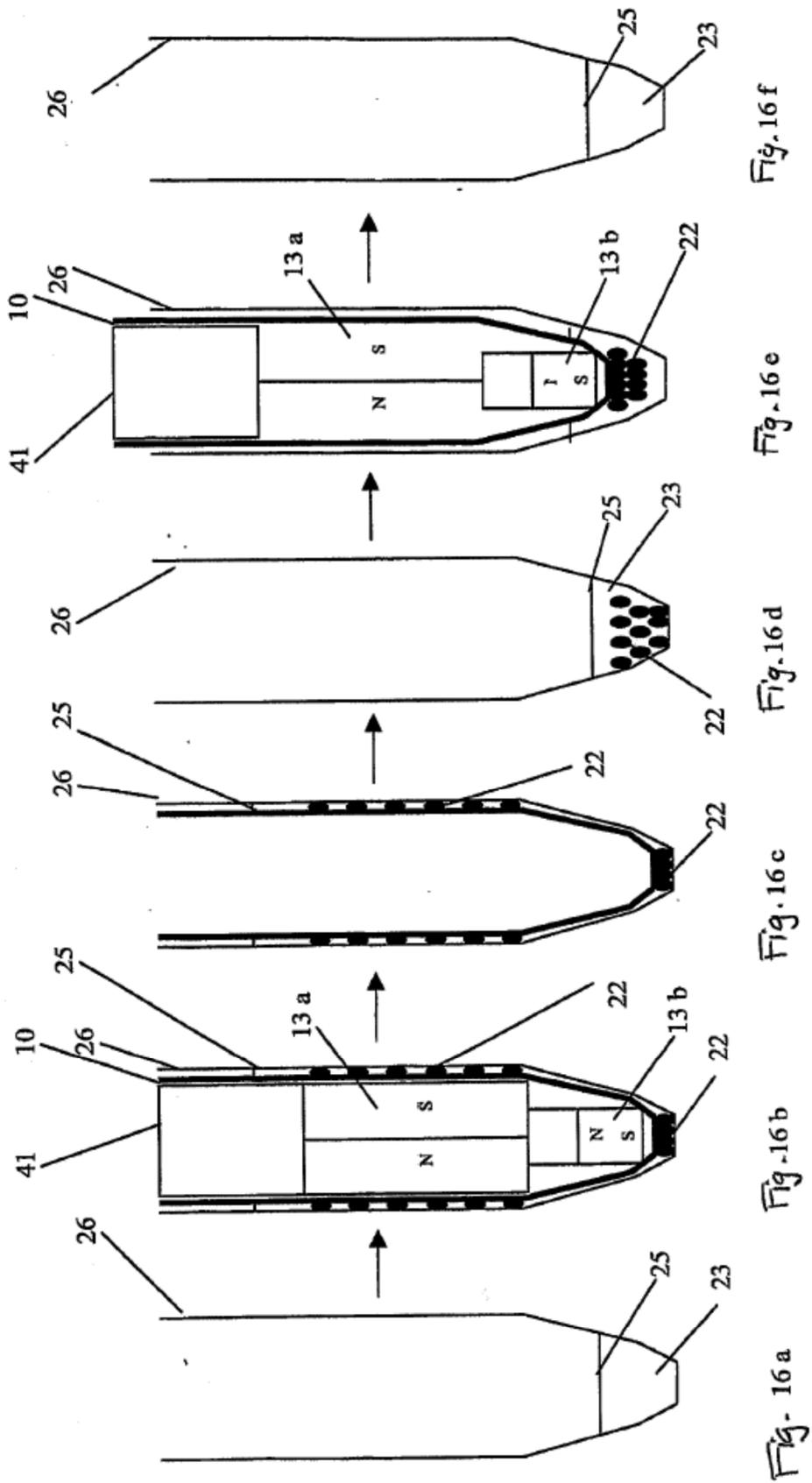


Fig. 13 b







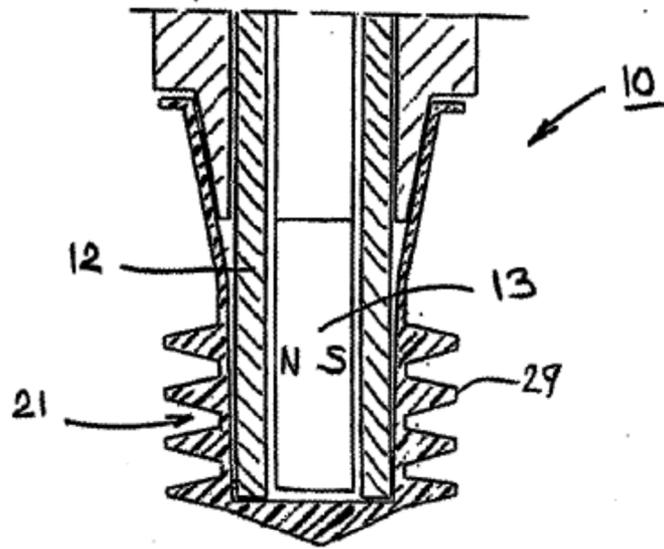


FIG. 17

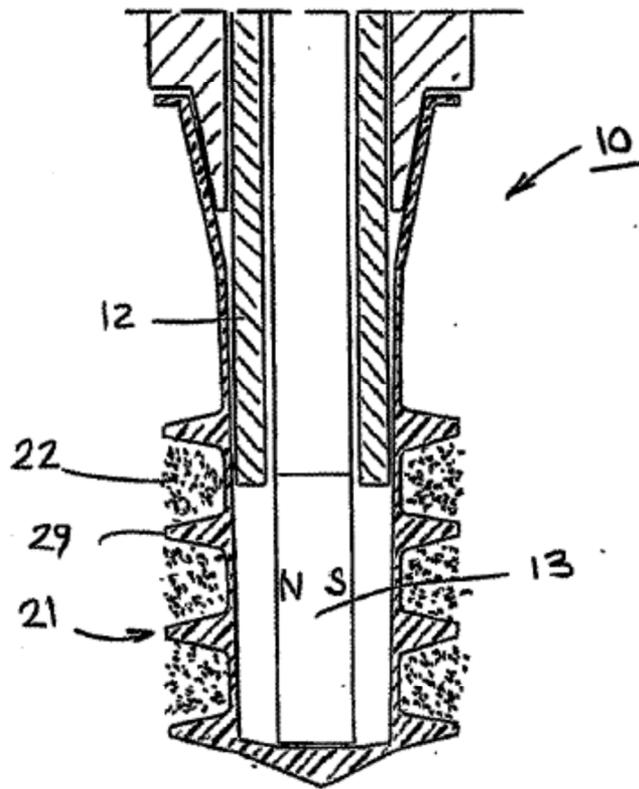


Fig. 18

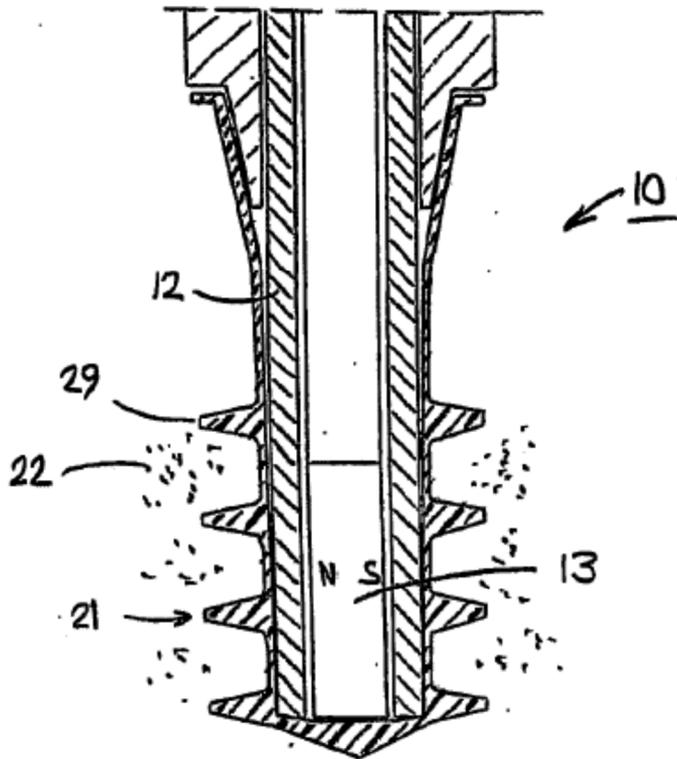


FIG. 19

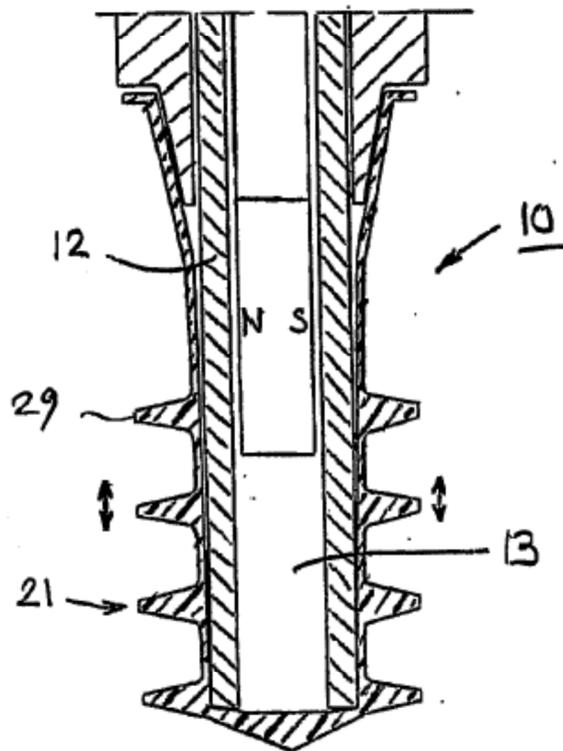


Fig. 20

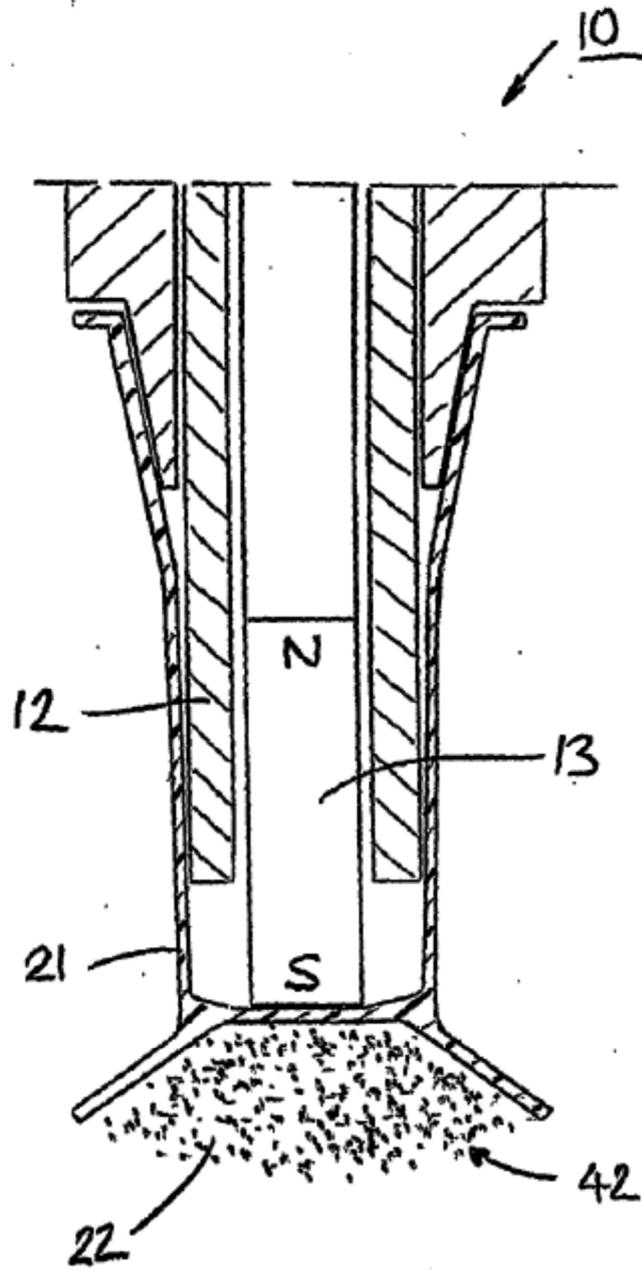


FIG. 21