



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 275 017**

51 Int. Cl.:  
**G01N 35/00** (2006.01)  
**G01N 33/543** (2006.01)  
**B03C 1/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02787585 .5**  
86 Fecha de presentación : **07.11.2002**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1446668**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **18.08.2004**

54 Título: **Dispositivo y procedimiento para el tratamiento de partículas magnéticas.**

30 Prioridad: **19.11.2001 DE 101 56 790**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.06.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.06.2007**

73 Titular/es: **chemagen Biopolymer-Technologie AG.**  
**Arnold-Sommerfeld-Ring 2**  
**52499 Baesweiler, DE**

72 Inventor/es: **À Brassard, Lothar**

74 Agente: **Cañadell Isern, Roberto**

ES 2 275 017 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

Dispositivo y procedimiento para el tratamiento de partículas magnéticas.

La invención se refiere a dispositivos y procedimientos para el tratamiento de partículas magnetizables o atraíbles magnéticamente (partículas magnéticas). Se refiere en particular a partículas magnéticas que presenten propiedades de enlace específicas para determinadas sustancias, y que se emplean para la separación de estas sustancias de mezclas complejas.

En el estado de la técnica se han descrito los siguientes dispositivos y procedimientos:

La patente EP 0 589 636 A1 describe un dispositivo para el tratamiento de partículas magnéticas, que comprende un vaso dispuesto entre dos imanes desplazables en dirección vertical. Los imanes se desplazan conjuntamente.

La patente US 5,705,062 describe un dispositivo con un sistema de imanes rígido, pero cuyos ejes polares están volcados 45° con relación al eje longitudinal del vaso de reacción. El vaso de reacción propiamente dicho se lleva mediante un movimiento de giro dentro del sistema de imanes.

La patente US 6,150,182 describe un dispositivo con un imán anular desplazable en dirección vertical. Mediante el giro del vaso de reacción se aprovecha allí además la fuerza centrífuga con el fin de inmovilizar las partículas en la pared del vaso.

La patente US 6,187,270 describe un dispositivo en el que se sitúa un imán lateralmente con respecto al vaso de reacción, y se puede desplazar verticalmente.

En todas las solicitudes antes citadas se provoca la resuspensión o separación de las partículas magnéticas en un nuevo disolvente, después de retirar los imanes mediante el movimiento del vaso de reacción o por lavado.

La patente EP 0 905 520 A1 describe un dispositivo en el que el lavado y la separación de las partículas magnéticas se realiza en varias etapas con el movimiento de las partículas por medio del disolvente, mediante un sistema de imanes rotativo.

El método de separación de sustancias mediante el empleo de partículas magnéticas tiene unas aplicaciones muy diversas, ya que esta clase de partículas magnéticas se pueden equipar con las propiedades de enlace más diversas. Por ejemplo se pueden emplear para el aislamiento específico por secuencias de ácidos nucleicos, o en ensayos inmunológicos basados en enlace de antígeno-anticuerpo.

Los procedimientos que están basados en la separación magnética mediante el empleo de partículas magnéticamente atraíbles, que formen enlaces específicos, están cobrando cada vez mayor importancia en el campo de la preparación de muestras para investigaciones de diagnóstico o analíticas. Esto se refiere especialmente a procedimientos automáticos, ya que de este modo se pueden analizar gran número de muestras en un tiempo muy corto. De este modo se crean las condiciones necesarias para una selección eficaz con un alto rendimiento de muestras. Esto tiene enorme importancia, por ejemplo para aplicaciones en estudios de genética molecular, o en el campo del diagnóstico genético, ya que un manejo puramente manual de un número muy grande de muestras prácticamente no se puede dominar.

El principio básico de la separación magnética de

sustancias de mezclas complejas es sumamente simple. Las partículas magnéticas (partículas magnetizables o atraíbles magnéticamente) se funcionalizan de forma específica para el proceso de separación previsto, es decir que mediante un tratamiento químico se dotan de propiedades de enlace específicas para las sustancias de destino que se trata de separar. Para determinadas aplicaciones que surgen con frecuencia se pueden obtener esta clase de partículas magnéticas funcionalizadas también de forma comercial. El tamaño de esas partículas magnéticas está por lo general en el orden de magnitud de aprox. 0,05 hasta 500  $\mu\text{m}$ .

En un primer paso ("paso de enlace") del procedimiento de separación conocido, se añaden las partículas magnéticas funcionalizadas citadas en un vaso de reacción, a una mezcla (de partida) que se trata de depurar, que contiene la o las sustancias de destino en un líquido que favorece el enlace de las moléculas de la sustancia de destino con las partículas magnéticas (tampón de enlace o líquido de enlace). De este modo se produce un enlace selectivo de la o las sustancias de destino presentes en la mezcla con la/las partícula(s) magnética(s) (= paso de enlace). Dado que la reacción de enlace por lo general transcurre en función del tiempo, es preciso que el paso de enlace se realice a lo largo de un período de tiempo determinado, con el fin de conseguir un enlace lo más completo posible de las moléculas de la sustancia de destino presentes con las partículas magnéticas. Lo problemático es, que debido a las fuerzas gravimétricas, las partículas magnéticas tienden a sedimentarse. Por este motivo se perjudica el rendimiento del enlace de las moléculas de los grupos de destino a las partículas magnéticas, principalmente debido a la difusión limitada.

A continuación, y mediante la aplicación de fuerzas magnéticas, o de un campo magnético, por ejemplo mediante un imán permanente, estas partículas magnéticas se inmovilizan (de forma reversible) en un punto de la pared interior del vaso de reacción, donde por lo general forman un "pellet".

A continuación se separa el líquido que sobrenada y se desecha, por ejemplo mediante aspiración o decantación. Puesto que las partículas magnéticas están inmovilizadas de la forma citada, se evita en gran medida que estas partículas se separen junto con el sobrante.

Después de este paso de enlace sigue por lo general un (o varios) paso(s) de lavado, en el que el (los) pellet(s) de las partículas magnéticas se resuspende(n) en un líquido de lavado adecuado, y se mezcla(n) con éste. El líquido de lavado y las condiciones de lavado se eligen de tal manera que no se perjudique el enlace específico de la sustancia de destino a las partículas magnéticas. De este modo se provoca mediante el lavado, la separación de sustancias con enlace no específico, y en última instancia se aumenta la pureza de la sustancia de destino que se trata de separar. Tal como se ha descrito anteriormente para el paso de enlace, se separa y desecha también después del (de los) paso(s) de lavado, el sobrante (es decir el líquido de lavado), después de inmovilizar las partículas magnéticas.

En el paso de elución siguiente al paso o pasos de lavado, las partículas magnéticas inmovilizadas en forma de pellet se vuelven a resuspender de nuevo. Para ello se emplea un líquido de elución o un tampón de elución que sea adecuado para abrir el enlace entre la/las sustancia(s) de destino y las partículas magnéticas, de manera que las moléculas de la sustancia de

destino se liberen de las partículas magnéticas, y se puedan separar con el líquido de elución. Durante la separación del líquido de elución se inmovilizan las partículas magnéticas como se ha descrito antes.

Las composiciones de los líquidos de enlace, de lavado y de elución empleados en este procedimiento de separación son conocidas para el especialista, o se pueden determinar caso por caso mediante sencillos ensayos previos.

El proceso de resuspensión de las partículas magnéticas inmovilizadas (pellet de partículas magnéticas) influye de manera decisiva en la pureza y el rendimiento de las sustancias de destino que se trata de separar (del producto de separación).

Si durante el lavado, las partículas magnéticas sólo se resuspenden de forma insuficiente y quedan atrás aglomerados de partículas, esto tiene como consecuencia que el lavado es ineficaz, y la separación deseada de las impurezas de enlace no específico no tiene lugar o no lo es en medida suficiente. En este caso la pureza de las sustancias de destino o del producto de separación es de calidad inferior.

Si durante el paso de elución las partículas magnéticas no se resuspenden del todo o sólo de forma insuficiente, la consecuencia es que la elución solamente transcurre de forma incompleta, por lo que sólo se separa de las partículas una parte de las sustancias de destino enlazadas con las partículas magnéticas, mientras que otra parte sigue enlazada con ellos, y no pasa al líquido de elución. Por esta razón se reduce más o menos el rendimiento, lo que resulta especialmente inconveniente si las sustancias de destino que se trata de separar solamente están contenidas en concentraciones muy reducidas en la mezcla de partida que se investiga.

Resulta especialmente inconveniente, si debido a una resuspensión insuficiente durante el lavado y durante la elución, disminuyen tanto la pureza como el rendimiento del producto que se trata de separar.

El proceso de resuspensión resulta especialmente problemático si el desarrollo antes descrito del procedimiento de separación se lleva a cabo mediante dispositivos automatizados, que deberían permitir un alto rendimiento de muestras. La resuspensión se dificulta adicionalmente por el hecho de que los volúmenes de muestras o los vasos de reacción empleados son muy pequeños (miniaturización). Además, para garantizar un alto rendimiento de muestras, la resuspensión debe tener lugar dentro de un período de tiempo lo más corto posible.

La resuspensión se puede provocar por ejemplo pipetando y repipetando varias veces el líquido situado encima del pellet de partículas magnéticas, hasta que se descomponga el pellet y las partículas estén distribuidas en el líquido. Ahora bien, para este proceso se consumen puntas de pipeta desechables adicionales, lo que da lugar a un notable incremento de costos, a la vista del gran número de muestras.

Otra posibilidad conocida consiste en introducir en los vasos de reacción elementos agitadores en movimiento (p. ej. rotativos), como por ejemplo varillas de imán permanente, provocando de esta manera la descomposición de los pellets y la mezcla y resuspensión. Para unos volúmenes de muestra muy reducidos, tales como se emplean en el procedimiento de selección de alto rendimiento, este método de resuspensión solamente resulta adecuado condicionalmente, ya que el elemento agitador que hay que introducir exige un

espacio adicional. Además, la introducción y subsiguiente retirada de los elementos agitadores citados puede dar lugar a pérdidas de material de la muestra o a contaminaciones, si no se toman las contramedidas correspondientes.

La resuspensión además se puede provocar de forma conocida mediante vibraciones o por medio de un agitador. Ahora bien, esto presenta el inconveniente de que se necesitan aparatos adicionales (factor de costos), y que para este proceso se necesitan operaciones adicionales y tiempo adicional, por ejemplo para colocar las muestras en el agitador y después volver a sacarlas. Este método es además muy poco adecuado, especialmente cuando se trata de volúmenes de reacción muy reducidos, para resuspender por ejemplo un pellet de partículas magnéticas.

Por ese motivo existía el objetivo de facilitar dispositivos y procedimientos para el tratamiento de partículas magnéticas que en los procedimientos de separación magnéticos de la clase descrita permitieran una resuspensión más eficaz y más rápida de las partículas magnéticas pelletizadas o inmovilizadas, especialmente durante los pasos de lavado y elución, y que permitieran una realización más eficaz del paso de enlace, mientras se tratan de evitar los inconvenientes antes citados así como otros inconvenientes de métodos conocidos.

La solución de estos objetivos se posibilita mediante dispositivos conforme a la reivindicación 1, así como con los procedimientos descritos en las reivindicaciones 13 y 14, así como por las formas de realización preferentes de estos dispositivos o procedimientos que se describen en las sub-reivindicaciones dependientes.

La invención se explica a continuación con mayor detalle sirviéndose de las representaciones esquemáticas de las Figuras 1 y 2. Estos dibujos tratan de mostrar simplemente el principio de funcionamiento, y no deben entenderse como limitación a las formas de realización presentadas.

La Figura 1 o la Figura 2 muestran respectivamente una representación esquemática en sección (longitudinal) de los dispositivos objeto de la presente invención.

De acuerdo con la invención, un dispositivo para el tratamiento de partículas (3) magnetizables o atraíbles magnéticamente, que estén presentes en un líquido, comprende un soporte (1) para uno o varios vasos de reacción (2) con el líquido que contiene las partículas (3), al menos dos imanes permanentes (10, 20) dispuestos de forma móvil y una unidad de accionado (4) para mover los imanes permanentes (10, 20).

Los imanes permanentes (10, 20) están dispuestos por parejas y enfrentados entre sí, desplazables hacia arriba y hacia abajo en dirección vertical (flechas a, b).

La separación entre los dos imanes permanentes (10, 20) de cada pareja está dimensionada o ajustable de tal manera que entre ellos se pueda posicionar un vaso de reacción (2). La "disposición enfrentada" citada incluye también aquellas disposiciones en las que los imanes no estén enfrentados exactamente sobre una línea (180°); más bien este ángulo puede ser también inferior a 180° (aprox. 180° hasta 120°), o los dos imanes permanentes pueden estar dispuestos de calados lateralmente entre sí con relación al vaso de reacción situado entre medias.

Los dispositivos están realizados o controlables de

manera que dicho movimiento de los imanes permanentes (10, 20) tenga lugar de manera que cada imán permanente de una disposición por parejas se pueda llevar desde una primera posición o posición de partida (A), en la que se encuentra distanciado respecto a un vaso de reacción, y en la que esencialmente no ejerce ninguna influencia sobre las partículas (3) citadas (imán (10) en las Figuras 1 y 2), a una segunda posición u otra posición (posición de trabajo) (B, C), en la que se encuentra lateralmente junto al vaso de reacción respectivo (2), y en la que ejerce una fuerza magnética sobre las partículas (3) (imán (20) en las Figuras 1 y 2). La distancia  $x$  entre las dos posiciones (A, B; líneas de trazos en las Figuras 1 y 2) está ajustada de tal manera que la fuerza magnética del imán situado en la parte inferior (posición A) ya no ejerce ninguna influencia sobre las partículas situadas en el vaso de reacción, debido a la distancia física.

El emplazamiento vertical de la posición de trabajo (B) se puede modificar o predeterminedar, por ejemplo en función de la longitud de los vasos de reacción (2) empleados, o del volumen de líquido empleado en el vaso de reacción.

La distancia lateral entre un imán permanente que se halle en posición de trabajo y el vaso de reacción que ha de tratarse, se mantiene lo más reducida posible, de manera que quede entremedias solamente un intersticio delgado que tenga preferentemente menos de 5 mm, en particular menos de 2 mm.

Por otra parte, el dispositivo está preparado o programado de tal manera que los dos imanes permanentes (10, 20) de una disposición por pareja, vayan adoptando, con relación al vaso de reacción (2) situado entre ellos, alternativamente la primera posición (A) o la posición de trabajo citada (B) o (C), y vayan alternando entre las posiciones citadas con una velocidad y duración predeterminedable.

Mediante el rápido posicionamiento alternativo de un imán en lados opuestos del vaso de reacción, tal como se permite mediante los dispositivos objeto de la invención, las partículas magnéticas contenidas inicialmente en un pellet (no mostrado en la Figura 1), se desgarran de forma rápida y eficaz, y después de sólo unos pocos ciclos de alternancia de los imanes, se resuspenden. Este efecto no se produciría, o sólo después de un período de tiempo considerablemente más largo, si solamente se desplazase un imán desde uno de los lados del vaso de reacción al otro (p. ej. pasándolo por debajo del vaso de reacción de un lado al otro), porque la experiencia ha enseñado que esto da lugar que el pellet sería arrastrado en su conjunto (es decir sin descomponerse) a lo largo del fondo del vaso de reacción. Esto entrañaría pérdidas de reconocimiento, mayor tiempo necesario para el procesamiento y una menor pureza del producto de separación.

De acuerdo con las necesidades, los dispositivos objeto de la invención se pueden adaptar de tal manera que resulten óptimamente adecuados para unos volúmenes de muestra mayores (p. ej. en la gama de los mililitros) o para volúmenes de muestra menores (p. ej. en la gama de los microlitros).

El soporte (1) puede realizarse opcionalmente de manera que sea adecuado para alojar vasos de reacción individuales, p. ej. cubetas o vasos Eppendorf o bien para alojamiento de placas de microtitrado con una multitud de cavidades. Además, el soporte (1) puede estar dispuesto de tal manera que sea desplazable en el plano horizontal por lo menos en una direc-

ción, preferentemente de forma automática o controlada por programa, p. ej. para llevar un vaso de reacción a la posición situada entre los imanes permanentes (10, 20), o para transportarlo más allá para realizar otro paso de tratamiento.

Los distintos elementos antes descritos de los dispositivos objeto de la invención también pueden estar presentes en un mismo dispositivo en cantidad múltiple. Según otra forma de realización, está además previsto que varios de los conjuntos de imanes permanentes móviles mostrados en la Figura 1 estén situados en una fila, lo que permite el tratamiento simultáneo de una fila de vasos de reacción situados uno junto al otro. Un dispositivo para la separación magnética también puede comprender varias de tales filas, que presentan cada una varios conjuntos de imanes permanentes móviles.

Cada uno de los distintos conjuntos puede estar accionado por medio de una unidad de accionamiento propia, o bien los múltiples conjuntos de imanes permanentes móviles pueden estar accionados por una unidad de accionamiento común.

El movimiento de los imanes permanentes (10, 20) está provocado por una o varias unidades de accionamiento (4), eventualmente con empleo de medios adicionales (5) para la transmisión de las fuerzas. El accionamiento propiamente dicho puede tener lugar mediante motores eléctricos, electroimanes o medios neumáticos o hidráulicos, pudiendo emplearse los medios citados también en forma combinada. El accionamiento puede comprender por ejemplo un cigüeñal, unos discos excéntricos, unos carriles guía, varillas de empuje y tracción y otros componentes conocidos para el técnico mediante los cuales se provoca el movimiento de los imanes.

Como imanes permanentes se pueden emplear imanes de forma adecuada que pueden obtenerse en el comercio especializado, tratándose preferentemente de materiales NdFeB. En casos particulares puede resultar ventajoso emplear imanes permanentes que estén adaptados a la forma del vaso de reacción empleado en cada caso. Un imán permanente puede estar compuesto por una multitud de imanes individuales; según los casos, una disposición por parejas puede comprender también más de dos imanes permanentes.

Los dos imanes permanentes (10, 20) de una disposición por parejas están preferentemente acoplados entre sí de tal manera que, con relación al vaso de reacción, cuando uno de los imanes se encuentra en la primera posición citada (A), el otro imán se encuentra en la citada segunda u otra posición (B), y viceversa. Igualmente se prefiere que los dos imanes permanentes (10, 20) de una disposición por parejas estén acoplados mecánicamente entre sí de tal manera que los sentidos de movimiento verticales (a, b) de los imanes permanentes (10, 20) dispuestos por parejas, vayan siempre en sentido opuesto.

En lugar del acoplamiento mecánico citado se puede emplear también el correspondiente circuito o control que tenga el mismo efecto.

De acuerdo con otra forma de realización preferida, está previsto que el accionamiento de los imanes permanentes móviles tenga lugar bajo control de un programa. Esto puede lograrse preferentemente mediante una unidad de mando por microprocesador incorporada, o mediante un ordenador unido a través de un interfaz. Mediante este mando por programa, se pueden controlar adicionalmente también otras fun-

ciones de los dispositivos objeto de la invención, por ejemplo el movimiento del soporte (1) en dirección horizontal y/o vertical, o eventualmente unas unidades de pipetado que existan.

El mando de programa citado está diseñado preferentemente de forma que controle o predetermine una o varias de las funciones o parámetros siguientes (de forma individual o combinada) de los dispositivos objeto de la invención:

- la velocidad y/o
- la frecuencia y/o
- el número de ciclos de movimiento de los imanes, y/o
- la duración de los intervalos de pausa (tiempo de permanencia) situados entre los movimientos, y/o
- el emplazamiento de la citada primera u otra posición de trabajo en dirección vertical, y/o
- la secuencia en la que los imanes permanentes adoptan las diferentes posiciones citadas.

En el caso de que un dispositivo presente una multitud de conjuntos de imanes por parejas, p. ej. en una fila, los ciclos de movimiento de estas unidades múltiples se coordinan preferentemente mediante un mando programado.

Los diversos parámetros, tales como velocidad de movimiento de los imanes permanentes, duración o tiempo de permanencia, número de ciclos, etc., dependen, entre otras cosas, de la clase de las muestras que se tratan en cada caso así como de la clase del respectivo paso de tratamiento. Estos parámetros los puede determinar y optimizar el especialista mediante sencillos ensayos previos.

De acuerdo con otra forma de realización especialmente preferida está previsto que por lo menos uno de los imanes permanentes (10, 20) móviles se pueda llevar a una posición en la que se encuentre junto al respectivo vaso de reacción (2), y en el extremo inferior de éste, y en la cual ejerce una fuerza magnética sobre las partículas (posición C en la Figura 2, imán (20)). Esta posición predeterminada o predeterminable se denomina "posición de elución", ya que debido al emplazamiento de los imanes en el extremo inferior del vaso de reacción, basta con un volumen relativamente reducido de líquido de elución para permitir la resuspensión de las partículas en el líquido de elución. Un volumen de elución reducido es deseable para que la sustancia de destino eluída se obtenga con la concentración más alta posible. Por el contrario, durante los pasos de lavado se emplean volúmenes de líquido de lavado relativamente grandes, por lo que la posición superior del imán permanente está en este caso preferentemente más arriba con relación al vaso de reacción (véase la posición B en la Figura 1).

Alcanzar la posición de elución se puede conseguir, porque el soporte (1) para los vasos de reacción esté situado desplazable en dirección vertical (flecha C), y porque durante el proceso de elución se encuentre en una posición más alta, fijada o predeterminable, con relación al nivel de partida. Esto quiere decir que, gracias al movimiento del soporte, se aumenta la dis-

tancia vertical entre el soporte (1) y el conjunto de imanes permanentes (10, 20) (distancia y en la Figura 1 o en la Figura 2).

En este caso, la distancia x entre la posición de partida A y la posición de trabajo B (Figura 1), o la posición de elución C (Figura 2) de los imanes permanentes, se mantiene preferentemente invariable.

Alternativamente también se pueden llevar los imanes permanentes a una posición de elución, llevándolos, preferentemente manteniendo el mismo nivel del soporte (1), y reduciendo la distancia x, a una posición de trabajo que esté situada más abajo (y por lo tanto más próxima al fondo del vaso de reacción) que la posición de trabajo antes mencionada, que se emplea en los casos de lavado, y que en la Figura 1 está designada por B (imán (20)). También en este caso el imán permanente se encuentra en la posición de elución junto al vaso de reacción correspondiente (2), pero en su extremo inferior.

Otra medida por la cual se puede conseguir que un imán se lleve a la posición de elución descrita, consiste en mover o cambiar de posición la unidad de accionamiento (4) (con la cual están unidos los imanes permanentes). A tal fin, la unidad de accionamiento está dispuesta de manera que pueda desplazarse hacia abajo (bajar) de forma predeterminable, permaneciendo allí durante el paso de elución. Mediante un posicionamiento de esta clase de la unidad de accionamiento se puede conseguir que, cuando un imán se encuentre en dicha posición superior o en la posición de trabajo, llegue a estar en las proximidades del extremo inferior del vaso de reacción. También en este caso aumenta la distancia y/o distancia vertical entre la unidad de accionamiento y el extremo inferior del vaso de reacción respectivo.

Esta última forma de realización descrita del dispositivo, en la que es variable la posición relativa de la unidad de accionamiento, resulta especialmente ventajosa cuando no se pueda realizar por motivos de espacio el desplazamiento vertical del soporte (1).

De acuerdo con una forma de realización preferida, se pueden predeterminar o programar el sentido y/o la distancia y/o la velocidad de movimiento de la unidad de accionamiento o del soporte, y/o los intervalos de pausa situados en medio.

El movimiento del soporte o de la unidad de accionamiento en dirección vertical y/u horizontal puede efectuarse con medios semejantes a los que se han descrito para el movimiento de los imanes permanentes (motor, accionamiento neumático, etc.). También en este caso estará previsto preferentemente un mando programado que permita predeterminar y controlar del sentido y/o la distancia y/o la velocidad del movimiento y/o los intervalos de pausa situados en medio. De este modo también se puede efectuar la coordinación del movimiento del soporte o de la unidad de accionamiento, con el movimiento/los movimientos de los imanes permanentes.

El dispositivo objeto de la invención puede estar realizado además de manera tal que prevea para los imanes permanentes otra posición de trabajo, que se corresponda p. ej. aproximadamente con la citada posición de elución, y en la que al menos uno de los imanes permanentes esté capacitado para actuar sobre las partículas magnéticas de forma que éstas se inmovilicen en la pared interior del vaso de reacción o formen allí un pellet. Entonces el dispositivo se puede

emplear también para llevar a cabo el paso de pelletización del proceso de separación (p. ej. para aspirar los sobrantes de líquido de lavado o del eluado que contiene la o las sustancias de destino). En función de la aplicación respectiva se puede elegir para el paso de pelletización también otra posición de trabajo adecuada del/de los imán(es), como p. ej. la posición de trabajo citada B de la Figura 1.

El tiempo de permanencia del imán en la posición citada (para pelletizar/inmovilizar) se puede determinar o programar. Durante el tiempo de permanencia, el accionamiento del/de los imán(es) está transitoriamente desconectado o interrumpido.

El paso de pelletización/inmovilización está generalmente coordinado o sincronizado con el paso de aspiración del líquido de lavado o del eluado, mediante un circuito o mando programado.

Los dispositivos objeto de la invención también pueden emplearse para realizar en los procedimientos de separación magnéticos el paso de enlace citado inicialmente. Para este fin está previsto en el dispositivo que el movimiento del imán (con relación al vaso de reacción tratado), se pueda ajustar o programar de tal manera que mediante este movimiento se impida la sedimentación de las partículas magnéticas condicionada por la gravedad. Esto se puede conseguir p. ej. mediante un movimiento ralentizado de los imanes.

Al evitar la sedimentación gravimétrica de las partículas magnéticas durante el paso de enlace se incrementa la eficacia del enlace de las moléculas de la sustancia de destino a las partículas magnéticas, lo cual a su vez tiene como consecuencia una mejora del rendimiento. De acuerdo con una forma de realización preferida, los dispositivos objeto de la invención pueden estar dotados de medios que sean necesarios para la realización de las restantes operaciones del procedimiento de separación magnético. Esto incluye especialmente dispositivos para la aspiración de líquido de los vasos de reacción y/o dispositivos de pipetado para añadir o aspirar volúmenes definidos de líquido a o de los vasos de reacción. También estos medios adicionales son preferentemente programables.

Los dispositivos objeto de la invención también pueden instalarse como módulo(s) en equipos comerciales de manipulación de líquidos y combinarse con éstos. En este caso, el equipo de manipulación de líquidos se ocupa de los procesos de llenado de los vasos de reacción con líquidos (p. ej. de enlace, de lavado o de elución), así como de la aspiración o extracción de los líquidos de los vasos de reacción.

En un equipo combinado de esta clase, los dispositivos objeto de la invención se ocupan de uno o varios de los procesos siguientes:

- Realización del paso de enlace
- Resuspensión de las partículas magnéticas (p. ej. en el líquido de lavado o de elución)
- Pelletizado o inmovilización de las partículas magnéticas durante la aspiración/extracción de un líquido.

El dispositivo objeto de la invención y el método de tratamiento de las partículas magnéticas en el que se basa, se caracterizan por unas propiedades de resuspensión destacadas, con un alto rendimiento en el paso de enlace, por un alto grado de pureza y gran rendimiento del producto de separación, por ahorro de tiempo así como por un gasto reducido de material

consumible tal como puntas de pipeta, al realizar los procedimientos de separación magnéticos.

Mediante la posibilidad descrita de variación de la distancia vertical de los imanes (distancia x) y/o de la distancia vertical (distancia y) entre los imanes y el vaso de reacción o el soporte (1) respectivamente y/o la posición vertical de la unidad de accionamiento y/o la separación horizontal entre los imanes, se puede adaptar el dispositivo de múltiples maneras a volúmenes de reacción de diferente magnitud o tamaños y formas de vasos de reacción. Debido a la sencillez del sistema se pueden controlar bien las distintas funciones, adaptándose a la aplicación respectiva.

Por la presente invención se describe un procedimiento para el tratamiento una partícula magnética o una multitud de partículas magnéticas que estén presentes en un vaso de reacción, p. ej. en forma de pellet, para resuspender estas partículas en un líquido, p. ej. en un líquido de lavado, de elución o de enlace. Esto tiene lugar de manera que dos imanes permanentes dispuestos por parejas (10, 20) se desplazan verticalmente y de forma alternativa sobre lados opuestos del vaso de reacción (2), de tal manera que cada vez se encuentre uno de los dos imanes (10, 20) junto al respectivo vaso de reacción, ejerciendo una fuerza magnética sobre las partículas (3), y el otro de los dos imanes (10, 20) se encuentre a una distancia vertical del vaso de reacción. Debido a la alternancia de los imanes entre los dos lados opuestos se provoca que se desgarre el pellet y las partículas magnéticas queden suspendidas en el líquido.

La presente invención se refiere además a procedimientos para el tratamiento de partículas magnetizables o atraíbles magnéticamente presentes en un vaso de reacción, p. ej. en forma de un pellet, con un líquido, p. ej. un líquido de lavado, de elución o de enlace. Estos procedimientos comprenden los siguientes pasos:

- a) Añadir una cantidad predeterminada de un líquido a un pellet que contenga partículas magnéticas;
- b) Resuspensión de las partículas pelletizadas y mezcla con el líquido.

De acuerdo con la invención, el paso b) se realiza para ello de manera que

- el vaso de reacción citado (2) se posiciona entre dos imanes permanentes (10, 20) dispuestos por parejas y enfrentados entre sí, desplazables verticalmente, y
- el citado movimiento de los imanes permanentes tenga lugar de manera que cada imán permanente de un conjunto de pareja se lleve desde una primera posición o posición de partida (A), en la que se encuentra a distancia de un vaso de reacción y en la que esencialmente no ejerce ninguna influencia sobre las partículas (3) citadas, a una segunda u otra posición (B, C) (posición de trabajo), en la que se encuentre lateralmente junto al respectivo vaso de reacción (2), y en la que ejerce una fuerza magnética sobre las partículas. El imán permanece preferentemente cada vez durante un período de tiempo predetermina-

do (de permanencia) en esta posición antes de volver de nuevo a la posición de partida.

Los dos imanes permanentes de un conjunto de pareja adoptan con respecto al vaso de reacción dispuesto entre ellos, alternativamente la primera posición (A) o la posición de trabajo (B, C), y alternan con una velocidad y duración predeterminable entre las posiciones citadas.

Debido al posicionamiento alternativo de los imanes permanentes de forma rápidamente consecutiva en lados opuestos de los vasos de reacción se provoca una disolución rápida y eficaz del pellet y la resuspensión de las partículas magnéticas.

El procedimiento antes descrito también puede emplearse para llevar a cabo el citado paso de enlace en los procedimientos de separación magnéticos. Para ello se introduce(n) la(s) partícula(s) magnética(s) en un vaso de reacción que contenga la sustancia de destino que se trata de separar en un líquido (líquido de enlace o tampón de enlace). Debido al movimiento descrito de los imanes permanentes se puede contrarrestar la sedimentación de las partículas magnéticas condicionadas por la gravedad, es decir que durante el paso de enlace, las partículas se mantienen en el líquido en estado flotante o suspendido. Debido a esto se incrementa la eficacia del paso de enlace y mejora el rendimiento.

Para que, en el caso de emplearse un líquido de elución para eluir las sustancias enlazadas con las partículas, se pueda llevar a cabo el paso de elución (paso b) con un volumen de elución lo más reducido posible, se prefiere una variante del procedimiento en la que un imán permanente se encuentre en la posición de trabajo, es decir durante la resuspensión, lateralmente junto al respectivo vaso de reacción y en su extremo inferior (posición de elución C). Esto se puede conseguir preferentemente por el hecho de que el vaso de reacción, o un soporte que lleve vaso de reacción, se pueda llevar en dirección vertical, con relación a la posición de trabajo del imán permanente, desde una posición inferior o posición de partida a una posición superior predeterminable, tal como se indica esquemáticamente en la Figura 2 (distancia y). Alternativamente se puede alcanzar el mismo fin variando, tal como ya se ha mencionado, la posición de la unidad de accionamiento para los imanes en dirección esencialmente vertical, o controlando el movimiento de los imanes permanentes, de tal forma que la posición de trabajo superior que se alcance en cada caso llegue a estar más baja y próxima al extremo inferior del vaso de reacción, en comparación con la posición de trabajo, que se alcanza durante el proceso de resuspensión durante un paso de lavado.

Con el fin de que resulte más eficaz el proceso de resuspensión durante un paso de lavado o durante el paso de elución, puede ser conveniente que, después del posicionamiento de un imán en la posición de trabajo, comience un tiempo de permanencia, que dure aproximadamente hasta que el pellet de partículas magnéticas comience a desprenderse de la pared del vaso. Solamente después de este tiempo de permanencia tiene lugar el siguiente proceso de posicionamiento, es decir el cambio entre la posición de partida y de la posición de trabajo del imán permanente dispuesto en pareja. La duración del tiempo de permanencia y los ciclos de repetición de los procesos de posicio-

namiento de los imanes se controlan preferentemente mediante un programa informático.

Los procedimientos citados se realizan preferentemente usando el dispositivo de la invención y antes descrito.

Los dispositivos y procedimientos objeto de la invención se pueden emplear en los más diversos procesos de separación que estén basados en micropartículas atraíbles magnéticamente, aprovechando para ello las ventajas descritas. Debido a la resuspensión más eficaz y más rápida se puede conseguir con la invención un incremento del rendimiento y un ahorro de costes, especialmente en procedimientos de alto rendimiento.

### Descripción de las figuras

#### Figura 1

Muestra en una representación en sección la disposición esquemática de un dispositivo objeto de la invención, con un soporte (1) para vasos de reacción (2), que se pueda desplazar opcionalmente hacia arriba o hacia abajo en la dirección de la flecha c. El soporte se encuentra esencialmente en un plano horizontal con relación a la dirección de movimiento de los imanes permanentes. El soporte puede estar dispuesto de tal manera que dentro del plano horizontal se pueda mover en una, dos o más direcciones.

El vaso de reacción (2) contiene partículas atraíbles magnéticamente o magnetizables (partículas magnéticas) (3), generalmente suspendidas en un líquido.

Debajo del vaso de reacción se encuentra una unidad de imanes permanentes dispuestos por parejas (10, 20), entre los cuales está situado un vaso de reacción (2). Los imanes se mueven alternativamente en la dirección de las flechas a o b en dirección vertical, mediante una unidad de accionamiento (4) y los correspondientes elementos de accionamiento (5), para lo cual los imanes van alternando respectivamente entre una posición de partida (A) o una posición de trabajo (B). En el caso representado, el imán (10) se encuentra en la posición de partida (A), y el imán (B) en la posición de trabajo (B). En la posición de trabajo, el imán respectivo se encuentra junto al vaso de reacción, de manera que pueda ejercer una fuerza de atracción magnética sobre las partículas suspendidas en el vaso.

La flecha x designa la distancia entre la posición de partida y la de trabajo de los dos imanes permanentes.

La flecha y designa la distancia entre la posición de partida (A) de los imanes permanentes y el soporte (1) para los vasos de reacción.

#### Figura 2

Se corresponde con la Figura 1, con la diferencia de que el soporte (1) ha sido desplazado en dirección vertical hacia arriba, de manera que la distancia y es mayor.

La consecuencia de esto es, que cuando el imán permanente (20) se encuentra en su posición de trabajo (C), llega a estar cerca del extremo inferior del vaso de reacción. Esta posición (con relación al vaso de reacción) se designa como posición de elución.

El emplazamiento de la posición de partida A y la longitud de la distancia x son iguales que en la Figura 1.

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para el tratamiento de partículas (3) magnetizables o atraíbles magnéticamente, presentes en un líquido, comprendiendo

- un soporte (1) para uno o varios vasos de reacción (2), con el líquido que contiene las partículas,
- al menos dos imanes permanentes dispuestos desplazables (10, 20),
- una unidad de accionamiento (4) para mover los imanes permanentes (10, 20),

donde

- los imanes permanentes (10, 20) están dispuestos por parejas y enfrentados entre sí, y desplazables en dirección vertical (a, b),
- la separación entre los dos imanes permanentes (10, 20) de una pareja está dimensionada o ajustable de manera que entre ellos pueda situarse un vaso de reacción (2),
- el citado movimiento de los imanes permanentes tiene lugar de manera que alternativamente cada imán permanente de un conjunto de pareja se pueda desplazar desde una primera posición o posición de partida (A), en la que se encuentra a distancia de un vaso de reacción (2) y en la que esencialmente no ejerce ninguna influencia sobre las partículas (3) citadas, a una segunda u otra posición (posición de trabajo) (B, C), en la que se encuentra lateralmente junto al respectivo vaso de reacción, y en la que ejerce una fuerza magnética sobre las partículas (3), y donde los dos imanes permanentes de un conjunto de pareja adoptan con relación al vaso de reacción situado entre ellos, alternativamente entre sí la citada primera posición o la citada posición de trabajo, cambiando entre las posiciones citadas con una velocidad y/o duración predeterminable.

2. Dispositivo según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el accionamiento de los imanes permanentes móviles (10, 20) tiene lugar controlado por programa, preferentemente por una unidad de mando de microprocesador incorporada, o por medio de un ordenador unido a través de un interfaz.

3. Dispositivo según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque se puede predeterminar o controlar

- la velocidad y/o
- la frecuencia y/o
- el número de ciclos de movimiento de los imanes y/o
- la duración de los intervalos de pausa situados entre los movimientos, y/o
- el emplazamiento de la citada primera u otra posición de trabajo en dirección vertical, y/o

- la secuencia en la que los imanes permanentes adoptan las posiciones citadas,

preferentemente controlables por medio de un programa.

4. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque los dos imanes permanentes (10, 20) de un conjunto de pareja están acoplados entre sí mecánicamente de tal manera que uno de los imanes, (referido al vaso de reacción) se encuentre en la citada primera posición (A), cuando el otro imán se encuentre en la citada segunda u otra posición (B, C), y viceversa.

5. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque los dos imanes permanentes (10, 20) de un conjunto de pareja están acoplados mecánicamente entre sí de tal manera que los sentidos de movimiento verticales de los imanes permanentes dispuestos por parejas, sean en sentido opuesto.

6. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el accionamiento de los imanes permanentes tiene lugar mediante motores eléctricos, medios de accionamientos neumáticos, hidráulicos o electromagnéticos, o una combinación de al menos dos de los citados.

7. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** por presentar una multitud de los imanes permanentes (10, 20) citados y dispuestos por parejas, preferentemente en una disposición en fila.

8. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** por estar prevista otra posición (denominada posición de elución; (C)), en la que el imán permanente se encuentra junto al respectivo vaso de reacción y en su extremo inferior, en el que ejerce una fuerza magnética sobre las partículas (3).

9. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el soporte citado (1) está dispuesto desplazable en dirección vertical (C), y se pueda llevar mediante medios de accionamiento desde una posición inferior o de partida a una posición superior predeterminable, de tal manera que cuando un imán permanente (10, 20) se encuentre en la citada posición de trabajo junto a un vaso de reacción, esté posicionado en el extremo inferior del respectivo vaso de reacción, y se encuentre en la posición de elución (C).

10. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la unidad de accionamiento citada (4) está dispuesta desplazable, y se pueda llevar por medios de accionamiento desde una posición superior o de partida a una posición inferior predeterminable, de manera que cuando un imán permanente (10, 20) se encuentre en la citada posición de trabajo (B, C) junto a un vaso de reacción (2), esté posicionado en el extremo inferior del respectivo vaso de reacción (2),

prefiriéndose que el sentido y/o la distancia y/o la velocidad de movimiento de la unidad de accionamiento y/o los intervalos de pausas situados entre medias, se puedan predeterminar o programar.

11. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el soporte citado (1) esté dispuesto desplazable en dirección horizontal y/o vertical, prefiriéndose que el sentido y/o la distancia y/o la Velocidad de movimiento y/o los intervalos de

pausa situados entre medias, se puedan predeterminar o programar.

12. Dispositivo según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** por presentar dispositivos para aspirar líquido de los vasos de reacción (2) y/o dispositivos de pipetado para añadir volúmenes dosificados definidos de líquido a los vasos de reacción, para lo cual estas operaciones son preferentemente controlables por programa.

13. Procedimiento para el tratamiento de partículas (3) magnetizables o atraíbles magnéticamente, presentes en un vaso de reacción (2), para resuspender las partículas en un líquido que se haya añadido, **caracterizado** porque dos imanes permanentes (10, 20) dispuestos por parejas se pueden desplazar verticalmente en secuencia alternativa por lados opuestos del vaso de reacción (2), de tal manera que en cada momento se encuentre uno de los dos imanes (10, 20) junto al respectivo vaso de reacción, ejerciendo una fuerza magnética sobre las partículas (3), y el otro respectivo de los dos imanes (10, 20) se encuentre a una distancia vertical respecto al vaso de reacción.

14. Procedimiento para el tratamiento de partículas (3) magnetizables o atraíbles magnéticamente, presentes en un vaso de reacción con un líquido, comprendiendo los pasos:

a) Añadir una cantidad predeterminada de un líquido a un pellet que contiene partículas magnéticas (3);

b) Resuspender las partículas palletizadas y mezclarlas con el líquido,

**caracterizada** porque el paso b) se lleva a cabo de manera que

- el vaso de reacción citado se posicione entre dos imanes permanentes (10, 20) dispuestos por pareja y enfrentados entre sí, desplazables verticalmente, y

- el citado movimiento de los imanes permanentes (10, 20) tenga lugar de manera que alternativamente cada imán permanente de un conjunto de parejas se lleve desde una posición o posición de partida (A), en la que se encuentra separado con respecto a un vaso de reacción (2) y en la que esencialmente no ejerce ninguna influencia sobre las partículas (3) citadas, a una segunda u otra posición (posición de trabajo) (B, C), en la que se encuentra lateralmente junto al respectivo vaso de reacción, y en la que ejerce una fuerza magnética sobre las partículas (3), y donde los dos imanes permanentes de un conjunto de pareja adoptan con relación al vaso de reacción dispuesto entre ellos, alternativamente entre sí la primera posición citada o la posición de trabajo citada, alternando con una velocidad y duración predeterminable entre las posiciones citadas.

15. Procedimiento según la reivindicación 14, **caracterizado** porque como líquido se emplea un líquido de enlace, un líquido de lavado o un líquido de elución para llevar a cabo los pasos de enlace, lavado

o elución previstos en el procedimiento de separación magnético.

16. Procedimiento según la reivindicación 14 ó 15, **caracterizado** porque el paso (B) se lleva a cabo de manera que

- el vaso de reacción citado (2) se posiciona entre dos imanes permanentes (20, 30) dispuestos por parejas y enfrentados entre sí, desplazables verticalmente, y

- cada imán permanente del conjunto de pareja citado se lleva alternativamente a una posición de elución (C), en la que se encuentra lateralmente junto al respectivo vaso de reacción y en el extremo inferior de éste, y donde ejerce una fuerza magnética sobre las partículas.

17. Procedimiento según la reivindicación 16, **caracterizado** porque el citado imán permanente se lleva a la posición de elución (C) descrita,

- llevando para ello el vaso de reacción o un soporte (1) que lleve el vaso de reacción, en dirección vertical (C) con relación a la posición de trabajo (B) del imán permanente, desde una posición inferior o de partida a una posición superior predeterminable, y/o situando la citada posición de partida (A) de los imanes permanentes en una posición inferior predeterminable,

de manera que cuando un imán permanente se encuentra en la citada posición de trabajo (B) junto a un vaso de reacción, quede posicionado en el extremo inferior del respectivo vaso de reacción.

18. Procedimiento según una de las reivindicaciones 13 a 17, **caracterizado** porque los citados movimientos de los imanes permanentes (10, 20) o del soporte (1) de los vasos de reacción se llevan a cabo de forma automática y/o controlada por programa.

19. Procedimiento según una de las reivindicaciones 13 a 18, **caracterizado** porque el paso de resuspensión tiene lugar de manera que después de cada cambio de posición de los imanes sigue un tiempo de permanencia, cuya duración es predeterminable.

20. Procedimiento según una de las reivindicaciones 13 a 19, **caracterizado** porque se realiza empleando un dispositivo según una o varias de las reivindicaciones 1 a 12.

21. Utilización de un dispositivo según una o varias de las reivindicaciones 1 a 23 para la separación de sustancias mediante partículas magnetizables o atraíbles magnéticamente,

(a) para realizar el paso de enlace y/o

(b) para resuspender y/o

(c) en un paso de lavado y/o

(d) para pelletizar/inmovilizar las partículas, y/o

(e) en un paso de elución.

FIG. 1

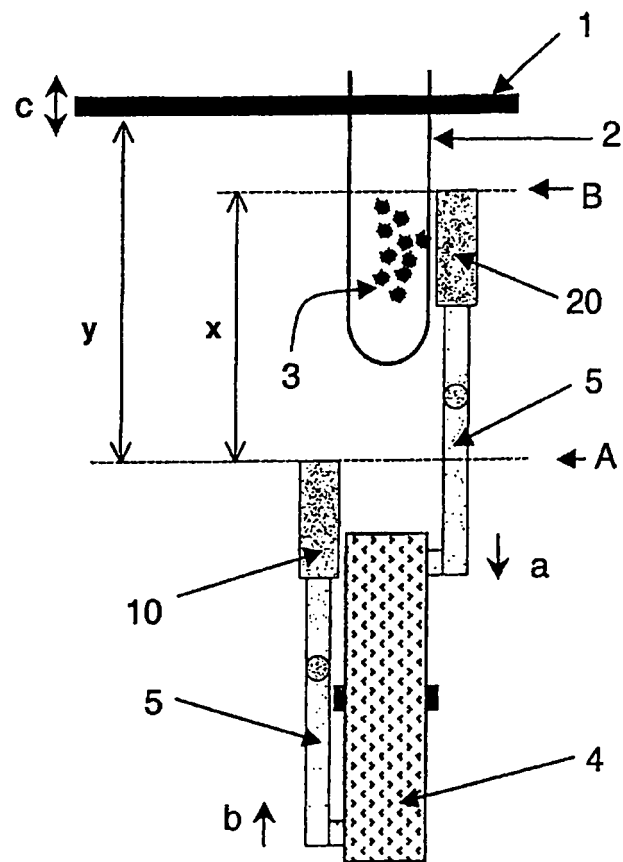


FIG. 2

