(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 682 451**

(51) Int. Cl.:

B03C 1/00 (2006.01)
B03C 1/28 (2006.01)
G01N 33/553 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.10.2004** **PCT/IB2004/003432**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.04.2005** **WO05037440**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2004** **E 04769683 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.05.2018** **EP 1680229**

(54) Título: **Método de enriquecimiento magnético**

(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:
20.09.2018

(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 2 682 451 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de enriquecimiento magnético

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere a un método de enriquecimiento magnético, mediante el cual el componente biológico deseado se recoge de una solución por medio de un imán, cuyo componente se concentra a continuación en un líquido.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El método de transferencia magnética se refiere a todas las acciones relacionadas con el movimiento de partículas por medio del magnetismo, como surtido, recolección, transferencia, mezcla y dosificación dentro de una solución o de una solución a otra.

Las partículas, micropartículas o partículas magnéticas se refieren a todas aquellas partículas pequeñas que tienen su diámetro en el rango de micrómetros y que pueden moverse por medio del magnetismo. Hay varias partículas conocidas que son transferibles con un imán y también las aplicaciones, donde se usan, varían mucho. Por ejemplo, las partículas utilizadas en microbiología generalmente tienen un tamaño de 0,01-100 µm, más comúnmente de 0,05-10 µm. Estas partículas conocidas son, por ejemplo, partículas que contienen material ferromagnético, paramagnético o supra-magnético. Las partículas también pueden ser magnéticas, en cuyo caso se pueden mover por medio de cualquier objeto ferromagnético.

En un dispositivo destinado a tratar micropartículas, existe una unidad que explota el magnetismo que en lo sucesivo se denomina imán. Puede ser un imán permanente o un imán eléctrico que atrae partículas, como partículas ferromagnéticas, paramagnéticas o superparamagnéticas, o un objeto ferromagnético que no es magnético en sí mismo, pero que aún atrae partículas magnéticas.

Un imán suele ser preferiblemente un imán de barra redondeada. También puede ser una barra de otra forma. Sin embargo, un imán no necesita ser una barra en absoluto. También puede ser corto y ancho o un objeto de cualquier forma. Un imán también puede consistir en uno o más objetos, como imanes u objetos ferromagnéticos. El imán también se puede conectar a objetos que consisten en material no ferromagnético.

Tiene que haber un escudo que cubra el imán, protegiendo el imán de diversas condiciones dañinas y permitiendo el tratamiento de micropartículas, como el atascamiento y la liberación. La estructura del escudo puede variar mucho, ya que puede ser, por ejemplo, una membrana delgada que consiste en material flexible o elástico o incluso una copa que consiste en plástico rígido.

Las micropartículas se usan comúnmente como una fase sólida para unir diversos componentes biológicos, tales como ácidos nucleicos, proteínas, toxinas, orgánulos celulares, bacterias o células. Por ejemplo, anticuerpos específicos, oligonucleótidos, polipéptidos y lectinas pueden inmovilizarse sobre la superficie de micropartículas. Por ejemplo, las enzimas se pueden inmovilizar en la superficie de micropartículas, con lo que el tratamiento y el uso 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 imanes eléctricos, pero requieren el uso de un gradiente magnético especialmente fuerte, como se describe en el documento EP 0842704 (Miltenyi Biotec). Las partículas magnéticas, como las micropartículas que tienen un diámetro de aproximadamente 0,1 µm o más, generalmente se pueden tratar con imanes permanentes o eléctricos regulares. La viscosidad de la solución también puede obstaculizar considerablemente la recolección de las partículas. Las partículas a recoger pueden originalmente suspenderse en la solución, en la que se desea que se ligue una sustancia, o sembrar células en la superficie de las micropartículas. Es de particular importancia poder utilizar grandes volúmenes iniciales en aplicaciones, donde se desea aislar los componentes para su análisis. Por ejemplo, el enriquecimiento eficiente de bacterias patológicas desde un volumen de muestra grande a uno pequeño es crítico, porque tiene un efecto sobre la sensibilidad y el tiempo necesarios para el análisis de un ensayo directo. En la actualidad no hay forma suficiente para realizar el enriquecimiento de un gran volumen a un pequeño volumen por medio de micropartículas. Sería preferible que una actuación como la descrita anteriormente fuera lo más simple y eficiente posible.

TÉCNICA ANTERIOR

Las 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. El uso de micropartículas en inmunoensayos para separar el complejo de antígeno-anticuerpo unido de la fracción libre proporcionó una ventaja considerable especialmente en la velocidad de reacción. El desarrollo principal relacionado con la explotación de micropartículas se ha producido en los últimos años en el campo de la biología molecular, la microbiología y la biología celular.

En un método clásico, las partículas magnéticas presentes en la solución de reacción, como las micropartículas, se

capturan por medio de un imán externo a un punto dado en la superficie interna del tubo. A partir de entonces, se realiza un esfuerzo para eliminar cuidadosamente la solución alrededor de las micropartículas. En un método clásico, los líquidos se manipulan activamente y las partículas magnéticas permanecen en el mismo recipiente durante todo el procedimiento.

En otro enfoque, se usa un imán para transferir activamente micropartículas. El imán se coloca en una solución que contiene micropartículas, con lo que el imán atrae a las micropartículas en la solución y forman un precipitado sólido. A continuación, el imán y las micropartículas pueden extraerse del líquido. El imán junto con sus partículas se puede empapar después en un líquido en otro tubo de ensayo, en el que las micropartículas pueden liberarse del imán. En este método, las fases de tratamiento, pipeteo y aspiración se minimizan al extremo.

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

La solicitud WO 87/05536 (Schröder) describe el uso de un imán permanente, que se puede mover dentro del escudo plástico, para recoger material ferromagnético de una solución que los contiene. El material ferromagnético se junta a la punta de la unidad de imán, mientras que el imán está en su posición más baja. La publicación describe la transferencia del material ferromagnético así recogido a una solución en otro recipiente y la liberación del material fuera de la punta. La liberación del material ferromagnético se describe por medio del diseño del escudo de plástico que evita que el material se mueva mientras que se mueve el imán hacia arriba.

La Patente de Estados Unidos 5.837.144 (Bienhaus et al.) describe un método para recoger micropartículas por medio de un imán equipado con una protección de plástico particular. Esta publicación describe la unión de micropartículas desde una solución, que se lleva a cabo fuera del recipiente mediante diversas disposiciones. Al mover el imán, las micropartículas pueden hacerse libres de la superficie del escudo protector.

La Patente de Estados Unidos 5.942.124 (Tuunanen), la Patente de Estados Unidos 6.020.211 (Tuunanen), la Patente de Estados Unidos 6.040.192 (Tuunanen), la Patente de Estados Unidos 6.065.605 (Korpela et al.), la Patente de Estados Unidos 6.207.463 (Tuunanen) y la Solicitud de Patente de Estados Unidos 20010022948 (Tuunanen) también describen dispositivos equipados con un escudo de plástico para recoger micropartículas de una solución y transferirlas a otra solución. Estas publicaciones describen principalmente soluciones, donde la intención consiste en tratar micropartículas en volúmenes muy pequeños. La Patente de Estados Unidos 5.942.124 (Tuunanen) describe un dispositivo, por medio del cual las micropartículas pueden enriquecerse directamente hasta la punta de la unidad de imán. La Patente de Estados Unidos 6.020.211 (Tuunanen) describe el uso del dispositivo presentado en la publicación anterior para transferir micropartículas recogidas juntas por medio de un gran imán clásico para recipientes más pequeños. La Patente de Estados Unidos 6.040.192 (Tuunanen) describe un método automatizado para usar micropartículas en ensayos específicos y para manejar volúmenes pequeños. La Patente de Estados Unidos 6.065.605 (Korpela et al.) continúa aplicando adicionalmente la solución descrita en la Patente de Estados Unidos 5.942.124 (Tuunanen) para manejar volúmenes bastante grandes. Ahora se describe un método en el que se recogen micropartículas por primera vez mediante una unidad de imán particular que contiene un gran imán. A continuación, la unidad de imán descrita en la Patente de Estados Unidos 5.942.124 (Tuunanen) se usa para transferir el sedimento de micropartículas a recipientes más pequeños. La Patente de Estados Unidos 6.207.463 (Tuunanen) también aplica la unidad de imán descrita anteriormente, por medio de la cual se pueden recoger partículas magnéticas directamente en la punta del dispositivo. La Solicitud de Patente estadounidense 20010022948 (Tuunanen) describe también el tratamiento de una cantidad muy pequeña de micropartículas en recipientes particulares diseñados para este fin.

La Patente de Estados Unidos 6.403.038 (Heermann) describe un dispositivo que tiene un escudo de plástico y un imán permanente unido a una barra particular. Las micropartículas se recogen en la punta del protector plástico y el método está destinado en particular para tratar volúmenes pequeños. La barra tiene una parte particular que sobresale, por medio de la cual el imán y la barra se mantienen quietos 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 se pueden transferir a otro recipiente. El escudo protector del imán está hecho de material elástico, por lo que la membrana es lo más delgada posible cuando se estira. De esta forma, se produce una distancia lo más pequeña posible desde el imán hasta el líquido.

Particularmente, la Patente de Estados Unidos 5.942.124 (Tuunanen), la Patente de Estados Unidos 6.020.211 (Tuunanen), la Patente de Estados Unidos 6.065.605 (Korpela et al.) y la Patente de Estados Unidos 6.207.463 (Tuunanen) y EP 0 787 296 (Tuunanen) describen una gran cantidad de micropartículas destinadas a ser

recolectadas desde un recipiente bastante grande por medio de un imán muy pequeño hasta la punta pequeña de una barra muy afilada y estrecha, lo cual no es práctico.

Una gran cantidad de micropartículas no se puede transferir a un volumen pequeño alrededor de un punto pequeño, porque las medidas físicas del gránulo formado por la masa de micropartículas crecen rápidamente junto con el volumen de líquido a manipular. Se debe recolectar una gran masa de micropartículas en un área grande o en un recinto particular.

La Patente de Estados Unidos 4.738.773 (Muller-Rucholtz et al.), la Patente de Estados Unidos 5.972.721 (Bruno et al.) y la Patente de Estados Unidos 6.143.577 (Biscontee Sconte De Saint Julien, Jean Claude) describen el tratamiento de micropartículas en volúmenes bastante grandes por medio de varias soluciones de células de flujo. También la publicación 6.159.689 (Adrian Parton) describe un método basado en el flujo de líquido y en esta publicación el líquido también se rota en un tubo con lo que aumenta la eficacia de la recolección de micropartículas.

En la práctica, existen varias limitaciones para el uso de micropartículas en grandes volúmenes para unir los componentes biológicos deseados, como virus, bacterias, levaduras o parásitos. El uso de grandes cantidades de micropartículas, por ejemplo en ensayos de rutina para bacterias patógenas, es imposible debido a razones de rentabilidad. Debería ser posible usar micropartículas lo menos posible, sin embargo en una cantidad suficiente, particularmente en aplicaciones, donde 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 extraer los componentes deseados de la solución deben ser transportables hasta el paso de detección. Por lo general, no se puede transportar una gran cantidad de micropartículas directamente hasta la etapa de detección, ya que los volúmenes utilizados en la detección son a menudo de solo 10-200 µl en su tamaño.

El uso de pequeñas cantidades de micropartículas es ineficiente debido a los grandes volúmenes de solución y los problemáticos materiales de muestra. La velocidad de reacción, es decir, el tiempo necesario para que los componentes biológicos se adhieran a la superficie de la micropartícula, disminuye y la recogida de micropartículas se vuelve considerablemente más difícil. Cada vez que las micropartículas se unen con un imán y se liberan a una solución para el siguiente paso de recolección, algunas micropartículas pueden perderse en la solución anterior. Este problema se vuelve particularmente grande en el caso de grandes volúmenes de solución y en el caso en que la muestra contiene mucho material en particular. Los ejemplos de tales muestras incluyen muestras de alimentos y homogeneizados bacterianos.

Ninguna de las patentes descritas anteriormente describe un método, mediante el cual las micropartículas podrían recogerse de manera eficiente a partir de volúmenes líquidos muy grandes y las micropartículas recogidas se liberarían a un volumen líquido más pequeño. Las publicaciones mencionadas anteriormente describen más bien el manejo de volúmenes líquidos bastante pequeños, tales como 0,1-10 µl. Si se desea que las proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, células, bacterias, virus u otros componentes se unan a un gran volumen en la superficie de las micropartículas, existen ciertos requisitos previos básicos para que se use la cantidad óptima de partículas. En función de las micropartículas que se utilicen, una cantidad preferible de partículas por mililitro de líquido a ser aislado puede ser, por ejemplo, al menos 107 micropartículas con un diámetro de, por ejemplo, 1-5 µm. La cantidad necesaria de partículas aumenta aún más, si se desea que un componente, poco numeroso, se vincule con la máxima seguridad posible desde una cierta unidad de volumen.

Tampoco viene descrito en ninguna de las publicaciones de patentes mencionadas anteriormente un método eficiente para recoger los componentes biológicos deseados (por ejemplo, bacterias) a partir de grandes volúmenes mediante el uso de una cantidad relativamente pequeña de micropartículas y el enriquecimiento de las micropartículas recolectadas y/o el componente biológico ligado a las micropartículas a un pequeño volumen.

MÉTODO DE ENRIQUECIMIENTO MAGNÉTICO

Esta invención tiene como objetivo producir un método para aislar y enriquecer, por ejemplo, componentes biológicos u organismos en condiciones controladas, que no presente los inconvenientes presentados anteriormente. Es característico para un método de enriquecimiento magnético de acuerdo con la invención que, por medio de las micropartículas, unidas al imán o unidas por medio de al menos un imán, se recoge al menos un componente biológico en un recipiente reactor cerrado, y que al menos un componente biológico se enriquece de tal manera que el componente deseado se libera a la solución, en donde las micropartículas son magnéticas, caracterizadas por que el recipiente reactor cerrado comprende una unidad magnética que comprende un tubo ferromagnético, y que al menos un imán y el tubo ferromagnético se pueden mover uno en relación con el otro.

Se describe más adelante en este documento el uso de micropartículas en diferentes recipientes de reactor, a su recogida, enriquecimiento y transferencia de una solución a otra. La unión de micropartículas sobre un área amplia en la parte superior del escudo protector proporciona una gran área y capacidad de unión que se puede utilizar al unir componentes de un gran volumen y liberar los componentes unidos a un volumen pequeño. El método para el tratamiento de grandes cantidades de partículas magnéticas en condiciones controladas también se describe en la invención. El método se puede utilizar con un dispositivo tanto manual como automático, donde se pueden llevar a

cabo diversas transferencias, lavados e incubaciones de micropartículas. La posibilidad de dirigir y controlar las siguientes condiciones, entre otras, el valor de pH y la fuerza iónica de la solución, la presión de gas parcial y el mezclado de la solución en una unidad de reactor particular, es esencial para la invención. Es posible conectar unidades que están destinadas para detectar, por ejemplo, reacciones de PCR y varias etiquetas, al dispositivo.

UNIDAD DE REACTOR PARA MICROPARTÍCULAS

Se describe más adelante en este documento una unidad de reactor para micropartículas que es un recipiente cerrado, en donde las condiciones predominantes son controlables.

La unidad de reactor es un recipiente o reactor que puede consistir en diversos materiales y tener diversas formas. El recipiente forma una cámara de reactor que puede contener uno o más orificios para la entrada y salida de líquidos. Puede haber una disposición en el recipiente que haga girar el líquido que se está manejando dentro del recipiente. El recipiente puede ser parte de una entidad más grande, donde varios recipientes diferentes de diferentes tamaños se pueden conectar de manera apropiada entre sí. En una realización preferida de la invención, la unidad de imán de acuerdo con la invención también puede formar una unidad de reactor.

UNIDAD DE IMÁN

Se describe más adelante en este documento la unidad de imán cuya forma y cuya ubicación están ajustadas de una manera preferible para recoger el componente biológico deseado.

En una realización preferida de la invención, hay un tubo ferromagnético dentro de la unidad de imán, por medio del cual se puede regular la resistencia y el ajuste del campo magnético al escudo protector circundante, alrededor del cual se recogen las micropartículas. El imán puede moverse hacia adentro y hacia afuera con relación al tubo ferromagnético, con lo cual se cambia el campo magnético del imán. Mientras que el imán está afuera, un campo magnético igual a la cantidad de imán fuera del tubo ferromagnético se ajusta al escudo protector. A continuación, las micropartículas pueden recolectarse fuera del escudo protector. Cuando el imán se mueve por completo dentro del tubo ferromagnético, no hay un campo magnético considerable que se ajuste hacia afuera. En este caso, las micropartículas no se juntan alrededor de la membrana protectora, sino que permanecen en solución. El tubo puede ser sólido o ajustable para lograr la mejor eficiencia posible para la recolección.

La unidad de imán también puede consistir en un imán sin un escudo separado o una membrana protectora. En este caso, el imán puede revestirse de una manera apropiada, por ejemplo, con un recubrimiento de epoxi, fosfato o níquel.

La unidad de imán puede colocarse en un recipiente cerrado o reactor, donde se puede agregar líquido cuando sea necesario y que puede contener una válvula para eliminar el líquido manipulado, por lo tanto, se pueden manejar volúmenes de líquido muy grandes con la solución obtenida. En otra realización, el imán puede tener la forma de, por ejemplo, una barra, pero también puede ser de otro tipo. El imán se puede usar como tal, pero en una tercera realización el imán se recubre con un revestimiento protector o existe una capa protectora alrededor del imán, como, por ejemplo, una protección protectora dura separada o una membrana protectora elástica.

Si el tipo de reactor descrito anteriormente se mantiene de lado y la unidad de imán se puede girar en relación con las pantallas protectoras del reactor, también se puede obtener una mezcla con dicha solución mientras que se tratan muestras líquidas y micropartículas. Las micropartículas también se pueden unir fácilmente a la unidad de imán o se pueden unir de manera apropiada durante el proceso en la parte superior de la unidad de imán y, por lo tanto, habrá una gran cantidad de superficie activa en el reactor. Al mezclarse, el líquido a manipular se puede hacer fluir entre las micropartículas de tal manera que los componentes biológicos deseados, tales como, por ejemplo, proteínas, ácidos nucleicos, virus o bacterias se adhieren a las micropartículas en la parte superior de la unidad de imán. La mezcla se puede realizar al mover la unidad de imán en relación con el recipiente circundante o viceversa. La mezcla también se puede organizar al colocar todo el recipiente del reactor en un mezclador o agitador particular. Por otro lado, el líquido puede conducirse entre las micropartículas al organizar el flujo de líquido de una manera apropiada dentro del recipiente o el reactor.

El mezclado también puede realizarse por medio de la superficie exterior del reactor, con lo cual puede haber proyecciones o depresiones apropiadas dentro de la superficie externa con el fin de provocar un movimiento eficiente del líquido dentro del recipiente del reactor. En este caso, no se mueve la unidad de imán dentro del recipiente del reactor. No es necesario que el mezclado con la unidad de imán tenga un movimiento giratorio, pero el mezclado se puede lograr al mover la unidad de imán de manera apropiada en el recipiente del reactor.

La unidad de imán no necesita fijarse simétricamente en el recipiente del reactor, pero puede estar en un lado del recipiente del reactor o en un ángulo con respecto al recipiente del reactor. El objetivo consiste en lograr mediante diversas formas de mezclado un evento de mezcla eficiente y/o una buena eficacia para recoger micropartículas.

El dispositivo se puede usar para recoger micropartículas de varios recipientes diferentes o se puede realizar una

disposición, en la que el flujo de líquido pasa por la unidad de imán. Este último caso tiene la ventaja de que incluso grandes volúmenes pueden ser operados de una manera relativamente fácil. Las micropartículas pueden estar libres primero en la solución, de la cual se recogen luego por medio del método según la invención en la parte superior de la unidad de imán. Las micropartículas también se pueden unir fácilmente a la parte superior de la unidad de imán o la membrana protectora de la unidad de imán.

Puede variar la longitud del recipiente del reactor en forma de cilindro. Un tanque muy largo puede ser preferible en algunos casos, donde se desea mantener la mayor distancia entre el líquido y el imán lo más corta posible. Las bolsas destinadas a la homogeneización, cuyas bolsas se usan en el diagnóstico de alimentos para el pretratamiento de muestras, también pueden funcionar como un recipiente de reactor de acuerdo con la invención.

El recipiente del reactor puede ser un recipiente que tenga varias estructuras dentro del mismo, tales como, por ejemplo, áreas más estrechas, alerones en paredes, protuberancias y mortajas. Estos están destinados a provocar, por ejemplo, corrientes en la solución o para mejorar la recolección de micropartículas en la superficie de la unidad de imán. Una forma posible del recipiente de reactor es una estructura similar a un reloj de arena, por lo que la corriente puede enfocarse en el punto más estrecho del recipiente. La mancha angosta se puede extender apropiadamente y se puede colocar una unidad de imán en este punto. Al levantar y bajar los extremos del reactor se pueden obtener corrientes del recipiente en el recipiente de reactor.

La unidad de reactor también puede ser un dispositivo, de pie, con una estructura flexible o particular plegable, tal como un plegado en la parte inferior. Al usar dicho recipiente, se produce una mezcla eficiente en el recipiente.

Una unidad de imán de acuerdo con una realización de la invención tiene la característica técnica esencial de que la fuerza y el ajuste del campo magnético se pueden regular en relación con la membrana protectora que rodea el imán. Esto puede lograrse al mover el imán dentro del tubo ferromagnético de tal manera que pueda estar completamente dentro del tubo, con lo cual la eficiencia del imán es insignificante o inexistente, o puede estar parcial o completamente fuera del tubo, con lo que la eficiencia y el área de recolección del imán están en relación con la parte que sobresale del imán. Al combinar estas características para transferir micropartículas a recipientes de tamaños apropiados se produce un evento de recolección y enriquecimiento muy eficiente.

El método descrito en la invención se puede introducir cuando se manejan volúmenes muy grandes y, por otro lado, también se pueden aplicar para volúmenes pequeños. El método es particularmente eficiente cuando la unidad de imán, el recipiente que se utilizará y los volúmenes de líquido se optimizan mutuamente. Particularmente, el uso del volumen de líquido desplazado por la unidad de imán para ajustar la altura de la superficie del líquido es una manera muy eficiente en la etapa de enriquecimiento para micropartículas y componentes biológicos en el método. Por primera vez, se introduce un dispositivo y un método, en los que se puede ajustar el área de recogida de micropartículas y la resistencia, así como la ubicación física de las micropartículas a las necesidades respectivas.

La invención describe un método, mediante el cual la unidad de imán se retira de la unidad de reactor y las micropartículas reunidas alrededor de la unidad de imán se enriquecen en un pequeño volumen de solución. De acuerdo con la invención, las micropartículas liberadas a un pequeño volumen de solución pueden unirse más a la unidad de imán y transferirse a los siguientes recipientes.

También se puede describir en este documento el uso de un imán sin escudo, sobre el cual se recogen las micropartículas. El imán puede en este caso estar adecuadamente cubierto. En este caso, las micropartículas recolectadas en la parte superior del imán no necesitan ser liberadas a una solución, pero los componentes biológicos unidos a las micropartículas se liberan a una solución. La liberación de los componentes biológicos de la superficie de las micropartículas se puede organizar 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, calentamiento y ultrasonido).

La invención describe formas de usar pequeñas cantidades de micropartículas en grandes recipientes y con materiales de muestra problemáticos así como también llevar las partículas magnéticas directamente a un volumen pequeño, por ejemplo, para una determinación adicional. La invención describe un método eficaz para recoger micropartículas a partir de un gran volumen y también una forma de unir las micropartículas en la superficie de recogida, que se usa para recoger los componentes biológicos deseados de una solución.

Al unir micropartículas en una superficie apropiada, se genera una gran área de recolección. Las micropartículas unidas a la superficie pueden recubrirse, por ejemplo, con anticuerpos, mediante los cuales los componentes biológicos deseados se recogen de la solución. Se produce una forma eficiente de recolección, cuando se utiliza un área lo más grande posible para recolectar micropartículas sobre sí misma. Las micropartículas no necesitan formar una capa gruesa sobre la superficie, pero es preferible crear una superficie de recolección lo más delgada y amplia posible cubierta de micropartículas. Por medio de un campo magnético homogéneo, la superficie deseada se puede cubrir con micropartículas mediante el mezclado de las micropartículas en la solución de una manera apropiada.

La superficie de la membrana protectora de una unidad de imán o la superficie de un imán se puede cubrir con

micropartículas con el fin de lograr una superficie colectora eficiente como se describió anteriormente. La cubierta se puede hacer en un recipiente de reactor u otros recipientes, donde se realiza un mezclado suficiente de las micropartículas para lograr una cobertura uniforme. La superficie interna de la superficie exterior de la unidad del reactor puede cubrirse con micropartículas por medio de imanes situados en el exterior. De esta forma, se obtiene mucha más área para el recubrimiento de micropartículas. El recubrimiento se realiza al mover el recipiente del reactor de una manera apropiada o al mover la solución de micropartículas dentro del recipiente del reactor de otra manera. Tanto la superficie de la unidad de imán como la superficie interna de la superficie exterior de la unidad de reactor pueden en un caso estar cubiertas simultáneamente por micropartículas. En este caso, los campos magnéticos fuera del recipiente del reactor deben eliminarse en la etapa en la que se desea recoger las micropartículas alrededor de la unidad de imán para su posterior tratamiento.

El enriquecimiento de micropartículas y componentes biológicos descritos en la invención se puede realizar de varias maneras, de las cuales el uso del volumen muerto en un recipiente apropiado es uno. De esta forma, la unidad de imán, donde se recogen las micropartículas, se transfiere a un recipiente apropiado y la unidad de imán desplaza la solución en el recipiente de tal manera que la superficie de la solución se eleva a lo largo de la unidad de imán. Al elegir el recipiente, el volumen de la solución y la unidad de imán de una manera apropiada, se produce una situación en la que la solución se eleva sobre las micropartículas recogidas en la unidad de imán. Al eliminar el campo magnético de la unidad de imán, se pueden liberar micropartículas a la solución. El campo magnético puede eliminarse moviendo el imán rápidamente fuera del lado interno del elastómero o la protección no elastomérica de la unidad de imán, por medio de un tubo ferromagnético o apagando el imán eléctrico. Moviendo el recipiente y la unidad de imán hacia arriba y hacia abajo uno con respecto a la otra, se obtiene una buena corriente en la solución y se mejora la liberación de micropartículas desde la superficie de la membrana protectora. Como resultado, las micropartículas recogidas de un gran volumen o en la superficie de la unidad de imán se encuentran en un pequeño volumen de solución. Al usar un imán sin escudo en la unidad de imán y micropartículas reunidas en la superficie del imán, los componentes biológicos unidos a las micropartículas pueden liberarse de las micropartículas utilizando el volumen muerto mencionado anteriormente.

Un modo de liberación consiste en usar un recipiente de este tipo que tenga una estructura flexible o una estructura abatible particular, tal como, por ejemplo, un plegado en la parte inferior. Mediante el uso de dicho recipiente se produce una variación en la superficie del líquido en el recipiente y se produce una corriente eficiente en la liberación de las micropartículas. Al escoger cuidadosamente el recipiente que se utilizará y las formas de la unidad de imán, se encuentran soluciones eficientes adecuadas para manejar un pequeño volumen de solución.

Otra forma de liberar las micropartículas de la superficie de la membrana protectora de la unidad de imán consiste en utilizar un recipiente oblongo, donde la unidad de imán se coloca en sentido longitudinal. En una realización, el recipiente oblongo puede ser la unidad del reactor. El campo magnético se elimina de la unidad de imán en las formas descritas anteriormente y el líquido dentro del vaso toca en toda su longitud la membrana protectora de la unidad de imán. En este caso, las micropartículas se liberan al girar la unidad de imán alrededor de su eje longitudinal en la solución dentro del recipiente. El movimiento promueve la liberación de micropartículas a la solución. Como resultado, las micropartículas se liberan a una pequeña cantidad de solución.

Un tubo ferromagnético puede consistir en hierro u otro material adecuado, que tenga las características apropiadas para evitar que la corriente magnética atraviese el tubo. La eficiencia del imán se puede regular cambiando el lugar del imán en relación con el tubo ferromagnético de tal manera que una parte del imán esté dentro del tubo. Alternativamente, el imán puede mantenerse inmóvil y el tubo ferromagnético se moverá 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.

El tubo ferromagnético descrito en la invención puede ser un tubo individual, un conjunto de varios tubos juntos o una disposición, donde los tubos individuales forman una formación particular de tubos.

En particular, al manejar grandes volúmenes, puede ser preferible incorporar varias unidades de imán en un grupo de unidades de imán, con lo que se puede aumentar aún más el área de recogida para grandes masas de micropartículas. Además, al diseñar la membrana protectora, se pueden encontrar alternativas preferibles para tratar grandes masas de partículas. De acuerdo con la invención, puede haber varias barras magnéticas dentro de una membrana protectora dispuestas apropiadamente por el círculo interno de la membrana protectora. Esto se aplica en particular al caso de una membrana protectora de un tamaño muy grande, con lo que se manejan volúmenes de líquidos muy grandes. Otra alternativa consiste en usar una barra magnética muy grande dentro de una membrana protectora de gran tamaño. En un método de la invención, la solución contiene unidades de imán separadas para recoger micropartículas y un dispositivo o barra particular para mover la superficie del líquido de una manera apropiada descrita en la invención. Esta solución permite enfoques en los que las unidades de imán no se mueven en absoluto, pero el movimiento del líquido y las micropartículas se realiza por medio de una unidad especialmente diseñada para este fin. El recipiente o reactor utilizado en tal solución está diseñado apropiadamente para corresponder a las necesidades descritas.

En un método de la invención, hay varias barras magnéticas separadas, en donde cada una de las cuales incluye

una membrana protectora propia. Estas barras magnéticas se pueden agrupar en una formación apropiada, como, por ejemplo, en forma de abanico en línea, a lo largo del arco de un círculo o de varios arcos de un círculo, donde cada barra recoge una cantidad adecuada de partículas a su alrededor.

El imán puede tener la forma de una barra redonda o una clavija, pero también puede tener otra forma. El eje de magnetización del imán también puede variar. El eje de magnetización puede ser longitudinal, con lo cual es paralelo al eje longitudinal de la barra y los polos del imán están en los extremos de la barra. Entonces la magnetización es paralela al tubo ferromagnético, es decir, paralela a la dirección del movimiento del imán o del tubo.

Sin embargo, el eje de imantación del imán también puede ser transversal, con lo que es perpendicular en relación con el eje longitudinal tanto del tubo ferromagnético como del imán en forma de barra. Entonces, la dirección de magnetización es transversal a la dirección del movimiento del imán o del tubo.

Por otro lado, el imán también puede consistir en varios imanes separados que pueden ser iguales o diferentes y que se pueden unir entre sí por medio de fuerza magnética o mediante un material que es ferromagnético o no ferromagnético. El imán también puede ser una combinación de material magnético y ferromagnético. El imán también puede ser un imán permanente o un imán eléctrico.

En una aplicación el imán puede estar compuesto por un imán que está magnetizado longitudinal y transversalmente. Puede haber material ferromagnético o no ferromagnético entre los imanes. En este caso especial, hay un imán colocado en el extremo de la unidad de imán, cuyo imán recoge las micropartículas muy cerca de la punta, es decir, la dirección de magnetización es la misma que el eje longitudinal de la unidad de imán. Este imán es preferiblemente un imán NdFeB de pequeño tamaño que puede tener una relación entre su diámetro y su longitud de, por ejemplo, 1:1. Esta solución de imán está diseñada para mejorar las propiedades de enriquecimiento y tratamiento de micropartículas en volúmenes pequeños. La membrana protectora es en este caso adecuadamente preformada o elástica, y por lo tanto aplicable para tratar micropartículas en pequeños volúmenes. Al diseñar la forma de la superficie exterior del protector plástico o el elastómero de una manera particular, se consigue un soporte suficiente para recoger la masa de micropartículas que se recogerá alrededor del protector de una manera preferible y fiable. El término diseño particular de forma se refiere, por ejemplo, a ranuras, cavidades y/o protuberancias de diferentes tamaños y profundidades. Cuando se reúne entre estas formaciones, el gránulo de micropartículas obtiene un apoyo particular del escudo, mientras que la unidad de imán se mueve contra corrientes líquidas. El efecto producido por las muestras viscosas es muy significativo, lo que significa, en el peor de los casos, que las micropartículas no permanecen unidas a un lado del escudo, sino que permanecen en solución. El diseño de forma descrito anteriormente tiene, naturalmente, un gran beneficio para la fiabilidad de la recogida, cuando se manejan grandes volúmenes.

La membrana protectora puede consistir en material inelástico, tal como, por ejemplo, polipropileno, poliestireno, policarbonato, polisulfona y polietileno. La membrana protectora también puede consistir en metal no ferromagnético o metal ferromagnético. La membrana protectora también puede consistir en un material elastómero elástico, tal como, por ejemplo, caucho de silicona, fluoroelastómero, policloropreno, poliuretano o polietileno clorosulfonado. La membrana protectora también puede tratarse con agentes particulares y, por lo tanto, alterando las propiedades de la membrana protectora. 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 de acuerdo con 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 diseñarse de manera irregular. Existen muchas alternativas cuando se usa una membrana protectora de elastómero, porque entonces el imán interno y el tubo ferromagnético también pueden dar forma a la membrana protectora.

Una alternativa preferida a la membrana protectora es una membrana protectora plana o en forma de placa que consiste en material elástico. Dicha membrana protectora puede ser una membrana elástica individual en un marco particular. El marco está diseñado para facilitar el uso de la membrana protectora y para generar propiedades adecuadas para estirar la membrana. El uso de dicha membrana protectora, que consiste en una placa, es una alternativa recomendada cuando se desea evitar el consumo de material en los eventos de aislamiento y lavado. El uso de una membrana protectora que tiene la forma de una placa también es económicamente más ventajoso que el uso de membranas protectoras de gran tamaño que se han preparado y diseñado con herramientas de moldeo.

La membrana protectora puede diseñarse de tal manera que las micropartículas permanezcan adheridas lo mejor posible a la membrana protectora mientras que 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 de superficie en la superficie del líquido. Por lo tanto, se pueden realizar varios nichos y protuberancias a la membrana protectora, por lo que se produce una transferencia fiable de las micropartículas recolectadas a otra solución. Entonces la membrana protectora puede consistir en material elástico o inelástico.

La membrana protectora hecha de material elástico puede tener un diseño particular que asegure la recolección y transferencia confiable de una gran cantidad de micropartículas de un recipiente a otro. Con este fin, los bordes de la

membrana protectora pueden tener protuberancias y nichos particulares, donde se juntan las micropartículas. Entonces es preferible usar un imán transversalmente magnetizado por medio del cual las micropartículas se pueden recoger en un área amplia. Mediante el diseño de la membrana protectora se generan estructuras particulares que soportan masas de micropartículas. El diseño también influye en los efectos perturbadores de las corrientes de líquido y la tensión del líquido. Cuando se utiliza material elástico y manchas de espesor variable, las protuberancias y nichos de la membrana protectora se estiran de varias maneras. Este fenómeno se puede utilizar de manera eficiente tanto en la liberación de micropartículas como especialmente para lograr una mezcla eficiente en la solución.

Las micropartículas pueden contener ligandos de afinidad, enzimas, anticuerpos, bacterias, células u orgánulos celulares. La unión de los componentes deseados también puede realizarse eligiendo las propiedades superficiales de las micropartículas a usar y la composición de los tampones de una manera apropiada y preferible para unir los componentes deseados de las muestras. Los ejemplos incluyen cromatografía de intercambio iónico, hidrofóbica y de fase inversa. Entonces, por ejemplo, la unión y liberación de proteínas desde la superficie de las micropartículas se realiza por medio de tampones y soluciones elegidas apropiadamente. Por ejemplo, el contenido de sal y el valor de pH son factores muy importantes.

Un ligando de afinidad puede ser, por ejemplo, una secuencia de nucleótidos de una o dos cadenas, tal como, por ejemplo, ADN (ácido desoxirribonucleico), ARN, ARNm o ADNc (ADN complementario) o ANP (ácido nucleico peptídico), una proteína, un péptido, un polisacárido, un oligosacárido, un pequeño compuesto molecular o una lectina. Un ligando de afinidad también puede ser uno de los siguientes: ovomucoide, proteína A, ácido borónico de aminofenilo, Procion Red, etanolamina de fosforilo, proteína G, alanina de fenilo, proteamina, pepstatina, sulfato de dextrano, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), PEG (polietilenglicol), N-acetilo-glucosamina, gelatina, glutatión, heparina, ácido iminodiacético, NTA (ácido nitrilotriacético), lectina de lentilo, lisina, NAD (dinucleótido de adenina de nicotinamida), aminobenzamidina, acriflavina, AMP, aprotinina, avidina, straptavidina, albúmina sérica bovina (BSA), biotina, concanavalina A (ConA) y Cibracron Blue.

La inmovilización de una enzima o un ligando de afinidad significa que una enzima o un ligando de afinidad se une a la superficie de las partículas o que se captura dentro de una partícula similar a una "jaula", sin embargo, de tal manera que la solución circundante entra en contacto con él.

La unión de la enzima o el ligando de afinidad a las micropartículas puede realizarse por medio de una unión covalente, por ejemplo, por medio de los grupos amino e hidroxilo en el vehículo. Alternativamente, la unión puede llevarse a cabo por medio de un par de bioafinidad, por ejemplo, un par de biotina/estreptavidina. De acuerdo con una forma, la enzima a inmovilizar se produce con tecnología de ADN, por ejemplo, en bacterias escherichia coli y se ha preparado una cola enzimática particular para la enzima. Esta cola de afinidad se une a las micropartículas, a las que se une de forma apropiada un componente de unión de la cola con afinidad en cuestión. La cola de afinidad puede ser un compuesto molecular pequeño o una proteína. Con esta disposición, las micropartículas podrían utilizarse de manera eficiente mientras que se purifica la enzima deseada y, al mismo tiempo, la enzima unida a las micropartículas se inmovilizaría fácilmente en la superficie de micropartículas para uso en el método descrito en la invención.

La unión de la enzima o el ligando de afinidad también puede ser inespecífica, no covalente, tal como la adsorción.

Las herramientas y el método de acuerdo con la invención permiten las siguientes soluciones y propiedades:

1. El uso de micropartículas en condiciones controladas utilizando un recipiente reactor particular.
2. Enriquecimiento eficiente de micropartículas.
3. Recolección de micropartículas únicamente a un extremo de la herramienta magnética o sobre toda la superficie del imán.
4. Recolección de micropartículas de un gran volumen de líquido.
5. Recolección de una gran cantidad de micropartículas.
6. Preparación de una superficie de recolección producida con una pequeña cantidad de micropartículas.
7. Recolección de micropartículas mientras que se utiliza un protector de plástico rígido.
8. Recolección de micropartículas mientras que se utiliza un escudo de plástico elástico de elastómero.
9. Recolección de micropartículas sin un escudo particular.
10. El uso de varios recipientes en el enriquecimiento.
11. Utilización de la solución desplazada provocada por medio de la herramienta de imán en el enriquecimiento de micropartículas.
12. Transferencia de micropartículas a través de pasos de recolección y lavado hasta el paso de detección.
13. El uso de varios imanes para lograr una geometría de recolección óptima de micropartículas.
14. Mezclado eficiente en el recipiente del reactor y en el recipiente de enriquecimiento para micropartículas.

Por medio de la invención, se encuentra una solución, que es óptima para un amplio uso en la recogida y transferencia de micropartículas tanto de volúmenes de líquidos grandes como pequeños. En particular, la invención promueve la recogida de partículas en grandes volúmenes de líquido y su liberación en pequeños volúmenes de

líquido.

El dispositivo y el método de acuerdo con la invención no están limitados, por ejemplo, a la biología molecular o la purificación de proteínas, sino que son generalmente aplicables en campos, donde los ligandos unidos a micropartículas pueden usarse para sintetizar, unir, aislar, purificar o enriquecer los componentes biológicos de varias muestras: aplicaciones de diagnóstico, biomedicina, enriquecimiento de patógenos, síntesis de sustancias químicas, aislamiento de venenos, virus, bacterias, levaduras y células.

APLICACIONES DE MÉTODO DE LA INVENCIÓN

El dispositivo y el método de acuerdo con la invención son aplicables para ser utilizados en muchas 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 existe la necesidad de realizar experimentos de purificación en pequeños volúmenes y, por otro lado, aumentar la capacidad incluso en volúmenes muy grandes. Por medio de la invención descrita, se pueden realizar purificaciones de proteínas, cuando sea necesario, a partir de diversos volúmenes de muestra. Los químicos proteicos necesitan poder purificar proteína de una muestra que ha sido pretratada lo menos posible, como, por ejemplo, lisados celulares. También es importante cambiar la capacidad de purificación de acuerdo con las necesidades cambiantes. En la actualidad es posible cambiar los tamaños de columna que se utilizarán. A medida que avanza la purificación, el enriquecimiento de la proteína es una de las operaciones esenciales. En la práctica esto significa disminuir el volumen líquido sin ninguna pérdida o desnaturalización significativa de proteínas. En la actualidad, los métodos más ampliamente utilizados incluyen diálisis o filtración. Ambos métodos requieren mucho tiempo. Por medio del dispositivo y el método descrito en esta invención, se puede proporcionar un método versátil que es aplicable para variar los volúmenes de muestra al campo de las proteínas. Cambiar la capacidad es fácil sin comprar o preparar nuevas columnas. Para un volumen de muestra más grande, se elige simplemente una mayor cantidad de micropartículas y después de que se haya unido la proteína, se recogen las micropartículas y la proteína de la solución por medio del dispositivo y el método descrito en la invención. Los pasos de lavado pueden realizarse en el mismo recipiente o mediante el cambio del recipiente. En el caso anterior, los tampones de lavado utilizados deben conducirse fuera del recipiente y sustituirse por un tampón de lavado nuevo. El cambio del tampón también se puede hacer por medio de varias disposiciones de válvula o succión. Después de los lavados, las proteínas unidas a las micropartículas pueden liberarse en un pequeño volumen y la solución de proteína puede enriquecerse de manera eficiente.

Cuando surge la necesidad, la disminución del volumen se puede realizar en etapas hacia un volumen más pequeño.

Por medio del dispositivo y el método descrito en la invención, por ejemplo, se pueden realizar cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de fase inversa, cromatografía hidrofóbica y purificaciones por cromatografía de afinidad. También se puede lograr la filtración en gel con el dispositivo descrito, pero requiere realizar la filtración en gel en una columna y después recoger las micropartículas por medio de un dispositivo según la invención y el flujo de las proteínas a un volumen pequeño. El método permite, por ejemplo, eliminar la sal de las muestras sin aumentar en gran medida el volumen en comparación con las columnas clásicas de filtración en gel.

El uso de enzimas inmovilizadas para procesar diversas proteínas, azúcares, grasas y diversos denominados biopolímeros es un área de aplicación muy importante para la invención descrita. Una característica importante en comparación con el uso de enzimas solubles es la posibilidad de reutilizar fácilmente las enzimas inmovilizadas. El lavado de la enzima inmovilizada por medio de la invención descrita para uso posterior es muy fácil y eficiente.

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

- CARBOHIDRATOS: Alfa-amilasas, beta-amilasa, celulasa, dextranasa, alfa-glucosidasa, alfa-galactosidasa, glucoamilasa, hemicelulasa, pentosanasa, xilanasa, invertasa, lactasa, pectinasa, pullulanasa
- PROTEASAS: Proteasa ácida, proteasa alcalina, bromelina, ficina, proteasas neutras, papaína, pepsina, peptidasas, renina, quimosina, subtilisina, termolisina, tripsina
- LIPASAS Y ESTERASAS: Trigliceridasas, fosfolipasas, esterasas, acetilcolinesterasa, fosfatasas, fitasas, amidasas, aminoacilasa, glutaminasa, lisozima, acilasa de penicilina
- ISOMERASAS: Isomerasa de glucosa, epimerasas, racemasas
- OXIDOREDUCTASAS: Oxidasa de aminoácido, catalasa, cloroperoxidasa, oxidasa de glucosa, hidroxiesteroide deshidrogenasa, deshidrogenasa de alcohol, deshidrogenasa de aldehído, peroxidasas
- LIASAS: Decarboxilasa de acetolactato, beta-decarboxilasa aspártica, fumarasa, histidasa, descarboxilasa DOPA
- TRANSFERASAS: Glicosiltranferasa de ciclodextrina, metiltransferasa, transaminasa, quinasas
- LIGASAS
- FOSFATASAS: Fosfatasa alcalina

El uso de enzimas es muy común en muchos sectores de la industria, siendo algunos ejemplos los siguientes: la síntesis y modificación de lípidos, proteínas, péptidos, esteroides, azúcares, aminoácidos, medicamentos, plásticos, fragancias, productos químicos y los denominados químicos quirales.

Diversas enzimas de síntesis y escisión asociadas a glicobiología, tales como, por ejemplo, endo y exoglucosidasas, también están dentro del alcance de la invención. Las enzimas familiares de aplicaciones de biología molecular, tales como enzimas de restricción, nucleasas, ribozimas, polimerasas, ligasas, transcriptasas inversas, quinasas y fosfatasas también están dentro del alcance del método descrito en la invención. Como ejemplos de enzimas que modifican ARN de ADN se pueden mencionar los siguientes: FAI (fosfatasa alcalina intestinal), fosfatasa alcalina de E. Coli, exonucleasas (por ejemplo, nucleasa P1, nucleasa S1), ribonucleasas, ARNasas (por ejemplo, RNasa pancreática, RNasa H, RNasa T1, RNasa M, RNasa T2), ligasas de ADN, ligasas de ARN, polimerasas de ADN, enzima Klenow, polimerasas de ARN, quinasas de ADN, quinasas de ARN, transferasas terminales, transcriptasa inversa AMV y fosfodiesterasas. El uso de estas y otras enzimas modificadoras de ADN/ARN es muy polimorfo tanto en la investigación como en aplicaciones de la biología molecular. Las proteasas son enzimas muy importantes en proteómica y química de proteínas, y ejemplos de las cuales incluyen tripsina, quimotripsina, papaína, pepsina, colagenasa, peptidasa de dipeptidilo IV y diversas endoproteinasas. Pueden usarse enzimas sintéticas, anticuerpos catalíticos y complejos multienzimáticos de las formas descritas en la invención. El uso de la invención no está limitado por el uso de enzimas y otros componentes catalíticos en condiciones libres de agua, por ejemplo en disolventes orgánicos.

La biocatálisis comúnmente se refiere al uso de bacterias, enzimas u otros componentes que contienen enzimas en el proceso. Las enzimas o bacterias se pueden inmovilizar en un vehículo sólido adecuado y el agente que se está tratando se pone en conexión con los componentes inmovilizados usando, por ejemplo, columnas clásicas. De acuerdo con esta invención, las células o enzimas se pueden unir a micropartículas de una manera apropiada, cuyas micropartículas se pueden usar según la invención para realizar diversas reacciones enzimáticas.

El método descrito para cultivar y aislar células puede ser ampliamente utilizado. Las 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. Los métodos comúnmente conocidos, tales como, por ejemplo, un método de aislamiento directo o indirecto, se pueden usar en aislamiento de células. En el primero, el método de aislamiento directo, las células deseadas se separan uniéndolas a la superficie de micropartículas utilizando, por ejemplo, anticuerpos específicos. En el método indirecto, no las células deseadas, sino que todas las otras células están unidas a las micropartículas. Las células deseadas permanecen en este caso en la solución.

El método descrito en la invención se aplica bien 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 organismos pequeños de un gran volumen de líquido. El dispositivo y el método descritos en la invención pueden explotarse también dentro de estas áreas de aplicación.

El aislamiento de organelos celulares y diversas fracciones celulares también está 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.

Existen diferentes necesidades para purificar ácidos nucleicos, comenzando con la purificación de pequeñas cantidades de ADN (ácido desoxirribonucleico), ARN (ácido ribonucleico) o ARNm (ARN mensajero) hasta grandes volúmenes de varios litros. El método de acuerdo con la invención se puede usar para aislar ácidos nucleicos tanto de volúmenes de muestras grandes como pequeños de manera eficiente.

Por medio del método, se puede formar una cadena entre los eventos de cultivo/crecimiento, aislamiento y purificación de acuerdo con diversas necesidades. Las células deseadas pueden, por ejemplo, cultivarse primero en condiciones apropiadas y enriquecerse después del cultivo. A partir de entonces, 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 ADN o proteínas. Las micropartículas equipadas con diversos recubrimientos y características se pueden usar en etapas durante el proceso. La última etapa puede ser, por ejemplo, enriquecimiento del producto purificado al volumen deseado, amplificación y detección del producto.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Fig. 1 presenta una vista lateral parcialmente seccionada de una realización de la unidad de imán.
La Fig. 2 presenta una vista lateral en sección de un recipiente de reactor de acuerdo con la invención.
La Fig. 3 presenta una vista lateral parcialmente seccionada de una unidad de reactor de acuerdo con la invención.
La Fig. 4 presenta la unidad de reactor de la figura 3 en una posición horizontal.

La Fig. 5 presenta una vista en perspectiva de un armario ambiental de acuerdo con la invención.
La Fig. 6 presenta una vista lateral en sección de un tubo.
La Fig. 7 presenta una vista lateral en sección de una unidad de imán conectada con el tubo, estando el manguito de la unidad de imán en la primera posición.
La Fig. 8 corresponde a la figura 7 e ilustra una situación en la que el manguito de la unidad de imán está en la segunda posición.
La Fig. 9 corresponde a la figura 7 e ilustra una situación en la que el manguito de la unidad de imán está en la tercera posición.
La Fig. 10 corresponde a la figura 6 y presenta el tubo en otra situación.
La Fig. 11 presenta una vista superior esquemática de unidades de imanes paralelos colocados en una disposición circular.
La Fig. 12 presenta una unidad de reactor de acuerdo con la invención.
La Fig. 13a presenta una vista lateral en sección vertical de otra unidad de reactor de acuerdo con la invención.
La Fig. 13b presenta una sección tomada de la figura 13a a lo largo de la línea A-A.
La Fig. 14a presenta una unidad de imán colocada en un recipiente de mezclado equipado con un elemento flexible.
La Fig. 14b corresponde a la figura 14a y presenta el recipiente de mezclado equipado con un elemento flexible en otra posición.
Las Figs. 15a-c presentan vistas laterales en sección vertical de las diversas etapas cuando se usa la unidad de imán junto con un tubo que consiste en material elástico.
Las Figs. 16a-f presentan vistas laterales en sección vertical de las diversas etapas para tratar la solución en el tubo por medio de una unidad de imán.
La Fig. 17 presenta una vista lateral parcialmente seccionada de una realización de la unidad de imán equipada con una membrana protectora.
La Fig. 18 corresponde a la figura 17 y presenta la acción de la unidad de imán en otra etapa.
La Fig. 19 corresponde a figura 17 y presenta la acción de la unidad de imán en la tercera etapa.
La Fig. 20 corresponde a figura 17 y presenta la acción de la unidad de imán en la cuarta etapa.
La Fig. 21 presenta una vista lateral parcialmente seccionada de otra realización de la unidad de imán equipada con otro tipo de membrana protectora.
La Fig. 22 presenta una unidad de reactor.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LOS DIBUJOS

La Fig. 1 presenta una unidad de imán 10 según la invención, cuyo imán contiene un imán 13 magnetizado transversalmente y un tubo o manguito ferrometálico 12, que es transferible en la dirección axial en la parte superior del imán 13. El imán 13 está protegido por una membrana protectora 21, que puede consistir en material elástico o duro, preferiblemente plástico o caucho de silicona. Además, se incluye una junta de brida 33 y un eje de rotación 28 en la unidad de imán 10, por medio de la cual el eje de rotación del imán 13 y la membrana protectora 21 dentro de la unidad de imán 10 pueden girar alrededor de sus ejes longitudinales.

La Fig. 2 presenta un recipiente del reactor 61 de acuerdo con la invención, que contiene canales 62 equipados con válvulas 63. El recipiente del reactor 61 contiene líquido 23 necesario en el proceso. El recipiente del reactor 61 y la unidad de imán 10 presentada en la figura 13 forman juntos una unidad de reactor 60, como se describe en la figura 15.

La Fig. 3 presenta una unidad de reactor 60 según la invención, cuya unidad de reactor contiene un recipiente de reactor 61 que contiene líquido 23 necesario en el proceso, que incluye, por ejemplo, medios de cultivo, muestra, solución de tampón y partículas magnéticas 22, tales como micropartículas. Los agentes, tales como soluciones apropiadas y partículas magnéticas, pueden añadirse al reactor 60 cuando surge la necesidad o pueden eliminarse líquidos a través de los canales 62 conectados al recipiente del reactor, cuyos canales contienen válvulas 63. Los canales 62 o las entradas correspondientes pueden estar situadas en los lados o en los extremos del recipiente del reactor y puede haber varios de ellos en varias 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 dentro de la unidad de reactor 60. A través del canal de entrada 62 también se puede llevar más muestra a la unidad de reactor 60 y/o se puede retirar la muestra que ha estado dentro de la unidad de reactor 60. Estas entradas pueden tener filtros apropiados, por medio de los cuales el gas o solución tomada en el interior puede mantenerse estéril. Las partículas magnéticas 22 se han reunido en la superficie de la membrana protectora 21 en la Fig. 15.

La Fig. 4 presenta la unidad de reactor 60 de la Fig. 3 en una posición horizontal. Si la unidad de reactor 60 se mantiene de lado en esta posición y el imán 13 y la membrana protectora 21 de la unidad de imán 10 giran en relación con la pantalla de protección de la unidad de imán 10, se produce una mezcla eficiente en el líquido 23 dentro de la unidad de reactor 60. Entonces también se mezclan partículas magnéticas en el líquido. La altura de la superficie del líquido 25 dentro de la unidad del reactor 60 puede regularse y optimizarse de acuerdo con la aplicación utilizada.

Con el fin de aumentar la eficacia del líquido de mezcla 23 dentro de la unidad de reactor 60, la membrana

protectora 21 del imán 13 puede estar equipada con alerones apropiados. Mientras que giran la membrana protectora 21 y los alerones, se consigue el movimiento y la mezcla del líquido 23 dentro del recipiente del reactor 63. En lugar de alerones, la superficie de la membrana protectora 21 se puede diseñar de varias maneras. La membrana protectora 21 también puede tener un diseño apropiado en su punta 64, que de ese modo soporta la unidad de imán, mientras está horizontalmente de lado.

En el proceso a utilizar, las partículas magnéticas se pueden unir fácilmente al escudo protector 21 del imán 13 o se pueden unir a él de una manera apropiada durante el proceso. La recogida y liberación de partículas magnéticas de la membrana protectora 21 se realizan de acuerdo con la invención por medio de un manguito ferromagnético 12, que se transfiere longitudinalmente por encima o por fuera del imán 13. El imán 13, utilizado en la realización presentada, es un imán longitudinalmente magnetizado. Entonces, es esencial que las partículas magnéticas puedan ser recogidas en la unidad de reactor 60 sobre un área grande que rodea la membrana protectora 21.

Mientras que las partículas magnéticas están unidas a la membrana protectora 21, la herramienta tiene una superficie muy activa para recoger, por ejemplo, proteínas, células, ADN o bacterias del líquido 23 en el recipiente del reactor 61. Al mezclar la solución, la solución a tratar se hace fluir entre las partículas magnéticas unidas a la membrana protectora 21 de tal manera que los componentes deseados se unen a las partículas magnéticas. También es posible en la unidad de reactor 60 liberar las partículas magnéticas de vez en cuando a la solución del modo descrito en la invención y recoger nuevamente las partículas magnéticas de la solución en la superficie de la membrana protectora 21.

La Fig. 5 presenta un armario ambiental 70, donde se pueden colocar varias unidades de reactor simultáneamente. Por medio de un motor 71 y un mecanismo de accionamiento 72 conectado al armario ambiental 70, los imanes 13 y las membranas protectoras 21 dentro de las unidades de reactor 60 pueden girarse simultáneamente. Por ejemplo, la temperatura, la velocidad de rotación de los imanes y las pantallas protectoras, el intercambio de gases entre las unidades del reactor, el muestreo de la unidad del reactor y las adiciones de muestra o soluciones a las unidades del reactor pueden regularse en el armario ambiental 70.

Tal solución es particularmente útil en el control de calidad microbiológica, por lo que, por ejemplo, las bacterias patógenas pueden cultivarse en las unidades de reactor 60. En un tiempo apropiado, las unidades de reactor 60 se retiran del armario ambiental 70. A continuación, se recogen las micropartículas sobre la superficie de la membrana protectora 21 en la unidad de imán 10. La unidad de imán 10 del reactor 60 se libera del recipiente del reactor 61, tras lo cual las partículas magnéticas pueden lavarse, por ejemplo, y enriquecerse en recipientes separados. Todo lo demás, excepto las partículas magnéticas, permanecerá en el recipiente del reactor liberado 61. Se pueden manipular volúmenes muy grandes con el equipo.

La Fig. 6 presenta un tubo 26, que contiene un líquido apropiado 23, tal como un fluido de lavado. La unidad de imán 10 liberada desde el reactor 60 se lleva al tubo 26 de la manera presentada en la Fig. 7. Las partículas magnéticas 22 están en este punto aún reunidas en la superficie de la membrana protectora 21. En esta situación, la superficie del líquido 25 de la la solución 23 tiene que estar por encima del área de unión de las partículas magnéticas 22 en la superficie de la membrana protectora 21 de tal manera que las partículas magnéticas 22 están por debajo de la superficie del líquido 25.

La Fig. 8 presenta una situación en la que el manguito ferromagnético 12 de la unidad de imán 10 se mueve hacia abajo en la figura. Se ve en la Fig. 8 que el manguito ferromagnético 12 ya está parcialmente encima del imán 13. La transferencia del manguito ferromagnético 12 sobre la parte superior del imán 13 provoca la eliminación del campo magnético en ese punto, tras lo cual una parte de las partículas magnéticas 22a se libera desde la superficie de la membrana protectora 21 desde arriba. En el lugar, en el que el manguito ferromagnético 12 aún no está encima del imán 13, el campo magnético todavía mantiene la otra parte de las partículas magnéticas 22b unida en la superficie de la membrana protectora 21.

En la Fig. 9, el manguito ferromagnético 12 se transfiere completamente sobre la parte superior del imán 13. Entonces, el manguito ferromagnético 12 ha provocado una eliminación completa del campo magnético, tras lo cual las partículas magnéticas 22 se liberan de la superficie de la membrana protectora 21 a la solución 23.

En la Fig. 10, la unidad de imán 10 se retira del tubo 26, tras lo cual se logra el enriquecimiento de las partículas magnéticas 22 y componentes unidos a éstas, tales como, por ejemplo, bacterias, en el tubo 26 fuera de la unidad de reactor 60. Utilizando la misma unidad de imán 10, ahora se puede continuar el procesamiento de la muestra en volúmenes más pequeños de tal manera que el área de recogida de las partículas magnéticas 22 se limita por medio del manguito ferromagnético 12 directamente a la punta de la membrana protectora 21. Las partículas 22 pueden recogerse del tubo 26 a los tubos siguientes y, por ejemplo, lavarse en una cantidad suficiente.

También es posible aislar ADN, ARN, proteína o antígeno de superficie de bacterias de la unidad de reactor 60 por medio de reactivos destinados para esto. Las bacterias generalmente necesitan romperse por medio de varios dispositivos y/o reactivos antes de realizar análisis adicionales. A continuación, las siguientes micropartículas con diversas propiedades de unión se pueden agregar al lisado bacteriano. Por medio de partículas magnéticas con una

nueva característica, por ejemplo, la proteína deseada, antígeno, ADN, ARNr, ARN o ARNm de bacterias se pueden recoger del lisado bacteriano. Las partículas magnéticas 22 destinadas a recoger bacterias en la unidad de reactor 60 pueden haberse eliminado antes de que se hayan introducido partículas magnéticas con nuevas características en el proceso.

Los componentes mencionados anteriormente se pueden aislar, lavar y liberar para el análisis primario con el método descrito en la invención. Los métodos de análisis pueden incluir, por ejemplo, amplificación por PCR o un ensayo ELISA. En el recipiente del reactor descrito 61 pueden cultivarse microorganismos aerobios y anaeróbicos. El cultivo de células eucariotas también es posible usando el recipiente del reactor de acuerdo con la invención.

La Fig. 11 presenta un dispositivo de transferencia multicanal 40, en el que las unidades de imán 10 forman un círculo. Cada unidad de imán 10 puede tener una membrana protectora separada, pero de acuerdo con otra realización hay una membrana protectora compartida para todas las unidades de imán 10.

La Fig. 12 presenta una unidad de reactor 60 según la invención, donde el líquido 23 necesario para el proceso está colocado en el recipiente del reactor 61. El líquido 23 puede contener el líquido necesario para el proceso, medio de crecimiento, muestra, solución de tampón y micropartículas 22. El recipiente del reactor 61 está conectado y preferiblemente también sellado a la junta de brida 33 de la unidad de imán 10. Hay un estrechamiento 73 en el centro de la unidad de imán 10 y la unidad de imán 10 se enfoca en el mismo punto dentro del recipiente del reactor 61. El estrechamiento 73 divide el espacio interior del recipiente del reactor 61 longitudinalmente en dos compartimentos separados 74a y 74b. Al mover la unidad de reactor 60, por ejemplo, alrededor de su eje longitudinal, se produce una corriente eficiente alrededor de la unidad de imán 10 en el recipiente del reactor 61 por el estrechamiento 73. El movimiento de la unidad de reactor 60 puede ser diferente, por ejemplo de tal manera que la unidad del reactor 60 se balancea alrededor de su eje transversal, por lo que los extremos son, por turnos, más altos o más bajos que el extremo opuesto.

Las Fig. 13a y 13b presentan otra unidad de reactor 60, la cual no está comprendida dentro del alcance de la presente invención, donde el líquido 23 necesario en el proceso se coloca en el recipiente del reactor 61. El líquido 23 contiene la solución necesaria en el proceso, como medio de cultivo, muestra, solución de tampón y micropartículas 22. El recipiente del reactor 61 está conectado a una junta de brida 33 de la unidad de imán 10, por lo que se forma un recipiente del reactor cerrado 60.

Un corte horizontal de la unidad de reactor 60 presentada en la Fig. 13b muestra que hay un estrechamiento 73 en el centro de la unidad de reactor 60 y la unidad de imán 10 se enfoca en el mismo punto dentro del recipiente del reactor 61. El estrechamiento 73 divide el espacio interior del recipiente del reactor 61 transversalmente a dos compartimentos separados 74a y 74b que están situados uno encima del otro en la Fig. 13b. El líquido 23 está en la 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 son por turnos uno encima del otro, por lo que se provoca una corriente eficiente alrededor de la unidad de imán 10 por el estrechamiento 73 en el recipiente del reactor 61.

Las Fig. 14a y 14b presentan una unidad de imán 10 y otro recipiente, que no está incluido en el ámbito de la presente invención. En Fig. 14a, el recipiente contiene una unidad de imán 10 y un líquido 23. En Fig. 14a, la superficie del líquido 23 está a la altura hi. El recipiente 26 contiene un elemento flexible 75, que en la Fig. 14a está en su posición básica. En Fig. 14b, el elemento flexible 75 se empuja hacia abajo, después de 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 el recipiente pueden verse afectadas.

La Fig. 15a presenta un tubo 26 que consiste en un material elástico, cuyo tubo contiene la solución 23. En Fig. 15b, la unidad de imán 10 se lleva al recipiente, cuya unidad de imán se ha usado para empujar hacia abajo el fondo del tubo 26 que consiste en material elástico. En la etapa estirada, se hace que la superficie 25 de la solución 23 suba de manera eficiente a lo largo de la unidad de imán 10. Fig. 15c presenta una situación en la que la unidad de imán 10 se ha retirado del tubo 26 y la superficie del líquido 25 se baja de nuevo al nivel original. Tal solución se puede utilizar en el enriquecimiento de micropartículas de acuerdo con la invención.

La Fig. 16a-f presentan un método de acuerdo con la invención para el enriquecimiento de micropartículas 22 a un pequeño volumen y para transferir las micropartículas 22 al siguiente recipiente en la punta de la unidad de imán 10. Hay un tubo 26 en la Fig. 16a, cuyo tubo contiene la solución 23. En Fig. 16b, la unidad de imán 10 que tiene micropartículas 22 que rodean su membrana protectora 21, se lleva al tubo 26. La unidad de imán 10 y un tubo 26 elegido apropiadamente elevan la superficie 25 de la solución 23 de una manera apropiada sobre las micropartículas 22 recogidas por el imán 13a. La unidad de imán 10 contiene un grupo de unidades de imán 41 que incluye un primer imán 13a magnetizado transversalmente a su eje longitudinal y un pequeño segundo imán 13b magnetizado a lo largo de su eje longitudinal justo en la punta de la unidad de imán 10, que se presenta en la parte inferior de la Fig. 16b. El imán pequeño 13b está destinado a actuar en la transferencia de las micropartículas 22 a pequeños recipientes en las siguientes etapas del proceso.

La Fig. 16c presenta una situación en la que un grupo de unidades de imán 41 se mueve rápidamente fuera de la membrana protectora 21. Entonces las micropartículas no se mueven juntas con los imanes 13a y 13b, sino que permanecen en el lugar, donde estaban 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 las micropartículas 22 han quedado libres de la superficie de la membrana protectora 21 a la solución 23. Fig. 16e presenta el uso de la unidad de imán 10 mientras que recoge las micropartículas 22 en el tubo 26 directamente a la punta de la unidad de imán 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 de imán 10 a, por ejemplo, los siguientes recipientes que contienen otras soluciones elegidas apropiadamente.

La Fig. 17 presenta una unidad de imán 10 que incluye un imán 13 magnetizado transversalmente, un manguito ferromagnético 12 y una membrana protectora 21 que contiene nervios 29 en su superficie exterior. Entre las crestas 29 hay nichos, donde las micropartículas 22 se juntan y por medio de las cuales se asegura la recolección confiable de una gran cantidad de micropartículas en superficies amplias y su transferencia de un recipiente a otro.

La Fig. 18 presenta la unidad de imán 10 de Fig. 17 en una posición en la que el imán 13 se empuja completamente fuera del manguito ferromagnético 12. Entonces el imán atravesado transversalmente 13 recoge micropartículas 22 en su membrana protectora 21 con toda su longitud. Al empujar el imán 13 hacia fuera, la membrana protectora 21 se estira de tal modo que se formarán nichos o bolsas grandes entre las crestas 29. Las micropartículas 22 permanecerán en estas bolsas de tal manera que sea fácil mantenerlas quietas en colocar mientras que se levanta la unidad de imán 10. Las corrientes de líquido causadas por el movimiento de la unidad de imán 10 y el efecto perturbador de la tensión superficial provocado por la penetración de la superficie no liberan micropartículas 22 de las bolsas.

La Fig. 19 presenta una situación en la que el imán 13 se empuja completamente fuera del manguito ferromagnético 12 y simultáneamente el manguito ferromagnético 12 también se empuja completamente hacia fuera. Entonces, el manguito ferromagnético 12 empujado sobre el imán 13 neutraliza la fuerza magnética del imán 13 y las micropartículas 22 se liberan de la membrana protectora y se transfieren al líquido.

La Fig. 20 presenta de nuevo una situación en la que solo el manguito ferromagnético 12 se expulsa por completo. En este caso, el imán 13 no tiene fuerza magnética, por lo que las micropartículas 22 no se juntan en la superficie de la membrana protectora 21. Además, las etapas presentadas en Fig. 18 y 19 pueden usarse naturalmente por turnos, es decir, mientras que el imán 13 se expulsa completamente, solo el manguito ferromagnético 12 se mueve hacia adelante y hacia atrás. También se logra un efecto de bomba mezcladora de esta manera en el líquido.

La Fig. 21 presenta otra unidad de imán 10 que incluye un imán 13 magnetizado longitudinalmente, un manguito ferromagnético 12a y una membrana protectora 21 que tiene una bolsa 42 en su extremo para micropartículas 22. Por medio de dicha estructura, una gran cantidad de partículas 22 se puede recoger, partículas que no se liberan fácilmente de la superficie de la membrana protectora 21 durante la transferencia.

La Fig. 22 presenta de forma general una unidad de reactor 60 de acuerdo con la invención que incluye en su forma simple un recipiente de reactor 61 y una tapa 33, por medio de la cual el recipiente de reactor 61 puede cerrarse a la unidad de reactor 60. El reactor el recipiente 61 contiene líquido 23 necesario para el proceso, líquido que contiene el líquido necesario para el proceso, tal como medios de cultivo, muestra, solución de tampón y micropartículas 22. La unidad de imán 10 está conectada en esta realización a la tapa 33 del recipiente del reactor 61, cuya tapa actúa simultáneamente como una junta de brida para la unidad de imán 10. En la forma más simple, el imán en la unidad de imán 10, incluido en la unidad de reactor 60, es simplemente un imán que no tiene membrana protectora. De acuerdo con las realizaciones presentadas anteriormente y otras, el imán puede sin embargo estar recubierto con un revestimiento protector o puede haber una protección o membrana protectora separada que consiste en material elastomérico o no elastomérico en conexión con el imán.

LISTA DE REFERENCIAS

10 unidad de imán
12 tubo ferromagnético o manguito
13 imán
21 membrana protectora
22 micropartículas
23 solución
25 superficie líquida
26 recipiente
28 eje de rotación
29 cresta de la membrana protectora
40 dispositivo de transferencia multicanal para micropartículas
41 grupo de unidades de imán
42 bolsa

60 unidad de reactor
61 recipiente del reactor
62 canal
63 válvula
64 punta
70 armario ambiental
71 motor
72 mecanismo de accionamiento
73 estrechamiento
74 compartimento
75 elemento elástico

REIVINDICACIONES

1. Método de enriquecimiento magnético, en el que al menos un componente biológico deseado se recoge de la solución (23) por medio de al menos un imán (13), cuyo componente a continuación se enriquece en un líquido, al comprender

- que mediante las micropartículas (22) unidas a al menos un imán (13) o unidas por medio de al menos un imán, al menos un componente biológico se recoge en un recipiente de reactor cerrado (26, 61) mediante la unión a las micropartículas (22),
- y que al menos un componente biológico se enriquece de tal manera que al menos un componente biológico deseado se libera al líquido,
- en donde las micropartículas (22) son magnéticas,

caracterizadas porque

- el recipiente de reactor cerrado comprende una unidad magnética (10) que comprende un tubo ferromagnético (12), y
- al menos un imán (13) y el tubo ferromagnético (12) puede moverse uno en relación con el otro.

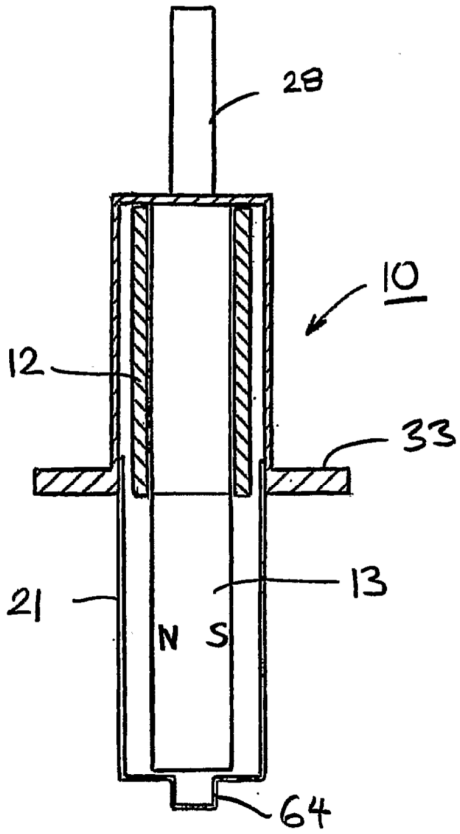

FIG. 1

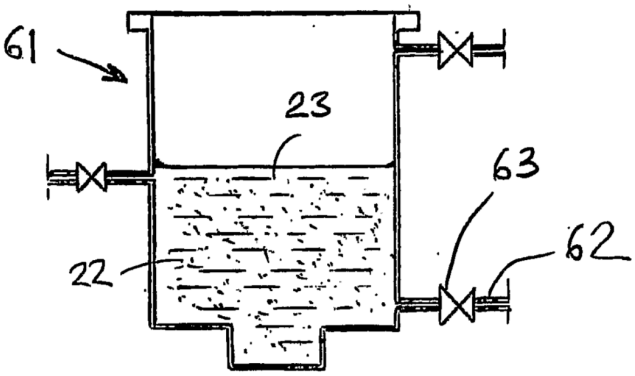

FIG. 2

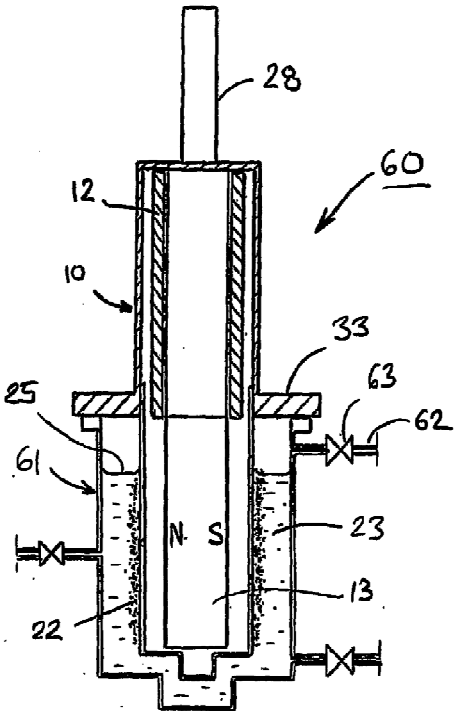
28
60
12
10
33
63
25
62
61
N
S
23
13
22

FIG. 3

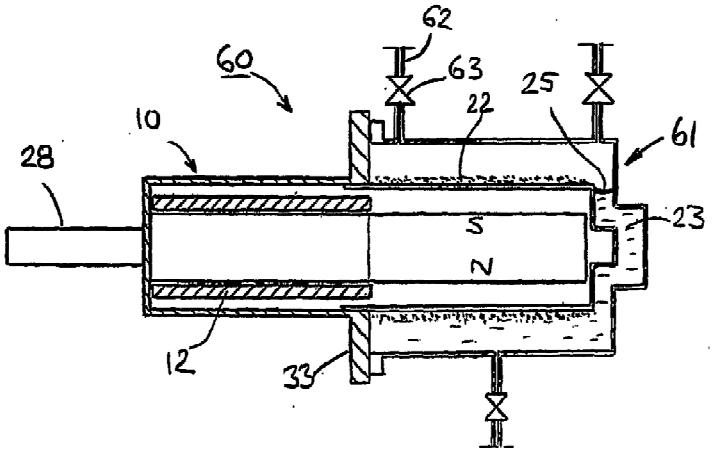
62
60
63
25
22
10
61
28
23
S
N
12
33

FIG. 4

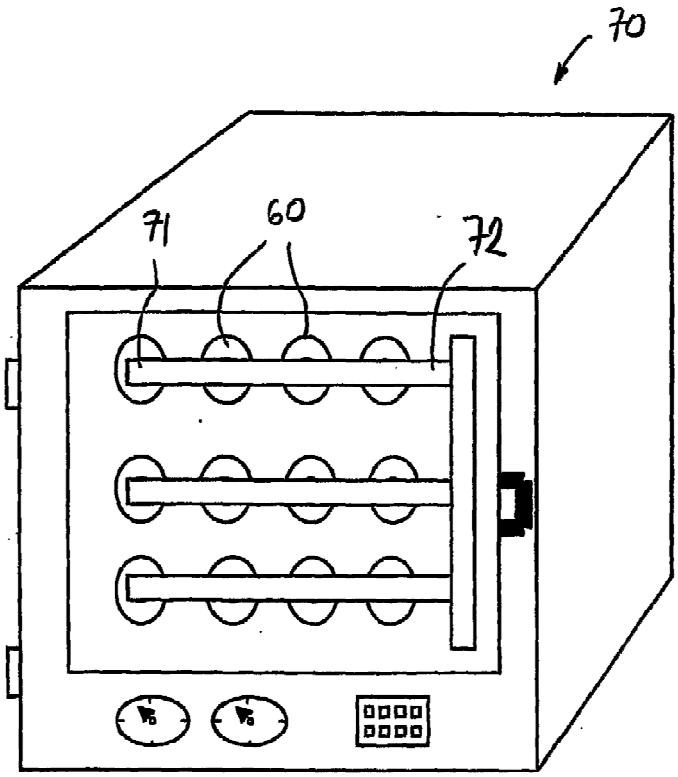

FIG. 5

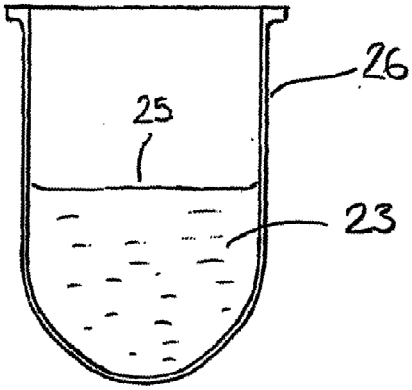

FIG. 6

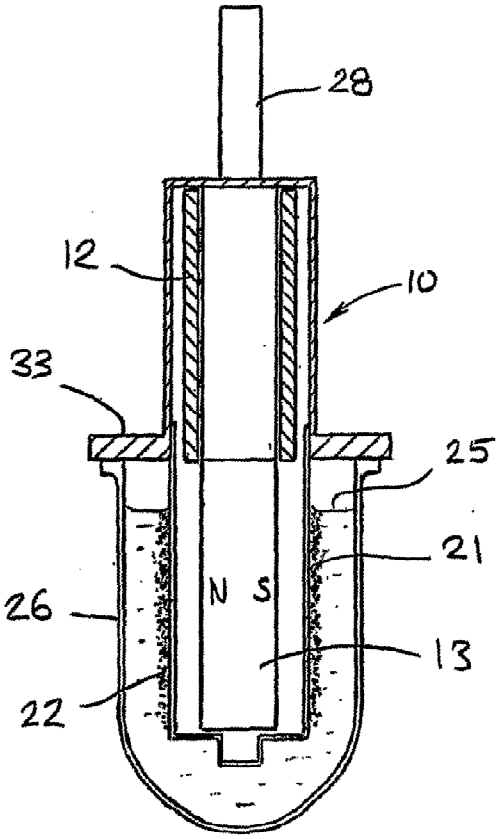

Fig. 7

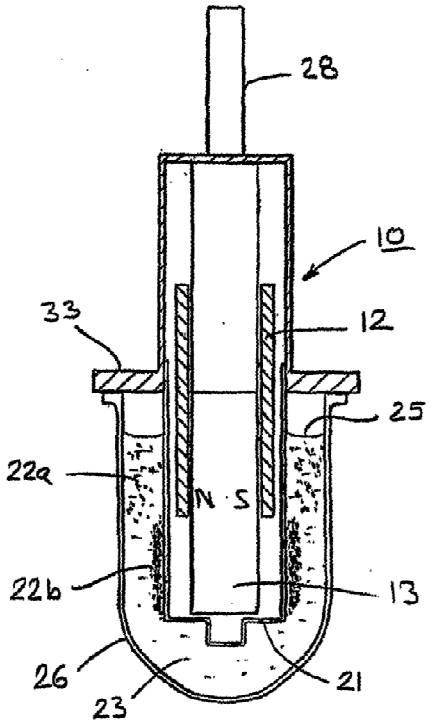

FIG. 8

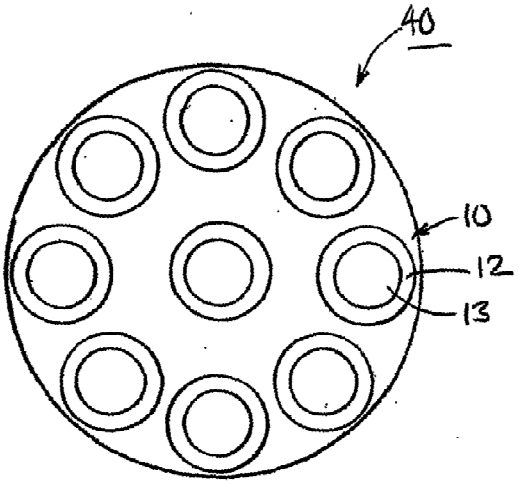

FIG. 11

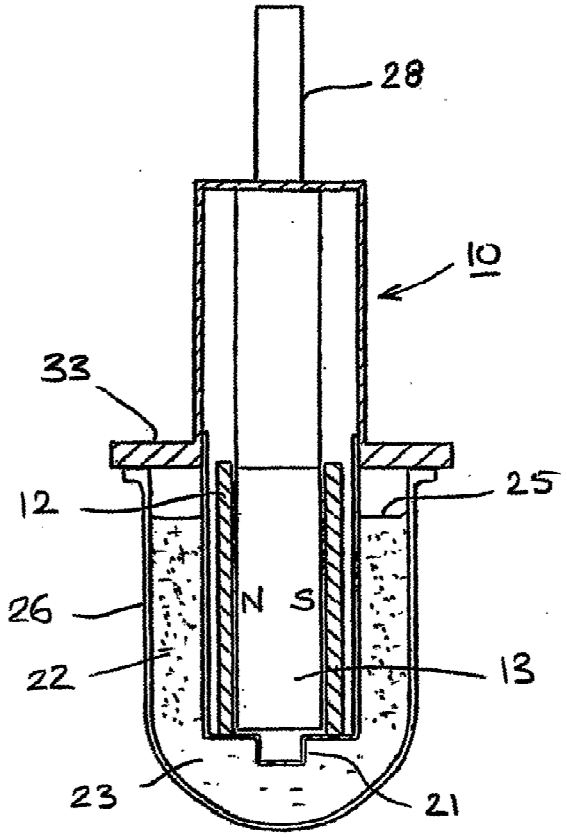

FIG. 9

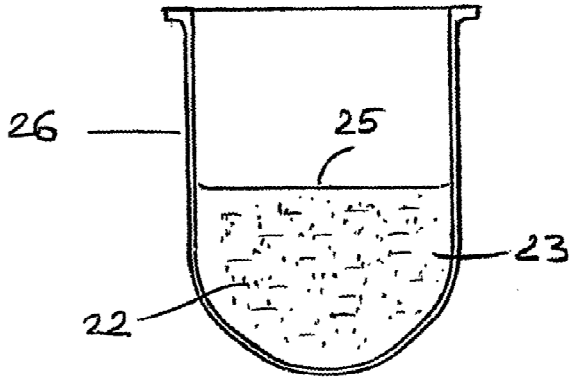

Fig. 10

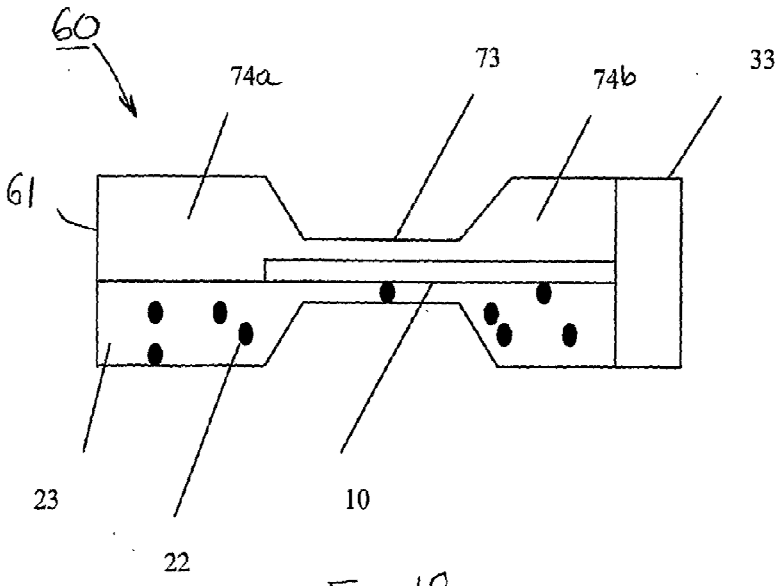

Fig. 12

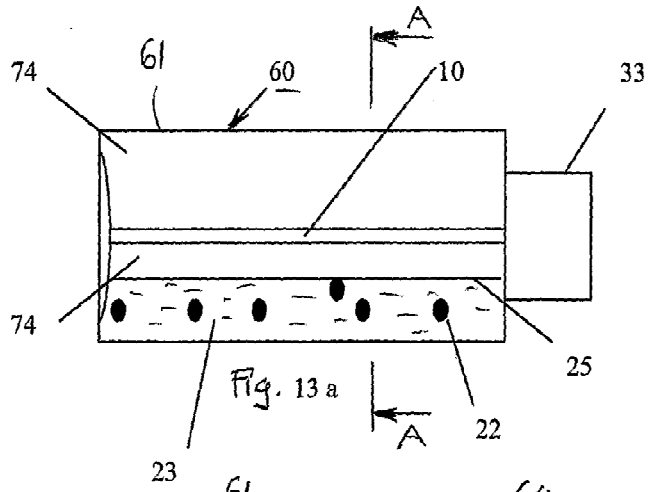

Fig. 13 a

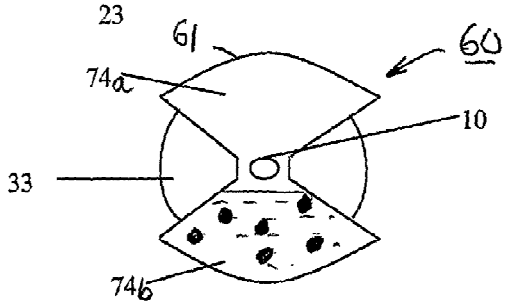

Fig. 13 b

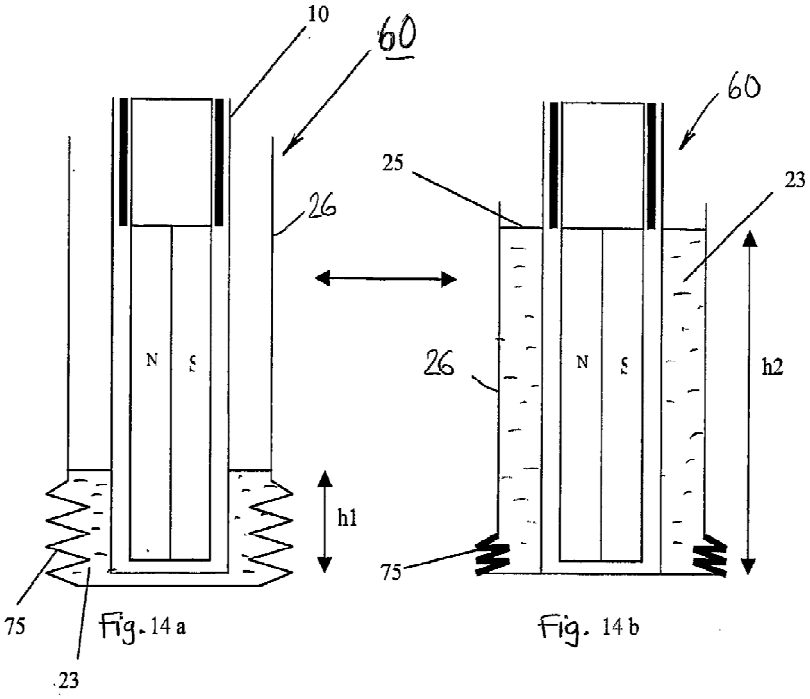

Fig. 14 a

Fig. 14 b

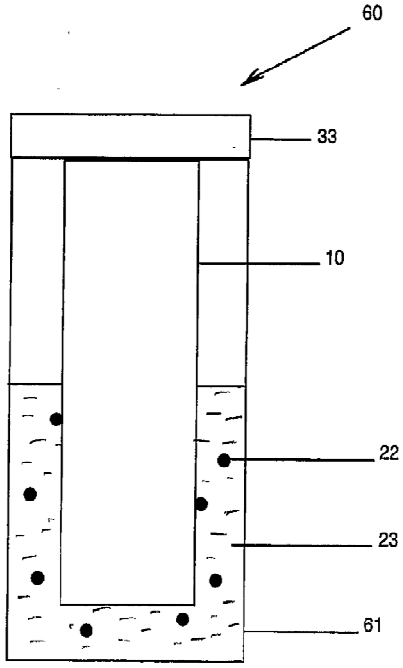

Fig. 22

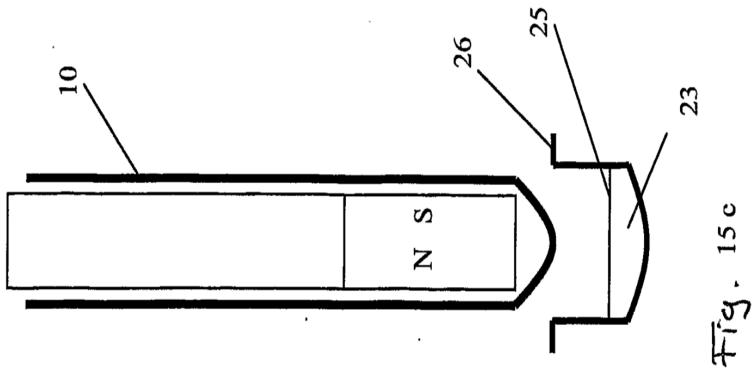

Fig. 15 c

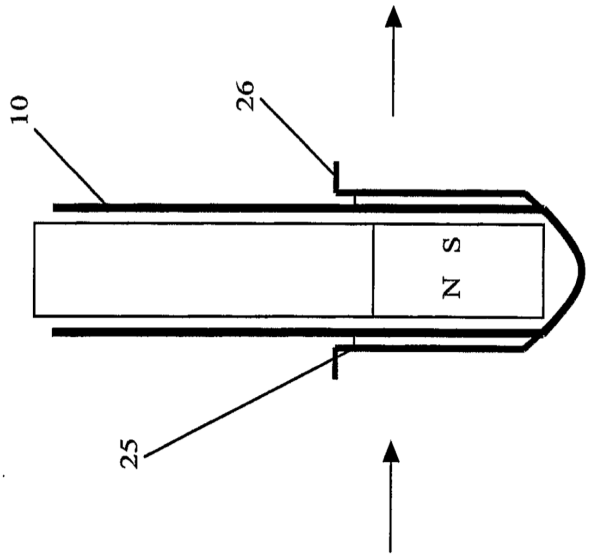

Fig. 15 b

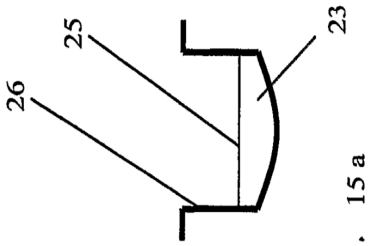

Fig. 15 a

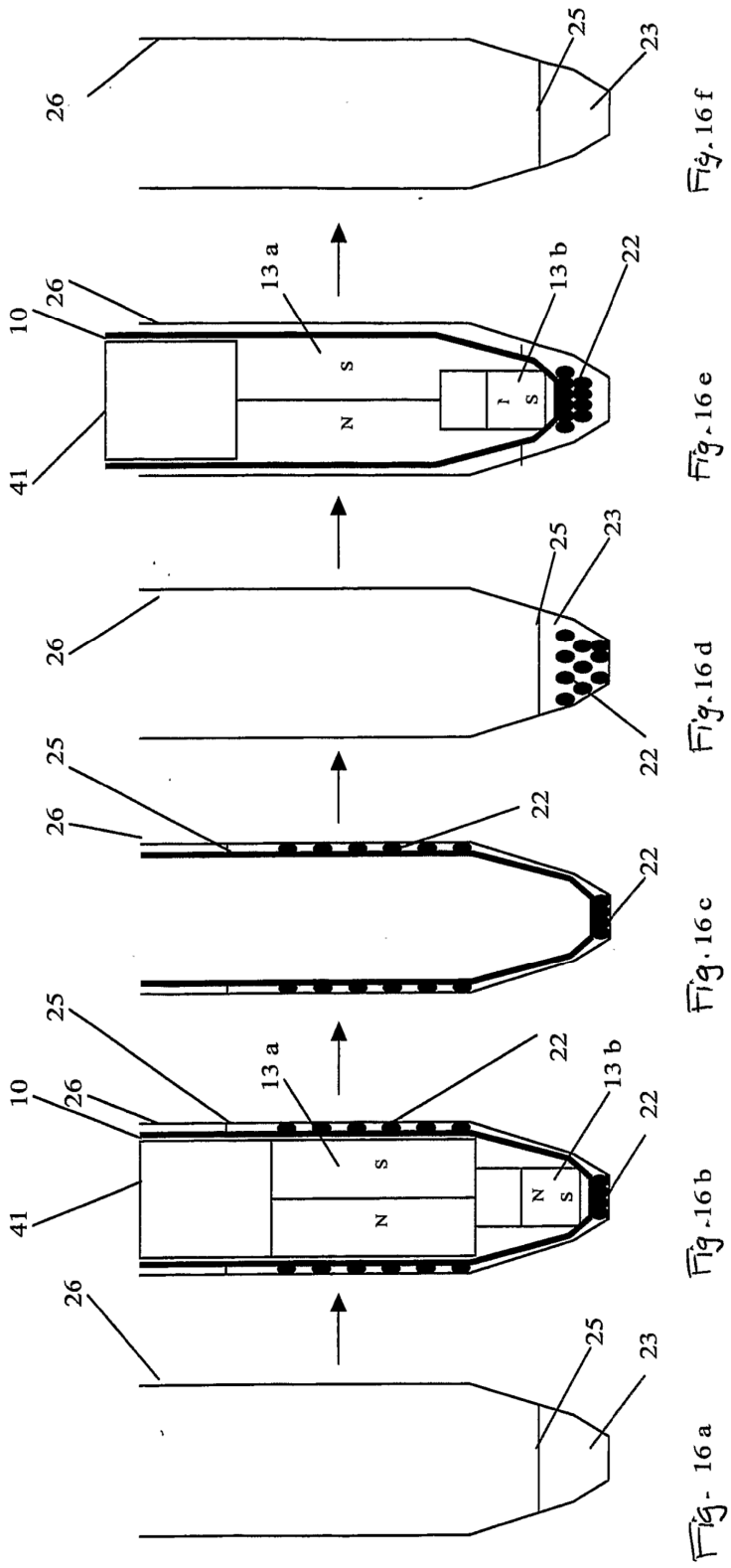

Fig. 16 a

Fig. 16 b

Fig. 16 c

Fig. 16 d

Fig. 16 e

Fig. 16 f

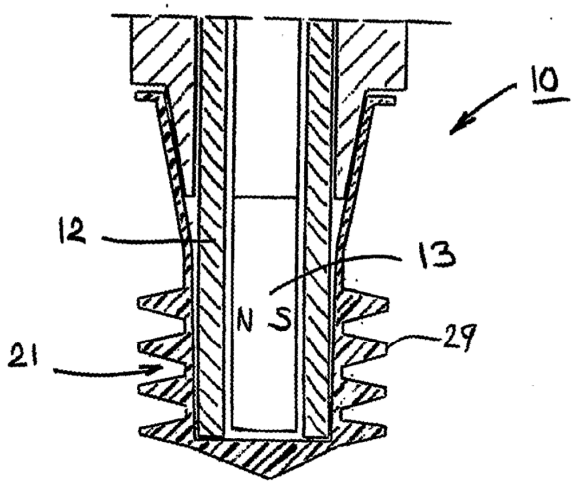

FIG. 17

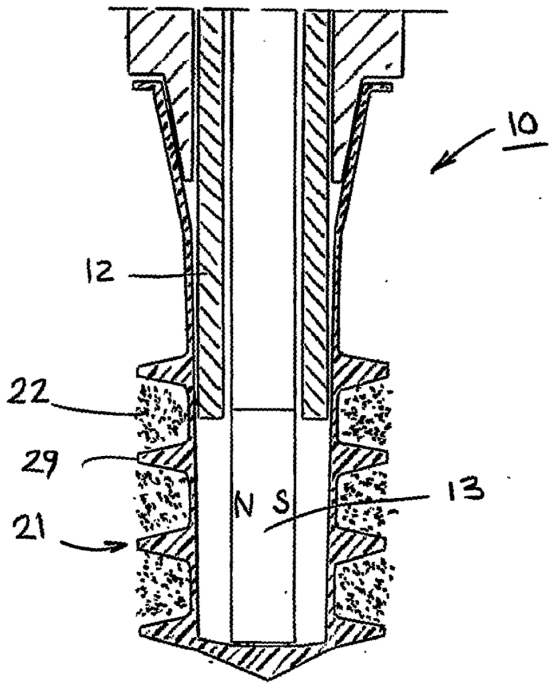

Fig. 18

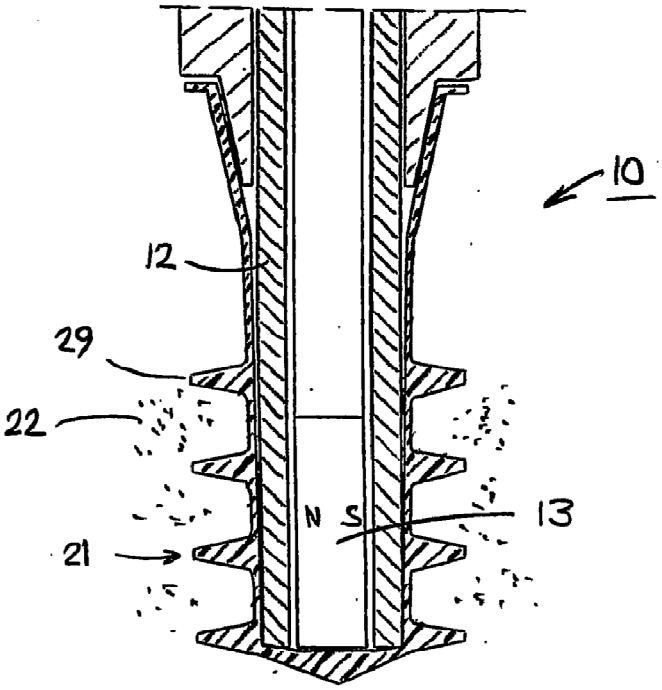

FIG. 19

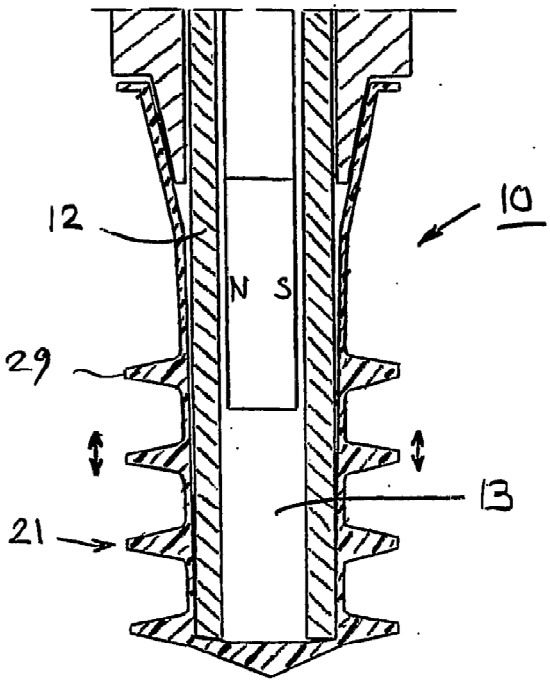

Fig. 20

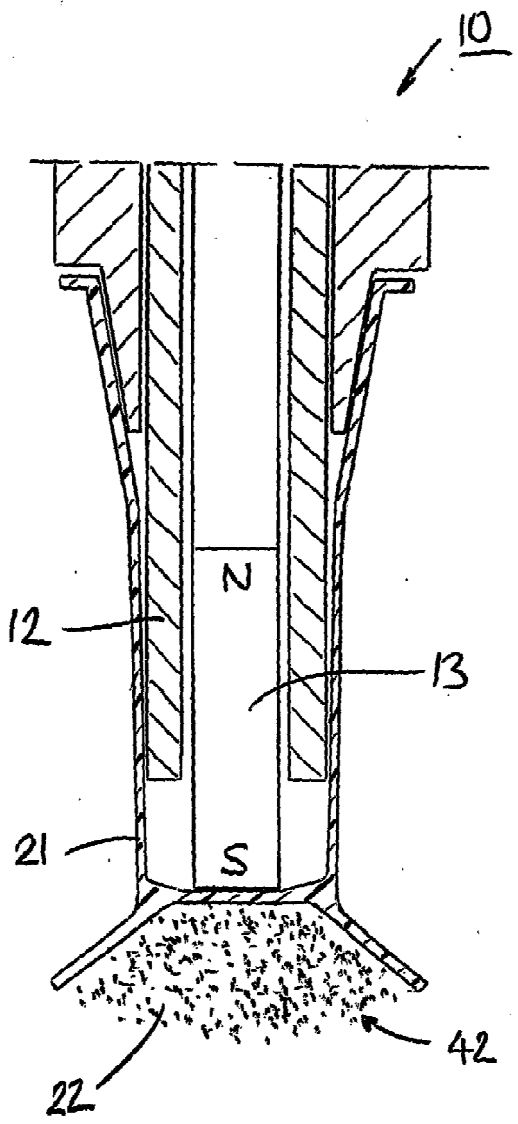

FIG. 2