

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 925 266**

51 Int. Cl.:

G01N 35/10 (2006.01)

G01N 1/00 (2006.01)

B01L 3/02 (2006.01)

B01L 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2018 PCT/JP2018/038299**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.04.2019 WO19078152**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2018 E 18869352 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2022 EP 3699601**

54 Título: **Método de reacción**

30 Prioridad:

16.10.2017 JP 2017200001

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

14.10.2022

73 Titular/es:

**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
2-9, Kanda Tsukasa-machi, Chiyoda-ku
Tokyo 101-8535, JP**

72 Inventor/es:

**AOKI, YOUICHI;
SHOUJI, YUUYA;
NODA, TETSUYA y
IWASHITA, ATSUO**

74 Agente/Representante:

BERTRÁN VALLS, Silvia

ES 2 925 266 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

Método de reacción

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método de reacción que implica un procedimiento de reacción consistente en permitir que dos o más sustancias provoquen una reacción usando una punta de pipeta para extraer y expulsar líquido unido a una boquilla de pipeta.

10

Antecedentes

Tal como se describe en los documentos de patente 1 y 2, se usa una boquilla de pipeta y una punta de pipeta unida a la punta de la misma para la detección cuantitativa y altamente sensible de una cantidad de trazas de la sustancia objetivo tal como una proteína o un ADN. Con el fin de detectar una cantidad de trazas de la sustancia objetivo cuantitativamente con alta sensibilidad, es necesario suministrar con precisión una muestra y un líquido de etiquetado a un sitio de reacción y retirarlos del sitio de reacción. Generalmente, se usa una punta de pipeta para suministrar y retirar una muestra y un líquido de etiquetado.

15

20

En un método para suministrar y retirar un líquido descrito en el documento de patente 1, la posición del extremo distal de una punta de pipeta de resina unida a una boquilla de pipeta se detecta mediante un fotosensor. A continuación, la posición de la boquilla de pipeta se ajusta basándose en la información sobre la posición del extremo distal de la punta de pipeta, que permite suministrar y retirar el líquido con precisión.

25

Sin embargo, una vez que la punta de pipeta se une a la boquilla de pipeta y se detecta la posición del extremo distal de la punta de pipeta y antes de que comience el procedimiento de reacción, si la punta de pipeta experimenta un cambio de temperatura, la punta de pipeta se expande de manera que el extremo distal de la punta de pipeta pasa a ser inferior al nivel en el momento de la detección. Como resultado, el extremo distal de la punta de pipeta se acerca demasiado a la superficie inferior de la trayectoria del flujo al alimentar un líquido, y el líquido no puede alimentarse correctamente. En función del grado de expansión, el extremo distal de la punta de pipeta se bloquea por la superficie inferior de la trayectoria del flujo, y no puede realizarse la extracción ni la expulsión. Esto provoca el problema de que el desarrollo de la reacción y la medición de la cantidad de reacción no pueden realizarse correctamente.

30

35

Para hacer frente al problema de que la posición del extremo distal se desvía debido a la expansión térmica de una punta de pipeta, un método descrito en el documento de patente 2 implica corregir la posición del extremo distal de la punta de pipeta sobre la base de la temperatura estimada en el momento del procedimiento de reacción o sobre la base de la temperatura de la punta de pipeta medida en el momento del procedimiento de reacción, para controlar la posición del extremo distal de la punta de pipeta con respecto a la superficie inferior una trayectoria de flujo en el momento de alimentar o succionar un líquido.

40

Lista de referencias

Bibliografía de patentes

45

Documento de patente 1: JP-A-2006-275820

Documento de patente 2: WO-A-2017/082069

50

Sumario

Problema técnico

55

Sin embargo, un problema con el método descrito en el documento de patente 2 es que cuando la posición del extremo distal de la pipeta se corrige basándose en la temperatura estimada en el momento del procedimiento de reacción, puede producirse una desviación que depende de la temperatura ambiente. Cuando la posición del extremo distal de la pipeta se corrige basándose en la temperatura de la punta de pipeta medida en el momento del procedimiento de reacción, es necesario proporcionar medios para medir la temperatura de la punta de pipeta. Además, es complicado corregir y controlar la posición del extremo distal de la punta de pipeta durante el procedimiento de reacción independientemente de si el control se basa en la temperatura estimada o en la temperatura medida.

60

La presente invención se ha realizado en vista de los problemas de la técnica anterior descritos anteriormente, y un objetivo de la presente invención es proporcionar un método de reacción capaz de detectar rápidamente y con precisión antes de un procedimiento de reacción la posición del extremo distal de una punta de pipeta durante el procedimiento de reacción.

Solución al problema

La invención según la reivindicación 1 es un método de reacción que incluye un procedimiento de reacción consistente en suministrar y retirar un líquido a y desde un sitio de reacción múltiples veces usando una punta de pipeta para extraer y expulsar un líquido unido a una boquilla de pipeta para permitir que dos o más sustancias provoquen una reacción, comprendiendo el método:

proporcionar un calentador para calentar y mantener la punta de pipeta a una temperatura acorde con una temperatura preestablecida en una posición cercana a una posición de unión de la punta de pipeta por delante de una punta de la boquilla de pipeta;

unir la punta de pipeta a la boquilla de pipeta y calentar la punta de pipeta a una primera temperatura preestablecida mediante el calentador;

cuando un periodo de calentamiento de la punta de pipeta a la primera temperatura preestablecida excede un periodo preestablecido, cambiar una salida del calentador desde la primera temperatura preestablecida hasta una segunda temperatura preestablecida que es inferior a la primera temperatura preestablecida para mantener una temperatura de la punta de pipeta a la segunda temperatura preestablecida;

detectar una posición del extremo distal de la punta de pipeta en una dirección axial de la boquilla de pipeta al cambiar o después de cambiar a la segunda temperatura preestablecida; y

ejecutar el procedimiento de reacción mientras se controla la posición del extremo distal de la punta de pipeta controlando el movimiento de la boquilla de pipeta en la dirección axial con respecto a la posición del extremo distal detectada, en el que la temperatura de la punta de pipeta se mantiene a la segunda temperatura preestablecida mediante el calentador al menos hasta el funcionamiento de la punta de pipeta en el procedimiento de reacción.

La invención según la reivindicación 2 es el método de reacción según la reivindicación 1, en el que la punta de pipeta está hecha de una resina, y un coeficiente de expansión lineal de la punta de pipeta es igual o mayor que $5,8 \times 10^{-5}/^{\circ}\text{C}$.

La invención según la reivindicación 3 es el método de reacción según la reivindicación 1 ó 2, en el que la primera temperatura preestablecida es de 10°C a 15°C mayor que la segunda temperatura preestablecida.

La presente invención según la reivindicación 4 es el método de reacción según la reivindicación 1 ó 2 ó 3, en el que el periodo preestablecido es de desde 5 s hasta 10 s.

La presente invención según la reivindicación 5 es el método de reacción según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la posición del extremo distal de la punta de pipeta se detecta de 10 s a 20 s tras cambiar a la segunda temperatura preestablecida, y el procedimiento de reacción se ejecuta mientras se controla la posición del extremo distal de la punta de pipeta controlando el movimiento de la boquilla de pipeta con respecto a la posición del extremo distal.

Efectos ventajosos de la invención

Según la presente invención, la posición del extremo distal de la punta de pipeta se detecta antes del procedimiento de reacción. Dado que la temperatura de la punta de pipeta se mantiene a la segunda temperatura preestablecida en el momento de la detección de la posición del extremo distal de la punta de pipeta y durante el procedimiento de reacción, la posición del extremo distal de la punta de pipeta durante el procedimiento de reacción puede detectarse con precisión antes del procedimiento de reacción. Además, dado que hay un periodo de calentamiento de la punta de pipeta a la primera temperatura preestablecida que es mayor que la segunda temperatura preestablecida, la temperatura puede converger de manera temprana tras cambiar a la segunda temperatura preestablecida. Por lo tanto, es posible detectar la posición del extremo distal de la punta de pipeta poco después de la unión de la punta de pipeta o del inicio del calentamiento por el calentador.

De este modo, la posición del extremo distal de la punta de pipeta durante el procedimiento de reacción puede detectarse rápidamente y con precisión antes del procedimiento de reacción.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama esquemático que muestra una vista general de un aparato para realizar el método de reacción de la presente invención.

La figura 2 es un diagrama de flujo que muestra etapas de control del dispositivo de control, que son las etapas del método de reacción de la presente invención.

La figura 3 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo comparativo 1.

La figura 4 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo comparativo 2.

5 La figura 5 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo comparativo 3.

La figura 6 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo comparativo 4.

10 La figura 7 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo comparativo 5.

15 La figura 8 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo comparativo 6.

La figura 9 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo inventivo 1.

20 La figura 10 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo inventivo 2.

La figura 11 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo inventivo 3.

25 La figura 12 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo inventivo 4.

30 La figura 13 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo inventivo 5.

La figura 14 es un gráfico que ilustra el cambio de la posición del extremo distal de una punta de pipeta a lo largo del tiempo en el ejemplo inventivo 6.

35 Descripción de las realizaciones

A continuación en el presente documento, se describirá en detalle una realización de la presente invención haciendo referencia a los dibujos adjuntos. Un método de reacción según una realización de la presente invención incluye un procedimiento de reacción consistente en suministrar y retirar un líquido a y desde un sitio de reacción múltiples veces usando una punta de pipeta para extraer y expulsar un líquido unido a una boquilla de pipeta, para permitir que dos o más sustancias provoquen una reacción.

(Vista general de la configuración del aparato)

45 Como se muestra en la figura 1, una punta 2 de pipeta se une a una porción de punta de una boquilla 1 de pipeta. El calentador 3 se dispone cerca de la posición de unión de la punta 2 de pipeta por delante de la punta de la boquilla 1 de pipeta. El calentador 3 está configurado para calentar la punta 2 de pipeta unida a la boquilla 1 de pipeta.

50 El dispositivo 10 de control controla el funcionamiento de un analizador que lleva a cabo el método de reacción de la presente realización. Con respecto a la presente invención, el dispositivo 10 de control controla el movimiento en la dirección axial Z de la boquilla 1 de pipeta mediante el accionador 11 de movimiento de boquilla, para controlar el nivel del extremo distal de la punta 2 de pipeta con respecto a la superficie 21 inferior de una trayectoria de flujo de un chip 20 de detección. Además, el dispositivo 10 de control controla la salida del calentador 3 mediante el circuito 12 de accionamiento del calentador. Además, el dispositivo 10 de control controla un medio 13 de detección de posición del extremo distal para detectar la posición del extremo distal en la dirección axial Z de la punta 2 de pipeta, para obtener la coordenada Z de la misma. Los medios 13 de detección de posición del extremo distal pueden constituirse por un sensor óptico como se describe en el documento de patente 1 o estar configurados para medir la presión de aire desde la punta 2 de pipeta como se describe en el documento de patente 2. La presente invención no está limitada con respecto a los medios o al método para detectar la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta.

60 El coeficiente de expansión lineal de la punta 2 de pipeta depende del material de la punta 2 de pipeta. La punta 2 de pipeta está hecha preferiblemente de resina dado que estas puntas de pipeta pueden producirse fácilmente a bajo coste. Cuando el chip 2 de pipeta está hecho de polipropileno, el coeficiente de expansión lineal del mismo oscila aproximadamente desde $5,8 \times 10^{-5}$ hasta $12 \times 10^{-5}/^{\circ}\text{C}$. Cuando el chip de pipeta A está hecho de poliestireno, los coeficientes de expansión lineal del mismo oscilan aproximadamente desde $6,0 \times 10^{-5}$ hasta $8,0 \times 10^{-5}/^{\circ}\text{C}$. Cuando el chip de pipeta A está hecho de polietileno, el coeficiente de expansión lineal del mismo oscila aproximadamente desde

11x10⁻⁵ hasta 15x10⁻⁵/°C. Cuando el chip 2 de pipeta está hecho de polietileno de baja densidad, el coeficiente de expansión lineal de la misma oscila aproximadamente desde 16x10⁻⁵ hasta 20x10⁻⁵/°C. Además, cuando la punta 2 de pipeta está hecha de fluororresina, el coeficiente de expansión lineal de la misma oscila aproximadamente desde 10x10⁻⁵ hasta 12x10⁻⁵/°C.

El dispositivo 10 de control y el circuito 12 de accionamiento del calentador están configurados para accionar el calentador 3 a una primera temperatura preestablecida o a una segunda temperatura preestablecida. La segunda temperatura preestablecida, que se usa durante el procedimiento de reacción, se determina según el tipo de reacción. La primera temperatura preestablecida se usa para el calentamiento previo. La primera temperatura preestablecida es mayor que la segunda temperatura preestablecida.

(Etapas del método de reacción)

A continuación, las etapas del método de reacción de la presente invención se describirán haciendo referencia al diagrama de flujo de la figura 2. Las siguientes etapas se realizan bajo el control del dispositivo 10 de control.

En primer lugar, la punta 2 de pipeta se une a la boquilla 1 de pipeta. Ya en esta etapa, la salida del calentador 3 se ajusta a la primera temperatura preestablecida. Esto es porque el método puede pasar a un procedimiento de reacción en un tiempo breve.

Es decir, al mismo tiempo que la punta 2 de pipeta se une a la boquilla 1 de pipeta, la punta 2 de pipeta comienza a calentarse a la primera temperatura preestablecida del calentador 3 (Etapa S1).

Cuando el tiempo de calentamiento de la punta 2 de pipeta a la primera temperatura preestablecida excede un primer periodo preestablecido (Sí en la Etapa S2), la salida del calentador 3 cambia a la segunda temperatura preestablecida de manera que la temperatura de la punta de pipeta se mantiene a la segunda temperatura preestablecida (Etapa S3). La salida del calentador 3 se mantiene a una segunda temperatura preestablecida.

A continuación, la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta se detecta por los medios 13 de detección de posición del extremo distal al cambiar o después de cambiar a la segunda temperatura preestablecida. En la realización, se inicia un segundo periodo preestablecido desde el momento de cambiar a la segunda temperatura preestablecida. Es decir, cuando el segundo periodo preseleccionado ha terminado (Sí en la Etapa S4), la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta se detecta por los medios 13 de detección de posición del extremo distal. Si el segundo periodo preestablecido es 0, la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta se detecta en el momento de cambiar a la segunda temperatura preestablecida. Si el segundo periodo preestablecido es 10 s, la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta se detecta 10 s tras cambiar a la segunda temperatura preestablecida.

A continuación, con referencia a la posición del extremo distal detectada en la etapa S5, el accionador 11 de movimiento de boquilla se controla para controlar el movimiento de la boquilla 1 de pipeta en la dirección axial para controlar la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta mientras se ejecuta el procedimiento de reacción (Etapa S6). En el procedimiento de reacción, se expulsa un líquido a través de la abertura del extremo distal de la punta 2 de pipeta hasta el chip 20 de detección, o se extrae un líquido desde el chip 20 de detección a través de la abertura del extremo distal de la punta 2 de pipeta. En tales expulsión y extracción, el nivel del extremo distal de la punta 2 de pipeta con respecto a la superficie 21 inferior de la trayectoria de flujo del chip 20 de detección se controla adecuadamente con respecto a la posición del extremo distal detectada en la Etapa S5 de manera que la expulsión y extracción se realizan correctamente.

Tras cambiar a la segunda temperatura preestablecida en la Etapa S3, la salida se mantiene a la segunda temperatura preestablecida hasta este punto. Sin embargo, solo es necesario seguir calentando la punta 2 de pipeta a la segunda temperatura preestablecida del calentador 3 al menos hasta una operación que usa la punta 2 de pipeta en el procedimiento de reacción. Esto es porque ya no es necesario calentar la punta 2 de pipeta una vez finalizada la operación que usa la punta 2 de pipeta.

Por ejemplo, la primera temperatura preestablecida es de 10°C a 15°C mayor que la segunda temperatura preestablecida, el primer periodo preestablecido es de desde 5 s hasta 10 s, y la segunda temperatura preestablecida es de desde 10 s hasta 20 s.

(Experimento de demostración)

Las figuras 3 a 14 son gráficos que muestran el cambio de la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta en la dirección axial Z a lo largo del tiempo. Las figuras 3 a 8 representan ejemplos comparativos, y las figuras 9 a 14 representan ejemplos inventivos. Sin embargo, en lugar de ejecutar el procedimiento de reacción y detectar el extremo distal para la referencia en el procedimiento de reacción, el extremo distal de la punta 2 de pipeta se detectó a intervalos de tiempo regulares.

N1, N2 y N3 en los gráficos representan muestras diferentes de la punta 2 de pipeta.

ES 2 925 266 T3

5 En los ejemplos comparativos, el calentador 3 se mantiene a una temperatura preestablecida constante. En los ejemplos comparativos, el momento en el que la punta 2 de pipeta se une a la boquilla 1 de pipeta, es decir, el momento en el que se inicia el calentamiento por el calentador 3, se representa mediante "0" en el eje de tiempo, que es el eje horizontal de cada gráfico.

10 En los ejemplos inventivos, la salida del calentador 3 se cambia desde la primera temperatura preestablecida hasta la segunda temperatura preestablecida. En los ejemplos inventivos, el momento de cambiar a la segunda temperatura preestablecida se representa mediante "0" en el eje de tiempo, que es el eje horizontal de cada gráfico.

Las condiciones detalladas de cada ejemplo son como sigue.

15 En el ejemplo comparativo 1 mostrado en la figura 3, la temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 10°C.

En el ejemplo comparativo 2 mostrado en la figura 4, la temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 23°C.

20 En el ejemplo comparativo 3 mostrado en la figura 5, la temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 30°C.

En el ejemplo comparativo 4 mostrado en la figura 6, la temperatura preestablecida es de 45°C, y la temperatura ambiente es de 10°C.

25 En el ejemplo comparativo 5 mostrado en la figura 7, la temperatura preestablecida es de 45°C, y la temperatura ambiente es de 23°C.

En el ejemplo comparativo 6 mostrado en la figura 8, la temperatura preestablecida es de 45°C, y la temperatura ambiente es de 30°C.

30 En el ejemplo inventivo 1 mostrado en la figura 9, la primera temperatura preestablecida es de 50°C, el primer periodo preestablecido es de 5 s, la segunda temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 10°C.

35 En el ejemplo inventivo 2 mostrado en la figura 10, la primera temperatura preestablecida es de 50°C, el primer periodo preestablecido es de 5 s, la segunda temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 23°C.

En el ejemplo inventivo 3 mostrado en la figura 11, la primera temperatura preestablecida es de 50°C, el primer periodo preestablecido es de 5 s, la segunda temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 30°C.

40 En el ejemplo inventivo 4 mostrado en la figura 12, la primera temperatura preestablecida es de 50°C, el primer periodo preestablecido es de 10 s, la segunda temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 10°C.

En el ejemplo inventivo 5 de la figura 13, la primera temperatura preestablecida es de 50°C, el primer periodo preestablecido es de 10 s, la segunda temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 23°C.

45 En el ejemplo inventivo 6 mostrado en la figura 14, la primera temperatura preestablecida es de 50°C, el primer periodo preestablecido es de 10 s, la segunda temperatura preestablecida es de 40°C, y la temperatura ambiente es de 30°C.

50 Como se aprecia en los resultados de los gráficos, los ejemplos inventivos convergieron en un determinado intervalo de variación antes que los ejemplos comparativos. Esto se analiza con mayor detalle a continuación.

55 El tiempo (T_c) en el que la variación converge dentro del intervalo de un punto de convergencia $\pm 10 \mu m$ se calculó como la media de múltiples muestras y se mostró en cada gráfico y en la tabla I. El punto de convergencia fue el valor medio de los datos de los últimos 10 puntos. En la tabla I, también se muestran los valores obtenidos añadiendo los primeros tiempos preestablecidos para los ejemplos inventivos.

Tabla 1

	Tiempo de convergencia T_c (s)	Primer periodo preestablecido (s)	Tiempo de calentamiento total hasta convergencia (s)
Ejemplo comparativo 1	29,1	-	29,1
Ejemplo comparativo 2	32,7	-	32,7
Ejemplo comparativo 3	44,1	-	44,1
Ejemplo comparativo 4	127,5	-	127,5

Ejemplo comparativo 5	83,4	-	83,4
Ejemplo comparativo 6	48,6	-	48,6
Ejemplo inventivo 1	8,4	5,0	13,4
Ejemplo inventivo 2	8,5	5,0	13,5
Ejemplo inventivo 3	8,4	5,0	13,4
Ejemplo inventivo 4	8,2	10,0	18,2
Ejemplo inventivo 5	0,0*	10,0	10,0*
Ejemplo inventivo 6	0,0*	10,0	10,0*

*Los ejemplos inventivos 5 y 6 podrían haber convergido antes, puesto que ya estaban en un estado convergido al principio del periodo de recogida de datos.

5 (Sumario)

Como se muestra en la figura 1, la figura 2, y las figuras 9 a 14, en los ejemplos inventivos, la temperatura de la punta de pipeta se mantiene a la segunda temperatura preestablecida en el momento de detectarse la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta y durante el procedimiento de reacción. Por lo tanto, es posible detectar con precisión la posición del extremo distal de la punta de pipeta durante el procedimiento de reacción antes del procedimiento de reacción.

Adicionalmente, en los ejemplos inventivos, hay un periodo de calentamiento de la punta 2 de pipeta a la primera temperatura preestablecida que es alto que la segunda temperatura preestablecida. Por lo tanto, la temperatura puede converger antes tras cambiar a la segunda temperatura preestablecida. En comparación con los ejemplos comparativos 1 a 6, es posible detectar la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta poco después de la unión de la punta de pipeta, o del inicio del calentamiento por el calentador. Si la salida fuera la segunda temperatura preestablecida (la temperatura preestablecida durante el procedimiento de reacción) a partir del momento de unión de la punta 2 de pipeta, la posición del extremo distal de la punta 2 de pipeta tardaría mucho tiempo en converger. En la presente invención, un periodo de calentamiento a la primera temperatura preestablecida se establece como un periodo de precalentamiento a alta temperatura de manera que la punta 2 de pipeta se expande rápidamente a un punto de convergencia en un entorno térmico de la segunda temperatura preestablecida, mediante lo cual la convergencia puede alcanzarse más temprano. Esto permite la detección temprana de la posición del extremo distal y el paso al procedimiento de reacción.

Según la presente realización descrita anteriormente, es posible detectar con precisión y rapidez la posición del extremo distal de la punta de pipeta durante el procedimiento de reacción antes del procedimiento de reacción.

30 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención es aplicable a un método de reacción para detectar una cantidad de trazas de una sustancia objetiva tal como una proteína o un ADN de manera cuantitativa con alta sensibilidad.

35 **Lista de signos de referencia**

- 1 Boquilla de pipeta
- 2 Punta de pipeta
- 40 3 Calentador
- 10 Dispositivo de control
- 11 Accionador de movimiento de boquilla
- 45 12 Circuito de accionamiento del calentador
- 13 Medios de detección de la posición del extremo distal
- 50 20 Chip de detección
- Tc Tiempo de convergencia

REIVINDICACIONES

1. Método de reacción que incluye un procedimiento de reacción consistente en suministrar y retirar un líquido a y desde un sitio de reacción múltiples veces usando una punta (2) de pipeta para extraer y expulsar un líquido unida a una boquilla (1) de pipeta para permitir que dos o más sustancias provoquen una reacción, comprendiendo el método:
- proporcionar un calentador (3) para calentar y mantener la punta de pipeta a una temperatura acorde con una temperatura preestablecida en una posición cercana a una posición de unión de la punta de pipeta por delante de una punta de la boquilla de pipeta; y
- unir la punta de pipeta a la boquilla de pipeta y calentar la punta de pipeta a una primera temperatura preestablecida mediante el calentador (S1); caracterizándose el método porque comprende:
- cuando un periodo de calentamiento de la punta de pipeta a la primera temperatura preestablecida excede un periodo preestablecido (S2), cambiar una salida del calentador desde la primera temperatura preestablecida hasta una segunda temperatura preestablecida que es inferior a la primera temperatura preestablecida para mantener una temperatura de la punta de pipeta a la segunda temperatura preestablecida (S3);
- detectar una posición del extremo distal de la punta de pipeta en una dirección axial de la boquilla de pipeta al cambiar o después de cambiar a la segunda temperatura preestablecida (S5); y
- ejecutar el procedimiento de reacción mientras se controla la posición del extremo distal de la punta de pipeta controlando el movimiento de la boquilla de pipeta en la dirección axial con respecto a la posición del extremo distal detectada, en el que la temperatura de la punta de pipeta se mantiene a la segunda temperatura preestablecida mediante el calentador al menos hasta el funcionamiento de la punta de pipeta en el procedimiento de reacción (S6).
2. Método de reacción según la reivindicación 1, en el que la punta de pipeta está hecha de una resina, y un coeficiente de expansión lineal de la punta de pipeta es igual o mayor que $5,8 \times 10^{-5}/^{\circ}\text{C}$.
3. Método de reacción según la reivindicación 1 ó 2, en el que la primera temperatura preestablecida es de 10°C a 15°C mayor que la segunda temperatura preestablecida.
4. Método de reacción según la reivindicación 1 ó 2 ó 3, en el que el periodo preestablecido es de desde 5 s hasta 10 s.
5. Método de reacción según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la posición del extremo distal de la punta de pipeta se detecta de 10 s a 20 s tras cambiar a la segunda temperatura preestablecida, y el procedimiento de reacción se ejecuta mientras se controla la posición del extremo distal de la punta de pipeta controlando el movimiento de la boquilla de pipeta con respecto a la posición del extremo distal.

FIG.1

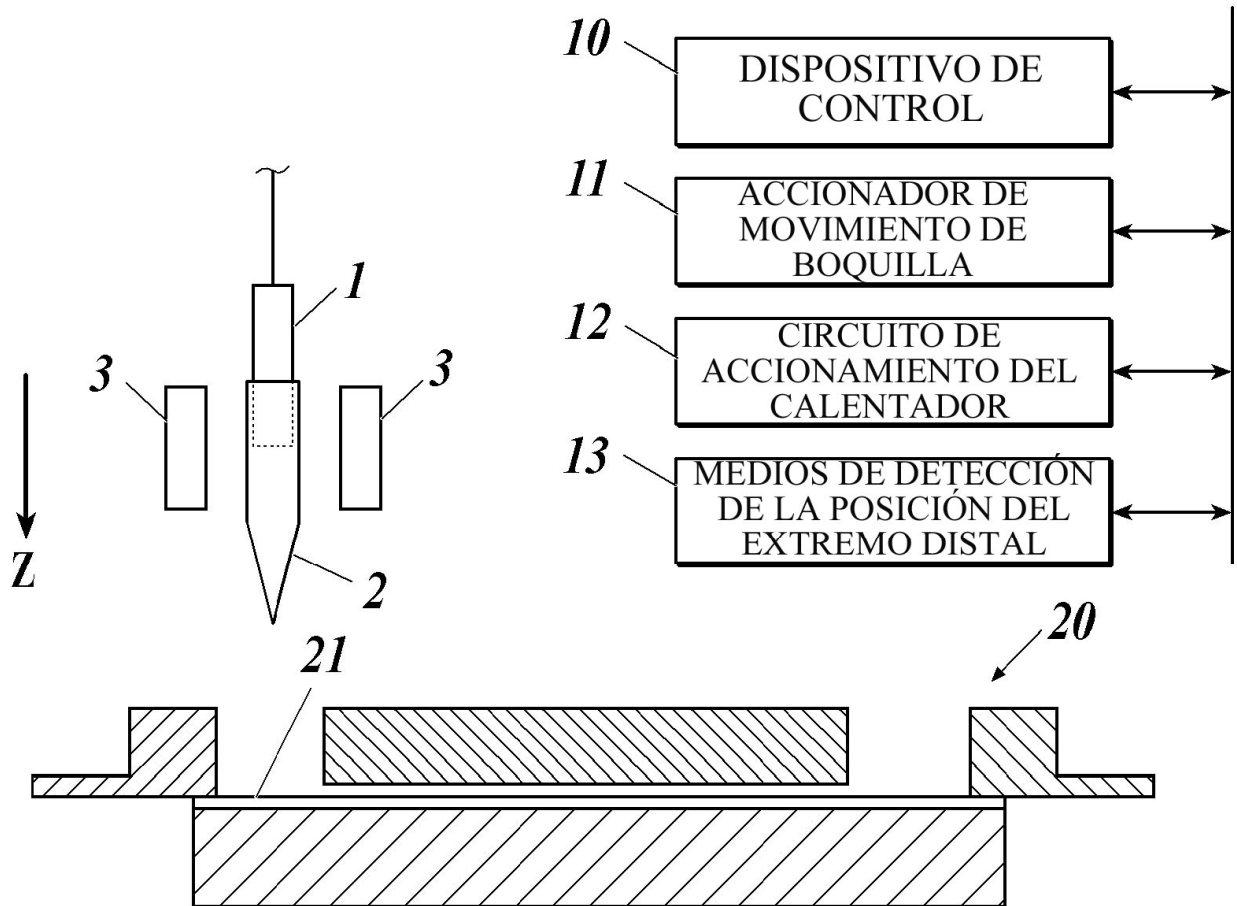


FIG.2

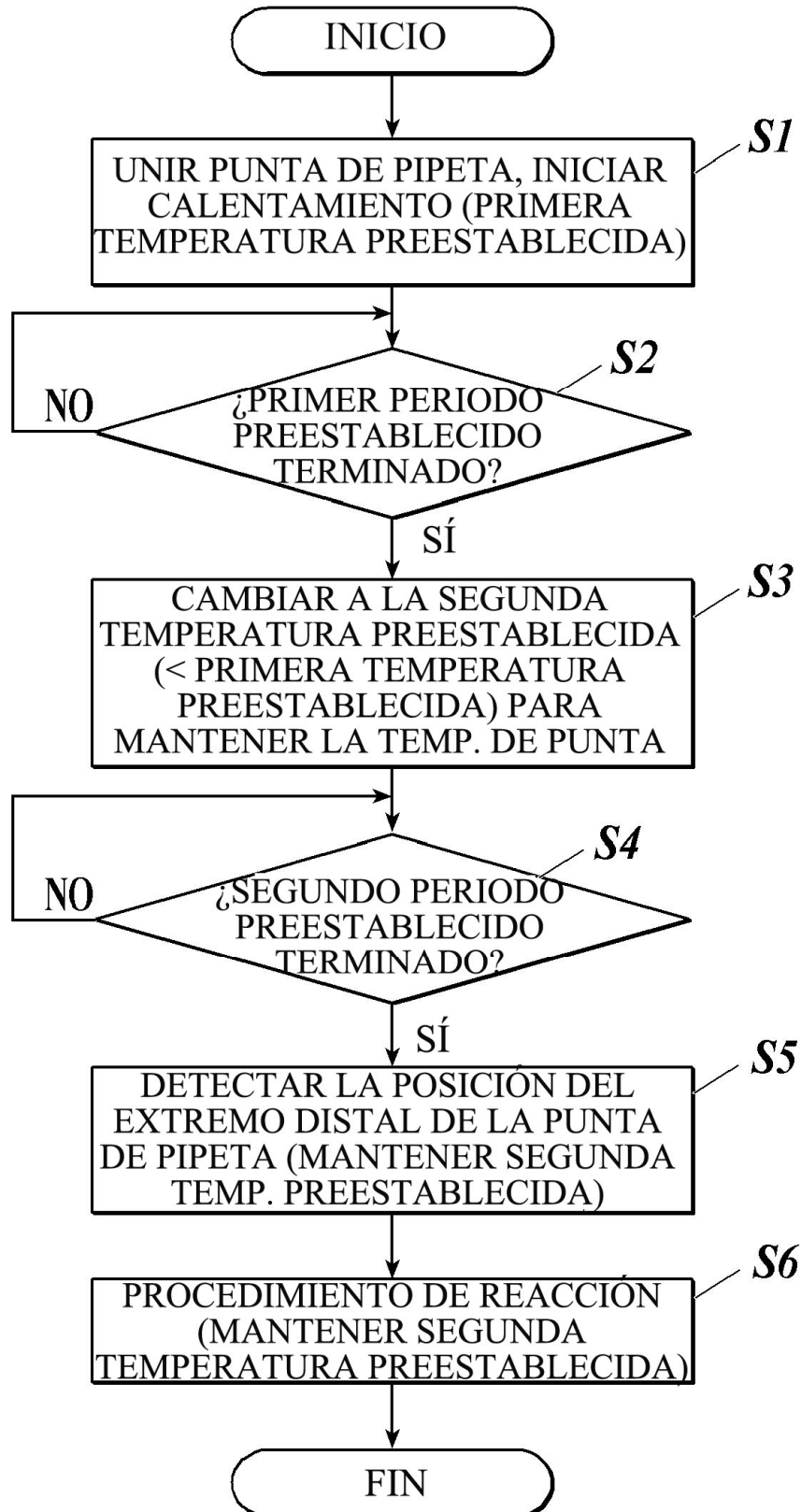


FIG.3

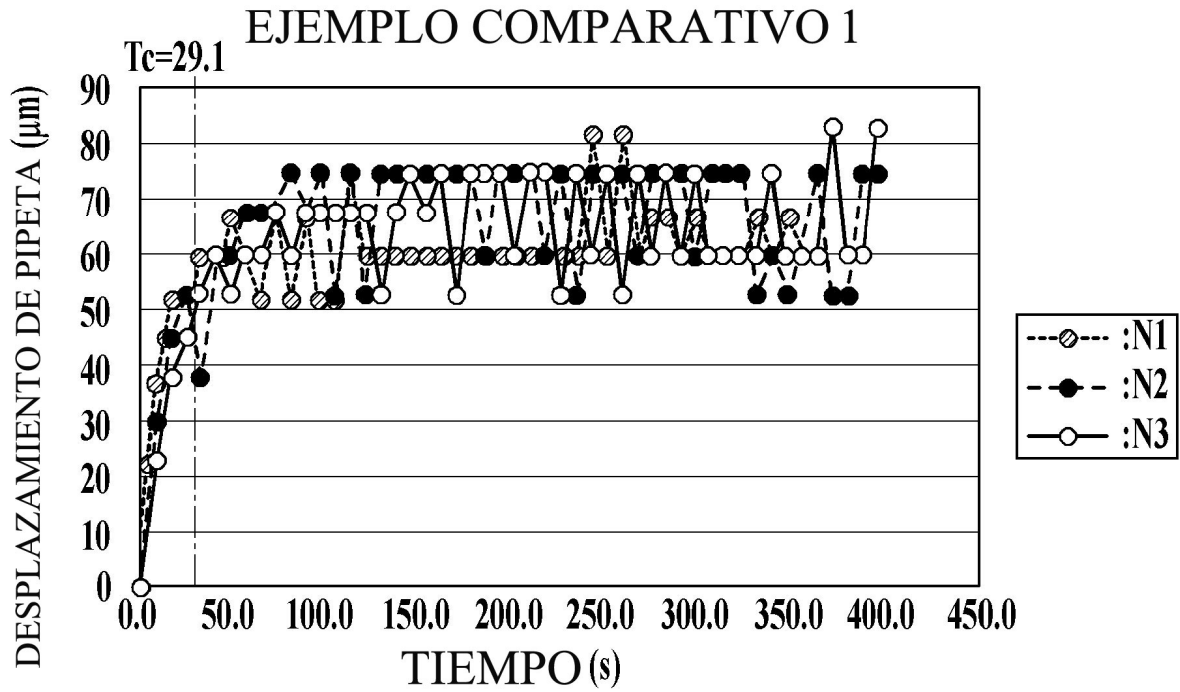


FIG.4

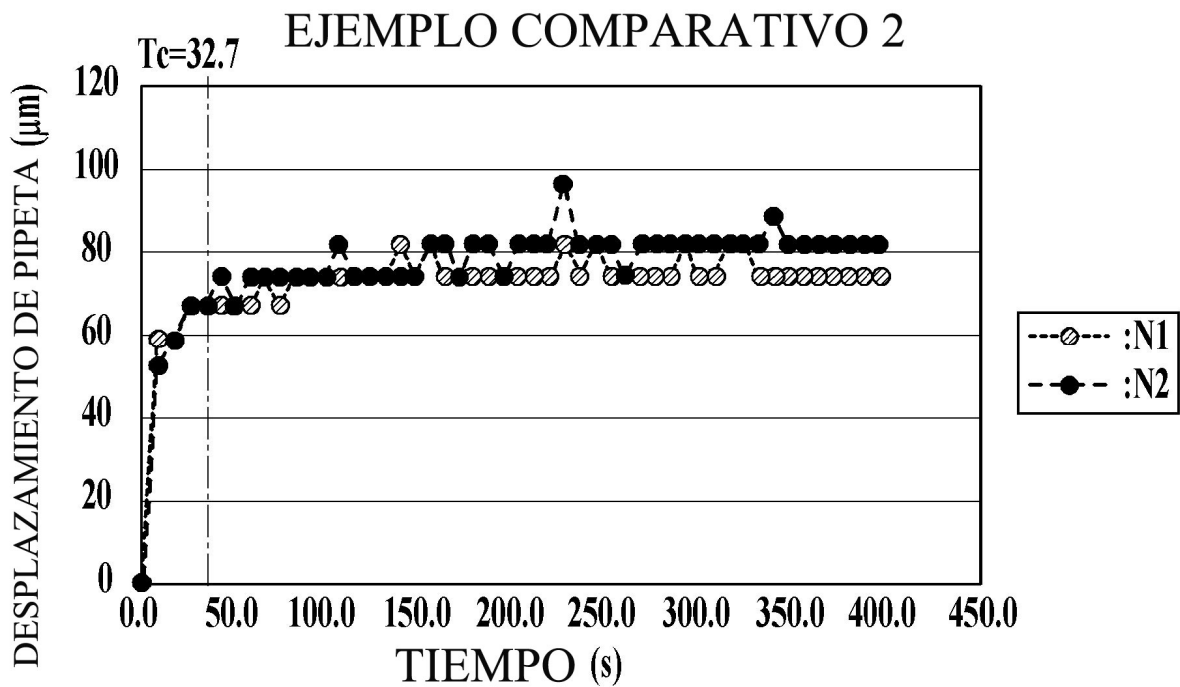


FIG.5

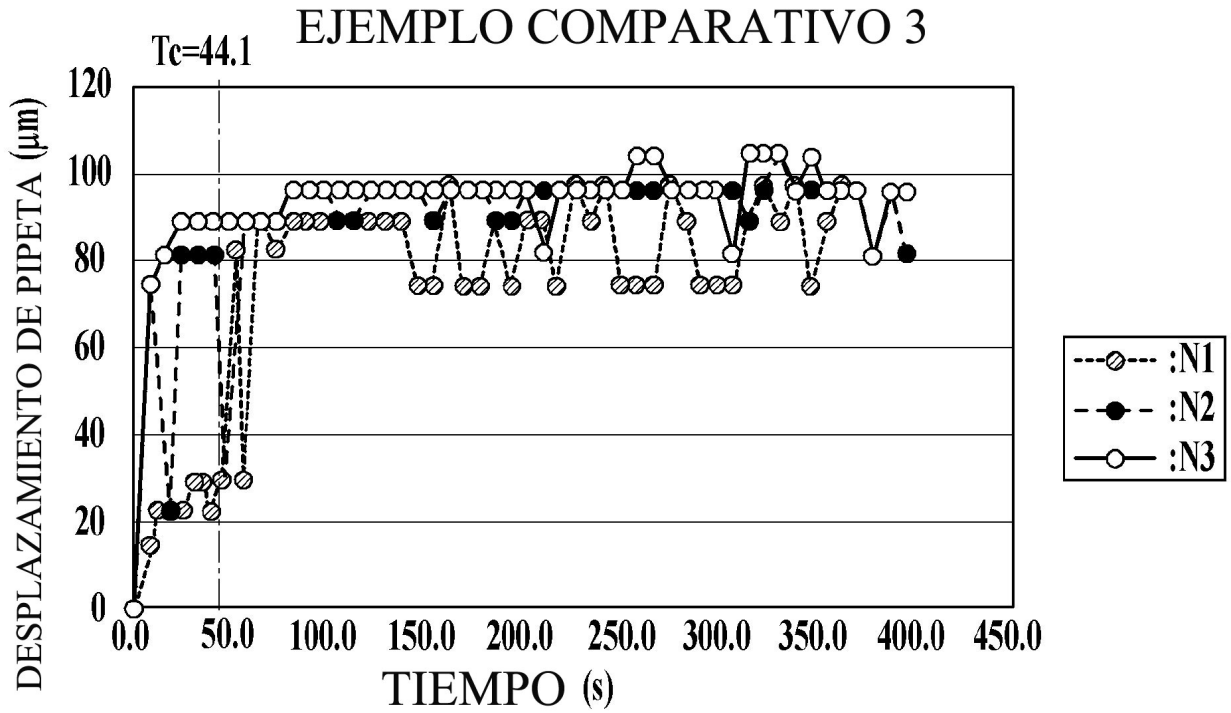


FIG.6

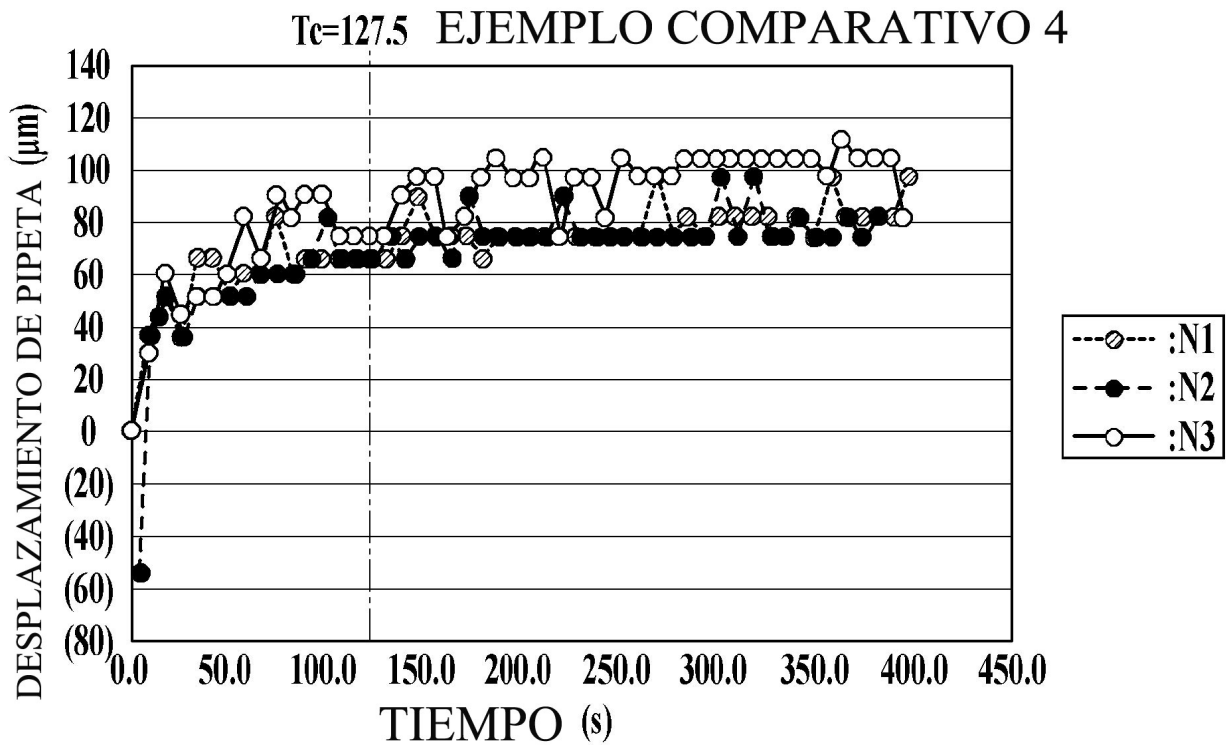


FIG. 7

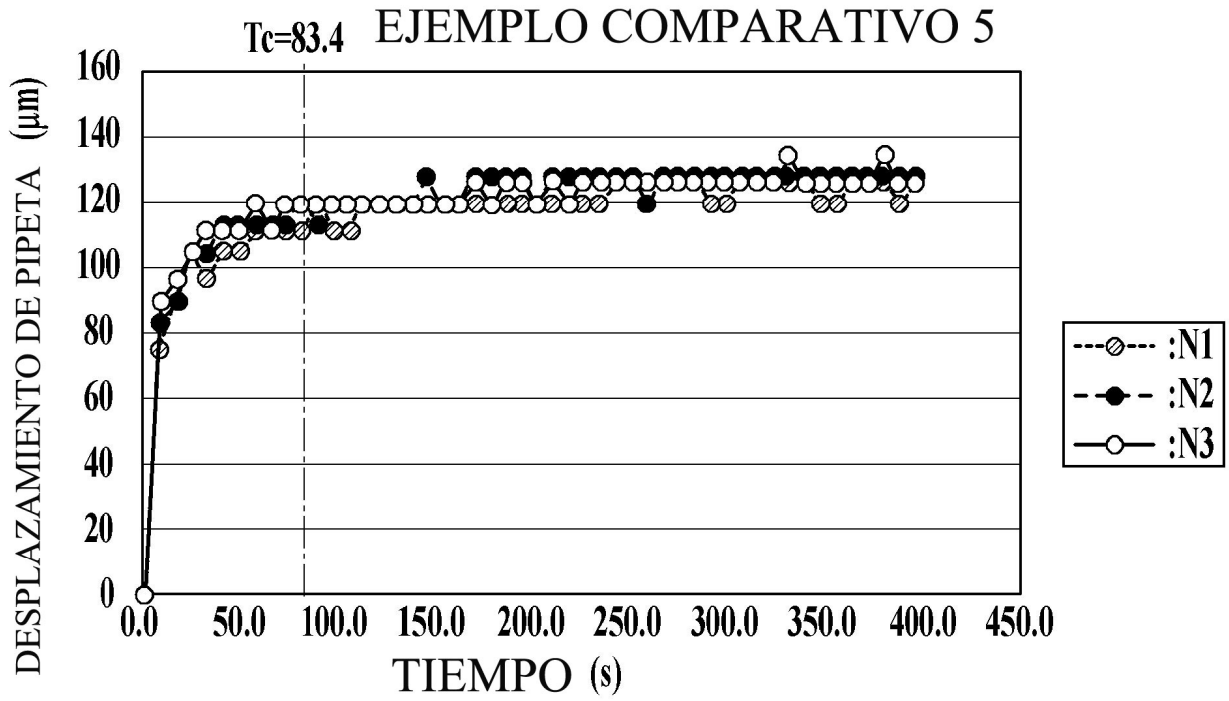


FIG. 8

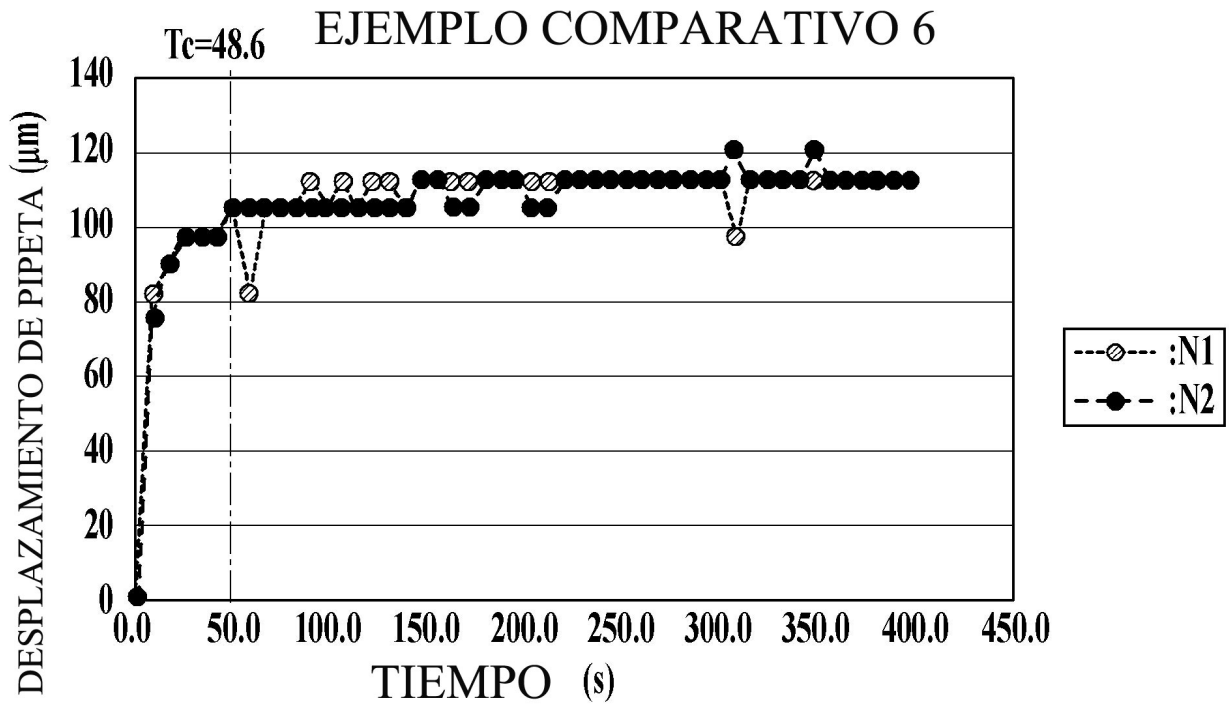


FIG.9

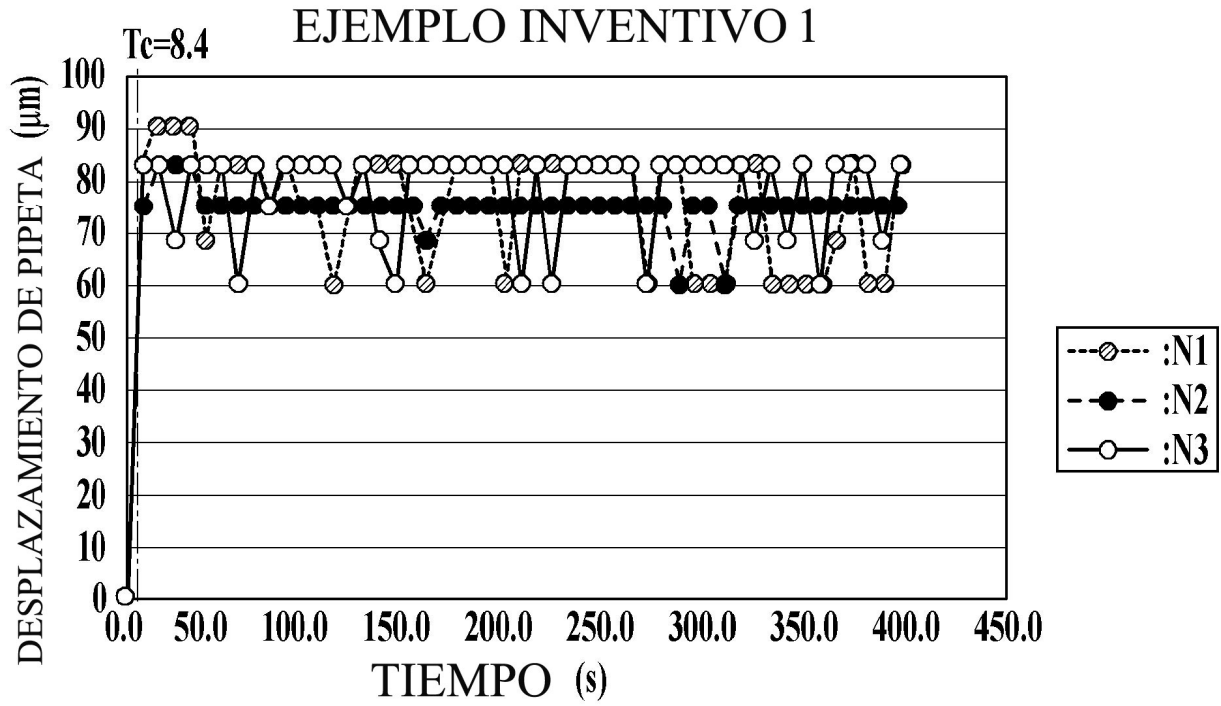


FIG.10

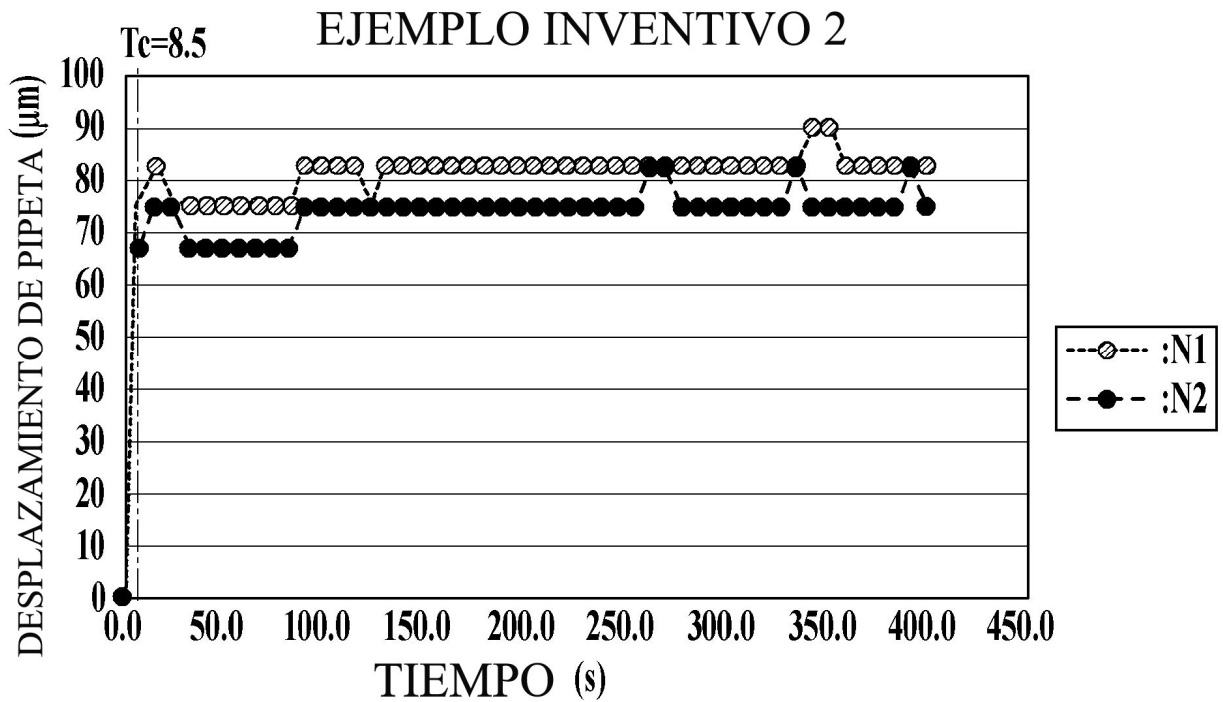


FIG.11

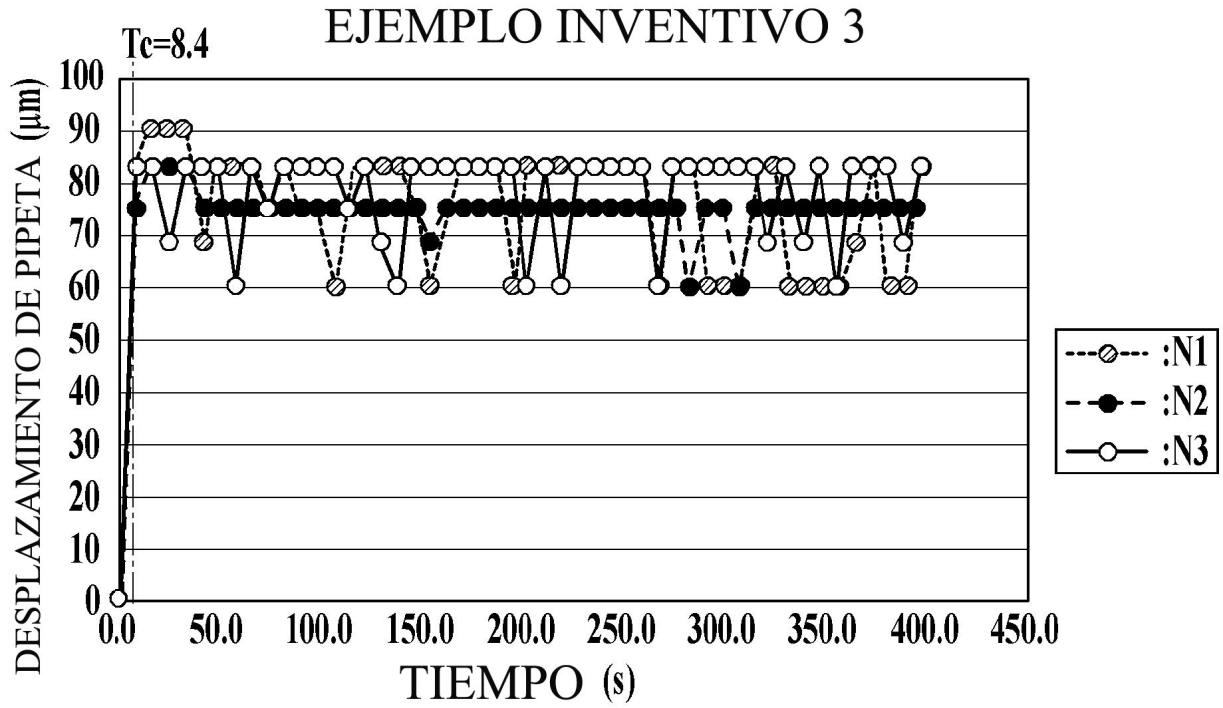


FIG.12

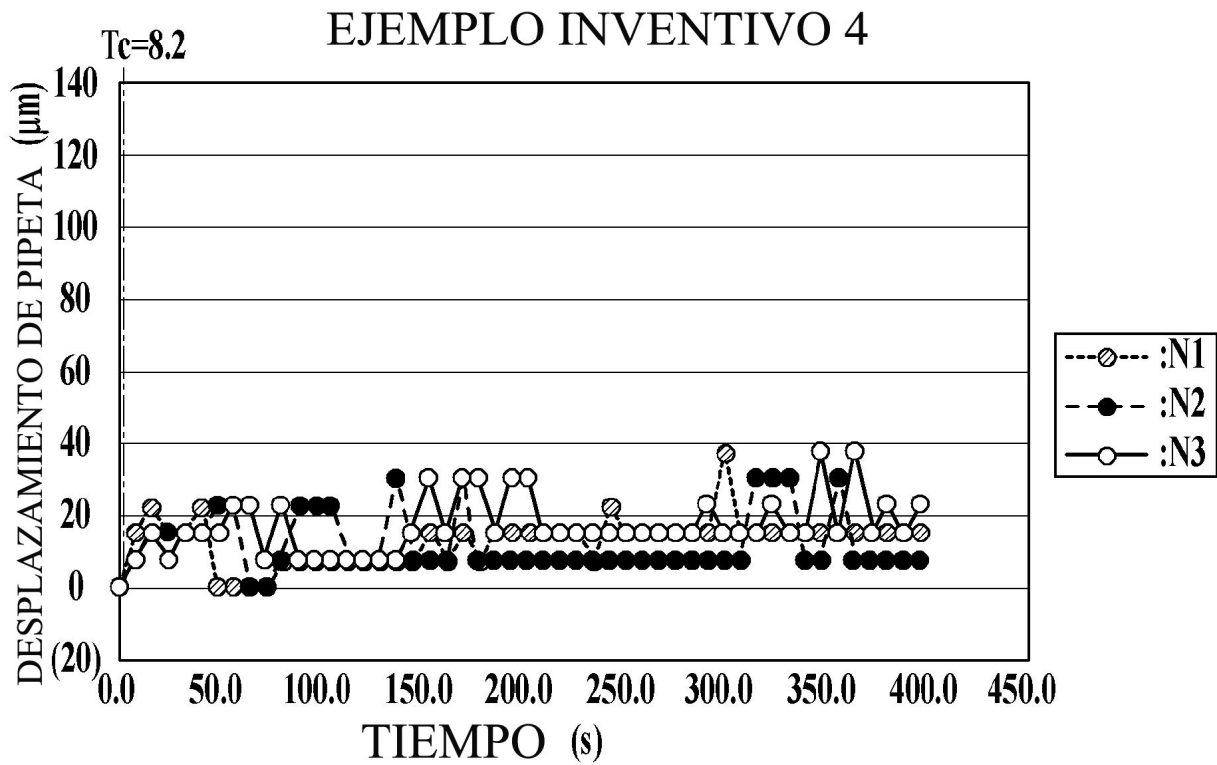


FIG.13

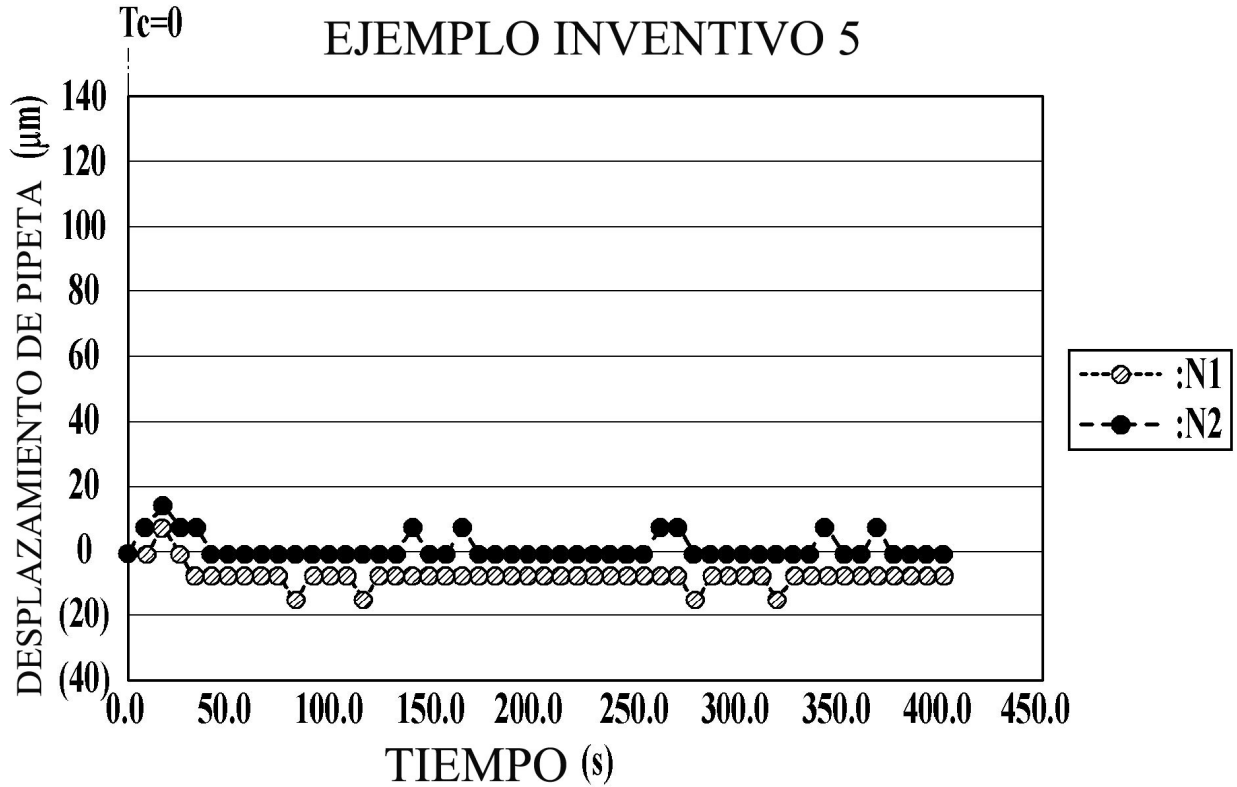


FIG.14

