

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 976 736**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2020** **PCT/EP2020/079070**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.04.2021** **WO21074310**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2020** **E 20788837 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.01.2024** **EP 4045186**

54 Título: **Laboratorio integrado en chip con sistema de impulsión mecánica de fluidos controlado electrónicamente**

30 Prioridad:

18.10.2019 EP 19382911

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

07.08.2024

73 Titular/es:

BIOTHINK TECHNOLOGIES S.L. (100.0%)
Calle Isaac Newton 4, Planta 1, Oeste
41092 Sevilla, ES

72 Inventor/es:

FRANCO GONZÁLEZ, EMILIO y
MOZO MULERO, MARTA

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 976 736 T3

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

DESCRIPCIÓN

Laboratorio integrado en chip con sistema de impulsión mecánica de fluidos controlado electrónicamente

5 ESTADO DE LA TÉCNICA

La presente invención pertenece al campo de los labs-on-chips, y más concretamente se refiere a un lab-on-a-chip que comprende un sistema de conducción de fluidos fabricado con materiales biocompatibles y que permite mezclar diferentes fluidos, encapsulados o no.

10 La invención puede aplicarse a los campos de la atención sanitaria, veterinaria, fabricación industrial, agroalimentaria y farmacéutica. Por ejemplo, puede utilizarse para dispositivos de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), pruebas de ADN, sistemas de comprobación de parámetros, portátiles o no, como creatinina o marcadores tumorales, para medir el pH en fluidos, para fabricar sensores de gas o contaminación, para fabricar reactores o digestores, para
15 detectar compuestos en alimentos, como compuestos volátiles en el aceite de oliva o para la producción y comprobación de productos farmacéuticos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 La investigación sobre procesos de fabricación de dispositivos microfluídicos está actualmente en auge debido a su potencial aplicación en varios grandes sectores del mercado, como el farmacéutico o el agroalimentario. En particular, algunas de las áreas en las que se centra esta investigación incluyen los procesos de fabricación de microestructuras en dispositivos poliméricos, que reducen cada vez más el coste de producción de los dispositivos o la encapsulación de reactivos dentro de los dispositivos.

25 Una de las aplicaciones más interesantes de estas tecnologías es la fabricación de sistemas de ensayo tradicionales a escala miniaturizada. Esta aplicación presenta algunas mejoras respecto a los sistemas tradicionales, como la reducción de la cantidad de reactivos necesarios, parte importante del coste de los ensayos actuales; la automatización de los procesos mediante sistemas electrónicos de acompañamiento que inciden en el proceso en cuestión eligiendo
30 cuándo se produce cada paso del proceso y leyendo el resultado una vez finalizado; la mayor rapidez de los ensayos debido a la miniaturización de la cantidad de fluido que interviene en el proceso; la posibilidad de hacer portátil todo el sistema para poder realizar ensayos en lugares donde no se dispone de conexión eléctrica; y, debido a todas las mejoras anteriores, una reducción del coste de todo el proceso.

35 Los problemas que aún surgen en la fabricación de este tipo de dispositivos se deben a que los procesos para unir las porciones del circuito están poco desarrollados o están previstos para materiales no poliméricos, por lo que son más caros; a que la biocompatibilidad de los materiales utilizados no es suficiente para permitir la incorporación de reactivos biológicos en los dispositivos; porque algunos sistemas de conducción requieren la incorporación de válvulas, volátiles o no, que son complicadas de fabricar desde el punto de vista técnico o dejan residuos en los canales, que contaminan
40 los reactivos incorporados; y porque los sistemas de conducción de fluidos son poco robustos, o requieren maquinaria externa pesada para su funcionamiento, lo que se mejora con el proceso de conducción aquí descrito.

[0006] En el futuro, estas tecnologías sustituirán a los sistemas de pruebas tradicionales, como los laboratorios clínicos o de análisis de alimentos, reduciendo en varios órdenes de magnitud el coste de las pruebas tal y como las
45 conocemos hoy en día. Esto proporcionará resultados más rápidos, pruebas más baratas y eliminará la necesidad de una segunda consulta médica en la que un equipo médico lea los resultados al paciente.

La mayoría de los pasos implicados en el desarrollo de procesos de conducción pasan por el desarrollo de fuentes de presión externas para los sistemas y conectores microfluídicos para conectar dichos sistemas, lo que complica
50 enormemente el sistema de diagnóstico. Ejemplos de tales sistemas son los que se encuentran en las patentes o solicitudes de patente US 20120067433 A1, US 8.747.604 B2, US 20090252629 A1 o US 20160051984 A1. Otros investigadores han incorporado sistemas de accionamiento dentro de los dispositivos, como el método de accionamiento proporcionado en US 20110151475 A1, en el que la energía química de los reactivos incorporados en el propio sistema se utiliza para accionar los componentes. Otra solución encontrada, como la aportada en el
55 documento US 20120090692 A1, consiste en incorporar elementos elásticos deformables dentro de cámaras destinadas a tal fin, que una vez presionados por un elemento externo, impulsan los fluidos incorporados al sistema. Como ejemplo adicional, en el sistema de presurización desarrollado en el documento US 2016/0263577 A1, un émbolo ejerce una fuerza sobre un elemento plegable que contiene reactivos en su interior. El inconveniente de este dispositivo es que el volumen a accionar es fijo y depende del diseño del émbolo. Además, es imposible hacer
60 retroceder el reactivo con este émbolo, lo que dificulta la mezcla de diferentes reactivos y hace imposible llevar a cabo varios procesos dentro del mismo dispositivo al mismo tiempo conocen otros dispositivos microfluídicos que

comprenden diversas configuraciones de émbolo, por ejemplo en US2007/245810A1, US2019/0070603, CN109266518A, US2011/020182A1 y US2018/043358.

RESUMEN DE LA INVENCION

5 Para resolver los inconvenientes descritos anteriormente, la presente invención propone un dispositivo microfluídico tal como se define en la reivindicación 1. Tales dispositivos comprenden un lab-on-a-chip que comprende una primera zona superior o zona de conducción (3) provista de al menos dos sistemas de conducción de fluidos, y una segunda zona inferior (5) donde se sitúan los canales microfluídicos para mezclar los fluidos (se entiende por fluido gases, líquidos, emulsiones y sólidos fluidos como arena o polvo). En la zona de accionamiento, al menos dos pistones móviles (15) accionados por dos drivers (14) se conectan a los respectivos émbolos (12) encargados de mover los fluidos.

10 Cada émbolo se controla por medios electrónicos, de modo que su movimiento hacia delante o hacia atrás dentro del canal de reactivos puede controlarse con gran precisión.

15 Estos medios electrónicos están situados en una plataforma de accionamiento externa que incluye un único motor conectado a los accionadores que moverán los émbolos. En la plataforma, un procesador elige, en función de los datos procedentes de los sensores, el motor o los motores que se van a accionar y la dirección en la que se impulsará el fluido, la duración de la acción, etc.

20 Tanto la zona de conducción como la zona del canal para mezclar líquidos están hechas de un material biocompatible que incluye, entre otros, PMMA (polimetilmetacrilato), policarbonato, silicona, etc., lo que evita que las zonas tengan que presurizarse durante o después del proceso de fabricación. Además, esto evita que elementos volátiles o móviles contaminen los reactivos.

25 La invención propuesta también evita que la zona en la que se mueven los fluidos se contamine por contacto con los émbolos móviles gracias al tapón de cierre. De este modo, se diferencia la zona "mecánica" de la zona "limpia", la ubicación de los fluidos y los canales microfluídicos en los que se mezclan los fluidos, manteniendo esta última zona sellada y fuera del alcance de los contaminantes en la zona de los émbolos.

30 Gracias a la incorporación de sensores y actuadores electrónicos en el sistema, es posible detectar la posición de los fluidos en la zona de recogida de datos para, de este modo, enviar señales de control al sistema mecánico del sistema de conducción a través de un sistema electrónico de acompañamiento, que detiene la actuación cuando es necesario. De este modo, se detiene la conducción cuando el fluido alcanza una zona determinada del sistema. Para ello, se conectan sensores de temperatura u otros parámetros físicos al sistema mecánico a través de una placa electrónica, en la que estos parámetros se procesan e interpretan en un procesador.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

40 Para complementar la descripción que se está realizando y con el fin de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se ha adjuntado un juego de dibujos como parte integrante de dicha descripción, los cuales representan lo siguiente a título ilustrativo y no limitativo:

45 Figura 1.- Vista en alzado y en sección transversal de las partes del lab-on-a-chip de la invención.

Figura 2.- Detalles de las zonas de conducción y recogida de datos en la presente invención.

Figura 3.- Muestra el proceso de fabricación de un dispositivo según la figura 1.

DESCRIPCION DE LA INVENCION

50 En referencia a las figuras 1 y 2, la invención comprende al menos dos sistemas de accionamiento en la zona superior (3) para accionar un fluido (6) y un canal de mezcla microfluídico (19) en la zona inferior (5). Cada sistema de accionamiento comprende un excitador (14), que acciona el émbolo (15) unido al émbolo (12). El émbolo ejerce presión sobre un tapón de cierre (2) en el orificio de entrada de fluido (4), permitiendo el paso del fluido a través del canal de comunicación (7) entre el orificio de entrada (4) y el canal de mezcla microfluídico (19). El tapón de cierre (2) puede estar provisto de una muesca (20) unida a un saliente del émbolo para facilitar el acoplamiento de ambos elementos.

60 Dentro de la zona superior pero justo por encima de los canales de mezcla microfluídicos (19) se incrustan una serie de sensores (8) que conforman la zona de recogida de datos. Estos sensores pueden ser tanto físicos como químicos y comunican sus datos a una plataforma actuadora externa a través de una interfaz de comunicación (21). La

plataforma actuadora externa está compuesta por un único motor acoplado a unos drivers (14) conectados a cada émbolo (12) y un procesador con un software de control del proceso de accionamiento. El procesador recibe señales de los sensores y en función de la información recibida (temperatura, composición química, volumen, entre otros), y da la orden al motor de activar un controlador u otro durante un periodo de tiempo determinado y en una dirección u otra. En concreto, los sensores comprenden diferentes transductores electrónicos para transformar señales térmicas (NTC) u ópticas (fototransistores), entre otras, en señales electrónicas. Dependiendo de si se desea controlar que el proceso de accionamiento, por ejemplo, se inicie cuando el fluido de la zona de mezcla alcance una temperatura determinada, en el momento en que el transductor detecte que se ha alcanzado dicha temperatura, el procesador enviará una señal para iniciar el proceso de accionamiento. Otro ejemplo de actuación sería iniciar o detener el proceso de conducción cuando el fluido alcanza una zona específica de los canales microfluídicos (19). Dado que la interfaz del fluido modifica las propiedades de la luz a su paso por el canal microfluídico, el paso de la luz por esa zona puede verificarse con precisión combinando un LED con un fototransistor o un sensor CMOS. Cuando se detecta esta señal, el microprocesador vuelve a activar o desactivar la señal de control para los procesos de conducción.

Los datos recogidos por los sensores se utilizarán para monitorizar el avance del líquido dentro de los canales de mezcla microfluídicos (19), lo que se utilizará para proporcionar retroalimentación en cuanto al accionamiento de los accionadores (14) y, por lo tanto, accionar volúmenes de forma controlada con precisión y seguridad. Además, los datos recogidos por estos sensores (8), como los sensores de temperatura integrados (NTC) o los actuadores ópticos (LED), se comunican a un sistema electrónico que acompaña a la plataforma de actuadores, que generará un circuito cerrado en el que se podrá visualizar, controlar y parametrizar espaciotemporalmente cada una de las acciones del sistema mecánico, así como seguir en tiempo real el avance de los fluidos (6) dentro de los canales de mezcla microfluídicos (19). Esta adición de un método de visualización del sistema puede llevarse a cabo de varias maneras, por ejemplo, conectando la plataforma de accionamiento de forma inalámbrica a un dispositivo portátil, como un teléfono móvil o una tableta, introduciéndola en el flujo de trabajo analítico mediante una conexión por cable a un ordenador, o añadiendo una pantalla independiente para visualizar el proceso. De este modo, el sistema de accionamiento es capaz de tener un control tanto espacial como temporal del avance de los fluidos dentro del sistema mediante un sistema que puede programarse con software y que, por tanto,

Dado que tanto los canales de entrada de fluido (4) como los canales de mezcla están bajo vacío gracias al tapón (2), los émbolos mueven los fluidos dentro de los canales de mezcla a medida que se desplazan. Al facilitar que los fluidos sean impulsados en ambas direcciones (hacia delante y hacia atrás en el orificio), puede haber movimientos alternos dentro de un canal de pequeña longitud para producir la mezcla, lo que ahorra un espacio importante en el dispositivo que puede utilizarse para otros fines. Por lo tanto, los canales en zig-zag u otras formas complicadas no son necesarios como en el estado de la técnica.

El dispositivo es capaz de impulsar un volumen controlado e incluso retraer el fluido en el orificio gracias al control electrónico de los émbolos, que están conectados a los tapones, permitiendo la impulsión en cualquier dirección del eje impulsor gracias al vacío en la zona de impulsión. Esto significa que el fluido de cada orificio puede ser conducido en varias secciones, ser retraído una vez conducido o conducido una sola vez dependiendo del volumen de fluido a dispensar, sin tener que modificar el diseño de cada orificio y con la posibilidad de utilizar el mismo orificio como depósito de fluido que necesita ser accionado varias veces a lo largo del protocolo a realizar. De esta forma, es posible normalizar el diseño de la entrada de fluido gracias a que se puede programar el accionamiento de los émbolos, lo que añade una ventaja fundamental tanto en la fabricación como en el diseño del dispositivo.

El orificio de entrada de fluido (4) puede estar equipado opcionalmente con un orificio de purga (11), que puede utilizarse para controlar la cantidad de fluido que se aloja en el interior del orificio.

La conexión electrónica de la plataforma del actuador externo permite añadir diferentes funcionalidades adicionales en caso necesario, como un módulo de visualización de resultados o un sistema de conectividad por cable o inalámbrico para transmitir los resultados a un sistema externo de almacenamiento y procesamiento de datos.

En referencia a la figura 3, la fabricación del dispositivo requiere de un material base (22) que incluye pero no se limita a acero, metacrilato, policarbonato, etc., que crea la base a la que posteriormente se acopla la zona de accionamiento superior, que a su vez contiene la conexión electrónica a la plataforma de accionamiento externa, un driver (14) conectado a una fuente de alimentación (13) y un pistón móvil (15) que a su vez permitirá el movimiento controlado del émbolo (12).

Por otro lado, la fabricación de la zona inferior parte preferentemente de un material base, entre otros PMMA, en el que se realiza el orificio de entrada de fluido (4) cuya posición se determina en el diseño del dispositivo y se fabrica mediante taladrado, moldeado o corte por láser y que se conecta al émbolo (12) del sistema de conducción; a continuación, se sueldan químicamente los sensores (8) a la zona de toma de datos, que preferentemente se sitúa en

el extremo de los canales microfluídicos y, finalmente, se realiza un orificio (7) que servirá de conexión entre los orificios de entrada (4) de la zona superior (3) y los canales microfluídicos de mezcla (19) de la zona inferior (5) del dispositivo. En cuanto a la capa inferior (5), se realiza un orificio que servirá de canal microfluídico (19), tras lo cual se metaliza la capa inferior para establecer la conexión electrónica (21) con la plataforma actuadora externa. Además, dentro de este dispositivo existen una o varias cámaras (10) para la entrada o salida de diferentes fluidos complementarios. Una vez fabricadas la porción superior (3) y la porción inferior (5), se unen mediante soldadura para producir el lab-on-a-chip completo. En esta estructura se introducirán los fluidos encapsulados (6) y posteriormente el tapón de cierre (2). El tapón de cierre (2) tiene la capacidad de romper el encapsulado de los reactivos en caso necesario, ya que dispone de uno o varios elementos perforantes en la superficie de contacto del mismo.

5

10

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo microfluídico que comprende un lab-on-a-chip con una zona superior de conducción de fluidos (3) provista de al menos dos sistemas de conducción de fluidos (6) y una zona inferior de mezcla microfluídica (5) dispuesta debajo de la zona de conducción para mezclar dichos fluidos, estando tanto la zona de conducción de fluidos como la zona de mezcla microfluídica fabricadas con un material biocompatible, en el que la zona de conducción está provista de al menos dos orificios de entrada de fluidos (4) y respectivos émbolos móviles (12), cada uno de los cuales está unido a un impulsor (14) para mover los émbolos hacia delante y hacia atrás, en el que la zona de mezcla microfluídica está provista de al menos un microcanal (19) para mezclar fluidos, y los orificios de entrada de fluido y el microcanal (19) están unidos por un canal de comunicación (7), caracterizado porque comprende además una plataforma de actuador externo estando los impulsores (14) conectados a la plataforma actuadora que está provista de una placa electrónica con un procesador y un único motor para accionar los impulsores (14), y estando los orificios de entrada de fluido (4) provistos de unos tapones de cierre (2) en su interior, estando los émbolos (12), que están conectados a los tapones (2), configurados para ejercer presión sobre los tapones de cierre (2) permitiendo el paso de fluido a través del canal de comunicación (7), el dispositivo microfluídico está provisto de una serie de sensores físicos y/o químicos (8) en la zona de mezcla microfluídica (5) por encima de los canales microfluídicos (19), y medios para conectar los sensores al procesador de la plataforma actuadora con el fin de controlar el accionamiento de los impulsores (14) basándose en los datos proporcionados por los sensores (8).
2. El dispositivo microfluídico según la reivindicación 1, en el que el orificio de entrada de fluido (4) está provisto de un orificio de purga (11).
3. El dispositivo microfluídico según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el tapón de cierre (2) está provisto de elementos perforantes.

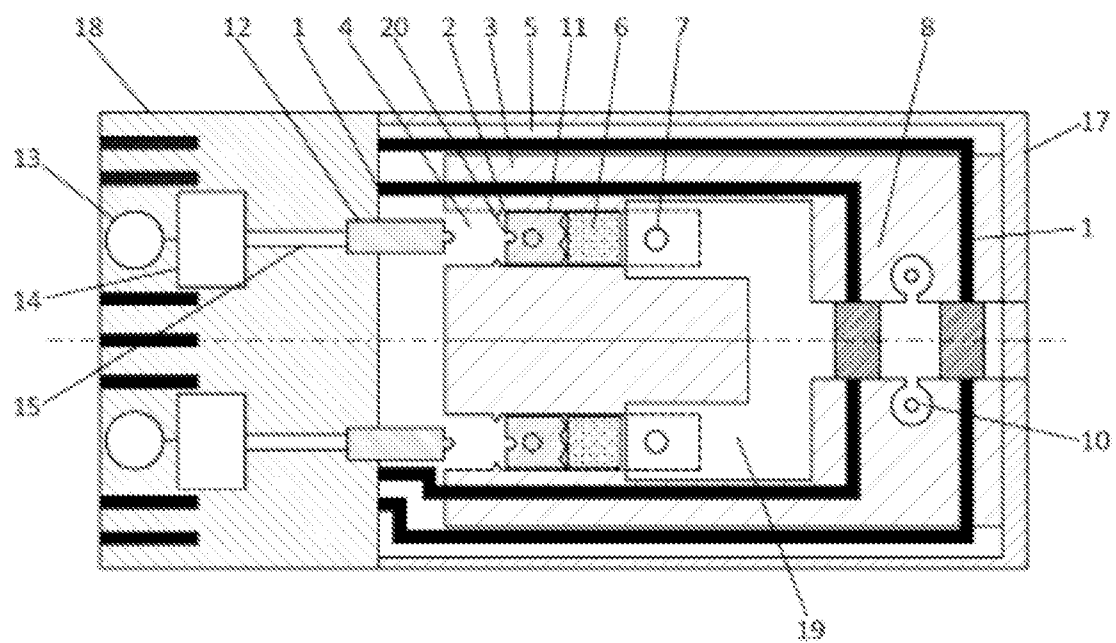


FIG. 1A

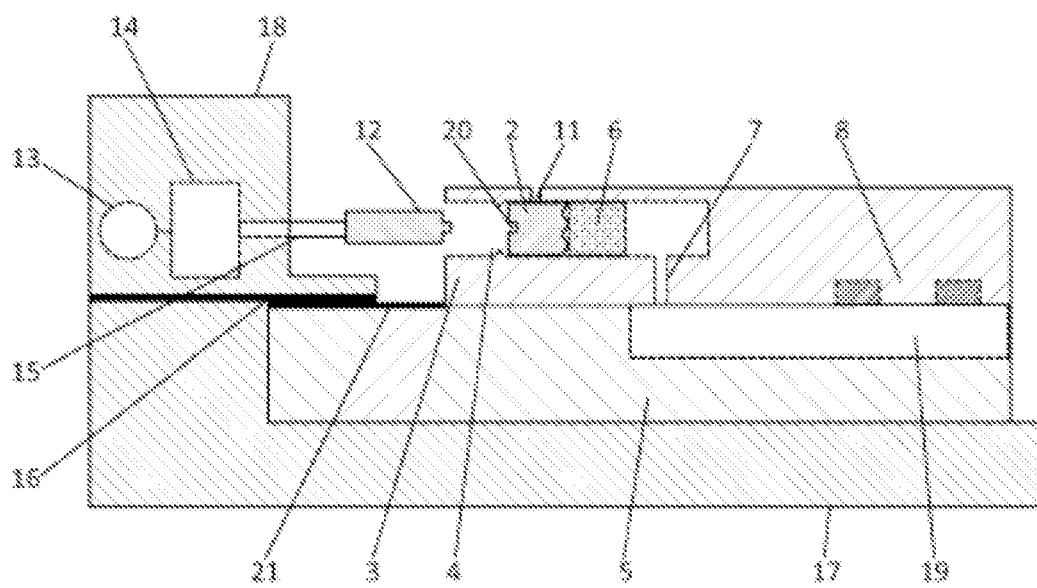


FIG. 1B

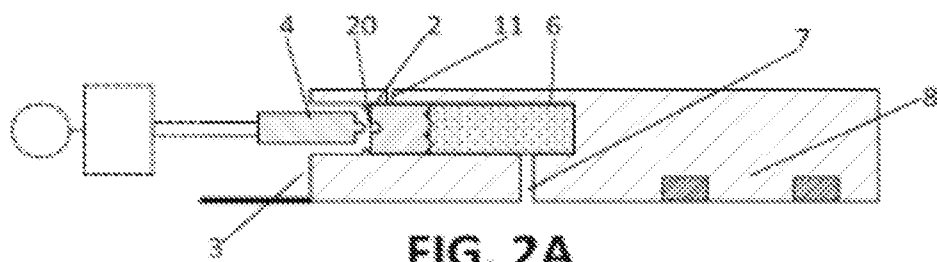


FIG. 2A

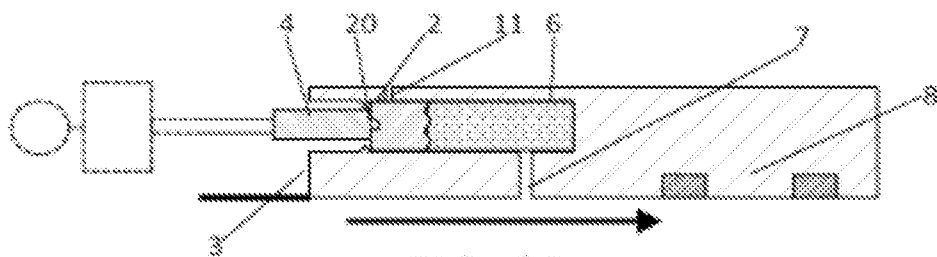


FIG. 2B

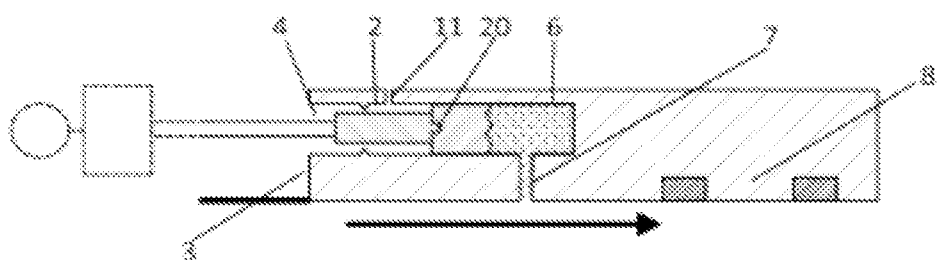


FIG. 2C

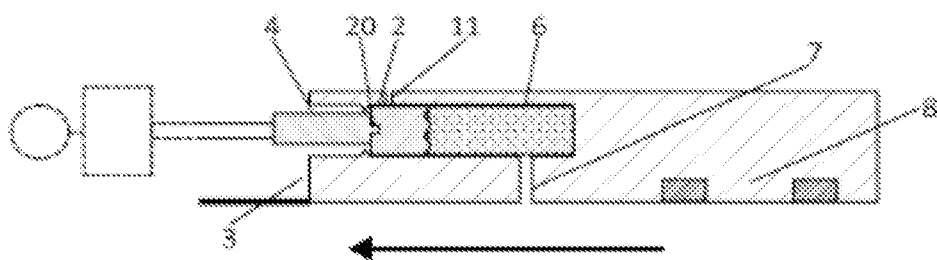


FIG. 2D

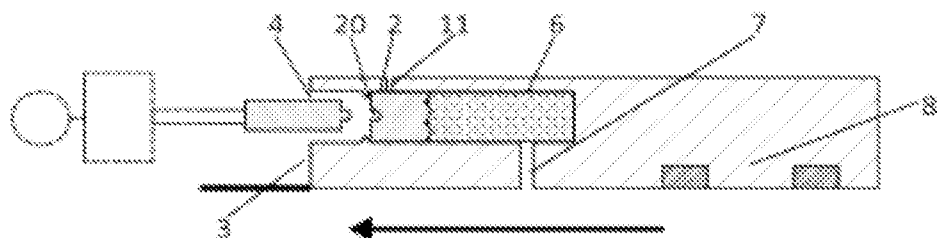


FIG. 2E

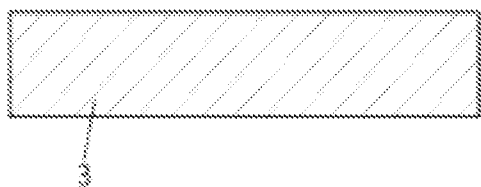


FIG. 3A

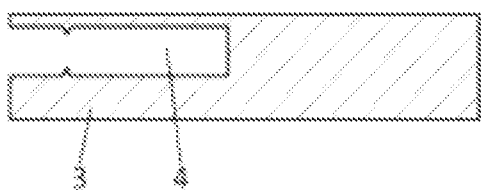


FIG. 3B

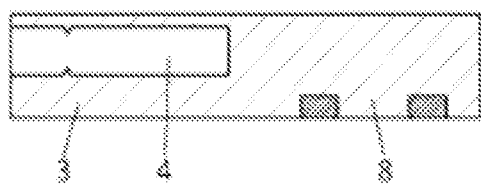


FIG. 3C

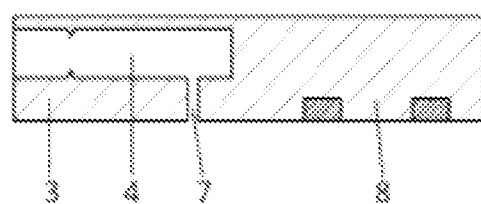


FIG. 3D

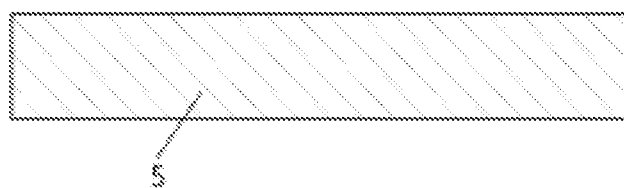


FIG. 3E

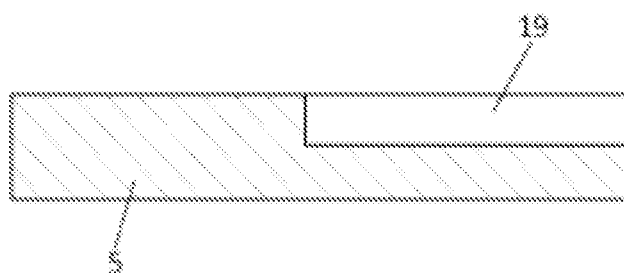


FIG. 3F

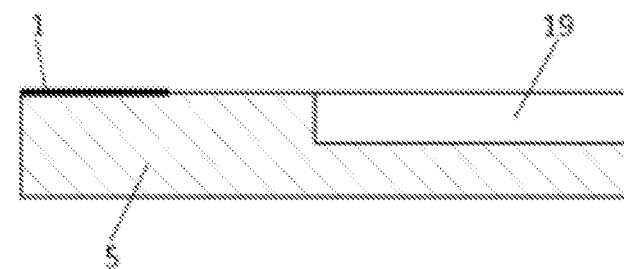


FIG. 3G

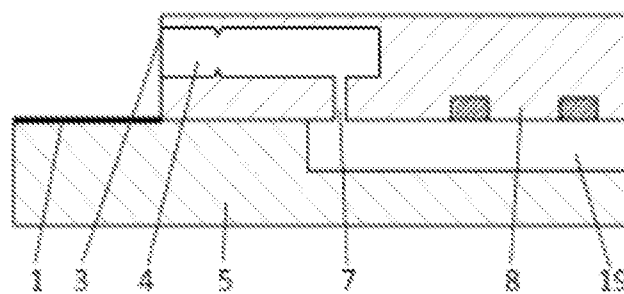


FIG. 3H