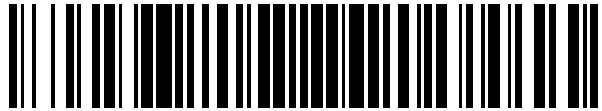


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 848 532**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/447** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2008 PCT/US2008/004031**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2008 WO08118488**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2008 E 08742334 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2020 EP 2130034**

54 Título: **Electroforesis capilar mediante tubos capilares con recubrimiento transparente**

30 Prioridad:

**26.03.2007 US 919984 P**

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

**10.08.2021**

73 Titular/es:

**QIAGEN SCIENCES, LLC (100.0%)  
19300 Germantown Rd  
Germantown, MD 20874, US**

72 Inventor/es:

**AMIRKHANIAN, VAROUJ**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 848 532 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

Electroforesis capilar mediante tubos capilares con recubrimiento transparente

**Antecedentes de la invención**

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisional de los EE. UU. n.º 60/919.984, presentada el 26 de marzo de 2007.

## 1. Campo de la invención

La presente invención se refiere a la electroforesis capilar y, en particular, a un tubo capilar mejorado para su uso en el análisis por electroforesis capilar.

## 2. Descripción de la técnica relacionada

Los tubos capilares de sílice fundida sintética se utilizan ampliamente en las ciencias de la separación, incluidos los populares campos de la cromatografía de gases, la cromatografía líquida capilar y la electroforesis capilar (EC). Desde su aparición a finales de la década de 1970, se han producido avances constantes en la calidad del producto. El último paso en este desarrollo continuo lo constituyen los tubos capilares de sílice fundida que guían la luz gracias a la aplicación de un recubrimiento de fluoropolímero blando (véase la publicación de Macomber, Joe y Nelson, Gary, *Light Guiding Fused Silica Capillary Tubing*, en LCGC, The APPLICATION NOTEBOOK, junio de 2002, página 48). El aumento de la pureza de la sílice fundida sintética, unos recubrimientos externos más duraderos y el ajuste de las tolerancias de especificación son los pilares de los avances en los tubos capilares. Los investigadores han utilizado con éxito tubos capilares llenos de un líquido de alto índice de refracción para formar una guía para las ondas ópticas. En una aplicación específica, se empleó un capilar con un recubrimiento externo de fluoropolímero blando, de bajo índice de refracción, en un dispositivo de espectroscopía Raman (véase D. Che y S. Liu, *Long Capillary Waveguide Raman Cell*, patente de los EE. UU. 5,604,587, 1997). Aunque se trata de un producto viable para aplicaciones de guiado de la luz, los capilares recubiertos de fluoropolímero blando nunca han alcanzado el bajo coste o la durabilidad deseados para los cartuchos de gel con capilares multicanal desechables de gran volumen de los instrumentos del tipo usado en electroforesis capilar.

La electroforesis capilar de alto rendimiento (HPCE) representa actualmente un conjunto de potentes técnicas de electromigración, cuyo impacto se ha dejado sentir prácticamente en todas las áreas del análisis bioquímico (véase, Novotny, M. V. y Sudor, J., *Electrophoresis* 1993, 14, 373-389; Novotny, M. V., *High Performance Capillary Electrophoresis, Theory Techniques and Applications*, John Wiley & Sons: Nueva York, 1998, capítulo 21, págs. 729-765; Novotny, M. V., *Methods Enzymol.* 1996, 270, 101-133; Stefansson, M. y Novotny, M. V. *Techniques In Glycobiology*, Marcel Dekker, Nueva York, 1997, capítulo 26, págs. 409-430) (véase también J. Macomber, *Transparent Fluoropolymer Coated Capillary Tubing*, LC-GC North America (en línea), vol. 24, 2006-06, página 59).

La HPCE es un enfoque microfluídico de la electroforesis en gel, cuya mayor ventaja es su diversa gama de aplicaciones. La técnica de EC con detección basada en fluorescencia es comúnmente aceptada por la industria biotecnológica como herramienta de detección fiable, de alta resolución y altamente sensible (véase, Guttman, A. y Cook, N., *Anal. Chem.* 1991, 63, 2038-2042).

Los sistemas comerciales existentes de EC con un mecanismo de detección de fluorescencia inducida por láser (LIF) que utilizan múltiples capilares/canales para aplicaciones de alto rendimiento son complicados en cuanto al diseño y operación del instrumento. Estos sistemas utilizan capilares de sílice fundida con una cubierta de recubrimiento de poliimida y un área de ventana transparente (es decir, con la cubierta de poliimida eliminada en el área de la ventana) en la zona de detección. En tales aplicaciones multicanal, no se han usado capilares recubiertos de fluoropolímero blando. El recubrimiento (cubierta) de poliimida proporciona resistencia y evita la rotura de los capilares de vidrio, de pequeño diámetro exterior. Para la detección basada en fluorescencia, debe eliminarse la cubierta de poliimida en la zona de detección del capilar. Es esencial que la zona de detección del tubo capilar no contenga ningún material de poliimida ni material particulado, a fin de proporcionar un camino óptico transparente a través del vidrio de sílice fundida para la excitación y la detección/recogida directa de la emisión de la señal de fluorescencia de las muestras (biomoléculas) que migran o fluyen dentro del diámetro interior de los tubos.

Para eliminar la cubierta de poliimida, a fin de proporcionar una ventana óptica transparente en la zona de detección del capilar para la detección de fluorescencia, dicha cubierta de poliimida podría quemarse aplicando calor (mediante bobinas eléctricas calientes), decaparse con ácido, rasparse o eliminarse mecánicamente (p. ej., con una cuchilla de afeitar), o la cubierta podría eliminarse mediante técnicas de fotodecapado o fotoablación con diferentes longitudes de onda y/o tipos de láseres. Este proceso es muy laborioso y requiere un examen cuidadoso a grandes aumentos de la superficie del vidrio después del proceso de eliminación para asegurarse de que la ventana (la superficie del vidrio) no contenga nada de la cubierta de poliimida ni cualquier otro material particulado. La poliimida también emite fluorescencia bajo luz visible, lo que añade más complicaciones a la ruta de detección. La eliminación de la cubierta de poliimida en la zona de detección (p. ej., una sección de 3-5 mm de largo) también da lugar a un punto débil que expone el capilar desnudo a posibles microgrietas o su rotura completa. El calor excesivo o las tensiones mecánicas aplicadas a la zona de detección durante la eliminación de los materiales de recubrimiento/cubierta también producen

microgrietas en el diámetro exterior y el diámetro interior del tubo de sílice fundida, que no son visibles o detectables a grandes aumentos y que también pueden aumentar la fluorescencia de fondo y afectar al límite de detección general (LDD) en los instrumentos del tipo usado en EC, como los instrumentos de EC del tipo usado en el análisis de fragmentos de ADN.

- 5 El documento WO 2004/092721 describe un mecanismo de interfaz para un instrumento de bioseparación que comprende una pluralidad de canales capilares tubulares que están recubiertos de poliimida.

El documento US 2007/0014950 describe un tubo capilar para bioseparación que comprende un cuerpo tubular transparente, que define un orificio, y un recubrimiento de plástico sobre el cuerpo tubular.

### **Compendio de la invención**

- 10 La presente invención supera los inconvenientes de la técnica anterior para EC, como los capilares recubiertos de poliimida. En un primer aspecto, la presente invención es un tubo capilar según la reivindicación 1, que tiene una alta integridad estructural y que es de bajo coste y ópticamente eficaz. En un segundo aspecto, la presente invención es un cartucho para bioanálisis que comprende al menos un tubo capilar según el primer aspecto. En un tercer aspecto, la presente invención es un método de análisis bioanalítico, que comprende: proporcionar el cartucho según el  
15 segundo aspecto, introducir una muestra en un extremo de cada tubo capilar del cartucho, realizar la separación por electroforesis a lo largo de cada tubo capilar para separar la muestra en sus componentes y analizar los componentes separados. En las reivindicaciones dependientes se exponen realizaciones concretas.

- El tubo capilar comprende un recubrimiento o revestimiento externo ópticamente transparente de fluoropolímero duro. El recubrimiento de fluoropolímero duro se une al vidrio de sílice fundida, para proporcionar una mayor resistencia y  
20 un mejor comportamiento en relación con la fatiga estática, lo que se traduce en una flexibilidad de flexión enormemente mejorada. El delgado recubrimiento de fluoropolímero duro de los capilares proporciona una mayor resistencia a la tracción inicial, una vida útil más larga (resistencia a la corrosión bajo tensión o fatiga estática) y una capacidad superior para transmitir la luz de excitación y la luz emitida directamente a través de la cubierta para la detección basada en fluorescencia. El capilar recubierto de polímero duro tiene escasa fluorescencia intrínseca, lo que  
25 proporciona una dispersión de fondo baja y al menos el mismo comportamiento en cuanto a la relación señal-ruido en las aplicaciones del tipo de la electroforesis capilar en gel de fragmentos de ADN, en comparación con los capilares del tipo de vidrio desnudo con la cubierta de poliimida eliminada de la técnica anterior. Al usar capilares con recubrimiento transparente, no se necesita quemar la ventana, lo que ahorra costes (menos trabajo manual) y proporciona una resistencia superior dentro de la zona de detección a los capilares para ensamblajes de cartuchos de  
30 gel fiables para los instrumentos del tipo usado en electroforesis. Dado que la zona de detección (ventana) del tubo capilar está completamente cubierta con la cubierta de recubrimiento de fluoropolímero duro, esto también permite un acoplamiento óptico estrecho de las fibras (es decir, un contacto de la superficie exterior del capilar con mayor eficiencia de acoplamiento óptico) para suministrar la luz de excitación o recoger la luz de emisión de las muestras separadas en el orificio central del capilar, sin agrietamiento ni rotura de los frágiles tubos capilares de vidrio. Otra  
35 ventaja es que los tubos capilares pueden cortarse con diamante directamente sobre el delgado revestimiento de polímero, lo que proporciona superficies de vidrio de corte limpio sin ningún arrastre de la cubierta en los extremos distales (cortados). Esto mejora aún más el rendimiento de fabricación y reduce adicionalmente el coste total del ensamblaje.

### **Breve descripción de los dibujos**

- 40 Para una mayor comprensión de la naturaleza y las ventajas de la invención, así como del modo de uso preferido, debe hacerse referencia a la siguiente descripción detallada, leída junto con los dibujos adjuntos. En los siguientes dibujos, números de referencia iguales designan partes iguales o similares en todos los dibujos.

La figura 1 es una vista de representación esquemática de un sistema de electroforesis capilar según un aspecto de la presente invención.

- 45 La figura 2 es una vista en perspectiva de un cartucho con capilares que tiene un dispositivo de seguimiento según un aspecto de la presente invención.

La figura 3 es una vista externa en perspectiva de un instrumento de bioanálisis que usa el cartucho con capilares de la figura 2, según un aspecto de la presente invención.

- 50 La figura 4 es una vista interna en perspectiva del instrumento de bioanálisis de la figura 3, según un aspecto de la presente invención.

La figura 5 es un diagrama de bloques del sistema de control para el instrumento de bioanálisis según un aspecto de la presente invención.

La figura 6 es una vista esquemática del cartucho con capilares en relación con el sistema de detección y la energía aplicada según un aspecto de la presente invención.

La figura 7 es una vista en perspectiva parcial del cartucho con capilares en relación con el sistema de detección según un aspecto de la presente invención.

La figura 8 ilustra una sección de un tubo capilar que tiene un recubrimiento transparente de fluoropolímero duro según un aspecto de la presente invención.

## 5 Descripción detallada de realizaciones ilustradas

Esta invención se describe a continuación en referencia a varios aspectos y con referencia a las figuras. Aunque esta invención se describe con respecto al mejor modo de lograr los objetivos de dicha invención, los expertos en la técnica apreciarán que pueden llevarse a cabo variaciones a la vista de estas enseñanzas sin desviarse del espíritu o el alcance de la invención.

10 La presente invención proporciona un tubo capilar ópticamente eficaz, de bajo coste y gran integridad estructural, para su uso en sistemas de electroforesis capilar.

Descripción general del sistema de EC

15 En general, la electroforesis capilar (EC) es un enfoque microfluídico de la electroforesis (un dispositivo de microcanales para simplificar la electroforesis en gel). Su mayor ventaja es la diversa gama de aplicaciones. La técnica de EC es comúnmente aceptada por la industria biotecnológica, específicamente en las pruebas a base de ADN o ácidos nucleicos, como herramienta de detección fiable, de alta resolución y altamente sensible. La EC con fluorescencia inducida por láser (LIF) es también una de las herramientas analíticas más poderosas para bioanálisis/pruebas rápidos, de alta sensibilidad y alta resolución (p. ej., ADN, carbohidratos, etc.).

20 La figura 1 es una representación esquemática de un sistema de electroforesis capilar (EC) 200 según un aspecto de la presente invención. El sistema de EC 200 comprende generalmente una columna de separación capilar 22 (p. ej., 200-500  $\mu\text{m}$  de diámetro exterior), que define un canal de separación 36 (p. ej., 5-200  $\mu\text{m}$  de diámetro interior). Según la presente invención, la columna capilar 22 está hecha de sílice fundida (que es ópticamente transparente), con un recubrimiento exterior transparente (que también es ópticamente transparente), como se describirá adicionalmente a continuación. Las paredes interiores de la columna de separación 22 (es decir, las paredes del canal de separación 36) pueden estar recubiertas de un material capaz de acumular carga electrostática para facilitar la electroforesis y/o la migración electrocinética de los componentes de la muestra. El canal de separación 36 está lleno de un medio de soporte para la separación, que puede ser un tampón de corrida o un tampón del gel de tamizado formulado específicamente para la muestra biológica concreta en las condiciones operativas y de análisis prescritas (p. ej., para muestras del tipo de ADN, ARN, proteínas o carbohidratos).

30 Un extremo de la columna capilar 22 se sumerge en un depósito 28 de tampón/gel de corrida 34. El otro extremo de la columna capilar 22 está acoplado al vial de la muestra 26. Se entiende que otras configuraciones de detección se implementan en un sistema similar al sistema de EC 200. Un detector de radiación 24 se coloca por fuera de una sección transparente de las paredes capilares en la zona de detección 30. Debido al recubrimiento duro externo transparente de la columna capilar 22 según la presente invención, toda la pared longitudinal de la columna capilar 22 estará disponible para localizar la zona de detección 30 como se desee para la prueba de una muestra concreta. Una fibra de excitación 16 se extiende desde una fuente de radiación 18 (p. ej., LED o láser) y se dirige a la zona de detección 30 por fuera de las paredes de la columna. Se señala que el recubrimiento transparente duro de la columna capilar 22 tiene suficiente resistencia para proporcionar soporte estructural al cuerpo del tubo capilar de sílice fundida en la zona de detección 30, de modo que no se necesita ninguna funda o soporte externo para proporcionar integridad estructural a esta sección de la columna capilar 22. Esto es deseable para que en la zona de detección no haya interferencia con las señales ópticas. Los electrodos 12 y 14, que forman parte del ensamblaje del cartucho, están acoplados al depósito de tampón 26 y al depósito de gel 28 para completar el recorrido de la electroforesis.

Descripción general de la separación y el análisis por EC

45 En operación, una muestra biológica (p. ej., una muestra de ADN o carbohidrato) preparada en el vial de la muestra 26 con un fluoróforo marcado (es decir, bromuro de etidio o APTS) se introduce en el extremo de la columna capilar 22 más alejado de la zona de detección 30 de varias maneras (por ejemplo, por inyección electrocinética desde el depósito de la muestra).

50 Cuando se aplica un potencial de CC (p. ej., 1-30 kV) entre los electrodos 12 y 14, los componentes de la muestra migran bajo el potencial eléctrico aplicado a lo largo del canal de separación 36 (p. ej., las moléculas de ADN que están cargadas negativamente se desplazan a través del gel de tamizado hacia el electrodo positivo como se muestra en la figura 1) y se separan en bandas de componentes de la muestra (p. ej., fragmentos de ADN). El grado de la separación y la distancia recorrida a lo largo del canal de separación 36 dependen de varios factores, como la movilidad de migración de los componentes de la muestra, la masa y el tamaño o la longitud de los componentes de la muestra y el medio de soporte para la separación. Las fuerzas impulsoras en el canal de separación 36 para la separación de las muestras podrían ser medios electroforéticos, de presión o de flujo electroosmótico (FEO).

Cuando la muestra alcanza la zona de detección, se dirige una radiación de excitación a través de la fibra de excitación 16 a la zona de detección. Los componentes de la muestra emiten fluorescencia con intensidades proporcionales a la concentración de los respectivos componentes en la muestra (proporcional a la cantidad de material del marcador fluorescente). El detector 24 detecta las intensidades de la fluorescencia emitida a una longitud de onda diferente de la de la radiación incidente. La radiación emitida detectada puede analizarse mediante métodos conocidos. Para el sistema automatizado, un controlador 32 (discutido a continuación en relación con la figura 5) en la placa electrónica 64 (figura 4) controla las operaciones del sistema de EC 200.

#### Cartucho con capilares

Según un aspecto de la presente invención, la columna capilar 22 para electroforesis descrita anteriormente que tiene un recubrimiento transparente externo puede ser parte de un cartucho extraíble que puede separarse del sistema para su almacenamiento, transporte o reutilización. Pueden preensamblarse diferentes cartuchos con diferentes propiedades de los capilares (p. ej., tamaño del capilar, recubrimiento interno y longitud) y contenido, por ejemplo, diferente composición química del gel, con el contenido del cartucho identificado. Para identificar el cartucho y su contenido pueden proporcionarse indicadores visuales. Por ejemplo, puede aplicarse al cartucho una etiqueta (p. ej., con un código de barras) o una hoja de información aparte. Además, a la vista de la reutilizabilidad del cartucho y del uso definido o la vida útil del contenido del cartucho, puede asociarse un registro independiente al cartucho concreto para realizar un seguimiento del uso de dicho cartucho. Un cartucho con capilares reutilizable para su uso con un instrumento de EC podría incluir un mecanismo para el seguimiento automático de la información asociada a un cartucho concreto. El elemento de la llave de datos para el seguimiento de los cartuchos se describe con más detalle en la solicitud de patente pendiente de tramitación con el número de serie 11/022.313.

La figura 2 es una vista en perspectiva del cartucho para EC con una llave de datos de seguimiento según un aspecto de la presente invención. El cartucho multicanal con capilares 200 incluye doce zonas de detección (representadas esquemáticamente como 30 en la figura 1), definidas por capilares 140 alojados en el cuerpo de un cartucho, en donde los capilares son similares a las columnas capilares 22 descritas anteriormente. Hay una llave de datos 500 asociada con el cartucho 100 (p. ej., mediante una atadura o cordón 510 como se muestra). Los detalles relacionados con la llave de datos 500 se describen en la solicitud pendiente de tramitación con el número de serie 11/022.313. El cartucho 100 incluye un conjunto de capilares de sílice fundida de doce canales que se utiliza para la separación y detección de las muestras como parte de un ensamblaje de cartucho 100 intercambiable, desechable y/o portátil. El cartucho 100 que se muestra en la figura 2 aloja hasta doce capilares 140, de 12-18 cm de largo. El cartucho 100 tiene integrado un depósito de tampón de salida 130 en la parte superior, común a todos los capilares 140, en donde, cuando el cartucho 100 se instala en el sistema de EC mostrado en las figuras 3 y 4 (discutidas a continuación) queda directamente acoplado mediante el mecanismo de interfaz 300 a una fuente modular de gas comprimido 78, como un cartucho reemplazable de gas presurizado de un gas inerte, compatible o no reactivo (p. ej., nitrógeno, aire comprimido, CO<sub>2</sub>, etc.) o a una bomba de presión. Se proporcionan las conducciones de presión adecuadas, incluidos los tubos, la válvula de presión y los controles de solenoide. (Los detalles de tales conducciones se omiten, ya que la configuración de tales conducciones está dentro de la capacidad de un experto en la técnica, a la vista de la descripción en este documento de las funciones, elementos y operaciones del sistema 200). La fuente de presión 78 proporciona la presión de gas requerida para llenar los doce capilares con el gel de tamizado contenido en el depósito 130 y para purgar de los capilares el gel de la corrida anterior durante el proceso de relleno. Dependiendo de la viscosidad del gel, pueden aplicarse presiones de hasta 275,79 kPa (40 psi) a los capilares 140 a través del depósito lleno de gel 130.

Con referencia a la figura 6, el cartucho de gel 100 incluye un depósito integrado 130 que contiene un medio de soporte 131 para la separación (p. ej., el tampón de una matriz de gel), que es común a todos los capilares 140. La composición química del medio 131 y las características de los capilares 140 (p. ej., tamaño, recubrimiento y longitud del capilar) están definidos para cada cartucho 100. Los cartuchos de gel desechables 100 pueden contener capilares con un diámetro interior pequeño (es decir, 10-100  $\mu\text{m}$  de diámetro interior, 12-30 cm de largo), lo que se combina con una corriente baja (es decir, de baja resistividad) y una matriz de gel de un polímero lineal formulado del tipo de baja viscosidad para proporcionar alta velocidad (menor tiempo de separación) y separaciones de mayor resolución de los fragmentos de la muestra (p. ej., carbohidratos o ADN). Con los capilares del calibre más pequeño (cartucho de 12 capilares) combinados con el tampón de separación/matriz de gel formulados especialmente pueden lograrse 250 o más corridas continuas con una corriente total de <120  $\mu\text{A}$  (típicamente de 10-20  $\mu\text{A}$ ) sin ningún daño para la matriz de gel ni pérdidas en la resolución general de la separación.

El depósito de gel 130 del cartucho está equipado con un electrodo 132 como ánodo integrado (equivalente al ánodo 14 en la figura 1) común para los doce capilares 140, y cada extremo dependiente de los capilares 140 está provisto de un cátodo coaxial externo 134. El ánodo 132 y los cátodos 134 se conectan automáticamente mediante el mecanismo de interfaz 300 a la fuente de alimentación de alto voltaje 76 (figura 4) para la electroforesis cuando está instalada dentro del sistema 200. Puede proporcionarse un ventilador o enfriador Peltier (no mostrado) en la estructura adyacente al cartucho 100 para controlar la temperatura de dicho cartucho. Además, o alternativamente, el cartucho puede tener orificios de ventilación (entrada y salida) para la circulación del aire (aire de temperatura controlada que se introducirá en el cartucho desde el lado del instrumento). Dependiendo del calor generado durante la separación por EC, el cartucho puede exponerse simplemente a la temperatura ambiente, sin elementos de enfriamiento auxiliares.

En un ejemplo, el cartucho 100 se introduce en el sistema de EC automatizado 200 mostrado en las figuras 3 y 4. Una fuente de alimentación 66 (figura 4) proporciona alimentación de CC al sistema de EC 200 para suministrarla al cartucho, como se explicará más adelante.

Para más detalles del cartucho puede hacerse referencia a la solicitud pendiente de tramitación n.º 10/059.993.

5 Para adaptarse a la separación basada en muestras concretas, pueden intercambiarse fácilmente diferentes cartuchos en el sistema de bioseparación. Los capilares cortos y de pequeño calibre combinados con un gel de tamizado especial proporcionan una corriente de operación baja (<200  $\mu$ A) para voltajes aplicados altos (por ejemplo, 10 kV), sin necesidad de enfriar los capilares, para lograr separaciones/resultados rápidos, de alta resolución y alto rendimiento en el análisis de grandes volúmenes y bajo coste de biomoléculas como ADN, carbohidratos, etc.

10 Tubos capilares con recubrimiento transparente

Un aspecto de la presente invención se refiere a una columna o tubo capilar revestido de un recubrimiento duro, transparente u ópticamente transparente, que puede usarse en el cartucho de gel 100 descrito anteriormente. Con referencia a la figura 8, en un aspecto, la columna capilar 22 con recubrimiento transparente comprende un recubrimiento o revestimiento 800 de fluoropolímero duro transparente sobre un tubo capilar de sílice fundida 802. Un ejemplo comercial de un tubo capilar con recubrimiento transparente está disponible en InnovaQuartz Inc., Phoenix AZ: capilar de sílice revestido TEQS™, P/N: HOSBX075/363 (con un diámetro interior de 75  $\mu$ m y un diámetro exterior total de 363  $\mu$ m; también se encuentran disponibles capilares recubiertos de otras dimensiones).

La composición del recubrimiento de fluoropolímero duro en sí misma no es nueva para los inventores de la presente invención. La empresa 3M (Minnesota Mining and Manufacturing Company) ha desarrollado un ejemplo de material de fluoropolímero adecuado en referencia a "TECS" (que significa sílice revestida con tecnología mejorada), que ha sido bien documentado en el sector de la fibra óptica para el recubrimiento o revestimiento de fibras ópticas. También se puede hacer referencia a las siguientes patentes de los EE. UU.: 4.654.235, 5.002.359, 5.690.863, 5.461.692 y 7.317.857 y la publicación de patente de los EE. UU. 2005/0254765. El recubrimiento de fluoropolímero duro puede aplicarse directamente al cuerpo del capilar de sílice fundida sin ninguna capa de tampón intermedia. El proceso de recubrimiento o revestimiento de tubos capilares desnudos con el mismo recubrimiento de fluoropolímero duro es similar al proceso de recubrimiento o revestimiento de fibras ópticas con el mismo fluoropolímero.

En un aspecto, las composiciones transparentes para el revestimiento de sílice se preparan a partir de una composición reactiva al 100% de monómeros monofuncionales y multifuncionales. Los componentes de estas composiciones pueden ser polímeros de bajo peso molecular de uno o varios monómeros monofuncionales de acrilato o metacrilato que contienen flúor, en donde tales polímeros son solubles y están disueltos en uno o varios monómeros de acrilato o metacrilato fluorocarbonado, pero no necesariamente los del polímero básico. Las composiciones de revestimiento pueden prepararse con o sin un monómero reticulante como un acrilato o metacrilato difuncional o polifuncional. Los revestimientos también pueden usar un iniciador térmico, un fotoiniciador u otro sistema conocido de iniciación de la polimerización y uno o varios promotores de adhesión, como ácido acrílico o metacrílico, un acrilato o metacrilato de silano, un acrilato o metacrilato de alcoxisilano, un alcoxivinilsilano, o un acrilato o metacrilato de arilo.

El capilar con recubrimiento transparente puede tener un diámetro exterior de 200-500  $\mu$ m y un diámetro interior de 5-200  $\mu$ m. El recubrimiento transparente puede tener un espesor de 5-50  $\mu$ m.

El revestimiento de fluoropolímero duro se une al vidrio de sílice fundida, lo que proporciona mayor resistencia y mejor comportamiento en relación con la fatiga estática, lo que se traduce en una flexibilidad de flexión enormemente mejorada. El delgado recubrimiento de fluoropolímero duro de los capilares proporciona una mayor resistencia a la tracción inicial, una vida útil más larga (resistencia a la corrosión bajo tensión o fatiga estática) y una capacidad superior para transmitir la luz visible de excitación directamente a través del recubrimiento y la luz emitida directamente a través del recubrimiento para la detección basada en fluorescencia, como se muestra en la figura 8. El capilar recubierto de polímero duro tiene escasa fluorescencia intrínseca, lo que proporciona una dispersión de fondo baja y al menos el mismo comportamiento en cuanto a la relación señal-ruido para las aplicaciones del tipo de la electroforesis capilar en gel de fragmentos de ADN, en comparación con los capilares del tipo de vidrio desnudo con la cubierta de poliimida eliminada de la técnica anterior. Al usar capilares con recubrimiento transparente, no se necesita quemar la ventana, lo que ahorra de costes (menos trabajo manual) y proporciona una resistencia superior de los capilares dentro de la zona de detección para ensamblajes de cartuchos de gel fiables para instrumentos del tipo usado en electroforesis. Dado que la zona de detección (ventana) del tubo capilar está completamente cubierta con la cubierta de recubrimiento de fluoropolímero duro, esto también permite un acoplamiento óptico estrecho de las fibras (es decir, un contacto de la superficie exterior del capilar con mayor eficiencia de acoplamiento óptico) para suministrar la luz de excitación o recoger la luz de emisión de las muestras separadas en el orificio central del capilar, sin agrietamiento ni rotura de los frágiles tubos capilares de vidrio. Otra ventaja es que los tubos capilares pueden cortarse con diamante o escindirse/cortarse con láser directamente sobre el delgado recubrimiento de polímero, lo que proporciona superficies de vidrio de corte limpio sin ningún arrastre de la cubierta en los extremos distales (cortados). Esto mejora aún más el rendimiento de fabricación y reduce adicionalmente el coste total del ensamblaje. La simplificación del proceso de corte/escisión de los capilares de vidrio con el recubrimiento de polímero transparente simplifica el diseño del sistema

de detección óptica del nuevo instrumento, lo que reduce el coste de fabricación, al tiempo que mejora la fiabilidad y la reproducibilidad.

El recubrimiento externo de fluoropolímero transparente puede cubrir toda la longitud del tubo capilar o cubrir solo una sección longitudinal de dicho tubo capilar para definir la zona de detección. Al menos la zona de detección del tubo capilar debe estar cubierta por el recubrimiento transparente a fin de definir una ventana transparente para la luz de excitación y la luz de emisión a través de dicho recubrimiento transparente para la detección de la fluorescencia inducida por la luz. Se señala que, con toda la longitud del tubo capilar recubierta externamente por el recubrimiento transparente duro, la zona de detección puede definirse en cualquier punto que sea apropiado para el experimento de EC concreto. En comparación con los capilares recubiertos de poliimida de la técnica anterior, no es necesario definir la zona de detección eliminando el recubrimiento de poliimida en una sección concreta de los capilares. Además, con el recubrimiento transparente externo duro, no se necesita ninguna funda externa ni otro soporte para proteger el tubo capilar de roturas u otros daños. El recubrimiento duro transparente proporciona suficiente soporte estructural al tubo capilar en la zona de detección, de modo que no se necesitará ningún soporte externo en la zona de detección. Por consiguiente, no habrá ninguna estructura externa que pueda interferir con los componentes de la detección óptica ni las señales ópticas (p. ej., fibras ópticas para la excitación y/o detección).

Sistema de EC basado en cartuchos con capilares múltiples

La empresa BioCal Technology, Inc. (que es propiedad total de eGene, Inc.), cesionaria de la presente invención, desarrolló un instrumento automatizado basado en EC (p. ej., el sistema analizador modelo HDA-GT12). La realización ilustrada del instrumento automatizado se basa en el instrumento para EC de BioCal, que incorpora una tecnología de detección óptica económica y sensible, un cartucho de reactivos integrado y el principio de electroforesis microfluídica para el análisis de fluorescencia en tiempo real, con el fin de lograr un sistema de detección sensible y preciso para bioanálisis. El sistema está diseñado para ser de alto rendimiento, fácil de usar, portátil, económico, muy robusto y para operaciones/aplicaciones sobre el terreno. El cartucho desarrollado por BioCal está diseñado para ser soportado por el instrumento, con todos los elementos esenciales del cartucho alineados y acoplados a elementos de soporte del instrumento. El cartucho se mantiene fijo con respecto a las bandejas de muestras que pueden desplazarse en relación con los canales de separación capilar en el cartucho.

La figura 4 muestra una vista en perspectiva general de los componentes internos del sistema de EC 200 (p. ej., un analizador de carbohidratos o ADN). La figura 3 es una vista externa del sistema. El sistema de EC 200 incorpora un mecanismo de interfaz 300, según un aspecto de la presente invención. El mecanismo de interfaz 300 soporta un cartucho multicanal 100 según un aspecto de la presente invención, lo que proporciona un fácil manejo de las columnas de separación multicanal y permite un fácil acoplamiento óptico de las zonas de detección a la óptica de detección del sistema de EC 200.

El sistema de EC totalmente automatizado 200 tiene una base 74, la cual soporta un mecanismo modular X-Z 80 que tiene un marco de soporte 81 para la bandeja de muestras. El mecanismo X-Z 80 soporta y desplaza una placa de tampón 70 en relación con el cartucho multicapilar 100 soportado por el mecanismo de interfaz 300 y un portamuestras (p. ej., una placa de microtitulación 72 de 96 pocillos) que puede alojarse en un dispositivo de preparación de muestras 250 opcional. Específicamente, el mecanismo 80 comprende un mecanismo X 82 para desplazar el marco de soporte 81 a lo largo de la dirección X en relación con el cartucho 100 y un mecanismo Z 83 para desplazar la bandeja de muestras y tampón en la dirección Z en relación con el marco de soporte 81 y el cartucho 100. El dispositivo de preparación de muestras 250, si se proporciona, puede controlarse mediante un controlador termoelectrónico 68 (véase la figura 5).

Con referencia también a las figuras 6 y 7, hay doce LED de excitación 921 multiplexados en el tiempo (con una frecuencia de muestreo de 10-100 Hz), que producen señales multiplexadas para los doce microcanales de separación (tubos capilares 140) y, proporcionalmente, doce lentes microesféricas 923 recogen entonces doce señales de fluorescencia emitidas escalonadamente en el tiempo (figura 7), que se acoplan a doce fibras ópticas de detección de emisiones (conjunto de doce fibras) 922 y se transmiten a un solo tubo fotomultiplicador (detector PMT) 24 a través de un bloque de filtrado 924. El cartucho de gel 100 soporta doce capilares de sílice fundida 140 para la separación por EC (figuras 6 y 7).

Para otras estructuras y operaciones del mecanismo de interfaz 300 del sistema de EC 200, puede hacerse referencia a la solicitud de patente de los EE. UU. pendiente de tramitación n.º 10/823.382. La interfaz del cartucho efectúa conexiones de interfaz rápidas y fiables con el cartucho de gel con capilares 100 desechable. Estas conexiones de interfaz incluyen una conexión de presurización de gas (no se muestra en la figura 7), conexiones de alto voltaje (ánodo 132 y cátodos 134) y conexiones ópticas de precisión. La interfaz también proporciona un posicionamiento mecánico preciso y reproducible del cartucho, para colocar con precisión los componentes del cartucho en relación con los elementos de soporte en el sistema de EC 200, incluido el posicionamiento de las puntas de los capilares en relación con la muestra o los depósitos de tampón externos, que se encuentran, por ejemplo, en una placa de titulación de 96 pocillos. Además, dado que la interfaz proporciona conexiones eléctricas, ópticas y neumáticas independientes para cada canal de separación, habrá aislamiento entre canales frente a interferencias tanto eléctricas como ópticas y aislamiento del resto del instrumento frente al alto voltaje.

Las patentes de los EE. UU. n.ºs 6.828.567 y 6.870.165 describen más específicamente el esquema de detección escalonado/multiplexado en el tiempo que se puede adoptar en el sistema de EC 200.

En un aspecto, para la detección de fluorescencia visible inducida por radiación, la radiación de excitación estaría en el intervalo de 400 a 700 nm, con la radiación emitida inducida por la radiación de excitación generalmente en un intervalo similar. (Por ejemplo, el intervalo de longitudes de onda de excitación sería de 400 a 600 nm (centrado en 500 nm) y el intervalo de detección de emisiones sería de 500 a 700 nm (centrado en 600 nm)). Las fuentes de luz de excitación 921 (figura 7) podrían ser LED superbrillantes (es decir, LED de InGaN de Agilent en los colores azul, verde, etc.) u otras fuentes de luz económicas, compactas y de baja potencia para usar en el esquema de detección de la presente invención. Estos LED superbrillantes basados en la tecnología de materiales de InGaN (HLMP-CBI5 y HLMP-CM15 de Agilent) tienen una potencia de emisión de luz media de 2,5-3 mW. Las características espectrales de estos LED de InGaN azul-verdes, con sus longitudes de onda máximas de 470 y 530 nm y semianchos (nm) de 30 a 50 nm, les hacen buenos candidatos para ser utilizados para la excitación de colorantes (p. ej., fluoresceína, rodamina, bromuro de etidio o naranja de tiazol) con espectros de excitación en el intervalo de 450 a 550 nm. Cualquier fuente de luz en estado sólido que pueda emitir en pulsos podría usarse también con cualquier colorante o fluoróforo para este tipo de detección multiplexada en el tiempo. Dado que el tiempo de respuesta de estos LED es muy largo (unos pocos cientos de nanosegundos en intervalos de frecuencia de 1 Hz a 100 MHz), podrían hacerse emitir en pulsos a mayores corrientes directas (p. ej., de 15-30 mA, pero que podrían ser de hasta 100 mA de corriente directa en el modo de operación pulsado) para obtener altos máximos de radiación. La operación pulsada de los LED puede lograrse típicamente mediante circuitos de accionamiento de transistores. Una luz de LED con un máximo de emisión significativamente mayor puede obtenerse a partir de grandes pulsos de corriente de accionamiento en ciclos de trabajo más bajos que la operación con CC. Otro ejemplo es un módulo con un conjunto de LED que consta de LED verdes de 524 nm, que también pueden adoptarse como fuentes de luz de excitación para la detección de fluorescencia en un instrumento de bajo coste para EC. Asimismo pueden usarse, por ejemplo, diodos láser en el intervalo de 400 a 900 nm y más específicamente en el intervalo de 400 a 600 nm.

El bloque de filtrado 927 (figura 7) puede ser un filtro óptico de paso largo de 500-700 nm (o más específicamente, 570-630 nm) (OG-590).

#### Control del sistema automatizado 200

El sistema de EC 200 proporciona un controlador integrado para la operación de los diversos componentes del sistema. Las operaciones del sistema de EC 200, incluido el mecanismo de interfaz 300 con el puerto de E/S 400, el sistema de detección, la fuente de alimentación, el sistema de control X-Y, etc., están controladas por un controlador 32 interconectado con una interfaz de control de usuario externa (p. ej., un ordenador personal 918), para coordinar las funciones aquí descritas.

Con referencia también a la figura 5, según un aspecto de la presente invención, se ilustra el diagrama de bloques del controlador 32 para el sistema de EC 200. El controlador 32 comprende un procesador como parte de la placa A/D (placa de circuito impreso (PCBA) del procesador de los LED) 912 con una unidad de control central (CPU) 910 para convertir en las señales digitales correspondientes las señales de detección recibidas del detector 24 (p. ej., un PMT), que proceden de la interfaz 914 de la PCBA de barrido de los LED para transferir y recibir señales hacia y desde las partes respectivas del sistema de EC 200 según las instrucciones de la CPU 910. La interfaz A/D (PCBA del procesador de los LED) 912 está acoplada a los diversos actuadores y al puerto E/S 400 en el mecanismo de interfaz 300 para controlar y conectar (utilizando el mecanismo de interfaz 300) al menos la fuente de alimentación de alto voltaje 76, la neumática 78 (oculta a la vista en el mecanismo de interfaz 300 en la figura 2), los controles del motor (bandeja de muestras/tampón X-Z) 80 y los enclavamientos (cartucho y puertas de transporte) 61 y 62 (los detalles de estos no se muestran en el mecanismo de interfaz 300 en la figura 2). La placa A/D o PCBA del procesador de los LED 912 también controla la fuente de alimentación de alto voltaje 76 para las funciones de inyección de muestras y electroforesis del sistema de EC 200 y el circuito 914 (placa de barrido de los LED) para modular la fuente de radiación de excitación (p. ej., LED) 921 y el módulo detector 24 del sistema de EC 200. Para los detalles de la modulación de la fuente de radiación de excitación puede hacerse referencia a la solicitud de patente de los EE. UU. pendiente de tramitación n.º 10/060.052.

La placa A/D (PCBA del procesador de los LED) 912 puede acoplarse además a un ordenador personal externo 918, que a su vez realiza el procesamiento de datos o una función de control adicional para el sistema de EC 200, p. ej., utilizando el software BioCalculator de BioCal para controlar diversos elementos y funciones del sistema automatizado multicanal de EC 200.

Los componentes del controlador 32, a excepción del ordenador personal 918, pueden empaquetarse como una placa electrónica 64 (figura 4) y ventiladores de refrigeración 63 en el sistema de EC 200 y acoplarse eléctricamente al ordenador 918 a través de un puerto en serie (no se muestra), o pueden formar parte de un módulo controlador individual fuera del sistema de EC 200. La CPU 910 y/o el ordenador personal 918 están programados para efectuar las diversas funciones y elementos de control del sistema de EC 200. En un ejemplo, el ordenador personal 918 puede configurarse para proporcionar la interfaz de control de usuario para el sistema de EC 200 (p. ej., el inicio por el usuario de la secuencia de conexión del mecanismo de interfaz 300). La implementación del código del programa estaría dentro de la capacidad de un experto en la técnica, a la vista de las funciones y características aquí descritas. En un

ejemplo alternativo, el controlador 32 o componentes del mismo pueden incorporarse como parte del ordenador personal 918.

#### Operación del sistema de EC

5 Una vez que el cartucho con capilares 100 y la llave de datos 500 se han acoplado al instrumento, el sistema de EC 200 lee la ID del cartucho y el número de corridas preprogramadas disponibles con el cartucho 100 a través del puerto E/S 400. El sistema de EC 200 puede emplear un algoritmo para determinar si al cartucho con capilares 100 le quedan suficientes corridas para completar el ciclo del proceso antes de iniciar la secuencia de la EC. De lo contrario, el sistema de EC 200 puede mostrar un mensaje de error y la secuencia se detiene. Si se determina que el cartucho con capilares 100 tiene suficientes corridas disponibles, se iniciará la secuencia de la EC y el sistema de EC hará un seguimiento del número de corridas. Al final del análisis, se calcula el número de corridas restantes y se envía a la llave de datos 500 para su almacenamiento.

15 El controlador 32 del instrumento puede configurarse para "autenticar" el cartucho 100 y realizar una verificación de integridad para determinar si el cartucho 100 concreto tiene las propiedades correctas (p. ej., composición química del gel, número de canales/capilares) para llevar a cabo el análisis de la muestra concreta. El instrumento puede confirmar también que el usuario pertenece a la clase de usuarios autorizada a utilizar el cartucho concreto. Además, el instrumento puede comunicar/registrar información relativa al uso del cartucho 100 (p. ej., historial de uso, secuencia/etapas del método/configuración de parámetros, ID del paciente, parámetros de prueba y quizá resultados de pruebas). Dicha información proporciona una actualización de la información almacenada del uso anterior del cartucho. La lectura y escritura posteriores pueden controlarse con respecto a los datos y la información discutidos anteriormente en relación con la llave de datos 500. El instrumento puede pasar por otras verificaciones para autenticar los protocolos de prueba que el usuario desea aplicar al cartucho concreto, para determinar si existen limitaciones o restricciones, como las mencionadas anteriormente.

25 En la operación del análisis por EC, el mecanismo de transporte 80 de la bandeja de manipulación de muestras, con una placa de 96 pocillos (8 x 12) 72 y una bandeja de tampón 70, se utiliza para introducir las muestras (o analitos) en cada capilar 140. El mecanismo de transporte X-Z 80 coloca una fila de pocillos portadores de muestra 73 de la placa de microtitulación 72 debajo de la fila de las puntas de los capilares 140 y sumerge las puntas en los pocillos. Al aplicar voltaje, por inyección electrocinética, una cantidad conocida de los analitos se desplaza al comienzo de la columna de separación 140. Después de la inyección, los analitos de la bandeja de muestras 72 pueden sustituirse por el tampón de corrida de la bandeja 70. Alternativamente, después de la inyección, el mecanismo de transporte 80 puede desplazar una fila de doce pocillos de la placa de titulación 72 para colocarla en posición debajo de los capilares 140 del cartucho 100 para sustituir a los doce pocillos que contenían los analitos.

35 Al aplicar alto voltaje a lo largo de la longitud total del capilar 140, se logra la separación de los analitos. A medida que los fragmentos se acercan al extremo de los capilares 140 y entran en la zona de detección, la energía luminosa de excitación (p. ej., de doce LED alimentados por fibras ópticas) se dirige a la zona de detección e ilumina los fragmentos migratorios. El esquema de detección puede ser escalonado en el tiempo como se describe en las patentes de los EE. UU n.ºs 6.828.567 y 6.870.165.

40 En preparación para la siguiente corrida con una muestra diferente, el gel usado de la corrida anterior se purga de los capilares aplicando presión al depósito para rellenar los capilares con gel nuevo. Las bandejas 70 contienen soluciones limpiadoras, recogida de residuos y muestras. El gel purgado se recoge en una de las bandejas 70 colocando las puntas de los capilares en una fila de pocillos de recogida de residuos en una de las bandejas. Las puntas de los capilares pueden limpiarse con agua o con una solución limpiadora colocando y sumergiendo las puntas de los capilares en dicha solución en los pocillos de la bandeja correspondiente. Cuando los capilares se han rellenado y están listos para la siguiente corrida, las puntas de dichos capilares se sumergen en las muestras reposicionando la bandeja 72. La secuencia de proceso mencionada anteriormente puede programarse como una de las funciones automatizadas del controlador 32. El mecanismo de interfaz 300 proporciona la interconexión de los elementos de soporte del sistema de EC 200 con el cartucho, como el alto voltaje, la presión de gas, la fuente de radiación de LED y la óptica de detección, como se describe anteriormente.

50 Una vez finalizado el análisis, el cartucho 100 puede retirarse y reutilizarse cuando sea necesario para otro análisis en un momento o fecha posterior. Si se contemplan condiciones de corrida diferentes, en su lugar puede usarse un cartucho diferente con diferentes atributos y propiedades. El mecanismo de la llave de datos de la presente invención llevará a cabo un seguimiento automático del uso de los diferentes cartuchos intercambiables, sin necesidad de que el usuario realice un seguimiento manual de los mismos.

55 Aunque la invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencia a los aspectos preferidos, los expertos en la técnica entenderán que pueden realizarse diversos cambios en la forma y los detalles sin apartarse del alcance y la enseñanza de la invención.

Por ejemplo, los mecanismos de interfaz pueden adaptarse para recibir cartuchos con capilares de otros diseños estructurales. A modo de ejemplo y no como limitación, el esquema de detección de la presente invención se describe en relación con electroforesis capilar y detección de fluorescencia inducida por radiación. Se entiende que la presente

5 invención también es aplicable a la detección de emisiones de radiación distintas de las emisiones de fluorescencia, incluidos otros tipos de radiación de emisión, como fosforescencia, luminiscencia y quimioluminiscencia, así como la detección basada en absorbanza de luz visible y UV. Además, si bien los canales de separación en los aspectos descritos están definidos por columnas o tubos cilíndricos, se entiende que los conceptos de la presente invención son igualmente aplicables a columnas o tubos de diversas secciones transversales (como secciones cuadradas, rectangulares o esencialmente semicirculares).

Por consiguiente, la invención descrita debe considerarse meramente como ilustrativa y su alcance limitado únicamente como se especifica en las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Un tubo capilar (22, 140), que comprende: un cuerpo tubular transparente longitudinal (802) que define un orificio central, y un recubrimiento sobre el cuerpo tubular, en donde el recubrimiento comprende un polímero y en donde el polímero comprende un material de fluoropolímero, caracterizado por que:
- 5 el polímero es un polímero duro transparente, el recubrimiento es un recubrimiento duro ópticamente transparente (800) que comprende el polímero duro transparente, y el recubrimiento duro ópticamente transparente sobre el cuerpo tubular permite la transmisión de luz entre el orificio y el exterior del revestimiento duro ópticamente transparente (800) a través del recubrimiento duro ópticamente transparente.
- 10 2. El tubo capilar según la reivindicación 1, en donde el revestimiento duro ópticamente transparente (800) y el cuerpo tubular (802) presentan un acoplamiento óptico estrecho para transmitir la luz emitida desde el orificio central a través del cuerpo tubular y el revestimiento duro.
3. Un cartucho para bioanálisis (100), que comprende: un cuerpo, al menos un tubo capilar (140) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2 soportado por el cuerpo, un depósito (28, 130) en comunicación de fluidos con el tubo capilar y una matriz de separación (34) formulada para el análisis electroforético contenida en el depósito.
- 15 4. El cartucho según la reivindicación 3, en donde hay una pluralidad de tubos capilares (140) soportados por el cuerpo del cartucho, cada uno cubierto por el recubrimiento duro ópticamente transparente (800), y en donde el depósito (130) es común a la pluralidad de tubos capilares.
5. Un sistema de bioanálisis, que comprende: una base (74), un cartucho según la reivindicación 3 o 4, una interfaz para el cartucho (300) soportada en la base e interconectada con el cartucho y un controlador (32) acoplado operativamente a la interfaz del cartucho para controlar las operaciones de la interfaz del cartucho.
- 20 6. El sistema de bioanálisis según la reivindicación 5, que comprende además un sistema de detección (922, 923, 924, 24) acoplado ópticamente a una zona de detección (30) de cada tubo capilar, en donde el sistema de detección incluye al menos radiación de excitación dirigida a la zona de detección o la detección de radiación emitida desde la zona de detección.
- 25 7. El sistema de bioanálisis según la reivindicación 6, en donde el sistema de detección (922, 923, 924, 24) comprende la detección de fluorescencia inducida por radiación.
8. El sistema de bioanálisis según la reivindicación 6 o 7, en donde las radiaciones de excitación y emisión están generalmente en el intervalo de 400 a 700 nm.
9. Un método de análisis bioanalítico, que comprende: proporcionar un cartucho (100) según la reivindicación 3 o 4, introducir una muestra en un extremo de cada tubo capilar (140), realizar la separación electroforética a lo largo de cada tubo capilar para separar la muestra en sus componentes y analizar los componentes separados.
- 30 10. El método según la reivindicación 9, en donde los componentes separados se analizan mediante un sistema de detección (922, 923, 924, 24) acoplado ópticamente a una zona de detección (30) de cada tubo capilar (140), en donde el sistema de detección incluye al menos radiación de excitación dirigida a la zona de detección o la detección de radiación emitida desde la zona de detección.
- 35 11. El método según la reivindicación 10, en donde el sistema de detección (922, 923, 924, 24) comprende detección de fluorescencia inducida por radiación.
12. El método según la reivindicación 10 u 11, en donde y las radiaciones de excitación y emisión están generalmente en el intervalo de 400 a 700 nm.
- 40 13. El sistema de bioanálisis según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde una muestra fluye a través del orificio central del cuerpo tubular (802) del tubo capilar (140), en donde el sistema de detección (922, 923, 924, 24) está ópticamente acoplado a la zona de detección (30) desde el exterior del revestimiento duro (800) y en donde la radiación emitida por la muestra se transmite desde el orificio a través del revestimiento duro hasta el sistema de detección por fuera del revestimiento duro.
- 45 14. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en donde una muestra fluye a través del orificio del cuerpo tubular (802) del tubo capilar (140), en donde el sistema de detección (922, 923, 924, 24) está acoplado ópticamente a la zona de detección (30) desde el exterior del revestimiento duro (800) y en donde la radiación emitida por la muestra se transmite desde el orificio a través del revestimiento duro al sistema de detección por fuera del revestimiento duro.

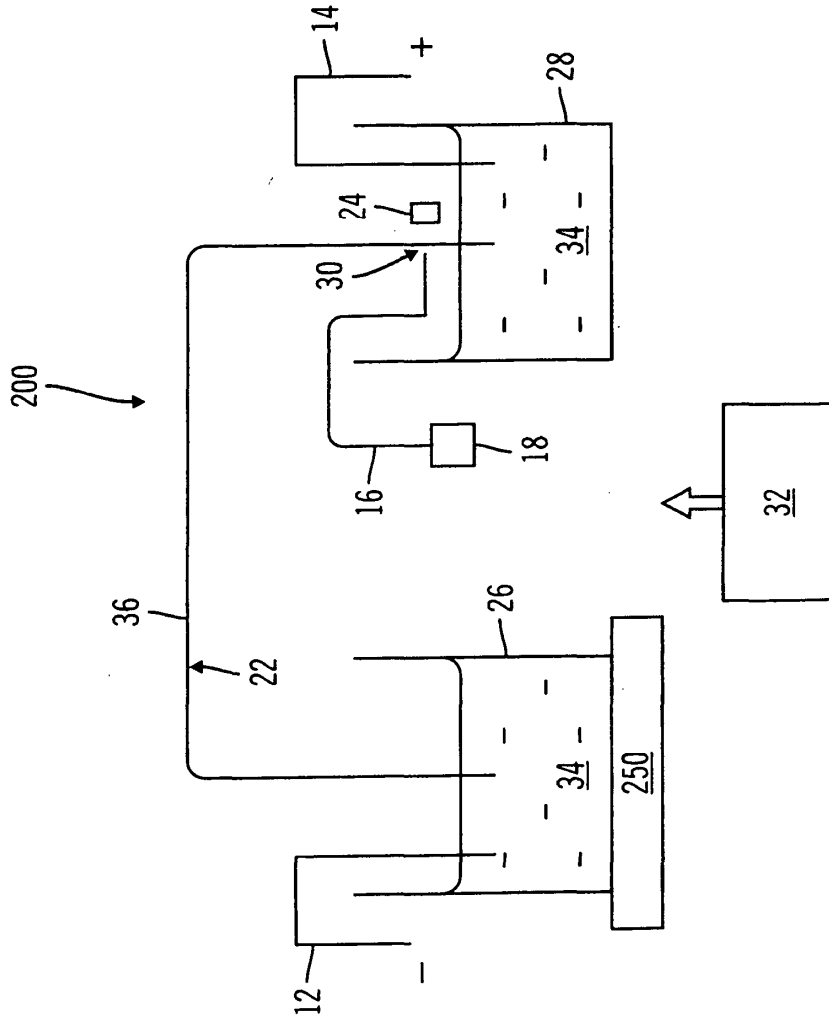


Figura 1

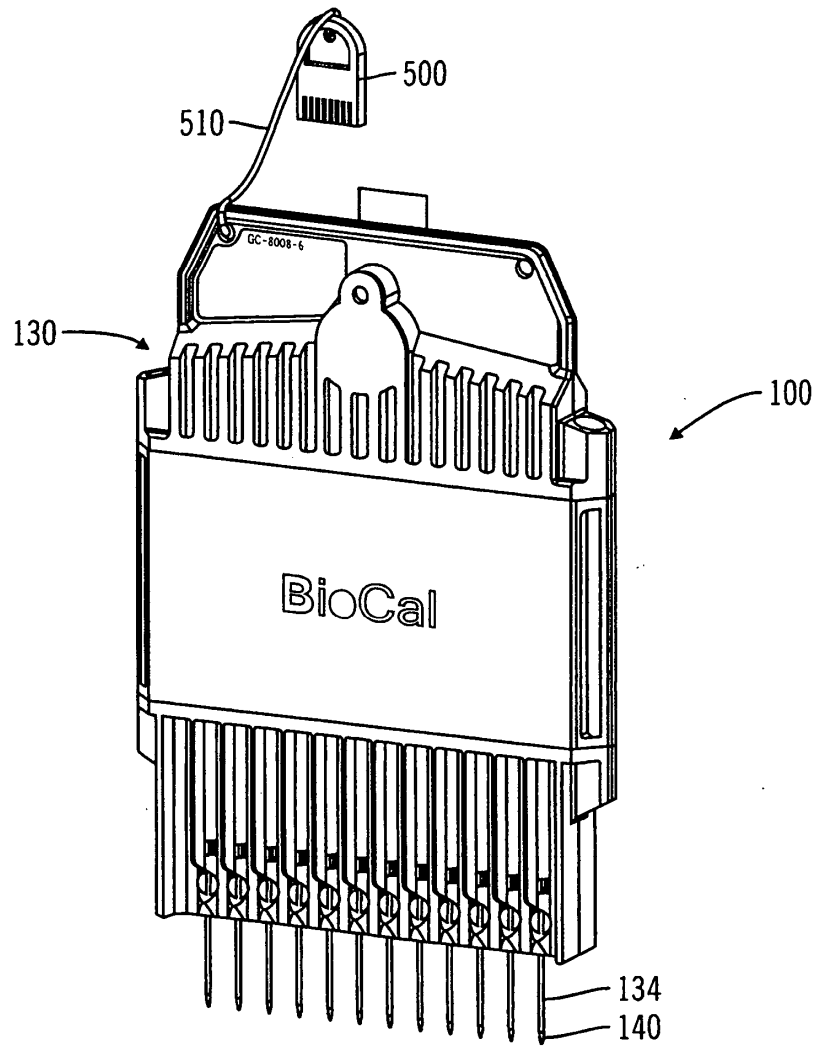


Figura 2

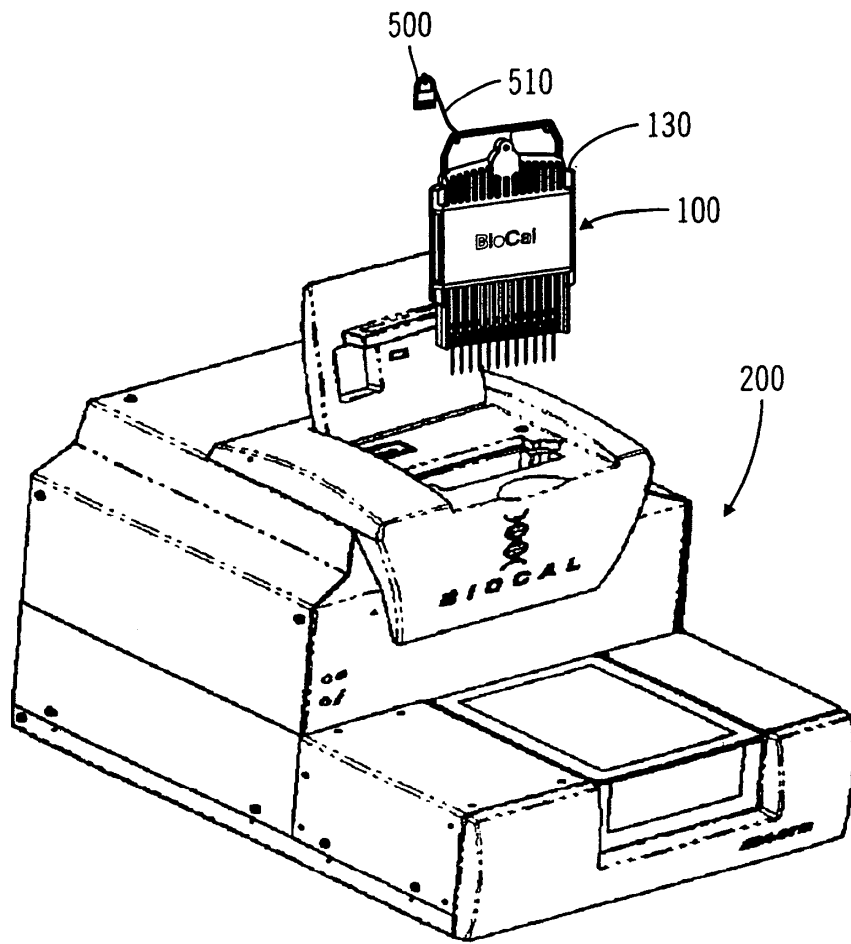


Figura 3

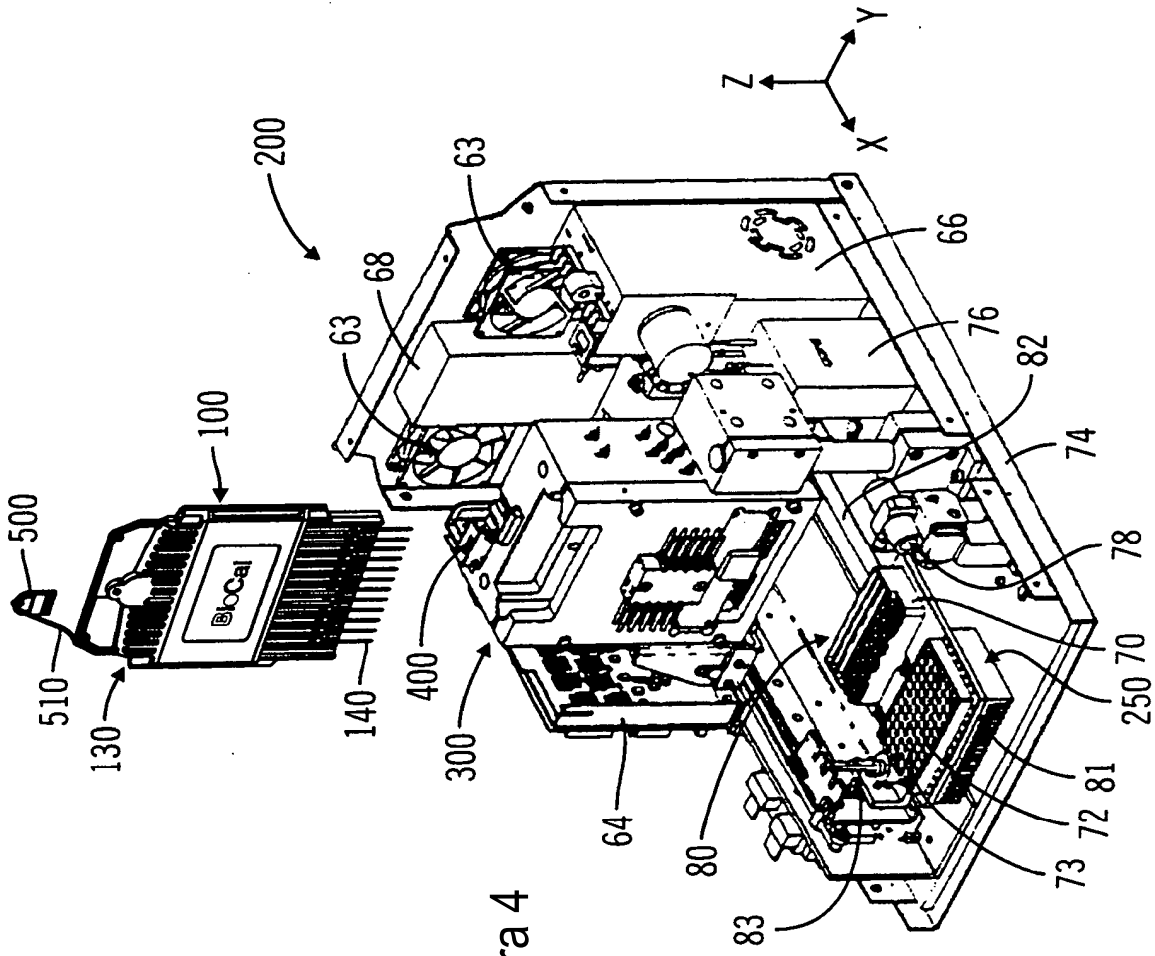


Figura 4

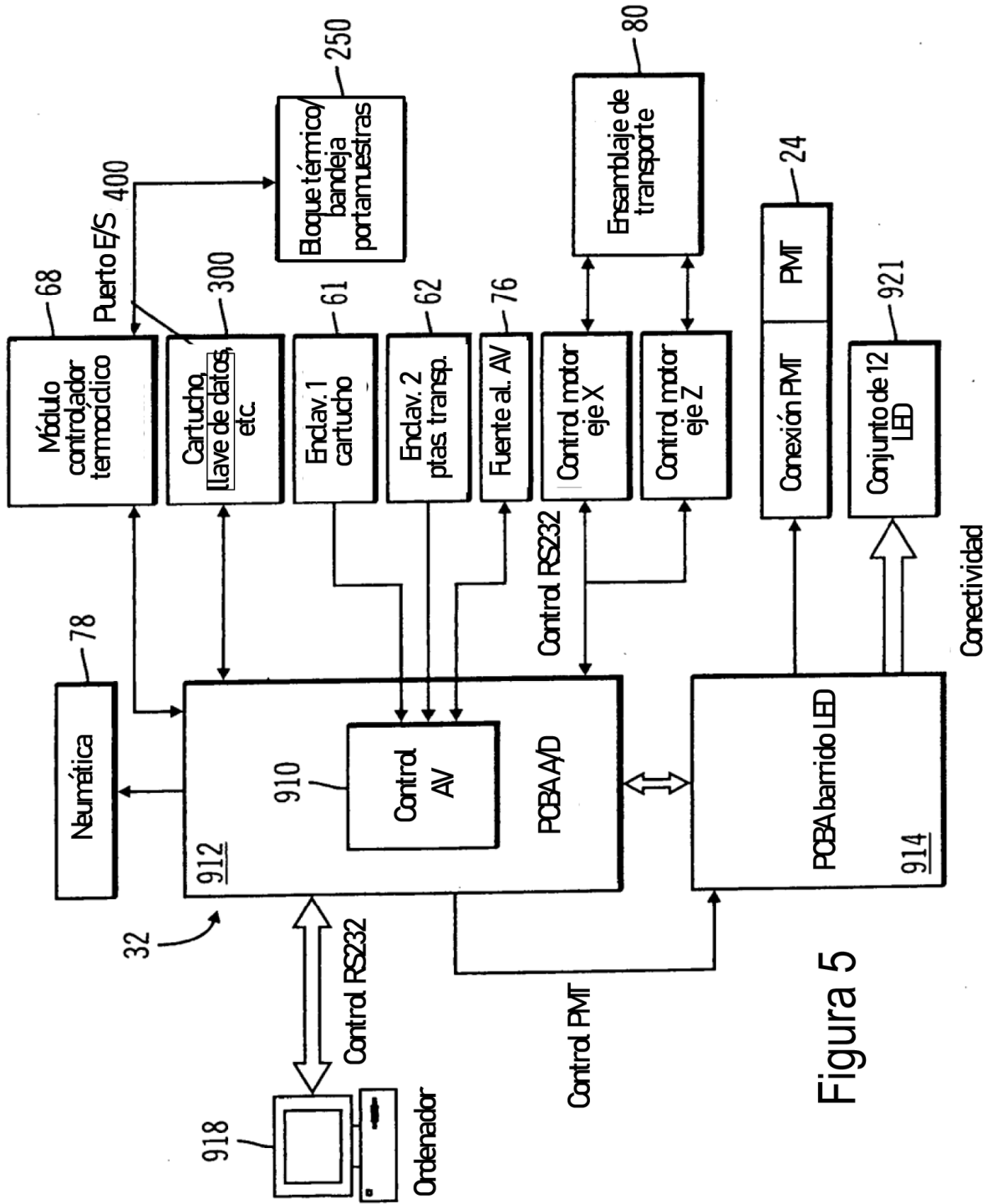


Figura 5

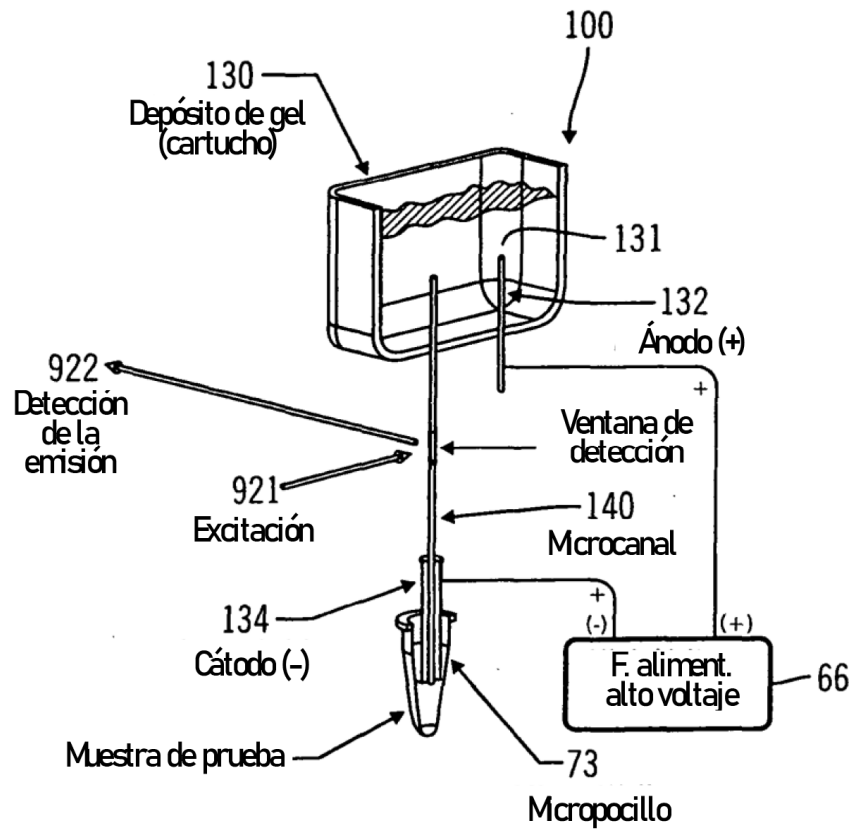


Figura 6

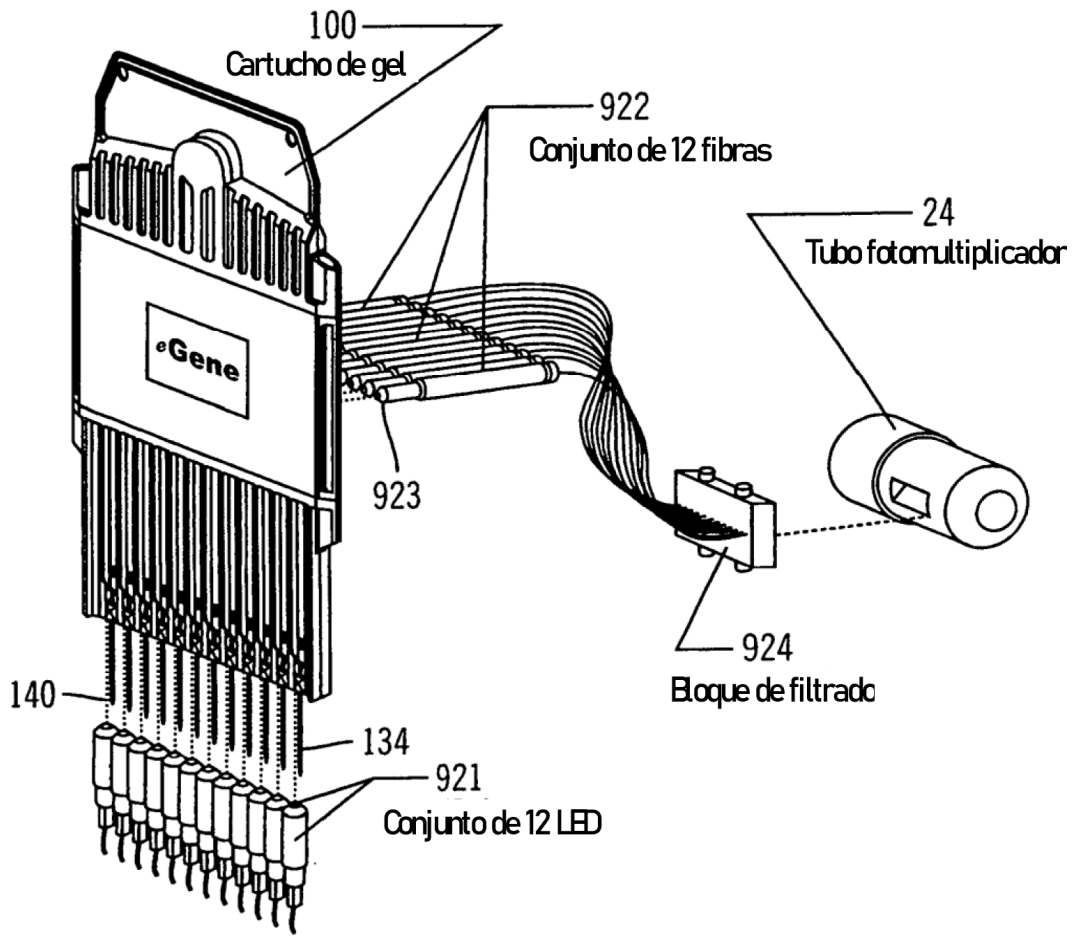


Figura 7

Figura 8

