(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 764 276**

(51) Int. CI.:

B01L 3/00 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2008.01)
C12Q 1/6879 (2008.01)
A01K 45/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.08.2015 PCT/IB2015/055903**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016 WO16020838**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.08.2015 E 15753197 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3177917**

(54) Título: **Dispositivo de análisis genómico y métodos de uso**

(30) Prioridad:

04.08.2014 US 201462032882 P
05.08.2014 US 201462033279 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.06.2020

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

DALTON, MARK;
DALY, JOHN;
MCCABE, MARK;
WALSH, PADRAIG;
DAULNAY, KEVIN;
MCGUIRE, DAVID;
KERIN, MARIA;
O'CONNOR, MARIA;
KING, COLIN y
MOONEY, KEITH

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Dispositivo de análisis genómico y métodos de uso

INTRODUCCIÓN

El análisis genómico es aplicable a muchos campos diversos, incluyendo agricultura, epidemiología, genética molecular y la industria de la salud.

El análisis genómico se usa, por ejemplo, en el genotipado de una muestra biológica, que es un proceso en el que se utilizan secuencias de ADN para definir poblaciones biológicas mediante el uso de herramientas moleculares. Estas herramientas moleculares generalmente determinan la composición genética (conjunto completo de genes) de una célula, un organismo o un individuo con referencia a un solo rasgo, un conjunto de rasgos o una serie completa de rasgos. Un rasgo puede existir en dos formas alélicas; uno es dominante (por ejemplo, A) y el otro recesivo (por ejemplo, a). En base a esto, podría haber tres genotipos posibles para un rasgo particular: AA (homocigoto dominante), Aa (heterocigoto) y aa (homocigoto recesivo). El genotipado se puede realizar a través de una variedad de métodos diferentes, dependiendo de las variantes de interés y los recursos disponibles.

En la agricultura, los ensayos genéticos para la clasificación por género son valiosos. En estos procesos, las secuencias de ácido nucleico se utilizan para definir poblaciones biológicas de género utilizando herramientas moleculares. El mercado actual de clasificación de género aviar se realiza manualmente.

Uno de los métodos más comunes para el análisis genómico es la detección por RPC (reacción de polimerasa en cadena). El método se basa en ciclos térmicos, ADN polimerasa, cebadores (fragmentos de ADN cortos complementarios a la región de interés objetivo). El ciclo térmico consiste en ciclos repetidos de calentamiento y enfriamiento de la reacción para la fusión del ADN y la replicación enzimática del ADN. El ADN replicado es detectable por muchos métodos, siendo el más común mediante el uso de sondas marcadas con fluorescencia que son específicas de cada alelo. Hasta la fecha, se han realizado algunos avances para automatizar completamente el proceso, pero generalmente el genotipado requiere varios instrumentos y procesos manuales para completarse. El genotipado generalmente se realiza en placas de 96 pozos estáticos con volúmenes típicos que varían de 1 microlitro a 20 microlitros.

En el documento US2012045765 (A1) se describe un método de manipulación de muestras que incluye extraer un líquido de encapsulación de una entrada de líquido de encapsulación; descargar el líquido (a) de encapsulación extraído sobre una superficie libre de un líquido portador en un conducto de líquido portador que comprende una característica de estabilización y (b) próximo a la característica de estabilización, siendo el líquido de encapsulación inmiscible con el líquido portador, de modo que la descarga del líquido de encapsulación no se mezcla con el líquido portador, flota sobre el líquido portador y queda inmovilizado por la característica de estabilización; extraer una muestra de líquido de una muestra de entrada de líquido; y descargar el líquido de muestra extraído, siendo el líquido de muestra inmiscible con el líquido de encapsulación y con el líquido portador, de modo que el líquido de muestra no se mezcle con el líquido de encapsulación o con el líquido portador.

Sumario

La invención es un sistema completo para realizar un ensayo de análisis genómico de alto rendimiento realizado en células de líquido compuesto (CLC). Como se usa en este documento, "célula líquida compuesta" se refiere a una configuración en la que una alícuota de una muestra acuosa (o fluido objetivo) se encapsula en un fluido de encapsulación hidrofóbico, los cuales se encuentran en la superficie libre de un fluido portador hidrofóbico que es inmiscible tanto con la muestra acuosa como con el fluido encapsulante. En el presente sistema, las CLC se procesan y manipulan a presión ambiente, aunque los líquidos que componen las CLC se pueden dispensar o recuperar de las CLC bajo presión positiva o negativa, respectivamente.

Los aspectos de la presente descripción incluyen un dispositivo de análisis genómico completo, el dispositivo comprende: un módulo del chip térmico que comprende múltiples ubicaciones de células de líquido compuesto (CLC) independientes; una Estación de producción de CLC configurada para acceder a cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico; un lugar de recepción de muestra; un lugar de recepción de reactivos; un manipulador de líquido controlado robóticamente configurado para transferir líquido entre la ubicación de recepción de muestra, la ubicación de recepción de reactivo y el módulo del chip térmico; y una estación de interrogación configurada para interrogar cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico.

En ciertas realizaciones, el módulo del chip térmico comprende de 1400 a 3000 ubicación de CLC independiente.

En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende una tapa accionada mecánicamente para el módulo del chip térmico.

En ciertas realizaciones, la ubicación de recepción de reactivo está configurada para recibir una placa de ensayo y una placa de mezcla maestra.

En ciertas realizaciones, la ubicación de recepción de reactivo está configurada para recibir múltiples placas de ensayo.

En ciertas realizaciones, las placas de ensayo y mezcla maestra son placas de laboratorio estándar.

En ciertas realizaciones, el manipulador de líquido controlado robóticamente comprende cabezales intercambiables configurados para dispensar muestras, dispensar ensayos y dispensar mezclas maestras.

En ciertas realizaciones, la estación de producción de CLC está configurada para dispensar el vehículo y el fluido de encapsulación en las ubicaciones de CLC independientes y lavar las ubicaciones de CLC independientes.

En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende un módulo de fluidos que comprende depósitos de líquidos para fluidos del sistema y recogida de residuos.

En ciertas realizaciones, el dispositivo está acoplado operativamente a un escáner de código de barras.

En ciertas realizaciones, la estación de interrogación está configurada para detectar una señal óptica.

En ciertas realizaciones, la estación de interrogación está configurada para transmitir luz de excitación y recoger luz de emisión desde cada ubicación de CLC independiente en el módulo del chip térmico.

En ciertas realizaciones, la estación de interrogación comprende un sistema de detección basado en cámara.

En ciertas realizaciones, la luz de excitación es de un LED.

En ciertas realizaciones, la estación de interrogación detecta múltiples longitudes de onda de luz.

En ciertas realizaciones, el dispositivo es un dispositivo de genotipado. En ciertas realizaciones, la ubicación de recepción de muestra está configurada para recibir una placa de ensayo. En ciertas realizaciones, la placa de ensayo es una placa de laboratorio estándar. En ciertas realizaciones, la ubicación de recepción de muestra está configurada para recibir múltiples placas de muestra.

En ciertas realizaciones, el dispositivo es un dispositivo de sexado aviar. En ciertas realizaciones, la ubicación de recepción de la muestra está operativamente conectada a una unidad de muestreo de huevos (UMH) configurada para obtener muestras biológicas de múltiples huevos aviares. En ciertas realizaciones, las ubicaciones de CLC independientes del módulo del chip térmico están dispuestas en múltiples racimos que están espaciados en un lugar configurado para recibir las muestras biológicas de los múltiples huevos aviares. En ciertas realizaciones, cada uno de los múltiples racimos comprende de 2 a 40 ubicación de CLC independiente. En ciertas realizaciones, el módulo del chip térmico comprende 84 racimos, cada uno de los cuales comprende 17 ubicación de CLC independiente. En ciertas realizaciones, el módulo del chip térmico comprende una tapa superior y una tapa inferior, en donde la tapa superior y la tapa inferior comprenden agujeros correspondientes a las ubicaciones de CLC independientes, en donde la tapa superior está fijada al módulo del chip térmico de manera que los agujeros están alineados con las ubicaciones de CLC independientes correspondientes y la tapa inferior está montada en un mecanismo que puede accionarse para compensar la alineación de los agujeros con la tapa superior para cerrar los agujeros en la tapa superior.

Los aspectos de la presente descripción incluyen métodos de análisis genético de una pluralidad de muestras biológicas, el método comprende: introducir una pluralidad de muestras biológicas en la ubicación de muestra de un dispositivo como se describe en el presente documento; operar el dispositivo para realizar un ensayo de genotipado: (i) generando una muestra de reacción de análisis genómico de CLC para cada una de la pluralidad de muestras biológicas en una ubicación de CLC independiente correspondiente del módulo del chip térmico; (ii) realizar una reacción en la muestra de reacción de análisis genómico de CLC ejecutando un programa térmico en el módulo del chip térmico; y (iii) detectar una señal de cada una de las muestras de reacción de análisis genómico de CLC en las ubicaciones de CLC independientes

correspondientes del módulo del chip térmico con la estación de interrogación; en donde la señal detectada para cada una de las muestras de reacción de análisis genómico de CLC es indicativa de una característica genética de cada una de la pluralidad de muestras biológicas.

En ciertas realizaciones, cada una de las muestras de reacción de análisis genómico de CLC está en un volumen total de 300 nl.

En ciertas realizaciones, el método comprende además introducir en el dispositivo una placa de ensayo que comprende un reactivo para realizar el ensayo de genotipado.

En ciertas realizaciones, se realizan múltiples ensayos de análisis genómicos diferentes.

En ciertas realizaciones, se introduce una placa de ensayo diferente en el dispositivo para cada uno de los múltiples ensayos de análisis genómico diferentes realizados.

En ciertas realizaciones, la etapa de generación comprende: operar la estación de producción de CLC para dispensar un fluido portador y un fluido de encapsulación en cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico; y operar el manipulador de líquido controlado robóticamente para: dispensar cada una de la pluralidad de muestras biológicas en una ubicación de CLC independiente correspondiente del módulo del chip térmico; dispensar un reactivo de ensayo en cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico; y dispensar un reactivo de mezcla maestra en cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico.

En ciertas realizaciones, el ensayo de análisis genómico es un ensayo de genotipado.

En ciertas realizaciones, el ensayo de análisis genómico es un ensayo de sexado aviar.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los aspectos de la descripción pueden entenderse mejor a partir de la siguiente descripción detallada cuando se lee junto con los dibujos adjuntos. En los dibujos se incluyen las siguientes figuras:

Las figuras 1 a 6 muestran ejemplos de dispositivos según aspectos de la presente descripción.

La figura 7 muestra un ejemplo de un cabezal dispensador de presión de muestra según aspectos de la presente descripción.

La figura 8 muestra un ejemplo de un módulo del chip térmico según aspectos de la presente descripción.

La figura 9 muestra un ejemplo de una estación de limpieza de cabezales según aspectos de la presente descripción que está configurada para el almacenamiento de muestras y cabezales de ensayo, recogida por el sistema de manejo de líquidos, y para contener baños fluidos de ensayo y muestra y baños de residuos.

La figura 10 muestra un ejemplo de un conjunto de un cabezal de ensayo según aspectos de la presente descripción.

La figura 11 muestra un ejemplo de un módulo del chip térmico según aspectos de la presente descripción.

La figura 12 muestra dos vistas de un módulo del chip térmico según aspectos de la presente descripción.

La figura 13 muestra un ejemplo de un dispositivo de sexado de huevos de aves según aspectos de la presente descripción que tiene una Unidad de Procesamiento de Ensayo (UPE; 20) conectada operativamente a una unidad de muestreo de huevos (UMH; 25) a través de un riel lineal (26) que permite la interacción y el movimiento del módulo (27) de chip térmico entre la UPE y la UMH.

La figura 14 muestra esquemas en primer plano de la estación (21) de dispensación del ensayo, la estación (22) de interrogación óptica, la estación (23) de reinicio de vacío/cabezal y la estación (24) de producción de CLC de la figura 13.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Como se resume anteriormente, los aspectos de la invención incluyen sistemas completos para realizar un ensayo de análisis genómico de alto rendimiento llevado a cabo en células de líquido compuesto (CLC). Como se usa en este documento, "celda líquida compuesta" se refiere a una configuración en la que una alícuota de una muestra acuosa (o fluido objetivo) se encapsula en un fluido de encapsulación hidrofóbico, los cuales se encuentran en la superficie libre de un fluido portador hidrofóbico que es inmiscible tanto con la muestra acuosa como con el fluido encapsulante. En el presente sistema, las CLC se procesan y manipulan a presión ambiente, aunque los líquidos que componen las CLC se pueden dispensar o recuperar de las CLC bajo presión positiva o negativa, respectivamente.

Antes de que la presente invención se describa con mayor detalle, debe entenderse que esta invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que tales pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado solo por las reivindicaciones adjuntas.

Donde se proporciona un rango de valores, se entiende que cada valor intermedio, a la décima parte de la unidad del límite inferior a no ser que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese rango y cualquier otro establecido o el valor intermedio en ese intervalo establecido está incluido dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños y también están incluidos dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Cuando el rango indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen uno o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en la invención.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la materia a la que pertenece esta invención. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos aquí también se puede usar en la práctica o prueba de la presente invención, ahora se describen métodos y materiales ilustrativos representativos.

DISPOSITIVOS Y MÉTODOS DE USO DEL MISMO PARA ENSAYOS GENÉTICOS

Como se resume anteriormente, los aspectos de la invención incluyen un dispositivo de análisis genómico completo. Como los dispositivos son dispositivos completos de preparación de análisis genómico, incluyen todos los componentes necesarios para realizar un análisis genómico de una muestra biológica inicial que contiene un componente de ácido nucleico, por ejemplo, una célula, un tejido, una muestra purificada o procesada, etc. En consecuencia, los dispositivos se configuran de modo que se pueda introducir una muestra biológica inicial en el dispositivo y se pueda realizar un protocolo de análisis genómico completo en el dispositivo y los resultados recuperados por un usuario, con poca o ninguna interacción del usuario con el dispositivo entre el momento de la introducción de la muestra y devolución de los resultados. Los dispositivos incluyen todo el manejo de líquidos y otros componentes necesarios para realizar un análisis genómico, como se detalla a continuación con mayor detalle. Los dispositivos están automatizados, ya que están configurados para que al menos algunos, si no todos, los pasos de un protocolo de análisis genómico dado puedan ocurrir sin intervención humana, más allá de la introducción de la muestra biológica en el dispositivo, la carga de los reactivos necesarios y la entrada de información, y la activación del dispositivo para realizar el análisis genómico de la muestra biológica. Los pasos de un protocolo de análisis genómico que pueden automatizarse en los dispositivos incluyen, entre otros: pasos de transferencia de líquidos, pasos de adición de reactivos, pasos de ciclo térmico, pasos de interrogación de muestras, etc.

Los dispositivos pueden ser de cualquier tamaño conveniente para alojar los componentes necesarios e interactuar con componentes externos si se desea. En algunos casos, el dispositivo tiene una profundidad que varía de 1 a 2 metros, tal como de 1.3 a 1.6 metros, por ejemplo, 1.4 metros; un ancho que varía de 2 a 3 metros, tal como de 2.2 a 2.5 metros, por ejemplo, 2.3 metros; y una altura que varía de 1 a 2.5 metros, tal como de 1.4 a 2 metros, por ejemplo, 1.5 metros. El peso del dispositivo puede variar, y en algunos casos varía de 250 a 500 kg, tal como de 300 a 400 kg, por ejemplo, 350 kg.

Como se resume anteriormente, los dispositivos según las realizaciones de la invención incluyen al menos un módulo del chip térmico, una estación de producción de células de líquido compuesto (CLC), una ubicación de recepción de muestra, una ubicación de recepción de reactivo, un manipulador de líquido controlado robóticamente configurado para transferir líquido entre la ubicación de recepción de muestra, la ubicación de recepción de reactivo y el módulo del chip térmico, y una estación de interrogación configurada para interrogar cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico. Cada uno de estos componentes o subunidades del dispositivo se describirá ahora con mayor detalle, al igual que los componentes y subunidades adicionales.

Módulo del chip térmico

Como se resume anteriormente, los dispositivos descritos en el presente documento incluyen un módulo del chip térmico. Un ejemplo de un módulo del chip térmico se muestra en la figura 8 (descrito con más detalle a continuación) y se muestra en un dispositivo según aspectos de la presente descripción como elemento (5) en las figuras 2 y 5. Los dispositivos pueden incluir un solo módulo del chip térmico o dos módulos de chip térmico. Los módulos de chips térmicos son estructuras tipo plato o chip que incluyen una o más ubicaciones independientes (por ejemplo, pozos), donde cada ubicación independiente está configurada para acomodar una CLC (también conocida como ubicación de CLC independiente). Cada ubicación de CLC independiente está abierta en la parte superior para proporcionar acceso líquido a una CLC presente en el mismo. El

volumen definido por una ubicación de CLC independiente dada de un módulo del chip térmico puede variar, y en algunos casos varía de 2 µl a 1 ml, como 5 µl a 20 µl. La forma de la sección transversal de una ubicación de CLC independiente dada también puede variar, donde las formas de la sección transversal de interés incluyen, entre otras, cilíndricas, cónicas, troncocónicas, circulares, rectangulares (incluyendo cuadrados), triangulares, etc. Si bien las dimensiones de cada ubicación de CLC independiente pueden variar, en algunos casos las ubicaciones de CLC independientes tienen una dimensión de sección transversal más larga (por ejemplo, diámetro) que varía de 1 mm a 25 mm, como 2.5 mm a 10 mm y una profundidad que varía de 1 mm a 30 mm, como 3 a 20 mm. El número de ubicación de CLC independiente presentes en un módulo del chip térmico dado también puede variar, en algunos casos de 200 a 10.000, tal como de 500 a 5.000 o 1.400 a 2.400. En algunas realizaciones, el número de ubicación de CLC independiente es un múltiplo de 96 o 384, por ejemplo, 2304, por ejemplo, en realizaciones donde se desea la correspondencia con placas convencionales de múltiples pozos. En ciertas realizaciones específicas, las ubicaciones de CLC independientes en el módulo del chip térmico están presentes en múltiples grupos o racimos que están espaciados para acomodar las muestras receptoras derivadas de múltiples fuentes biológicas que tienen un espaciado (o paso) particular, por ejemplo, muestras recolectadas de una unidad de muestreo para huevos de aves (descrita con más detalle a continuación).

La figura 8 muestra un ejemplo de un módulo (5) de chip térmico que incluye un soporte (K) del chip, un aislador (P) del chip y el chip que define las ubicaciones (G) de CLC independientes. Los componentes de un módulo del chip térmico pueden estar hechos de cualquier material conveniente. Los materiales de interés incluyen, entre otros, materiales térmicamente conductores, por ejemplo, materiales compuestos, cerámicas y metales, incluido el aluminio. Si bien las dimensiones de un módulo del chip térmico pueden variar, en algunos casos el módulo del chip térmico tiene una longitud que varía de 10 cm a 400 cm, tal como de 10 cm a 200 cm; un ancho que varía de 10 cm a 400 cm, tal como de 10 cm a 200 cm y una altura que varía de 10 mm a 50 mm, tal como de 20 mm a 40 mm

Como se mencionó anteriormente, cada ubicación de CLC independiente está configurada para acomodar un fluido portador, un fluido objetivo y un fluido de encapsulación que juntos forman un CLC. Por CLC se entiende una disposición de fluido trifásico que es una combinación de al menos tres fluidos sustancialmente inmiscibles mutuamente que tienen tres densidades diferentes. El primer fluido es un fluido portador que es el más denso de los tres fluidos sustancialmente inmiscibles entre sí; el segundo fluido es un fluido de encapsulación que es el menos denso de los fluidos sustancialmente inmiscibles entre sí; y el tercer fluido es un fluido objetivo (a veces denominado "muestra") que tiene una densidad menor que el primer fluido y mayor que el segundo fluido. Un CLC puede tomar una variedad de formas diferentes en la ubicación del CLC autónomo, donde en algunas realizaciones el fluido objetivo está encerrado en el fluido de encapsulación y donde la estructura esférica más o menos resultante está presente en la superficie del fluido portador. De esta forma, el fluido portador no está completamente cubierto por el fluido de encapsulación. En otras realizaciones, el fluido objetivo está encerrado (o encapsulado) entre el fluido portador y el fluido encapsulante de tal manera que toda la superficie del fluido portador en la ubicación de CLC independiente está cubierta por el fluido encapsulante.

En ciertas realizaciones, el fluido objetivo es un fluido acuoso, donde en algunas realizaciones el fluido acuoso contiene una muestra biológica, reactivo, tampón u otro elemento prescrito de un ensayo genético. Los ejemplos de componentes que pueden estar presentes en el fluido acuoso incluyen, entre otros: células, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, muestras biológicas (por ejemplo, Sangre, saliva, etc.), tampones, sales, material orgánico y cualquier combinación de los mismos.

En ciertas realizaciones, la densidad del fluido portador es de 1.300 a 2.000 kg/m^3, la densidad del fluido objetivo es de 900 a 1.200 kg/m^3, y la densidad del fluido de encapsulación es de 700 a 990 kg/m^3. La diferencia de densidad entre el fluido portador y el fluido objetivo o entre el fluido objetivo y el fluido de encapsulación es de 50 a 2000 kg/m^3. En general, la diferencia de densidad entre los tres fluidos sustancialmente inmiscibles entre sí debería ser suficiente para evitar una mezcla sustancial entre dos de ellos en las condiciones en que se almacenarán y/o utilizarán en cualquier proceso posterior o ensayo analítico. Se pueden encontrar detalles adicionales con respecto a los fluidos portadores, encapsulantes y objetivo en las patentes estadounidenses números 8.465.707 y 9.080.208; así como la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Núm. 20140371107; y solicitudes PCT publicadas: W02014/083435; W02014/188281; W02014/207577; W02015/075563; W02015/075560. En ciertas realizaciones, el fluido portador y/o el fluido de encapsulación es un aceite. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el portador y/o el fluido de encapsulación pueden ser un aceite de silicona, un aceite perfluorocarbonado o un aceite perfluoropoliéter. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, el fluido portador se selecciona de aceites fluorocarbonados. En ciertas realizaciones, el fluido de encapsulación es un aceite de silicona.

En realizaciones en las que el fluido objetivo es un fluido acuoso, por ejemplo, una muestra biológica o un reactivo acuoso, un ejemplo de un CLC incluye uno en el que el fluido portador (primero) es Fluorinert FC-40 (aceite fluorocarbonado) que tiene una densidad de aproximadamente 1.900 kg/m^3, el segundo fluido es un fenilmetilpolisiloxano (aceite de silicona) que tiene una densidad de aproximadamente 920 kg/m^3, y el fluido objetivo (muestra) es una solución acuosa de componentes biológicos con una densidad de aproximadamente 1000 kg/m^3.

En ciertas realizaciones, el volumen del fluido (muestra) objetivo en el CLC es de aproximadamente 10 nano litros (nl) a aproximadamente 20 microlitros (µl). Como tal, en ciertas realizaciones, el volumen de la muestra es de aproximadamente 10 nl, aproximadamente 20 nl, aproximadamente 30 nl, aproximadamente 40 nl, aproximadamente SO 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.

El volumen del fluido portador y de encapsulación en un CLC debería ser suficiente para generar una composición en la que el fluido objetivo pueda encapsularse completamente entre estos fluidos cuando esté presente en una ubicación de CLC independiente deseada. Por encapsulado completamente se entiende que el fluido objetivo está en contacto directo solo con el fluido de encapsulación y/o el fluido portador. Por lo tanto, el fluido objetivo no está en contacto con el fondo de la ubicación de CLC independiente (generalmente debajo del fluido portador) o con el entorno ambiental (generalmente por encima del fluido de encapsulación). La cantidad de fluido depende, por lo tanto, no solo del volumen del fluido objetivo, sino también de las dimensiones interiores de la ubicación del CLC autónomo. Si bien el volumen del fluido portador y de encapsulación puede variar enormemente, en ciertas realizaciones, el volumen del fluido portador o el fluido de encapsulación en el CLC es de aproximadamente 1 µl a aproximadamente 100 µl. Como tal, en ciertas realizaciones, el volumen del fluido portador o la encapsulación es de aproximadamente 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, aproximadamente 20 µl, aproximadamente 25 µl, aproximadamente 30 µl, aproximadamente 35 µl, aproximadamente 40 µl, aproximadamente 45 µl, aproximadamente 50 µl, aproximadamente 55 µl, aproximadamente 60 µl, aproximadamente 65 µl, aproximadamente 70 µl, aproximadamente 75 µl, aproximadamente 80 µl, aproximadamente 85 µl, aproximadamente 90 µl, aproximadamente 95 µl, o aproximadamente 100 µl.

Un aspecto de los módulos de chip térmico es que están controlados térmicamente, de modo que la temperatura del entorno definida por cada ubicación de CLC independiente (y por lo tanto experimentada por una CLC alojada en ellos) puede controlarse, por ejemplo, incluyendo controlado con precisión, por ejemplo, a una décima de grado o mejor. El rango de control de temperatura puede variar, donde en algunos casos la temperatura puede controlarse entre 4 y 120 °C, tal como de 4 a 98 °C. Para proporcionar control térmico, el módulo del chip térmico puede incluir elementos de calentamiento y/o enfriamiento. En algunas realizaciones, el elemento calefactor es integral a las ubicaciones de CLC independientes, mientras que, en otras realizaciones, el elemento de calefacción y el elemento que define las ubicaciones de CLC independientes están separadas, por ejemplo, como una bandeja térmica y una placa de ubicación de CLC independiente.

El módulo del chip térmico puede incluir una región de enfriamiento configurada para estar operativamente unida al modulador de temperatura, por ejemplo, un módulo termoeléctrico, un sistema de enfriamiento fluido o un sistema de enfriamiento por convección forzada. El elemento calefactor podría ser, por ejemplo, un calentador de borde laminado eléctricamente conectado a un controlador, programando el controlador para activar el elemento calefactor para generar un termo ciclo deseado en ubicación de CLC independiente y las CLC alojadas en el mismo. El elemento calefactor puede incorporarse en la porción autodefinida que define la ubicación del CLC del módulo del chip térmico o puede proporcionarse como un elemento separado del módulo, por ejemplo, según se desee.

El módulo del chip térmico está configurado para permitir la interrogación de cada ubicación de CLC independiente por una estación de interrogación (descrita con más detalle a continuación). En ciertas realizaciones, la estación de interrogación emplea un sistema de detección óptica configurada para detectar

una emisión óptica desde las ubicaciones de CLC independientes, que incluyen, pero no se limitan a, fluorescencia, absorbancia, Raman, interferometría y gráficos de sombra.

El módulo del chip térmico también puede acoplarse operativamente a una tapa dimensionada y conformada para acoplarse con el módulo o parte del mismo para encerrar las ubicaciones de CLC independientes y cualquier CLC alojado en el mismo. La tapa puede abrirse y cerrarse mediante un actuador automático (por ejemplo, accionado neumáticamente), o puede operarse manualmente. La tapa puede sellarse parcial o completamente para ser sustancialmente hermética y/o a prueba de líquidos, manteniendo un sello de presión. La tapa puede ser transparente a cualquier longitud de onda de luz particularmente deseada, para permitir el interrogatorio de las CLC. Se puede incluir un elemento calefactor en la tapa, según se desee. La tapa se puede controlar térmicamente como se desee, de modo que la temperatura de la tapa se pueda modular a un valor deseado.

Estación de producción de CLC / Estación de reinicio de CLC

La estación de producción de CLC es responsable de llenar y rellenar cada ubicación de CLC independiente en el módulo del chip térmico con fluido portador y fluido de encapsulación para crear una CLC. Un ejemplo de una estación de producción de CLC se muestra en las figuras 1, 2, 3 y 4 como elemento D y en la figura 14 como elemento 24. La estación de producción de CLC puede incluir una o más bombas de dosificación y colectores (por ejemplo, dos, tres o más) que permiten que se aborden todas las ubicaciones de CLC independientes. La estación de producción de CLC establece la entrega y las alturas de cada fluido. La estación de producción de CLC también se puede configurar para realizar procesos de lavado para las ubicaciones de CLC independientes (también denominado "reinicio" de las ubicaciones de CLC independientes). La estación de producción/reinicio de CLC puede limpiar y reiniciar las ubicaciones de CLC independientes eliminando el contenido fluido de una ubicación de CLC independiente, por ejemplo, utilizando un sistema basado en vacío, lavando la ubicación de CLC independiente, por ejemplo, con una o más soluciones de cenizas, y depositando portadores y fluidos encapsulantes en la ubicación de CLC independiente utilizando las funciones de reinicio y producción. Se observa que las operaciones de vacío y limpieza se pueden realizar en una ubicación separada de las operaciones de deposición de CLC en el dispositivo y usando cabezales de deposición separados (véase, por ejemplo, el elemento (23) en la figura 14).

La estación de producción de CLC puede incluir una entrada de líquido portador, una entrada de líquido encapsulante, un sistema de manejo del líquido y un controlador conectado operativamente al sistema de manejo del líquido. El controlador se puede programar para hacer que el sistema de manejo de líquidos (1) extraiga un fluido portador y un fluido encapsulante del fluido portador y la entrada de fluido encapsulante, (2) descargue los fluidos extraídos en una ubicación de CLC independiente de un módulo del chip térmico, el fluido de encapsulación es inmiscible con el fluido portador, de modo que el fluido encapsulante descargado no se mezcla con el fluido portador, sino que flota sobre el fluido portador.

En ciertas realizaciones, la estación de producción de CLC incluye un cabezal de reinicio (incluido en el elemento (D) de las figuras 1, 2, 3 y 4), donde el cabezal de reinicio se usa para realizar procesos de deposición y lavado de CLC. Se puede usar una unidad puente para lograr el movimiento en cualquier dirección deseada para lograr el acceso a las ubicaciones requeridas dentro del dispositivo, por ejemplo, a las ubicaciones de CLC independientes y los canales de lavado. Montado en una carcasa del puente, hay una placa de aluminio (placa de reinicio) en la parte inferior de las cuales hay guías fijas. Estas guías permiten alinear dos tramos de tubería y abordan ubicación de CLC independiente en la bandeja térmica. Hay dos niveles por encima de la placa de reinicio. Montados en el nivel superior están las bombas y los colectores en el nivel inferior.

Ubicación de recepción de la muestra, ubicación de recepción del reactivo y ubicaciones de placa y compatibilidad de carga

Lugar de recepción de la muestra

La ubicación de recepción de muestra está configurada para recibir muestras biológicas de una fuente deseada en un formato deseado. En ciertas realizaciones, la ubicación de recepción de muestras acomoda sistemas de almacenamiento de muestras múltiples, por ejemplo, placas de múltiples pozos, mientras que, en otras realizaciones, la ubicación de recepción de muestras está configurada para recibir muestras de un módulo de recolección de muestras externo, por ejemplo, una unidad de muestreo de huevos (UMH) de aves como se describe abajo. Un ejemplo de una ubicación de recepción de muestra se muestra en las figuras. 2, 4 y 5 como elemento (I).

Ubicación de recepción de reactivo

La ubicación de recepción de reactivo está configurada para recibir reactivos de ensayo y reactivos de mezcla maestra en el formato deseado. Por reactivos de ensayo se entiende reactivos que son específicos

de un ensayo genético particular (por ejemplo, Cebadores específicos de secuencia, adaptadores, etc.). Por reactivos de mezcla maestra se entiende reactivos que pueden usarse en múltiples ensayos diferentes (por ejemplo, enzimas, tampones, cebadores universales, etc.). En ciertas realizaciones, los reactivos de ensayo y/o mezcla maestra se proporcionan como soluciones a granel, por ejemplo, en baños de reactivos, mientras que en otras realizaciones se proporcionan en placas estándar industriales (por ejemplo, 96 pocillos, 384 pocillos, etc.). La ubicación de recepción de reactivo se puede configurar para recibir uno o varios reactivos de ensayo y/o uno o más reactivos de mezcla maestra a la vez.

Ubicaciones de placa y compatibilidad de carga

Como se resume anteriormente, los dispositivos descritos en el presente documento incluyen una o más ubicaciones de placa (por ejemplo, para placas de muestra, placas de ensayo y placas de mezcla maestra). Si bien el número de ubicaciones de placa presentes en el dispositivo puede variar, en algunos casos el dispositivo incluye de 1 a 100 ubicaciones de placa, tal como de 10 a 80 ubicaciones de placa, por ejemplo, 50 ubicaciones de placa. La(s) ubicación(es) de placa puede estar dispuesta de cualquier manera conveniente en el dispositivo, donde en algunos casos en los que el dispositivo incluye una pluralidad de ubicaciones de placa, la pluralidad de las ubicaciones de placa está dispuestas adyacente entre sí, por ejemplo, en formato vertical relativo a un puerto de entrada del dispositivo. Las ubicaciones de las placas son regiones o áreas del dispositivo configuradas para contener una placa de laboratorio, como una placa de múltiples pocillos, por ejemplo, una placa de 96 o 384 de múltiples pocillos, o una estructura análoga, por ejemplo, un soporte de tubo de ensayo o una rejilla, etc. Una ubicación de placa dada puede ser una etapa simple o soporte configurado para contener una placa de laboratorio. Si bien las dimensiones de las ubicaciones de las placas pueden variar, en algunos casos las ubicaciones de las placas tendrán una superficie plana configurada para asociarse de manera estable con una placa de laboratorio, donde la superficie plana puede tener un área que varía de 10 mm a 400 mm, tal como 10 mm hasta 200 mm La superficie plana puede tener cualquier forma conveniente, por ejemplo, circular, rectangular (incluyendo cuadrado), triangular, ovalada, etc., según se desee. Para proporcionar una asociación estable entre una ubicación de placa y una placa de investigación, la ubicación de placa puede incluir uno o más elementos de asociación estables, por ejemplo, clips, postes de alineación, etc.

En algunos casos, la ubicación de placa puede estar modulada térmicamente, lo que significa que la temperatura de la ubicación de placa puede ser controlable, por ejemplo, para controlar la temperatura de una placa de investigación (y su contenido) asociada de forma estable con la ubicación de placa. Se puede emplear cualquier modulador de temperatura conveniente para controlar la temperatura de la ubicación de placa de una manera deseada, donde los moduladores de temperatura que se pueden emplear incluyen los descritos anteriormente en relación con el módulo del chip térmico.

En algunos casos, una ubicación de placa dada puede configurarse para agitarse, es decir, la ubicación de placa es una unidad agitadora. Como tal, puede incluir un agitador (por ejemplo, un vibrador o un componente agitador). Si bien la frecuencia del movimiento de la ubicación de placa proporcionada por el componente agitador puede variar, en algunos casos ese agitador puede configurarse para mover la ubicación de placa entre las posiciones primera y segunda a una frecuencia que varía de 1 rpm a 4000 rpm, tal como 50 rpm a 2500 rpm, donde la distancia entre la primera y la segunda posición puede variar, y en algunos casos varía de 10 mm a 400 mm, tal como 25 mm a 100 mm

Las placas pueden incluir un código de barras 1D y/o 2D que puede leerse mediante un lector de código de barras integrado, por ejemplo, un escáner de código de barras manual operado por un usuario. El dispositivo puede usar la información del código de barras del escáner para almacenar información sobre muestras y/o activar un programa en particular cuando el software del sistema lo solicite, por ejemplo, para ejecutar un ensayo genético específico.

En algunas realizaciones, las ubicaciones de placa están codificadas por colores para ayudar a la carga del usuario.

Un ejemplo de una ubicación de placa se muestra en las figuras 2, 4 y 5 como elemento (I).

Manipulador de líquidos controlado robóticamente

Como se resume anteriormente, los dispositivos descritos en el presente documento incluyen un manipulador de líquido controlado robóticamente. El manipulador de líquidos controlado robóticamente es una unidad que está configurada para transferir líquidos a varias ubicaciones del dispositivo, como la ubicación de placa y el módulo del chip térmico. En un sentido general, el manipulador de líquidos robótico puede ser cualquier unidad de manejo de líquidos que sea capaz de transferir una cantidad de líquido entre dos ubicaciones distintas del dispositivo, como una ubicación de placa y una ubicación de CLC independiente de un módulo del chip térmico. Los manipuladores de líquidos robóticos de interés son aquellos que pueden eliminar un volumen definido de líquido de una primera ubicación del dispositivo, como

un pocillo de una placa de laboratorio, y depositar ese volumen de líquido en la segunda ubicación del dispositivo, por ejemplo, en una ubicación de CLC independiente de un módulo del chip térmico. Si bien el volumen de líquido que el controlador está configurado para transferir puede variar, en algunos casos el volumen varía de 100 ml a 10 ml, tal como 100 ml a 1 ml.

El manipulador de líquidos robótico es, en algunos casos, un sistema capilar configurado para dispensar un líquido acuoso. Tal sistema capilar puede incluir un tubo capilar que tiene una superficie interna que define el capilar o la luz. El tubo también puede tener una superficie externa. La superficie externa puede ser generalmente cilíndrica, incluidos los laterales, superior e inferior. La superficie interna puede incluir dos regiones, una región de medición distal y una región limitante proximal. La región de medición de la superficie interna puede ser sustancialmente hidrófila, mientras que la región limitante de la superficie interna puede ser sustancialmente hidrófoba. Toda la superficie externa también puede ser hidrófoba.

Cuando un extremo, marcado aquí como el extremo distal, del tubo capilar se pone en contacto con una muestra acuosa, la muestra se extrae por acción capilar hacia el lumen. Pero la acción capilar solo funcionará en la medida en que la muestra acuosa esté contenida dentro de una sección hidrofílica, es decir, humectable, del lumen. Cuando se ha extraído suficiente muestra acuosa en el lumen para que la región de dosificación esté completamente llena, la acción capilar dejará de atraer líquido de muestra adicional, porque no hay más superficie humectable disponible para la muestra acuosa. De esta manera, la acción capilar puede explotarse para medir con precisión una cantidad deseada de líquido acuoso. Para un lumen de área de sección transversal constante, el volumen de líquido extraído por acción capilar será igual a la longitud de la sección de medición multiplicada por el área de sección transversal del lumen.

En algunas realizaciones, la región de medición y la región limitante se pueden construir como sigue. Una longitud de tubo capilar puede recubrirse o formarse completamente a partir de un polímero hidrófobo, por ejemplo, un polímero de fluorocarbono tal como politetrafluoroetileno (PTFE). Luego se pasa una solución de grabado a través de la luz interior del tubo, despojando el recubrimiento de PTFE de los átomos de flúor cerca de la superficie del PTFE. Los átomos de flúor generalmente se eliminan a una profundidad de unos pocos Angstroms por este proceso. La superficie de PTFE grabada resultante es hidrofílica. Luego se limpia el tubo y se corta a medida para formar una región de medición que tiene un volumen interno deseado. Esa sección de tubería internamente hidrofílica grabada internamente se une a una sección de tubería hidrofóbica para formar todo el tubo capilar. En algunos modos de realización, los polímeros, como la poliamida, se pueden usar para formar el tubo capilar.

En algunas realizaciones, el tubo capilar está formado por un sustrato de vidrio. El vidrio es naturalmente hidrófilo, por lo que cuando el sustrato es vidrio, en lugar de, por ejemplo, un polímero hidrófobo natural, no es necesario ningún tratamiento de superficie para formar la región de medición. La superficie externa y la región limitante pueden formarse recubriendo el vidrio con un material hidrófobo, tal como los polímeros mencionados anteriormente.

Una ventaja de hacer que la superficie externa del tubo, especialmente el extremo distal del tubo sea hidrofóbico es que la muestra acuosa no se adherirá a dicho material. Por lo tanto, la superficie externa hidrófoba protege al sistema de contaminar una muestra líquida acuosa con gotas de una muestra acuosa diferente. Insertar el extremo distal del tubo en una muestra acuosa dará como resultado que el líquido ingrese en la región de medición hidrofílica, pero no se adhiera a la región hidrofóbica.

Además de un tubo capilar, un sistema capilar también puede incluir una fuente de presión en comunicación fluida con el extremo proximal del tubo. La fuente de presión puede proporcionar presión positiva de cualquier gas conveniente, por ejemplo, aire. La aplicación de la presión positiva se puede utilizar para expulsar una muestra acuosa del capilar. Se encuentra la presión de aire positiva más baja a la que la muestra acuosa se expulsa completamente del capilar y, a partir de entonces, se puede controlar exactamente y con precisión. La presión positiva puede distribuirse uniformemente cuando hay múltiples capilares utilizados en paralelo. Se encuentra el tiempo más corto para que se aplique la presión positiva al capilar para permitir que toda la muestra acuosa se expulse y la presión se neutralice inmediatamente para evitar que el aire se expulse a través del capilar una vez que el acuoso se ha expulsado del capilar. La presión positiva y el tiempo aplicado se pueden utilizar para llevar a cabo pruebas de dispensación de muestras en las que se investiga con exactitud y precisión el volumen de muestra, la ruptura de la muestra y la perturbación del CLC. La presión positiva y el tiempo se ajustan luego para obtener la distribución óptima de la muestra al CLC dentro de estos parámetros. El sistema también puede incluir un controlador capilar programado para aplicar la presión positiva en un momento deseado de modo que la muestra acuosa se dispense en una ubicación predeterminada. La ubicación podría ser, por ejemplo, un sitio de estabilización para una celda líquida compuesta, donde una alícuota de fluido de encapsulación podría estar lista para recibir la muestra acuosa. Debe tenerse en cuenta que, si bien se puede utilizar presión positiva para

expulsar el líquido acuoso de la luz, no se necesita presión negativa para atraer el líquido hacia el lumen porque el líquido es atraído por la acción capilar.

El sistema capilar también puede incluir una cubierta de aire, que incluye un flujo de aire aplicado externamente al tubo capilar. El flujo de aire aplicado externamente reduce la probabilidad de que una muestra acuosa se adhiera a cualquier región hidrófila externa.

El sistema capilar también puede incluir un actuador para mover el tubo capilar entre ubicaciones. El actuador puede ser controlado por el controlador capilar, que puede programarse para hacer que el actuador mueva el tubo. Un programa típico podría primero mover el extremo distal del tubo al contacto con una muestra acuosa para atraer la muestra acuosa al tubo, luego mover el tubo capilar para que el extremo distal esté adyacente a una ubicación de dispensación, como una característica estabilizadora. o una célula líquida compuesta existente (en adelante "CLC"), y finalmente aplique suficiente presión positiva al extremo proximal del tubo para expulsar la muestra acuosa del extremo distal del tubo.

Mientras que las dimensiones del tubo capilar pueden variar, en una realización, el diámetro interno del tubo capilar es de aproximadamente 200 a 250 µm, tal como 221 o 230 µm, y el diámetro externo es de aproximadamente 800 µm. Se puede elegir cualquier volumen de solución acuosa para extraer en el sistema. Se pueden diseñar tubos capilares particulares para extraer de aproximadamente 10 nano litros a aproximadamente 10000 nano litros, tal como 500 nano litros.

En otra realización, para la dosificación capilar múltiple desde un único controlador, múltiples tubos capilares con la superficie interna que tiene una única región de dosificación distal están dispuestos dentro de una cavidad, proporcionando así una región limitante.

En otra realización, el controlador de presión controla de forma variable el volumen de medición capilar. El tubo tratado se corta a una longitud determinada y, según el radio de ese tubo, esto proporciona un volumen máximo establecido. El volumen dentro de la región de medición distal se controla usando presión de aire dentro del conjunto. La presión de aire se usa para dispensar, sin embargo, en esta realización, se mantiene una presión constante controlada dentro del tubo capilar, proporcionando así un control de volumen dentro de la región de medición distal hidrofílica. Esto se logra equilibrando la fuerza de presión contra la fuerza capilar para un volumen dado. El fluido capilarizará a una altura que se corresponde con la fuerza de presión. Cambia la presión y se cambia el volumen. Todo esto está dentro de la altura capilar total para un determinado fluido y radio del tubo.

En otra realización, un sistema de medición capilar puede incluir una pluralidad de tubos capilares. Los extremos proximales de todos los capilares pueden estar en comunicación fluida con un solo conducto de presión, y el conducto de presión en comunicación fluida con la fuente de presión. De esta manera, se puede usar una única fuente de presión para aplicar una sola presión positiva para dispensar simultáneamente líquido de toda la pluralidad de tubos capilares. De manera similar, una única fuente de presión puede aplicar una sola presión positiva para equilibrar la fuerza capilar en toda la pluralidad de tubos capilares. En tales realizaciones, la pluralidad de tubos capilares puede estar presentes en una subunidad del cabezal que incluye un soporte para la pluralidad de tubos capilares. El número de tubos capilares en una subunidad del cabezal puede variar, en algunos casos el número varía de 12 a 768, tal como de 24 a 384, por ejemplo, 24 a 96, incluidos 24 a 48. Los tubos capilares pueden estar dispuestos en subunidad del cabezal para que los tubos se alineen fácilmente con los pocillos de una placa de laboratorio cuando el cabezal se coloca sobre una placa de laboratorio, por ejemplo, una que está presente en una ubicación de placa del dispositivo. Por ejemplo, los tubos capilares pueden tener una disposición de 4x32 que se alinea con una placa de 384 pozos, una disposición de 2x12 que se alinea con una 96 u otra disposición conveniente.

Un ejemplo de un cabezal dispensador de presión de muestra se muestra en la figura 7, que incluye un cabezal (O) de muestra que tiene dispensadores (8) de cabezal de muestra. El cabezal se engancha con el manipulador de líquido controlado robóticamente del dispositivo a través de la tapa (N) del cabezal de muestra a través de una pinza (L) de muestra que tiene brazos (M) de pinza de muestra.

Se proporcionan más detalles sobre los sistemas de manipulación de líquidos capilares que pueden emplearse en el dispositivo en la solicitud PCT Nº de serie PCT/IB2013/003145 publicada como WO 2014/08345.

En algunos casos, el manipulador de líquidos robótico incluye un transportador que puede acoplarse selectivamente de manera operativa a una pluralidad de cabezales del manipulador de líquido intercambiables distintos, por ejemplo, cabezales capilares como los descritos anteriormente. En tales realizaciones, el motor se puede acoplar y desacoplar a un cabezal del manipulador de líquido de una

colección de dos o más cabezales del manipulador de líquido, de modo que los cabezales del manipulador de líquido sean intercambiables (es decir, se pueden sustituir entre sí) con el motor. Cuando el motor proporciona presión negativa al cabezal del manipulador de líquidos cuando está en uso, la configuración de acoplamiento permite que la presión negativa se acople a los manipuladores de líquido, por ejemplo, capilares, del cabezal cuando se acopla al motor. El número de cabezales del manipulador de líquido intercambiables en el dispositivo puede variar, en algunos casos de 2 a 20, tal como de 5 a 10. La función de tales cabezales del manipulador de líquido intercambiables también puede variar, donde en algunos casos el dispositivo incluye cabezales intercambiables del manipulador de configurados para dispensar muestras, dispensar ensayos, dispensar mezclas maestras y tareas de vacío. El motor al que se pueden acoplar operativamente los cabezales intercambiables es una subunidad del dispositivo que está configurado para mover un cabezal intercambiable entre dos o más ubicaciones del dispositivo. El transportador puede ser un brazo robótico u otra estructura conveniente que esté configurada para mover un cabezal intercambiable dada en la dirección X y/o Y y/o Z en el dispositivo.

Estación de interrogación

La estación de interrogación está configurada para interrogar cada ubicación de CLC independiente del módulo del chip térmico y obtener una lectura del mismo. La lectura se puede usar para determinar una rasgogenética de la muestra en la ubicación de CLC independiente después de completar un protocolo de ensayo genético deseado, por ejemplo, usando el ensayo y los reactivos de mezcla maestra. En la figura 1, un ejemplo de una estación de interrogación se muestra como elemento (9), mientras que en las figuras 2, 3 y 4, una realización específica de una estación de interrogación se muestra como elemento (E) (es decir, una estación de detección óptica como se describe a continuación).

En ciertas realizaciones, la estación de interrogación está configurada para detectar una señal óptica de cada una de las ubicaciones de CLC independientes. En algunas de estas realizaciones, el sistema de detecciones ópticas está configurado para transmitir luz de excitación y recoger luz de emisión de cada ubicación de CLC independiente en el módulo del chip térmico, donde en algunos casos la luz emitida es detectada por un elemento de la estación de interrogación estación (es decir, la estación de interrogación comprende un sistema de detección basado en cámara). La estación de interrogación puede transmitir cualquier luz conveniente utilizando cualquier fuente de luz conveniente, por ejemplo, la luz de excitación de un diodo emisor de luz (LED). En algunos casos, la estación de interrogación detecta múltiples longitudes de onda de luz.

Cuando la estación de interrogación está configurada para detectar luz (también llamada estación de detección óptica), puede incluir uno o más de los siguientes componentes: uno o más detectores de luz (por ejemplo, una cámara), una fuente de iluminación LED, un filtro o rueda de filtros que contiene 2 o más filtros (por ejemplo, 3 filtros) y una o más fibras ópticas para la transmisión de luz, por ejemplo, 48 fibras ópticas individuales. Las fibras ópticas pueden ser multimodales, lo que significa que pueden transmitir luz de excitación a las ubicaciones de CLC independientes y recoger la luz de emisión resultante de vuelta al sistema de detección basado en la cámara. En algunas realizaciones, se usa un espejo dicroico para evitar que el sistema de cámara detecte la luz de excitación. En general, las fibras ópticas están configuradas para alinearse con las ubicaciones de CLC independientes del módulo de placa térmica para transmitir y/o detectar efectivamente la luz en estas ubicaciones, y por lo tanto las fibras ópticas pueden tener cualquier espacio conveniente para lograr esto. En un ejemplo, las fibras ópticas están configuradas para alinearse con una fila de 48 ubicaciones de CLC independientes en el módulo del chip térmico y recorrer cada una de las 48 filas de la ubicación de CLC independiente. Se pueden tomar una o más imágenes en cada fila, donde cuando se toman varias imágenes, cada una puede tener una longitud de onda diferente. El sistema puede detectar desde tamaños de gotas grandes hasta menos de 300 nl. Las fibras se pueden montar en una carcasa en el puente en una placa de aluminio (o placa óptica) en la parte inferior de las cuales hay guías de fibra. Las guías de fibra permiten que las fibras ópticas se alineen y aborden la ubicación de CLC independiente en el módulo del chip térmico. Una sola fibra por racimo minimizó la necesidad de una fibra por ubicación (por ejemplo, 1428 fibras para un módulo del chip térmico que tiene 1428 ubicaciones de CLC independientes). La bandeja térmica se indexa debajo de la fibra para generar la lectura de salida.

La unidad óptica en sí misma es una unidad contenida que está montada en la placa óptica. Es aquí donde las muestras son interrogadas ópticamente a través de fibras ópticas que se extienden desde la unidad a través de las guías de fibra.

Otros componentes o subunidades

El dispositivo puede incluir una cubierta principal (elemento (1) en las figuras 1, 2 y 4) donde se realizan todos los pasos de procesamiento del protocolo. El acceso del usuario a la cubierta principal se puede realizar a través de una campana operada por el usuario que está enclavada. La cubierta de servicios se montará debajo de la cubierta principal en armarios accesibles con llave para la resolución de problemas y el acceso de mantenimiento preventivo.

El dispositivo puede incluir una cubierta de servicios (elemento (2) en las figuras 2, 3 y 4) que puede situarse debajo de la cubierta principal donde se encuentra el hardware periférico.

El dispositivo puede incluir un Cerramiento del Sistema (elemento (3) en las figuras 1, 2 y 3) que puede tener un intercambio de aire interno-externo activo y/o un control térmico, a través del cual la temperatura del cerramiento del sistema se gestionará de tal manera que el rendimiento del sistema no se vea afectado.

El dispositivo puede incluir un Módulo de Fluidos que se encuentra debajo de la cubierta principal del sistema y contiene todos los depósitos de botellas para la recolección de fluidos y residuos del sistema. El módulo de fluidos puede incluir uno o más depósitos de líquidos, por ejemplo, para fluidos del sistema, recolección de residuos, etc. Los fluidos de interés del sistema incluyen, entre otros, fluido de encapsulación, fluido portador, fluidos de lavado, etc. Donde se desee, el depósito de recolección de residuos se acopla operativamente a un solo drenaje de residuos. Las ubicaciones de las botellas y/o botella pueden estar codificadas por colores para ayudar a los usuarios a cargar y evitar errores. Los depósitos de botellas pueden tener conexiones de conexión rápida. Las botellas contendrán como mínimo un volumen suficiente para completar al menos una ejecución del sistema.

El dispositivo puede incluir un escáner de código de barras, por ejemplo, un lector de código de barras portátil, para escanear placas y recipientes durante la configuración de la ejecución y para el seguimiento de la información.

El dispositivo puede incluir una estación de limpieza de cabezales para reiniciar cada uno de los cabezales dispensadores de presión. La figura 9 muestra un ejemplo de una estación (7) de limpieza de cabezales configurada para el almacenamiento de cabezales de muestras y de ensayo, recogida por el sistema de manejo de líquidos y para contener baños fluidos de ensayo y muestras y baños de residuos. La figura 9 muestra la colocación de un cabezal (O) de muestra en un primer baño fluido de muestra (un segundo baño fluido de muestra se muestra como elemento (R)), un baño (S) de residuos de muestra, un cabezal (Q) de ensayo en un primer baño fluido de ensayo (un segundo baño fluido de ensayo se muestra como elemento (T)) y un baño (U) de residuos de ensayo. La figura 10 muestra un cabezal de ensayo como se muestra en la figura 9 (Q) y su correspondiente cabezal adaptador (V) de ensayo acoplado con el sistema de manejo de líquidos controlado robóticamente cuando está en uso para recoger y dispensar fluidos de ensayo.

El dispositivo puede incluir una estación de limpieza de ubicación de CLC: se utiliza una unidad puente similar a la descrita anteriormente para lograr el movimiento en la dirección z. Montado en una carcasa en el puente, hay una placa de aluminio (placa de limpieza) en la parte inferior de la cual se encuentran el grupo de guías fijas. Estas guías permiten que se alineen los conjuntos de tubos y aborden la ubicación de CLC independiente en el módulo del chip térmico. Hay dos niveles por encima de la placa de reinicio. Montados en el nivel superior están las bombas y una mezcla de colectores de 4 y 8 líneas en la placa inferior. Esta estación tiene la capacidad de usar dos soluciones de lavado deseadas. Asignado a cada una de las soluciones hay tres bombas de dosificación y tres colectores. El uso de colectores permite abordar todas las ubicaciones de CLC independientes requeridas. Cada racimo tiene dos revestimientos y una línea de vacío combinados para abordar la ubicación de CLC independiente individual. Para eliminar el líquido de las ubicaciones de CLC independientes, se utiliza un generador de vacío. El tubo hacia este generador va desde las guías fijas en la placa hasta una botella de residuos.

Parámetros del sistema operativo

El sistema será compatible con voltajes de entrada entre 120 y 240 V, corrientes de entrada de 10 a 35 amperios y frecuencias de potencia de entrada entre 50 y 60 Hz. En algunas aplicaciones, el sistema se debe suministrar con aire seco a una presión mínima de 6 bar (87 psi) a una tasa de consumo de 6SCFM. En general, los reactivos de ensayo y mezcla maestra serán preparados previamente u obtenidos por un usuario y se cargarán en placas de reactivos con código de barras (por ejemplo, 'placa de reactivo 384') que posteriormente se cargará en la ubicación del reactivo. Además, los fluidos del sistema generalmente serán preparados previamente u obtenidos por el usuario y cargados en el módulo de fluidos.

Realizaciones específicas

La figura 1 muestra un ejemplo de un dispositivo según aspectos de la presente descripción. Las características del dispositivo indicado en esta figura incluyen lo siguiente, cada una de las cuales se describe en detalle en otra parte del presente documento: una cubierta (1) principal, un cerramiento (3) del sistema, una tapa accionada mecánicamente para el módulo (6) de chip térmico, un cabezal (8) dispensador de muestra, una estación (9) de interrogación, un cabezal (10) dispensador de ensayo, un armario de alimentación de CA (A; un cerramiento que alberga las unidades de suministro de energía (PSU) y administra toda la energía que llega al instrumento y la energía distribuida al instrumento), un armario neumático (B; incluye un banco de válvulas y generadores de vacío utilizados para diversas aplicaciones en

el instrumento), un armario de bombeo de fluidos (C; donde el módulo de fluidos puede alojar las botellas de depósito que suministran fluidos al sistema) y una estación (D) de producción y reinicio de CLC.

La figura 2 muestra un ejemplo de un dispositivo según aspectos de la presente descripción. Las características del dispositivo que se indican en esta figura incluyen lo siguiente, cada una de las cuales se describe en detalle en otra parte del presente documento: una cubierta (1) principal, una cubierta (2) de servicios, un cerramiento (3) del sistema, un módulo (5) de chip térmico , una tapa accionada mecánicamente para el módulo (6) de chip térmico, un cabezal (8) dispensador de presión, una estación (D) de producción y reinicio de CLC, una estación (E) óptica, una parada de emergencia (F; para desconexión de emergencia del dispositivo), un riel principal (H; que permite el movimiento del módulo del chip térmico entre estaciones en el dispositivo) y un soporte (I) de placa de pozo.

La figura 3 muestra un ejemplo de un dispositivo según aspectos de la presente descripción. Las características del dispositivo indicado en esta figura incluyen lo siguiente, cada una de las cuales se describe en detalle en otra parte del presente documento: una plataforma (2) de servicios, un cerramiento (3) del sistema, un cabezal (8) dispensador de muestras, un cabezal (10) dispensador de análisis, una estación (D) de producción y reinicio de CLC y una estación (E) óptica.

La figura 4 muestra un ejemplo de un dispositivo según aspectos de la presente descripción. Las características del dispositivo indicado en esta figura incluyen lo siguiente, cada una de las cuales se describe en detalle en otra parte del presente documento: una cubierta (1) principal, una cubierta (2) de servicios, una tapa accionada mecánicamente para el módulo (6) de chip térmico, una estación (D) de producción y reinicio de CLC, una estación (E) óptica, un riel (H) principal y un soporte (I) de placa de pozo.

La figura 5 muestra una vista en primer plano de un ejemplo de un dispositivo según aspectos de la presente descripción. Las características del dispositivo indicado en esta figura incluyen lo siguiente, cada una de las cuales se describe en detalle en otra parte del presente documento: un módulo (5) de chip térmico, una tapa accionada mecánicamente para el módulo (6) de chip térmico, un cabezal (8) dispensador de muestra , una estación (D) de producción y reinicio de CLC, un soporte (I) de placa de pozo, una estación (J) de limpieza y un soporte (K) de chips.

La figura 6 muestra un ejemplo de un dispositivo según aspectos de la presente descripción. Las características del dispositivo indicado en esta figura incluyen lo siguiente, cada una de las cuales se describe en detalle en otra parte del presente documento: un soporte (I) de placa de pozos, una estación (J) de limpieza, un cabezal (O) de muestra, un cabezal (Q) de ensayo, un armario (W) de controlador y un armario (X) de CC.

Ejemplos de ensayos de genotipado

En un nivel alto, un sistema para realizar un ensayo de genotipado tiene las siguientes capacidades:

(1) crea CLC individuales en un solo chip rellenando previamente ubicaciones de CLC independientes (por ejemplo, un chip de ubicación 2304) con portador y fluidos encapsulantes;

(2) crea reacciones de genotipado únicas (por ejemplo, 2304) mediante la adición de una muestra biológica;

(3) agrega reactivos (o una serie de reactivos) a las ubicaciones de CLC independientes y regula la temperatura del módulo del chip térmico según sea necesario para realizar el ensayo de genotipado de interés (por ejemplo, cebadores, tampones, enzimas, componentes etiquetados detectables, etc.); y

(4) interroga las ubicaciones de CLC para obtener un resultado para cada muestra, por lo que se determina el genotipo de la muestra.

Se observa que se puede realizar más de un ensayo a la vez dado el alto rendimiento del dispositivo, por ejemplo, 10 ensayos de genotipado diferentes en 384 muestras diferentes. Las CLC generados pueden tener bajos volúmenes de reacción, por ejemplo, del orden de 300 nl, como se describió anteriormente, lo que puede reducir significativamente el consumo de reactivos y muestras.

Los resultados de genotipado pueden adquirirse en aproximadamente 3 horas usando células de líquido compuesto. El dispositivo puede funcionar con un censo de muestra mínimo de 12 muestras y un censo de ensayo mínimo de 1 ensayo. Para muestras de números más bajos, se puede repetir un ensayo en cada cabezal para garantizar el funcionamiento eficiente del sistema.

Los ensayos de genotipado que se usan junto con los dispositivos descritos incluyen aquellos basados en balizas moleculares, endonucleasas FLAP (FEN), reacciones de extensión del cebador, PCR, etc.

Los ensayos de genotipado que se pueden realizar incluyen, pero no se limitan a, los siguientes ensayos para detectar patógenos (por ejemplo, la publicación de patente de los Estados Unidos Nº US 5968732 A titulada "Ensayo basado en la transcripción isotérmica para la detección y genotipado del virus del dengue"; Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US 8008045 B2 titulada "Cebadores para la amplificación isotérmica del virus de la hepatitis C") y para la determinación del genotipo de un sujeto (por ejemplo, Publicación de Solicitud de Patente PCT Nº WO 2010054589 A1 titulada "Detección del genotipo hla"; Solicitud de Patente PCT Publicación No. WO 2012006542 A2 titulada "Método de detección de polimorfismos de un solo nucleótido")

Ejemplo de ensayo de sexado aviar

El sexado molecular de los huevos aviares es una forma atractiva de determinar el sexo de sujetos aviares. Con diferencia de los mamíferos con heterogamedad XY, las aves poseen un sistema cromosómico sexual con heterogamedad ZW en hembras. Más específicamente, el cromosoma W es el cromosoma sexual específico de la hembra en las especies de aves. Dada la heterogamedad ZW, las secuencias específicas del cromosoma W pueden emplearse para determinar el sexo de un huevo aviar utilizando una muestra derivada del mismo. Se han desarrollado enfoques basados en la reacción de polimerasa en cadena (PCR) que tienen una amplia utilidad taxonómica. Por ejemplo, los métodos de identificación de sexo se han basado en el examen de las diferencias en el tamaño del intrón entre el cromosoma W específico de la mujer y el cromosoma Z, que ocurre en ambos sexos (femenino, ZW; masculino, ZZ). Por ejemplo, Griffiths et al. ((1998), Mol. Evolution. 7:1071-1075) emplean PCR con un único conjunto de cebadores para amplificar secciones homólogas del gametólogo Z y W, incorporando intrones cuyas longitudes usualmente difieren. Fridolfsson y Ellegren (1999, J. Avian Biol. 30:116-121) desarrollaron un enfoque similar y utilizaron una combinación del análisis de la diferencia de tamaño de intrón entre sexos y el gen CHD1 específico del cromosoma. Específicamente, Fridolfsson y Ellegren desarrollaron un método supuestamente universal para el sexado molecular de aves no corredoras mediante la aplicación de cebadores altamente conservados que flanquean el intrón 9 del gen CHD1 Wand CHD1Z, haciendo uso de una diferencia de tamaño constante entre los intrones CHD1W y CHD1Z. Las aves hembra se caracterizan por mostrar un fragmento pequeño (CHD1W) o dos (CHD1W y CHD1Z), mientras que los machos solo muestran un fragmento CHD1Z grande. Con un par particular de cebadores, Fridolfsson y Ellegren pudieron sexar 47 de 50 especies de aves de 11 órdenes en toda la filogenia aviar.

Los ejemplos de ensayos genómicos para la determinación del sexo aviar que se pueden realizar en los dispositivos incluyen, pero no se limitan a, los mencionados anteriormente, así como los descritos a continuación:

La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº US 20120288856 A1 titulada "Sexado molecular de sujetos aviares"; Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº US 20120084873 A1 titulada "Determinación del sexo y métodos para especificarlo"; Publicación de Solicitud de Patente PCT Nº WO 2004016812 A1 titulada "Método de determinación del sexo aviar"; Publicación de Solicitud de Patente PCT Nº WO 1996039505 A1 titulada "Genes de aves ghd y su uso en métodos para la identificación sexual en aves"; Publicación de Solicitud de Patente PCT Nº WO 2014021715 titulada "Género, viabilidad y/o determinación de la etapa de desarrollo de embriones de aves en ovo"; Jensen, T et al., "Condiciones para la determinación rápida del sexo en 47 especies de aves por PCR de ADN genómico procedente de sangre, vasos sanguíneos de membrana de la carcasa y plumas", Zoo Biology, Volumen 22, Número 6, páginas 561-571, 2003 .

Muchos de los ensayos descritos anteriormente emplean una reacción de amplificación. En muchas realizaciones, se usa una amplificación isotérmica en lugar de un protocolo de ciclo térmico de PCR estándar. Un ejemplo de un ensayo de amplificación isotérmica se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº US 6214587 B1 titulada "Amplificación de ácido nucleico de desplazamiento de cadena isotérmica".

Además de los ensayos basados en amplificación, pueden usarse ensayos de determinación de género isotérmicos no basados en amplificación, por ejemplo, como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente PCT No. WO 2008093336 A2 titulada "Ensayo de determinación del genoma". El ensayo descrito en esta publicación detecta directamente el ADN genómico no amplificado y se basa en la capacidad de la enzima reparadora de bases TDG para reconocer y adherirse una T intacta, que no coincide con G, únicamente en el ADN de doble cadena. El TDG restaura los desajustes de T/G a C/G en los sitios de desaminación de metil citosina. El TDG se muestra para reconocer una sonda corta hibridada con una secuencia de ADN genómico no amplificado objetivo, en la que, en un punto de la secuencia del cebador, C se reemplaza por T para no coincidir con G en la secuencia objetivo, y el TDG puede adherirse la T en el

T/G correctamente. Esto permite diferenciar entre dos genomas, y específicamente entre genomas de pollo hembra y macho.

Al realizar un ensayo de determinación de género aviar, las capacidades del sistema son las siguientes:

(1) crear CLC individuales en las ubicaciones de CLC independientes en un módulo del chip térmico (por ejemplo, 84 racimos de 17 ubicaciones de CLC independientes para un total de 1428 ubicaciones como se muestra en la figura 11) rellenando previamente con aceites;

(2) crear reacciones moleculares únicas en las CLC mediante la adición de una muestra biológica (por ejemplo, una muestra de sangre) forma un huevo aviar y reactivos (o una serie de reactivos) para realizar el ensayo de determinación del sexo;

(3) lisa/procesa térmicamente las muestras biológicas dentro de las ubicaciones de CLC independientes para ejecutar el ensayo genético de determinación del sexo aviar;

(4) interroga las ubicaciones de CLC para obtener un resultado para cada muestra, por lo que se determina el sexo del huevo aviar.

En algunas realizaciones, las CLC generadas pueden tener un volumen de reacción del orden de 10 a 20 µl, por ejemplo, 15 µl. El dispositivo puede funcionar con un censo de muestra mínimo de 20 muestras y un censo de ensayo mínimo de 1 ensayo. Para muestras de números más bajos, se puede repetir un ensayo en cada cabezal para garantizar el funcionamiento eficiente del sistema. El sistema puede proporcionar llamadas de género utilizando resultados de química isotérmica en aproximadamente 15 minutos utilizando células de líquido compuesto. El sistema funciona con un sistema de detección fluorescente de dos colores.

Como se detalla en otra parte de este documento, la Unidad de Procesamiento de Ensayos (UPE) tiene la capacidad de interactuar con la Unidad de Muestreo de Huevos (UMH) a través de un conjunto de carriles extendidos (no incluidos en las dimensiones generales de la UPE). Las unidades combinadas juntas se usan para hacer llamadas de género a los pollitos in vitro. El sistema está diseñado para ser controlado a través de una interfaz de usuario en una computadora personal típica de Windows que está integrada en el marco del instrumento.

El UMH es el módulo que recolecta las muestras (la muestra biológica de los huevos de aves). La UPE tiene las siguientes operaciones realizadas dentro de ella, incluyendo; dispensar muestra; lisis de muestra; incubación térmica; dispensación de ensayo; amplificación de señal a través de la incubación térmica; lectura óptica; y reinicio de la ubicación de CLC independiente.

El módulo del chip térmico puede ser un cerramiento de placa de aluminio que está montada en dos cojinetes lineales a través de cuatro carros que forman parte del conjunto de riel lineal. Es una unidad modular y se puede desacoplar del instrumento conectando/desconectando los diversos contactos eléctricos y neumáticos en la zona de terminación, ubicada en la parte posterior del módulo.

El acceso a los componentes internos se puede obtener a través de cinco placas de acceso (dos en cada una de las paredes laterales y una en la parte inferior) o quitando las tapas del módulo.

La bandeja térmica está alojada dentro del módulo del chip térmico y define las 1428 ubicaciones de CLC independientes. La figura 11 muestra un ejemplo de un módulo del chip térmico con ubicaciones (12) CLC independientes en racimos (13) espaciadas en un paso (14) para tomar muestras de huevos de aves. Las ubicaciones de CLC independientes están presentes en una bandeja térmica del módulo del chip térmico. Cada racimo contiene 17 ubicaciones de CLC independientes para realizar ensayos de sexado aviar independientes en diferentes muestras biológicas derivadas de óvulos. La bandeja térmica se controla de forma independiente utilizando una estera calefactora conductora enrollada con alambre unida a la superficie inferior de la bandeja térmica. El enfriamiento de la bandeja térmica es proporcionado por conductos de flujo de aire turbulento ubicados en el lado inferior de la estera del calentador.

Los revestimientos de las ubicaciones de CLC independientes pueden ser inyectados en moldeado negro para minimizar los reflejos internos y la señal de fondo (esto se puede aplicar a cualquier dispositivo descrito aquí).

El movimiento direccional XY de la bandeja térmica se logra usando una etapa XY que está contenida permanentemente dentro del módulo, sobre la cual se monta la bandeja térmica. Esto elimina la necesidad de robótica adicional dentro de los diferentes cabezales.

El módulo del chip térmico tiene la capacidad de funcionar dentro de un entorno polvoriento con dos tapas en el módulo para evitar la entrada de polvo. Ambas tapas tienen agujeros que corresponden a los de las ubicaciones de CLC independientes en la bandeja térmica. Una tapa superior fijada al módulo mientras que la tapa inferior está montada en un mecanismo que puede accionarse por 10 mm. Al accionar la tapa inferior y compensar los agujeros, esto garantiza que el módulo esté cerrado al medio ambiente y, por lo tanto, evita la entrada de suciedad. La presión positiva también se utiliza para garantizar que el flujo de aire sea siempre desde la bandeja al ambiente.

La figura 12 muestra dos vistas de un módulo del chip térmico ensamblado con una tapa (15) del módulo que tiene orificios (18) correspondientes a una única ubicación de CLC independiente en cada racimo (mostrado en la figura 11) a una distancia (19) de paso de huevo montado en una etapa (16) robótica XY. El módulo del chip térmico incluye una base (17) de bandeja térmica integrada para control de la temperatura.

La figura 13 muestra un ejemplo de un dispositivo de sexado de huevo aviar que encuentra uso en la determinación del sexo aviar. El dispositivo que se muestra en figura 13 tiene una Unidad de Procesamiento de Ensayos (UPE; 20) que contiene: una estación (21) de dispensación de ensayos una estación (22) de interrogación óptica, una estación (23) de reinicio de vacío/cabezal, y una estación (24) de producción de CLC. La UPE está operativamente conectada a una unidad de muestreo de huevos (UMH; 25) a través de rieles (26) lineales que permiten la interacción y el movimiento del módulo (27) de chip térmico entre la UPE y la UMH. Los rieles lineales del dispositivo se pueden construir con aluminio extruido de 80 mm x 40 mm, en el que se montan los rodamientos lineales. Se puede usar un motor lineal y una pista magnética para conducir el módulo del chip térmico a lo largo de los rieles. La pista magnética se puede ubicar en el interior del riel delantero. El motor mismo se conecta a la parte inferior del módulo del chip térmico. La retroalimentación posicional del motor se puede realizar mediante el uso de una combinación de un cabezal lector y una banda codificadora. Esta banda codificadora de acero inoxidable puede ubicarse en el interior del riel posterior. Los rodillos también se pueden unir al interior de los rieles. Estos pueden usarse para acomodar una bandeja de goteo de acero inoxidable, cuyo propósito es proteger los compartimentos internos del instrumento durante el cebado de las bombas. La UMH incluye una bandeja (28) de huevo aviar con una pluralidad de receptores (29) de huevo espaciados a un paso de huevo.

La UMH incluye un cabezal de muestreo de huevos que incluye agujas espaciadas a paso de huevo para obtener una muestra biológica de cada huevo en la bandeja de huevos. Los rieles lineales permiten que el módulo del chip térmico se mueva al UMH para recibir las muestras biológicas recolectadas por el cabezal de muestreo de huevos. Se pueden realizar múltiples rondas de recolección y deposición de muestras para depositar diferentes muestras de todas las ubicaciones de CLC independientes en los racimos en el módulo del chip térmico (por ejemplo, las 17 ubicaciones de CLC independientes en el módulo del chip térmico que se muestra en la figura 11). La figura 14 muestra esquemas de primer plano de la estación (21) de dispensación de ensayos, la estación (22) de interrogación óptica, la estación (23) de reinicio de vacío/cabezal y la estación (24) de producción de CLC de la figura 13.

Todos los componentes anteriores pueden ser controlados y suministrados por las siguientes 6 unidades:

(1) Unidad/armario de alimentación de CA: un cerramiento que alberga las unidades de fuente de alimentación (UFA). También gestiona toda la energía que llega al instrumento y la energía que se distribuye al instrumento.

(2) Una unidad/armario de comunicaciones de CC: la unidad donde se consume toda la energía de CC de las UFA. Contiene múltiples bloques de terminación, relés, salidas/entradas digitales y mini8.

(3) Una unidad/armario de control: contiene múltiples controladores (por ejemplo, siete controladores) que controlan todos los movimientos robóticos en el instrumento. Es aquí donde se ubican todos los contactos relacionados con el sistema de seguridad.

(4) Una unidad de filtro de aire: el aire se filtra y se regula alrededor del instrumento a través de esta unidad.

(5) Una estación/armario neumático: esto incluye un banco de válvulas y generadores de vacío utilizados para diversas aplicaciones en el instrumento.

(6) Módulo de fluidos/Armario de bombeo de fluidos: debajo de la plataforma principal es donde el módulo de fluidos puede alojar las botellas de depósito que suministran fluidos del sistema; aceite encapsulante, aceite portador, líquidos de lavado. Los marcadores de posición estarán codificados por colores o numerados para facilitar la configuración del usuario y evitar errores. Los depósitos de

botellas tendrán conexiones de conexión rápida. Como mínimo, las botellas contendrán un volumen suficiente para completar una sola ejecución del sistema.

CONTROLADORES INFORMÁTICOS

Los aspectos de la presente descripción incluyen además controladores informáticos para operar los dispositivos, donde los controladores incluyen además uno o más elementos informáticos para la automatización completa o la automatización parcial de un dispositivo como se describe en este documento. En algunas realizaciones, los controladores incluyen un ordenador que tiene un medio de almacenamiento legible informáticamente con un programa informático almacenado en el mismo, donde el programa informático cuando se carga en el ordenador incluye instrucciones para activar el dispositivo para realizar un ensayo genético mediado por CLC, por ejemplo, como se describe anteriormente.

En las realizaciones, el controlador incluye un módulo de entrada, un módulo de procesamiento y un módulo de salida. Los módulos de procesamiento de interés pueden incluir uno o más procesadores que están configurados y automatizados para implementar una o más rutinas del dispositivo, por ejemplo, como se describió anteriormente. Por ejemplo, los módulos de procesamiento pueden incluir dos o más procesadores, tal como tres o más procesadores, tal como cuatro o más procesadores e incluyendo cinco o más procesadores, que están configurados y automatizados para realizar un ensayo genético. Como se describió anteriormente, cada procesador incluye memoria que tiene una pluralidad de instrucciones para realizar los pasos de los métodos en cuestión.

Los controladores pueden incluir componentes tanto de hardware como de software, donde los componentes de hardware pueden tomar la forma de una o más plataformas, de modo que los elementos funcionales, es decir, aquellos elementos del controlador que llevan a cabo tareas específicas (tales como la gestión de la entrada y la salida de información, procesamiento de información, etc.) del controlador puede llevarse a cabo mediante la ejecución de aplicaciones de software en una o más plataformas informáticas representadas por el sistema.

Los controladores pueden incluir una pantalla y un dispositivo de entrada del operador. Los dispositivos de entrada del operador pueden ser, por ejemplo, un teclado, ratón o similar. El módulo de procesamiento incluye un procesador que tiene acceso a una memoria que tiene instrucciones almacenadas allí para realizar los pasos de los métodos en cuestión. El módulo de procesamiento puede incluir un sistema operativo, un controlador de interfaz gráfica de usuario (IGU), una memoria del sistema, dispositivos de almacenamiento de memoria y controladores de entrada-salida, memoria caché, una unidad de respaldo de datos y muchos otros dispositivos. El procesador puede ser un procesador disponible comercialmente, o puede ser uno de los otros procesadores que están o estarán disponibles. El procesador ejecuta el sistema operativo y las interfaces del sistema operativo con firmware y hardware de una manera bien conocida, y facilita al procesador la coordinación y ejecución de las funciones de varios programas informáticos que pueden estar escritos en una variedad de lenguajes de programación, como Java, Perl, C++, otros lenguajes de alto o bajo nivel, así como combinaciones de los mismos, como se conoce en la técnica. El sistema operativo, típicamente en cooperación con el procesador, coordina y ejecuta funciones de los otros componentes del ordenador. El sistema operativo también proporciona programación, control de entrada-salida, gestión de archivos y datos, gestión de memoria y control de comunicación y servicios relacionados, todo según técnicas conocidas.

La memoria del sistema puede ser cualquiera de una variedad de dispositivos de almacenamiento de memoria conocidos o futuros. Los ejemplos incluyen cualquier memoria de acceso aleatorio (RAM) comúnmente disponible, medio magnético tal como un disco duro residente o cinta, un medio óptico como un disco compacto de lectura y escritura, dispositivos de memoria flash u otro dispositivo de almacenamiento de memoria. El dispositivo de almacenamiento de memoria puede ser cualquiera de una variedad de dispositivos conocidos o futuros, incluida una unidad de disco compacto, una unidad de cinta, una unidad de disco duro extraíble o una unidad de disquete. Tales tipos de dispositivos de almacenamiento de memoria típicamente leen o escriben en un medio de almacenamiento de programas (no mostrado) tal como, respectivamente, un disco compacto, una cinta magnética, un disco duro extraíble o un disquete. Cualquiera de estos medios de almacenamiento de programas, u otros ahora en uso o que puedan ser desarrollados posteriormente, puede considerarse un producto del programa informático. Como se apreciará, estos medios de almacenamiento de programas suelen almacenar un programa de software y/o datos. Los programas de software de ordenador, también llamados lógica de control del ordenador, generalmente se almacenan en la memoria del sistema y/o en el dispositivo de almacenamiento de programas utilizado junto con el dispositivo de almacenamiento de memoria.

En algunas realizaciones, se describe un producto del programa informático que comprende un medio utilizable por el ordenador que tiene lógica de control (programa de software del ordenador, incluyendo código del programa) almacenado en el mismo. La lógica de control, cuando es ejecutada por el procesador

del ordenador, hace que el procesador realice las funciones descritas en este documento. En otras realizaciones, algunas funciones se implementan principalmente en hardware usando, por ejemplo, una máquina de estado del hardware. La implementación de la máquina de estado del hardware para realizar las funciones descritas en el presente documento será evidente para los expertos en las técnicas relevantes.

La memoria puede ser cualquier dispositivo adecuado en el que el procesador pueda almacenar y recuperar datos, tales como dispositivos de almacenamiento magnéticos, ópticos o de estado sólido (incluidos discos magnéticos u ópticos o cinta o RAM, o cualquier otro dispositivo adecuado, ya sea fijo o portátil). El procesador puede incluir un microprocesador digital de uso general programado adecuadamente desde un medio legible informáticamente que lleve el código del programa necesario. La programación se puede proporcionar de forma remota al procesador a través de un canal de comunicación, o previamente guardada en un producto del programa informático, como memoria u otro medio de almacenamiento legible informáticamente portátil o fijo, utilizando cualquiera de esos dispositivos en conexión con la memoria. Por ejemplo, un disco magnético u óptico puede llevar la programación, y puede ser leído por un lector/grabador de discos. Los sistemas de la invención también incluyen programación, por ejemplo, en forma de productos del programa informático, algoritmos para usar en la práctica de los métodos descritos anteriormente. La programación según la presente invención se puede grabar en medios legibles informáticamente, por ejemplo, cualquier medio que pueda ser leído y accesible directamente por un ordenador. Tales medios incluyen, pero no se limitan a: medios de almacenamiento magnéticos, tales como disquetes, medios de almacenamiento de discos duros y cintas magnéticas; medios de almacenamiento óptico tales como CD-ROM; medios de almacenamiento eléctrico como RAM y ROM; unidad flash portátil; e híbridos de estas categorías, tales como medios de almacenamiento magnéticos/ópticos.

El procesador también puede tener acceso a un canal de comunicación para comunicarse con un usuario en una ubicación remota. Por ubicación remota se entiende que el usuario no está en contacto directo con el sistema y transmite información de entrada a un administrador de entrada desde un dispositivo externo, como una computadora conectada a una red de área amplia ("WAN"), red telefónica, red satelital, o cualquier otro canal de comunicación adecuado, incluido un teléfono móvil (es decir, un teléfono inteligente).

En algunas realizaciones, los controladores según la presente descripción pueden configurarse para incluir una interfaz de comunicación. En algunas realizaciones, la interfaz de comunicación incluye un receptor y/o transmisor para comunicarse con una red y/u otro dispositivo. La interfaz de comunicación se puede configurar para la comunicación por cable o inalámbrica, incluida, entre otras, la comunicación por radiofrecuencia (RF) (por ejemplo, Identificación por radiofrecuencia (RFID), protocolos de comunicación Zigbee, WiFi, infrarrojos, bus serie universal inalámbrico (USB)), Ultra-Wide B (UWB), protocolos de comunicación Bluetooth® y comunicación móvil, tal como el acceso múltiple por división de código (CDMA) o el Sistema global para comunicaciones móviles (GSM).

Los controladores de salida pueden incluir controladores para cualquiera de una variedad de dispositivos de visualización conocidos para presentar información a un usuario, ya sea humano o una máquina, ya sea local o remota. Si uno de los dispositivos de visualización proporciona información visual, esta información normalmente puede organizarse lógica y/o físicamente como una matriz de elementos de imagen. Un controlador de interfaz gráfica de usuario (IGU) puede incluir cualquiera de una variedad de programas de software conocidos o futuros para proporcionar interfaces gráficas de entrada y salida entre el sistema y un usuario, y para procesar entradas de usuario. Los elementos funcionales del ordenador pueden comunicarse entre sí a través del bus del sistema. Algunas de estas comunicaciones pueden llevarse a cabo en realizaciones alternativas que utilizan redes u otros tipos de comunicaciones remotas. El administrador de salida también puede proporcionar información generada por el módulo de procesamiento a un usuario en una ubicación remota, por ejemplo, a través de Internet, teléfono o red satelital, según técnicas conocidas. La presentación de datos por parte del administrador de salida puede implementarse según una variedad de técnicas conocidas. Como algunos ejemplos, los datos pueden incluir documentos SQL, HTML o XML, correo electrónico u otros archivos, o datos en otras formas. Los datos pueden incluir direcciones URL de Internet para que un usuario pueda recuperar SQL, HTML, XML u otros documentos o datos adicionales de fuentes remotas. Una o más plataformas presentes en los sistemas sujetos pueden ser cualquier tipo de plataforma informática conocida o un tipo que se desarrolle en el futuro, aunque típicamente serán una plataforma informática comúnmente conocida como servidores. Sin embargo, también pueden ser un ordenador central, una estación de trabajo u otro tipo de ordenador. Se pueden conectar a través de cualquier tipo de cableado conocido o futuro u otro sistema de comunicación, incluidos los sistemas inalámbricos, ya sea en red o de otro tipo. Pueden estar ubicados o pueden estar físicamente separados. Se pueden emplear varios sistemas operativos en cualquiera de las plataformas informáticas, posiblemente dependiendo del tipo y/o marca de la plataforma informática elegida. Los sistemas operativos apropiados incluyen Windows NT®, Windows XP, Windows 7, Windows 8, iOS, Sun Solaris, Linux, OS/400, Compaq Tru64 Unix, SGI IRIX, Siemens Reliant Unix y otros.

A continuación, se muestran ejemplos de elementos de software que se utilizan en los dispositivos y métodos actuales:

Archivo de entrada: El número de muestras y ensayos a ejecutar se puede capturar durante la configuración de la ejecución, ya sea a través de datos de usuario ingresados manualmente o un archivo .csv generado previamente. La información que se capturará incluirá el número de muestras y la ubicación de las muestras. Para ingresar detalles de ejecución manualmente, se puede usar una plantilla en blanco con opciones de autocompletar para completar la información rápidamente para su posterior edición.

Interfaz de usuario principal: La interfaz de usuario principal retroalimentará la siguiente información de estado de ejecución: una representación gráfica animada de la plataforma principal que muestra la acción actual que realiza el manipulador de líquidos; un indicador de estado para cada chip que indica su progreso a través del protocolo general; un temporizador de cuenta regresiva para completar la ejecución total, con una precisión de +/- 10 min; un panel de retroalimentación para el chip que mostrará información relacionada con la tarea actual que se está realizando, es decir, información térmica, operación de dispensación y lecturas ópticas; un panel de advertencias y errores donde se mostrarán los problemas marcados por el software.

Archivo de salida: Los archivos de salida, que incluyen un archivo de código de barras y un archivo de definición de placa, se pueden combinar opcionalmente en uno. El nombre de la carpeta de registro de ejecución se incluirá en el archivo de salida, así como el protocolo que se ejecutó. Los registros de ejecución se numerarán para mantenerlos en orden.

Requisitos generales del software: durante la configuración de ejecución, un usuario será guiado a través de la secuencia de carga y se le pedirá que escanee el código de barras cuando sea apropiado. El software del sistema incluirá un subprograma específico simple e integrado para la alineación de chips de dispensación en masa. Cuando se requiere que un usuario ingrese información, el sistema puede solicitarle que seleccione entre una serie de opciones predefinidas dentro de una lista desplegable en lugar de ingresar información libremente.

Este sistema de genotipado es compatible con las químicas moleculares utilizadas en el genotipado de alto rendimiento. Estos incluyen y no se limitan a muestras de ADN, ARN, exoma completo, transcriptoma, virsuses, BAC, etc.

Los detalles adicionales con respecto a los sistemas que pueden configurarse para realizar los métodos de manipulación de fluidos descritos en este documento, y por lo tanto incluyen los sistemas de manejo de fluidos descritos en este documento; incluyen las descritas en las patentes estadounidenses números 8.465.707 y 9.080.208; así como la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos No. 20140371107; y solicitudes PCT publicadas: W02014/083435; W02014/188281; W02014/207577; W02015/075563; W02015/075560.

Los métodos y sistemas descritos en este documento encuentran uso en una variedad de aplicaciones diferentes. Las aplicaciones en las que los métodos y sistemas encuentran uso incluyen protocolos mediados por CLC, que incluyen, entre otros, los descritos en las patentes estadounidenses números 8.465.707 y 9.080.208; así como la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos No. 20140371107; y solicitudes PCT publicadas: W02014/083435; W02014/188281; W02014/207577; W02015/075563; W02015/075560.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de análisis genómico completo, el dispositivo comprende:

un módulo (5) de chip térmico que comprende múltiples ubicaciones de células de líquido compuesto (CLC) independientes;
una tapa (6) accionada mecánicamente para el módulo (5) de chip térmico;
una Estación de producción de CLC configurada para acceder a cada ubicación de CLC independiente del módulo (5) de chip térmico;
una ubicación de recepción de muestra;
una ubicación de recepción de reactivos;
Un manipulador de líquidos controlado robóticamente configurado para transferir líquido entre la ubicación de recepción la muestra, la ubicación de recepción de reactivo y el módulo (5) de chip térmico; y
una estación de interrogación configurada para interrogar cada ubicación de CLC independiente del módulo (5) de chip térmico.

2. El dispositivo según la reivindicación 1, en el que el módulo (5) de chip térmico comprende de 1400 a 3000 ubicaciones de CLC independientes.

3. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que la ubicación de recepción de reactivo está configurada para recibir una placa de ensayo y una placa de mezcla maestra.

4. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el manipulador de líquido controlado robóticamente comprende cabezales intercambiables configurados para dispensar muestras, dispensar ensayos y dispensar mezclas maestras.

5. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la estación de producción de CLC está configurada para dispensar el portador y el fluido de encapsulación en las ubicaciones de CLC independientes y lavar las ubicaciones de CLC independientes.

6. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el dispositivo comprende un módulo de fluidos que comprende depósitos de líquido para fluidos del sistema y recogida de residuos.

7. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la estación de interrogación está configurada para detectar una señal óptica.

8. Dispositivo según la reivindicación 7, en el que la estación de interrogación está configurada para transmitir luz de excitación y recoger luz de emisión desde cada ubicación de CLC independiente en el módulo (5) de chip térmico.

9. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el dispositivo es un dispositivo de genotipado.

10. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el dispositivo es un dispositivo de sexado aviar.

11. Dispositivo según la reivindicación 10, en el que la ubicación de recepción de la muestra está operativamente conectada a una unidad de muestreo de huevos (UMH) configurada para obtener muestras biológicas de múltiples huevos de aves.

12. Un método para analizar genómicamente una pluralidad de muestras biológicas, el método comprende:

introducir una pluralidad de muestras biológicas en la ubicación de muestra de un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11,
operar el dispositivo para realizar un ensayo de genotipado mediante:

(i) la generación de una muestra de reacción de análisis genómico de CLC para cada una de la pluralidad de muestras biológicas en una ubicación de CLC independiente correspondiente del módulo (5) de chip térmico;
(ii) la realización de una reacción en la muestra de reacción de análisis genómico de CLC ejecutando un programa térmico en el módulo (5) de chip térmico; y

(iii) detectar una señal de cada una de las muestras de reacción de análisis genómico de CLC en las ubicaciones de CLC independientes correspondientes del módulo (5) de chip térmico con la estación de interrogación;

en donde la señal detectada para cada una de las muestras de reacción de análisis genómico de CLC es indicativa de una rasgogenética de cada una de la pluralidad de muestras biológicas.

13. El método según la reivindicación 12, en el que el ensayo de análisis genómico es un ensayo de genotipado.

14. El método según la reivindicación 12, en el que el ensayo de análisis genómico es un ensayo de sexado aviar.

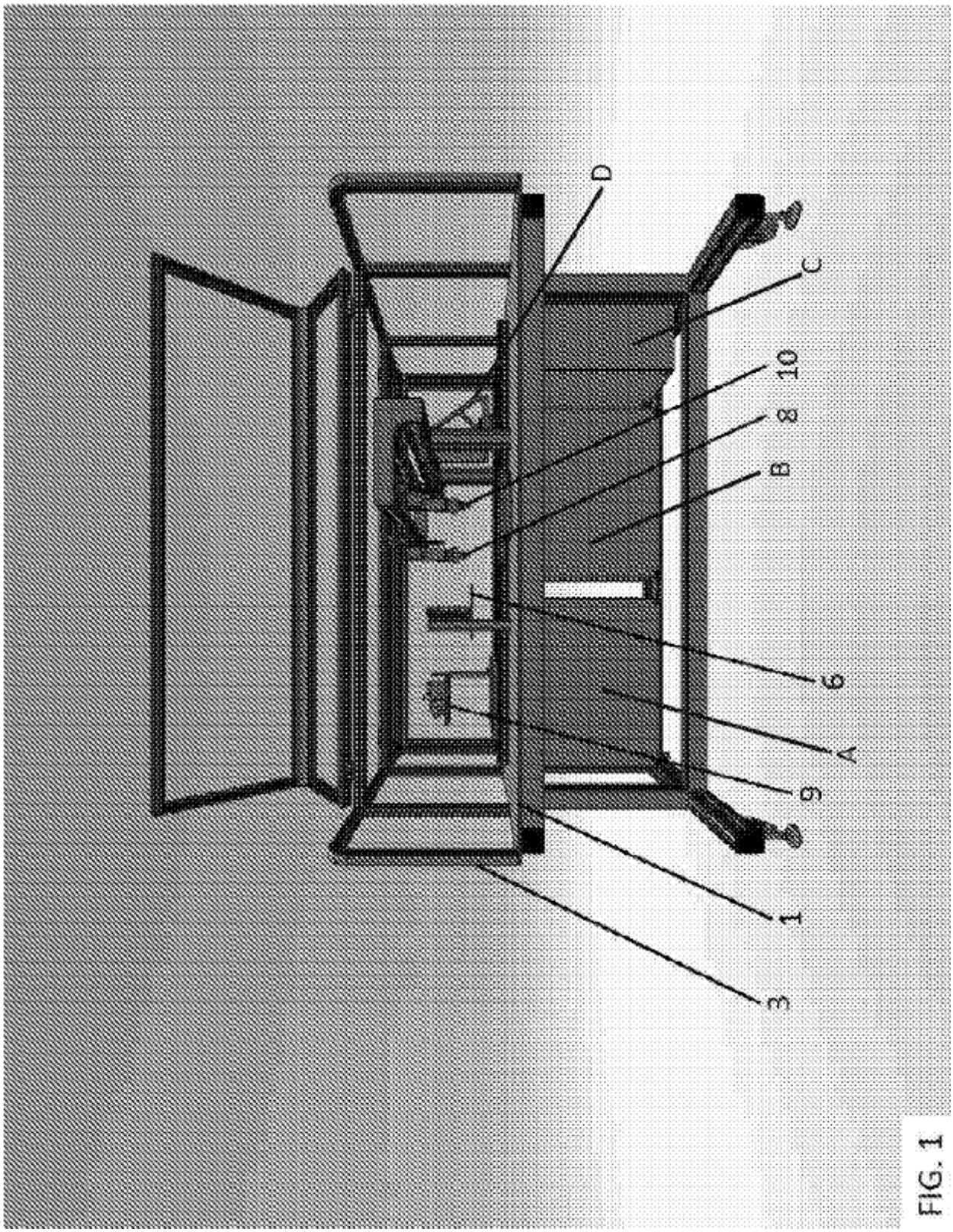

FIG. 1

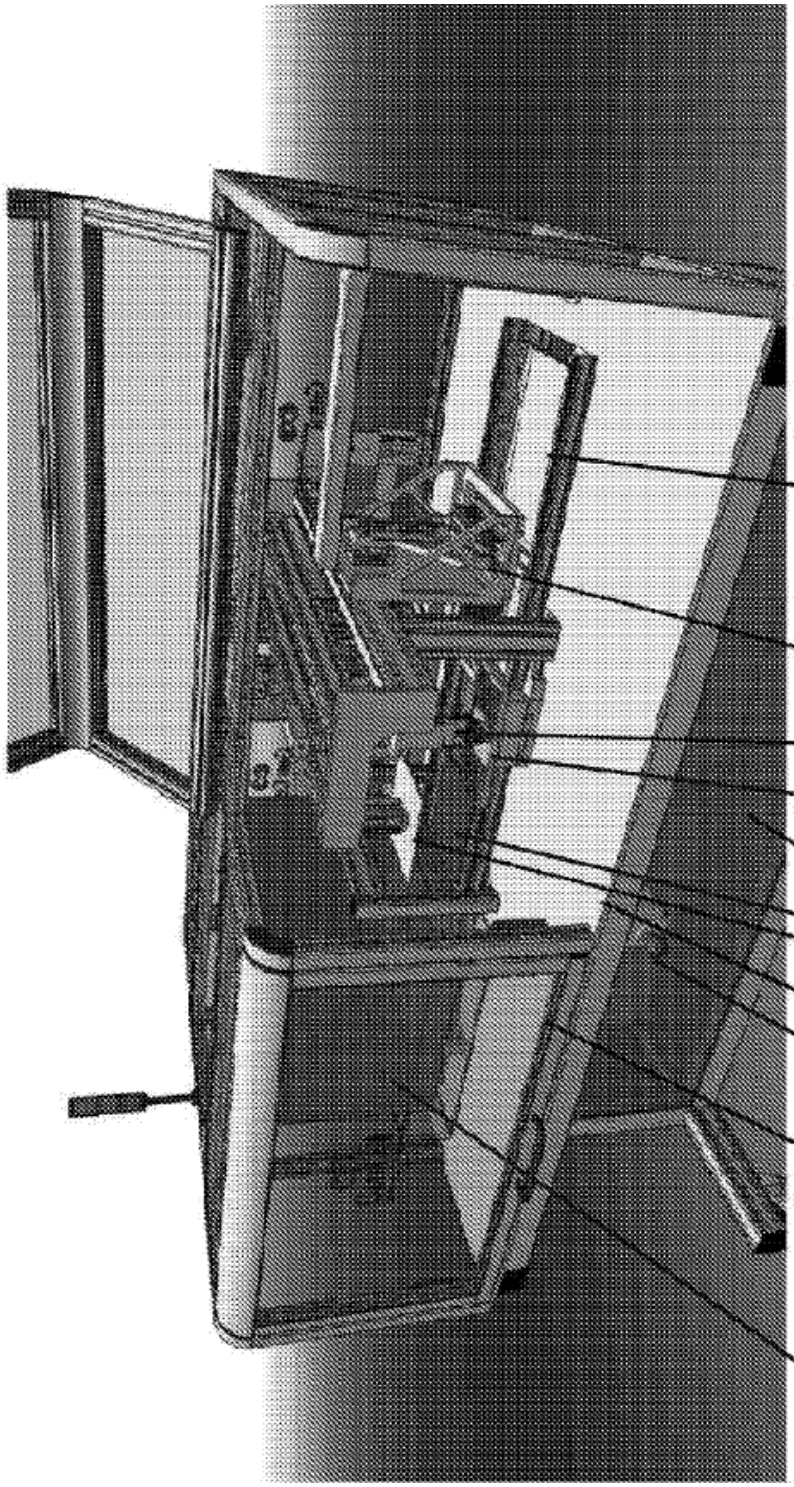

FIG. 2

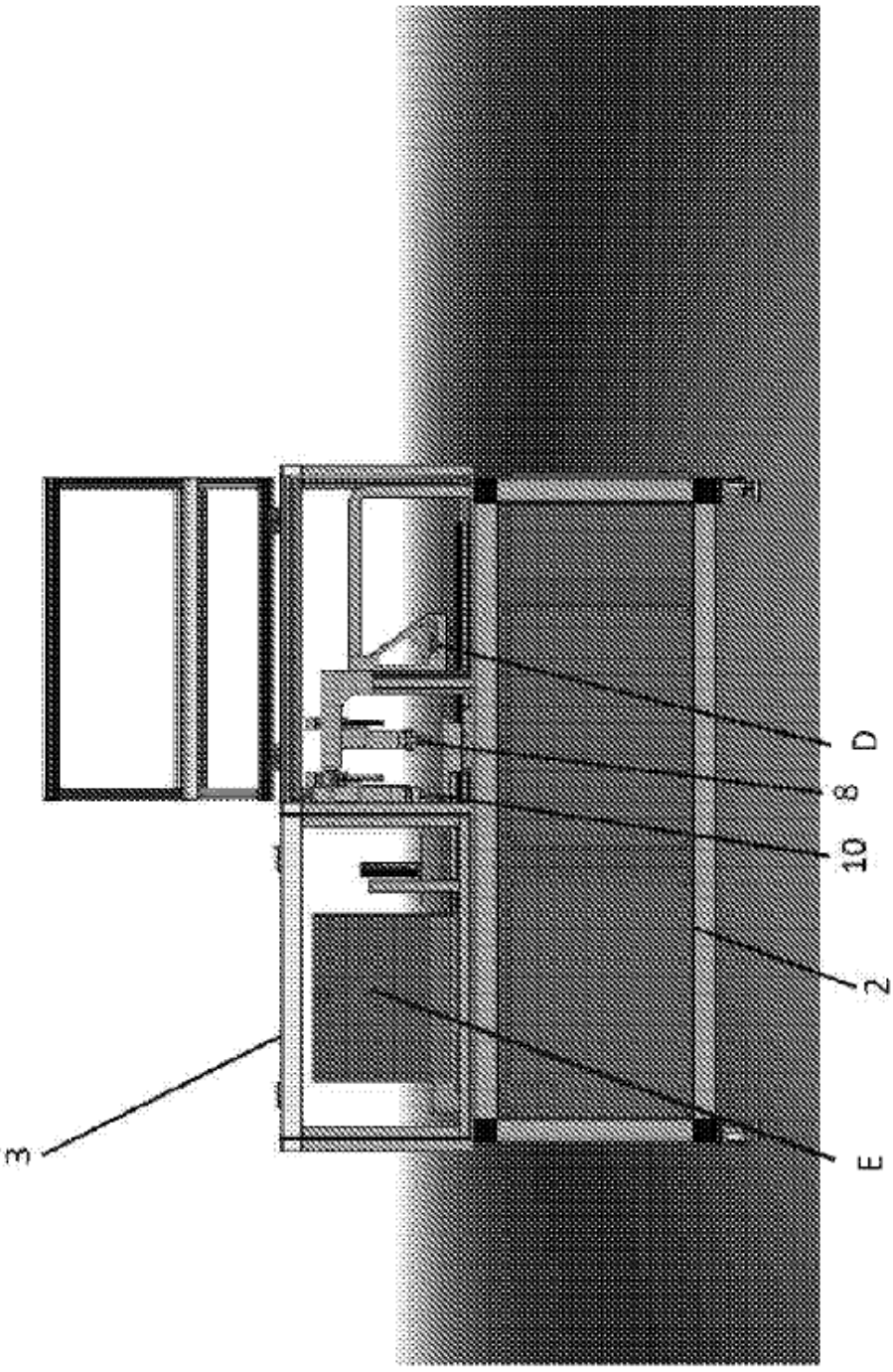

FIG. 3

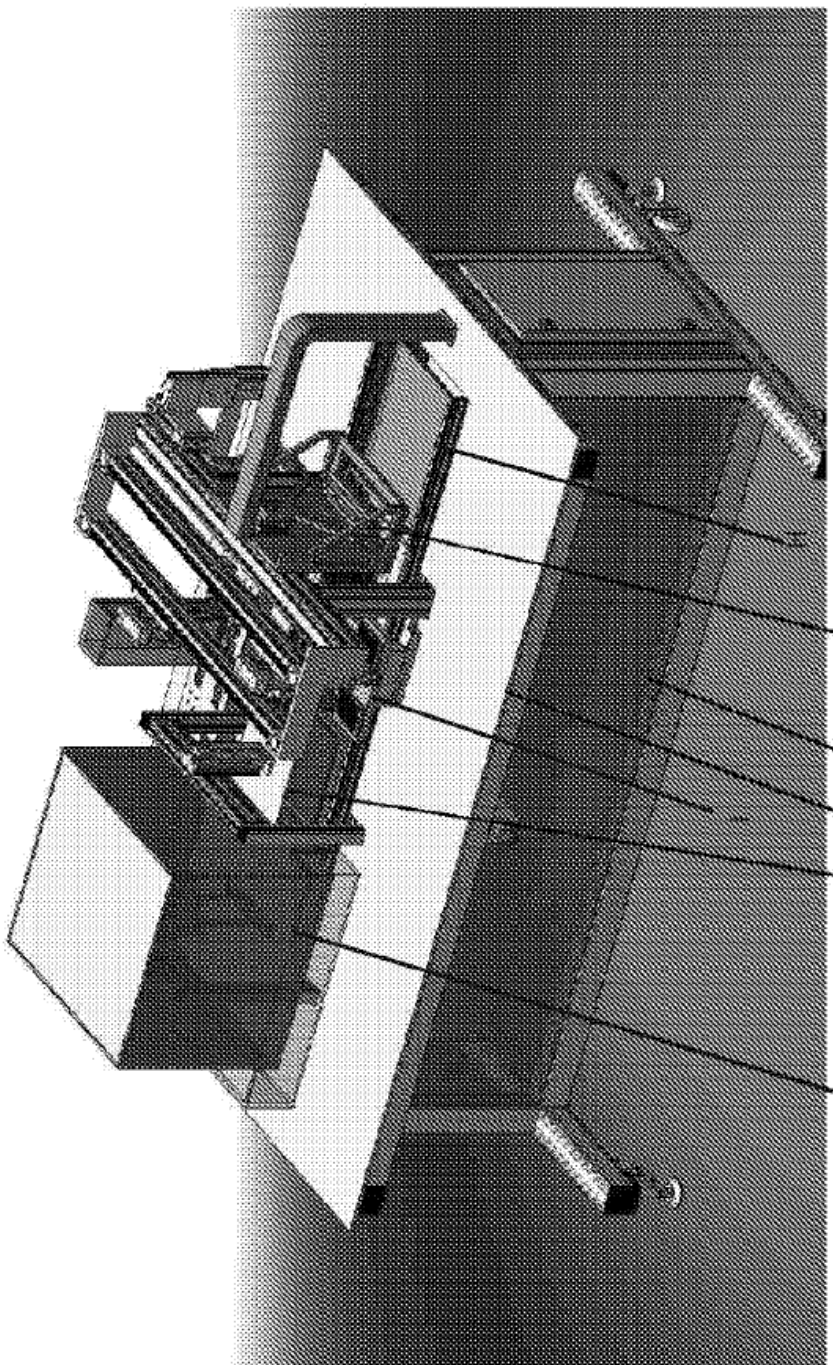

FIG. 4

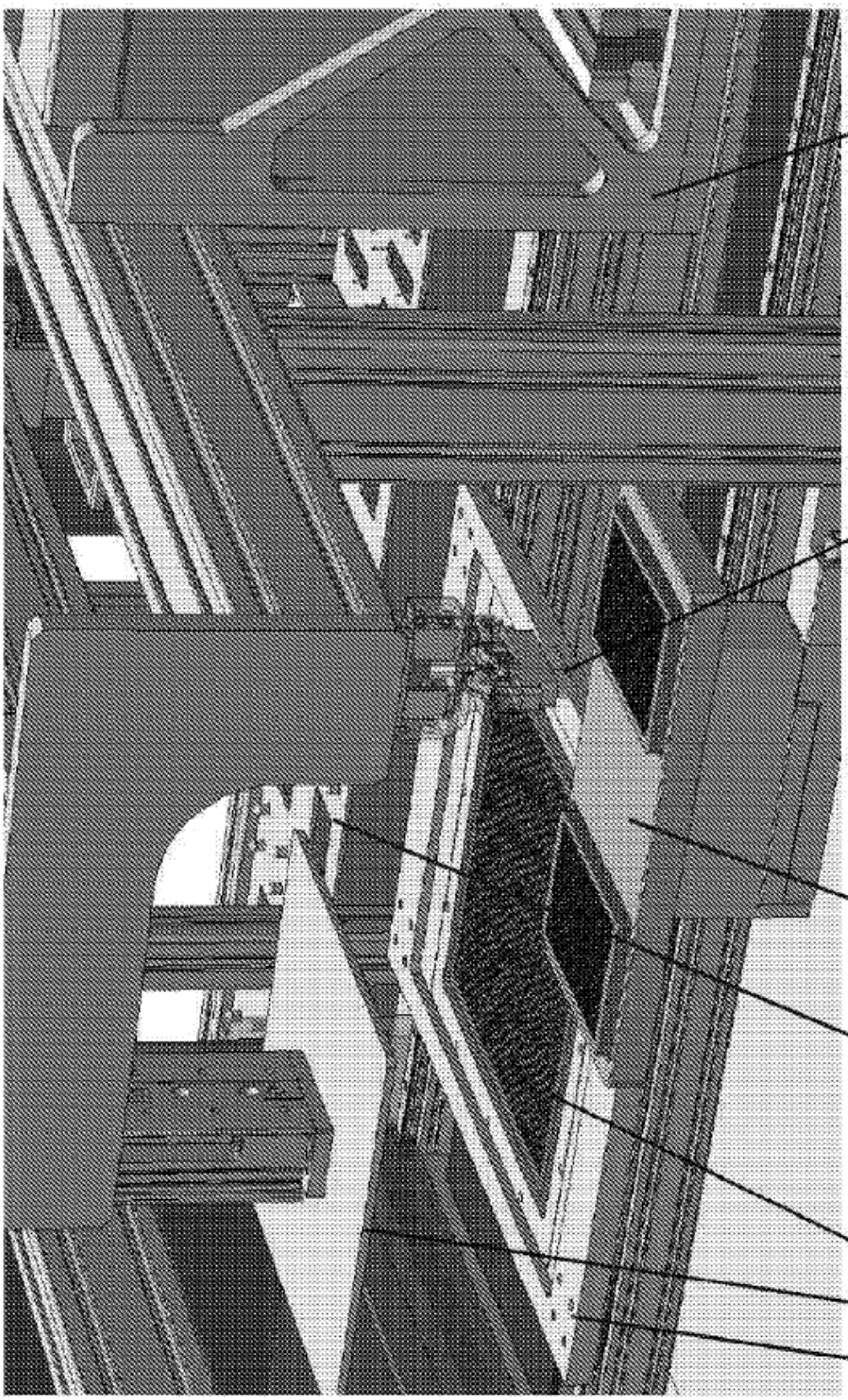

FIG. 5

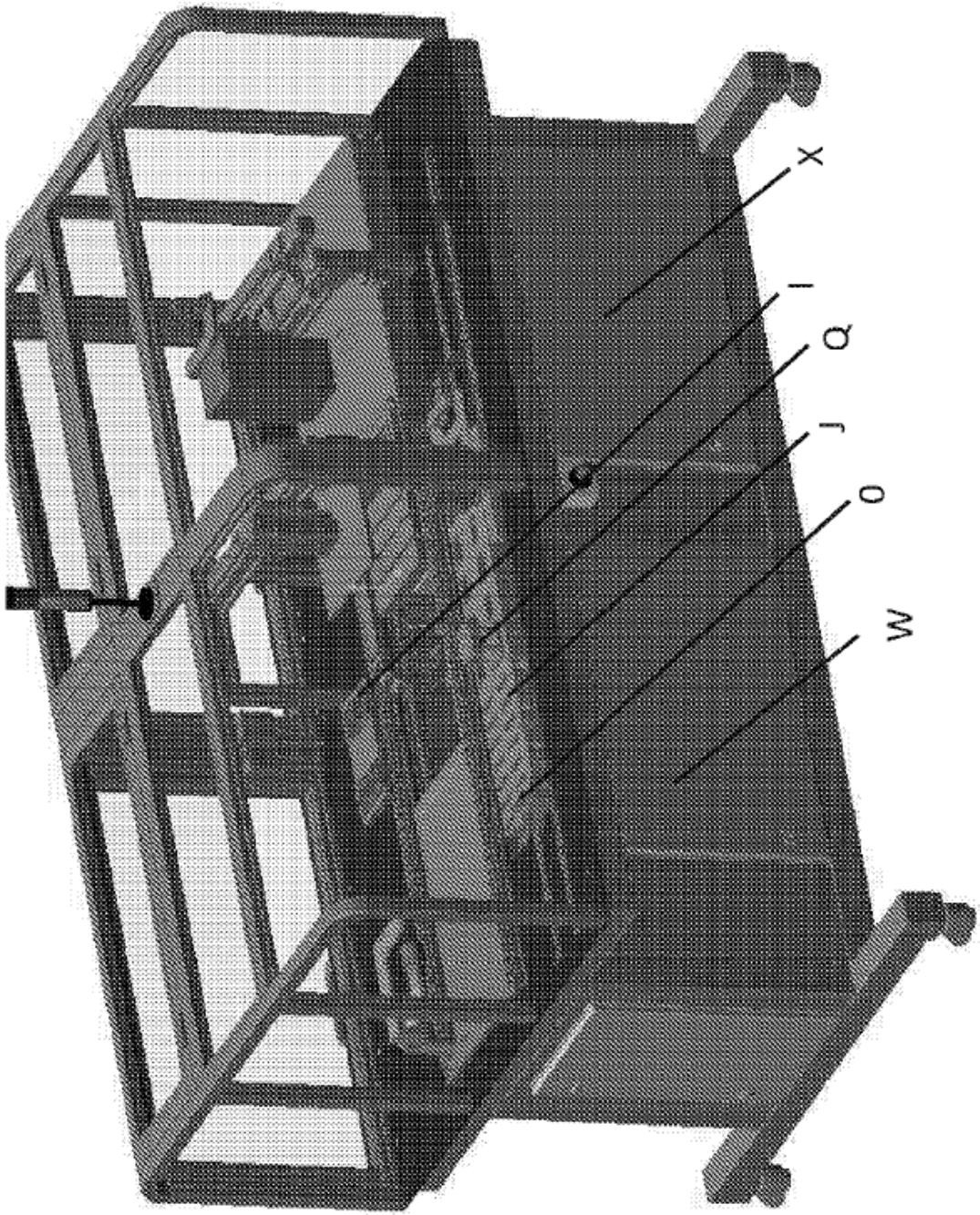

FIG. 6

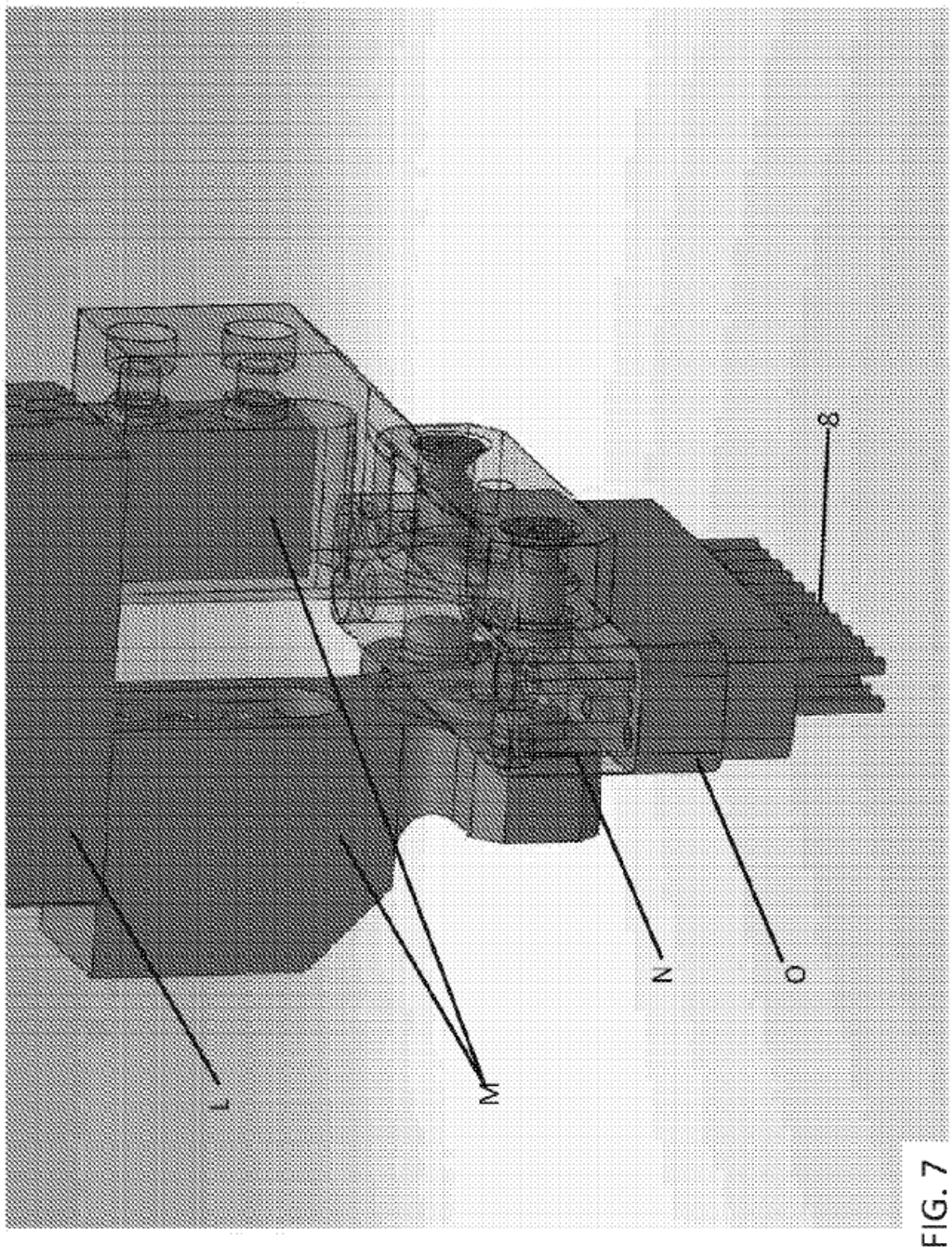

FIG. 7

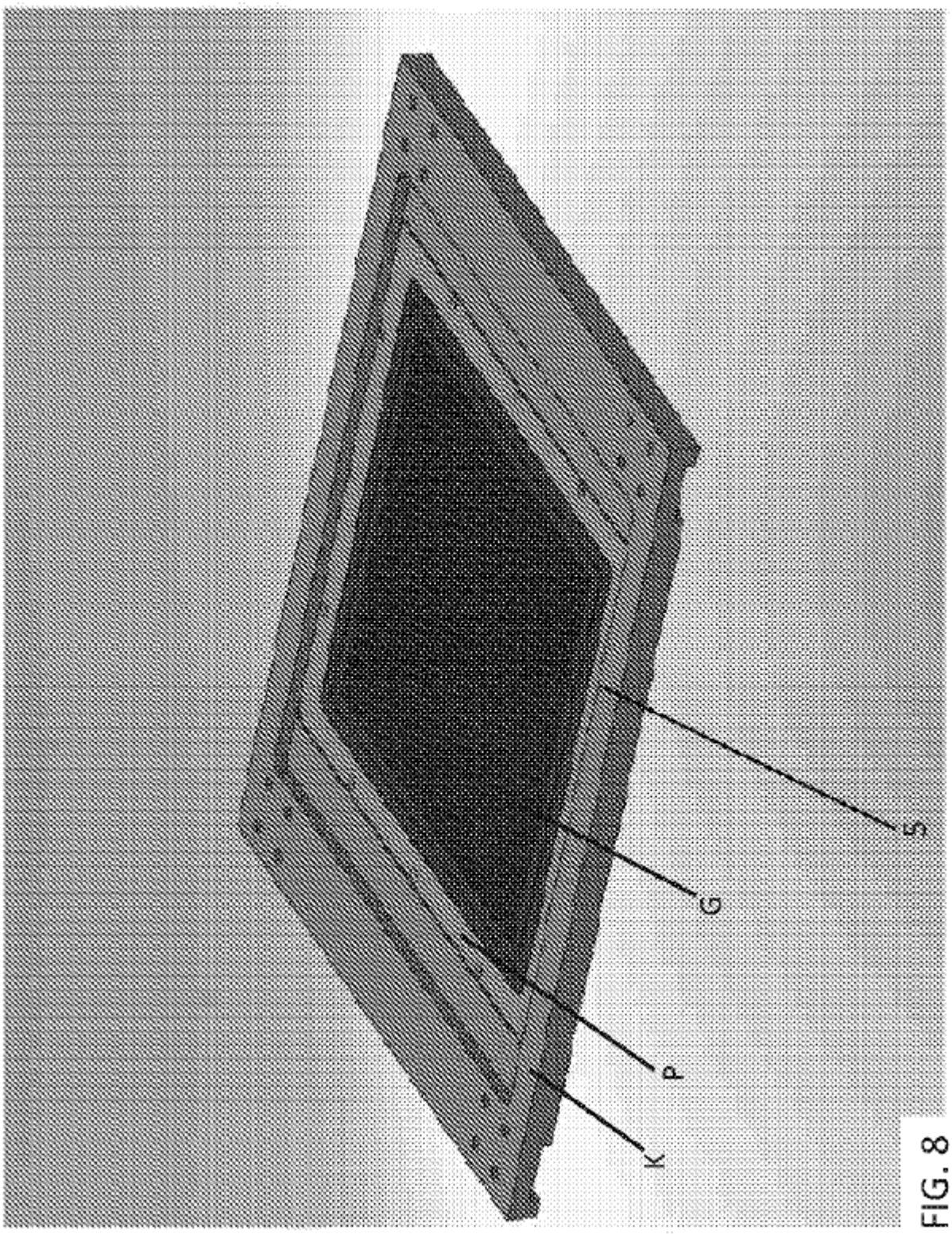

FIG. 8

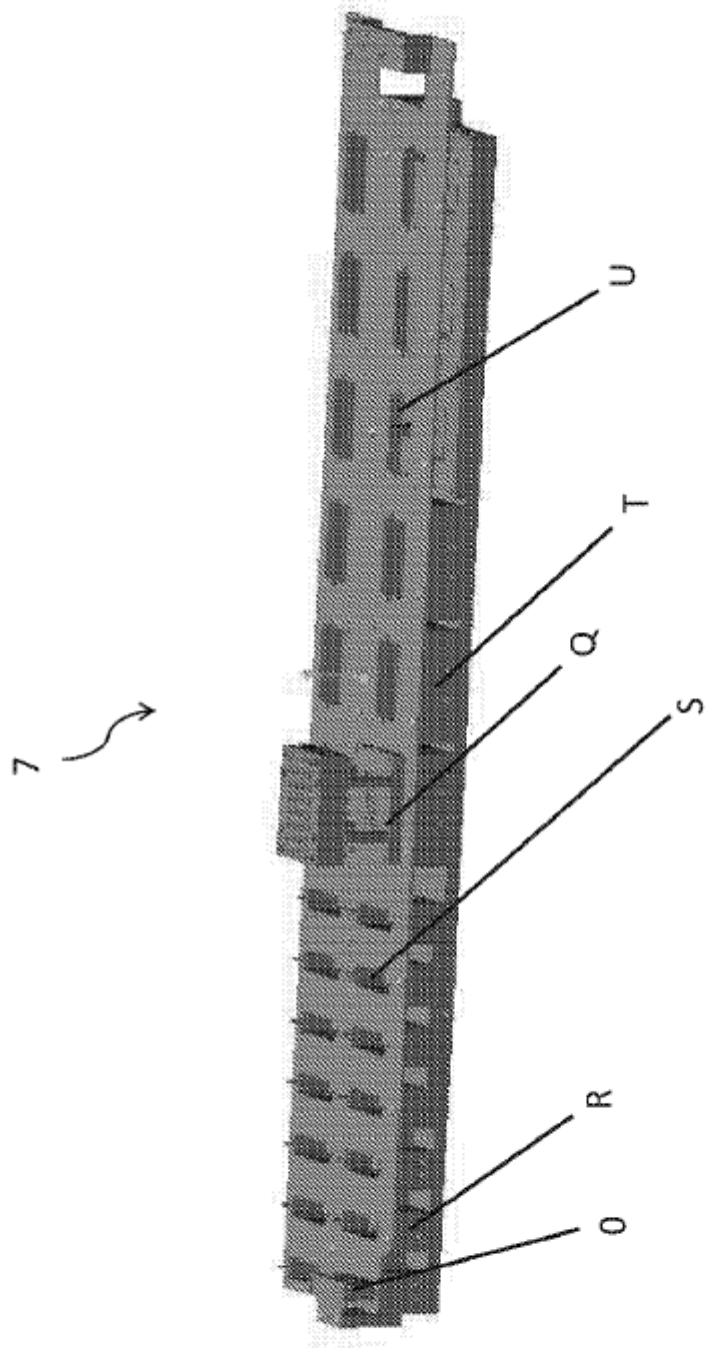

FIG. 9

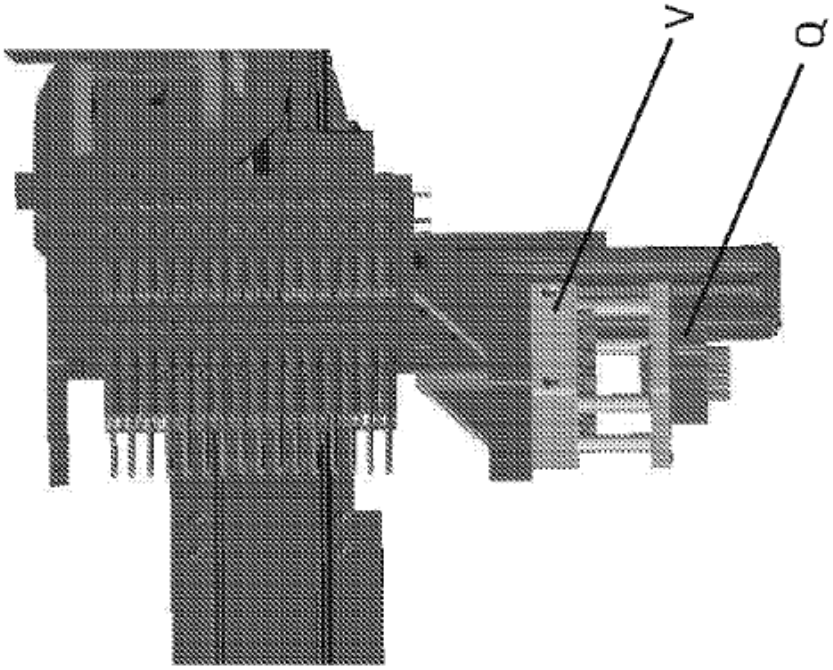

FIG. 10

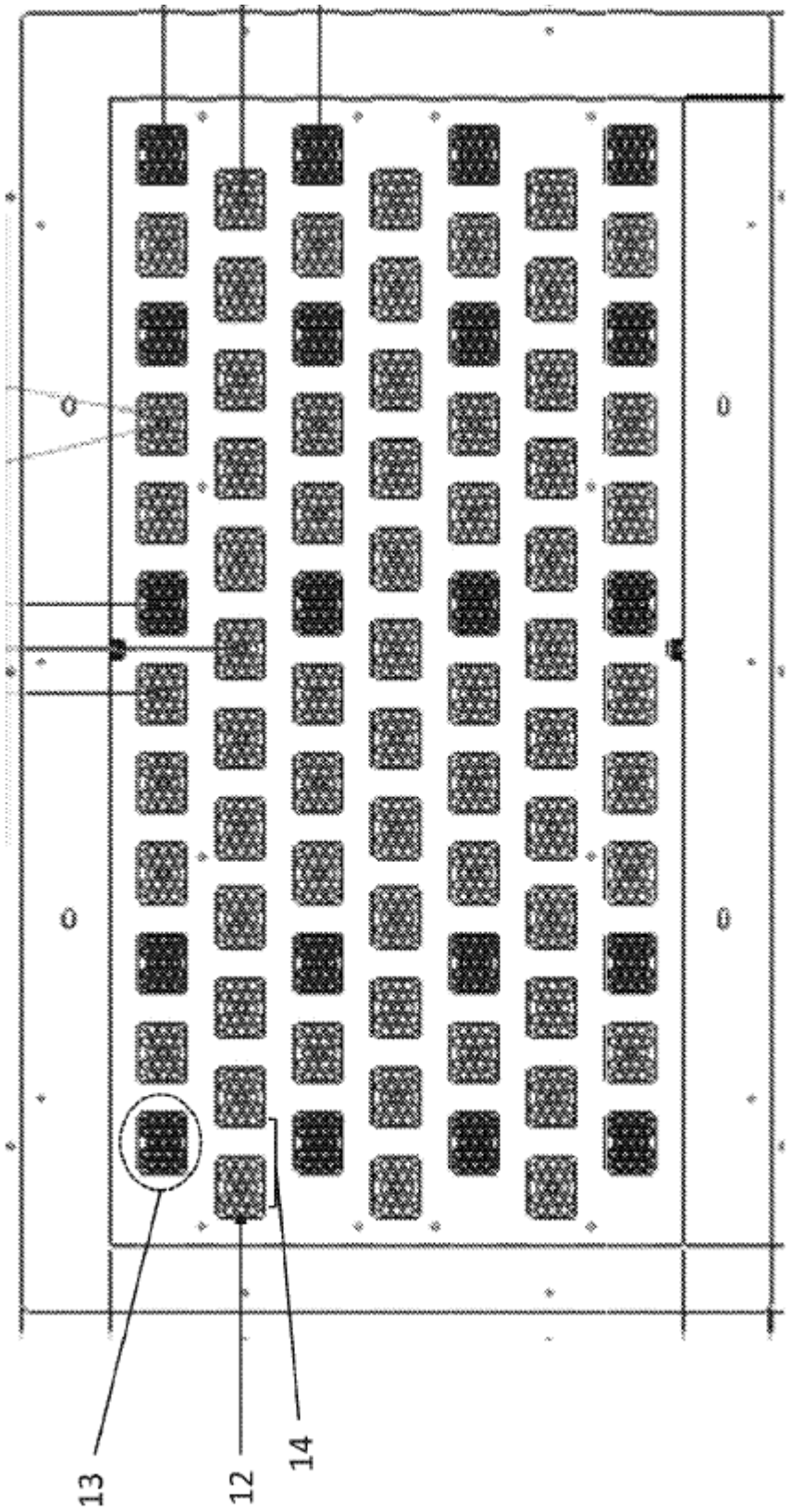

FIG. 11

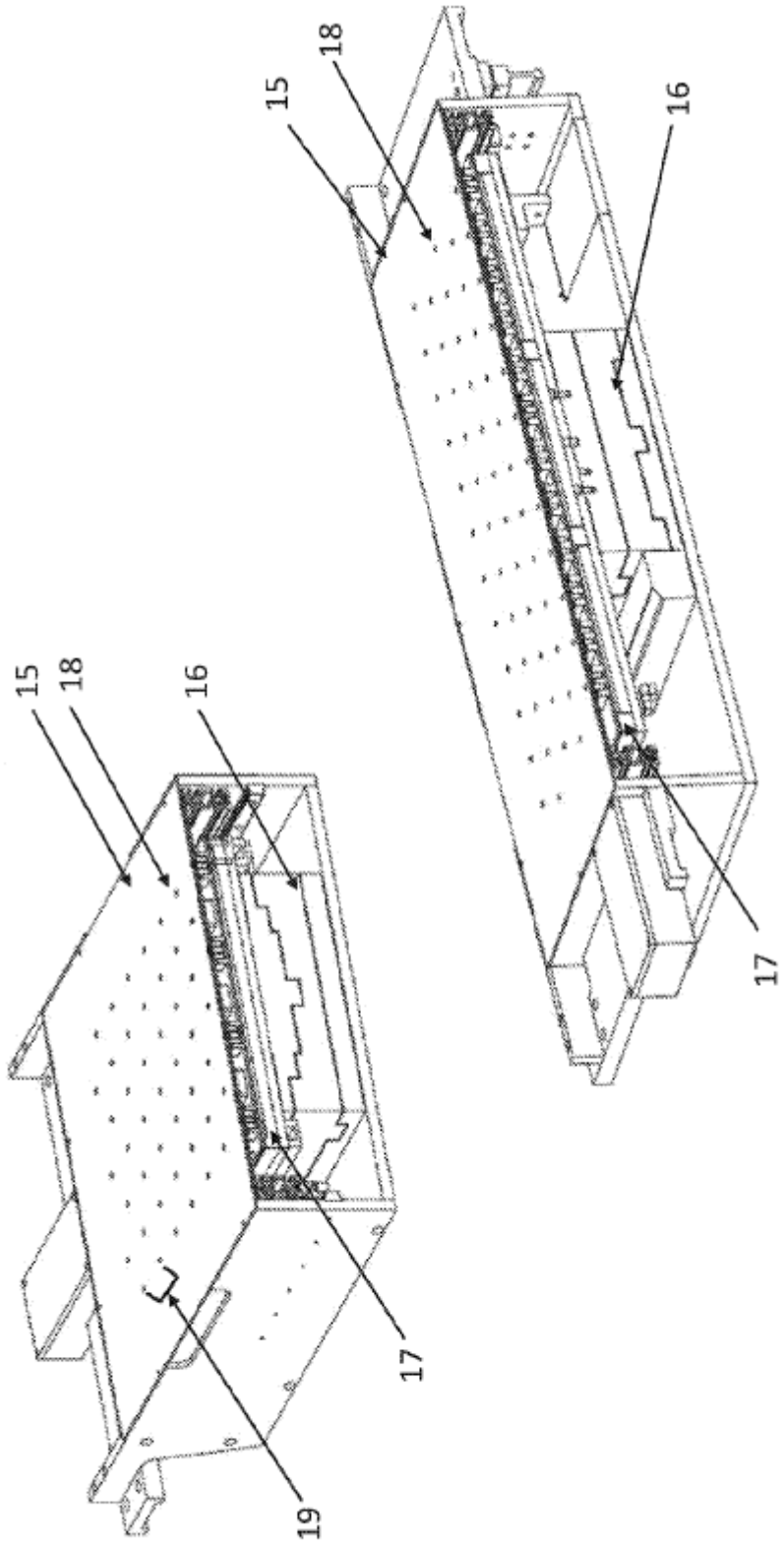

FIG. 12

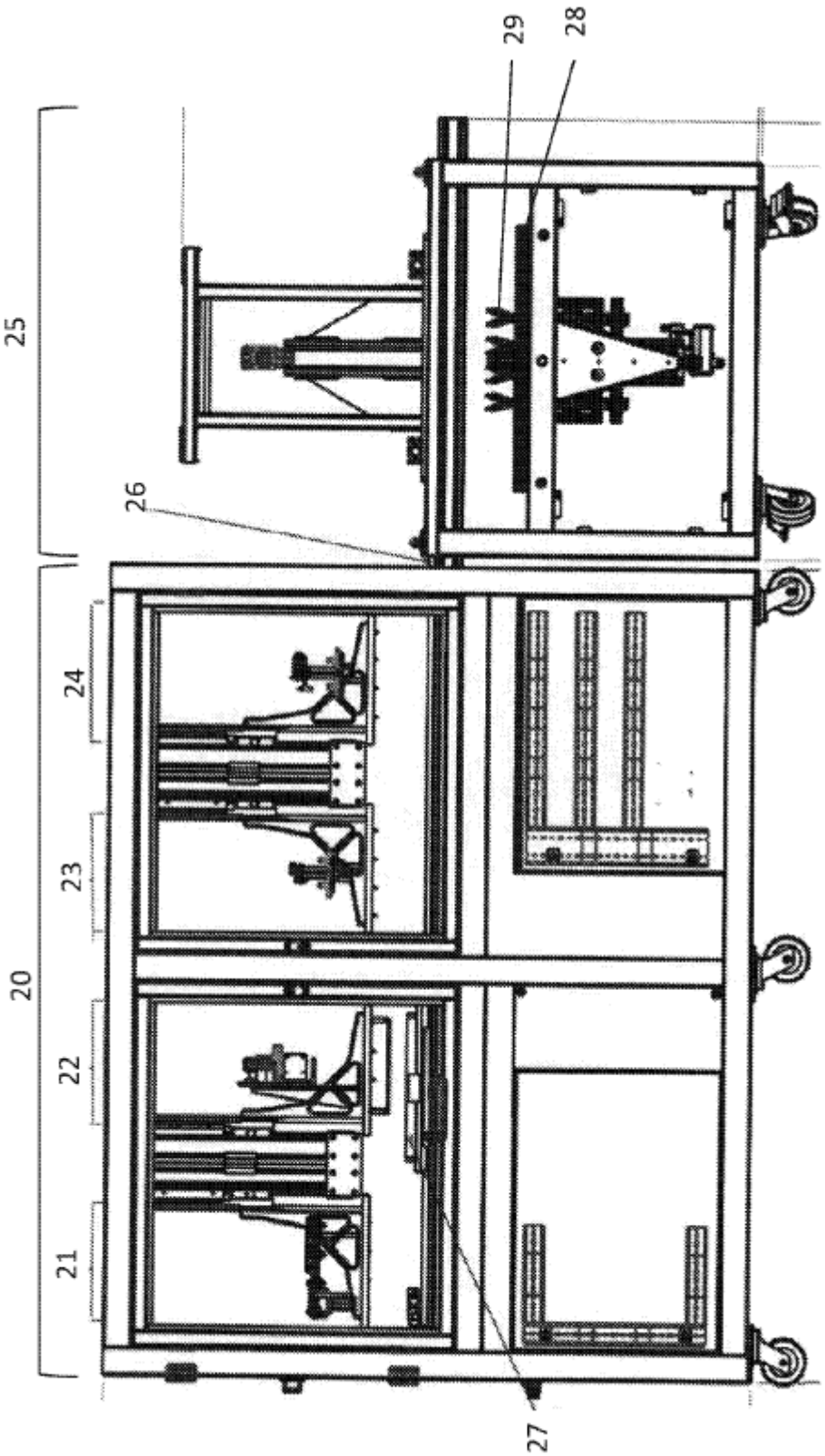

FIG. 13

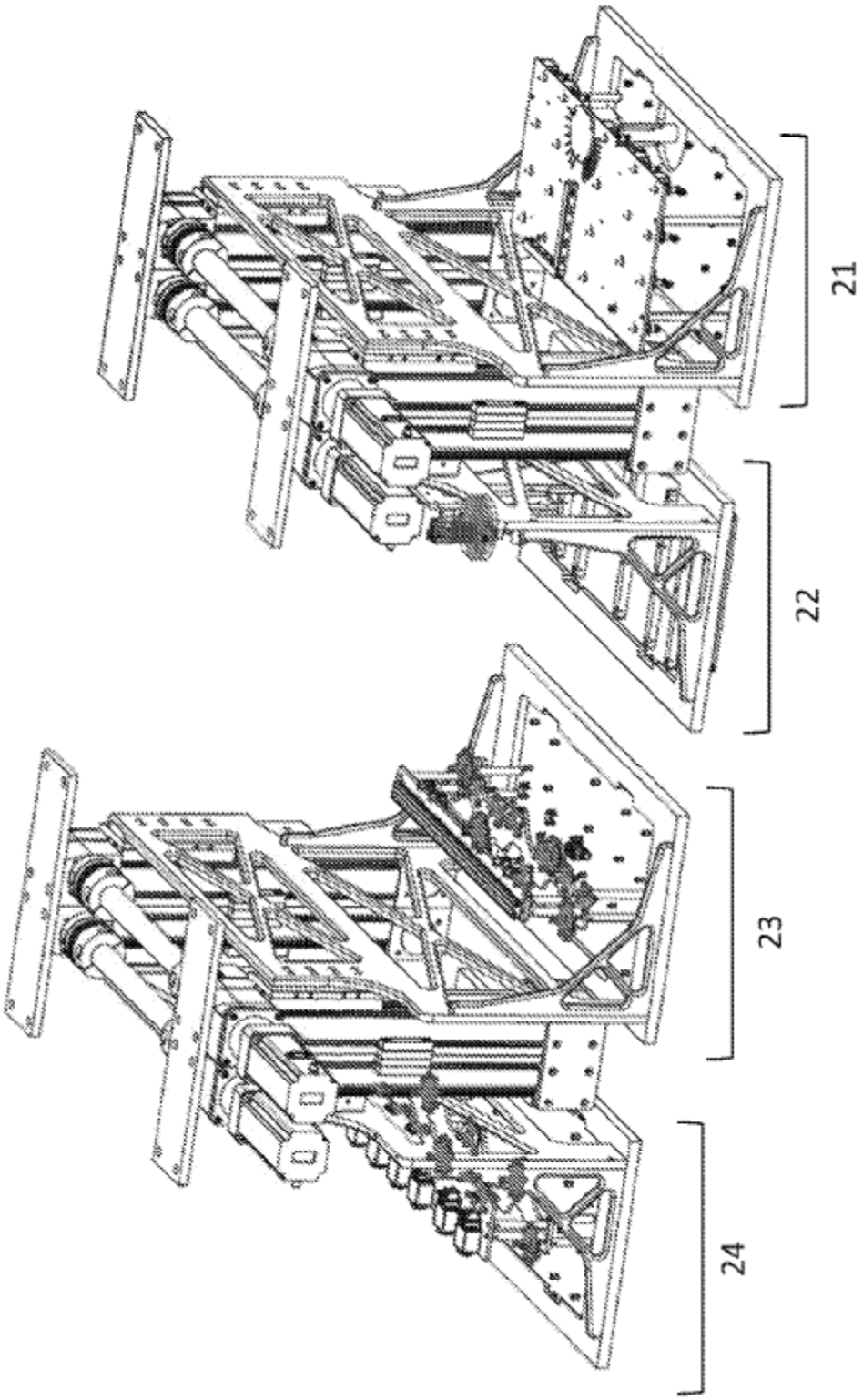

FIG. 14