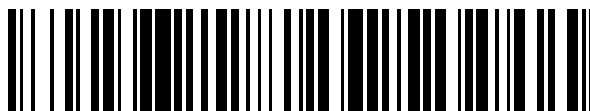


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 424**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2013 E 13175335 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **09.02.2022 EP 2821138**

54 Título: **Célula de flujo con sustancia seca integrada**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente modificada:
20.05.2022

73 Titular/es:

**THINXXS MICROTECHNOLOGY GMBH (100.0%)
Amerikastrasse 21
66482 Zweibrücken, DE**

72 Inventor/es:

**WEBER, LUTZ y
RÖSER, TINA**

74 Agente/Representante:

ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María

ES 2 704 424 T5

DESCRIPCIÓN

Célula de flujo con sustancia seca integrada

- 5 La invención se refiere a una célula de flujo con una sustancia seca dispuesta dentro de la célula de flujo en una cavidad, en donde la célula de flujo presenta las características de la reivindicación 1.

Las células de flujo microfluídicas, según se usan de forma creciente como “minilaboratorio” para el análisis y/o síntesis de fluidos, en particular en el diagnóstico, contienen sustancias de reacción en forma líquida y/o sólida, que se pueden
10 introducir en las células de flujo durante la fabricación de las células de flujo.

Para la introducción de un reactivo seco, un líquido reactivo a secar, es decir, un líquido portante con reactivo disuelto o suspendido en él se lleva al lugar en cuestión en una etapa de montaje, en la que todavía es accesible la zona prevista para la recepción del reactivo seco dentro de la célula de flujo, p. ej. de un canal o de una cámara. Luego todo
15 el componente, humedecido sólo en algunos lugares con el líquido de reactivo, de la célula de flujo se puede someter antes de su montaje posterior a un proceso de secado, el cual está conectado con frecuencia con un tratamiento térmico con la finalidad de la aceleración o se realiza como proceso de liofilización para el cuidado de los reactivos así como con vistas a la estabilidad y propiedades de resuspensión. De forma desventajosa el componente, cuyas dimensiones sobrepasan la mayoría de las veces ampliamente aquellas de la zona sólo a secar, ocupa mucho espacio
20 en una cámara de secado. Además, el tratamiento de secado puede menoscabar este componente de la célula de flujo misma, en particular componentes sensibles montados en él. Ante todo, la sustancia seca formada puede estar sometida luego en el curso del montaje final de la célula de flujo a menoscabos debido al contacto con aire, en particular humedad del aire, y calor de soldadura o la influencia durante el montaje de los adhesivos usados, mediante los que las zonas de canal correspondientes de una célula de flujo microfluídica se pueden cerrar herméticamente en muchos
25 casos. P. ej. del documento EP 2 198 964 B1 se desprende un procedimiento para la introducción de una sustancia seca en una célula de flujo, según se describe anteriormente.

Del documento DE 10 2008 021 364 A1 se desprende una célula de flujo, en la que las escotaduras en un sustrato están cerradas mediante una cobertura de lámina. La cobertura de lámina porta en el lado interior los reactivos secos
30 que están dirigidos hacia las cavidades formadas por las escotaduras cubiertas.

Una célula de flujo conocida por el documento WO 2012/154 306 A1 presenta una cavidad que es accesible tras la abertura de una escotilla o tapa y en un fondo presenta una depresión para la recepción de un elemento portante paralelepípedo. Durante el funcionamiento de la célula de flujo se puede cerrar la escotilla o tapa. Una célula de flujo
35 con las características del preámbulo de la reivindicación 1 se desprende respectivamente de los documentos WO 2011/051735 A2 y WO 2008/134462 A1.

La invención tiene el objetivo de crear una nueva célula de flujo microfluídica del tipo mencionado al inicio con una sustancia seca integrada, que se pueda fabricar más fácilmente que según el estado de la técnica sin menoscabo de
40 la sustancia seca u otros componentes de la célula de flujo debido al entorno de fabricación.

Este objetivo se consigue con las características de la reivindicación 1.

Ventajosamente la formación de la sustancia seca se puede realizar mediante secado de un líquido reactivo por
45 separada de toda la célula de flujo restante sobre un elemento portante, que sólo sirve para la recepción de la sustancia seca y permite la incorporación de la sustancia seca en la célula de flujo en una última etapa de montaje. Se suprimen los menoscabos de los componentes de la célula de flujo por el proceso de secado, así como los menoscabos del reactivo seco incorporado por las otras etapas de montaje en la célula de flujo. El elemento portante puede presentar esencialmente dimensiones más pequeñas que la célula de flujo, en donde las dimensiones del elemento portante se
50 orientan al tamaño de la zona portante del reactivo seco. Los revestimientos que favorecen la adherencia de la sustancia seca en su superficie portante pueden permanecer ventajosamente de forma delimitada sobre la superficie portante del elemento portante, de modo que se pueden excluir los menoscabos de conexiones pegadas o por soldadura debido a tales revestimientos.

55 Se entiende que la cavidad puede formar una red de canales para el transporte, para el análisis y/o síntesis de un fluido. En la célula de flujo se pueden insertar varios elementos portantes, eventualmente con diferentes sustancias secas.

En una forma de realización de la invención, la cavidad está delimitada mediante una escotadura en un sustrato en
60 forma de placa y una cubierta que cierra la escotadura, configurada de tipo lámina. El paso está formado en el sustrato

más grueso en comparación a la cubierta de tipo lámina.

Se entiende que el paso está guiado convenientemente hacia una superficie exterior de la célula de flujo, de modo que la introducción de la sustancia seca en la célula de flujo se puede realizar durante su fabricación en una última etapa de montaje.

El elemento portante está configurado preferentemente de modo que se puede conectar de forma separable y/o inseparable con la célula de flujo bajo cierre de la cavidad. Preferentemente el paso está adaptado en su forma a la forma del elemento portante. La estanqueidad a fluidos se puede conseguir en particular mediante soldadura y/o pegado, eventualmente también sólo mediante apriete mecánico del elemento portante en el paso.

De forma conveniente, correspondientemente el elemento portante llena completamente el paso al menos en sección transversal, en donde el elemento portante y el paso presentan en sección transversal preferentemente una forma circular ventajosa técnicamente en la fabricación.

En otra configuración de la invención, el elemento portante se estrecha hacia la cavidad, mientras que el paso se contrae. En particular sólo por el apriete mecánico del elemento portante en el paso se puede conseguir un cierre estanco de la cavidad en forma de un ajuste a presión.

Preferentemente el elemento portante presenta una sección que sobresale hacia fuera de la célula de flujo, que puede servir como parte de asido para la simplificación de una manipulación manual o montaje automatizado.

La sección que sobresale puede solapar exteriormente la célula de flujo a la manera de un cuello, en donde mediante el cuello se puede conseguir una obturación adicional de la cavidad.

En otra forma de realización el elemento portante se puede enroscar en el paso.

La superficie portante del elemento portante puede estar dispuesta al ras o decalada hacia atrás respecto a una superficie de pared adyacente de la cavidad. Alternativamente el elemento portante sobresale de la superficie de pared adyacente en la cavidad.

Convenientemente la superficie portante presenta una estructuración, revestimiento y/o modificación de superficie que favorece la adherencia de la sustancia seca.

El elemento portante y la superficie portante que porta el reactivo seco están hechos preferentemente de plástico. Alternativamente la superficie portante puede estar formada por un componente de superficie separado, conectado con el elemento portante restante, de vidrio, silicio, cerámica o metal y aplicarse mediante soldadura o pegado. Esto es ventajoso cuando son necesarias otras propiedades de superficie implementables mediante una superficie de plástico o revestimiento para la aplicación del reactivo seco.

Como reactivos secos entran en consideración entre otros sales, polvos, p. ej. para la lisis celular, perlas magnéticas y no magnéticas, encimas, anticuerpos, fragmentos de DNA, proteínas, reactivos PCR o alternativamente también células.

La invención se explica aún más a continuación mediante ejemplos de realización y los dibujos adjuntos que se refieren a estos ejemplos de realización. Muestran:

Fig. 1 una representación que explica la fabricación de células de flujo con sustancia seca integrada según el estado de la técnica,

Fig. 2 una representación que explica la fabricación de una célula de flujo,

Fig. 3 una representación en detalle de la célula de flujo mostrada en la fig. 2,

Fig. 4 ejemplos de realización para la disposición de una superficie portante de un elemento portante dentro de una cavidad de una célula de flujo,

Fig. 5 otros ejemplos de realización para elementos portantes,

Fig. 6 ejemplos de realización para superficies portantes de elementos portantes,

Fig. 7 una representación que explica la aplicación de una sustancia seca sobre los elementos portantes, y

Fig. 8 otro ejemplo de realización para un elemento portante según la invención.

5

Una célula de flujo mostrada por fragmentos en la fig. 1 comprende un sustrato 1 en forma de placa con una escotadura 2, que está cubierta por una lámina 4 pegada y/o soldada con el sustrato bajo formación de una cavidad 3. La cavidad 3 es parte de una red de canales de la célula de flujo no representada por lo demás en la fig. 1, en particular forma una zona de canal en la que se adhiere un reactivo seco 5 que presenta p. ej. anticuerpos en una pared de canal 6.

10

El reactivo seco 5 procede de un líquido reactivo 7 introducido mediante dispensado en la escotadura 2 que forma una zona de canal o cámara de la célula de flujo antes del cubrimiento de la escotadura 2 por la lámina 4. Para la formación del reactivo seco 5 a partir del líquido de reactivo 7 se ha sometido todo el sustrato 1 a un tratamiento térmico y/o liofilización.

15

De la fig. 2 se desprende un procedimiento para la introducción de una sustancia seca, en particular un reactivo seco 5, en una célula de flujo, en el que el reactivo seco 5 se aplica sobre una pieza portante separada 8. Una cavidad 3 en una célula de flujo, que puede ser p. ej. una zona de un canal mostrado en la fig. 3, presenta una abertura de paso 10, en la que el elemento portante 8 con una sección cónica 11, que presenta una superficie portante 13 para el reactivo seco 5, se puede insertar bajo cierre estanco a fluidos de la cavidad 3. La superficie portante 13 constituye tras el montaje una parte de la superficie de pared de la cavidad 3. Un fluido transportado o procesado en la cavidad 3 puede interaccionar con el reactivo seco, en particular el reactivo seco se puede disolver y resuspender por el fluido. Por otro lado, los componentes del fluido como células o analitos pueden interaccionar con el reactivo seco y/o fijarse en él, en tanto que el fluido fluye sobre la superficie portante, eventualmente varias veces con cambio de la dirección de transporte.

25

El elemento portante 8 encajado en la abertura de paso 10 puede estar pegado o soldado con el sustrato. Una sección 12 del elemento portante 8 que sobresale más allá de la abertura de paso 10 en el lado del sustrato 1 opuesto a la cavidad 3 sirve como parte de asido que facilita el montaje del elemento portante 8.

30

A diferencia del ejemplo que se refiere al estado de la técnica de la fig. 1, para la formación del reactivo seco 5 a partir del líquido reactivo 7 no se debe exponer todo el sustrato 1 a un secado como en el ejemplo de la fig. 1, sino sólo el elemento portante 8, lo que ahorra espacio en la cámara de secado. Los componentes principales de la célula de flujo, el sustrato 1 y la lámina 4 no están sujetos a ninguna exigencia por parte del proceso de secado y la sustancia seca 5 incorporada finalmente en la célula de flujo no está sujeta a ningún menoscabo por una fabricación que se realiza posteriormente de la célula de flujo bajo soldadura del sustrato 1 y lámina 4.

35

Según permite reconocer la fig. 3, en el canal 9 pueden estar presentes varias aberturas para la recepción de elementos portantes 8 con eventualmente diferentes reactivos secos 5 dispuestos sobre ellos. En el ejemplo de la fig. 3, el canal 9 en forma de meandro sirve para el desprendimiento de los reactivos secos 5 introducidos por los elementos portantes 8 mediante lavado recíproco.

40

El sustrato 1 y la lámina 4 de la célula de flujo están hechos preferentemente de un plástico, en particular ambos del mismo plástico, en donde para ello entran en consideración p. ej. PMMA, PC, PS, PEEK, PP, PE, COC y COP. El elemento portante 8 también puede ser preferentemente una pieza de plástico, que está hecha en particular del mismo plástico que el sustrato. La fabricación del sustrato y de los elementos portantes de plástico se realiza convenientemente mediante moldeo por inyección.

45

Según se puede deducir de la fig. 4, la superficie portante 13 del elemento portante 8 que recibe el reactivo seco 5 puede estar al ras respecto a la superficie de pared 14 adyacente de la cavidad 3 o decalada hacia atrás respecto a esta superficie de pared. Según la fig. 4b el elemento portante 8 con la superficie portante 13 también puede sobresalir en la cavidad 3. Esto puede ser ventajoso para generar turbulencias localmente mediante modificación abrupta de la sección transversal del canal en un flujo laminar presente normalmente en los microcanales y/o conseguir un aumento de la velocidad de flujo del fluido en la zona de canal, en la que está introducido el elemento portante 8, mediante reducción de la sección transversal de canal, p. ej. mediante aceleración y control de un desprendimiento del reactivo seco. Además se produce la ventaja de que en el caso de un montaje automatizado del elemento portante 8 se pueden compensar las tolerancias de montaje y/o de los componentes.

50

55

La fig. 5 muestra otras formas de realización para los elementos portantes 8, que pueden estar configurados según la fig. 5a de forma cilíndrica y según la fig. 5b de forma cilíndrica con un cuello que ase por detrás el sustrato 1.

60

La fig. 5c muestra una forma de realización de un elemento portante cilíndrico 8 que presenta un cuello 13 con una rosca exterior 16, que engrana en una rosca interior en la abertura de paso en cuestión. Ventajosamente en la última forma de realización, el elemento separador 8 se puede separar de la célula de flujo, siempre y cuando adicionalmente a la conexión roscada no se realice un pegado o soldadura con el sustrato 1. La capacidad de separación puede ser ventajosa cuando el reactivo seco se debe separar de nuevo de la célula de flujo tras la interacción con el fluido y someterse a otro análisis.

La fig. 5e muestra un elemento portante 8 separable de la célula de flujo con una parte de asido 17 prolongada. El elemento portante 8 se puede introducir por presión en la abertura de paso en cuestión en el sustrato 1 bajo cierre estanco a fluidos de la cavidad 3.

Mediante un borde elevado 25 según la fig. 5f en el sustrato 1, cuyo espesor está típicamente entre 0,5 y 3 mm, se puede mejorar el guiado del elemento portante 8.

La fig. 5d muestra un elemento portante 8 con una sección cónica y un cuello 15 que sobresale de una abertura de paso, que está obturado frente al sustrato 1 por una junta de estanqueidad anular 18.

Los elementos portante simétricos en rotación pueden presentar una marca que permite introducir los elementos portantes en una posición de giro deseada en el paso.

De la fig. 6 se desprenden ejemplos de realización de elementos portantes 8 con superficies portantes 13 configuradas diferentemente, en donde la fig. 6a presenta un elemento portante con una depresión 19 para la recepción de un reactivo seco 5. En el ejemplo de realización de la fig. 6b se forma una superficie portante 13 con una pluralidad de depresiones de recepción en forma de ranuras 20 dispuestas de tipo cruz con dimensiones de sección transversal típicas de 0,01 x 0,01 mm² hasta 1 x 1 mm² para un reactivo seco. Ventajosamente se puede aumentar por ello la superficie de la superficie portante 13 de modo y manera sencillos, de modo que se recibe una mayor cantidad de reactivo seco 5 en las mismas dimensiones del elemento portante 8 y/o la sustancia seca se puede secar más homogéneamente que una gran gota sobre una superficie portante lisa y/o la microestructura de la superficie portante 13 formada por las depresiones de recepción 20 puede generar turbulencias durante el paso a través del fluido, las cuales influyen de forma positiva en el comportamiento de desprendimiento. Las ranuras también podrían presentar alternativamente la forma de círculos concéntricos. La fig. 6c muestra una superficie de recepción con un elemento poroso 21 aplicado sobre la superficie portante mediante apriete, pegado o soldadura, en el que se puede depositar una sustancia seca. Ventajosamente el elemento poroso 21 forma una superficie aumentada para la recepción del reactivo seco 5.

La fig. 6d presenta un elemento portante con una superficie portante tratada, en donde el tratamiento puede ser p. ej. un tratamiento químico en húmedo, un tratamiento por plasma o tratamiento de corona. Alternativamente el tratamiento puede conducir p. ej. mediante polimerización por plasma o mediante proceso PVD a un revestimiento 22, p. ej. un revestimiento de vidrio o metal.

Un componente portante mostrado en la fig. 6e está configurado en dos piezas con un componente de superficie separado 26. El componente de superficie 26, que forma la superficie portante, está hecho p. ej. no como preferentemente el componente portante restante de un plástico, sino de vidrio, silicio, metal o cerámica. Cuando la funcionalización, es decir, la aplicación de reactivo seco sobre la superficie portante, requiere tales materiales, como es el caso p. ej. en tecnologías de análisis basados en proteínas (p. ej. anticuerpos) o ácidos nucleicos, entonces se limita el uso de estos materiales, que con frecuencia son claramente mas caros que el plástico, ventajosamente sólo sobre una zona de superficie, en donde entran en consideración las dimensiones de 0,5 x 0,5 mm hasta 5 x 5 mm y espesores entre 0,1 y 1 mm. El componente de superficie 26 se puede fijar sobre el componente portante restante mediante apriete o mediante pegado o soldadura.

Para la aplicación de la sustancia seca 5 se pueden mecanizar simultáneamente una pluralidad de elementos portantes 8, en tanto que los elementos portantes 8 se disponen en la sección 7a sobre sección portante 24 que presenta una serie de agujeros 23. En la siguiente etapa del procedimiento 7b se genera simultáneamente una capa 22 que mejora la adherencia de una sustancia sobre todas las superficies portantes 23 de los elementos portantes 8. A este respecto, el revestimiento también puede cubrir otras zonas de superficie del elemento portante 8, no previstas para la aplicación del reactivo seco 5. En las etapas de procedimiento 7c y 7d se realiza un tratamiento de secado tras la aplicación de un líquido de reactivo 7 sobre las capas 22, de modo que sobre las capas 22 se deposita la sustancia seca 5 que se adhiere en ellas. Finalmente, en la etapa 7e se puede retirar los elementos portantes 8 terminados, provistos de una sustancia seca 5 para el procesamiento.

Ahora se hace referencia a la fig. 8, donde se muestra otro ejemplo de realización para un elemento portante 8.

5 El elemento portante 8 presenta una superficie portante para una sustancia seca 5, que está formada por una membrana 27. Esta membrana puede estar conectada en una pieza con el elemento portante 8 restante o estar formado por un componente separado, conectado con el elemento portante restante, que está hecho preferentemente del mismo plástico que el elemento portante restante.

10 En el caso de la transparencia de la membrana 27, que cierra una abertura de paso 28 formada en el elemento portante 8 en un extremo, existe la posibilidad de controlar la interacción del fluido con la sustancia seca 5 según la fig. 8b mediante detección óptica. Además, según la fig. 8c existe la posibilidad de formar la membrana 27 de forma convexa o cóncava mediante aplicación de presión neumática o mecánica. En particular mediante el abombamiento alternativo hacia dentro y hacia fuera de la membrana 27 se puede estimular la interacción entre la sustancia seca y el fluido y conseguirse tanto una resuspensión mejorada de las sustancias secas como también fijación mejorada de los
15 componentes del fluido sobre las sustancias secas, p. ej. en el caso de anticuerpos.

REIVINDICACIONES

1. Célula de flujo microfluídica, con un sustancia seca (5) dispuesta dentro de la célula de flujo en una cavidad (3) para la interacción con un fluido situado en la cavidad (3), en donde la cavidad (3) está delimitada por una escotadura (2) en un sustrato (1) y una cubierta (4) que cierra la escotadura (4) y en donde la célula de flujo comprende un elemento portante separado (8) con una superficie portante (13) para la sustancia seca (5) prevista para la disposición adyacente a la cavidad (3), en donde en la cavidad (3) desemboca un paso (10) guiado hacia una superficie exterior de la célula de flujo, abierto hacia fuera, y que el elemento portante separado (8) se puede insertar desde fuera en el paso (10) bajo el cierre de la cavidad (3) y con disposición de la superficie portante (13) adyacente a la cavidad (3)

caracterizada porque

la superficie portante (13) para la sustancia seca (5) está formada por una membrana (27), que termina una abertura de paso (28) en el elemento portante (8) hacia la cavidad (3).

2. Célula de flujo según la reivindicación 1,

caracterizada porque

la cavidad (3) forma una red de canales (9) para el transporte, para el análisis y/o síntesis de un fluido y **porque** eventualmente se pueden usar varios elementos portantes (8) semejantes en varios pasos (10).

3. Célula de flujo según la reivindicación 1 o 2,

caracterizada porque

la escotadura (2) está formada en un sustrato (1) en forma de placa y está cerrada por una cubierta (4) de tipo lámina y **porque** el paso (10) está formado en el sustrato en forma de placa.

4. Célula de flujo según la reivindicación 3,

caracterizada porque

el paso (10) está guiado hacia una superficie de placa del sustrato (1) en forma de placa.

5. Célula de flujo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,

caracterizada porque

el elemento portante (8) se puede conectar de forma separable y/o inseparable con la célula de flujo bajo el cierre estanco a fluidos de la cavidad (3).

6. Célula de flujo cualquiera una de las reivindicaciones 1 a 5,

caracterizada porque

el elemento portante (8) llena el paso (10) al menos en la sección transversal, en donde preferentemente el elemento portante (8) y el paso (10) son circulares en la sección transversal y el elemento portante (8) se estrecha hacia la cavidad (3) y el paso se contrae hacia la cavidad.

7. Célula de flujo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,

caracterizada porque

el elemento portante (8) presenta una sección (12; 15; 17) que sobresale hacia fuera de la célula de flujo, en donde eventualmente la sección engrana por detrás en la célula de flujo en el lado exterior a la manera de un collar (15).

8. Célula de flujo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7,

caracterizada porque

la superficie portante (13) del elemento portante (8) está dispuesta al ras o decalada hacia atrás respecto a una superficie de pared (14) adyacente de la cavidad (3) o **porque** el elemento portante (8) sobresale de la superficie (14) adyacente de la cavidad (3) en la cavidad (3).

9. Célula de flujo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8,

caracterizada porque

10

la sustancia seca se adhiere en la superficie portante (13) y la superficie portante (13) presenta preferentemente una estructuración (19-21), capa (22) y/o modificación de superficie que favorecen la adherencia.

10. Célula de flujo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9,

15

caracterizada porque

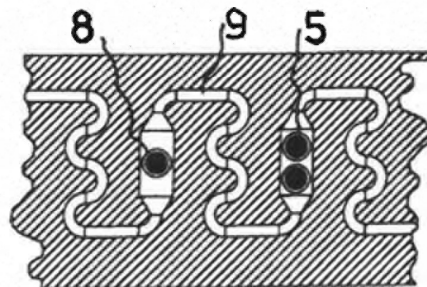
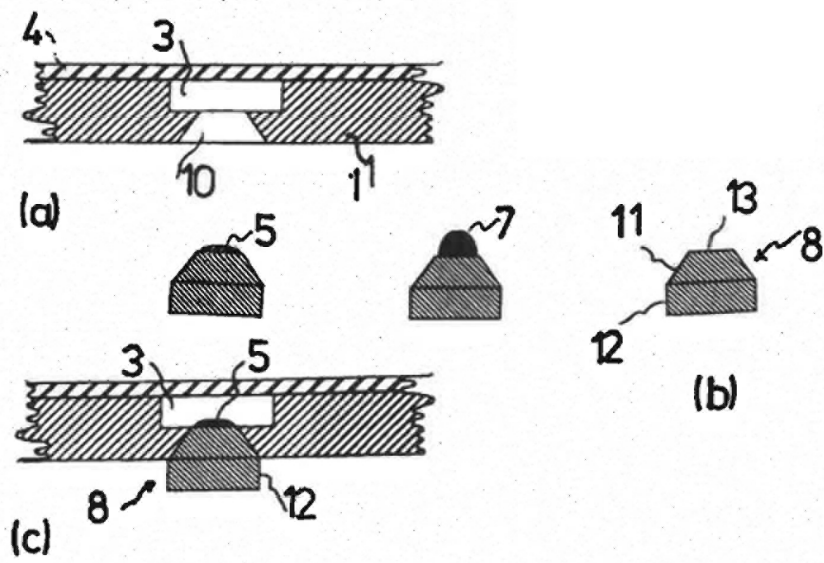
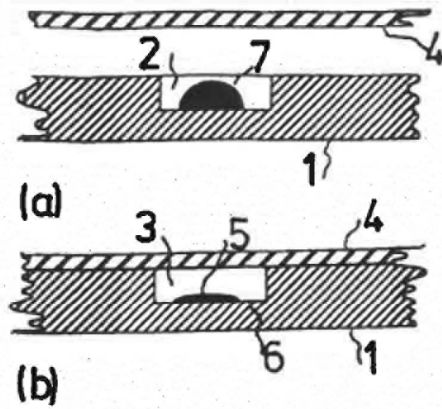
la superficie portante (13) para la sustancia seca (5) está formada por un componente separado (21; 26) conectado con el elemento portante (8) restante y distinto en el material del elemento portante (8) restante.

20

11. Célula de flujo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10,

caracterizada porque

25 la membrana (27) es transparente.



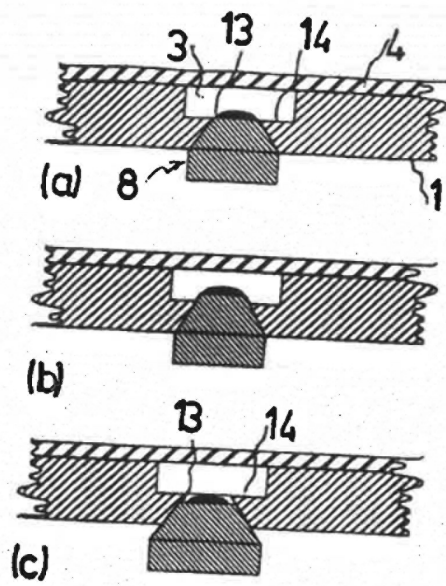


FIG. 4

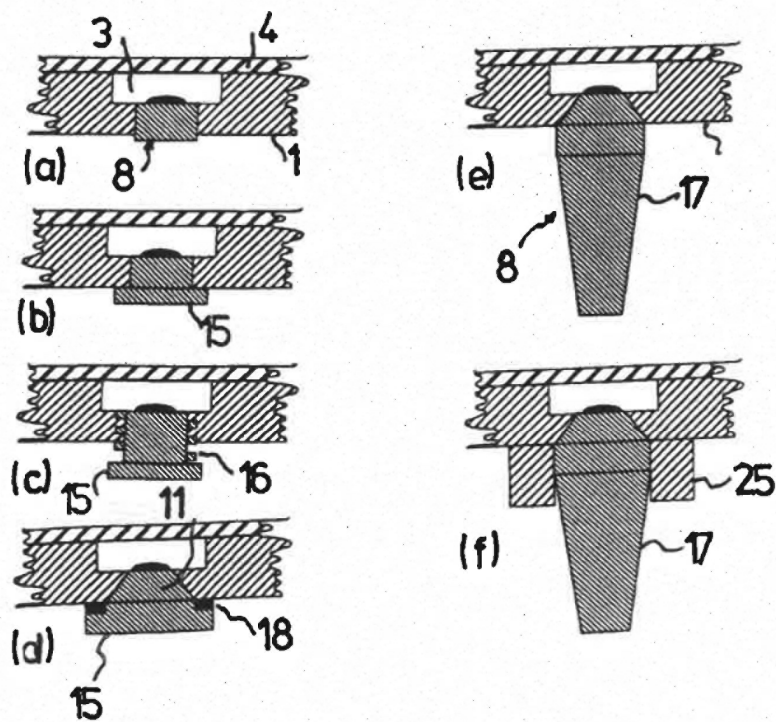


FIG. 5

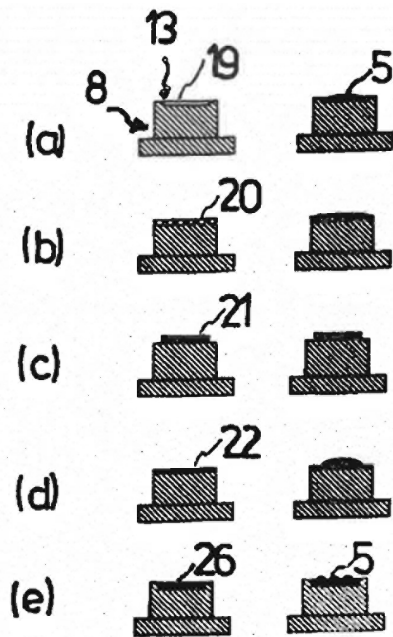


FIG.6

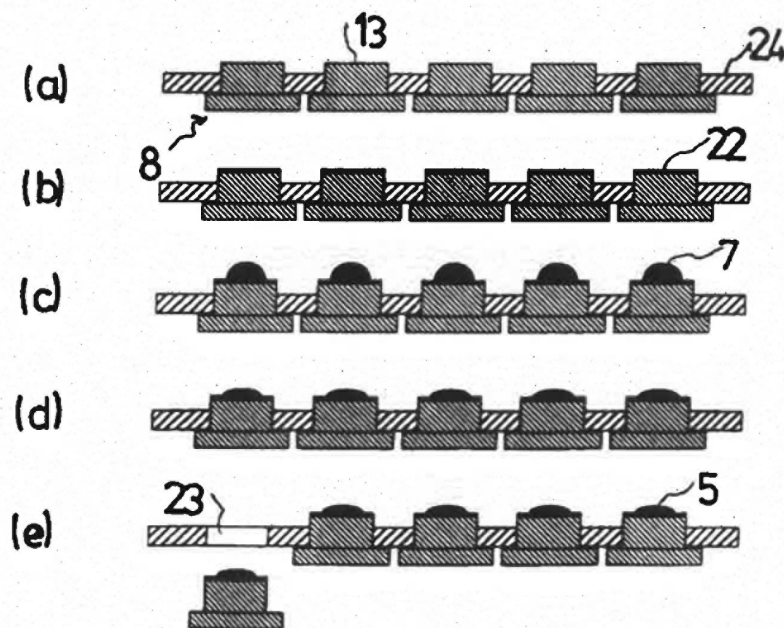


FIG.7

