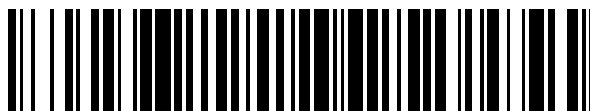


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 604**

51 Int. Cl.:

G01N 35/00 (2006.01)

G01N 35/02 (2006.01)

G01N 35/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.01.2014 E 14150467 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 2755033**

54 Título: **Sistema de procesamiento de muestras con dispositivo de dosificación y termociclador**

30 Prioridad:

09.01.2013 DE 102013200193

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

05.11.2019

73 Titular/es:

HAMILTON BONADUZ AG (100.0%)

Via Crusch 8

7402 Bonaduz, CH

72 Inventor/es:

GAJEWSKI, MARTIN y

ARANGIO, MARIO

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 729 604 T3

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

DESCRIPCIÓN

Sistema de procesamiento de muestras con dispositivo de dosificación y termociclador.

5 La presente invención concierne a un sistema de procesamiento de muestras para procesar muestras químicas o biológicas, especialmente líquidos corporales, tales como sangre, saliva, secreciones o similares, o muestras de tejidos, especialmente para procesar muestras para análisis de ADN por medio de PCR, así como a un procedimiento para controlar un sistema de procesamiento de muestras de esta clase.

El sistema de procesamiento de muestras comprende un dispositivo de dosificación

- con una placa de alojamiento, en el que la placa de alojamiento está dispuesta sustancialmente horizontal en un plano definido por una primera y una segunda dirección (X, Y); y

10 - con al menos un brazo de trabajo que puede moverse en la primera dirección (X) con relación a la placa de alojamiento (14), preferiblemente a lo largo de un primer borde de la placa de alojamiento, y en el que el brazo de trabajo se extiende en la segunda dirección (Y) más allá de la placa de alojamiento, en el que está montado en el brazo de trabajo al menos un dispositivo de pipeteado móvil en la segunda dirección (Y), en el que el dispositivo de pipeteado comprende al menos un canal de pipeteado móvil en una tercera
15 dirección (Z) ortogonal a las direcciones primera y segunda (X, Y) y dotado de una punta de pipeteado montada o montable en dicho canal, y en el que el dispositivo de pipeteado está preparado para dispensar líquido a un recipiente de muestras o para aspirarlo de éste;

y al menos un termociclador que está previsto en la zona de la placa de alojamiento.

20 Un sistema de procesamiento de muestras de esta clase es conocido, por ejemplo, por el documento WO 99/26070 A2.

Se conoce también otro sistema bajo la designación de "epMotion 5075 MC" de la firma Eppendorf AG (véase <http://www.eppendorf.com/int/index.php?pb=25118564b687acb3&page=3&action=epomotion&contendid=3&page=8>).

25 En ambos sistemas de procesamiento de muestras conocidos está dispuesto adicionalmente un termociclador en la zona de la placa de alojamiento sobre la cual pueden estar dispuestos soportes de recipientes de muestras para fines de pipeteado, un recipiente de desechos para puntas de pipeteado usadas, un dispositivo mezclador/sacudidor y similares. No obstante, este termociclador puede equiparse de manera automatizada por medio de una pinza con solo recipientes de muestras ya llenos sobre sus soportes (placas PCR o similares). En ambos sistemas de procesamiento de muestras conocidos se da importancia a que el termociclador y el dispositivo de pipeteado estén formados por estaciones de trabajo espacialmente separadas. Normalmente, los recipientes de muestras o los
30 soportes de recipientes de muestras para la realización de los pasos del proceso PCR se colocan ya sellados en el termociclador y a continuación se cierra el termociclador por medio de una tapa. La alimentación o extracción de líquido de muestra no es posible durante los pasos de procesamiento en el termociclador.

El problema de la invención consiste en desarrollar adicionalmente un sistema de procesamiento de muestras conocido de tal manera que se haga posible una manipulación más flexible durante el procesamiento de muestras.

35 Este problema se resuelve con el sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 1.

Por tanto, se propone según la invención que el termociclador esté dispuesto en la placa de alojamiento de tal manera que el dispositivo de pipeteado pueda moverse por encima de los recipientes de muestras que se encuentran en el termociclador hasta una posición que haga posible una operación de pipeteado.

40 Resulta así posible de manera ventajosa que se realicen operaciones de pipeteado durante y/o entre pasos de procesamiento que tienen que realizarse en el termociclador, sin que se tengan que extraer para ello del termociclador los recipientes de muestras (llamados también pocillos) o el soporte de recipientes de muestras correspondiente (por ejemplo una llamada placa PCR con pocillos dispuestos en ella) y sin que tengan que transportarse éstos hasta una posición de pipeteado de la placa de alojamiento. Por tanto, es posible de manera muy sencilla añadir un componente de reacción adicional a un líquido de muestra calentado en el termociclador (también conocido como mezcla de reacción PCR), sin que tengan que enfriarse las muestras ni que se deban calentar éstas nuevamente hasta la temperatura deseada después de un paso de pipeteado que tenga lugar fuera del termociclador. Resulta en conjunto una manipulación simplificada, especialmente en el marco de procesos PCR, puesto que se pueden ejecutar en el termociclador todos los ciclos necesarios para procesos PCR y se pueden añadir a las muestras por el dispositivo de pipeteado los componentes necesarios para pasos determinados del
45 proceso, sin que se tengan que extraer del termociclador los recipientes de muestras o los soportes de los mismos. Esto conduce a una automatización mejorada del procesamiento y, ligado a esto, un ahorro de tiempo, especialmente debido a la supresión de pasos de transporte entre el termociclador y una posición de pipeteado
50

sobre la placa de alojamiento y debido a la supresión de pasos de atemperado relativamente largos cuando un soporte de recipientes de muestras (placa PCR) tenga que extraerse del termociclador y utilizarse nuevamente más tarde.

5 Por supuesto, durante el desarrollo de ciclos por el termociclador el dispositivo de pipeteado puede ejecutar temporalmente en paralelo otras operaciones de pipeteado fuera del termociclador, tal como, por ejemplo, la preparación de una nueva tanda de recipientes de muestras para un proceso siguiente en el termociclador.

10 Se propone también que el sistema de procesamiento de muestras comprenda igualmente un equipo de control que esté preparado para activar o regular las funciones del dispositivo de dosificación, tal como, por ejemplo, un movimiento en las tres direcciones y/o una aspiración o dispensación de líquido por medio del dispositivo de pipeteado, y las funciones del termociclador, tal como, por ejemplo, la realización de ciclos en el marco de un proceso PCR. Este equipo de control puede estar materializado por un ordenador con programas de control correspondientes. Es imaginable también que el equipo de control comprenda varios ordenadores conectados en red uno con otro, por ejemplo un procesador para el dispositivo de pipeteado y un procesador para el termociclador.

15 Según una variante de realización, el termociclador puede estar dispuesto sobre la placa de alojamiento, estando situado un punto más alto del termociclador por debajo de una distancia máxima posible entre un extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado y la placa de alojamiento y haciéndose posible la distancia por medio de un movimiento del dispositivo de pipeteado en la tercera dirección (Z).

20 Como alternativa a esto, se propone que el termociclador esté embutido en un hueco practicado en la placa de alojamiento de tal manera que un lado inferior del termociclador esté situado por debajo de la placa de alojamiento, estando situado un punto más alto del termociclador por debajo de la máxima distancia posible entre un extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado y la placa de alojamiento y haciéndose posible la distancia por medio de un movimiento del dispositivo de pipeteado en la tercera dirección (Z).

25 Para ambas formas de realización se prefiere que la distancia máxima entre el extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado y la placa de alojamiento sea de aproximadamente 100 mm a 180 mm, con preferencia aproximadamente 125 mm a 150 mm.

30 La distancia máxima entre la placa de alojamiento y el extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado puede denominarse también altura de rebasamiento máxima. Si un objeto dispuesto en la zona de la placa de alojamiento es más alto que esta distancia máxima, dicho objeto representa un obstáculo para el dispositivo de pipeteado, el cual no se mueve entonces en esta zona o solo puede moverse en ella cuando no está montada una punta de pipeteado en el canal de pipeteado. Tales objetos pueden disponerse ciertamente sobre la placa de alojamiento, pero deben tenerse entonces en cuenta en el control del movimiento del dispositivo de pipeteado de modo que se eviten colisiones.

35 Los termocicladores conocidos hasta ahora presentan en general una altura de construcción máxima que es mayor que la distancia máxima mencionada entre la punta de pipeteado y la placa de alojamiento. Por tanto, un termociclador existente puede emplearse preferiblemente según la forma de realización con un hueco en la placa de alojamiento en el que se embuta el termociclador conocido.

40 Preferiblemente, se utiliza un termociclador adaptado al dispositivo de pipeteado y a la distancia máxima mencionada entre la punta de pipeteado y la placa de alojamiento, que representa un módulo complementario del dispositivo de dosificación y que, al igual que otros componentes del dispositivo de dosificación, como, por ejemplo, recipientes de desechos, recipientes mezcladores y similares, puede disponerse en una posición deseada sobre la placa de alojamiento.

45 En el termociclador está previsto preferiblemente un elemento de cierre a manera de tapa para cubrir recipientes de muestras situados en el termociclador, pudiendo moverse el elemento de cierre con relación al termociclador en una dirección sustancialmente paralela a la placa de alojamiento entre una posición de apertura que libera el interior del termociclador y una posición de cierre que cubre el interior del termociclador. En su posición de apertura este elemento de cierre no se proyecta hacia arriba dentro de la zona en la que se mueven el dispositivo de pipeteado y las puntas de pipeteado montadas en éste. Se favorece así el libre acceso del dispositivo de pipeteado a recipientes de muestras en el termociclador.

50 Se propone también que el equipo de control esté preparado de tal manera que el elemento de cierre del termociclador se mueva en función de la posición relativa del dispositivo de pipeteado con respecto al termociclador hasta su posición de apertura o de cierre, preferiblemente de tal manera que el elemento de cierre se mueva hasta su posición de apertura cuando se realice por medio del dispositivo de pipeteado una operación de pipeteado en recipientes de muestras situados en el termociclador y el elemento de cierre se mueva hacia su posición de cierre después de que haya concluido la operación de pipeteado en recipientes de muestras situados en el termociclador.

Una activación de esta clase hace posible la apertura del termociclador tan solo un poco antes de una operación de pipeteado propiamente dicha, con lo que se pueden reducir especialmente las influencias de enfriamiento de la temperatura provenientes del ambiente. Es imaginable también que, después de un paso de pipeteado, por ejemplo después de la dispensación simultánea de un componente hacia varios recipientes de muestras, se ponga de nuevo por breve tiempo el elemento de cierre en su posición de cierre hasta que se hayan echado en el recipiente de desechos por medio del dispositivo de pipeteado las puntas de pipeteado usadas, se hayan recogido nuevas puntas de pipeteado (no usadas) y se haya aspirado de un recipiente de reserva el componente que se debe añadir. Tan pronto como el dispositivo de pipeteado con puntas de pipeteado no usada y llenas del componente está en camino hacia el termociclador, se puede mover nuevamente el elemento de cierre hasta su posición de apertura de modo que se pueda dispensar el componente hacia una serie próxima de varios recipientes de muestras. Como es natural, es imaginable también que el elemento de cierre se abra siempre solamente hasta el punto de que sean accesibles los recipientes de muestras hacia los cuales se debe dispensar un componente o desde los cuales se debe aspirar líquido de muestra. Esta liberación parcial de los recipientes de muestras puede entenderse también como una posición de apertura. Esto puede conseguirse, por ejemplo, por medio de un elemento de cierre de dos piezas, dejándose, en caso necesario, un hueco entre las dos piezas móviles del elemento de cierre y siendo libremente accesibles en el hueco varios recipientes de muestras.

El sistema de procesamiento de muestras comprende preferiblemente un mecanismo de agarre móvil con relación a la placa de alojamiento en las direcciones primera, segunda y tercera, el cual es activado por el equipo de control y está preparado para apresar soportes de recipientes de muestras y transportarlos hasta posiciones deseadas sobre la placa de alojamiento.

A este fin, se propone como perfeccionamiento que el mecanismo de agarre esté preparado para depositar recipientes de muestras en el termociclador o para extraerlos de éste.

Se piensa también a este respecto en que el mecanismo de agarre esté dispuesto en el brazo de trabajo o esté previsto en otro brazo de trabajo móvil con relación a la placa de alojamiento.

Se consigna que en el sistema de procesamiento de muestras están previstos, por supuesto, unos componentes de accionamiento correspondientes, incluidos engranajes pertinentes, tales como, por ejemplo, motores eléctricos, accionamientos hidráulicos o neumáticos y similares, para posibilitar los movimientos deseados del dispositivo de dosificación, el mecanismo de agarre, el elemento de cierre del termociclador y similares. Estos componentes de accionamiento se activan preferiblemente por el equipo de control.

El problema que sirve de base a la invención se resuelve también con un procedimiento para controlar un sistema de procesamiento de muestras anteriormente presentado, comprendiendo el procedimiento los pasos siguientes:

- abrir el elemento de cierre de un primer termociclador;
- depositar un soporte de recipientes de muestras que contiene recipientes de muestras en el primer termociclador por medio del mecanismo de agarre, estando los recipientes de muestras llenos de líquido de muestra o sin llenar,
- eventualmente, llenar los recipientes de muestras con líquido de muestra a analizar por medio del dispositivo de pipeteado;
- preferiblemente, llenar los recipientes de muestras con otros componentes necesarios para el análisis, como, por ejemplo, un cebador, polimerasa, agua y similares, por medio del dispositivo de pipeteado;
- realizar un proceso PCR, en el que se abre o se cierra el elemento de cierre del primer termociclador en función de los pasos del proceso PCR que deben realizarse y en el que, en función de la posición del elemento de cierre, se dispensa por medio del dispositivo de pipeteado al menos otro componente hacia los recipientes de muestras situados en el primer termociclador.

El procedimiento propuesto hace posible el pipeteado de líquidos o componentes (de reacción) mientras los recipientes de muestras se encuentran en un termociclador que puede abrirse o cerrarse de manera automatizada con el elemento de cierre. Las operaciones de pipeteado se efectúan con el elemento de cierre abierto. Es evidente que el elemento de cierre se abre también para extraer un recipiente del soporte de muestras después de concluido un proceso PCR, sin que tenga lugar entonces una operación de pipeteado. Esto quiere decir que la dependencia entre la posición del elemento de cierre y una operación de pipeteado no tiene que entenderse en el sentido de que a cada apertura el elemento de cierre debe tener lugar también una operación de pipeteado. Por el contrario, puede tener lugar una operación de pipeteado con el elemento de cierre abierto cuando esto sea necesario para el proceso PCR.

Asimismo, el procedimiento puede comprender la disposición o retirada preferiblemente automática de un elemento de junta que selle los recipientes de muestras, tal como, por ejemplo, una esterilla de junta o similar, sobre el soporte de recipientes de muestras, en función del proceso PCR y la posición del elemento de cierre.

5 Este elemento de junta impide la evaporación de líquido de muestra o de fracciones fácilmente volátiles de una muestra a analizar cuando ésta se calienta durante el proceso PCR a temperaturas de hasta aproximadamente 95°C. Este elemento de junta debe retirarse antes de una operación de pipeteado, lo que se efectúa preferiblemente de manera automatizada, por ejemplo por medio del mecanismo de agarre o de un dispositivo especialmente configurado para ello que esté previsto en el sistema de procesamiento de muestras.

10 Una vez concluido un paso determinado del proceso PCR se puede abrir el elemento de cierre del primer termociclador, se puede retirar el elemento de junta preferiblemente dispuesto sobre los recipientes de muestras y se puede aspirar de los recipientes de muestras líquido de muestra procesado por medio del dispositivo de pipeteado y se puede dispensar este líquido hacia otros recipientes de muestras especialmente vacíos fuera del primer termociclador, estando dispuestos los otros recipientes de muestras preferiblemente en un soporte de recipientes de muestras que está dispuesto preferiblemente en un segundo termociclador especialmente contiguo o
15 sobre la placa de alojamiento.

El procedimiento puede comprender también: la dispensación de otro componente hacia los recipientes de muestras contenido en los termocicladores primero y/o segundo por medio del dispositivo de pipeteado, la disposición del elemento de junta sobre los recipientes de muestras después de la operación de pipeteado, el cierre del elemento de cierre de los termocicladores primero y/o segundo y la realización de otros pasos del proceso PCR.

20 A continuación, se describe la invención a título de ejemplo y de manera no limitativa con ayuda de una forma de realización.

La figura 1 muestra en representación en perspectiva esquemática simplificada una forma de realización de un sistema de procesamiento de muestras.

25 La figura 2 muestra el sistema de procesamiento de muestras en una representación en alzado desde delante en la segunda dirección (Y).

La figura 3 muestra una representación parcial ampliada de la figura 2 correspondiente a la zona III allí representada con línea de trazos y puntos.

30 En la figura 1 se representa una forma de realización del sistema de procesamiento de muestras 10. Éste comprende una placa de alojamiento 12 y un brazo de trabajo 14 móvil en una primera dirección X a lo largo de un borde trasero 13 de la placa de alojamiento. El brazo de trabajo 14 comprende un soporte 16 que se extiende en una tercera dirección Z y un aguilón 18 fijado al soporte 16. El aguilón 18 se extiende en una segunda dirección Y hasta más allá de la placa de alojamiento 12. En un extremo delantero 20 del aguilón 18 puede verse una suspensión 22 con rodillos 24 que están alojados en guías correspondientes no representadas aquí.

35 En el brazo de trabajo 12, especialmente en su aguilón 18, están previstas varias unidades de pipeteado 31 correspondientes a todo el dispositivo de pipeteado 30, las cuales tienen un respectivo canal de pipeteado 32. En la figura 1 se han representado en la dirección X a ambos lados del aguilón 18, por motivos de una mayor claridad, solamente cuatro respectivas unidades de pipeteado 31. En general, pueden estar previstas hasta ocho unidades de pipeteado 31 en un lado del aguilón 18. Los canales de pipeteado 32 representados, al menos los cuatro delanteros en la dirección Y, están representados sin unidad de pipeteado correspondiente 31. El número de unidades de pipeteado 31 se ajusta a una configuración deseada del dispositivo de pipeteado 30 o de todo el sistema de
40 procesamiento de muestras 10; es imaginable también que esté previsto un dispositivo de pipeteado 30 solamente en un lado del aguilón 18. Las unidades de pipeteado 31 son móviles en la dirección Y a lo largo del aguilón 18 y los canales de pipeteado 32 son móviles adicionalmente en la dirección Z.

45 Sobre la placa de alojamiento 12 están montados a distancias regulares unos elementos de guía 34 en los que pueden disponerse a manera de columnas/filas unos soportes de recipientes de muestras (por ejemplo soportes para tubitos de reactivo, placas PCR, etc.), soportes para puntas de pipeteado desechables no usadas, recipientes de reserva para componentes de reacción a pipetear y similares. A lo largo de un borde delantero 15 de la placa de alojamiento están dispuestas unas placas de soporte 36 sobre las cuales pueden habilitarse, por ejemplo, soportes de recipientes de muestras que pueden moverse entonces hacia la placa de soporte 12 (en la dirección Y) por medio
50 de un dispositivo de equipamiento automático 36 (eventualmente con lector de códigos de barras o similares).

La zona especialmente abordable de la placa de alojamiento 12, utilizable por el dispositivo de pipeteado 30, está formada por el borde trasero 13, el borde delantero 15 y los bordes laterales 17. El dispositivo de pipeteado 30 puede moverse especialmente hasta más allá del borde derecho 17 en la dirección X para que, detrás de un

elemento de separación 40, puedan echarse puntas de pipeteado desechables en un contenedor de basura (no representado) previsto en un sujetador 42.

En el sistema de procesamiento de muestras 10 están representados a modo de ejemplo y de manera puramente esquemática dos termocicladores 50, 52 dispuestos en el borde izquierdo 17 de la placa de alojamiento. Los termocicladores 50, 52 están dispuestos en la zona útil de la placa de alojamiento 12. Los termocicladores 50, 52 disponen de sendos elementos de cierre 54 que son preferiblemente móviles en dirección paralela a la placa de alojamiento 12 entre una posición de apertura y una posición de cierre. El elemento de cierre 54 para el termociclador 50 está representado en una posición aproximadamente semiabierto. El termociclador 52 muestra el elemento de cierre 54 en su posición de cierre. En los termocicladores 50, 52 pueden alojarse soportes de recipientes de muestras no representados, como, por ejemplo, placas PCR, en un espacio interior 56 para procesar muestras contenidas en recipientes de muestras (pocillos) correspondientes, por ejemplo en el marco de un procedimiento PCR.

Haciendo referencia a la representación en alzado de la figura 2 y al fragmento ampliado de la figura 3 se puede ver que el termociclador 50 presenta un punto más alto 58 o una altura máxima H por encima de la placa de alojamiento 12. Esta altura (distancia) H entre el punto más alto 58 o el lado superior del termociclador 50 y la placa de alojamiento 12 es más pequeña que una distancia máxima posible HP de un extremo inferior de una punta de pipeteado 33 que está fijado a un canal de pipeteado 32. Es así posible que se puedan realizar operaciones de pipeteado por medio del dispositivo de pipeteado 30 en recipientes de muestras que se encuentran en el termociclador 50. La altura HP entre la placa de alojamiento 12 y la punta de pipeteado 33 puede denominarse también altura de rebasamiento. Las distancias H y HP representadas en la figura 3 son puramente esquemáticas y se dan a modo de ejemplo. Las diferencias entre estas dos distancias pueden ser también más pequeñas. En general, se parte de la consideración de que la diferencia entre las distancias H y HP asciende a unos pocos milímetros, preferiblemente menos de 5 milímetros. Por tanto, el termociclador 50 o 52 está dispuesto en la placa de alojamiento de tal manera que el dispositivo de pipeteado 30 (con canal de pipeteado 32 y punta de pipeteado 33, ambos representados con línea de trazos) puede moverse hasta una posición que haga posible una operación de pipeteado por encima de recipientes de muestras que se encuentren en el termociclador 50, 52.

Es de hacer notar también como ventajoso que el elemento de cierre 54 no llega, por efecto de su movimiento sustancialmente horizontal hacia una posición de apertura, hasta la zona situada por encima de la placa de alojamiento 12, que es mayor que la distancia HP. La dirección de movimiento del elemento de cierre 54 hacia la izquierda (alejándose de la placa de alojamiento), insinuada en el ejemplo de la figura 1, es ventajosa debido a que el elemento de cierre en su posición de apertura no penetra en la zona útil de la placa de alojamiento 12. Sin embargo, son imaginables también, naturalmente, otras direcciones de movimiento, por ejemplo en la dirección X. Se puede pensar también en una especie de elemento de cierre escamoteable que esté subdividido en varios segmentos móviles uno con respecto a otro y que pueda moverse hacia abajo a lo largo de la carcasa del termociclador, por dentro o por fuera de dicha carcasa, para liberar el espacio interior del termociclador. La realización monopieza del elemento de cierre 54, representada en el ejemplo, es también solamente opcional. El elemento de cierre puede estar formado también por dos piezas que puedan cubrir cada una de ellas la mitad del espacio interior y que puedan moverse en direcciones contrarias o en la misma dirección y eventualmente enchufarse una sobre otra. Por lo demás, el elemento de cierre 54 se mueve ventajosamente de manera automática entre su posición de apertura y su posición de cierre por medio de un componente de accionamiento correspondiente.

En la figura 2 se puede ver igualmente que se puede emplear también un termociclador 50' con una altura de construcción mayor. Este termociclador tendría que embutirse en un hueco no representado de la placa de alojamiento 12, con lo que una parte inferior 51' del termociclador 50', representada con línea de trazos, puede disponerse por debajo de la placa de alojamiento 12. Sin embargo, en este caso es especialmente ventajoso también para el sistema de procesamiento de muestras 10 que el punto más alto 58 del termociclador 50' presente una distancia H (figura 3) a la placa de alojamiento 12 más pequeña que la distancia HP (figura 3). La distancia máxima HP entre el extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado 33 y la placa de alojamiento 12 es de aproximadamente 100 mm a 180 mm, con preferencia aproximadamente 125 mm a 150 mm. Por tanto, el punto más alto 58 o el lado superior del termociclador 50, 50', 52 tiene, por ejemplo, una distancia H a la placa de alojamiento 12 de aproximadamente 95 mm a 175 mm, con preferencia aproximadamente 120 mm a 145 mm.

Para mover soportes de recipientes de muestras (placas PCR) hacia un termociclador o para retirarlos de éste puede estar previsto también un mecanismo de agarre (no representado) en el brazo de trabajo 14 o en el aguilón 18. Este mecanismo de agarre puede estar formado, por ejemplo, por dos pinzas que pueden montarse en canales de pipeteado 32 en lugar de puntas de pipeteado, con lo que se puede apresar y transportar un recipiente del soporte de muestras por medio de estos dos canales de pipeteado con pinzas. Tan pronto como se han concluido tales transportes de soportes de recipientes de muestras, las pinzas pueden disponerse en una posición determinada sobre la placa de alojamiento, quedando así en una situación de disponibilidad, y los canales de

pipeteado pueden recibir nuevamente puntas de pipeteado. Por supuesto, se puede utilizar también un mecanismo de agarre separado de los canales de pipeteado. Es imaginable también un mecanismo de agarre dispuesto por fuera de la placa de alojamiento, pero que alcance al menos parcialmente la zona útil de la placa de alojamiento.

5 A continuación, se describen flujos de trabajo (workflows) I-III que necesitan un dispositivo PCR, en el que sea posible un elemento de cierre (tapa) 54 en momentos cualesquiera durante el proceso PCR o el proceso de incubación. En estos flujos de trabajo se puede utilizar de manera ventajoso un sistema de procesamiento de muestras 10 como el que se ha representado a modo de ejemplo en las figuras 1 a 3. El flujo de trabajo total descrito sirve puramente de ejemplo y comprende una reacción PCR (flujo de trabajo I), un paso de limpieza (clean-up) (flujo de trabajo II) y una organización de una reacción de secuenciación (flujo de trabajo III). En todos estos flujos de trabajo se realizan las operaciones de pipeteado necesarias en la zona del termociclador 50, es decir, en recipientes de muestras contenidos en el termociclador. No es necesario que los recipientes de muestras o los soportes de recipientes de muestras sean retirados del termociclador para llevarlos a otra posición con miras a realizar una operación de pipeteado. Dado que el elemento de cierre 54 puede ser abierto en cualquier momento durante un paso de temperatura, es posible según el flujo de trabajo I, por ejemplo, una llamada PCR de arranque en caliente. 15 También puede ejecutarse directamente en el termociclador un proceso de limpieza (flujo de trabajo II) sin que los recipientes de muestras o los soportes de recipientes de muestras correspondientes tengan que retirarse del termociclador. Según el flujo de trabajo III, se puede pipetear una parte alícuota del producto PCR depurado en otro recipiente de muestras de otro soporte de recipiente de muestras, habiéndose colocado automáticamente el otro soporte de recipientes de muestras en otro termociclador (por ejemplo el termociclador 52) dispuesto en la zona de la placa de alojamiento. Se pipetea entonces la reacción de secuenciación cíclica y se ejecuta el programa correspondiente. Como alternativa, se pipetea directamente una parte alícuota del producto PCR (no depurado) (según el flujo de trabajo I) en otros recipientes de muestras de otro soporte de recipientes de muestras en otro termociclador. El proceso de limpieza se realiza después directamente en el otro termociclador con secuenciación subsiguiente de esta parte alícuota depurada en el otro termociclador.

25 El flujo de trabajo I, denominado "PCR de arranque en caliente", puede desarrollarse como sigue:

1. Se abre el elemento de cierre (tapa) 54 del termociclador 50.
2. Se coloca una placa PCR vacía (soporte de recipientes de muestra) por medio del mecanismo de agarre automático en el termociclador abierto 50 que está dispuesto en la zona de la placa de alojamiento 13, llamada "sobre cubierta".
- 30 3. Se añaden líquido de muestra y componentes PCR (mezcla madre, cebador) por medio del dispositivo de pipeteado 30.
4. Se inicia la primera fase del perfil de reacción PCR a 95°C para la desnaturalización.
5. Cuando la temperatura está situada por encima de la temperatura de recocido para el cebador, se añade la Taq-polimerasa o algún otro componente esencial para la mezcla de reacción PCR a los recipientes de muestras (pocillos) por medio del dispositivo de pipeteado 30.
- 35 6. Típicamente, se dispensa un pequeño volumen (aproximadamente 1-2 µl) hacia los recipientes de muestras. Debido a la alta temperatura del líquido en los recipientes de muestras se favorece la dispensación por medio de un sistema de control/regulación basado en la presión del canal de pipeteado 32 (como, por ejemplo, los sistemas MAD o ADC conocidos por la solicitante) para alcanzar la adición (dispensación) eficiente de la pequeña cantidad de la Taq-polimerasa y para impedir que, al mover la punta de pipeteado 33 hacia fuera del líquido de muestra, no pueda penetrar líquido de muestra en la punta de pipeteado (desechable).
- 40 7. El proceso de desnaturalización necesita en general 2 minutos. Dependiendo de la configuración del dispositivo de pipeteado 30 con canales de pipeteado 32 se debe dispensar al mismo tiempo la Taq-polimerasa (o algún otro componente esencial para la mezcla de reacción PCR) hacia tantos recipientes de muestras como sea posible. Idealmente, se utiliza una placa PCR (soporte de recipientes de muestras) con 96 pocillos (recipientes de muestras), empleándose un dispositivo de pipeteado 30 con 8 canales de pipeteado 32.
- 45 8. Después de un paso de pipeteado se cubre la placa PCR (soporte de recipientes de muestras con los recipientes de muestras) con una esterilla de junta (elemento de junta) y se cierra automáticamente el elemento de cierre del termociclador.
- 50 9. Se realizan los ciclos del proceso PCR y se recorre, por ejemplo 30 veces, el perfil de temperatura siguiente: 15 segundos a 95°C, seguido por 30 segundos a la temperatura de recocido, que depende del cebador empleado, y seguido por un paso de 72°C para la polimerización, durante un minuto por 1 kb (1000 pares de bases) de la secuencia de ácidos nucleicos a polimerizar.

ES 2 729 604 T3

El flujo de trabajo II, denominado “retirada de dNTP y cebador no incorporados por Exo SAP IT”, puede describirse como sigue:

1. Después de que haya concluido la reacción PCR, se abre el elemento de cierre 54 y se retira el elemento de junta.
- 5 2. Se emplea Exo SAP IT (marca registrada de Affymetrix Inc) para destruir cebadores y dNTPs no fijados. Por cada 5 µl de líquido de reacción PCR se añaden 2 µl de Exo SAP IT a cada recipiente de muestras por medio del dispositivo de pipeteado 30.
3. Se coloca el elemento de junta sobre la placa PCR (soporte de recipientes de muestras) y se cierra el elemento de cierre 54 del termociclador 50.
- 10 4. Incubación a 37°C durante 15 minutos para la limpieza (clean-up) de la PCR.
5. Incubación a 80°C durante 15 minutos para la destrucción de la enzima Exo SAP IT.
6. Enfriamiento de la reacción.

El flujo de trabajo III puede desarrollarse como sigue:

- 15 1. Después de la limpieza (clean-up) se abre el elemento de cierre 54 del termociclador 50 y se retira el elemento de junta.
2. Se pipetea una cantidad necesaria del producto PCR en otra placa PCR vacía que se encuentra en un segundo termociclador 52 dispuesto en/sobre la placa de alojamiento 12.
3. Se pipetea la mezcla de reacción de secuenciación cíclica “BigDye Terminador” (marca registrada de la firma life technologies) sobre las muestras (especímenes) extraídas.
- 20 4. Se dispone un elemento de junta sobre la placa PCR y se cierra el elemento de cierre 54 del segundo termociclador 52.
5. Se realiza el programa de secuenciación cíclica por medio del segundo termociclador 52.

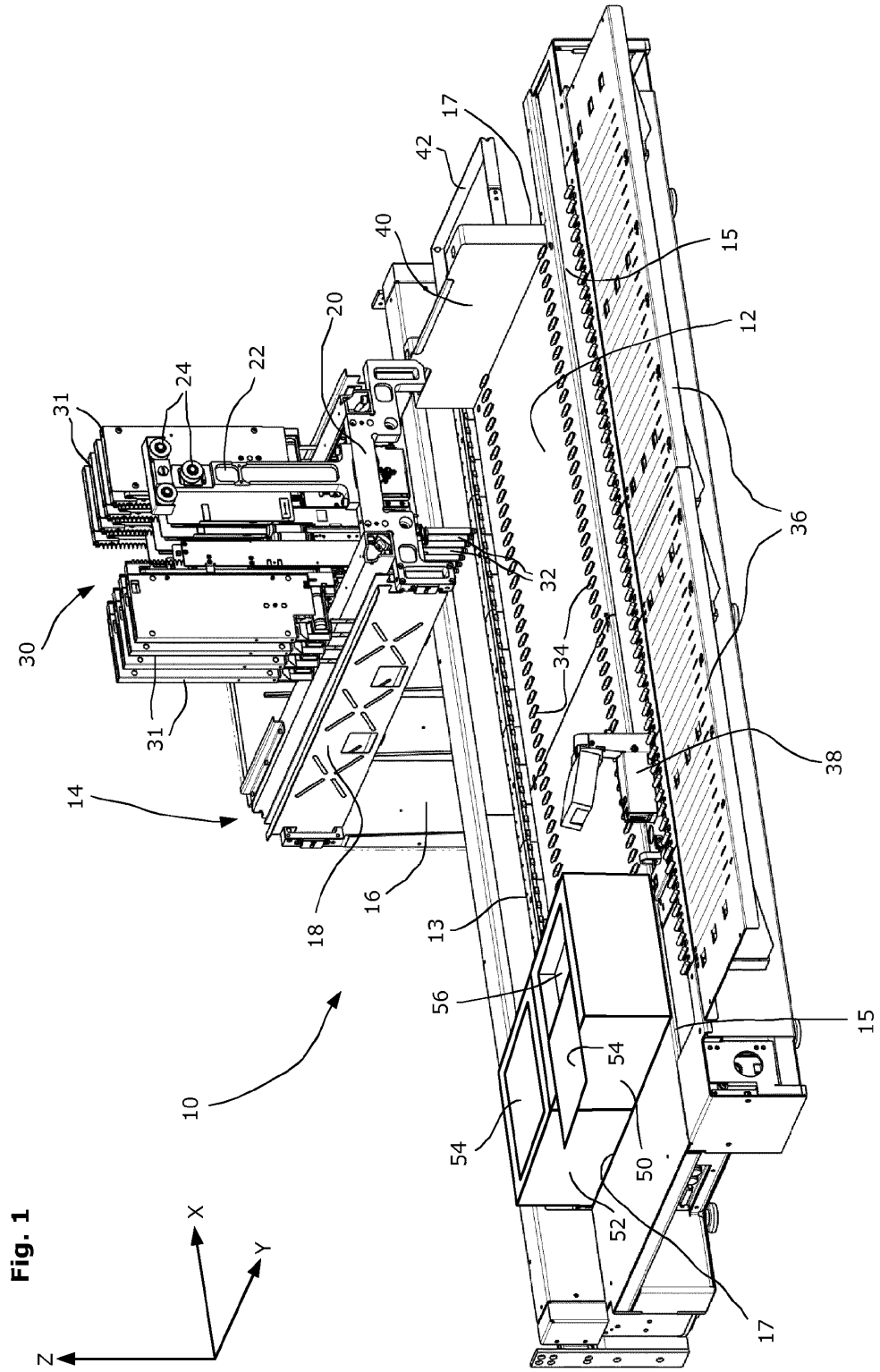
Finalmente, se consigna que el sistema de procesamiento de muestras 10 comprende un equipo de control no representado ni tampoco descrito con detalle, tal como, por ejemplo, un ordenador, mediante el cual se puedan
25 activar todos los movimientos del dispositivo de pipeteado y un mecanismo de agarre. Asimismo, el equipo de control puede activar también el termociclador o los termocicladores 50, 50', 52 para realizar los ciclos deseados. Como alternativa, el equipo de control puede estar unido con un sistema de control/regulación interno de los termocicladores a través de una interfaz correspondiente. Las partes móviles, como, por ejemplo, el brazo de
30 trabajo, el dispositivo de pipeteado, los canales de pipeteado, el mecanismo de agarre, el elemento de cierre de los termocicladores y similares, se mueven con ayuda de medios de accionamiento adecuados, pudiendo ser activados también los medios de accionamiento por el equipo de control.

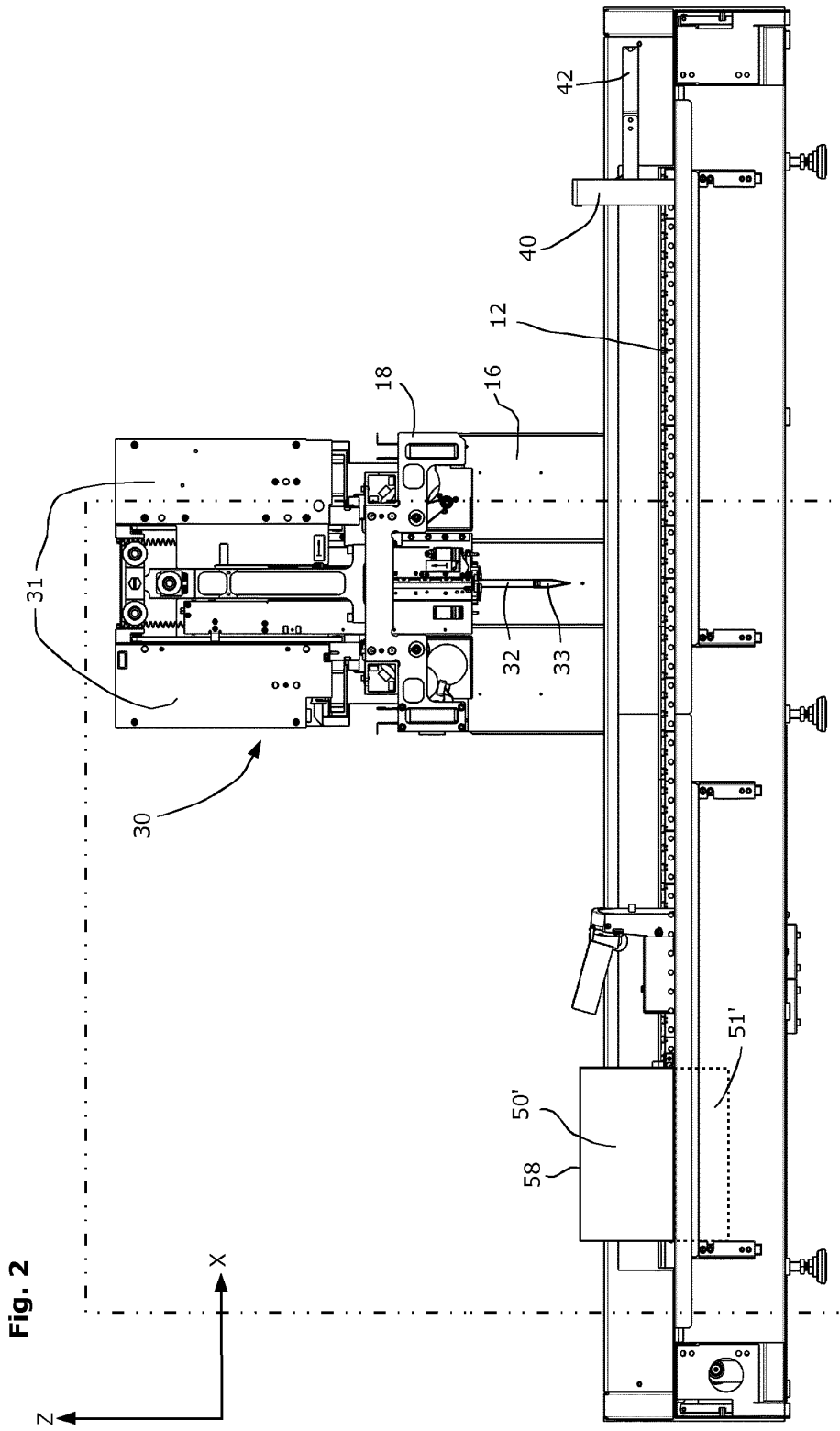
El sistema de procesamiento de muestras descrito hace posible una realización integrada de procedimientos PCR, incluidas todas las operaciones de pipeteado que tienen que realizarse durante el proceso PCR. Los recipientes de
35 muestras integrados en el proceso PCR permanecen en el termociclador cuando son necesarios pasos de pipeteado. Por tanto, el procedimiento completo puede realizarse de forma más fuertemente automatizada y más eficiente.

REIVINDICACIONES

1. Sistema de procesamiento de muestras para procesar muestras químicas o biológicas, especialmente líquidos corporales, como sangre, saliva, secreciones y similares, o muestras de tejidos, especialmente para procesar muestras para un análisis de ADN por medio de PCR, que comprende un dispositivo de dosificación
- 5 con una placa de alojamiento (12), en el que la placa de alojamiento (12) está dispuesta sustancialmente horizontal en un plano definido por una primera y una segunda dirección (X, Y);
- con al menos un brazo de trabajo (14, 16, 18) que es móvil en la primera dirección (X) con relación a la placa de alojamiento (12), preferiblemente a lo largo de un primer borde (13) de la placa de alojamiento (12), y en el que el brazo de trabajo (14, 16, 18) se extiende en la segunda dirección (Y) hasta más allá de
- 10 la placa de alojamiento (12), en el que está montado en el brazo de trabajo (14, 16, 18) al menos un dispositivo de pipeteado (30) móvil en la segunda dirección (Y), en el que el dispositivo de pipeteado (30) comprende al menos un canal de pipeteado (32) móvil en una tercera dirección (Z) ortogonal a las direcciones primera y segunda (X, Y) y dotado de una punta de pipeteado (33) instalada o instalable en el mismo, y en el que el dispositivo de pipeteado (30) está preparado para dispensar líquido hacia un
- 15 recipiente de muestras o para aspirarlo de éste;
- y al menos un termociclador (50, 52) que está previsto en la zona de la placa de alojamiento (12),
- caracterizado** por que el termociclador (50, 52) está dispuesto en la placa de alojamiento (12) de tal manera que el dispositivo de pipeteado (30) pueda ser movido durante un proceso PCR hasta una posición que posibilita una operación de pipeteado por encima de recipientes de muestras que se encuentran en el termociclador (50, 52).
- 20 2. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 1, **caracterizado** por que comprende también un equipo de control que está preparado para activar o regular las funciones del dispositivo de dosificación, como, por ejemplo, un movimiento en las tres direcciones y/o una aspiración o dispensación de líquido por medio del dispositivo de pipeteado (30), y las funciones del termociclador (50, 52), como, por ejemplo, la realización de ciclos en el marco de un proceso PCR.
- 25 3. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado** por que el termociclador (50, 52) está dispuesto sobre la placa de alojamiento (12), estando situado un punto más alto (58) del termociclador por debajo de una distancia máxima posible (HP) entre un extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado (33) y la placa de alojamiento (12) y posibilitándose la distancia (HP) por medio de un movimiento del dispositivo de pipeteado (30) o del canal de pipeteado (32) en la tercera dirección (Z).
- 30 4. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado** por que el termociclador (50') está embutido en un hueco practicado en la placa de alojamiento (12) de tal manera que un lado inferior (51') del termociclador (50') esté por debajo de la placa de alojamiento (12), estando situado un punto más alto (58) del termociclador (50') por debajo de una distancia máxima posible (HP) entre un extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado (33) y la placa de alojamiento (12) y posibilitándose la distancia (HP) por medio de un
- 35 movimiento del dispositivo de pipeteado (30) o del canal de pipeteado (32) en la tercera dirección (Z).
5. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 3 o 4, **caracterizado** por que la distancia máxima (HP) entre el extremo inferior de la al menos una punta de pipeteado (33) y la placa de alojamiento (12) es de aproximadamente 100 mm a 180 mm, con preferencia aproximadamente 125 mm a 150 mm.
- 40 6. Sistema de procesamiento de muestras según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** por que en el termociclador (50, 52) está previsto un elemento de cierre (54) a manera de tapa para cubrir recipientes de muestras contenidos en el termociclador (50, 52), pudiendo moverse el elemento de cierre (54) con relación al termociclador (50, 52) en una dirección sustancialmente paralela a la placa de alojamiento (12) entre una posición de apertura que libera el interior (56) del termociclador (50) y una posición de cierre que cubre el interior (56) del termociclador (54).
- 45 7. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 6, **caracterizado** por que el equipo de control está preparado de tal manera que el elemento de cierre (54) del termociclador (50, 52) se mueva hasta su posición de apertura o de cierre en función de la posición relativa del dispositivo de pipeteado (30) con respecto al termociclador (50, 52), preferiblemente de tal manera que el elemento de cierre (54) se mueva hasta su posición de apertura cuando se realice por medio del dispositivo de pipeteado (30) una operación de pipeteado en recipientes de
- 50 muestras contenidos en el termociclador (50, 52), y el elemento de cierre (54) se mueva hasta su posición de cierre después de que haya concluido la operación de pipeteado en recipientes de muestras contenidos en el termociclador (50, 52).

8. Sistema de procesamiento de muestras según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende también un mecanismo de agarre móvil con relación a la placa de alojamiento (12) en las direcciones primera, segunda y tercera, el cual es activado por el equipo de control y está preparado para apresar soportes de recipientes de muestras y transportarlos hasta posiciones deseadas sobre la placa de alojamiento (12).
- 5 9. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 8, **caracterizado** por que el mecanismo de agarre está preparado para depositar soportes de recipientes de muestras en el termociclador (50, 52) o para extraerlos de éste.
- 10 10. Sistema de procesamiento de muestras según la reivindicación 8 o 9, **caracterizado** por que el equipo de agarre está dispuesto en el brazo de trabajo (14, 16, 18) o está previsto en otro brazo de trabajo móvil con relación a la placa de alojamiento (12).
11. Procedimiento para controlar un sistema de procesamiento de muestras según cualquiera de las reivindicaciones anteriores por medio de su equipo de control asociado, que comprende los pasos de:
- abrir el elemento de cierre (54) de un primer termociclador (50);
- 15 depositar un soporte de recipientes de muestras que contiene recipientes de muestras en el primer termociclador (50) por medio del mecanismo de agarre, estando los recipientes de muestras llenos de líquido de muestra o sin llenar;
- eventualmente, llenar los recipientes de muestras con líquido de muestra a analizar por medio del dispositivo de pipeteado (30);
- 20 preferiblemente, llenar los recipientes de muestras con otros componentes necesarios para el análisis, como, por ejemplo, cebador, polimerasa, agua y similares, por medio del dispositivo de pipeteado (30);
- realizar un proceso PCR, en el que se abre o se cierra el elemento de cierre (54) del primer termociclador (50) en función de los pasos del proceso PCR que deben realizarse, y en el que, en función de la posición del elemento de cierre (54), se dispensan otros componentes hacia los recipientes de muestras contenidos en el primer termociclador (50) por medio del dispositivo de pipeteado (30).
- 25 12. Procedimiento según la reivindicación 11, que comprende también la disposición o retirada preferiblemente automática de un elemento de junta que sella los recipientes de muestras, como, por ejemplo, una esterilla de junta o similar, sobre el soporte de recipientes de muestras en función del proceso PCR y la posición del elemento de cierre (54).
- 30 13. Procedimiento según la reivindicación 11 o 12, en el que, después de concluido un paso determinado del proceso PCR, se abre el elemento de cierre (54) del primer termociclador (50), se retira el elemento de junta dispuesto preferiblemente sobre los recipientes de muestras y se aspira de los recipientes de muestras, por medio del dispositivo de pipeteado (30), líquido de muestra procesado y se dispensa este líquido hacia otros recipientes de muestras especialmente vacíos situados por fuera del primer termociclador (50), estando dispuestos los otros recipientes de muestras en un soporte de recipientes de muestras que está dispuesto preferiblemente en un
- 35 segundo termociclador especialmente contiguo (52) o sobre la placa de alojamiento (12).
14. Procedimiento según la reivindicación 13, que comprende también la dispensación de otro componente hacia los recipientes de muestras contenidos en los termocicladores primero y/o segundo (50) por medio del dispositivo de pipeteado, la disposición del elemento de junta sobre los recipientes de pipeteado después de la operación de pipeteado, el cierre del elemento de junta (54) de los termocicladores primero y/o segundo (50) y la realización de
- 40 otros pasos del proceso PCR.





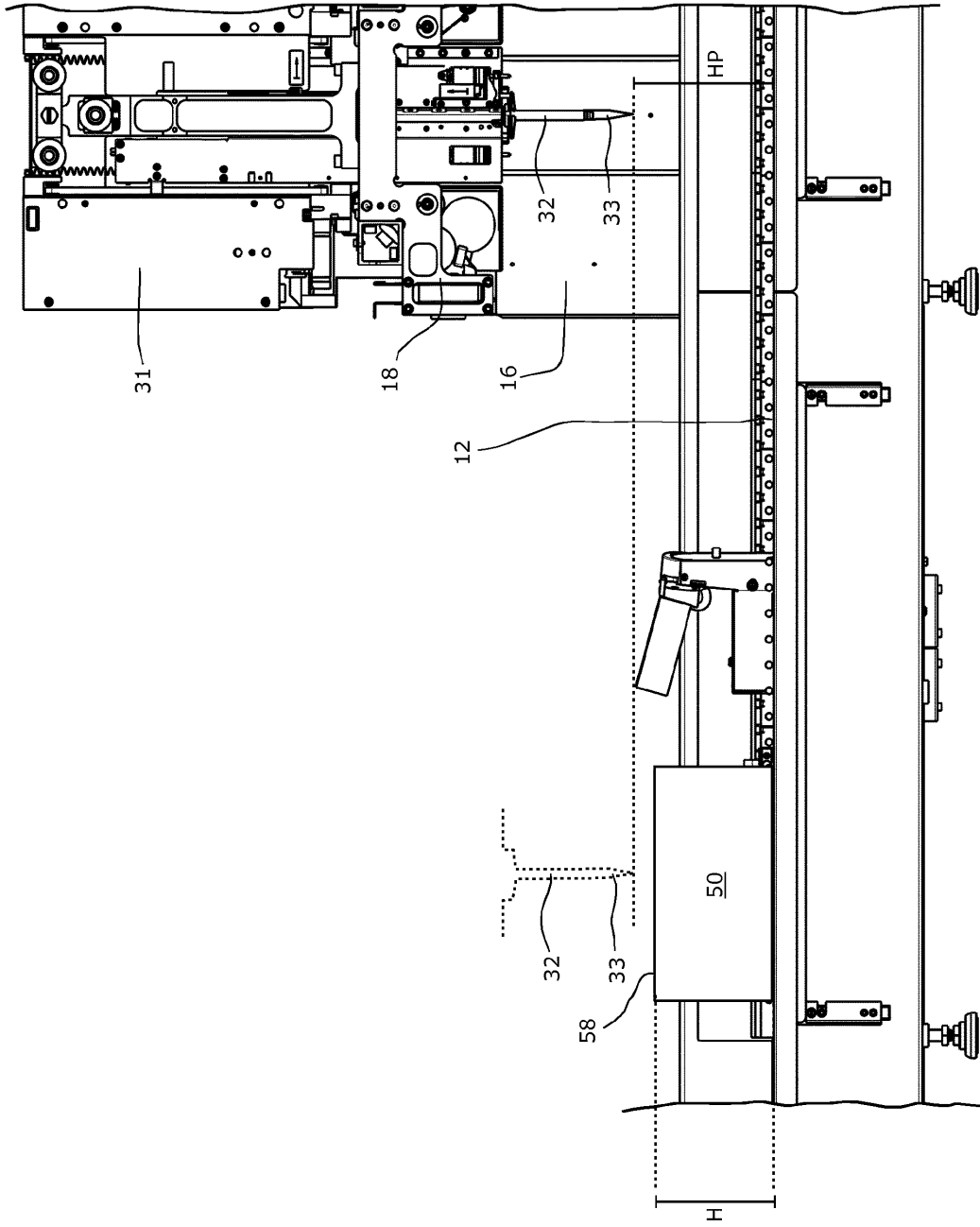


Fig. 3