

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 690 784**

51 Int. Cl.:

B03C 1/035 (2006.01)

B03C 1/033 (2006.01)

B03C 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.04.2012 PCT/US2012/032423**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.11.2012 WO12148648**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2012 E 12775925 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018 EP 2701850**

54 Título: **Dispositivos y métodos para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra**

30 Prioridad:

27.04.2011 US 201161479778 P

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

22.11.2018

73 Titular/es:

**BECTON DICKINSON AND COMPANY (100.0%)
One Becton Drive
Franklin Lakes, NJ 07417-1880, US**

72 Inventor/es:

YU, LIPING

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 690 784 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

Dispositivos y métodos para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra

Introducción

5 Se han descrito inmunoensayos en los que se utilizan anticuerpos de analito específico conjugados con partículas magnéticas para etiquetar magnéticamente un analito objetivo para facilitar la separación magnética del analito de la solución de muestra. Típicamente, después de que se haya concentrado el analito etiquetado magnéticamente contra el lado o la parte inferior de la cámara de muestra, se retira el fluido de muestra. Tales ensayos requieren fluidos de manipulación de muestras para separar el analito capturado del fluido de muestra y son intrínsecamente de múltiples pasos.

10 La patente de los EE.UU N° 5.945.281 describe un inmunoensayo magnético en el que un analito objetivo etiquetado es separado magnéticamente de un fluido de muestra y movido desde una cámara de muestra a una región de detección para análisis óptico. La muestra es añadida a la cámara de muestra que contiene reactivos de captura magnética y una etiqueta, de tal manera que el analito objetivo en la muestra forma un complejo con el agente de captura magnético y la etiqueta. Un potencial eléctrico es aplicado al complejo para transportar el complejo a una región de detección, y se
15 determina la presencia del complejo en la región de detección.

Las patentes de los EE.UU N° 6.858.440; 6.645.777; 6.630.355; y 6.254.830 describen un inmunosensor de enfoque magnético para concentrar magnéticamente bacterias patógenas en una muestra de alimento sobre el lado de un recipiente de muestra y detectar ópticamente las células concentradas a través del lado del recipiente de muestra. El inmunosensor de enfoque magnético incluye un imán de enfoque y fibras ópticas fijadas al lado del imán para transmitir
20 luz de excitación y de detección.

El documento WO 2009/0229944, contra el que está delimitada la reivindicación 1, describe un sistema de separación de microfluidos que comprende un separador magnético y un chip de microfluidos.

Resumen

25 El marco de la invención está definido solo por las reivindicaciones adjuntas, independientemente de cualesquiera otras indicaciones relictas a lo contrario. Todas las referencias tales como “la invención”, “la realización” que se refieren a la materia de estudio que no entran dentro del marco de las reivindicaciones adjuntas han de ser interpretadas como referencias a otros aspectos de la descripción como se presentaron originalmente. Todas las referencias que indican que las características de las reivindicaciones independientes son opcionales (por ejemplo, por el uso de “puede”, “en algunos casos”, “en algunos ejemplos”) no han de ser interpretadas como parte de la invención.

30 Se han proporcionado dispositivos y métodos para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. Las realizaciones del dispositivo incluyen guías de campo magnético dispuestas en una o más fuentes de campo magnético, donde las guías de campo magnético tienen cada una de ellas una parte en forma de cuña con un borde de vértice. Los bordes de vértice de las guías de campo magnético están alineados sustancialmente a través de y paralelos entre sí. En ciertos casos, el dispositivo incluye un conducto para transportar un flujo de muestra muy cerca de los bordes de vértice de las guías de campo magnético, de tal manera que el flujo de muestra es sustancialmente paralelo a los
35 bordes de vértice de las guías de campo magnético.

Las realizaciones de la presente descripción pueden conseguir separación magnética de alta eficiencia, de caudal elevado y de bajo coste de fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. Por ejemplo, se pueden utilizar realizaciones de la presente descripción para separar células y otras moléculas que están etiquetadas con partículas magnéticas a partir de una muestra de fluido biológico. En algunos casos, la eficiencia de separación de los fragmentos etiquetados magnéticamente de la muestra depende del campo magnético y del gradiente de campo magnético producidos por la fuente de campo magnético. En algunos casos, la fuerza sobre las etiquetas magnéticas, y por lo tanto la eficiencia de separación magnética, depende del producto del campo magnético y del gradiente del campo magnético. Así, realizaciones de la presente descripción pueden conseguir tanto un campo magnético alto como un gradiente
40 magnético alto en la misma ubicación espacial, por ejemplo, en el área entre y/o proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético a través de las cuales fluye la muestra. El campo magnético alto y el gradiente de campo magnético alto producidos por el dispositivo pueden aumentar la eficiencia de separación del dispositivo, y permitir así caudales de muestra aumentados a través del dispositivo para separación de alto rendimiento.

En ciertas realizaciones, el dispositivo está configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de
50 fragmentos no etiquetados magnéticamente en una muestra que fluye a través del dispositivo. En algunos casos, el dispositivo incluye una fuente de campo magnético, tal como una sola fuente de campo magnético. En otros dispositivos, el dispositivo incluye una primera fuente de campo magnético y una segunda fuente de campo magnético, que pueden estar dispuestas en lados opuestos de un conducto de fluido. En algunos casos, la fuente de campo magnético puede ser un imán permanente, en vez de otros tipos de imanes tales como un electroimán. Las realizaciones del dispositivo que incluyen un imán permanente como la fuente de campo magnético proporcionan un campo magnético sostenido sin
55 la necesidad de una fuente de alimentación externa, y por lo tanto pueden ser menos complejas y tener un menor coste

de fabricación y funcionamiento que un dispositivo que incluye otros tipos de imanes, tales como electroimanes.

El dispositivo también incluye una primera guía de campo magnético y una segunda guía de campo magnético. En las realizaciones del dispositivo que incluye una fuente de campo magnético, la primera y segunda guías de campo magnético pueden estar dispuestas en lados opuestos de la fuente de campo magnético. En otras realizaciones del dispositivo que incluyen una primera y segunda fuentes de campo magnético, la primera guía de campo magnético puede estar dispuesta sobre una superficie de la primera fuente de campo magnético enfrentada a la segunda fuente de campo magnético, y la segunda guía de campo magnético que puede estar dispuesta sobre una superficie de la segunda fuente de campo magnético enfrentada a la primera fuente de campo magnético. La primera guía de campo magnético y la segunda guía de campo magnético tienen cada una de ellas una parte en forma de cuña con un borde de vértice. La primera y segunda guías de campo magnético están dispuestas de tal manera que el borde de vértice de la primera guía de campo magnético está alineado sustancialmente a través de y paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. En algunos casos, las guías de campo magnético son imanes suaves.

Cada guía de campo magnético tiene una parte en forma de cuña y puede estar configurada para dirigir el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético asociada hacia el área proximal al borde de vértice de la guía de campo magnético. En algunos casos, la parte en forma de cuña de la guía de campo magnético enfoca el flujo magnético desde la interfaz entre la fuente de campo magnético y la guía de campo magnético, donde la interfaz tiene un área en sección transversal relativamente grande, al borde de vértice de la guía de campo magnético, que tiene un área en sección transversal relativamente pequeña. La parte en forma de cuña de la guía de campo magnético puede estar configurada para enfocar el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético asociada con una mínima fuga de flujo magnético durante la transmisión del flujo magnético a través de la guía de campo magnético. En ciertas realizaciones, la parte en forma de cuña estrechada de la guía de campo magnético enfoca el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético asociada, dando como resultado un aumento en el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético en el área proximal (por ejemplo, cerca y/o entre) al borde de vértice de la guía de campo magnético. La alta intensidad de campo magnético resultante y el alto gradiente de campo magnético en el área proximal (por ejemplo, cerca y/o entre) al borde de vértice de la guía de campo magnético pueden aumentar la eficiencia de la separación de fragmentos etiquetados magnéticamente de los fragmentos no etiquetados en la muestra que está siendo analizada.

Un conducto de fluido para dirigir el flujo de un fluido de muestra a través del dispositivo puede ser posicionado en el área entre o proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético. Como tal, en ciertas realizaciones, el fluido de muestra es dirigido por el conducto para fluir muy cerca de y sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético. Posicionar el conducto muy cerca de y sustancialmente paralelo a los bordes de vértices de las guías de campo magnético puede maximizar la cantidad de tiempo que el flujo de fluido de muestra está expuesto al campo magnético localmente alto y al gradiente de campo magnético en el área proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético, y así puede aumentar la eficiencia de separación del dispositivo.

Cuando la muestra fluye a través del conducto, los fragmentos etiquetados magnéticamente son retenidos en el conducto por el campo magnético producido por el dispositivo. Los fragmentos no etiquetados en la muestra no son retenidos en el conducto y fluyen a través del dispositivo. Los fragmentos retenidos etiquetados magnéticamente pueden ser recuperados posicionando el conducto lejos del campo magnético y descargando los fragmentos etiquetados magnéticamente desde el conducto. El conducto puede ser posicionado en el campo magnético y posicionado lejos del campo magnético o bien manualmente o bien automáticamente. En algunos casos, el conducto puede ser desechable, tal como un conducto de un solo uso, que puede ser adecuado para aplicaciones clínicas.

Aspectos de la presente descripción incluyen además sistemas para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra, donde el sistema incluye uno o más dispositivos de separación magnética como se ha descrito en este documento. En ciertas realizaciones, el sistema incluye dos dispositivos de separación magnética, tales como un primer dispositivo de separación magnética y un segundo dispositivo de separación magnética dispuesto aguas abajo del primer dispositivo de separación magnética. Los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética pueden tener sustancialmente los mismos perfiles que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética. Por ejemplo, los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética y los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética pueden cada uno tener un perfil lineal. En otras realizaciones, los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética tienen diferentes perfiles que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética. Por ejemplo, los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética pueden tener cada uno un perfil lineal y los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética pueden tener cada uno un perfil en diente de sierra.

Por consiguiente, las realizaciones de la presente descripción incluyen un dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. El dispositivo incluye una fuente de campo magnético, una primera guía

- de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice, y una segunda guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice. Una o más de la primera y segunda guías de campo magnético están configuradas para aumentar el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético está alineado sustancialmente a través de y paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético, y el dispositivo está configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de los fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra.
- 5 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que tanto la primera como la segunda guías de campo magnético estén configuradas para aumentar el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético.
- 10 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que un perfil en sección transversal de una o más de la primera guía de campo magnético y de la segunda guía de campo magnético se estreche hasta un punto en el borde de vértice.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que una o más de la primera guía de campo magnético y de la segunda guía de campo magnético tengan un perfil en sección transversal redondeado en el borde de vértice.
- 15 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el borde de vértice de la primera guía de campo magnético esté a una distancia sustancialmente uniforme a lo largo de su longitud desde el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el borde de vértice de la primera guía de campo magnético esté a una distancia desde el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético que oscila desde 0,1 mm a 5 mm.
- 20 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el borde de vértice de la primera guía de campo magnético y el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético tengan cada uno un perfil lineal.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el borde de vértice de la primera guía de campo magnético y el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético tengan cada uno un perfil en diente de sierra.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que la primera guía de campo magnético y la segunda guía de campo magnético tengan cada una un ángulo de vértice de 90 grados o menos.
- 25 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que la primera guía de campo magnético y la segunda guía de campo magnético incluyan cada una un imán suave.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir un conducto posicionado entre la primera guía de campo magnético y la segunda guía de campo magnético y configurado para dirigir un flujo de la muestra a través del dispositivo.
- 30 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el conducto esté posicionado de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la primera guía de campo magnético y a un eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que la primera guía de campo magnético y la segunda guía de campo magnético estén dispuestas sobre lados opuestos de la fuente de campo magnético.
- 35 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir una segunda fuente de campo magnético.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que la primera guía de campo magnético esté dispuesta sobre una superficie de la fuente de campo magnético enfrentada a la segunda guía de campo magnético y esté configurada para aumentar el flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético, y la segunda guía de campo magnético esté dispuesta sobre una superficie de la segunda fuente de campo magnético enfrentada a la primera guía de campo magnético y esté configurada para aumentar un flujo magnético procedente de la segunda fuente de campo magnético.
- 40 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el dispositivo esté configurado para posicionar automáticamente el conducto en el dispositivo.
- Las realizaciones del dispositivo también puede incluir que el conducto tenga una forma en sección transversal estrechada de tal manera que la dimensión en sección transversal del conducto proximal a los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético es menor que la dimensión en sección transversal distal a los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético.
- 45 Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el conducto esté sustancialmente libre de materiales que mejoran el gradiente magnético.
- Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el conducto esté configurado para poder posicionarse lejos del campo magnético.
- 50

Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que la fuente de campo magnético incluya un imán permanente.

Las realizaciones del dispositivo también pueden incluir que el imán permanente incluya un imán de tierras raras.

5 En algunas realizaciones, se ha proporcionado un método para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. El método incluye posicionar en un dispositivo de separación magnética un conducto configurado para dirigir un flujo de una muestra a través del dispositivo de separación magnética, y aplicar un campo magnético para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de los fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. El dispositivo de separación magnética incluye una fuente de campo magnético, una primera guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice, y una segunda guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice, donde una o más de la primera y segunda guías de campo magnético están configuradas para aumentar un flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético, y el borde de vértice de la primera guía de campo magnético es proximal a y sustancialmente paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético.

10 Las realizaciones del método también puede incluir que el posicionamiento incluya posicionar el conducto en el dispositivo de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la primera guía de campo magnético y a un eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético.

Las realizaciones del método también pueden incluir posicionar el conducto lejos del campo magnético, y recuperar los fragmentos etiquetados magnéticamente retenidos en el conducto.

Las realizaciones del método también pueden incluir que el posicionamiento del conducto lejos del campo magnético incluya retirar el conducto del dispositivo.

20 Las realizaciones del método también pueden incluir que el posicionamiento del conducto lejos del campo magnético incluya mover la fuente de campo magnético lejos del conducto.

Las realizaciones del método también pueden incluir que la recuperación incluya descargar los fragmentos etiquetados magnéticamente desde el conducto.

25 Las realizaciones del método también pueden incluir fijar específicamente una etiqueta magnética a fragmentos objetivo en la muestra antes de aplicar el campo magnético a la muestra.

Las realizaciones del método pueden también incluir que la muestra incluya una muestra biológica.

30 En algunas realizaciones, se ha proporcionado un sistema para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. El sistema incluye uno o más dispositivos de separación magnética para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra, donde cada uno de los uno o más dispositivos de separación magnética incluye una fuente de campo magnético, una primera guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice, y una segunda guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice. Una o más de la primera y segunda guías de campo magnético están configuradas para aumentar un flujo magnético procedente de la fuente de campo magnético, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético es proximal a y sustancialmente paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético, y el dispositivo está configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. El sistema también incluye un conducto posicionado en el dispositivo de separación magnética y configurado para dirigir un flujo de la muestra a través del dispositivo de separación magnética.

35 Las realizaciones del sistema también pueden incluir que el conducto esté posicionado de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la primera guía de campo magnético y a un eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético.

Las realizaciones del sistema también pueden incluir que el sistema incluya un dispositivo de separación magnética.

Las realizaciones del sistema también pueden incluir que el sistema incluya un primer dispositivo de separación magnética y un segundo dispositivo de separación magnética dispuesto aguas abajo del primer dispositivo de separación magnética.

45 Las realizaciones del sistema también pueden incluir que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética tengan sustancialmente los mismos perfiles que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética.

50 Las realizaciones del sistema también pueden incluir que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética y los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética tengan cada uno de ellos un perfil lineal.

Las realizaciones del sistema también pueden incluir que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética tengan diferentes perfiles de los bordes de vértice de la

primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética.

5 Las realizaciones del sistema también pueden incluir que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética tengan cada uno un perfil lineal y que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética tengan cada uno de ellos un perfil en diente de sierra.

Las realizaciones del sistema también pueden incluir un citómetro de flujo dispuesto aguas abajo de uno o más dispositivos de separación magnética.

Breve descripción de las figuras

10 La fig. 1(a) muestra un esquema de una vista frontal de un dispositivo de separación magnética que incluye dos fuentes de campo magnético, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. La fig. 1(b) muestra un esquema de una vista lateral de un dispositivo de separación magnética que incluye dos fuentes de campo magnético, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. La fig. 1(c) muestra un esquema de una vista en perspectiva tridimensional de un dispositivo de separación magnética que incluye dos fuentes de campo magnético, de acuerdo con realizaciones de la presente descripción.

15 La fig. 2(a) muestra un esquema de una sección transversal longitudinal de un conducto, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. La fig. 2(b) muestra un esquema de una vista frontal de un conducto, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

Las figs. 3(a) y 3(b) muestran esquemas de vistas frontales de un conducto posicionado entre las guías de campo magnético en un dispositivo de separación magnética, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

20 La fig. 4(a) muestra un esquema de una vista frontal de un dispositivo de separación magnética, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. La fig. 4(b) muestra un esquema de una vista lateral de un dispositivo de separación magnética que tiene guías de campo magnético con un perfil en forma de diente de sierra, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

25 La fig. 5 muestra un esquema de un conducto posicionado transversal a las guías de campo magnético, de acuerdo con realizaciones de la presente descripción.

30 Las figs. 6(a), 6(b) y 6(c) muestran gráficos de un campo magnético simulado (fig. 6(a)), un gradiente de campo magnético (fig. 6(b)), y un producto del campo magnético y un gradiente de campo magnético absoluto (fig. 6(c)) a través del espacio entre las guías de campo magnético como se ha mostrado en la fig. 1(a) para un dispositivo de separación magnética con una distancia entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético de 1,4 mm, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. El eje x está a lo largo del centro del espacio de izquierda a derecha entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético, como se ha mostrado en la fig. 3(a).

La fig. 7 muestra un esquema de un sistema que incluye un dispositivo de separación magnética, un concentrador acústico y un citómetro de flujo, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

35 La fig. 8(a) muestra un esquema de una vista frontal de un dispositivo de separación magnética que incluye una fuente de campo magnético, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. La fig. 8(b) muestra un esquema de una vista parcial en perspectiva tridimensional de un dispositivo de separación magnética que incluye una fuente de campo magnético, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

40 La fig. 9 muestra una sección transversal esquemática de un conducto conectado operativamente a un soporte de conducto y posicionado muy cerca de los bordes de vértice de las guías de campo magnético en un dispositivo de separación magnética, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

La fig. 10(a) muestra un esquema de una vista frontal de un conducto acoplado operativamente a un soporte de conducto, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. La fig. 10(b) muestra un esquema de una vista en perspectiva tridimensional de un conducto acoplado operativamente a un soporte de conducto, de acuerdo con realizaciones de la presente descripción.

45 La fig. 11 muestra una vista en perspectiva tridimensional de un conducto acoplado operativamente a un soporte de conducto y posicionado en un dispositivo de separación magnética, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

Descripción detallada

50 Se han proporcionado dispositivos para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. Aspectos de los dispositivos incluyen una fuente de campo magnético, una primera guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice, y una segunda guía de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un borde de vértice. El borde de vértice de la primera guía de campo magnético está alineado sustancialmente a

través de y paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético, y el dispositivo está configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. También se han proporcionado métodos para utilizar los dispositivos, así como sistemas y kits configurados para utilizar con los dispositivos y métodos.

- 5 Antes de que se describa en mayor detalle la presente invención, ha de entenderse que esta invención no está limitada a realizaciones particulares descritas, ya que tales pueden, por supuesto, variar. También ha de entenderse que la terminología utilizada en este documento lo es con el propósito de describir solo realizaciones particulares, y no pretende ser limitativa, dado que el marco de la presente invención estará limitado solo por las reivindicaciones adjuntas.

- 10 Donde se ha proporcionado un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, es la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor declarado o intermedio en el intervalo declarado, está incluido dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden ser incluidos independientemente en los intervalos más pequeños y también son abarcados dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo declarado. Donde el intervalo declarado incluye uno o ambos de los límites, también se incluyen en la invención intervalos que excluyen cualquiera o ambos de esos límites incluidos.

- 15 Ciertos intervalos están presentados en este documento con valores numéricos que están precedidos por el término “aproximadamente”. El término “aproximadamente” es utilizado en este documento para proporcionar soporte literal para el número exacto al que precede, así como un número que está de cerca de o próximo al número al que el término precede. Al determinar si un número está cerca de o próximo a un número específicamente citado, el número no citado cercano o próximo puede ser un número que, en el contexto en el que es presentado, proporciona el equivalente sustancial del número específicamente citado.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado como lo entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

- 25 Se ha indicado que, como se ha utilizado en este documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “uno/a”, y “el/la/o” incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se ha indicado además que las reivindicaciones pueden ser redactadas para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir de base antecedente para la utilización de tal terminología exclusiva como “solamente”, “solo” y similares en conexión con la enumeración de elementos de las reivindicaciones, o la utilización de una limitación “negativa”.

- 30 Se ha apreciado que ciertas características de la invención, que se han descrito, por motivos de claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también pueden ser proporcionadas en combinación con una sola realización.

En la descripción adicional de realizaciones de la presente invención, se describirán en primer lugar aspectos de realizaciones de los dispositivos en mayor detalle. A continuación, se han revisado realizaciones de métodos, sistemas y kits que pueden ser utilizadas con los dispositivos.

35 Dispositivos

- Se han proporcionado dispositivos para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. El dispositivo puede estar configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente (por ejemplo, fragmentos que no están asociados con una etiqueta magnética) en la muestra. En ciertos casos, el dispositivo separa fragmentos etiquetados magnéticamente de interés de fragmentos que no son de interés (por ejemplo, fragmentos que no están etiquetados magnéticamente) reteniendo los fragmentos etiquetados magnéticamente en el dispositivo mientras que no se retienen fragmentos que no son de interés. Debido a que los fragmentos de interés están etiquetados magnéticamente, el dispositivo puede estar configurado para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el dispositivo atrayendo los fragmentos etiquetados magnéticamente a una fuente de campo magnético en el dispositivo y reteniendo los fragmentos etiquetados magnéticamente en el dispositivo. En otros casos, el dispositivo separa fragmentos etiquetados magnéticamente que no son de interés de fragmentos que son de interés (por ejemplo, fragmentos de interés que no están etiquetados magnéticamente) reteniendo los fragmentos etiquetados magnéticamente que no son de interés en el dispositivo mientras que no retiene fragmentos que son de interés. En estas realizaciones, debido a que los fragmentos de interés no están etiquetados magnéticamente, los fragmentos de interés no son retenidos en el dispositivo y fluyen a través del dispositivo. El dispositivo puede estar configurado para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente que no son de interés en el dispositivo atrayendo los fragmentos etiquetados magnéticamente a una fuente de campo magnético en el dispositivo y retener los fragmentos etiquetados magnéticamente que no son de interés en el dispositivo.

- El dispositivo puede estar configurado como un dispositivo de flujo pasante para analizar muestras de líquido. Por “flujo pasante” se entiende que una muestra de líquido puede entrar al dispositivo a través de una entrada, ser transportada a través del dispositivo en una trayectoria de flujo, tal como un conducto, y luego salir del dispositivo a través de una salida. El dispositivo puede estar configurado para transportar una corriente continua de la muestra a través del dispositivo y separar continuamente fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra cuando la muestra fluye a través del

dispositivo. En ciertas realizaciones, el dispositivo está configurado para tener un caudal de 1 µL/min o más, tal como 10 µL/min o más, incluyendo 50 µL/min o más, o 100 µL/min o más, o 200 µL/min o más, o 300 µL/min o más, o 400 µL/min o más, o 500 µL/min o más, o 750 µL/min o más, o 1 mL/min o más, o 2 mL/min o más, o 5 mL/min o más, o 10 mL/min o más.

El dispositivo de separación magnética puede estar configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de una muestra simple o de una muestra compleja. Por “muestra simple” se entiende una muestra que incluye uno o más fragmentos etiquetados magnéticamente y pocas, si es que las hay, otras especies moleculares aparte del disolvente. Por “muestra compleja” se entiende una muestra que incluye los uno o más fragmentos de interés etiquetados magnéticamente y también incluye muchas otras moléculas que no son de interés, tales como diferentes proteínas, células, y similares. En ciertas realizaciones, la muestra compleja es una muestra de sangre, por la que se entiende sangre o una parte de la misma, por ejemplo, suero. En ciertas realizaciones, la muestra compleja es una muestra de suero. En ciertas realizaciones, la muestra compleja analizada utilizando los dispositivos descritos en este documento es una que incluye 10 o más, tal como 20 o más, incluyendo 100 o más, por ejemplo, 10^3 o más, 10^4 o más (tal como 15.000; 20.000 o incluso 25.000 o más) entidades moleculares distintas que difieren entre sí en términos de estructura molecular.

En ciertas realizaciones, el dispositivo está configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de una muestra biológica. Una “muestra biológica” abarca una variedad de tipos de muestras obtenidos de un organismo y se puede utilizar en un ensayo de diagnóstico o de supervisión. Por ejemplo, una muestra biológica abarca sangre, muestras derivadas de sangre, y otras muestras de líquido de origen biológico, muestras de tejido sólido tales como muestras de biopsia o cultivos de tejido o células derivadas de los mismos y su progenie. Una muestra biológica también puede incluir muestras que han sido manipuladas de alguna manera después de su adquisición, tal como mediante tratamiento con reactivos, solubilidad, enriquecimiento para ciertos componentes, o etiquetado (por ejemplo, etiquetado con una etiqueta magnética). El término “muestra biológica” abarca una muestra clínica, y también incluye células en cultivo, sobrenadantes celulares, lisados celulares, suero, plasma, fluido cerebroespinal, orina, saliva, líquido biológico, y muestras de tejido.

Los fragmentos de interés pueden incluir cualquier fragmento que puede estar asociado de forma estable con una etiqueta magnética detectable por los dispositivos descritos en este documento. Por “asociado de forma estable” se entiende que la etiqueta magnética y el fragmento de interés mantienen su posición uno en relación con el otro en el espacio bajo las condiciones de utilización, por ejemplo, bajo las condiciones de ensayo. Como tal, la etiqueta magnética y el fragmento de interés puede estar asociados de forma estable no covalentemente o covalentemente entre sí. Ejemplos de asociaciones no covalentes incluyen absorción no específica, unión basada en electrostática (por ejemplo, ion, interacciones de pares iónicos), interacciones hidrofóbicas, interacciones de unión de hidrógeno, unión específica a través de un miembro de par de unión específica fijado al fragmento de interés o a la etiqueta magnética, combinaciones de las mismas, y similares. Ejemplos de unión covalente incluyen enlaces covalentes formados entre la etiqueta magnética y un grupo funcional presente en el fragmento de interés, por ejemplo –OH, donde el grupo funcional puede ocurrir de forma natural o estar presente como un miembro de un grupo de enlace introducido. Por consiguiente, la etiqueta magnética puede ser adsorbida, fisisorbida, quimisorbida, o fijada covalentemente a la superficie del fragmento de interés.

Fuente de Campo Magnético

Aspectos de las realizaciones del dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra incluyen una o más fuentes de campo magnético. La fuente de campo magnético puede estar configurada para producir un campo magnético. En ciertos casos, la fuente de campo magnético produce un campo magnético no homogéneo. Por “no homogéneo” se entiende que el campo magnético tiene un gradiente de campo magnético, donde la intensidad del campo magnético es diferente dependiendo de la posición dentro del campo magnético. Por ejemplo, el campo magnético puede tener un gradiente de campo magnético, donde la intensidad de campo magnético es mayor en un área y disminuye gradualmente en posiciones más alejadas de ese área. Así, la fuente de campo magnético puede estar configurada para producir un campo magnético que tiene un gradiente de campo magnético.

En algunos casos, el dispositivo está configurado para producir un campo magnético suficiente para separar los fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra. La capacidad del campo magnético para separar los fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra puede depender de diferentes parámetros, tales como la intensidad de campo magnético, el gradiente de campo magnético, el tipo de etiqueta magnética, el tamaño de la etiqueta magnética, la distancia entre los fragmentos etiquetados magnéticamente y la fuente de campo magnético, etc. En ciertos casos, la fuerza que el campo magnético es capaz de ejercer sobre una etiqueta magnética es proporcional a la intensidad de campo magnético y al gradiente de campo magnético. En algunos casos, la fuente de campo magnético está configurada para producir un campo magnético que tiene una fuerza magnética suficiente para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. Por ejemplo, la fuente de campo magnético puede estar configurada para producir un campo magnético que tiene un gradiente de campo magnético de tal manera que el producto del campo magnético y el gradiente de campo magnético sean suficientes para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra.

La fuente de campo magnético puede ser de cualquier forma que pueda facilitar la separación de los fragmentos etiquetados magnéticamente de los fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. Por ejemplo, la fuente de campo magnético puede ser alargada, de tal manera que la fuente de campo magnético tenga una longitud que es mayor que la anchura transversal de la fuente de campo magnético.

- 5 En ciertas realizaciones, el dispositivo puede estar configurado para dirigir un flujo de la muestra a través del dispositivo de tal manera que el flujo de muestra es proximal a la fuente de campo magnético. Minimizar la distancia entre la fuente de campo magnético y la muestra, y de este modo minimizar la distancia entre la fuente de campo magnético y los fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra puede facilitar la retención de los fragmentos etiquetados magnéticamente en el dispositivo. En algunos casos, el dispositivo está configurado para dirigir el flujo de la muestra a través del dispositivo para maximizar la longitud de la trayectoria de flujo que es proximal a la fuente de campo magnético. Por ejemplo, el dispositivo puede estar configurado para dirigir el flujo de la muestra a través del dispositivo de tal manera que el flujo de muestra sea paralelo al eje longitudinal de la fuente de campo magnético.

- 15 En ciertas realizaciones, el dispositivo incluye una fuente de campo magnético. En algunos casos, la fuente de campo magnético está configurada para producir un campo magnético suficiente para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. Por ejemplo, la fuente de campo magnético puede estar configurada para producir un campo magnético suficiente para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el dispositivo. En las realizaciones que incluyen una fuente de campo magnético, el dispositivo puede estar configurado para dirigir el flujo de la muestra a través del dispositivo de tal manera que la muestra fluya a través de un área cerca de la fuente de campo magnético. En algunos casos, el dispositivo está configurado para dirigir el flujo de la muestra a través del dispositivo de tal manera que el flujo de muestra sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la fuente de campo magnético. El dispositivo también puede estar configurado para dirigir el flujo de la muestra a través de un área cerca de la fuente de campo magnético, donde el campo magnético y el gradiente de campo magnético producidos por la fuente de campo magnético pueden ser más fuertes.

- 25 En otras realizaciones, el dispositivo incluye dos fuentes de campo magnético, aunque el dispositivo puede incluir cualquier número de fuentes de campo magnético, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, o 50 o más fuentes de campo magnético según se desee. Por ejemplo, el dispositivo puede incluir una primera fuente de campo magnético y una segunda fuente de campo magnético. En algunos casos, la primera fuente de campo magnético y la segunda fuente de campo magnético están configuradas para producir un campo magnético no homogéneo (por ejemplo, un campo magnético que tiene un gradiente de campo magnético) suficiente para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. La primera fuente de campo magnético y la segunda fuente de campo magnético pueden estar configuradas para producir un campo magnético suficiente para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el dispositivo. En ciertas realizaciones, la primera y segunda fuentes de campo magnético están dispuestas de tal manera que se produce un campo magnético en un área entre las fuentes de campo magnético. Como tal, la primera y segunda fuentes de campo magnético pueden estar configuradas para producir un campo magnético suficiente para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en un área entre las fuentes de campo magnético.

- 40 En ciertas realizaciones, la primera fuente de campo magnético tiene una superficie que está enfrentada a la segunda fuente de campo magnético, y la segunda fuente de campo magnético tiene una superficie que está enfrentada a la primera fuente de campo magnético, de tal manera que estas dos superficies son opuestas entre sí. La superficie de la primera fuente de campo magnético que está enfrentada a la segunda fuente de campo magnético puede ser sustancialmente plana. De manera similar, la superficie de la segunda fuente de campo magnético que está enfrentada a la primera fuente de campo magnético puede ser sustancialmente plana. En algunos casos, las superficies de la primera fuente de campo magnético y de la segunda fuente de campo magnético que están enfrentadas entre sí son sustancialmente paralelas entre sí. En estos casos, las superficies opuestas de la primera y segunda fuentes de campo magnético pueden ser una distancia sustancialmente uniforme entre sí. En otras realizaciones, las superficies opuestas de la primera y segunda fuentes de campo magnético no son paralelas entre sí, de tal manera que un extremo de la primera fuente de campo magnético está más cerca de la segunda fuente de campo magnético que el extremo opuesto de la primera fuente de campo magnético. En algunos casos, la primera fuente de campo magnético y la segunda fuente de campo magnético son ambas alargadas. El eje longitudinal de la primera fuente de campo magnético puede ser sustancialmente paralelo al eje longitudinal de la segunda fuente de campo magnético.

- 55 En las realizaciones que incluyen una primera fuente de campo magnético y una segunda fuente de campo magnético, los vectores de magnetización de la primera fuente de campo magnético y de la segunda fuente de campo magnético pueden estar alineados sustancialmente en la misma dirección. En algunos casos, tener una primera fuente de campo magnético y una segunda fuente de campo magnético con vectores de magnetización alineados sustancialmente en la misma dirección facilita la formación de un campo magnético y de un gradiente de campo magnético en un área entre la primera y segunda fuentes de campo magnético. En ciertas realizaciones, el vector de magnetización de la primera fuente de campo magnético es sustancialmente perpendicular a la superficie que está enfrentada a la primera fuente de campo magnético. En algunos casos, el vector de magnetización de la segunda fuente de campo magnético es sustancialmente perpendicular a la superficie que está enfrentada a la primera fuente de campo magnético. En ciertos casos, los vectores de magnetización de la primera y segunda fuentes de campo magnético son ambos sustancialmente perpendiculares a las superficies de la primera y segunda fuentes de campo magnético que están enfrentadas entre sí y

están alineadas sustancialmente en la misma dirección.

En las realizaciones que incluyen primera y segunda fuentes de campo magnético, el dispositivo puede estar configurado para dirigir el flujo de la muestra a través del dispositivo de tal manera que la muestra fluya a través de un área entre la primera fuente de campo magnético y la segunda fuente de campo magnético. En algunos casos, como se ha descrito anteriormente, la primera y segunda fuentes de campo magnético están alineadas de tal manera que sus ejes longitudinales son sustancialmente paralelos. En estos casos, el dispositivo puede estar configurado para dirigir el flujo de la muestra a través del dispositivo de tal manera que el flujo de la muestra es sustancialmente paralelo al eje longitudinal de la primera y segunda fuentes de campo magnético. El dispositivo también puede estar configurado para dirigir el flujo de la muestra a través de un área entre la primera y segunda fuentes de campo magnético, donde el campo magnético y el gradiente de campo magnético producidos por la primera y segunda fuentes de campo magnético pueden ser más fuertes.

La fuente de campo magnético puede incluir un imán permanente, un electroimán, un imán superconductor, combinaciones de los mismos, y similares. En ciertas realizaciones, la fuente de campo magnético incluye uno o más imanes permanentes. Un "imán permanente" es un material magnético que tiene un campo magnético resistente de tal manera que el campo magnético no disminuye sustancialmente a lo largo del tiempo. Por el contrario, el término "imán suave" se refiere a un material que puede ser magnetizado en la presencia de un campo magnético externo aplicado, pero cuyo magnetismo disminuye sustancialmente cuando se elimina el campo magnético externo. En las realizaciones donde la fuente de campo magnético incluye uno o más imanes permanentes, la utilización de imanes permanentes puede facilitar la producción de un campo magnético sin la necesidad de introducir energía externa en el dispositivo para alimentar la fuente de campo magnético. En algunos casos, un imán permanente cuesta menos que un electroimán o un imán superconductor que produce un campo magnético con una intensidad de campo magnético y un gradiente de campo magnético sustancialmente similares. En estos casos, la utilización de un imán permanente puede reducir el coste de la fuente de campo magnético, y así reducir el coste total del dispositivo. En ciertos casos, cuando la fuente de campo magnético incluye uno o más imanes permanentes, la utilización de un imán permanente puede facilitar la producción de un dispositivo que es menos complejo que un dispositivo que incluye un electroimán y/o un imán superconductor. Por ejemplo, las realizaciones del dispositivo que incluyen un imán permanente pueden no necesitar incluir componentes asociados con un electroimán y/o un imán superconductor, tal como una fuente de alimentación, circuitos eléctricos asociados con la fuente de campo magnético, componentes de refrigeración asociados con el electroimán y/o el imán superconductor, sensores de temperatura, y similares.

En algunos casos, la fuente de campo magnético incluye dos o más imanes permanentes. Los imanes permanentes pueden ser de cualquier forma deseable, y en algunos casos pueden ser imanes permanentes en forma de cubo o de barra. En ciertos casos, la fuente de campo magnético puede tener una longitud que oscila desde 1 cm a 100 cm, tal como desde 1 cm a 75 cm, incluyendo desde 1 cm a 50 cm, o desde 1 cm a 25 cm, o desde 1 cm a 10 cm, o desde 5 cm a 10 cm, por ejemplo desde 5 cm a 6 cm; una anchura que oscila desde 0,1 cm a 100 cm, tal como desde 0,1 cm a 75 cm, incluyendo desde 0,1 cm a 50 cm, o desde 0,1 cm a 25 cm, o desde 0,1 cm a 10 cm, o desde 0,1 cm a 5 cm, o desde 0,1 cm a 2 cm, o desde 0,5 cm a 2 cm, por ejemplo desde 1 cm a 1,5 cm; y una altura que oscila desde 0,1 cm a 100 cm, tal como desde 0,1 cm a 75 cm, incluyendo desde 0,1 cm a 50 cm, o desde 0,1 cm a 25 cm, o desde 0,1 cm a 10 cm, o desde 0,1 cm a 5 cm, o desde 0,1 cm a 2 cm, o desde 0,5 cm a 2 cm, por ejemplo desde 1 cm a 1,5 cm.

La fuente de campo magnético puede ser un imán permanente, tal como un imán de tierras raras. Los imanes de tierras raras incluyen, pero no están limitados a, imanes de samario-cobalto (por ejemplo, SmCo_5), imanes de aleación de neodimio (NdFeB) (por ejemplo, $\text{Nd}_2\text{Fe}_{14}\text{B}$), y similares.

En ciertas realizaciones, la fuente de campo magnético produce un campo magnético que oscila desde 0,01 T a 10 T, o desde 0,01 T a 5 T, o desde 0,01 T a 2 T, o desde 0,1 T a 2 T, o desde 0,1 T a 1,5 T, incluyendo desde 0,1 T a 1 T. En algunos casos, la fuente de campo magnético está configurada para producir un campo magnético con un gradiente de campo magnético (por ejemplo, un gradiente de campo absoluto) que oscila desde 0,1 T/mm a 10 T/mm, tal como desde 0,1 T/mm a 7 T/mm, o desde 0,1 T/mm a 5 T/mm, o desde 0,1 T/mm a 3 T/mm, tal como desde 0,1 T/mm a 2 T/mm, incluyendo desde 0,1 T/mm a 1 T/mm. En ciertos casos, la fuente de campo magnético produce un campo magnético que tiene un gradiente de campo magnético de tal manera que el producto del campo magnético y el gradiente de campo magnético (por ejemplo, gradiente de campo absoluto) oscila desde 0,001 T^2/mm a 100 T^2/mm , tal como desde 0,01 T^2/mm a 75 T^2/mm , incluyendo desde 0,1 T^2/mm a 50 T^2/mm , o desde 0,1 T^2/mm a 25 T^2/mm , o desde 0,1 T^2/mm a 10 T^2/mm , o desde 0,1 T^2/mm a 5 T^2/mm , o desde 0,1 T^2/mm a 3 T^2/mm , tal como desde 0,1 T^2/mm a 2 T^2/mm , incluyendo desde 0,1 T^2/mm a 1 T^2/mm .

Guías de Campo Magnético

Aspectos del dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra también incluyen una o más guías de campo magnético. La guía de campo magnético puede estar configurada para dirigir el campo magnético desde la fuente de campo magnético a la trayectoria de flujo de la muestra. En ciertos casos, la guía de campo magnético está configurada para enfocar el campo magnético producido por la fuente de campo magnético. La guía de campo magnético puede enfocar el campo magnético aumentando el flujo magnético de la fuente de campo magnético, donde el flujo magnético es la cantidad de campo magnético (por ejemplo, la densidad de campo magnético) que pasa a

través de un área superficial dada. El flujo magnético puede depender de la intensidad de campo magnético, del área de la superficie y del ángulo entre el campo magnético y la superficie. Por ejemplo, la guía de campo magnético puede enfocar el campo magnético, y así aumentar el flujo magnético, dirigiendo el campo magnético a través de un área más pequeña. En algunos casos, dirigir el campo magnético a través de un área más pequeña aumenta la densidad de campo magnético, dando como resultado así un aumento en el flujo magnético. La fuente de campo magnético y la guía de campo magnético pueden estar configuradas para producir un flujo magnético suficiente para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en una muestra. En algunos casos, la guía de campo magnético está configurada para producir un campo magnético que tiene una densidad de flujo magnético que oscila desde 0,01 T a 10 T, o desde 0,01 T a 5 T, o desde 0,01 T a 2 T, tal como desde 0,1 T a 2 T, incluyendo desde 0,5 T a 1,5 T.

En ciertos casos, la guía de campo magnético está configurada para dirigir el campo magnético desde la fuente de campo magnético a la trayectoria de flujo de muestra con mínima pérdida de flujo magnético. En algunos casos, la guía de campo magnético está configurada para dirigir el campo magnético desde la fuente de campo magnético a la trayectoria de flujo de muestra sustancialmente con ninguna pérdida de flujo magnético. Sin ninguna intención de estar limitada por la teoría, la guía de campo magnético puede estar configurada para minimizar la disminución del flujo magnético debido a los campos de auto-desmagnetización presentes en un imán suave cerca de las superficies del imán suave. Por ejemplo, la guía de campo magnético puede estar configurada para dirigir el campo magnético desde la fuente de campo magnético a la trayectoria de flujo de muestra con una disminución del flujo magnético del 50% o menos del flujo magnético inicial, tal como el 40% o menos, incluyendo el 30% o menos, o el 25% o menos, o el 20% o menos, o el 15% o menos, o el 10% o menos, o el 7% o menos, o el 5% o menos, por ejemplo el 3% o menos, o el 2% o menos, o el 1% o menos del flujo magnético inicial.

La guía de campo magnético está configurada para enfocar el campo magnético teniendo parte con una forma estrechada y dirigiendo el campo magnético desde la fuente de campo magnético a través de la parte estrechada de la guía de campo magnético. Por "estrechado" se entiende que una parte de la guía de campo magnético tiene un extremo más ancho con un área en sección transversal más grande y el área en sección transversal de la parte de la guía de campo magnético resulta progresivamente más pequeña hacia un extremo opuesto más estrecho de la guía de campo magnético. La guía de campo magnético tiene una parte en forma de cuña, donde la base de la parte en forma de cuña tiene un área. Las secciones transversales de la parte en forma de cuña tomadas paralelas a la base de la parte en forma de cuña tendrán áreas progresivamente más pequeñas hacia el extremo de la parte en forma de cuña opuesta a la base (es decir, hacia el borde de vértice de la parte en forma de cuña).

En algunos casos, la guía de campo magnético tiene una parte en forma de cuña y está configurada para dirigir el campo magnético desde la base de la parte en forma de cuña hasta el borde de vértice de la parte en forma de cuña. Dirigiendo el campo magnético desde la base de la parte en forma de cuña hasta el borde de vértice de la parte en forma de cuña se puede facilitar un aumento en el flujo magnético del campo magnético procedente de la fuente de campo magnético, como se ha descrito anteriormente. Un aumento del flujo magnético en el borde de vértice de la parte en forma de cuña de la guía de campo magnético puede producir un campo magnético superior y un gradiente de campo magnético superior proximal al borde de vértice de la guía de campo magnético que estaría presente en la ausencia de la guía de campo magnético. Son posibles otras formas estrechadas de la guía de campo magnético, tales como, pero no limitadas a, pirámide, cono, tronco, combinaciones de los mismos, y similares.

En algunos casos, la guía de campo magnético incluye una parte que se estrecha hasta un punto o un borde (por ejemplo, el borde de vértice). Por ejemplo, un perfil en sección transversal de la guía de campo magnético puede estrecharse hasta un punto en el borde de vértice de la guía de campo magnético. En otras realizaciones, el perfil en sección transversal de la guía de campo magnético se estrecha hasta un borde redondeado de tal manera que el borde de vértice tiene un perfil en sección transversal redondeado (por ejemplo, arqueado) en el borde de vértice. El término "en forma de cuña" como se utiliza en este documento se entiende que incluye realizaciones de la guía de campo magnético que tienen un borde de vértice con un perfil en sección transversal que se estrecha hasta un punto en el borde de vértice. El término "en forma de cuña" también incluye realizaciones de la guía de campo magnético que tienen un borde de vértice con un perfil en sección transversal que no se estrecha hasta un punto en el borde de vértice. Por ejemplo, el borde de vértice de la guía de campo magnético puede tener un perfil en sección transversal que es redondeado, truncado, desafilado, y similar. El borde de vértice de la guía de campo magnético puede tener una anchura que es aproximadamente la misma que la anchura (o diámetro) de un conducto posicionado junto al borde de vértice de la guía de campo magnético. En ciertas realizaciones, el borde de vértice de la guía de campo magnético tiene una anchura que es menor que la anchura (diámetro) del conducto. En algunos casos, la anchura del borde de vértice de la guía de campo magnético es de 5 mm o menos, tal como de 4 mm o menos, o de 3 mm o menos, o de 2 mm o menos, o de 1 mm o menos, o de 0,5 mm o menos, o de 0,1 mm o menos.

En ciertos casos, el borde de vértice de una parte en forma de cuña de la guía de campo magnético tiene un ángulo de vértice, donde el ángulo de vértice es un ángulo entre las dos caras de la guía de campo magnético que se encuentran en el borde de vértice. En algunos casos, el ángulo de vértice es de 150 grados o menos, o de 135 grados o menos, tal como de 120 grados o menos, o 105 grados o menos, incluyendo de 90 grados o menos, o de 75 grados o menos, o de 60 grados o menos, o de 45 grados o menos, por ejemplo de 30 grados o menos. En algunas realizaciones, el ángulo de vértice es de 60 grados.

En ciertas realizaciones, el borde de vértice de la guía de campo magnético puede ser sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la guía de campo magnético. Además, el borde de vértice de la guía de campo magnético puede ser sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la fuente de campo magnético. En las realizaciones con una fuente de campo magnético, la fuente de campo magnético puede tener una o más guías de campo magnético asociadas con la fuente de campo magnético. Por ejemplo, la fuente de campo magnético puede tener una primera guía de campo magnético y una segunda guía de campo magnético asociadas con la fuente de campo magnético. En algunas realizaciones, el dispositivo incluye una primera guía de campo magnético dispuesta sobre una primera superficie de la fuente de campo magnético, y una segunda guía de campo magnético dispuesta sobre una segunda superficie de la misma fuente de campo magnético. En algunos casos, la primera y segunda guías de campo magnético están dispuestas sobre superficies opuestas de la fuente de campo magnético. En ciertas realizaciones, la primera guía de campo magnético tiene forma de cuña con un primer borde de vértice, la segunda guía de campo magnético tiene forma de cuña con un segundo borde de vértice, y el primer borde de vértice está alineado sustancialmente a través de y paralelo al segundo borde de vértice. El primer borde de vértice puede ser posicionado a una distancia sustancialmente uniforme a lo largo de su longitud del segundo borde de vértice. En algunos casos, la fuente de campo magnético incluye un imán permanente, como se ha descrito anteriormente, y la primera y segunda superficies de la fuente de campo magnético son los polos norte y sur de la fuente de campo magnético.

En realizaciones con más de una fuente de campo magnético, cada fuente de campo magnético puede tener una guía de campo magnético asociada con ella. Cada guía de campo magnético puede ser posicionada de tal manera que el eje longitudinal de la guía de campo magnético sea sustancialmente paralelo al eje longitudinal de la fuente de campo magnético a la que está asociado.

En ciertas realizaciones, el borde de vértice de la guía de campo magnético tiene un perfil lineal. Por "lineal" se entiende que el borde de vértice de la guía de campo magnético es sustancialmente recto. En algunos casos, el borde de vértice de la guía de campo magnético tiene un perfil no lineal, tal como, pero no limitado a un perfil en diente de sierra, sinusoidal, de onda cuadrada, de onda triangular, combinaciones de los mismos, y similares. Una guía de campo magnético que tiene un borde de vértice con un perfil no lineal puede facilitar un aumento local en el campo magnético y/o en el gradiente de campo magnético cerca de las partes no lineales del borde de vértice.

La guía de campo magnético puede ser proximal a la fuente de campo magnético. En ciertos casos, la guía de campo magnético es contactada con la fuente de campo magnético. Por ejemplo, la guía de campo magnético puede estar fijada a la fuente de campo magnético para facilitar el contacto entre la guía de campo magnético y la fuente de campo magnético. Como se ha descrito anteriormente, el dispositivo puede incluir una fuente de campo magnético. En estas realizaciones, la fuente de campo magnético puede incluir una parte en forma de cuña como se ha descrito anteriormente. La fuente de campo magnético también puede incluir una parte extendida entre la parte en forma de cuña y la fuente de campo magnético. La parte extendida de la guía de campo magnético puede estar configurada para posicionar la parte en forma de cuña a una distancia alejada de la superficie de la fuente de campo magnético. Por ejemplo, la parte extendida de la guía de campo magnético puede contactar con la fuente de campo magnético sobre una parte de una primera superficie de la parte extendida de la guía de campo magnético. La parte extendida de la guía de campo magnético puede extenderse una distancia por encima de la superficie superior de la fuente de campo magnético. La parte de la primera superficie de la parte extendida de la guía de campo magnético que se extiende por encima de la superficie superior de la fuente de campo magnético puede tener la parte en forma de cuña de la guía de campo magnético. En algunas realizaciones, la parte extendida y la parte en forma de cuña de la guía de campo magnético son contiguas (por ejemplo, formadas a partir de la misma pieza de material). En otros casos, la parte extendida y la parte en forma de cuña de la guía de campo magnético son piezas separadas que están fijadas entre sí. Como se ha descrito anteriormente, el dispositivo también puede incluir una segunda guía de campo magnético dispuesta sobre una superficie de la fuente de campo magnético opuesta a la primera guía de campo magnético. Similar a la primera guía de campo magnético descrita anteriormente, la segunda guía de campo magnético puede incluir una parte extendida y una parte en forma de cuña. La primera y segunda guías de campo magnético pueden estar configuradas de tal manera que el borde de vértice de la parte en forma de cuña de la primera guía de campo magnético es proximal al borde de vértice de la parte en forma de cuña de la segunda guía de campo magnético. En algunos casos, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético es sustancialmente paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. El borde de vértice de la primera guía de campo magnético puede estar alineado a través del borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. Por ejemplo, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético puede estar alineado de forma sustancialmente directamente a través del borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. En ciertas realizaciones, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético está alineado sustancialmente a través de y sustancialmente paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. Durante la utilización, la distancia entre el borde de vértice de la primera guía de campo magnético y el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético puede ser de 5 cm o menos, tal como de 2 cm o menos, incluyendo de 1 cm o menos, o de 7 mm o menos, o de 5 mm o menos, o de 3 mm o menos, o de 2 mm o menos, o de 1 mm o menos.

En otras realizaciones como las descritas anteriormente, el dispositivo puede incluir dos fuentes de campo magnético, tales como la primera y segunda fuentes de campo magnético dispuestas proximales entre sí. En algunos casos, una primera guía de campo magnético está asociada con la primera fuente de campo magnético, y una segunda guía de campo magnético está asociada con la segunda fuente de campo magnético. La primera guía de campo magnético puede ser posicionada en la primera fuente de campo magnético sobre la superficie de la primera fuente de campo

magnético proximal a la segunda fuente de campo magnético. Por ejemplo, en las realizaciones donde las guías de campo magnético tienen forma de cuña, la primera guía de campo magnético puede estar dispuesta sobre la primera fuente de campo magnético de tal manera que la base de la primera guía de campo magnético contacte con la superficie de la primera fuente magnética proximal a la segunda fuente magnética. De manera similar, la segunda guía de campo magnético puede ser posicionada en la segunda fuente de campo magnético sobre la superficie de la segunda fuente de campo magnético proximal a la primera fuente de campo magnético. Por ejemplo, en realizaciones donde las guías de campo magnético tienen forma de cuña, la segunda guía de campo magnético puede estar dispuesta sobre la segunda fuente de campo magnético de tal manera que la base de la segunda guía de campo magnético contacte con la superficie de la segunda fuente magnética proximal a la primera fuente magnética. En esta disposición, la primera y segunda guías de campo magnético pueden ser posicionadas entre la primera y segunda fuentes de campo magnético. Además, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético puede ser proximal al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. En algunos casos, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético es sustancialmente paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. El borde de vértice de la primera guía de campo magnético puede estar alineado a través del borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. Por ejemplo, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético puede estar alineado de forma sustancial directamente a través del borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. En ciertas realizaciones, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético está alineado a través de y sustancialmente paralelo al borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. Durante la utilización, la distancia entre el borde de vértice de la primera guía de campo magnético y el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético puede ser de 5 cm o menos, tal como de 2 cm o menos, incluyendo de 1 cm o menos, o de 7 mm o menos, o de 5 mm o menos, o de 3 mm o menos, o de 2 mm o menos, o de 1 mm o menos.

Como se ha descrito anteriormente, la primera y segunda guías de campo magnético pueden estar configuradas para enfocar el campo magnético producido por la fuente de campo magnético. En ciertos casos, la primera y segunda guías de campo magnético enfocan el campo magnético a una región proximal a los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético. Por ejemplo, la primera y segunda guías de campo magnético pueden enfocar el campo magnético en un área entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético. La primera y segunda guías de campo magnético pueden estar configuradas para producir un flujo magnético proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético suficiente para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos de fragmentos no etiquetados magnéticamente en una muestra. En algunos casos, la primera y segunda guías de campo magnético están configuradas para producir un campo magnético proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético que tiene una densidad de flujo magnético que oscila desde 0,01 T a 10 T, o desde 0,01 T a 5 T, o desde 0,01 T a 2 T, tal como desde 0,1 T a 2 T, incluyendo desde 0,5 T a 1,5 T.

En ciertas realizaciones, la guía de campo magnético incluye un imán suave. El término “imán suave” se refiere a un material que puede ser magnetizado en la presencia de un campo magnético externo aplicado, pero cuyo magnetismo disminuye sustancialmente cuando se elimina el campo magnético externo. Los imanes suaves pueden incluir, pero no estar limitados a, materiales ferromagnéticos, tales como hierro (por ejemplo, hierro recocido), acero inoxidable y níquel, materiales ferrimagnéticos, tales como óxidos cerámicos de metales, combinaciones de los mismos, y similares.

En algunos casos, la guía de campo magnético puede tener una longitud que oscila desde 1 cm a 100 cm, tal como desde 1 cm a 75 cm, incluyendo desde 1 cm a 50 cm, o desde 1 cm a 25 cm, o desde 1 cm a 10 cm, o desde 5 cm a 10 cm, por ejemplo desde 5 cm a 6 cm; una anchura que oscila desde 0,1 cm a 100 cm, tal como desde 0,1 cm a 75 cm, incluyendo desde 0,1 cm a 50 cm, o desde 0,1 cm a 25 cm, o desde 0,1 cm a 10 cm, o desde 0,1 cm a 5 cm, o desde 0,1 cm a 2 cm, o desde 0,5 cm a 2 cm, por ejemplo desde 1 cm a 1,5 cm; y una altura que oscila desde 0,1 cm a 100 cm, tal como desde 0,1 cm a 75 cm, incluyendo desde 0,1 cm a 50 cm, o desde 0,1 cm a 25 cm, o desde 0,1 cm a 10 cm, o desde 0,1 cm a 5 cm, o desde 0,1 cm a 2 cm, o desde 0,5 cm a 2 cm, por ejemplo desde 1 cm a 1,5 cm.

Un ejemplo de una realización de un dispositivo de separación magnética de acuerdo con la presente descripción se ha mostrado en las ilustraciones esquemáticas en las figs. 1(a), 1(b) y 1(c). El dispositivo incluye dos guías 2 de campo magnético. Cada guía 2 de campo magnético está fijada a un imán permanente 1. Las dos guías 2 de campo magnético tienen una forma estrechada desde el extremo fijado hasta el imán permanente 1 hacia los bordes de vértice de las dos guías de campo magnético que están directamente opuestas entre sí. Los bordes de vértice de las guías 2 de campo magnético son sustancialmente lineales, como se ha mostrado en las figs. 1(b) y 1(c). Los imanes permanentes 1 tienen magnetizaciones 12 que están en la misma dirección y perpendiculares a la interfaz entre los imanes permanentes 1 y las guías 2 de campo magnético. Las guías 2 de campo magnético y los imanes permanentes 1 forman una estructura de concentración de flujo magnético accionada por imán permanente, donde el flujo magnético procedente de los imanes permanentes 1 es enfocado (por ejemplo, aumentado) por la forma estrechada de las guías 2 de campo magnético. Las guías 2 de campo magnético producen una densidad de flujo magnético localmente alta en el área proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético. En ciertos casos, el flujo magnético alto produce un campo magnético y un gradiente de campo magnético altos en el área proximal a, tal como cerca y/o entre, los bordes de vértice de las guías de campo magnético.

Otra realización del dispositivo de separación magnética se ha mostrado en las figs. 4(a) y 4(b). Como se ha mostrado en la fig. 4(a), la disposición de las fuentes de campo magnético (por ejemplo, imanes permanentes) 1 y de las guías 2 de campo magnético es la misma que en la fig. 1(a). Sin embargo, como se ha mostrado en la fig. 4(b), en vez de tener un

perfil lineal, las guías 2 de campo magnético tienen bordes de vértice con un perfil en diente de sierra. En ciertas realizaciones, las esquinas a lo largo del borde de vértice en diente de sierra tienen un campo magnético y un gradiente de campo magnético mejorados localmente, lo que puede facilitar la separación de etiquetas magnéticas y fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra.

Otra realización de un dispositivo de separación magnética se ha mostrado en las ilustraciones esquemática en las figs. 8(a) y 8(b). El dispositivo incluye dos guías 2 de campo magnético suave. Las guías 2 de campo magnético están fijadas a lados opuestos del mismo imán permanente 1. Las guías 2 de campo magnético tienen cada una de ellas una parte en forma de cuña con una forma estrechada. Las partes en forma de cuña de las guías 2 de campo magnético tienen áreas en sección transversal que disminuyen hacia los bordes de vértice de las guías de campo magnético. Los bordes de vértice de las guías 2 de campo magnético son sustancialmente lineales y están posicionados directamente opuestos entre sí. El imán permanente 1 tiene una magnetización 12 que es perpendicular a los interfaces entre el imán permanente 1 y las guías 2 de campo magnético. Las guías 2 de campo magnético y el imán permanente 1 forman una estructura de concentración de flujo magnético accionada por imán permanente, donde el flujo magnético procedente del imán permanente 1 está enfocado (por ejemplo, aumentado) por la forma estrechada de las partes en forma de cuña de las guías 2 de campo magnético. Las guías 2 de campo magnético producen una densidad de flujo magnético localmente alta en el área proximal a (por ejemplo, cerca y/o entre) los bordes de vértice de las guías de campo magnético. En ciertos casos, el flujo magnético alto produce un campo magnético y un gradiente de campo magnético altos en el área proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético.

En ciertas realizaciones, el dispositivo incluye uno o más sumideros de flujo magnético. El sumidero de flujo magnético puede estar dispuesto sobre una superficie de la fuente de campo magnético. En algunos casos, el sumidero de flujo magnético está dispuesto sobre una superficie de la fuente de campo magnético opuesta a la superficie de la fuente de campo magnético en contacto con la guía de campo magnético. En ciertos casos, el sumidero de flujo magnético está configurado para aumentar el campo magnético de la fuente de campo magnético. El sumidero de flujo magnético puede estar configurado para aumentar el campo magnético de la fuente de campo magnético disminuyendo el campo de auto-desmagnetización de la fuente de campo magnético (por ejemplo, el campo de auto-desmagnetización del imán permanente). En algunos casos, el sumidero de flujo magnético incluye un imán suave.

Conducto

Las realizaciones del dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra pueden incluir además un conducto. El conducto puede estar configurado para dirigir un flujo de la muestra a través del dispositivo. Como tal, el conducto puede estar configurado para transportar el flujo de la muestra (por ejemplo, una solución de muestra) en un canal, tubo, pozo, etc. En ciertas realizaciones, el conducto está cerrado, de tal manera que el conducto está definido por paredes exteriores que rodean una trayectoria de flujo central. La trayectoria de flujo central puede estar alineada con un eje longitudinal del conducto. La trayectoria de flujo central puede tener cualquier forma conveniente, tal como, pero no limitada a, una trayectoria de flujo con un perfil en sección transversal de un círculo, una elipse, un cuadrado, un rectángulo, un pentágono, un hexágono, un perfil en sección transversal irregular, combinaciones de los mismos, y similares. Durante la utilización, el conducto también puede estar configurado para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra.

En algunos casos, al menos una parte del conducto es posicionada entre las guías de campo magnético, tal como entre la primera guía de campo magnético y la segunda guía de campo magnético. El conducto puede ser posicionado entre la primera y segunda guías de campo magnético de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de la primera guía de campo magnético y a un eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético. Por ejemplo, el conducto puede ser posicionado entre los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético de tal manera que el eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de cada una de las primera y segunda guías de campo magnético. En algunos casos, posicionar el conducto sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético maximiza la longitud de conducto, y por lo tanto el flujo de fluido de muestra, que está entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético. En ciertos casos, posicionar el conducto sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético maximiza la cantidad de tiempo que el flujo de la muestra está entre las guías de campo magnético. Alinear el conducto sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético puede facilitar retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el conducto.

En algunos casos, al menos una parte del conducto es posicionada proximal a las guías de campo magnético, tal como junto a la primera guía de campo magnético y a la segunda guía de campo magnético. En algunos casos, el conducto es posicionado junto a, pero no entre, los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético. En ciertos casos, el conducto es posicionado de tal manera que el conducto está en contacto directo con una superficie exterior de una o más de las guías de campo magnético. Por ejemplo, el conducto puede ser posicionado de tal manera que el conducto contacte con la superficie exterior angulada de la parte en forma de cuña de las guías de campo magnético. En algunos casos, el conducto puede no ser posicionado directamente entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético, sino más bien junto a los bordes de vértice y contactando con una superficie exterior de las guías de campo magnético como se ha descrito anteriormente. El conducto puede ser posicionado proximal a la primera y segunda guías de campo magnético de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje

longitudinal de la primera guía de campo magnético y a un eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético. Por ejemplo, el conducto puede ser posicionado junto a la primera y segunda guías de campo magnético de tal manera que el eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de cada una de las primera y segunda guías de campo magnético. En algunos casos, posicionar el conducto sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético maximiza la longitud del conducto, y por lo tanto el flujo de fluido de muestra, que está junto a los bordes de vértice de las guías de campo magnético. En ciertos casos, posicionar el conducto sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético maximiza la cantidad de tiempo que el flujo de la muestra está proximal a las guías de campo magnético. Alinear el conducto sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético puede facilitar retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el conducto.

En algunos casos, el conducto está configurado para tener un área en sección transversal más estrecho en la parte del conducto posicionada entre las guías de campo magnético. Por ejemplo, el área en sección transversal del conducto aguas arriba de la parte del conducto posicionada entre las guías de campo magnético puede ser mayor que el área en sección transversal de la parte del conducto posicionada entre las guías de campo magnético. De manera similar, el área en sección transversal del conducto aguas abajo de la parte del conducto posicionada entre las guías de campo magnético puede ser mayor que el área en sección transversal de la parte del conducto posicionada entre las guías de campo magnético. Así, en algunos casos, una parte del conducto posicionada entre la primera y segunda guías de campo magnético tiene un área en sección transversal menor que el área en sección transversal de una parte del conducto aguas arriba o aguas abajo de la parte del conducto posicionada entre la primera y segunda guías de campo magnético.

En ciertas realizaciones, el conducto puede ser posicionado manualmente entre las guías de campo magnético. Por ejemplo, el conducto puede estar alineado manualmente entre las guías de campo magnético, y puede ser retirado manualmente de entre las guías de campo magnético. El conducto puede estar configurado para tener una o más guías de alineación en el exterior del conducto, tal como, pero no limitado a, una muesca, una lengüeta, una ranura, una columna de guía, etc., lo que puede facilitar el posicionamiento del conducto entre las guías de campo magnético. En algunas realizaciones, el dispositivo puede estar configurado para posicionar automáticamente el conducto entre las guías de campo magnético. El conducto puede incluir una o más marcas o guías de alineación como se ha descrito anteriormente que el dispositivo puede utilizar para posicionar el conducto entre las guías de campo magnético.

En algunos casos, el conducto está configurado para poder posicionarse lejos del campo magnético, por ejemplo, poder posicionarse lejos de las fuentes de campo magnético y de las guías de campo magnético. Posicionar el conducto lejos del campo magnético puede facilitar la recuperación de fragmentos etiquetados magnéticamente que fueron retenidos en el conducto durante el ensayo. En ciertos casos, el dispositivo puede estar configurado para posicionar automáticamente el conducto lejos de las guías de campo magnético.

En ciertos casos, el conducto está configurado para ser reutilizable. Un conducto reutilizable puede estar configurado para ser lavado entre ensayos, tal como, pero no limitado a, configurado para ser lavado haciendo fluir una solución o tampón de lavado a través del conducto entre ensayos. En algunos casos, el conducto puede estar configurado para ser lavado y reutilizado sin retirar el conducto del dispositivo. En otros casos, el conducto puede estar configurado para ser retirado del dispositivo, lavado y luego reinsertado en el dispositivo para un ensayo posterior. En ciertas realizaciones, el conducto está configurado para ser desechable. Por desechable se entiende que el conducto puede ser utilizado una vez o varias veces (por ejemplo, 20 veces o menos, 15 veces o menos, 10 veces o menos, o 5 veces o menos) y luego descartado y sustituido por un nuevo conducto. Por ejemplo, el conducto puede estar configurado para ser un conducto de un solo uso, donde el conducto está configurado para ser utilizado para un solo ensayo, y luego retirado y descartado. Se puede utilizar un nuevo conducto en un ensayo posterior.

En ciertas realizaciones, el conducto puede tener una altura (por ejemplo, para conductos que no tienen un perfil en sección transversal redondeado) o un diámetro interior (por ejemplo, para conductos que tienen un perfil en sección transversal redondo) de 5 cm o menos, tal como de 2 cm o menos, incluyendo de 1 cm o menos, o de 7 mm o menos, o de 5 mm o menos, o de 3 mm o menos, o de 2 mm o menos, o de 1 mm o menos. La longitud del conducto puede oscilar desde 1 cm a 1000 cm, tal como desde 2 cm a 750 cm, incluyendo desde 5 cm a 500 cm, o desde 5 cm a 250 cm, o desde 10 cm a 100 cm, tal como desde 10 cm a 50 cm, por ejemplo desde 10 cm a 25 cm.

En ciertas realizaciones, el conducto está configurado para estar sustancialmente libre de materiales que mejoran el gradiente magnético. Por ejemplo, el conducto puede estar hecho de materiales no magnéticos y/o no magnetizables. En algunos casos, la trayectoria de flujo central del conducto está sustancialmente libre de materiales que mejoran el gradiente magnético (excluyendo las propias etiquetas magnéticas). Por ejemplo, la trayectoria de flujo central puede estar libre de cualesquiera materiales (por ejemplo, materiales de matriz, partículas magnetizables (por ejemplo, esferas/elipsoides magnetizables), alambres magnetizables, cilindros magnetizables, y similares) diferentes a la muestra (por ejemplo, que incluye cualesquiera etiquetas de tampón y magnéticas, etc. utilizadas en el propio ensayo). En algunos casos, tener un conducto con una trayectoria de flujo central sustancialmente libre de materiales, tales como materiales magnetizables, facilita la recuperación subsiguiente de los fragmentos etiquetados magnéticamente separados. Por ejemplo, los fragmentos etiquetados magnéticamente separados pueden ser descargados más fácilmente desde el conducto cuando está sustancialmente libre de materiales en comparación con un conducto con

materiales, tales como materiales magnetizables, en la trayectoria de flujo central del conducto. Los fragmentos etiquetados magnéticamente separados puede ser descargados más fácilmente desde el conducto, por ejemplo, debido a la ausencia de restricciones a la trayectoria de flujo de fluido en un conducto sustancialmente libre de materiales y/o a la ausencia de materiales magnetizables en la trayectoria de flujo que puede tener magnetizaciones remanentes que retienen los fragmentos etiquetados magnéticamente en el conducto.

En ciertas realizaciones, el conducto incluye un material que es flexible. Cuando es posicionado entre las guías de campo magnético, las guías de campo magnético, en algunos casos, pueden contactar con la superficie del conducto. En algunos casos, la primera guía de campo magnético (por ejemplo, el borde de vértice de la primera guía de campo magnético) contacta con una superficie del conducto, y la segunda guía de campo magnético (por ejemplo, el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético) contacta con una superficie opuesta del conducto. Las guías de campo magnético pueden estar configuradas para contactar con las superficies del conducto sin ejercer presión significativa sobre el conducto. En otras realizaciones, el dispositivo está configurado para comprimir el conducto entre el borde de vértice de la primera guía de campo magnético y el borde de vértice de la segunda guía de campo magnético. En algunos casos, el conducto es comprimido de tal manera que la altura (por ejemplo, diámetro interior) del conducto es comprimida hasta una fracción de la altura del conducto en la ausencia de cualquier compresión. Por ejemplo, el conducto puede ser comprimido hasta el 90% o menos de su altura inicial, tal como el 80% o menos, incluyendo el 70% o menos, o el 60% o menos, o el 50% o menos de su altura inicial. En ciertas realizaciones, el conducto está configurado de tal manera que el conducto puede ser comprimido cerca del centro del conducto, pero puede mantener sustancialmente la misma altura hacia los bordes exteriores del conducto. En estas realizaciones, bajo compresión, el conducto puede tener una trayectoria de flujo central con una altura menor que la altura de la trayectoria de flujo cerca de los bordes exteriores del conducto. Tener una trayectoria de flujo central con una altura menor que la altura de la trayectoria de flujo cerca de los bordes exteriores del conducto puede facilitar la retención de los fragmentos etiquetados magnéticamente en el conducto porque el caudal a través de la trayectoria de flujo central más estrecha del conducto puede ser menor que el caudal a través de la periferia más ancha del conducto.

El conducto puede estar hecho de cualquier material que sea compatible con las condiciones de ensayo, por ejemplo, tampón, presión, temperatura, etc. de la solución de ensayo. Por ejemplo, el conducto puede incluir materiales que sean sustancialmente no reactivos a la muestra, a los fragmentos en la muestra, al tampón, y similares. El conducto puede incluir un material flexible, de tal manera que el conducto sea flexible. En ciertos casos, el conducto está configurado para deformar su forma inicial y/o estirar si el conducto es comprimido entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético, como se ha descrito anteriormente. El conducto puede estar configurado para deformarse de su forma inicial y/o estirarse sin rotura, división, desgarrar, etc., cuando el conducto es comprimido entre las guías de campo magnético. En algunos casos, el conducto incluye vidrio, o polímeros, tales como, pero no limitado a, silicona, polipropileno, polietileno, poliéter éter cetona (PEEK), y similares. En ciertas realizaciones, el conducto incluye un material flexible, tal como un material polímero flexible (por ejemplo, silicona, polietileno, polipropileno, PEEK, etc.).

En algunos casos, el conducto tiene una capa de cubierta dispuesta sobre la superficie exterior del conducto. La capa de cubierta puede estar configurada para proteger el conducto del entorno que le rodea, y en algunos casos, puede incluir una o más guías de alineación para facilitar el posicionamiento del conducto entre las guías de campo magnético, como se ha descrito anteriormente. La capa de cubierta puede incluir un material flexible, de tal manera que la capa cubierta sea flexible y pueda deformarse de su forma inicial y/o estirarse. En ciertos casos, la capa de cubierta está configurada para deformarse de su forma inicial y/o estirarse si el conducto es comprimido entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético como se ha descrito anteriormente. La capa de cubierta puede estar configurada para deformarse de su forma inicial y/o estirarse sin romperse, dividirse, desgarrarse, etc., cuando el conducto es comprimido entre las guías de campo magnético. En ciertas realizaciones, el conducto incluye un material flexible, tal como un material de polímero flexible (por ejemplo, silicona, polietileno, polipropileno, PEEK, etc.).

Un ejemplo de un conducto de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción se ha mostrado en las figs. 2(a) y 2(b). El conducto 20 tiene una trayectoria de flujo central 22 configurada para transportar un flujo de una muestra a través del dispositivo. El conducto puede estar configurado con un perfil en sección transversal rectangular (véase la fig. 2(b)). En algunos casos, un conducto con un perfil en sección transversal rectangular puede facilitar la alineación del conducto entre las guías de campo magnético del dispositivo.

Las figs. 3(a) y 3(b) muestran esquemas de vistas frontales de un conducto posicionado entre las guías de campo magnético en un dispositivo de separación magnética, de acuerdo con realizaciones de la presente descripción. El conducto 3 es posicionado dentro del espacio entre los bordes de vértice opuestos de las guías de campo magnético como se ha mostrado en las figs. 3(a) y 3(b). Una muestra de líquido con fragmentos biológicos o químicos etiquetados magnéticamente fluye dentro del conducto 3 y a lo largo de los bordes de vértice estrechados de las guías de campo magnético. El campo magnético y el gradiente de campo magnético producidos por las fuentes de campo magnético atraen etiquetas magnéticas y fragmentos etiquetados magnéticamente de la muestra que fluye. Las etiquetas magnéticas y fragmentos etiquetados magnéticamente son estirados hacia y son retenidos en la superficie interior del conducto proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético. Así, las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente son separados de la solución que fluye y retenidos dentro del conducto. Después de que la muestra de solución sea hecha fluir a través del conducto y de separar una pluralidad de etiquetas magnéticas y fragmentos etiquetados magnéticamente de la solución que fluye, el conducto 3 es entonces retirado del

espacio entre las guías 2 de campo magnético y el campo magnético dentro del conducto resulta aproximadamente cero. Descargando las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente retenidos dentro del conducto desde el conducto con una solución de tampón, se pueden recuperar entonces las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente del conducto.

La fig. 3(a) muestra una realización donde el conducto 3 tiene una trayectoria de flujo central rectangular, donde las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente son retenidos hacia el centro del conducto. La fig. 3(b) muestra una realización donde el conducto tiene una trayectoria de flujo central pellizcada (por ejemplo, la trayectoria de flujo central tiene una altura menor que la altura de la trayectoria de flujo cerca de la periferia de la trayectoria de flujo). En la fig. 3(b) las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente son retenidos cerca de la parte central pellizcada de la trayectoria de flujo. En ciertos casos, debido a que las áreas laterales del conducto tienen una altura libre mayor que la trayectoria de flujo central pellizcada, cuando la solución fluye dentro del conducto, la solución que fluye a través de la parte central del conducto experimenta un caudal más lento que la solución que fluye a través de las áreas laterales. Así, en algunos casos, las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente experimentan menos fuerza de cizalladura de flujo que en la realización mostrada en la fig. 3(a), lo que puede facilitar la eficiencia de separación magnética.

Las figs. 6(a), 6(b) y 6(c) muestran gráficos de un campo magnético simulado (fig. 6(a)), un gradiente de campo magnético (fig. 6(b)), y un producto del campo magnético y del gradiente de campo magnético absoluto (fig. 6(c)) a través del espacio entre las guías de campo magnético como se ha mostrado en la fig. 1(a) para un dispositivo de separación magnética con una distancia entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético de 1,4 mm, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción. El eje x está a lo largo del centro del espacio de izquierda a derecha entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético, como se ha mostrado en la fig. 3(a). La fig. 6(a) muestra que se puede conseguir un campo magnético de 1,4 Tesla o más en ciertas realizaciones. La fig. 6(b) muestra un gráfico del gradiente de campo magnético calculado a partir del perfil de campo magnético mostrado en la fig. 6(a), donde el pico de gradiente es 0,8 T/mm o más a través del espacio entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético. Los valores de gradiente indican una fuerza magnética fuerte sobre las etiquetas magnéticas hacia los bordes de vértice de las guías de campo magnético. La fig. 6(c) muestra un gráfico del producto del campo magnético y del gradiente de campo magnético absoluto, que es proporcional a la fuerza magnética sobre los fragmentos etiquetados magnéticamente que fluye a través del conducto. En algunos casos, los fragmentos etiquetados magnéticamente dentro del conducto son atraídos y retenidos dentro de $\pm 0,5$ mm del borde de vértice de la guía de campo magnético.

La fig. 5 ilustra otra realización de un conducto posicionado en un dispositivo de separación magnética de acuerdo con realizaciones de la presente descripción. La fig. 5 muestra un esquema de un dispositivo 50 de separación magnética con un conducto 52 que tiene una trayectoria 58 de flujo posicionada entre las guías 54 de campo magnético y las fuentes de campo magnético (por ejemplo, imanes permanentes) 56. La trayectoria 58 de flujo de conducto mostrada en la fig. 5 tiene una forma en sección transversal estrechada de tal manera que la dimensión en sección transversal del conducto proximal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético es menor que la dimensión en sección transversal distal al vértice. Esto permite que los vértices sean posicionados más cerca, y, además, facilita el posicionamiento del conducto 52 entre los bordes de vértice de las guías 54 de campo magnético.

Soporte de Conducto

En ciertas realizaciones, el dispositivo incluye un soporte de conducto acoplado de forma operativa al conducto. En algunos casos, el soporte de conducto está configurado para acoplar de forma operativa el conducto al dispositivo de separación magnética. Por ejemplo, el soporte de conducto puede estar configurado para facilitar el posicionamiento del conducto entre las guías de campo magnético. En algunos casos, el soporte de conducto incluye una lengüeta alargada fijada al exterior del conducto. La lengüeta alargada puede estar fijada al exterior del conducto de tal manera que la lengüeta alargada sea sustancialmente paralela a un eje longitudinal del conducto. En ciertos casos, el soporte de conducto facilita el posicionamiento del conducto en el dispositivo de separación magnética de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal del dispositivo de separación magnético, tal como sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético como se ha descrito anteriormente.

En algunos casos, la separación magnética está configurada para acoplarse con el soporte de conducto acoplado de forma operativa al conducto. Por ejemplo, el dispositivo de separación magnética puede estar configurado para tener uno o más elementos de acoplamiento, tales como, pero no limitados a, una muesca, una lengüeta, una ranura, un canal, una columna de guía, etc., que corresponden a una o más guías de alineación correspondientes en el soporte de conducto. Los uno o más elementos de acoplamiento pueden facilitar el posicionamiento del conducto entre las guías de campo magnético del dispositivo de separación magnética. En algunos casos, el dispositivo de separación magnética incluye un canal configurado para acoplarse con el soporte de conducto. El canal puede estar configurado para posicionar el soporte de conducto en el dispositivo de separación magnética de tal manera que el eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal del dispositivo de separación magnética, tal como sustancialmente paralelo a los bordes de vértice de las guías de campo magnético como se ha descrito anteriormente.

En ciertas realizaciones, el soporte de conducto puede ser posicionado manualmente entre las guías de campo

magnético. Por ejemplo, el soporte de conducto puede ser posicionado manualmente en el dispositivo de separación magnética alineando el soporte de conducto con el elemento de acoplamiento correspondiente (por ejemplo, canal) del dispositivo de separación magnética. En algunos casos, el soporte de conducto puede ser retirado manualmente del dispositivo de separación magnética. En algunas realizaciones, el dispositivo puede estar configurado para posicionar automáticamente el soporte de conducto en el dispositivo de separación magnética. El soporte de conducto puede incluir una o más marca o guías de alineación como se ha descrito anteriormente que el dispositivo puede utilizar para posicionar automáticamente el soporte de conducto en el dispositivo de separación magnética.

La fig. 9 muestra una sección transversal esquemática de un conducto posicionado en un dispositivo de separación magnética. La muestra de fluido fluye a través del conducto 901, que está acoplado operativamente a un soporte 902 de conducto y posicionado en un dispositivo de separación magnética y muy cerca de los bordes de vértice de las guías 2 de campo magnético. El conducto 901 es una tubería, que puede ser flexible o rígida, y está posicionada con su superficie exterior en contacto con las guías 2 de campo magnético, pero no entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético, como se ha mostrado en la fig. 9. El soporte 902 de conducto facilita posicionar el conducto 901 en el dispositivo de separación magnética de tal manera que un eje longitudinal del conducto 901 sea paralelo a los ejes longitudinales de las guías 2 de campo magnético.

La fig. 10(a) es una vista frontal de un conducto 1001 acoplado de forma operativa a un soporte 1002 de conducto. La fig. 10(b) es un esquema tridimensional del conducto 1001 acoplado de forma operativa al soporte 1002 de conducto. El conducto 1001 tiene una trayectoria de flujo central que transporta el flujo del fluido de muestra a través del dispositivo de separación magnética. El conducto 1001 también incluye dos aberturas 1003 y 1004, que puede estar conectadas a un depósito de fluido, a un conector de transferencia de fluido o a un adaptador, según se desee.

La fig. 11 es una vista en perspectiva tridimensional del conducto 1101 acoplado operativamente a un soporte 1102 de conducto posicionado en un dispositivo 1103 de separación magnética. El conducto 1101 es posicionado por encima del espacio entre los bordes de vértice opuestos de las guías de campo magnético como se ha mostrado en la fig. 9. Una muestra de líquido con fragmentos biológicos o químicos etiquetados magnéticamente fluye dentro del conducto 1101 y junto a los bordes de vértice estrechados de las guías de campo magnético. El campo magnético y el gradiente de campo magnético producidos por las fuentes de campo magnético atraen las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente en la muestra que fluye. Las etiquetas magnéticas y los componentes etiquetados magnéticamente son entonces estirados de y retenidos en la superficie interior del conducto principal a los bordes de vértice de las guías de campo magnético. Así, las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente son separados de la solución que fluye y retenidos dentro del conducto. Después de que la solución de muestra es hecha fluir a través del conducto y se separa una pluralidad de etiquetas magnéticas y fragmentos etiquetados magnéticamente de la solución que fluye, el conducto es entonces posicionado lejos de las guías de campo magnético y el campo magnético dentro del conducto resulta aproximadamente cero. Descargando las etiquetas magnéticas retenidas y los fragmentos etiquetados magnéticamente del conducto con una solución (por ejemplo, una solución de tampón), las etiquetas magnéticas y los fragmentos etiquetados magnéticamente pueden ser recuperados del conducto.

Etiquetas Magnéticas

Las etiquetas magnéticas son fragmentos de etiquetado que son retenidos por el dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. Las etiquetas magnéticas de interés pueden ser retenidas por el dispositivo si fluyen a través de una parte de un conducto muy cerca del campo magnético producido por el dispositivo, por ejemplo, entre las fuentes de campo magnético y/o entre las guías de campo magnético del dispositivo).

Las etiquetas magnéticas útiles en la práctica de ciertas realizaciones de la presente descripción son partículas magnéticas, tales como, pero no limitadas a partículas ferromagnéticas, paramagnéticas, súper-paramagnéticas, anti-ferromagnéticas, o ferrimagnéticas. En ciertos casos, las partículas magnéticas aparecen "no magnéticas" (por ejemplo, tienen una magnetización remanente de sustancialmente cero) en la ausencia de un campo magnético. Las partículas magnéticas con una magnetización remanente de sustancialmente cero pueden no aglomerarse sustancialmente entre sí en solución en la ausencia de un campo magnético externo.

Las partículas magnéticas pueden ser químicamente estables en un entorno biológico, lo que puede facilitar su utilización en las condiciones de ensayo. En algunos casos, las partículas magnéticas son biocompatibles, por ejemplo, solubles en agua y funcionalizadas de modo que se puedan fijar fácilmente a biomoléculas de interés, tales como un anticuerpo que se une específicamente a un analito objetivo. Asociando o uniendo partículas magnéticas a un anticuerpo específico, las partículas magnéticas pueden dirigirse a un analito específico a través de las interacciones de unión específicas entre el anticuerpo y el antígeno complementario. En algunos casos, la etiqueta magnética puede estar unida a la proteína o anticuerpo como se ha descrito anteriormente a través de una unión no covalente o covalente entre sí. Ejemplos de asociaciones no covalentes incluyen absorción no específica, unión basada en electrostática (por ejemplo, ion, interacciones de par iónico), interacciones hidrofóbicas, interacciones de unión de hidrógeno, unión específica a través de un miembro de par de unión específica fijado covalentemente a la superficie de la partícula magnética, y similares. Ejemplos de unión covalente incluyen uniones covalentes formadas entre la biomolécula y un grupo funcional presente en la superficie de la partícula magnética, por ejemplo -OH, donde el grupo funcional puede ocurrir de forma natural o estar presente como un miembro de un grupo de enlace introducido.

En ciertas realizaciones, las partículas magnéticas son nanopartículas. Por "nanopartícula" se entiende una partícula que tiene un tamaño medio (por ejemplo, diámetro medio) del orden de 1 nm a 1000 nm. En ciertas realizaciones, el tamaño medio (por ejemplo, diámetro medio) de las nanopartículas magnéticas es de tamaño inferior a la micra, por ejemplo, desde 1 nm a 1000 nm, o desde 1 nm a 500 nm, o desde 5 nm a 250 nm, tal como desde 5 nm a 150 nm, incluyendo desde 5 nm a 50 nm. Por ejemplo, nanopartículas magnéticas que tienen un diámetro medio de 5 nm, 6 nm, 7 nm, 8 nm, 9 nm, 10 nm, 11 nm, 12 nm, 13 nm, 14 nm, 15 nm, 16 nm, 17 nm, 18 nm, 19 nm, 20 nm, 25 nm, 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, 50 nm, 55 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 110 nm, 120 nm, 130 nm, 140 nm, 150 nm, y 200 nm así como nanopartículas que tienen diámetros medios en rangos entre cualquiera de estos dos valores, son adecuada para utilizar en este documento. En ciertas realizaciones, las partículas magnéticas son de forma sustancialmente uniforme. Por ejemplo, las partículas magnéticas pueden ser de forma esférica. Además de una forma esférica, las nanopartículas magnéticas adecuadas para utilizar en este documento pueden tener la forma de discos, varillas, bobinas, fibras, pirámides, y similares.

Métodos

Aspectos de la presente descripción incluyen métodos para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. Los fragmentos etiquetados magnéticamente pueden estar separados de los otros componentes de la muestra, tales como fragmentos no etiquetados magnéticamente (por ejemplo, fragmentos que no están asociados con una etiqueta magnética).

En ciertas realizaciones, el método incluye posicionar un conducto en un dispositivo de separación magnética como se ha descrito anteriormente. El posicionamiento puede ser realizado manual o automáticamente. En las realizaciones donde el posicionamiento es realizado manualmente, el usuario puede posicionar el conducto en el dispositivo de tal manera que el conducto esté alineado proximal a (por ejemplo, junto a o entre) las guías de campo magnético del dispositivo. Por ejemplo, posicionar el conducto puede incluir alinear el conducto de tal manera que un eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo a un eje longitudinal de las guías de campo magnético (por ejemplo, el eje longitudinal de la primera guía de campo magnético y el eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético). En las realizaciones donde el posicionamiento es realizado automáticamente por el dispositivo, el dispositivo puede estar programado para posicionar el conducto proximal a (por ejemplo, junto a o entre) las guías de campo magnético sin la intervención del usuario. Por ejemplo, el dispositivo puede alinear automáticamente el conducto de tal manera que el eje longitudinal del conducto sea sustancialmente paralelo al eje longitudinal de las guías de campo magnético (por ejemplo, el eje longitudinal de la primera guía de campo magnético y el eje longitudinal de la segunda guía de campo magnético).

Aspectos del método incluyen además aplicar un campo magnético a la muestra. En algunos casos, la muestra es una solución de muestra que fluye a través del conducto, así el método incluye aplicar un campo magnético a la muestra que fluye a través del conducto. En ciertos casos, el método incluye aplicar un campo magnético que tiene un flujo magnético suficiente para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra. El campo magnético puede ser aplicado continuamente cuando la muestra fluye a través del conducto, o puede ser aplicado discontinuamente en una aplicación pulsada. En ciertas realizaciones, la fuente de campo magnético es un imán permanente como se ha descrito anteriormente, y así el campo magnético es aplicado continuamente a la muestra cuando la muestra fluye a través del conducto.

En ciertas realizaciones, el método incluye posicionar el conducto lejos del campo magnético. El conducto puede ser posicionado lejos del campo magnético de tal manera que el campo externo aplicado sobre el conducto es sustancialmente cero. Se puede conseguir posicionar el conducto lejos del campo magnético retirando el conducto del dispositivo. Por ejemplo, el conducto puede ser retirado desde su posición proximal a (por ejemplo, junto a o entre) las guías de campo magnético y movido a una posición lejos de la fuente de campo magnético y de las guías de campo magnético. Posicionar el conducto lejos del campo magnético puede facilitar la recuperación posterior de cualesquiera fragmentos etiquetados magnéticamente que fueron retenidos en el conducto durante el ensayo. En ciertos casos, el posicionamiento del conducto lejos del campo magnético puede ser realizado manualmente, mientras que en otras realizaciones, el posicionamiento del conducto lejos del campo magnético puede ser realizado automáticamente (por ejemplo, sin la intervención del usuario).

En algunos casos, se pueden conseguir posicionar el conducto lejos del campo magnético moviendo la fuente de campo magnético (y las guías de campo magnético asociadas) lejos del conducto. Por ejemplo, en las realizaciones que incluyen una fuente de campo magnético, la fuente de campo magnético y las guías de campo magnético asociadas pueden ser movidas a una posición alejada del conducto de tal manera que las guías de campo magnético no produzcan un campo magnético que tiene suficiente intensidad de campo magnético, intensidad de gradiente, y/o flujo magnético para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el conducto.

En las realizaciones que incluyen dos fuentes de campo magnético, la primera fuente de campo magnético y la segunda fuente de campo magnético pueden ser movidas a posiciones alejadas del conducto. Las fuentes de campo magnético pueden ser movidas de tal manera que la distancia entre las fuentes de campo magnético sea mayor que la distancia entre las fuentes de campo magnético durante el ensayo. Por ejemplo, las fuentes de campo magnético pueden ser movidas a posiciones alejadas del conducto de tal manera que la distancia entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético sea mayor que la distancia entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético durante el

ensayo. En algunos casos, las fuentes de campo magnético pueden ser movidas a posiciones alejadas del conducto de tal manera que las guías de campo magnético no produzcan un campo magnético que tiene suficiente intensidad de campo magnético, intensidad de gradiente, y/o flujo magnético para retener los fragmentos etiquetados magnéticamente en el conducto.

- 5 Posicionar el conducto lejos del campo magnético puede facilitar la recuperación posterior de cualesquiera fragmentos etiquetados magnéticamente que fueron retenidos en el conducto durante el ensayo. Por ejemplo, después de posicionar el conducto lejos del campo magnético, los fragmentos etiquetados magnéticamente retenidos en el conducto pueden ser recuperados descargando los fragmentos etiquetados magnéticamente del conducto. Por ejemplo, los fragmentos etiquetados magnéticamente pueden ser recuperados haciendo fluir un tampón u otra solución compatible a través del
- 10 conducto para descargar (por ejemplo, lavar) los fragmentos etiquetados magnéticamente del conducto. Alternativamente, los fragmentos etiquetados magnéticamente puede ser recuperados del conducto mediante centrifugación, aplicación de vacío, bombeo, combinaciones de los mismos, y similares.

- Aspectos de los métodos descritos en este documento pueden incluir además concentrar los fragmentos etiquetados magnéticamente. Después de realizar el ensayo de separación magnética como se ha descrito en este documento, los
- 15 fragmentos etiquetados magnéticamente que fueron retenidos en el conducto durante el ensayo de separación magnética pueden ser recuperados del conducto como se ha descrito anteriormente. En ciertas realizaciones, puede ser deseable aumentar la concentración de los fragmentos etiquetados magnéticamente en la solución que es descargada del conducto. Así, el método puede incluir concentrar (por ejemplo, aumentar la concentración de) los fragmentos etiquetados magnéticamente en la solución que fue descargada del conducto. Concentrar los fragmentos etiquetados
- 20 magnéticamente puede incluir hacer pasar la solución que fue descargada del conducto que contiene los fragmentos etiquetados magnéticamente a través de un dispositivo de concentración. Por ejemplo, el dispositivo de concentración puede incluir, pero no está limitado a, un concentrador acústico.

- Los métodos de ensayo descritos en este documento pueden ser cualitativos o cuantitativos. Así, como se ha utilizados en este documento, el término “detección” o “separación” se refiere tanto a determinaciones cualitativas como
- 25 cuantitativas, y por lo tanto incluye “medir” y “determinar un nivel” de fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra.

- Aspectos de los métodos descritos en este documento pueden incluir además fijar una etiqueta magnética a uno o más fragmentos objetivo en una muestra antes de realizar el ensayo de separación magnética (por ejemplo, antes de aplicar el campo magnético a la muestra). Como tal, el método puede incluir etiqueta magnéticamente uno o más fragmentos en
- 30 una muestra antes de realizar el ensayo de separación magnética. La etiqueta magnética puede estar asociada de forma estable con el fragmento (o fragmentos) de interés a través de interacciones no covalentes o covalentes como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, la etiqueta magnética puede estar asociada con el fragmento de interés a través de una interacción de unión entre un par de moléculas de unión.

- El par de moléculas de unión puede variar dependiendo de la interacción de unión de interés. Las interacciones de unión de interés incluyen cualquier interacción entre el par de moléculas de unión, donde la interacción de unión ocurre con especificidad entre el par de moléculas de unión bajo las condiciones ambientales de la interacción de unión. Ejemplos de interacciones de unión de interés incluyen, pero no están limitados a: interacciones de hibridación de ácido nucleico, interacciones proteína-proteína, interacciones proteína-ácido nucleico, interacciones enzima-sustrato e interacciones receptor-ligando, por ejemplo, interacciones anticuerpo-antígeno e interacciones receptor-agonista o antagonista.
- 35

- Ejemplos de moléculas que tiene interacciones de unión molecular de interés incluye, pero no están limitados a: biopolímeros y pequeñas moléculas, que pueden ser moléculas pequeñas orgánicas o inorgánicas. Un “biopolímero” es un polímero de uno o más tipos de unidades de repetición. Se pueden encontrar biopolímeros en sistemas biológicos (aunque se pueden hacer sintéticamente) y pueden incluir péptidos, polinucleótidos, y polisacáridos, así como tales compuestos que se componen de o que contienen análogos de amino ácidos o grupos que no son amino ácidos, o
- 40 análogos de nucleótidos o grupos que no son nucleótidos. Como tal, los biopolímeros incluyen polinucleótidos en los que se ha sustituido la columna vertebral con una columna vertebral que no ocurre de forma natural o sintética, y ácidos nucleicos (o análogos sintéticos o que ocurren de forma natural) en los que una o más de las bases convencionales han sido sustituidas con un grupo (natural o sintético) capaz de participar en interacciones de unión de hidrógeno de tipo Watson-Crick. Por ejemplo, un “biopolímero” puede incluir ADN (incluyendo ADNc), ARN, oligonucleótidos, APN, otros polinucleótidos, y similares. Un “bio-monómero” hace referencia a una sola unidad, que puede estar enlazada con el mismo o con otros bio-monómeros para formar un biopolímero (por ejemplo, un solo amino ácido o nucleótido con dos grupos de enlace, uno o ambos de los cuales puede tener grupos de protección extraíbles).
- 45
- 50

- En algunos casos, el par de moléculas de unión son ligandos y receptores, donde un receptor o ligando dado puede o no ser un biopolímero. El término “ligando” como se ha utilizado en este documento se refiere a un fragmento que es capaz de unir de forma covalente o química un compuesto de interés. Los ligandos pueden ocurrir de forma natural o artificialmente. Ejemplos de ligandos incluyen, pero no están restringidos a, agonistas y antagonistas para receptores de membrana celular, toxinas y venenos, epítopos virales, hormonas, opiáceos, esteroides, péptidos, sustratos enzimáticos, cofactores, fármacos, lectinas, azúcares, oligonucleótidos, ácidos nucleicos, oligosacáridos, proteínas, y similares. El término “receptor” como se ha utilizado en este documento es un fragmento que tiene una afinidad por un ligando. Los
- 55

receptores pueden estar fijados, covalentemente o no covalentemente, a un miembro de unión, bien directamente o bien a través de una sustancia de unión específica. Ejemplos de receptores incluye, pero no están restringidos a, anticuerpos, receptores de membrana células, anticuerpos monoclonales y antiseros reactivos con determinantes antigénicos específicos, virus, células, fármacos, polinucleótidos, ácidos nucleicos, péptidos, cofactores, lectinas, azúcares, polisacáridos, membranas celulares, orgánulos y similares. Un "par de receptores de ligando" se forman cuando dos moléculas se combinan a través de reconocimiento molecular para formar un complejo.

Por consiguiente, los métodos pueden incluir detectar una interacción de unión entre un par de moléculas de unión. La interacción de unión puede incluir un miembro del par de moléculas de unión que es etiquetado con una etiqueta magnética como se ha descrito en este documento. Por ejemplo, un miembro del par de moléculas de unión puede estar etiquetado magnéticamente y puede unirse a su miembro de par de unión complementario para formar un complejo de par de unión. El complejo de par de unión puede estar separado de los fragmentos que no son de interés en la muestra utilizando un dispositivo de separación magnética y métodos descritos en este documento. Después de realizar el ensayo de separación magnética, el complejo de par de unión puede ser detectado utilizando cualquier método conveniente, tal como, pero no limitado a, citometría de flujo, detección de fluorescencia, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), electroforesis, combinaciones de los mismos, y similares.

Aspectos de métodos de la presente descripción pueden incluir además analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente separados. En ciertos casos, los fragmentos etiquetados magnéticamente son analizados después de ser separados de los fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra, como se ha descrito anteriormente. Como tal, el método puede incluir analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente en el eluyente del dispositivo de separación magnética. En ciertas realizaciones, el método incluye analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente para determinar información acerca de los fragmentos etiquetados magnéticamente. Por ejemplo, analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente puede incluir contar el número de fragmentos etiquetados magnéticamente que fueron retenidos por el dispositivo de separación magnética. En algunos casos, el análisis incluye la clasificación de los fragmentos etiquetados magnéticamente. Por ejemplo, el método puede incluir contar y/o clasificar los fragmentos etiquetados magnéticamente utilizando un dispositivo de citometría de flujo. En ciertos casos, analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente incluye determinar una o más propiedades físicas y/o químicas de los fragmentos etiquetados magnéticamente, tales como, pero no limitados a, fluorescencia, masa, carga, composición química, absorción UV, absorción infrarroja, dispersión de luz, combinaciones de los mismos, y similares.

Sistemas

Los sistemas de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción incluyen uno o más dispositivos de separación magnética para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra. Cada uno de los uno o más dispositivos de separación magnética puede estar configurado como se ha descrito de acuerdo con la presente descripción. Por ejemplo, el dispositivo de separación magnética incluye una fuente de campo magnético, una primera guía de campo magnético, y una segunda guía de campo magnético como se ha descrito en este documento. Además, el sistema incluye un conducto posicionado proximal a la primera guía de campo magnético y a la segunda guía de campo magnético.

En ciertas realizaciones, el sistema incluye más de un dispositivo de separación magnética. Por ejemplo, el sistema puede incluir 2 o más dispositivos de separación, tal como 3 o más, o 4 o más, o 5 o más, o 6 o más, o 7 o más, u 8 o más, o 9 o más, o 10 o más o más dispositivos de separación magnética. Los dispositivos de separación magnética pueden estar dispuestos en serie de tal manera que los dispositivos de separación magnética sean posicionados aguas arriba o aguas debajo entre sí en serie. Disponer los dispositivos de separación magnética en serie puede facilitar la separación progresiva de fragmentos etiquetados magnéticamente de la misma muestra. En algunos casos, los dispositivos de separación magnética están dispuestos en paralelo. Disponer los dispositivos de separación magnética en paralelo puede facilitar la separación simultánea de fragmentos etiquetados magnéticamente de una pluralidad de muestras. En ciertos casos, los dispositivos de separación magnética están dispuestos en serie y en paralelo.

En ciertas realizaciones, el sistema incluye más de un dispositivo de separación magnética, por ejemplo dos dispositivos de separación magnética (por ejemplo, un primer dispositivo de separación magnética y un segundo dispositivo de separación magnética). El primer y segundo dispositivos de separación magnética pueden estar dispuestos en serie como se ha descrito anteriormente. En algunos casos, los dispositivos pueden estar configurados de tal manera que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del dispositivo de separación magnética tienen sustancialmente los mismos perfiles que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética. Por ejemplo, los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética y los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética pueden tener cada uno un perfil lineal (o cualquier otro perfil según se desee, como se ha descrito anteriormente). En otras realizaciones, los dispositivos pueden estar configurados de tal manera que los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación tengan diferentes perfiles de los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética. Por ejemplo, los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del primer dispositivo de separación magnética pueden tener cada uno un perfil lineal, y los bordes de vértice de la primera y segunda guías de campo magnético del segundo dispositivo de separación magnética

puede tener cada uno un perfil en diente de sierra. Los ejemplos anteriores son con propósitos ilustrativos, y también son posibles otras combinaciones de perfiles para los bordes de vértice de los dispositivos de separación magnética.

Las realizaciones de sistemas de la presente descripción también pueden incluir un concentrador (por ejemplo, un dispositivo de concentración de partículas). El concentrador puede estar dispuesto aguas abajo del dispositivo de separación magnética. En algunos casos, el concentrador está configurado para aumentar la concentración de fragmentos etiquetados magnéticamente en el eluyente del dispositivo de concentración magnética. El concentrador puede ser cualquier tipo de concentrador, y en algunas realizaciones es un concentrador acústico.

Aspectos de sistemas de la presente descripción también pueden incluir un dispositivo de análisis de partículas. El dispositivo de análisis de partículas puede estar dispuesto aguas abajo del dispositivo de separación magnética, y en ciertos casos puede estar dispuesto aguas abajo del concentrador. El dispositivo de análisis de partículas puede estar configurado para analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente y determinar información acerca de los fragmentos etiquetados magnéticamente. Por ejemplo, el dispositivo de análisis de partículas puede estar configurado para contar el número de fragmentos etiquetados magnéticamente que fueron retenidos por el dispositivo de separación magnética. En algunos casos, el dispositivo de análisis de partículas puede estar configurado para clasificar los fragmentos etiquetados magnéticamente. En ciertos casos, el dispositivo de análisis de partículas puede analizar los fragmentos etiquetados magnéticamente para determinar una o más propiedades físicas y/o químicas de los fragmentos etiquetados magnéticamente, tales como, pero no limitadas a, fluorescencia, masa, carga, composición química, absorción UV, absorción infrarroja, dispersión de luz, combinaciones de los mismos, y similares. En ciertas realizaciones, el dispositivo de análisis de partículas incluye un citómetro de flujo, un espectrómetro de masa, un dispositivo de electroforesis, un dispositivo de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), un espectrómetro UV, un espectrómetro infrarrojo, y similares. En algunos casos, el dispositivo de análisis de partículas es un citómetro de flujo.

Los sistemas de la presente descripción pueden incluir además otros dispositivos de soporte y/o componentes adicionales que pueden facilitar la realización del ensayo de separación magnética y/o cualquier análisis posterior de los fragmentos etiquetados magnéticamente separados. Por ejemplo, el sistema puede incluir además un ordenador programado para realizar el ensayo de separación magnética, componentes de manipulación de fluido configurados para proporcionar un flujo de la solución de muestra y/o tampón a través del sistema (por ejemplo, una bomba, una fuente de vacío, un depósito de fluido, válvulas, entradas, salidas, etc.), componentes asociados con el dispositivo de separación magnética (por ejemplo, motores configurados para posicionar la fuente de campo magnético y las guías de campo magnético), y otros componentes según se desee.

Los sistemas pueden incluir generalmente uno o más dispositivos de separación magnética como se ha descrito en este documento y un procesador configurado para controlar los uno o más dispositivos de separación magnética. Estos dos componentes pueden estar integrados en el mismo artículo de fabricación como una sola unidad, o distribuidos entre dos o más unidades diferentes (por ejemplo, como un sistema) donde las dos o más unidades diferentes están en comunicación entre sí, por ejemplo, a través de un protocolo de comunicación por cable o inalámbrico.

Por consiguiente, aspectos de la presente descripción incluyen además sistemas, por ejemplo, sistemas basados en ordenador, que están configurados para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra como se ha descrito anteriormente. Un "sistema basado en ordenador" se refiere a al hardware, software, y a dispositivos de almacenamiento de datos utilizados para analizar la información de la presente invención. El hardware mínimo de las realizaciones del sistema basado en ordenador incluye una unidad de procesamiento central (CPU) (por ejemplo, un procesador), un dispositivo de entrada, un dispositivo de salida, un dispositivo de almacenamiento de datos. Cualquiera de los sistemas basados en ordenador disponibles actualmente puede ser adecuado para utilizar en las realizaciones descritas en este documento. El dispositivo de almacenamiento de datos puede incluir cualquier fabricación que incluya una grabación de la información presente como se ha descrito anteriormente, o un medio de acceso a la memoria que pueda acceder a tal fabricación. Por ejemplo, las realizaciones de los sistemas objeto pueden incluir los siguientes componentes: (a) un módulo de comunicaciones para facilitar la transferencia de información entre el sistema y uno o más usuarios, por ejemplo, a través de un ordenador de usuario o estación de trabajo; y (b) un módulo de procesamiento para realizar una o más tareas implicadas en el análisis de los fragmentos etiquetados magnéticamente.

Además del dispositivo de separación magnética, los sistemas de la presente descripción pueden incluir un número de componentes adicionales, tales como dispositivos de salida de datos, por ejemplo, monitores, impresoras, y/o altavoces, dispositivos de entrada de datos, por ejemplo, puertos de interfaz, un teclado, un ratón, etc., componentes de manipulación de fluidos, fuentes de alimentación, etc.

Utilidad

Los dispositivos, métodos, sistemas y kits objeto encuentran utilidad en una variedad de aplicaciones diferentes donde es deseable separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en una muestra. Por ejemplo, los dispositivos, métodos, sistemas y kits objeto encuentran utilidad en detectar la presencia de un fragmento de interés en una muestra. El fragmento de interés puede ser etiquetado magnéticamente y luego separado de fragmentos no etiquetados magnéticamente (por ejemplo, siendo retenido en el conducto mientras fragmentos no etiquetados magnéticamente fluyen a través del conducto) utilizando los dispositivos, métodos, sistemas y kits descritos

en este documento. En otras realizaciones, el fragmento de interés no está etiquetado magnéticamente y otros fragmentos que no son de interés en la muestra están etiquetados magnéticamente. En estas realizaciones, los fragmentos no etiquetados magnéticamente de interés no son retenidos por el dispositivo y fluyen a través del conducto, donde pueden ser recogidos y/o analizados adicionalmente. Los fragmentos etiquetados magnéticamente que no son de interés son retenidos en el conducto y así separados de los fragmentos no etiquetados magnéticamente de interés.

En ciertas realizaciones, los dispositivos, métodos, sistemas y kits objeto encuentran utilidad en detectar una interacción de unión de interés. En ciertas realizaciones, la interacción de unión es una interacción de unión tal como, pero no limitada a, hibridación de ácido nucleico, una interacción de proteína-proteína, una interacción de receptor-ligando, una interacción de enzima-sustrato, una interacción de proteína-ácido nucleico, y similares. En algunos casos, los métodos, sistemas y kits objeto encuentran utilidad en protocolos de desarrollo de fármacos donde se puede desear la detección de una interacción de unión molecular. Por ejemplo, los protocolos de desarrollo de fármacos pueden utilizar los dispositivos, métodos, sistemas y kits objeto para detectar interacciones de unión molecular entre anticuerpos y antígenos, o interacciones de hibridación entre ácidos nucleicos, o interacciones de unión entre proteínas, o interacciones de unión entre receptores y ligandos, o interacciones de unión entre enzimas y sustratos, o interacciones de unión entre proteínas y ácidos nucleicos, y similares. Por ejemplo, detectar interacciones de unión tales como estas puede facilitar el desarrollo de fármacos basados en anticuerpos.

Los dispositivos, métodos, sistemas y kits objeto también encuentran utilidad en detectar interacciones de unión molecular entre pares de unión que están incluidos en muestras complejas. En algunos casos, las muestras complejas pueden ser analizadas directamente sin separar las moléculas de unión de interés de las otras proteínas o moléculas que no son de interés que están en la muestra. En ciertos casos, proteínas o moléculas que no son de interés no están unidas por etiquetas magnéticas y no son retenidas en el conducto del dispositivo de separación magnética. Así, los dispositivos, métodos, sistemas y kits objeto encuentran utilidad en protocolos de ensayo donde se pueden utilizar muestras complejas y donde las interacciones de unión de interés puede ser detectadas sin purificación de la muestra necesaria para la detección de las interacciones de unión de interés.

Kits

También se ha proporcionado kits para poner en práctica una o más realizaciones de los métodos descritos anteriormente y/o para utilizar con realizaciones de dispositivos y sistemas descritos anteriormente. Los kits objeto pueden variar, y pueden incluir diferentes componentes y reactivos. Los reactivos y componentes de interés incluye los mencionados en este documento con respecto a dispositivos de separación magnética o sus componentes, e incluyen, pero no están limitados a, etiquetas magnéticas (por ejemplo, nanopartículas magnéticas), agentes de unión, tampones, conductos de flujo de fluido (por ejemplo, conductos de flujo de fluido desechables), etc.

En algunos casos, los kits incluyen al menos reactivos que encuentran utilidad en los métodos (por ejemplo, como se ha descrito anteriormente); y un medio legible por ordenador que tiene un programa informático almacenado en él, en donde el programa informático, cuando es cargado en un ordenador, hace funcionar el ordenador para realizar un ensayo de separación magnética como se ha descrito en este documento; y un sustrato físico que tiene una dirección a partir de la cual obtener el programa informático.

Además de los componentes anteriores, los kits objeto pueden incluir además instrucciones para poner en práctica los métodos objeto. Estas instrucciones pueden estar presentes en los kits objeto en una variedad de formas, una o más de las cuales pueden estar presentes en el kit. Una forma en la que estas instrucciones pueden estar presentes es como información impresa sobre un medio o sustrato adecuado, por ejemplo, una pieza o piezas de papel sobre las que se imprime la información, en el envasado del kit, en una inserción envasada, etc. Todavía otro medio sería un medio legible por ordenador, por ejemplo, CD, DVD, Blu-Ray, dispositivo de memoria legible por ordenador (por ejemplo, un disco duro o memoria flash), etc., sobre el que se ha grabado la información. Todavía otro medio que puede estar presente en una dirección de sitio web que puede ser utilizada a través de Internet para acceder a la información en un sitio eliminado. Cualquier medio conveniente puede estar presente en los kits.

Los siguientes ejemplos son presentados para proporcionar a los expertos en la técnica una exposición y descripción completas de cómo realizar y utilizar las realizaciones de la presente descripción. Se han realizado esfuerzos para asegurar precisión con respecto a números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.) pero se deberían tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular medio en peso, la temperatura está en grados Centígrados, y la presión está en o cerca de la atmósfera.

Experimentos

Se realizaron experimentos utilizando un dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra, de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción.

Materiales y Métodos

Dispositivo de Separación Magnética

El dispositivo de separación magnética incluye seis imanes permanentes (imán de barra de Neodimio (NdFeB) de tierras raras N45, de 5,08 cm x 1,27 cm x 1,27 cm (2 in. x 0,5 in. x 0,5 in.), CMS Magnetics, Inc.) y seis guías de campo magnético en forma de cuña. Las guías de campo magnético fueron realizadas de acero inoxidable y tenían un ángulo de vértice de 60 grados. Los bordes de vértice de cada una de las guías de campo magnético tenían perfiles lineales.

Los seis imanes permanentes fueron dispuestos en dos conjuntos de tres imanes. Cada conjunto de tres imanes tenía unas dimensiones totales de 15,24 cm x 1,27 cm x 1,27 cm (6 pulgadas x 0,5 pulgadas x 0,5 pulgadas). El primer y segundo conjuntos de imanes fueron posicionados directamente opuestos entre sí en el dispositivo. Cada imán permanente tenía una guía de campo magnético correspondiente fijada, y los bordes de vértice del primer conjunto de guías de campo magnético fueron opuestos directamente y paralelos a los bordes de vértice del segundo conjunto de guías de campo magnético. Durante el ensayo de separación, el espacio entre los bordes de vértice de los dos conjuntos de guías de campo magnético era de 1 mm. La densidad de flujo magnético en el espacio entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético fue medida para ser 1,1 Tesla y el gradiente de campo magnético era de 0,8 T/mm. El flujo magnético fue localizado en el espacio entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético con una dirección que va desde el primer conjunto de imanes al segundo conjunto de imanes.

Conducto

El conducto era una tubería de silicona con un diámetro exterior de 3 mm y un diámetro interior de 2 mm. La longitud efectiva del conducto era de 15,24 cm (6 pulgadas), lo que corresponde a la longitud del conjunto de imanes en contacto con el conducto.

Reactivos y Muestra para Separar Fragmentos Etiquetados Magnéticamente en una Muestra

Se utilizaron en los experimentos un Conjunto de Enriquecimiento de Linfocito CD4 T Humano BD Imag™ (Becton, Dickinson y Co.) que incluía una mezcla de ensayo de enriquecimiento de linfocito CD4 T de biotina humana y partículas magnéticas revestidas con estreptavidina. Las partículas magnéticas fueron partículas súper-paramagnéticas que tienen un diámetro medio que oscila desde 200 nm a 400 nm y una concentración de almacenamiento de 200 µg/ml. De acuerdo con el protocolo recomendado por el fabricante, se utilizaron 5 µl del cóctel por cada millón de células. Después de la incubación y el lavado, se utilizaron 5 µl de partículas magnéticas revestidas con estreptavidina por cada millón de células. La muestra experimental eran células mononucleares de sangre periférica humana (PBMCs) preparadas utilizando un Tubo de Preparación de Célula BD Vacutainer® CPT™ con Citrato de Sodio (Becton, Dickinson y Co.). Se suspendieron las PBMCs en 1 x solución salina tamponada con fosfato (PBS) con 0,5% de albúmina de suero bovino (BSA) y 20 mM EDTA en una concentración de 2 a 50 millones de células por ml. Los anticuerpos biotinilados en la mezcla de ensayo unidos a todas las poblaciones en PBMCs excepto los linfocitos CD4+ T. La estreptavidina que fue conjugada con partículas magnéticas en la mezcla de ensayo unida específicamente a biotina. Con el método de unión de dos operaciones anterior, todas las células en PBMCs excepto los linfocitos CD4+ T fueron etiquetadas magnéticamente por interacción de unión específica entre los PBMCs etiquetados con biotina y las partículas magnéticas revestidas con estreptavidina.

Se hizo fluir la muestra a través del conducto posicionado entre las guías de campo magnético en un dispositivo de separación magnética y se capturaron las células etiquetadas magnéticamente en el campo magnético en el espacio entre los bordes de vértice de las guías de campo magnético. Los linfocitos CD4+ T, que no fueron etiquetados magnéticamente, no fueron retenidos en el conducto y hechos pasar a través del conducto a un detector o tubo de recogida posicionado aguas abajo de los imanes. Cuando se terminó la separación, el conducto fue retirado de entre las guías de campo magnético y las células capturadas fueron descargadas con tampón bajo una presión superior. Debido a que las células reguladoras T humanas son una sub-población pequeña de linfocitos CD4+ T, la disminución magnética de linfocitos no CD4+ T es una forma de enriquecer las células reguladoras T en una muestra.

Condiciones de Operación

Las células etiquetadas magnéticamente y las células no etiquetadas son hechas pasar a través del dispositivo de separación magnética en un conducto accionado por una bomba peristáltica o presión de aire. El causal era de 200 µl/min a 400 µl/min. Por ejemplo, se utilizó un compresor de aire para aplicar 18 psi a la muestra en el conducto para conseguir un caudal de 400 µl/min en el conducto. Con de 2 a 50 millones de PBMCs en 1ml de volumen de muestra, la separación y recuperación fue completada en 10 minutos o menos. El experimento se realizó a temperatura ambiente. Opcionalmente, los PBMCs etiquetados fueron mantenidos en hielo antes de realizar el ensayo de separación.

Resultados

Tanto las células capturadas magnéticamente como las células no capturadas magnéticamente fueron analizadas con un citómetro de flujo después de la tinción fluorescente. Los resultados indicaron que el dispositivo de separación magnética tenía un 98% de eficiencia de separación y un 90% de las células reguladoras T fueron recuperadas.

Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo con propósitos de claridad de comprensión, es evidente para los expertos en la técnica a la luz de las enseñanzas de esta invención que se puedan hacer ciertos cambios y modificaciones a las mismas sin salirse del marco de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra, comprendiendo el dispositivo:
una primera fuente (1) de campo magnético;
- 5 una primera guía (2) de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un solo borde de vértice;
una segunda guía (2) de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un solo borde de vértice; y
un conducto (20) que comprende un canal (22) de flujo lineal que tiene un eje longitudinal que es paralelo a un eje longitudinal de la primera guía (2) de campo magnético y a un eje longitudinal de la segunda guía (2) de campo magnético,
- 10 en donde una o más de la primera y segunda guías (2) de campo magnético están configuradas para aumentar un flujo magnético procedente de la fuente (1) de campo magnético, los bordes de vértice de la primera y segunda guías (2) de campo magnético están sustancialmente alineados a través de y paralelos entre sí, y el dispositivo está configurado para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra
- 15 caracterizado por que la parte en forma de cuña de la primera guía (2) magnética tiene un solo borde de vértice en la dirección perpendicular al eje longitudinal de la primera guía (2) de campo magnético y por que la parte en forma de cuña de la segunda guía (2) magnética tiene un solo borde de vértice en la dirección perpendicular al eje longitudinal de la segunda guía (2) de campo magnético.
2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la primera y segunda guías (2) de campo magnético tienen perfiles en sección transversal que se estrechan hasta un punto o están redondeados en sus bordes de vértice.
- 20 3. El dispositivo de la reivindicación 1 o 2, en el que los bordes de vértice de la primera y segunda guías (2) de campo magnético tienen cada uno un perfil lineal o un perfil en diente de sierra.
4. El dispositivo según cualquiera de las reivindicación 1-3, en el que la primera y segunda guías (2) de campo magnético comprenden cada una un imán suave, y la fuente (1) de campo magnético comprende un imán permanente.
- 25 5. El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende además una segunda fuente (1) de campo magnético, en donde la primera guía (2) de campo magnético está dispuesta sobre una superficie de la fuente (1) de campo magnético enfrentada a la segunda guía (2) de campo magnético y está configurada para aumentar el flujo magnético procedente de la fuente (1) de campo magnético, y la segunda guía (2) de campo magnético y está dispuesta sobre una superficie de la segunda fuente (1) de campo magnético enfrentada a la primera guía (2) de campo magnético y está configurada para aumentar un flujo magnético procedente de la segunda fuente (1) de campo magnético.
- 30 6. El dispositivo según la reivindicación 5, en el que la primera fuente (1) de campo magnético y la segunda fuente (1) de campo magnético tienen vectores de magnetización alineados sustancialmente en la misma dirección.
7. Un sistema que comprende cualquiera de los dispositivos de las reivindicaciones 1-6, que comprende además un segundo dispositivo de separación magnética dispuesto aguas abajo del primer dispositivo de separación magnética.
- 35 8. Un sistema que comprende cualquiera de los dispositivos de las reivindicaciones 1-6, que comprende además un citómetro de flujo dispuesto aguas abajo de los uno o más dispositivos de separación magnética.
9. Un método para separar fragmentos etiquetados magnéticamente en una muestra, comprendiendo el método:
(a) posicionar en un dispositivo de separación magnética un conducto (20) configurado para dirigir un flujo de una muestra a través del dispositivo de separación magnética, comprendiendo el dispositivo de separación magnética:
(i) una fuente (1) de campo magnético;
- 40 (ii) una primera guía (2) de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un solo borde de vértice; y
(iii) una segunda guía (2) de campo magnético que tiene una parte en forma de cuña con un solo borde de vértice;
- 45 en donde una o más de la primera y segunda guías (2) de campo magnético están configuradas para aumentar un flujo magnético procedente de la fuente (1) de campo magnético, y el único borde de vértice de la primera guía (2) de campo magnético es proximal a y sustancialmente paralelo al único borde de vértice de la segunda guía (2) de campo magnético y

en donde el conducto (20) comprende un canal (22) de flujo lineal que tiene un eje longitudinal que es paralelo a un eje longitudinal de la primera guía (2) de campo magnético y un eje longitudinal de la segunda guía (2) de campo magnético; y

- 5 (b) aplicar un campo magnético para separar fragmentos etiquetados magnéticamente de fragmentos no etiquetados magnéticamente en la muestra.

10. El método de la reivindicación 9, que comprende además:

posicionar el conducto (20) lejos del campo magnético; y

recuperar los fragmentos etiquetados magnéticamente retenidos en el conducto (20).

- 10 11. El método de la reivindicación 10, en el que posicionar el conducto (20) lejos del campo magnético comprende uno o más de retirar el conducto (20) del dispositivo y mover la fuente (1) de campo magnético lejos del conducto (20).

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 9-11, que comprende además fijar específicamente una etiqueta magnética a fragmentos objetivo en la muestra antes de aplicar el campo magnético a la muestra.

13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en el que la muestra comprende una muestra biológica.

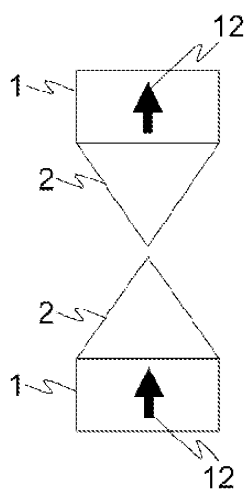


FIG. 1(a)

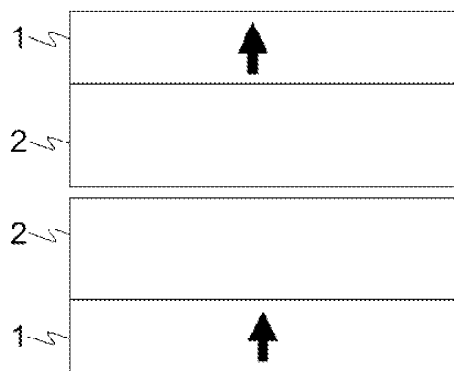


FIG. 1(b)

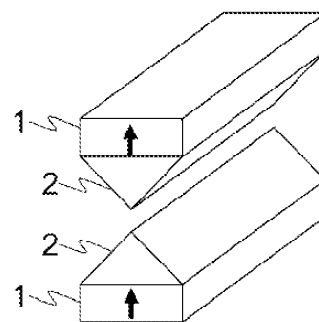
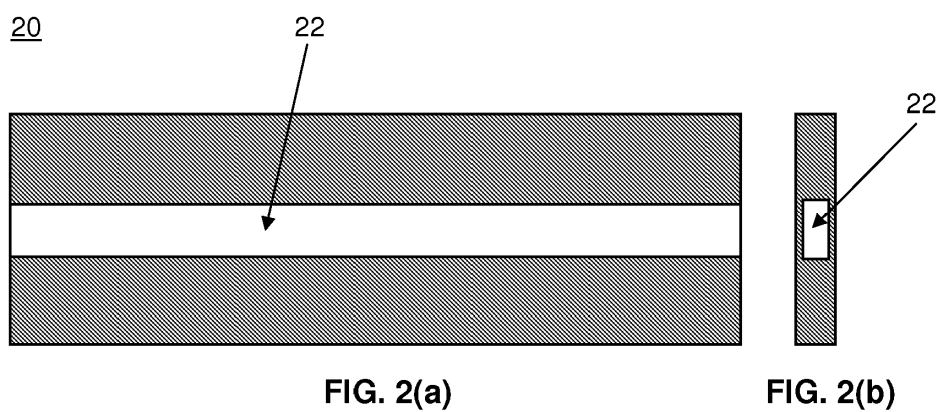


FIG. 1(c)



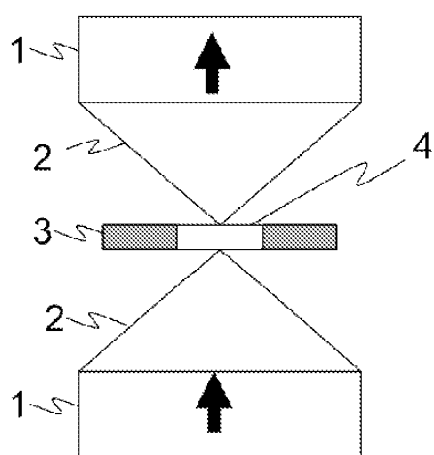


FIG. 3(a)

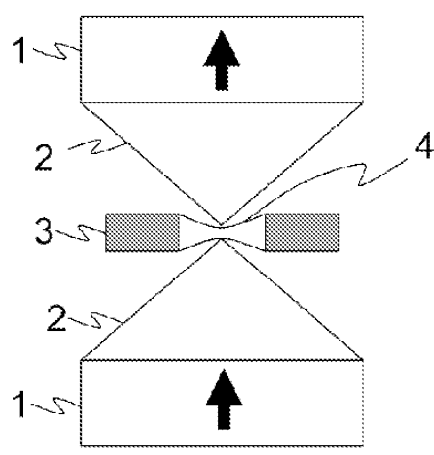


FIG. 3(b)

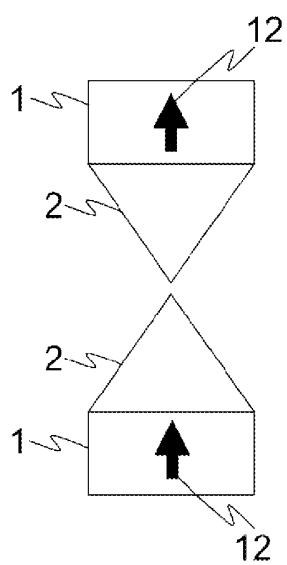


FIG. 4(a)

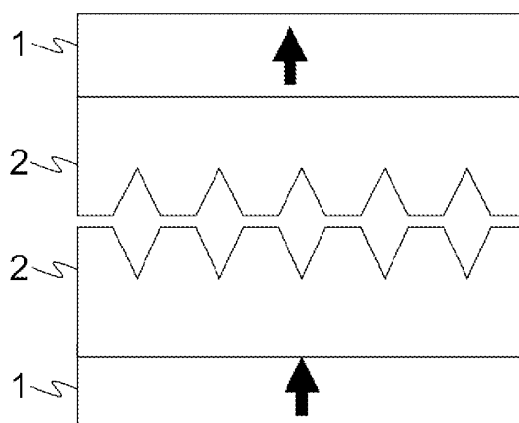


FIG. 4(b)

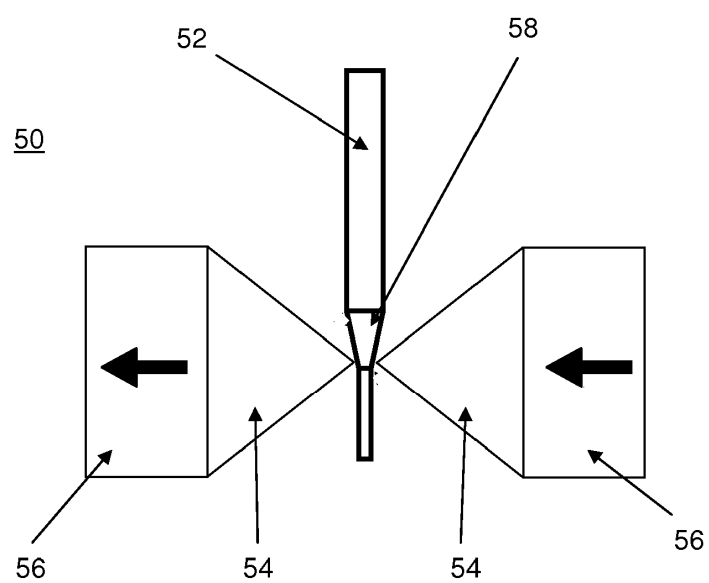


FIG. 5

FIG. 6(a)

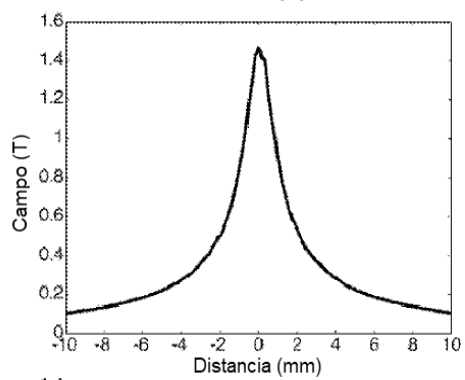


FIG. 6(b)

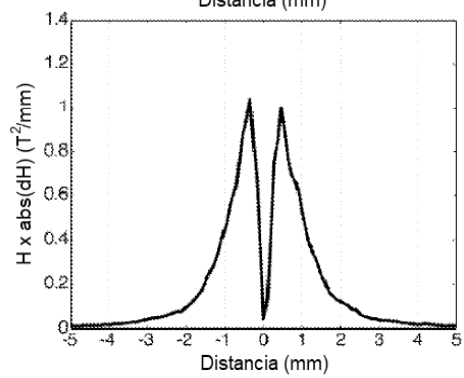
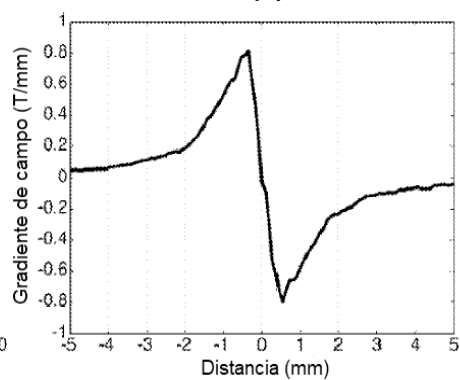


FIG. 6(c)

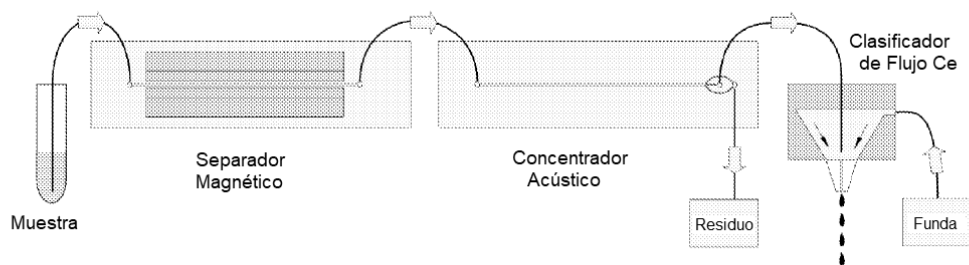


FIG. 7

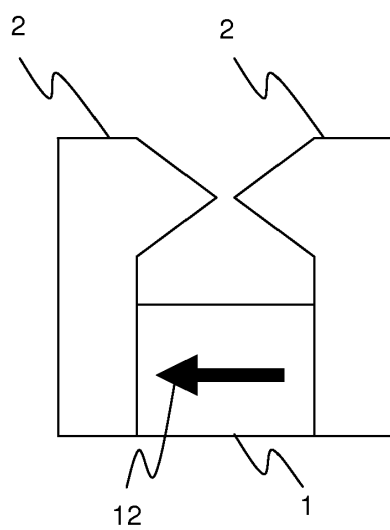


FIG. 8(a)

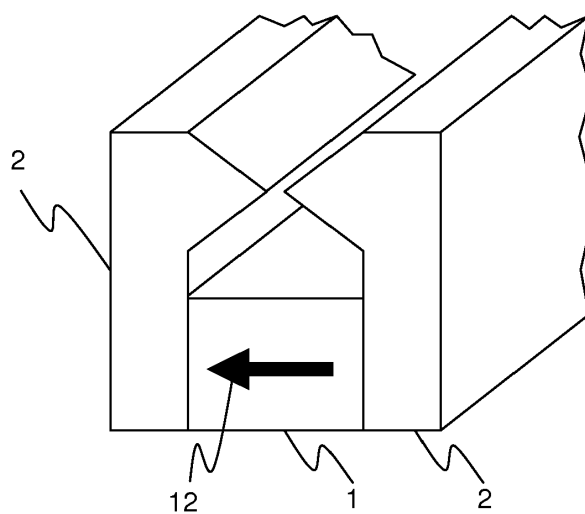


FIG. 8(b)

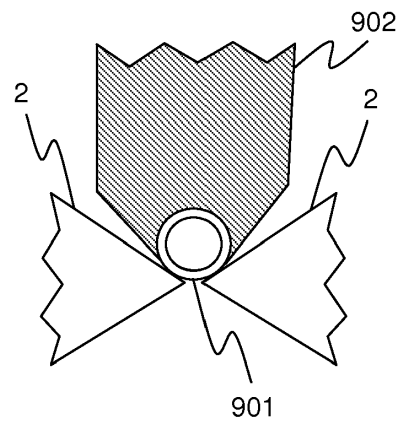
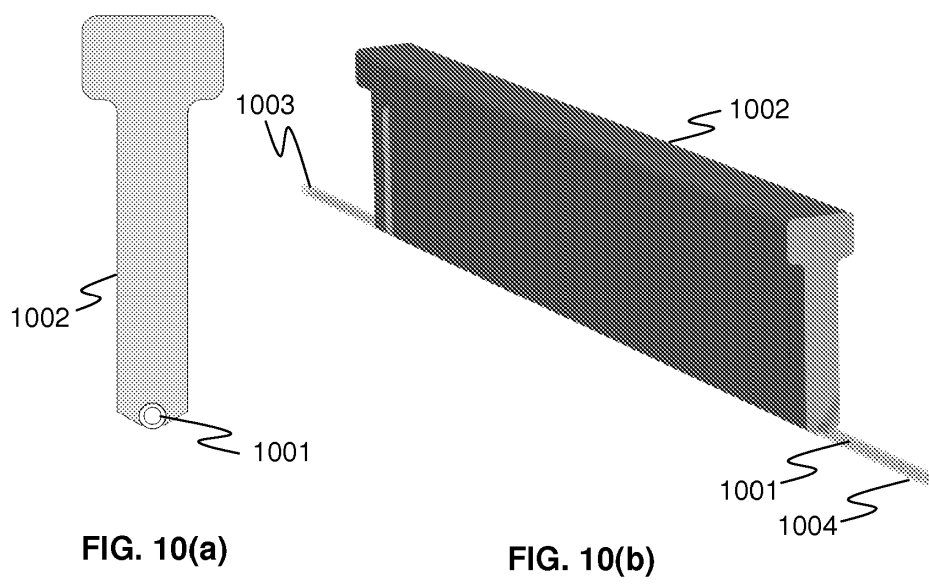


FIG. 9



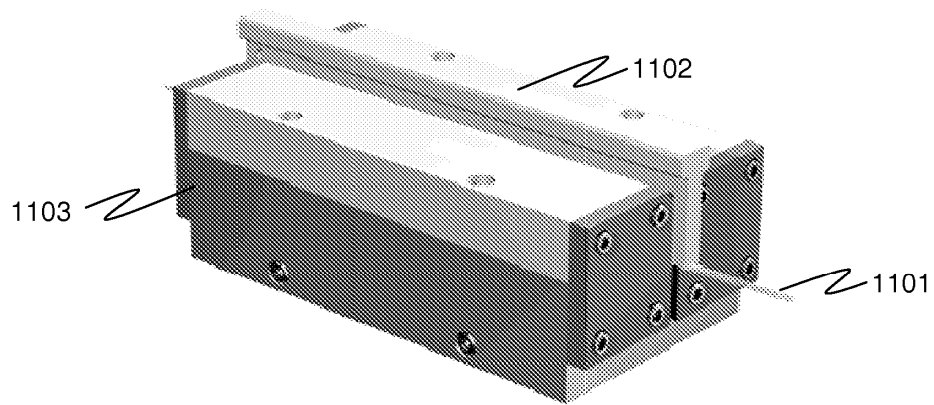


FIG. 11