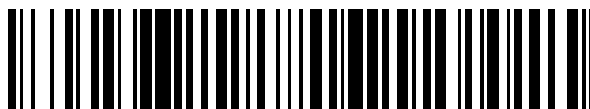


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 176**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B01L 3/02 (2006.01)

B01L 7/00 (2006.01)

C12Q 1/686 (2008.01)

G01N 35/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.11.2014** **PCT/IB2014/003058**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.05.2015** **WO15075560**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2014** **E 14843227 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018** **EP 3074131**

54 Título: **Celdillas con líquido compuesto que se pueden transportar**

30 Prioridad:

25.11.2013 US 201361908479 P

25.11.2013 US 201361908489 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.04.2019

73 Titular/es:

GENCELL BIOSYSTEMS LTD. (100.0%)
Ballycummin Avenue Raheen Business Park
Limerick, IE

72 Inventor/es:

BARRETT, BRIAN;
MCGUIRE, DAVID y
ROEVEN, ROBERT

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 711 176 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

Celdillas con líquido compuesto que se pueden transportar

Antecedentes de la invención

5 Los métodos actuales de procesamiento bioquímico, típicamente realizados en pocillos macroscópicos de placas multipocillo, tienen una serie de inconvenientes que se encaran mediante el uso de celdillas con líquido compuesto, o CLC. Las CLC se describen en las solicitudes provisionales de los EE. UU. con n.º de serie 61/344,434, presentada el 22 de julio de 2010, 61/470,515, presentada el 1 de abril de 2011, y 61/470,520, presentada el 1 de abril de 2011, y la solicitud de patente de los EE. UU. n.º 13/147,679, presentada el 3 de agosto de 2011. Las CLC tienen en consideración que los protocolos bioquímicos, tales como la amplificación de ácidos nucleicos, se realicen con cantidades mucho más pequeñas de reactivos de las que serían necesarias para el procesamiento en una placa multipocillo estándar. El uso de las CLC también facilita el procesamiento, ya que las CLC se pueden desplazar, combinar y dividir con relativa facilidad.

15 En la patente de los EE.UU. n.º 013/0236377 A1 se describe un aparato para realizar una reacción en una gotita y un método para utilizarla, con el fin de procesar una muestra biológica o química en la gotita. Este aparato descrito incluye un compartimento de procesamiento, un miembro para alimentación con un canal para la gotita. La descripción describe el atrapamiento de una gotita de medio celular por debajo de una contracción en el canal de alimentación de la gotita de una micromatriz, desde donde la gotita se dispensa en el compartimento de procesamiento y donde se mezcla con una matriz 3D que atrapa las células en la gotita. Por encima del medio se deposita una fase de un líquido que es inmiscible con el medio en el compartimento de procesamiento.

Compendio

20 Se describen dispositivos, sistemas y métodos para las CLC.

Breve descripción de los dibujos

En la figura 1 se muestra esquemáticamente un cartucho en el que se distinguen numerosos orificios ciegos.

En la figura 2 se muestra esquemáticamente un corte transversal del cartucho vacío de la figura 1.

25 En la figura 3 se muestra esquemáticamente un corte transversal del cartucho de la figura 1, con aceites y reactivos encerrados herméticamente en cada orificio ciego, e incluye un primer plano de un orificio.

En la figura 4 se muestra esquemáticamente una placa hecha de numerosos cartuchos tales como el mostrado en la figura 1, que se muestra sin cierre protector por claridad.

30 En la figura 5 se muestra esquemáticamente la placa de la figura 4 con cierres protectores que cubren los orificios ciegos.

En la figura 6 se describe una realización de un sistema de la invención. El aceite A y el aceite B están colocados en un conducto, que está abierto en la parte superior y en la inferior. Se puede cerrar cualquiera de las dos aberturas. El conducto puede tener la forma de un cono truncado. El aceite B tiene mayor densidad que el aceite A y los aceites son inmiscibles. Se puede añadir una muestra al conducto. La muestra tiene una densidad intermedia entre la densidad del aceite A y la densidad del aceite B. Además, la muestra es sustancialmente inmiscible tanto con el aceite A como con el aceite B. La muestra, el aceite A y el aceite B se pueden añadir al conducto en cualquier orden.

40 En la figura 7 se describe un método para dispensar la muestra desde el sistema. El aceite B se dispensa desde el sistema a través de la abertura inferior del conducto. Un volumen de la muestra se dispensa desde el sistema a través de la abertura inferior del conducto. Esto se puede conseguir mediante la aplicación de presión positiva en la abertura superior del conducto. El aceite B se devuelve al conducto. Esto se puede llevar a cabo con la aplicación de presión negativa en la parte superior del conducto, mientras que la parte inferior del conducto se pone en contacto con el aceite B.

45 Obsérvese que las figuras 6 y 7 muestran que cada menisco es convexo, a saber, que se abomba hacia arriba hasta el máximo central, como sería el caso de un aceite típico en un recipiente de polipropileno. Si el recipiente y/o el líquido se constituyeran de manera diferente y tuvieran propiedades de humectación relativas diferentes, el menisco podría ser cóncavo, a saber, abombado hacia abajo hasta un mínimo en el centro, como sería el caso para muchos aceites en un recipiente que tiene una superficie interna de politetrafluoroetileno.

Descripción detallada

50 Las CLC están formadas en términos generales por una combinación de tres líquidos sustancial y mutuamente inmiscibles que tienen tres densidades diferentes. En el fondo se encuentra un líquido de vehículo, el más denso de los tres, y en la parte superior se encuentra un líquido de encapsulación, el menos denso. Entre el líquido de vehículo y el líquido de encapsulación se encuentra el líquido que está contenido en la CLC, típicamente acuoso, que puede

ser, por ejemplo, una muestra biológica o un reactivo, también u otro elemento prescrito de un protocolo bioquímico. Esta disposición general de tres líquidos mutuamente inmiscibles puede aplicarse ventajosamente en otras situaciones que no sean la manipulación para el uso en un protocolo bioquímico, por ejemplo, la conservación en un orificio ciego en un cartucho que se puede transportar, o la conservación en, y dispensación desde, un dispositivo que tiene un orificio perforado, p. ej., un conducto con los extremos abiertos.

En la figura 1 se muestra esquemáticamente un cartucho 1 en el que se distinguen numerosos orificios ciegos. Los orificios ciegos son colineales, dispuestos en una línea a lo largo de la longitud del cartucho 1. Un primer orificio ciego 2 está colocado en un extremo del cartucho 1. En la figura 2 se muestra el corte transversal del mismo cartucho 1. Tal y como se muestra, los orificios están vacíos. En la figura 3 se muestra el mismo corte transversal del mismo cartucho 1 que la figura 2, pero en este caso los orificios se muestran llenos del líquido. En algunas realizaciones, uno o varios orificios contendrán tres líquidos que tienen tres densidades o gravedades específicas diferentes, y los tres líquidos son mutuamente inmiscibles. En el fondo del orificio 2 se encuentra un líquido 3 de alta densidad que se muestra con un rayado inclinado, por ejemplo, Fluorinert FC-40 (aceite de fluorocarburo) que tiene una densidad de aproximadamente 1,9 g/cm³. Encima del líquido de alta densidad 3 está un líquido 4 de densidad baja mutuamente inmiscible que se muestra con un rayado con la inclinación contraria, por ejemplo fenilmetilpolisiloxano (aceite de silicona) que tiene una densidad de aproximadamente 0,92 g/cm³. Entre estos dos aceites se encuentra un elemento 5 acuoso que tiene una densidad de aproximadamente 1,0 g/cm³. Ambos aceites y el elemento acuoso son sustancial y mutuamente inmiscibles, lo que da al contenido de cada orificio muchas de las funcionalidades de una CLC.

En algunas realizaciones uno o varios orificios se pueden dejar totalmente vacíos, mientras que otros incluyen uno o varios líquidos, p. ej., aceites. En algunas realizaciones, algunos orificios o todos los orificios pueden incluir solo los dos aceites, antes de la adición de un elemento acuoso. Los orificios restantes pueden contener ambos aceites y los elementos acuosos que contienen los reactivos necesarios para llevar a cabo un protocolo bioquímico, por ejemplo, un ensayo para detectar la presencia de un agente biológico concreto, o los reactivos necesarios para amplificar ácidos nucleicos por PCR. En cualquier caso, un cartucho sellado herméticamente (tal y como se explica más abajo) puede estar equipado con una cantidad del tamaño de la CLC de los reactivos necesarios incluidos en uno o más orificios. Ya que la cantidad de reactivo que se necesita es tan pequeña, el coste de tal cartucho se puede mantener bajo. La presencia de dos aceites mutuamente inmiscibles que rodean una solución acuosa también da estabilidad a la solución acuosa, ya que los elementos acuosos están encapsulados de manera segura en el equivalente de una CLC inmovilizada.

En algunas realizaciones, algunos o todos los componentes acuosos o reactivos están en seco, p. ej., liofilizados, para mejorar la estabilidad y el transporte.

En las figuras 4 y 5 se muestran una serie de cartuchos, como los que se muestran en las figuras 1 a 3, ensamblados entre sí para generar una única placa 6. Cada fila de orificios corresponde a un solo cartucho. La placa puede estar hecha de cartuchos anteriormente independientes que se han fijado unos a otros, o la placa puede ser una sola pieza formada íntegramente (en tal realización, la descripción en la presente memoria de las características de un cartucho también se aplica a una fila o sección de una placa unitaria o formada íntegramente). En la figura 5 se muestra la placa sellada herméticamente. El primer orificio en cada cartucho está sellado herméticamente con una película 7 retirable. En esta realización, la película 7 está diseñada para que el usuario la abra con la mano, y las muestras se han de insertar en la primera fila de orificios, a saber, el primer orificio de cada cartucho. El resto de los orificios están cubiertos con un único cierre protector 8. En este caso, el cierre protector 8 es una película perforable. Cuando se utiliza un cartucho 1 o una placa 6, un sistema de manipulación de líquidos puede acceder a los líquidos que están dentro de los orificios mediante la perforación del cierre protector 8. Las posiciones de los orificios por debajo de la película 7 y del cierre protector 8 se muestran con líneas de puntos. Aunque el primer orificio se muestra en un extremo de la placa/cartucho, se podría colocar en cualquier lugar. Cualquier orificio podría ser designado el orificio en el que se recibirá una muestra o se le podría considerar el «primer» orificio. El cierre protector puede ser de cualquier material idóneo, p. ej., lámina metálica o película polimérica o combinaciones de los mismos.

Un cartucho de un solo uso puede incluir un cierre protector y delimitar numerosos orificios ciegos colineales, en donde en cada orificio ciego se distingue una abertura, en donde al menos uno de los muchos orificios ciegos contiene dos líquidos mutuamente inmiscibles, los cuales son inmiscibles con agua, en donde uno de los dos líquidos mutuamente inmiscibles tiene una gravedad específica mayor que la del agua y el otro de los dos líquidos mutuamente inmiscibles tiene una gravedad específica menor que la del agua. El cierre protector puede cubrir la abertura definida por el al menos un orificio ciego, con lo que se hace que el interior del orificio ciego sea sustancialmente estanco a los líquidos a los dos líquidos mutuamente inmiscibles.

En algunas realizaciones, los orificios ciegos contienen los dos mismos líquidos mutuamente inmiscibles. En algunas realizaciones, al menos un orificio ciego contiene solo los dos líquidos mutuamente inmiscibles.

En algunas realizaciones, el cartucho puede tener un primer orificio ciego que (a) está colocado en un extremo de la línea de los numerosos orificios ciegos, y (b) está sellado herméticamente con una porción del cierre protector adaptado para ser retirado a mano por un usuario humano, con lo que se queda expuesta la abertura del primer orificio ciego. En algunas realizaciones, el primer orificio ciego contiene sólo dos líquidos mutuamente inmiscibles. En algunas realizaciones, al menos uno de los numerosos orificios ciegos que no son el primer orificio ciego contiene un reactivo

que está en una solución acuosa, en donde el reactivo es un elemento de un protocolo bioquímico predeterminado. En algunas realizaciones, todos los reactivos necesarios para llevar a cabo el protocolo bioquímico predeterminado están contenidos por separado en los numerosos orificios ciegos que no son el primer orificio ciego. En algunas realizaciones, el protocolo biológico predeterminado es la amplificación de ácidos nucleicos por PCR. En algunas realizaciones, al menos una porción del cierre protector es una película perforable que cierra la abertura definida por al menos un orificio ciego. Optativamente, uno o varios de tales reactivos están secos, y algunos orificios pueden estar vacíos para permitir su mezcla o la eliminación de desechos.

En algunas realizaciones, la placa puede incluir numerosos cartuchos, en donde la placa está formada por la conexión u otra integración de numerosos cartuchos, en donde los cartuchos están dispuestos en la placa de tal manera que cada uno de los numerosos orificios ciegos colineales es paralelo a los otros. Como alternativa, tal placa puede estar formada con los orificios ciegos en cualquier otra distribución, p. ej., mediante el uso de cartuchos que tienen otras configuraciones. Tal y como se señaló, la placa también puede ser una pieza unitaria única.

Una realización del sistema de la invención puede incluir tal cartucho o placa; un receptor de cartucho o de placa dimensionado y conformado para acoplarse al cartucho o a la placa; un sistema de manipulación de líquidos capaz de perforar la película perforable que cierra cualquiera de los numerosos orificios ciegos mediante la inserción de un conducto de líquidos dentro de cualquiera de los orificios ciegos cuando el cartucho se ha acoplado al receptor de cartuchos; y un controlador conectado operativamente al sistema de manipulación de líquidos. El controlador puede estar programado para, por ejemplo, hacer que el sistema de manipulación de líquidos: forme una celdilla con líquido compuesto en uno de los orificios ciegos; y opere detrás de la celdilla con líquido compuesto y de los reactivos para llevar a cabo el protocolo bioquímico predeterminado.

En algunas realizaciones, el sistema incluye un termociclador. En algunas realizaciones, el sistema incluye una unidad de enfriamiento. En algunas realizaciones, el sistema incluye un módulo de excitación y detección de la fluorescencia óptica. En algunas realizaciones, el sistema incluye un tubo capilar. En algunas realizaciones, el sistema incluye un módulo de separación por magnetismo.

Un método para llevar a cabo un protocolo bioquímico puede incluir el suministro de un sistema para utilizar un cartucho o placa según está descrito más arriba; la inserción del cartucho o de la placa en el receptor; el depósito de una muestra biológica en un primer orificio ciego (bien antes o bien después de introducir el cartucho o placa en el receptor); la activación del controlador de tal manera que el controlador haga que el sistema de manipulación de líquidos: forme una celdilla con líquido compuesto que contiene una solución acuosa de la muestra biológica, y opere después de la celdilla con líquido compuesto y los reactivos para llevar a cabo el protocolo biológico predeterminado en la muestra biológica.

Además de los sistemas en los que las muestras biológicas o reactivos están almacenados en un orificio ciego, esta descripción también da a conocer en algunas realizaciones, sistemas y métodos para el almacenamiento y dispensación de una muestra desde un conducto tal como un orificio perforado. El conducto puede tener flujo en cualquier dirección y está controlado por un controlador. En determinadas realizaciones, una muestra, tal como un reactivo o una biomolécula, está suspendida entre dos líquidos, tales como aceites. En determinadas realizaciones, se utiliza la muestra según sea necesario y a continuación se resuspende una vez que se dispensa el volumen de muestra que sea necesario. En determinadas realizaciones, si se necesitan numerosas unidades de la muestra, la muestra se puede resuspender después de dispensar cada unidad, o después de dispensar una serie de unidades, o después de dispensar todas las unidades de muestra que sean necesarias.

Realizaciones ejemplares

En determinadas realizaciones, la invención hace referencia a un sistema que incluye un conducto, una bomba, un primer líquido (p. ej., líquido A), un segundo líquido (p. ej., líquido B) y una muestra. En el conducto se pueden distinguir una abertura superior y una abertura inferior, y el conducto puede incluir una superficie interna dispuesta entre la abertura superior y la abertura inferior. El primer líquido, la muestra, y el segundo líquido pueden depositarse dentro del conducto entre la abertura superior y la abertura inferior. El primer líquido, el segundo líquido y la muestra pueden ser sustancial y mutuamente inmiscibles. El primer líquido puede ser menos denso que la muestra y la muestra puede ser menos densa que el segundo líquido. La muestra se puede depositar entre el primer líquido y el segundo líquido, de tal manera que todo el área de la superficie de la muestra está en contacto fuido sólo con el primer líquido, con el segundo líquido o con la superficie interna del conducto. En algunas realizaciones, se puede configurar una bomba para que aplique presión positiva, presión negativa o ninguna presión externa a una posición del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el sistema consiste esencialmente en un conducto, tal como un orificio perforado, un primer líquido (p. ej., líquido A), un segundo líquido (p. ej., líquido B) y una muestra, y, optativamente, una bomba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el sistema incluye medios para sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el sistema incluye un medio para sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura superior del

conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la muestra está en una solución acuosa.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la muestra incluye un reactivo. Los ejemplos de reactivos incluyen los que son útiles para la preparación de perlas con secuencias, pirosecuenciación, ligación de ácidos nucleicos y reacción en cadena de la polimerasa. En determinadas realizaciones, el reactivo está sobre una perla.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la muestra incluye una biomolécula. Los ejemplos de biomoléculas incluyen (y sin limitación) células, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, sangre, saliva y material orgánico. En determinadas realizaciones, la biomolécula está sobre una perla.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la muestra incluye más de un reactivo, o más de una biomolécula, o un reactivo y una biomolécula.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es inmiscible con el segundo líquido.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es inmiscible con la muestra.

20 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido es inmiscible con la muestra.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido o el segundo líquido es un aceite.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es un aceite.

25 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido es un aceite.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde los aceites utilizados para generar fases inmiscibles, por ejemplo, el primer líquido o el segundo líquido, puede incluir, y sin limitarse a ellos, aceite de silicona, aceite de perfluorocarburo y aceite de perfluoropoliéter.

30 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde los valores típicos de densidad para los líquidos implicados oscilan dentro de los valores de aproximadamente 1 300 a aproximadamente 2 000 kg/m³ para el segundo líquido, de aproximadamente 700 a aproximadamente 990 kg/m³ para el primer líquido, y de aproximadamente 900 a aproximadamente 1 200 kg/m³ para la muestra. Un ejemplo de uno de tales conjuntos de líquidos y densidades de funcionamiento se presenta en la presente memoria, pero no se limita a estos; el segundo líquido es Fluorinert FC-40 (aceite de fluorocarburo) con una densidad de aproximadamente 1 900 kg/m³; el primer líquido es fenilmetilpolisiloxano (aceite de silicona) con una densidad de aproximadamente 920 kg/m³; y la muestra es una solución acuosa de reactivos para PCR con una densidad de aproximadamente 1 000 kg/m³.

35 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido es un aceite de amina perfluorada.

40 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es una solución de un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y un aditivo de polisorbato. Los aditivos tienen un número de equilibrio hidrófilo-lipófilo en el margen de 2 a 8. El número de equilibrio hidrófilo-lipófilo total combinado de los aditivos está en el margen de 2 a 8. Los ejemplos de aditivos de polisorbato son monooleato de sorbitano, triestearato de sorbitano y polisorbato 20, pero no se limitan a ellos. Estos aditivos dentro

45 del primer líquido oscilan entre el 0,001% y el 10%.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la muestra es una suspensión de partículas sólidas en medio acuoso, el primer líquido es un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y el segundo líquido es un aceite con una base de fluorocarburo.

50 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la muestra es un medio acuoso en aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano, el primer líquido es un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano, y el segundo líquido es un aceite con una base de fluorocarburo.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria,

en donde el conducto está orientado sustancialmente en vertical.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto está orientado en vertical.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto es un tubo capilar.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto tiene la forma de un cono truncado.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto tiene la forma de un cono truncado; y la abertura superior del conducto tiene un diámetro interno que es más grande que el diámetro interno de la abertura inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto es una punta de pipeta.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto está hecho de un polímero, cerámica o metal.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto incluye una superficie hidrófoba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto es un tubo capilar de polímero, tal como un tubo capilar de politetrafluoroetileno (PTFE).

20 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto es desechable.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto es reutilizable.

25 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto tiene un diámetro interno que está típicamente dentro de un margen de aproximadamente 10 μm a aproximadamente 10 mm de diámetro.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el diámetro interno del conducto es variable desde el fondo del conducto hasta la parte superior del conducto, a lo largo de la longitud del conducto.

30 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el conducto tiene un grosor de la pared de al menos aproximadamente 10 μm o más.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la forma interna del conducto puede ser (y no está necesariamente limitada a ellos) un perfil que es redondo, cónico, cuadrado, ovalado, rectangular, que tiene una superficie ondulada, que tiene al menos una superficie plana, o que tiene características que le mejoran la superficie.

35 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la forma externa del conducto puede ser (y no está necesariamente limitada a ellos) un perfil que es redondo, cónico, cuadrado, ovalado, rectangular, que tiene una superficie ondulada, que tiene al menos una superficie plana, o que tiene características que le mejoran la superficie.

40 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la bomba es una bomba al vacío.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la bomba es una perilla para pipeta.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la bomba es un medio para aplicar presión positiva.

45 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la bomba es un medio para aplicar presión negativa.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde la bomba está operativamente conectada a la parte superior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria,

en donde la bomba está operativamente conectada a la parte inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el sistema también incluye un controlador.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el controlador está operativamente conectado a la bomba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde numerosos conductos están ensamblados unos con otros en un casete.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde numerosos conductos están ensamblados unos con otros en una placa.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el sistema está a aproximadamente 0 °C, aproximadamente 3 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 10 °C, aproximadamente 15 °C, aproximadamente 20 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C, aproximadamente 40 °C, o aproximadamente 45 °C.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los sistemas descritos en la presente memoria, en donde el sistema es una micropipeta.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para almacenar una muestra en un sistema, en donde el método incluye:

proporcionar un conducto, una bomba, un primer líquido, un segundo líquido y una muestra, en donde

20 el conducto tiene una abertura superior, una abertura inferior y una superficie interna dispuesta entre la abertura superior y la abertura inferior;

el primer líquido es sustancialmente inmiscible con el segundo líquido;

el primer líquido es sustancialmente inmiscible con la muestra;

el segundo líquido es sustancialmente inmiscible con la muestra;

el primer líquido es menos denso que la muestra;

25 la muestra es menos densa que el segundo líquido; y

la bomba está configurada para aplicar presión positiva, presión negativa o ninguna presión externa en una localización del conducto; y

30 cargar en el conducto, en cualquier orden, el primer líquido, el segundo líquido y la muestra, de tal manera que el primer líquido, la muestra y el segundo líquido están depositados dentro del conducto entre la abertura superior y la abertura inferior, y la muestra está depositada entre el primer líquido y el segundo líquido de tal manera que toda el área de la superficie de la muestra esté en contacto fluido sólo con el primer líquido, el segundo líquido o la superficie interna del conducto.

35 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema consiste esencialmente en un conducto, una bomba, un primer líquido (p. ej., líquido A), un segundo líquido (p. ej., líquido B) y una muestra.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema incluye un medio para sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura inferior del conducto.

40 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que además incluye la etapa de:

sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura inferior del conducto antes de cargar el primer líquido, el segundo líquido o la muestra en el conducto.

45 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema incluye un medio para sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura superior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluye la etapa de:

sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura superior del conducto antes de cargar el primer líquido, el segundo líquido o la muestra en el conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido se carga en el conducto antes que la muestra o que el segundo líquido.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra se carga en el conducto antes que el primer líquido o que el segundo líquido.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido se carga en el conducto antes que el primer líquido o que la muestra.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido se carga en el conducto a través de la abertura superior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido se carga en el conducto a través de la abertura inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido se carga en el conducto a través de la abertura superior del conducto.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido se carga en el conducto a través de la abertura inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra se carga en el conducto a través de la abertura superior del conducto.

20 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquier de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra se carga en el conducto a través de la abertura inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la etapa de cargar el primer líquido, el segundo líquido o la muestra en el conducto a través de la abertura inferior del conducto incluye la aplicación de presión negativa a la abertura superior del conducto.

25 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra está en una solución acuosa.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra incluye un reactivo.

30 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra incluye una biomolécula. Los ejemplos de biomoléculas incluyen (y no se limitan a ellos) células, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, sangre, saliva y material orgánico.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es inmiscible con el segundo líquido.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es inmiscible con la muestra.

35 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido es inmiscible con la muestra.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido o el segundo líquido es un aceite.

40 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es un aceite.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido es un aceite.

45 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde los aceites utilizados para generar las fases inmiscibles, por ejemplo, el primer líquido o el segundo líquido, pueden incluir, y no se limitan a ellos, aceite de silicona, aceite de perfluorocarburo y aceite de perfluoropoliéter.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde los valores típicos de densidad para los líquidos implicados oscilan dentro de los valores de aproximadamente 1 300 a aproximadamente 2 000 kg/m³ para el segundo líquido, de aproximadamente 700 a aproximadamente 990 kg/m³ para el primer líquido, y de aproximadamente 900 a aproximadamente 1 200 kg/m³ para

la muestra. Un ejemplo de tal conjunto de líquidos y densidades de funcionamiento se presenta en la presente memoria, pero no se limita a ellos; el segundo líquido es Fluorinert FC-40 (aceite de fluorocarburo) con una densidad de aproximadamente 1 900 kg/m³; el primer líquido es fenilmetilpolisiloxano (aceite de silicona) con una densidad de aproximadamente 920 kg/m³; y la muestra es una solución acuosa de reactivos para PCR con una densidad de aproximadamente 1 000 kg/m³.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido es un aceite de amina perfluorada.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido es una solución de aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y un aditivo de polisorbato. Los aditivos tienen un número de equilibrio hidrófilo-lipófilo en el margen de 2 a 8. El número de equilibrio hidrófilo-lipófilo total combinado de los aditivos está en el margen de 2 a 8. Los ejemplos de aditivos de polisorbato son monooleato de sorbitano, triestearato de sorbitano y polisorbato 20, pero no se limitan a ellos. Estos aditivos dentro del primer líquido oscilan entre el 0,001% y el 10%.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra es una suspensión de partículas sólidas en medio acuoso, el primer líquido es un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano, y el segundo líquido es un aceite con una base de fluorocarburo.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la muestra es un medio acuoso en aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano, el primer líquido es un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y el segundo líquido es un aceite con una base de fluorocarburo.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto está orientado sustancialmente en vertical.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto está orientado en vertical.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es un tubo capilar.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto está en forma de un cono truncado.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto está en forma de un cono truncado; y la abertura superior del conducto tiene un diámetro interno que es mayor que el diámetro interno de la abertura inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es una punta de pipeta.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto está hecho de un polímero, cerámica o metal.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto incluye una superficie hidrófoba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es un tubo capilar de polímero, tal como un tubo capilar de material de PTFE.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es desechable.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es reutilizable.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto tiene un diámetro interno que está típicamente dentro de un margen de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 10 mm de diámetro.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el diámetro interno del conducto es variable desde la parte inferior del conducto hasta la parte superior del conducto, a lo largo de la longitud del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto tiene un grosor de pared de al menos aproximadamente 10 µm o más.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la forma interna del conducto puede ser (y sin estar necesariamente limitada a ellos) un perfil que es redondo, cónico, cuadrado, ovalado, rectangular, que tiene una superficie ondulada, que tiene al menos una superficie plana, o que tiene características que le mejoran la superficie.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la forma externa del conducto puede ser (y sin estar necesariamente limitada a ellos) un perfil que es redondo, cónico, cuadrado, ovalado, rectangular, que tiene una superficie ondulada, que tiene al menos una superficie plana, o que tiene características que le mejoran la superficie.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la bomba es una bomba de vacío.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la bomba es una perilla para pipeta.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la bomba es un medio para aplicar presión positiva.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la bomba es un medio para aplicar presión negativa.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la bomba está conectada operativamente a la parte superior del conducto.

20 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde la bomba está conectada operativamente a la parte inferior del conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema además incluye un controlador.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el controlador está conectado operativamente a la bomba.

25 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde numerosos conductos están ensamblados unos con otros en un casete.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde numerosos conductos están ensamblados unos con otros en una placa.

30 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluye la etapa de almacenar la muestra en el sistema durante un periodo de tiempo.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer periodo de tiempo es del orden de minutos, días, meses o años.

35 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluyen la etapa de almacenar la muestra en el sistema a una temperatura de aproximadamente 0 °C, aproximadamente 3 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 10 °C, aproximadamente 15 °C, aproximadamente 20 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C, aproximadamente 40 °C o aproximadamente 45 °C.

40 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluyen la etapa de almacenar la muestra en el sistema durante un periodo de tiempo a una temperatura de aproximadamente 0 °C, aproximadamente 3 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 10 °C, aproximadamente 15 °C, aproximadamente 20 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C, aproximadamente 40 °C o aproximadamente 45 °C.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema está sobre un instrumento.

45 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema es una micropipeta.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para dispensar una muestra de uno cualquiera de los sistemas mencionados más arriba, que incluye la etapa de

dispensar el segundo líquido desde el conducto a través de la abertura inferior; y

50 dispensar un volumen de la muestra desde el conducto a través de la abertura inferior.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluyen la etapa de dispensar el primer líquido desde el conducto.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación de presión negativa al conducto mediante la bomba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensan desde el conducto por la aplicación de presión positiva al conducto mediante la bomba.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación presión negativa a la abertura inferior del conducto mediante la bomba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación de presión positiva a la abertura superior del conducto mediante la bomba.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluye la etapa de recargar el segundo líquido en el conducto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a uno cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido se recarga en el conducto a través de la abertura inferior.

20 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido se recarga en el conducto por la aplicación de presión negativa a la abertura superior del conducto mediante la bomba.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el segundo líquido se recarga en el conducto por la aplicación de presión positiva a la abertura inferior del conducto mediante la bomba.

25 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el volumen de la muestra dispensada desde el conducto es de aproximadamente 10 nl a aproximadamente 20 µl.

30 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el volumen de la muestra dispensada desde el conducto es de aproximadamente 10 nl, aproximadamente 20 nl, aproximadamente 30 nl, aproximadamente 40 nl, aproximadamente 50 nl, aproximadamente 60 nl, aproximadamente 70 nl, aproximadamente 80 nl, aproximadamente 90 nl, aproximadamente 100 nl, aproximadamente 200 nl, aproximadamente 300 nl, aproximadamente 400 nl, aproximadamente 500 nl, aproximadamente 600 nl, aproximadamente 700 nl, aproximadamente 800 nl, aproximadamente 900 nl, 1 µl, aproximadamente 2 µl, aproximadamente 3 µl, aproximadamente 4 µl, aproximadamente 5 µl, aproximadamente 6 µl, aproximadamente 7 µl, aproximadamente 8 µl, aproximadamente 9 µl, aproximadamente 10 µl, aproximadamente 11 µl, aproximadamente 12 µl, aproximadamente 13 µl, aproximadamente 14 µl, aproximadamente 15 µl, aproximadamente 16 µl, aproximadamente 17 µl, aproximadamente 18 µl, aproximadamente 19 µl, o aproximadamente 20 µl.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el volumen de la muestra dispensada desde el conducto es un volumen predeterminado.

40 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el sistema incluye un volumen muerto.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el volumen muerto es de aproximadamente 10 nl a aproximadamente 200 nl.

45 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a uno cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el volumen muerto es de aproximadamente 10 nl, aproximadamente 20 nl, aproximadamente 30 nl, aproximadamente 40 nl, aproximadamente 50 nl, aproximadamente 60 nl, aproximadamente 70 nl, aproximadamente 80 nl, aproximadamente 90 nl, aproximadamente 100 nl, aproximadamente 110 nl, aproximadamente 120 nl, aproximadamente 130 nl, aproximadamente 140 nl, aproximadamente 150 nl, aproximadamente 160 nl, aproximadamente 170 nl, aproximadamente 180 nl, aproximadamente 190 nl, o aproximadamente 200 nl.

50 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde las etapas están automatizadas.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria,

en donde las etapas están automatizadas y controladas por el controlador.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, que también incluye la etapa de limpiar o descontaminar el conducto.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto se limpia o descontamina con un limpiador.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es reutilizable; y el limpiador es vapor.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es reutilizable; y el limpiador es lejía.

10 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es reutilizable; y el limpiador incluye una enzima.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el conducto es reutilizable; y el limpiador incluye una enzima de digestión de ADN.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, en donde el limpiador incluye lejía, una base, un detergente, un desinfectante de superficies, un detergente suave, un ácido suave o un desinfectante.

Sin perjuicio de las reivindicaciones, la invención también se refiere a las siguientes cláusulas:

1. Un cartucho de un solo uso, en donde:

20 en el cartucho se distinguen numerosos orificios ciegos, en donde en cada orificio ciego se distingue una abertura, en donde al menos uno de los numerosos orificios ciegos contiene dos líquidos mutuamente inmiscibles, los cuales son inmiscibles con agua, en donde uno de los dos líquidos mutuamente inmiscibles tiene una gravedad específica mayor que la del agua y en donde el otro de los dos líquidos mutuamente inmiscibles tiene una gravedad específica menor que la del agua.

25 2. El cartucho de acuerdo con la cláusula 1, que comprende además un cierre protector que cubre la abertura definida por los numerosos orificios ciegos, con lo que se hace que el interior de los orificios ciegos sea sustancialmente estanco para los dos líquidos mutuamente inmiscibles.

3. El cartucho de acuerdo con la cláusula 2, en donde un primer orificio ciego está sellado herméticamente con una porción del cierre protector adaptado para ser retirado por un usuario humano a mano, con lo que expone la abertura del primer orificio ciego.

30 4. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 2 o 3, en donde al menos una porción del cierre protector es una película perforable que cierra la abertura definida por al menos un orificio ciego.

5. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde los numerosos orificios ciegos son colineales.

6. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde todos los orificios ciegos contienen al menos los mismos dos líquidos mutuamente inmiscibles.

35 7. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde al menos un orificio ciego contiene solo los dos líquidos mutuamente inmiscibles.

8. El cartucho de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde un primer orificio ciego contiene sólo los dos líquidos mutuamente inmiscibles.

40 9. El cartucho de acuerdo con la cláusula 8, en donde al menos uno de los numerosos orificios ciegos que no son el primer orificio ciego contiene un reactivo que está en una solución acuosa, en donde el reactivo es un elemento de un protocolo bioquímico predeterminado.

10. El cartucho de acuerdo con la cláusula 9, en donde todos los reactivos necesarios para llevar a cabo el protocolo bioquímico predeterminado están contenidos por separado en los numerosos orificios ciegos que no son el primer orificio ciego.

45 11. El cartucho de acuerdo con la cláusula 10, en donde el protocolo biológico predeterminado es la amplificación de ácidos nucleicos por PCR.

12. Una placa multipocillo que consiste en numerosos cartuchos, en donde cada cartucho está de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1 a 11, en donde la placa está íntegramente formada por los numerosos cartuchos, en donde los cartuchos están dispuestos en la placa de tal forma que cada serie de orificios ciegos colineales es paralela

a las otras.

13. Un sistema que comprende:

un cartucho de acuerdo con la cláusula 9;

un receptor de cartuchos dimensionado y conformado para acoplarse al cartucho;

5 un sistema de manipulación de líquidos capaz de perforar la película perforable que cierra cualquiera de los numerosos orificios ciegos mediante la inserción de un conducto de líquido en cualquiera de los orificios ciegos cuando el cartucho se ha acoplado al receptor de cartuchos; y

un controlador conectado operativamente al sistema de manipulación de líquidos, en donde el controlador está programado para hacer que el sistema de manipulación de líquidos:

10 forme una celdilla con líquido compuesto en uno de los orificios ciegos; y

opere tras la celdilla con líquido compuesto y los reactivos para llevar a cabo el protocolo bioquímico predeterminado.

14. El sistema de acuerdo con la cláusula 13, que comprende además un termociclador.

15. El sistema de acuerdo con la cláusula 13, que comprende además una unidad de enfriamiento.

16. El sistema de acuerdo con la cláusula 13, que comprende además un módulo de excitación y detección de la fluorescencia óptica.

17. El sistema de acuerdo con la cláusula 13, en donde el conducto de líquido comprende un tubo capilar.

18. El sistema de acuerdo con la cláusula 13, en donde el conducto de líquido comprende un módulo de separación por magnetismo.

19. Un método para llevar a cabo un protocolo bioquímico que comprende:

20 proporcionar un sistema de acuerdo con la cláusula 13;

depositar una muestra biológica en el primer orificio ciego;

introducir el cartucho en el receptor de cartuchos;

activar el controlador de tal modo que el controlador haga que el sistema de manipulación de líquidos:

forme una celdilla con líquido compuesto que contiene una solución acuosa de la muestra biológica; y

25 opere tras la celdilla con líquido compuesto y los reactivos para llevar a cabo el protocolo biológico predeterminado en la muestra biológica.

20. El método de acuerdo con la cláusula 19, en donde el protocolo biológico predeterminado está diseñado para llevar a cabo uno de (a) preparación de la colección de secuencias, (b) secuenciación de ácidos nucleicos, (c) PCR, (d) PCR digital y (e) qPCR.

30 21. Un sistema que comprende un conducto, una bomba, un primer líquido, un segundo líquido y una muestra, en donde:

se distinguen en el conducto una abertura superior y una abertura inferior, y el conducto incluye una superficie interna dispuesta entre la abertura superior y la abertura inferior;

35 el primer líquido, la muestra y el segundo líquido están dispuestos dentro del conducto entre la abertura superior y la abertura inferior;

el primer líquido, el segundo líquido y la muestra son sustancial y mutuamente inmiscibles;

el primer líquido es menos denso que la muestra y la muestra es menos densa que el segundo líquido;

40 la muestra está dispuesta entre el primer líquido y el segundo líquido de tal manera que todo el área de la superficie de la muestra está en contacto fluido sólo con el primer líquido, el segundo líquido o la superficie interna del conducto; y

la bomba está configurada para aplicar presión positiva, presión negativa o ninguna presión externa a una localización del conducto.

22. El sistema de acuerdo con la cláusula 21, en donde el sistema comprende además un medio para sellar

temporalmente o cerrar temporalmente la abertura inferior del conducto.

23. El sistema de acuerdo con la cláusula 21 o 22, en donde el sistema comprende además un medio para sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura superior del conducto.

24. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 23, en donde la muestra está en una solución acuosa.

5 25. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 24, en donde la muestra comprende un reactivo.

26. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 25, en donde la muestra comprende una biomolécula.

27. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 25, en donde la muestra comprende una célula, un ácido nucleico, una proteína, una enzima, sangre, saliva o un material orgánico.

10 28. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 27, en donde el primer líquido es inmisible con el segundo líquido.

29. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 28, en donde el primer líquido es inmisible con la muestra.

30. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 29, en donde el segundo líquido es inmisible con la muestra.

15 31. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 30, en donde el primer líquido o el segundo líquido es un aceite.

32. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 30, en donde el primer líquido es un aceite.

33. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 30, en donde el segundo líquido es un aceite.

20 34. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 30, en donde el primer líquido o el segundo líquido es un aceite de silicona, un aceite de perfluorocarburo o un aceite de perfluoropoliéter.

35. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 34, en donde la densidad del segundo líquido es de aproximadamente 1 300 a aproximadamente 2 000 kg/m³.

36. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 35, en donde la densidad del primer líquido es de aproximadamente 700 a aproximadamente 990 kg/m³.

25 37. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 36, en donde la densidad de la muestra es de aproximadamente 900 a aproximadamente 1 200 kg/m³.

38. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 37, en donde el segundo líquido es un aceite de fluorocarburo con una densidad de aproximadamente 1 900 kg/m³.

39. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 38, en donde el primer líquido es fenilmetilpolisiloxano.

30 40. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 39, en donde la muestra es una solución con base acuosa de reactivos de PCR con una densidad de aproximadamente 1 000 kg/m³.

41. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 37, en donde el segundo líquido es un aceite de amina perfluorada.

35 42. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 38, en donde el primer líquido es una solución de aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y un aditivo de polisorbato.

43. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 37, en donde la muestra es una suspensión de partículas sólidas en medio acuoso, el primer líquido es un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y el segundo líquido es un aceite con una base de fluorocarburo.

40 44. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 37, en donde la muestra es un medio acuoso en aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano, el primer líquido es un aceite con una base de fenilmetilpolisiloxano y el segundo líquido es un aceite con una base de fluorocarburo.

45. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 44, en donde el conducto está orientado sustancial en vertical.

46. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 44, en donde el conducto está orientado en vertical.

45 47. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 46, en donde el conducto es un tubo capilar.

48. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 46, en donde el conducto está en forma de un cono truncado.
- 5 49. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 46, en donde el conducto está en forma de un cono truncado; y la abertura superior del conducto tiene un diámetro interno que es mayor que el diámetro interno de la abertura inferior del conducto.
50. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 46, en donde el conducto es una punta de pipeta.
51. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 50, en donde el conducto está hecho de un polímero, cerámica o metal.
- 10 52. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 51, en donde el conducto comprende una superficie hidrófoba.
53. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 50, en donde el conducto es un tubo capilar de polímero, tal como un tubo capilar de politetrafluoroetileno (PTFE).
54. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 53, en donde el conducto es desechable.
55. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 53, en donde el conducto es reutilizable.
- 15 56. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 55, en donde la bomba es una bomba de vacío.
57. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 55, en donde la bomba es una perilla para pipeta.
58. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 55, en donde la bomba es un medio para aplicar presión positiva.
- 20 59. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 55, en donde la bomba es un medio para aplicar presión negativa.
60. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 55, en donde la bomba está conectada operativamente a la abertura superior del conducto.
61. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 55, en donde la bomba está conectada operativamente a la parte inferior del conducto.
- 25 62. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 61, en donde el sistema además comprende un controlador.
63. El sistema de acuerdo con la cláusula 62, en donde el controlador está conectado operativamente a la bomba.
64. El sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 63, en donde numerosos conductos están ensamblados unos con otros en una placa.
- 30 65. Un método para dispensar la muestra desde el sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 64, que comprende la etapa de
- dispensar el segundo líquido desde el conducto a través de la abertura inferior; y
- dispensar un volumen de la muestra desde el conducto a través de la abertura inferior.
- 35 66. El método de acuerdo con la cláusula 65, que comprende además la etapa de dispensar el primer líquido desde el conducto.
67. El método de acuerdo con la cláusula 65 o 66, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación de presión negativa al conducto mediante la bomba.
68. El método de acuerdo con la cláusula 65 o 66, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación de presión positiva al conducto mediante la bomba.
- 40 69. El método de acuerdo con la cláusula 65 o 66, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación de presión negativa a la abertura inferior del conducto mediante la bomba.
70. El método de acuerdo con la cláusula 65 o 66, en donde el primer líquido, la muestra o el segundo líquido se dispensa desde el conducto por la aplicación de presión positiva a la abertura superior del conducto mediante la bomba.
- 45 71. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 45 a 70, que comprende además la etapa de recargar el segundo líquido en el conducto.

72. El método de acuerdo con la cláusula 71, en donde el segundo líquido se recarga en el conducto a través de la abertura inferior.
73. El método de acuerdo con la cláusula 71, en donde el segundo líquido se recarga en el conducto por la aplicación de presión negativa a la abertura superior del conducto mediante la bomba.
- 5 74. El método de acuerdo con la cláusula 71, en donde el segundo líquido se recarga en el conducto por la aplicación de presión positiva a la abertura inferior del conducto mediante la bomba.
75. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 65 a 74, en donde el volumen de la muestra dispensada desde el conducto es de aproximadamente 10 nl a aproximadamente 20 μ l.
- 10 76. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 65 a 75, en donde el volumen de la muestra dispensada desde el conducto es un volumen predeterminado.
77. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 65 a 76, en donde las etapas están automatizadas.
78. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 65 a 76, en donde las etapas están automatizadas y controladas por el controlador.
79. Un método para almacenar una muestra en un sistema, en donde el método comprende:
- 15 suministrar un conducto, una bomba, un primer líquido, un segundo líquido y una muestra, en donde se distinguen en el conducto una abertura superior y una abertura inferior, y el conducto incluye una superficie interna dispuesta entre la abertura superior y la abertura inferior;
- el primer líquido, el segundo líquido y la muestra son sustancial y mutuamente inmiscibles;
- el primer líquido es menos denso que la muestra y la muestra es menos densa que el segundo líquido; y
- 20 la bomba esta configurada para aplicar presión positiva, presión negativa o ninguna presión externa a una localización del conducto; y
- cargar en el conducto, en cualquier orden, el primer líquido, el segundo líquido y la muestra, de tal manera que el primer líquido, la muestra y el segundo líquido están dispuestos dentro del conducto entre la abertura superior y la abertura inferior, y la muestra está dispuesta entre el primer líquido y el segundo líquido de tal manera que todo el área de la superficie está en contacto fluido solo con el primer líquido, el segundo líquido o la superficie interna del conducto.
- 25 80. El método de acuerdo con la cláusula 79, en donde el sistema es un sistema de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 21 a 64.
81. El método de acuerdo con la cláusula 79 u 80, que comprende además la etapa de:
- 30 sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura inferior del conducto antes de cargar en el conducto el primer líquido, el segundo líquido o la muestra.
82. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 81, que comprende además la etapa de:
- sellar temporalmente o cerrar temporalmente la abertura superior del conducto antes de cargar en el conducto el primer líquido, el segundo líquido o la muestra.
- 35 83. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 82, en donde el primer líquido se carga en el conducto antes que la muestra o el segundo líquido.
84. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 82, en donde la muestra se carga en el conducto antes que el primer líquido o el segundo líquido.
85. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 82, en donde el segundo líquido se carga en el conducto antes que el primer líquido o la muestra.
- 40 86. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 85, en donde el primer líquido se carga en el conducto a través de la abertura superior del conducto.
87. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 85, en donde el primer líquido se carga en el conducto a través de la abertura inferior del conducto.
- 45 88. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 87, en donde el segundo líquido se carga en el conducto a través de la abertura superior del conducto.

89. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 87, en donde el segundo líquido se carga en el conducto a través de la abertura inferior del conducto.

90. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 89, en donde la muestra se carga en el conducto a través la abertura superior del conducto.

5 91. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 89, en donde la muestra se carga en el conducto a través de la abertura inferior del conducto.

92. El método de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 79 a 85, en donde la etapa de cargar el primer líquido, el segundo líquido o la muestra en el conducto a través de la abertura inferior del conducto comprende la aplicación de presión negativa a la abertura superior del conducto.

10 Aplicaciones

Procesamiento de las celdillas con líquido compuesto

En una realización, la muestra se dispensa en una celdilla con líquidos inmiscibles colocada sobre una superficie libre de un líquido mutuamente inmiscible. La celdilla con líquido compuesto resultante se puede transportar y/o se puede fusionar y/o se puede mezclar y/o realizar en ella un procesamiento bioquímico.

15 En una realización, la muestra se dispensa en una celdilla con líquidos inmiscibles colocada sobre una superficie libre de un líquido mutuamente inmiscible con una característica de estabilización mecánica.

En una realización, tras la dispensación desde el conducto sobre una superficie libre, el segundo líquido, la muestra y el primer líquido generan una celdilla con líquido compuesto.

En una realización, la muestra tiene perlas paramagnéticas y tampón.

20 En una realización, la muestra contiene un tampón.

Los ejemplos de sistemas de celdillas con líquido compuesto a los cuales los presentes sistemas y métodos se pueden adaptar se describen, por ejemplo, en la patente internacional en el marco PCT/IE2011/000040.

Secuenciación

25 Muchas plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS, por su nombre en inglés) requieren colecciones de ADN hechas de fragmentos de ADN dentro de un margen específico de longitudes de pares de bases. Además, estos fragmentos de ADN necesitan estar etiquetados con secuencias nucleotídicas específicas (adaptadores) para permitir que las secuencias se amplifiquen por PCR y para permitir que los fragmentos de las colecciones se hibriden con la cubeta de lectura del secuenciador. También se pueden añadir índices específicos de secuencia a los fragmentos de ADN para identificar cada una de las muestras cuando se multiplexa la muestra dentro de una única cubeta de lectura.

30 La fragmentación con etiquetado del ADN (el ADN se fragmenta y entonces se etiqueta con adaptadores) y la adición de los adaptadores e índices habituales se consigue en dos reacciones biológicas por separado. Después de estas reacciones, se limpia la colección de ADN para retirar el exceso de nucleótidos, enzimas, cebadores, sales y otros contaminantes. Por consiguiente, es complejo y muy laborioso el flujo de trabajo necesario para la fragmentación con etiquetado del ADN, la purificación de los fragmentos de ADN etiquetados, la adición de los adaptadores e índices habituales, y la purificación de la colección final producida. En una realización, los sistemas y los métodos arriba mencionados se pueden utilizar para automatizar la secuenciación genética.

35

Revestimiento de perlas para la secuenciación genética

40 La preparación de perlas para la secuenciación genética es un procedimiento por el cual se revisten las perlas pequeñas con una química específica de la aplicación. En una realización, el revestimiento de las perlas antes del cribado genético se consigue mediante los sistemas y los métodos de la invención.

Estos métodos dan a conocer una manera cómoda de manipular y combinar volúmenes de líquido por debajo del orden de microlitros que en la actualidad no se puede lograr con el uso de las técnicas convencionales, con lo que se reduce el volumen de la muestra inicial y se mejora la eficacia del revestimiento de las perlas al reducir el volumen de la reacción. El procesamiento posterior por PCR y termociclador y secuenciación genética es específico de la aplicación.

45

El uso de esta tecnología simplifica enormemente el procedimiento de recogida de estos volúmenes deseados relativamente pequeños. El sistema facilita la retirada del volumen al 100% ya que la muestra biológica en procesamiento no incurre en ninguna pérdida por pipeteo. Estas características hacen que la automatización del procedimiento bioquímico sea más fácil de simplificar.

50

Selección por tamaño de las colecciones de ADN para la secuenciación de tipo NGS

5 Cada uno de los secuenciadores de nueva generación tiene una longitud de lectura (en pares de bases) óptima. Durante la construcción de la colección, el ADN se fragmenta en moléculas de ADN con un amplio abanico de longitudes en pares de bases. La selección por tamaños se realiza en la actualidad con perlas paramagnéticas en una placa de microtitulación y es muy laborioso y adolece de ineficacias debido a errores de pipeteo y a que el usuario introduce variaciones en el protocolo. Los sistemas y los métodos de la invención se pueden utilizar para la selección del tamaño de las colecciones de ADN.

Purificación del ácido nucleico

10 Los sistemas y los métodos de la invención se pueden utilizar para la purificación y/o aislamiento de muestras antes y/o después de la PCR.

Genotipado

Los sistemas y los métodos de la invención se pueden utilizar para el almacenamiento y la dispensación de los reactivos o las muestras para el genotipado.

Cribado de compuestos

15 Los sistemas y los métodos de la invención se pueden utilizar para el almacenamiento y la dispensación de los reactivos o las muestras para el cribado de los compuestos farmacológicos.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran realizaciones concretas, pero no se debe considerar que limitan el alcance del tema en cuestión que se describe.

20 Ejemplo 1

Una serie de cámaras o pocillos, por ejemplo, de 1 a 384 cámaras, se llenan con dos aceites inmiscibles de tal manera que un aceite se asienta en la parte superior del otro (véase la figura 1). En cada cámara se distingue una abertura en la parte inferior. Las cámaras se pueden ordenar en una placa de almacenamiento. El reactivo se añade a las cámaras y descansa en la interfase entre los dos aceites, y forma lo que en algunos casos será una celdilla con líquido compuesto, o CLC (las celdillas con líquido compuesto se describen en detalle en la patente de los EE. UU. n.º 8,465,707. De este modo, el reactivo se puede almacenar a temperatura ambiente durante largos periodos de tiempo sin que el reactivo se degrade con la congelación y/o la descongelación. Allí donde se necesite, el aceite inferior, el aceite B, se retira por presurización positiva de la cámara que está encima del aceite A y se obliga al aceite inferior a que salga por la parte inferior de la cámara. A continuación, el reactivo baja hasta la abertura y está listo para ser dispensado (véase la figura 2). Con el uso del método de dispensación por presión, se pueden crear gotitas y se pueden dispensar directamente desde la placa de almacenamiento en paralelo desde las numerosas cámaras de la placa de almacenamiento. Las gotitas se pueden dispensar en otra CLC, placa de pocillos o cualquier cámara o líquido según sea necesario. Una vez que se ha acabado la dispensación, se puede devolver al almacenamiento al extraer una alícuota del aceite B y suspender de nuevo el reactivo como una gotita entre el aceite B y el aceite A. No hay problemas con la contaminación, ya que durante todo el procedimiento se utiliza es el mismo reactivo y, por lo tanto, se puede repetir cualquier número de veces hasta que se agote el reactivo. La placa se puede cargar en cualquier momento, se puede descartar, o se puede limpiar y reutilizar.

REIVINDICACIONES

1. Un cartucho (1) de un solo uso, en donde:

en el cartucho (1) se distinguen numerosos orificios ciegos (2), en donde en cada orificio ciego se distingue una
 5 abertura, en donde al menos uno de los numerosos orificios ciegos (2) contiene dos líquidos mutuamente inmiscibles
 (3, 4), los cuales son inmiscibles con agua, en donde uno de los dos líquidos mutuamente inmiscibles (3, 4) tiene una
 gravedad específica mayor que la del agua y el otro de los dos líquidos mutuamente inmiscibles tiene una gravedad
 específica menor que la del agua.

2. El cartucho (1) de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende un cierre protector que (8) cubre la
 10 abertura definida por los numerosos orificios ciegos (2), con lo que se hace que el interior de los orificios ciegos (2)
 sean estancos para los dos líquidos mutuamente inmiscibles (3, 4), preferiblemente en donde un primer orificio ciego
 (2) está sellado herméticamente con una porción del cierre protector (8) adaptado para ser desgarrado con la mano
 de un usuario humano, con lo que se expone la abertura del primer orificio ciego (2).

3. El cartucho (1) de acuerdo con la reivindicación 2, en donde al menos una porción del cierre protector (8) es
 una película perforable que cierra la abertura definida por al menos un orificio ciego (2).

4. El cartucho (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, con uno o varios de lo siguiente:

- en donde los muchos orificios ciegos (2) son colineales,
- en donde todos los orificios ciegos (2) contienen al menos los mismos dos líquidos mutuamente inmiscibles (3, 4),
- al menos un orificio ciego contiene solo los dos líquidos mutuamente inmiscibles (3, 4),
- en donde un primer orificio ciego contiene solo los dos líquidos mutuamente inmiscibles (3, 4).

5. El cartucho (1) de acuerdo con la reivindicación 4, en donde al menos uno de los muchos orificios ciegos (2)
 20 que no son el primer orificio ciego contiene un reactivo que está en una solución acuosa, en donde el reactivo es un
 elemento de un protocolo bioquímico predeterminado.

6. El cartucho (1) de acuerdo con la reivindicación 5, en donde todos los reactivos necesarios para llevar a cabo
 25 el protocolo bioquímico predeterminado están contenidos por separado en los numerosos orificios ciegos (2) que no
 son el primer orificio ciego (2).

7. El cartucho (1) de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el protocolo biológico predeterminado es la
 amplificación de ácidos nucleicos por PCR.

8. Una placa multipocillo (6), que consiste en numerosos cartuchos (1), en donde cada cartucho (1) está de
 30 acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la placa (6) está formada íntegramente por los
 numerosos cartuchos (1), en donde los cartuchos (1) están ordenados en la placa (6) de tal manera que cada uno de
 los numerosos orificios ciegos colineales (2) está paralelo a los otros.

9. Un sistema que comprende:

un cartucho (1) de acuerdo con la reivindicación 5,

un receptor de cartuchos dimensionado y conformado para acoplarse con el cartucho (1);

35 un sistema de manipulación de líquidos capaz de perforar la película perforable que cierra cualquiera de los numerosos
 orificios ciegos (2) mediante la inserción de un conducto de líquido en cualquiera de los orificios ciegos (2) cuando el
 cartucho (1) se ha acoplado con el receptor de cartuchos; y

un controlador conectado operativamente al sistema de manipulación de líquidos, en donde el controlador está
 programado para hacer que el sistema de manipulación de líquidos:

40 forme una celdilla con líquido compuesto en uno de los orificios ciegos (2); y

funcione tras la celdilla con líquido compuesto y los reactivos para llevar a cabo el protocolo bioquímico predeterminado.

10. El sistema de acuerdo con la reivindicación 9, que además comprende uno de lo siguiente:

- un termociclador,
- una unidad de enfriamiento,
- 45 - un módulo de excitación y detección de la fluorescencia óptica,

- en donde el conducto de líquido comprende un tubo capilar,
- en donde el conducto de líquido comprende un módulo de separación magnética.

11. Un método para llevar a cabo un protocolo bioquímico que comprende:

el suministro de un sistema de acuerdo con la reivindicación 9,

5 el depósito de una muestra biológica en el primer orificio ciego;

la inserción del cartucho (1) en el receptor de cartuchos;

la activación del controlador para que el controlador haga que el sistema de manipulación de líquidos:

forme una celdilla con líquido compuesto que contiene una solución acuosa de la muestra biológica; y

10 funcione tras la celdilla con líquido compuesto y los reactivos a fin de llevar a cabo el protocolo biológico predeterminado sobre la muestra biológica.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el protocolo biológico predeterminado se diseña para llevar a cabo uno de (a) preparación de la colección de ADN, (b) secuenciación de ácidos nucleicos, (c) PCR, (d) PCR digital, y (e) qPCR.

15 13. Un sistema que comprende un conducto, una bomba, un primer líquido, un segundo líquido y una muestra, en donde:

se distingue en el conducto una abertura superior y una abertura inferior, y el conducto incluye una superficie interna dispuesta entre la abertura superior y la abertura inferior;

el primer líquido, la muestra y el segundo líquido están dispuestos dentro del conducto entre la abertura superior y la abertura inferior;

20 el primer líquido, el segundo líquido y la muestra son mutuamente inmiscibles;

el primer líquido es menos denso que la muestra y la muestra es menos densa que el segundo líquido;

la muestra está dispuesta entre el primer líquido y el segundo líquido de tal manera que todo el área de la superficie de la muestra está en contacto fluido solo con el primer líquido, el segundo líquido, o la superficie interna del conducto;

25 la bomba está configurada para aplicar presión positiva, presión negativa o ninguna presión externa en una posición del conducto, y

un cartucho de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 anteriores.

14. Un método para dispensar la muestra desde el sistema de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende la etapa de

la dispensación del segundo líquido desde el conducto a través de la abertura inferior; y

30 la dispensación de un volumen de la muestra desde el conducto a través de la abertura inferior.

15. Un método para almacenar una muestra en un sistema, en donde el método comprende:

suministrar un cartucho (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 7, un conducto, una bomba, un primer líquido, un segundo líquido y una muestra, en donde

35 se distingue en el cartucho (1) una abertura superior y una abertura inferior, y el cartucho incluye una superficie interna dispuesta entre la abertura superior y la abertura inferior;

el primer líquido, el segundo líquido y la muestra son mutuamente inmiscibles; el primer líquido es menos denso que la muestra y la muestra es menos densa que el segundo líquido; y

la bomba está configurada para aplicar presión positiva, presión negativa o ninguna presión externa en una posición del conducto; y

40 cargar en el conducto, en cualquier orden, el primer líquido, el segundo líquido y la muestra, de tal forma que el primer líquido, la muestra y el segundo líquido están dispuestos dentro del conducto entre la abertura superior y la abertura inferior y la muestra está dispuesta entre el primer líquido y el segundo líquido, de tal forma que todo el área de la superficie de la muestra está en contacto fluido solo con el primer líquido, el segundo líquido o la superficie interna del conducto.

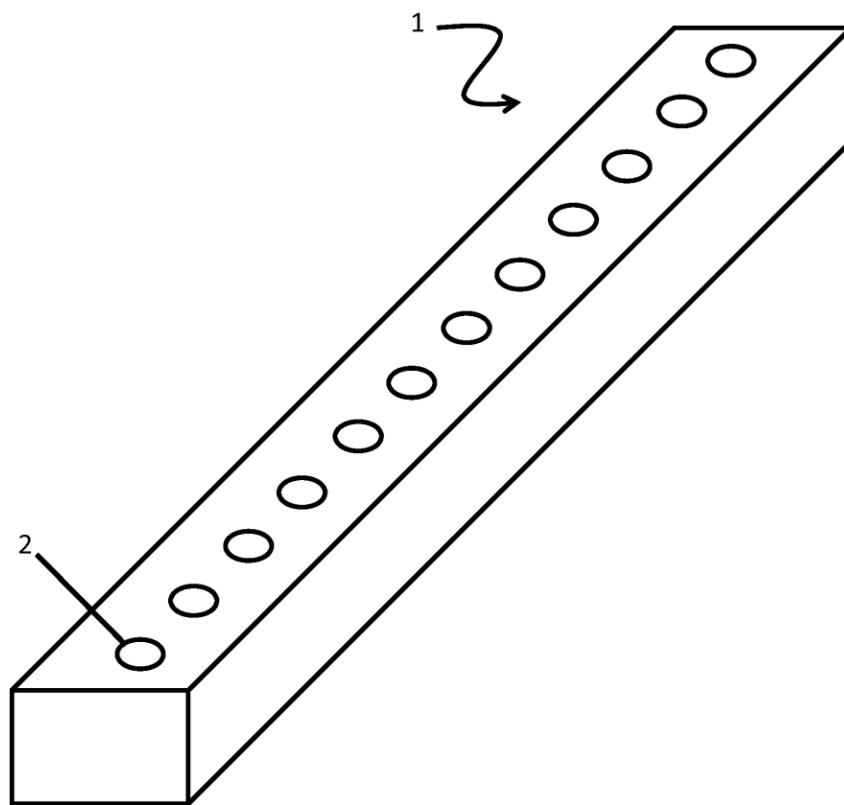


FIG. 1

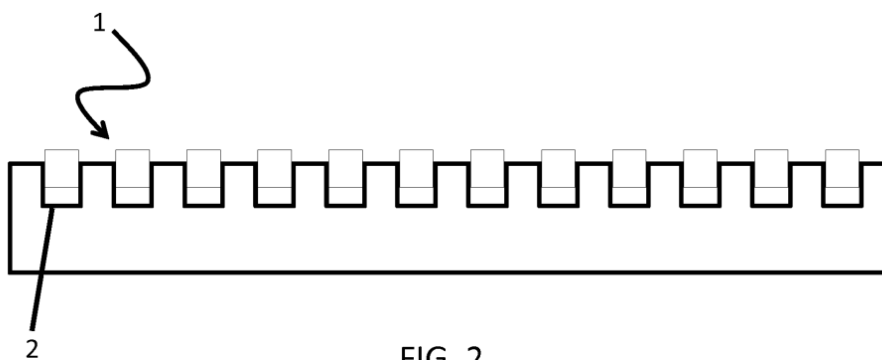


FIG. 2

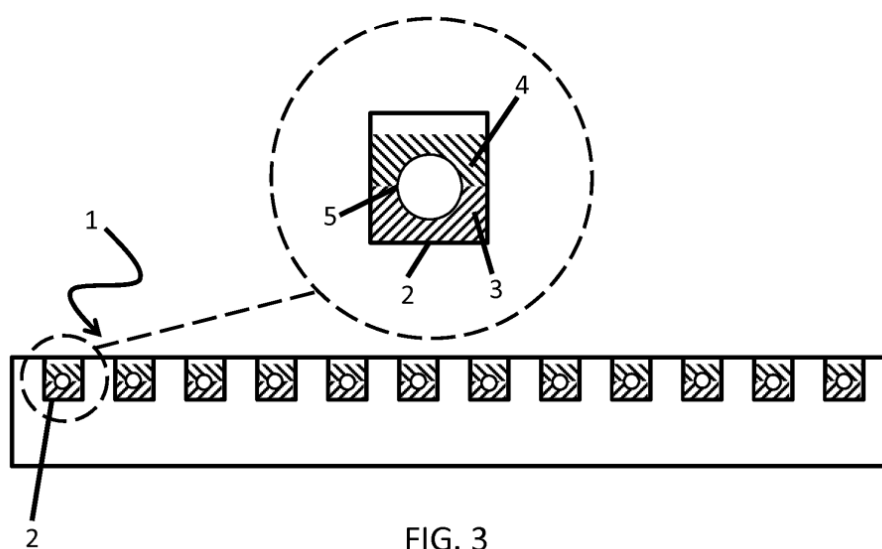


FIG. 3

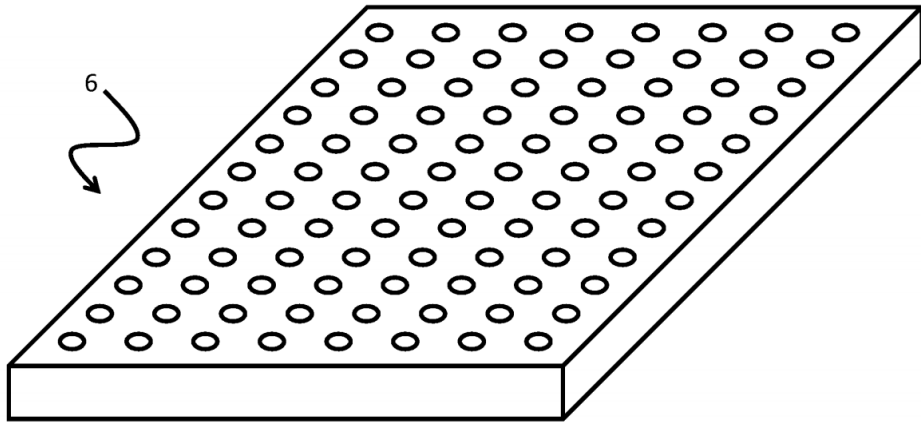


FIG. 4

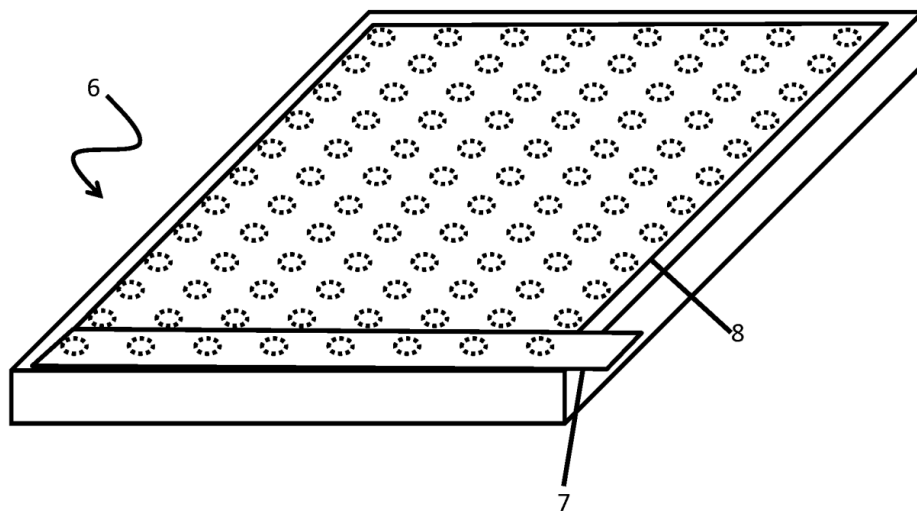


FIG. 5

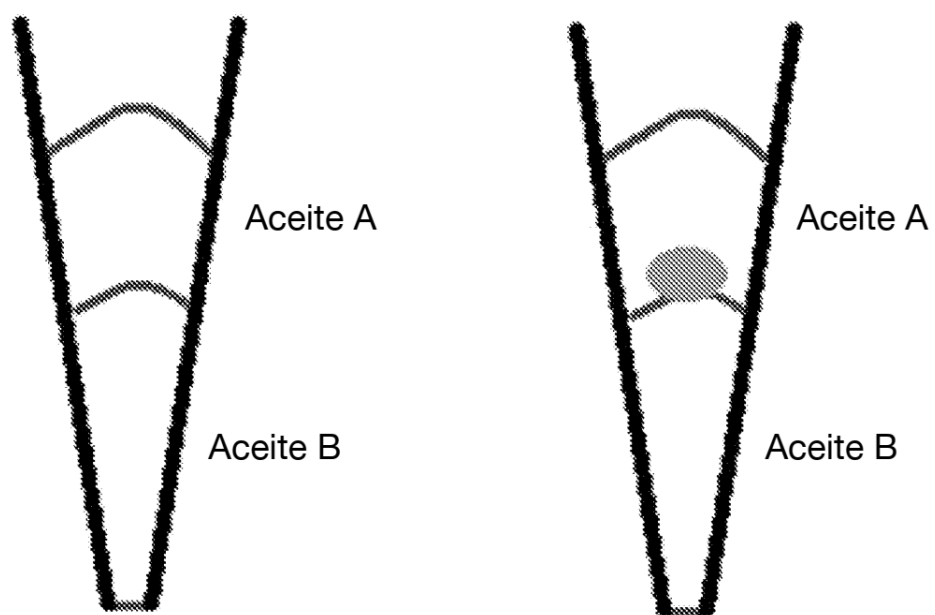


FIG. 6

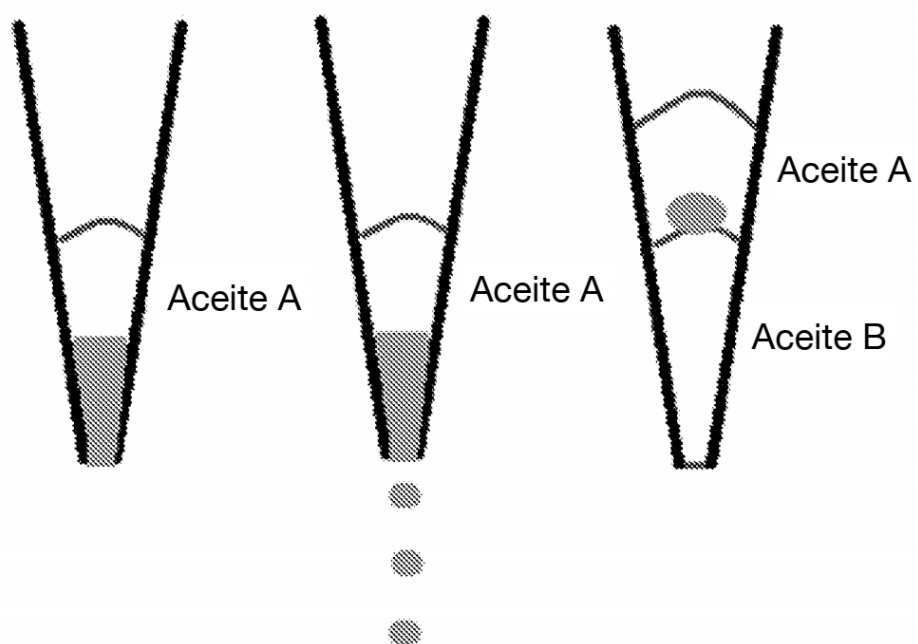


FIG. 7