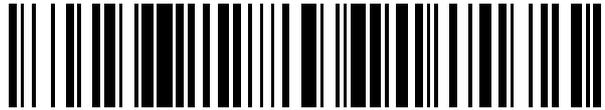


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 981**

21 Número de solicitud: 201731112

51 Int. Cl.:

B01L 7/00 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

13.09.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

13.03.2019

71 Solicitantes:

**ADMINISTRACIÓN GENERAL DE LA
COMUNIDAD AUTÓNOMA DE EUSKADI (100.0%)
C/ Donostia - San Sebastián, 1
01010 Vitoria-Gasteiz (Araba/Álava) ES**

72 Inventor/es:

**RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, Ana Belén;
GARCÍA BARCINA, María y
SARASOLA DÍEZ, Esther**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **ELEMENTO PROTECTOR DE MUESTRAS ACUOSAS EN TERMOCICLADORES**

57 Resumen:

Elemento protector de muestras acuosas en termocicladores, destinado a interponerse entre unos dropchips (1) contenedores de muestras acuosas dispuestos sobre la superficie de una bandeja (2) situada en el interior de un termociclador (3) de PCR y una tapa (4) de dicho termociclador (3). El elemento protector comprende una lámina inferior (5) de material con capacidad de aislamiento térmico, destinada a quedar enfrentada a los dropchips (1), con una primera ventana central (7), en un sector central y unas primeras ventanas perimetrales (8), y una lámina superior (6) de material con capacidad de resistencia a la deformación, destinada a interponerse entre la lámina inferior (5) y la tapa (4), lámina superior (6) que presenta a su vez una segunda ventana central (9) destinada a enfrentarse a la primera ventana central (7), y unas segundas ventanas perimetrales (10), destinadas a enfrentarse a las primeras ventanas perimetrales (8).

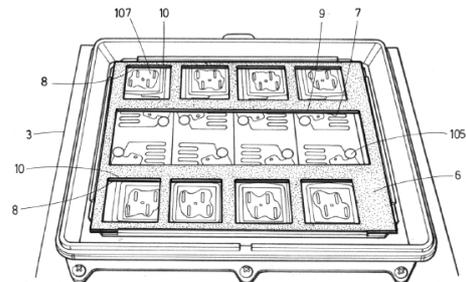


FIG.7

ELEMENTO PROTECTOR DE MUESTRAS ACUOSAS EN TERMOCICLADORES

DESCRIPCIÓN

5 **OBJETO DE LA INVENCION**

La presente invención se encuadra en el campo técnico de los aparatos de laboratorio para calentamiento o enfriamiento, más concretamente en el de aquellos aparatos específicamente adaptados para tratamiento de muestras de ácidos nucleicos, así como en el de los detalles constructivos adicionales de dichos aparatos, y se refiere en particular a una elemento protector de tipo laminar para recubrimiento y protección de chips contenedores de muestras acuosas de ácidos nucleicos en el interior de termocicladores.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Un termociclador, también conocido como máquina de PCR, es un dispositivo empleado en biología molecular que permite realizar los ciclos de temperaturas necesarios para una reacción en cadena de la polimerasa de amplificación de ADN. El modelo más común de termociclador consiste en un bloque de resistencia eléctrica que distribuye a través de una placa una temperatura homogénea durante unos tiempos preestablecidos, normalmente con unos rangos aproximados de temperatura de 4 °C a 96 °C.

Dado que las reacciones incubadas en el aparato son sobre soluciones acuosas, los termocicladores suelen incluir una placa de tapa calentada constantemente a aproximadamente 103 °C, para evitar la condensación del agua en las tapas de los tubos o contenedores de muestras donde ocurre la reacción, y así evitar que los solutos se concentren, lo que modificaría las condiciones óptimas para la enzima polimerizante y la termodinámica del apareamiento de los iniciadores.

30 Previamente a su introducción en el interior del termociclador, unas muestras líquidas con ADN, mezcladas convenientemente con un soluto, son introducidas en el contenedor de muestras para ser centrifugadas. Por otro lado, tras realizarse la amplificación de ADN en el interior del termociclador, se procede al escaneo y posterior lectura de la imagen

obtenida para la obtención e interpretación de los resultados.

Se conocen en el actual estado de la técnica unas placas de soporte contenedoras de muestras, también conocidas como dropchips (1), que están destinadas a albergar al menos dos muestras de material genético en estado líquido. Como se observa en la figura 1, cada placa de soporte comprende un cuerpo laminar (101) de geometría esencialmente rectangular y realizado en materiales plásticos, el cual presenta una cara superior (102) en la que se localizan dos módulos (103) para alojamiento de muestras.

Cada uno de dichos módulos (103) comprende a su vez una cámara de entrada (104) dotada de un orificio a través del cual se introduce la muestra acuosa diluida, en la que dicho orificio está recubierto por una membrana (105) de aireación. De dicha cámara de entrada parte un conducto (106) con forma de circuito, en cuyo interior las muestras se dividen en una pluralidad de gotas durante el proceso de centrifugado mediante emulsión.

El conducto (106) finaliza en una cámara de lectura (107) en cuyo interior se depositan las gotas formadas tras el centrifugado para realizar la reacción de PCR y, posteriormente, realizar la lectura de los resultados mediante escaneado con un escáner de microarray. Dicha cámara de lectura (107) debe por tanto quedar libre para poder realizar el escaneado.

Este tipo de dropchips (1) son normalmente colocados sobre la superficie de una bandeja situada en el interior del termociclador, de forma que sobre una única bandeja pueden disponerse hasta cuatro dropchips. Dicha bandeja los mantiene en una posición adecuada para que la tapa transmisora de calor propia del termociclador entre en contacto con los dropchips (1), de forma que en el interior de la cámara de lectura (107) se alcance la temperatura necesaria para que se produzca la reacción en cadena de la polimerasa que amplifica el ADN.

Como se ha indicado anteriormente, los termocicladores disponibles en el mercado disponen de una tapa plana que al ser cerrada queda en contacto directo con los tubos de las muestras. En el caso de los dropchips (1), el contacto es prácticamente completo con toda la superficie de su cara superior (102), lo cual no es beneficioso para el

rendimiento de la técnica, puesto que afecta físicamente a su integridad estructural pudiendo deformarse y a la propia muestra, lo cual puede incluso causar la evaporación de la misma. La curvatura que causa la pérdida de integridad estructural del dropchip (1) impide establecer un plano focal uniforme de toda la superficie para analizar los resultados mediante un lector óptico.

Experimentos llevados a cabo han demostrado que la forma más óptima de mantener el dropchip (1) sin curvatura es disponer de un elemento protector que deje libres las zonas del dropchip (1) correspondientes a la cámara de lectura (107) y la membrana (105) y que sea a la vez capaz de ejercer una presión sobre los bordes perimetrales del dropchip (1) para evitar que se curve después del termociclado.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

El objeto de la invención consiste en un elemento protector destinado a interponerse entre unos dropchips colocados sobre la superficie de una bandeja situada en el interior de un termociclador de PCR del tipo de los actualmente existentes y la tapa de dicho termociclador, para evitar que los dropchips se deformen y curven debido al calor transmitido directamente por la tapa, facilitando así la lectura de resultados mediante escaneo.

Para ello, el elemento comprende al menos dos cuerpos laminares de geometría y dimensiones similares superpuestos entre sí. El primer cuerpo laminar constituye una capa inferior del elemento protector, y está destinado a disponerse en contacto directo con los dropchips, por lo cual está realizado en un material con capacidad de amortiguación de la transmisión del calor, preferentemente silicona.

El segundo cuerpo laminar constituye una capa superior del elemento, y está destinado a disponerse en contacto directo con la tapa del termociclador, por lo que se realiza en un material con buena capacidad para resistencia estructural a deformaciones producidas por el calor, preferentemente latón.

Las principales ventajas que aporta el elemento protector radican en el hecho de que permite la ejecución de la técnica en cualquier termociclador, puesto que evita la

deformación del dropchip, permitiendo su lectura mediante escaneado, así como evita la evaporación de las muestras alojadas en el interior de dicho dropchip. Asimismo, el elemento protector así descrito permite realizar el termociclado simultáneo de hasta cuatro dropchips dispuestos sobre la bandeja del termociclador.

5

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

10

15

Figura 1.- Muestra una vista en planta de un dropchip de acuerdo con el actual estado de la técnica.

20

Figura 2.- Muestra una vista en planta de un despiece del elemento protector de acuerdo con una primera realización preferente, en la que se aprecian sus principales elementos constituyentes.

25

Figura 3.- Muestra una vista en planta de un despiece del elemento protector de acuerdo con una segunda realización preferente.

Figura 4.- Muestra una vista en perspectiva del interior de un termociclador de PCR.

Figura 5.- Muestra una vista en perspectiva del interior del termociclador con una pluralidad de dropchips dispuestos sobre la bandeja.

30

Figura 6.- Muestra la vista de la figura 5 con la capa inferior del elemento protector dispuesta sobre los dropchips.

Figura 7.- Muestra la vista de la figura 6 con la capa superior del elemento protector de la primera realización preferente dispuesta recubriendo a la capa inferior.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

Seguidamente se proporciona, con ayuda de las figuras 2 a 7 anteriormente referidas, una explicación detallada de un ejemplo de realización preferente del objeto de la presente invención.

El elemento protector de muestras acuosas en termocicladores que se describe está destinado a interponerse entre una cara superior (102) del cuerpo laminar (101) de unos dropchips (1) contenedores de muestras acuosas colocados sobre la superficie de una bandeja (2) situada en el interior de un termociclador (3) de PCR y una tapa (4) de dicho termociclador (3), para evitar que los cuerpos laminares (101) se deformen y curven debido al calor transmitido por la tapa (4), facilitando así la lectura de resultados mediante escaneo.

Para ello, el elemento protector está conformado por una lámina inferior (5), destinada a quedar enfrentada y en contacto directo con los dropchips (1) dispuestos sobre la bandeja (2), y una lámina superior (6), de geometría y dimensiones perimetrales esencialmente similares a las de la lámina inferior (5), a la cual se superpone, estando dicha lámina superior (6) destinada a quedar enfrentada y en contacto directo con la tapa (4) del termociclador (3). En una realización alternativa, las láminas inferior (5) y superior (6) se encuentran fijadas entre sí.

Como se observa en las figuras 2 y 3, la lámina inferior (5) tiene una geometría esencialmente poligonal, más concretamente rectangular, y unas dimensiones esencialmente coincidentes con las de la bandeja (2). Dicha lámina inferior (5) está realizada en materiales con capacidad de aislamiento térmico, para evitar un exceso de transferencia directa del calor procedente de la tapa (4) a los dropchips (1), lo cual podría producir deformaciones en el propio dropchip (1), así como llegar a evaporar las muestras en estado líquido alojadas en su interior. En la realización preferente aquí descrita, la lámina inferior (5) está realizada en silicona.

La lámina inferior (5) presenta asimismo una pluralidad de aberturas pasantes en forma de ventana. Una primera ventana central (7), localizada en la zona central de dicha lámina inferior (5) y de geometría esencialmente rectangular, evita el

recubrimiento de la zona del dropchip (1) en la que se localizan las membranas (105), lo cual permite la aireación de la muestra evitando de esa manera que pierdan su integridad e incluso que se evaporen. Unas primeras ventanas perimetrales (8), localizadas a lo largo de dos bordes perimetrales opuestos de la lámina inferior (5),
5 están destinados a evitar el recubrimiento de la cámara de lectura (107) del dropchip (1), para permitir la lectura directa de una muestra albergada en dicha cámara de lectura (107) por parte de un escáner.

En la realización preferente aquí descrita, las primeras ventanas perimetrales (8)
10 tienen una geometría esencialmente cuadrada y unas dimensiones esencialmente similares a las de la cámara de lectura (107) del dropchip (1), y la lámina inferior presenta un total de ocho primeras ventanas perimetrales (8), lo cual permite el recubrimiento de hasta cuatro dropchips (1). Estas ocho primeras ventanas perimetrales (8) se agrupan en una fila superior (801) y en una fila inferior (802)
15 respecto a la primera ventana central (7).

Las figuras 2 y 3 ilustran dos respectivas realizaciones de la lámina superior (6), la cual presenta una geometría y unas dimensiones esencialmente similares a las de la lámina inferior (5), sobre la cual está destinada a superponerse. La lámina superior (6)
20 está realizada en materiales con capacidad de resistencia a la deformación por temperatura, para evitar deformaciones debidas al calor transmitido por la tapa (4). En esta realización preferente, la lámina superior (6) está materializada en latón, aunque se contempla la opción de realizarla en diversos materiales metálicos o sus aleaciones.

25 La lámina superior (6) presenta asimismo una segunda ventana central (9), destinada a enfrentarse a la primera ventana central (7) de la lámina inferior (5) para permitir la entrada de aire a través de la membrana (105), así como presenta unas segundas ventanas perimetrales (10), destinadas a enfrentarse a las primeras ventanas perimetrales (8) de la lámina inferior (5) para permitir que quede un espacio entre la
30 tapa (4) y la cámara de la lectura (107), evitando de esa manera un exceso en la aplicación de presión sobre la misma y en consecuencia, impidiendo la evaporación de la muestra acuosa.

Las segundas ventanas perimetrales (10) se agrupan en una primera columna (1001) de ventanas paralelas superior a la segunda ventana central (9) y en una segunda columna (1002) de ventanas paralelas inferior a la segunda ventana central (9).

5 La figura 2 ilustra una primera realización preferente del elemento protector, en la cual las segundas ventanas perimetrales (10) tienen una geometría y unas dimensiones esencialmente cuadradas, similares a las de las primeras ventanas perimetrales (8) de la lámina inferior (5), a las cuales están destinadas a enfrentarse.

10 La figura 3 muestra una segunda realización preferente del elemento protector, en la cual las segundas ventanas perimetrales (10) son rectangulares, de forma que al superponerse con las primeras ventanas perimetrales (8) crean una especie de rejilla.

En la figura 4 se observa cómo una bandeja (2) se acopla al interior de un termociclador (3), la cual será posteriormente recubierta por la tapa (4) que le transmitirá calor. La bandeja (2) está concebida para alojar hasta cuatro dropchips (1), dispuestos tal y como se muestra en la figura 5, con sus respectivas cámaras de entrada (104) localizadas en la zona central de la bandeja (2), y las cámaras de lectura (107) dispuestas en las proximidades de dos bordes perimetrales opuestos de dicha bandeja (2).

15
20

En la figura 6 puede apreciarse cómo recubre la lámina inferior (5) del elemento protector a los dropchips (1) dispuestos sobre la bandeja (2), dejando libres las respectivas cámaras de lectura (107) y las membranas (105) de sus cámaras de entrada (104). Finalmente, en la figura 7 se aprecia cómo la lámina superior (6) se superpone a la lámina inferior (5) para estar en contacto directo con la tapa (4) del termociclador (3) cuando ésta se cierre sobre la bandeja (2) y los dropchips (1).

25

El elemento protector de muestras acuosas en termocicladores ejerce una presión uniforme y equilibrada sobre los dropchips (1) así como evita la transferencia directa de calor procedente de la tapa (4) del termociclador (3) durante el procedimiento de termociclado de las muestras alojadas en los módulos (103) de los dropchips (1), que evitan alteraciones en la muestra y en la integridad del propio dropchip (1), lo cual permite realizar una lectura correcta de los resultados obtenidos.

30

REIVINDICACIONES

1. Elemento protector de muestras acuosas en termocicladores destinado a interponerse entre unos dropchips (1) contenedores de muestras acuosas dispuestos sobre la superficie de una bandeja (2) poligonal situada en el interior de un termociclador (3) de PCR y una tapa (4) de dicho termociclador (3) transmisora de calor, para evitar la transferencia directa del calor de la tapa (4), en el que cada uno de dichos dropchips (1) presenta un cuerpo laminar (101) de materiales plásticos, con una cara superior (102) en la que se localizan dos módulos (103) para alojamiento de muestras, estando el elemento protector caracterizado porque comprende:

- una lámina inferior (5) de material con capacidad de aislamiento térmico y geometría y dimensiones esencialmente similares a los de la bandeja (2), destinada a quedar enfrentada y en contacto directo con los dropchips (1) dispuestos sobre dicha bandeja (2), lámina inferior (5) que presenta a su vez:

- una primera ventana central (7), localizada en un sector central de la lámina inferior (5), y

- unas primeras ventanas perimetrales (8), y

- una lámina superior (6) de material con capacidad de resistencia a la deformación por temperatura y de geometría y dimensiones esencialmente similares a los de la lámina inferior (5), destinada a interponerse entre la lámina inferior (5) y la tapa (4), lámina superior (6) que presenta a su vez:

- una segunda ventana central (9) destinada a enfrentarse a la primera ventana central (7), y

- unas segundas ventanas perimetrales (10), destinadas a enfrentarse a las primeras ventanas perimetrales (8).

2. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado porque la primera ventana central (7) y la segunda ventana central (9) tienen una geometría y unas dimensiones esencialmente similares.

3. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 caracterizado porque las primeras ventanas perimetrales (8) y las segundas ventanas perimetrales (10) tienen una geometría, unas dimensiones y una distribución esencialmente similares.

4. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 caracterizado porque las primeras ventanas perimetrales (8) se agrupan en una fila superior (801) y en una fila inferior (802) respecto a la primera ventana central (7).

5

5. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 caracterizado porque las segundas ventanas perimetrales (10) se agrupan en una primera columna (1001) de ventanas paralelas, superior a la segunda ventana central (9), y en una segunda columna (1002) de ventanas paralelas, inferior a la segunda ventana central (9).

10

6. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con la reivindicación 5 caracterizado porque las segundas ventanas perimetrales (10) son rectangulares.

15

7. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con la reivindicación 4 caracterizado porque las primeras ventanas perimetrales (8) son cuadradas.

20

8. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque la lámina inferior (5) está realizada en silicona.

25

9. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque la lámina superior (6) está realizada en latón.

10. Elemento protector de muestras acuosas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque la lámina inferior (5) y la lámina superior (6) están vinculadas entre sí de manera fija.

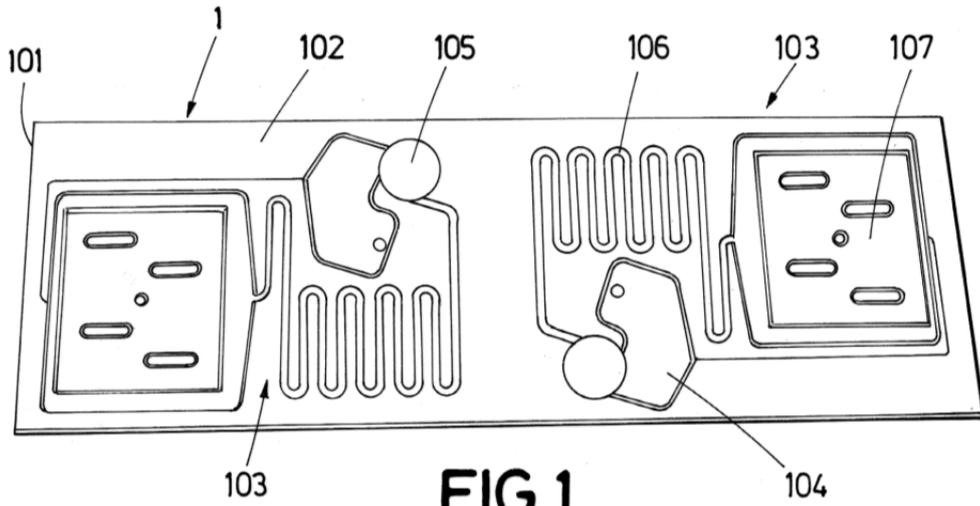


FIG. 1
ESTADO DE LA TÉCNICA

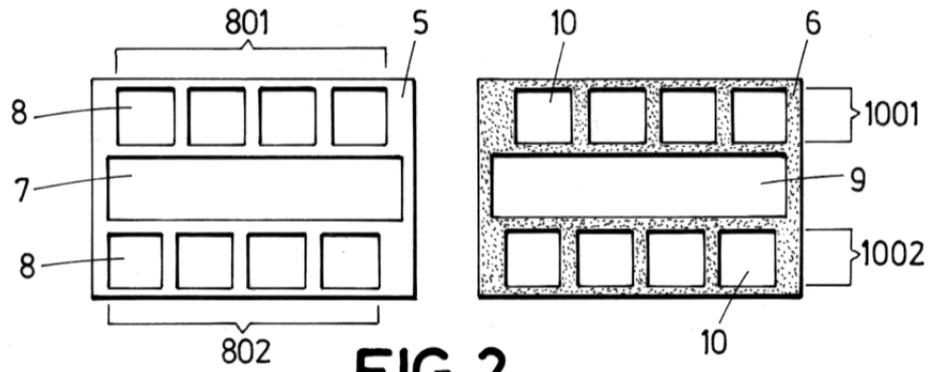


FIG. 2

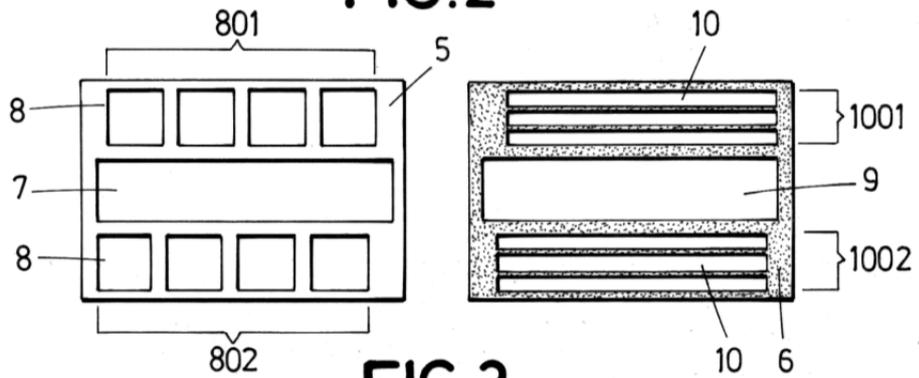


FIG. 3

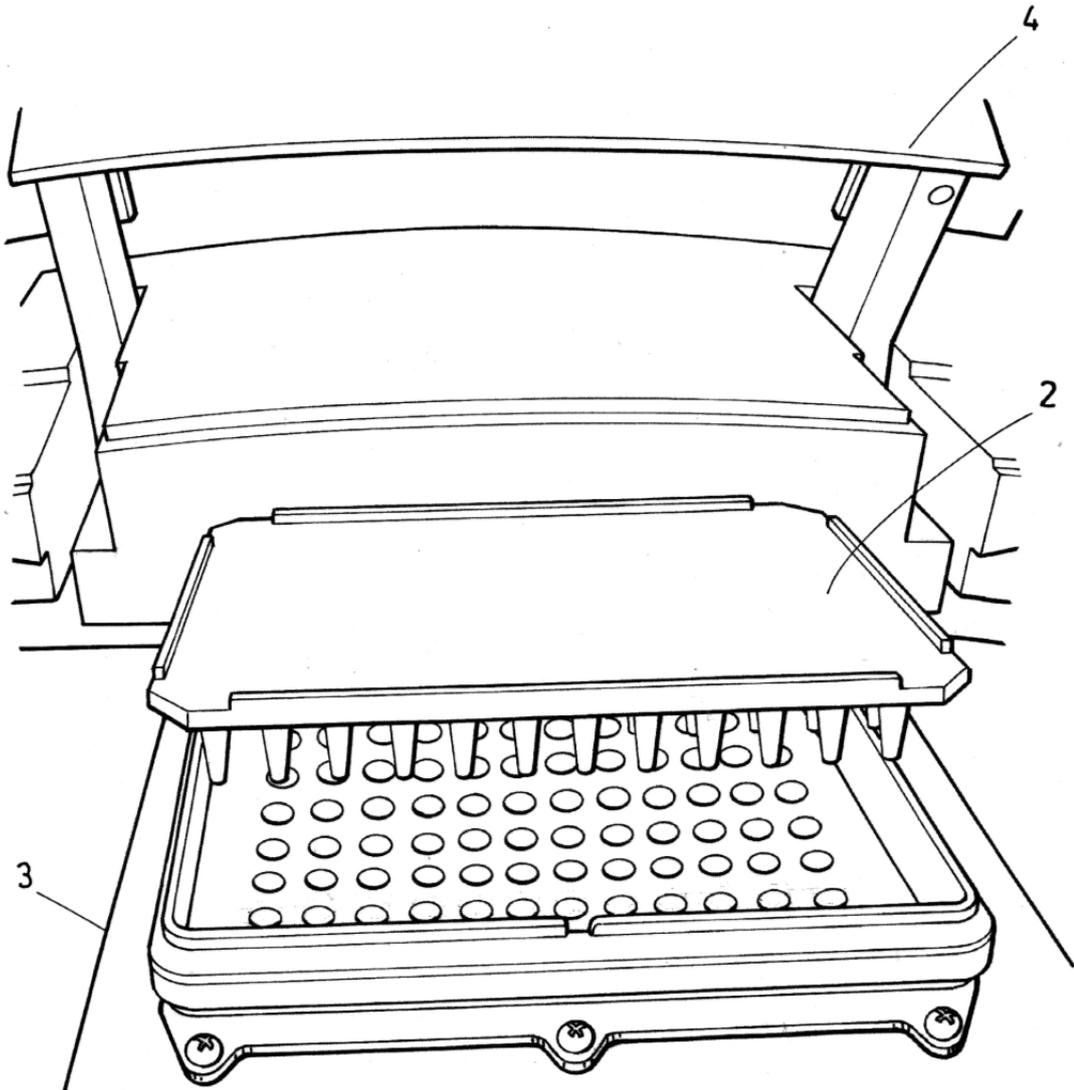


FIG.4

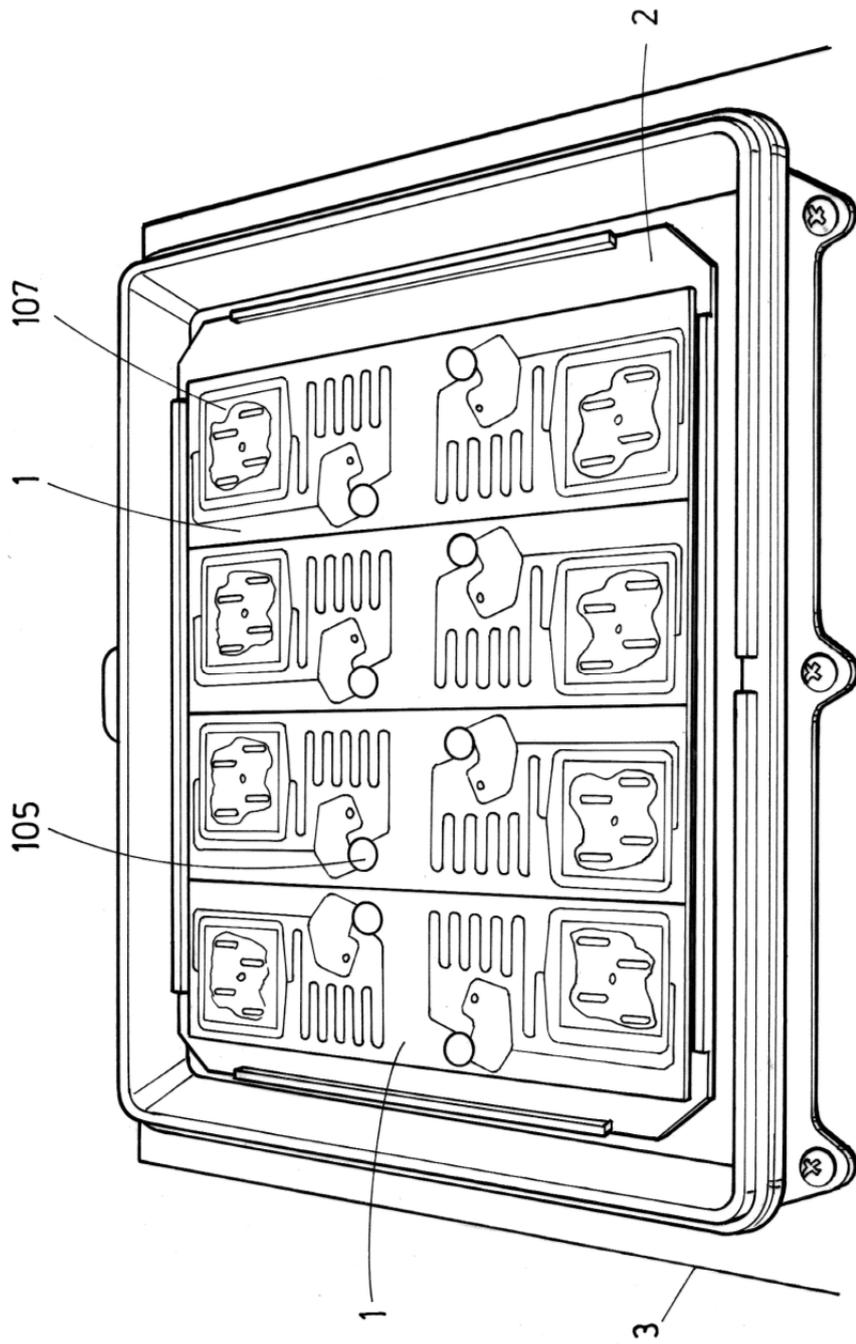


FIG.5

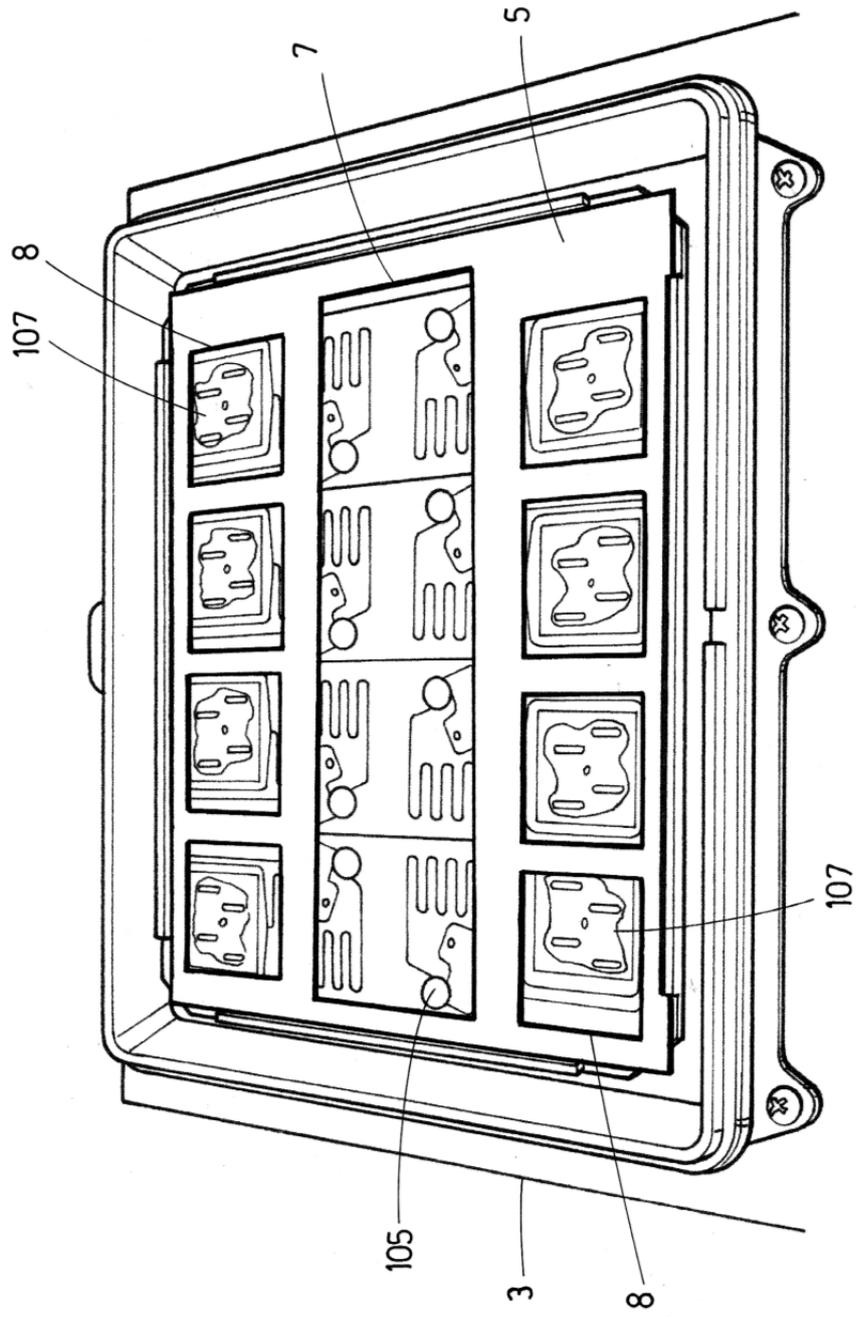


FIG.6

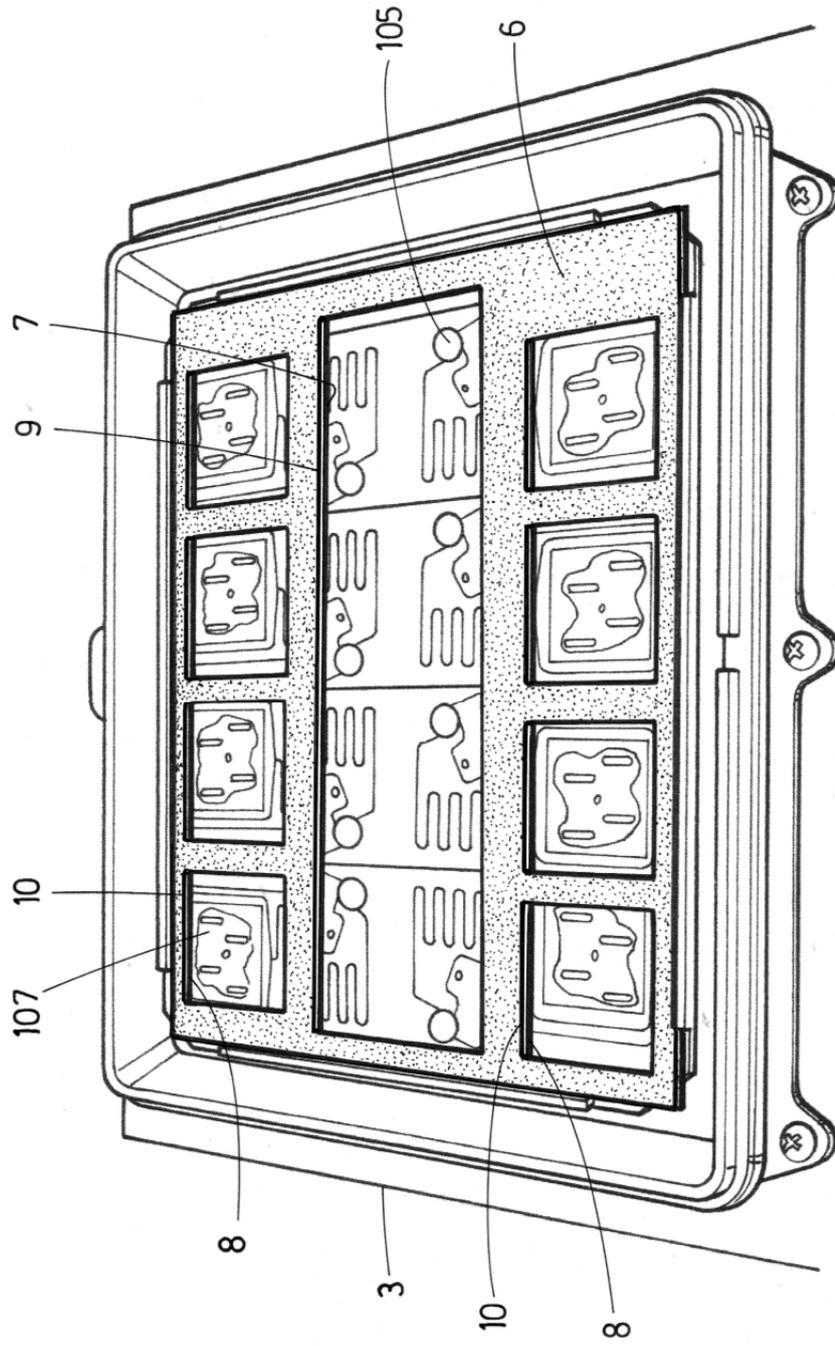


FIG.7



- ②① N.º solicitud: 201731112
 ②② Fecha de presentación de la solicitud: 13.09.2017
 ③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **B01L7/00** (2006.01)
B01L3/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2015190811 A1 (TACHIBANA HIROAKI et al.) 09/07/2015, reivindicaciones; resumen; figuras.	1
A	US 2009186404 A1 (KIM JAE-YOUNG et al.) 23/07/2009, reivindicaciones; resumen; figuras.	1
A	US 2006246580 A1 (KIM JIN-TAE et al.) 02/11/2006, reivindicaciones; resumen; figuras.	1
A	US 2009148912 A1 (TAKAGI FUMIO) 11/06/2009, reivindicaciones; resumen; figuras.	1
A	EP 1980321 A2 (HITACHI SOFTWARE ENG) 15/10/2008, reivindicaciones; resumen; figuras.	1

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
 Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
 A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
 P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
 E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
30.11.2018

Examinador
R. Reyes Lizcano

Página
1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

B01L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI