

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 426**

51 Int. Cl.:

B03C 1/01	(2006.01)	G01N 35/00	(2006.01)
B03C 1/031	(2006.01)		
B03C 1/00	(2006.01)		
G01N 33/543	(2006.01)		
G01N 27/74	(2006.01)		
G01N 1/12	(2006.01)		
G01N 1/10	(2006.01)		
B03C 1/033	(2006.01)		
B03C 1/28	(2006.01)		
B03C 1/30	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.01.2020** **PCT/US2020/015303**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.09.2020** **WO20190377**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2020** **E 20772594 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2024** **EP 3938114**

54 Título: **Método y aparato para manipular cuentas magnéticas**

30 Prioridad:

15.03.2019 US 201962819018 P
15.03.2019 US 201962819073 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
05.07.2024

73 Titular/es:

SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
(100.0%)
511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591, US

72 Inventor/es:

PEZZI, HANNAH

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 975 426 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método y aparato para manipular cuentas magnéticas

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica prioridad con respecto a la solicitud de patente provisional estadounidense 62/819,018 presentada el 15 de marzo de 2019 titulada MEZCLA LOCAL DE CUENTAS INMOVILIZADA MAGNÉTICAMENTE y 62/819,073 presentada el 15 de marzo de 2019 titulada TRANSFERENCIA BASADA EN SONDA DE cuenta DE
10 CENTRADO MAGNÉTICO.

Campo de la divulgación

La divulgación en la presente se refiere en general al campo de la purificación de componentes de muestras. Más concretamente, la presente divulgación se refiere a dispositivos, sistemas y métodos novedosos para la manipulación de partículas magnéticas.

Antecedentes

Muchos campos requieren técnicas para capturar y separar objetivos de interés de un medio fluido. Esto puede incluir, por ejemplo, la extracción de células enteras, proteínas, ARN o ADN de fluidos como la sangre o la saliva para su posterior análisis. Las cuentas magnéticas se han convertido en un método habitual para estas manipulaciones moleculares. Pueden funcionalizarse con superficies de sílice, por ejemplo, para permitir la unión selectiva de moléculas que sean objetivos de interés a las cuentas magnéticas. Basándose en su afinidad superficial, las cuentas magnéticas
25 funcionalizadas pueden añadirse a los fluidos para capturar las moléculas objetivo. La capacidad de respuesta magnética de las cuentas permite entonces concentrar las cuentas junto con cualquier objetivo capturado dentro del fluido mediante un imán. Para purificar los objetivos, pueden ser necesarios múltiples pasos de lavado para eliminar trazas de líquido tanto de los objetivos capturados como de las cuentas magnéticas, así como para garantizar que el objetivo es compatible con el análisis posterior (por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa o PCR).

Una vez concentrados las cuentas magnéticas y sus objetivos capturados, pueden extraerse de un fluido y dispersarse en un segundo fluido para su lavado. La dispersión de las cuentas durante el lavado suele producirse retirando/distanciando el imán utilizado para recoger las cuentas, introduciendo agitación física de las cuentas para resuspenderlas en el fluido (por ejemplo, mezclando con pipeta) y volviendo a recoger las cuentas con el imán.

En algunas tecnologías, las cuentas se dispersan en un fluido con una pipeta. Como alternativa, las cuentas pueden dispersarse utilizando una sonda con un imán en su interior para recoger las cuentas y, a continuación, retrayendo el imán fuera de la sonda y sumergiendo la sonda arriba y abajo en un pozo para liberar las cuentas de la sonda. A continuación, estos productos pueden volver a enganchar el imán dentro de la sonda para recoger las cuentas y transferirlas al siguiente pocillo. Este sistema da lugar a agregados de cuentas que deben liberarse en coordinación con cierta agitación física (por ejemplo, mezclado con pipeta) para dispersar completamente las cuentas magnéticas y eliminar el fluido restante del espacio intersticial entre las cuentas.

US 2017/152509 A1 divulga un método para operar partículas de cuerpo magnético en donde una sustancia objetivo de una muestra se une selectivamente a la superficie del cuerpo magnético. El método se lleva a cabo en presencia de un cuerpo sólido magnético con un diámetro de partícula mayor que el de las partículas del cuerpo magnético. Cuando se aplica un campo magnético desde el exterior del recipiente de la muestra, las partículas del cuerpo magnético que transportan la sustancia objetivo y el cuerpo sólido magnético se desplazan hacia la superficie interior del recipiente, siguiendo el movimiento del imán a lo largo de la pared exterior.

US 2012/329124 A1 enseña varias realizaciones de un dispositivo de tratamiento con portadora magnética. En cada realización, hay portadoras magnéticas que pueden unirse a una sustancia química predeterminada y partículas magnéticas promotoras del tratamiento que no llevan ninguna sustancia química. Las partículas magnéticas promotoras del tratamiento tienen generalmente un diámetro de partícula mayor que las portadoras magnéticas y están hechas de un material diferente, generalmente un material que tiene un mayor flujo magnético a través del mismo que las portadoras magnéticas. En un campo magnético generado por un imán externo, las portadoras magnéticas se adsorben en la superficie de las partículas magnéticas promotoras del tratamiento. Las portadoras magnéticas y las partículas magnéticas promotoras del tratamiento son atraídas y adsorbidas en una región de captación predeterminada en la pared interior de un recipiente o una punta dispensadora.

Las técnicas para mover los granos de un fluido a otro, así como para mezclar o dispersar los granos mediante el lavado, pueden influir en la eficacia del lavado, el tiempo, la recuperación, el volumen de reactivo y el coste.

Así pues, existe la necesidad de mejorar la manipulación de los las cuentas de centrado magnéticos durante las fases de lavado y/o procesamiento. Existe además la necesidad de agitar o mezclar las cuentas magnéticas en un proceso de lavado sin liberar y dispersar físicamente las cuentas magnéticas de una sonda o dispositivo de recolección.

Breve descripción de la invención

- 5 En una realización, se coloca una sonda de recolección de cuentas en un recipiente que contiene cuentas magnéticas en un fluido. Un imán situado fuera del recipiente concentra las cuentas magnéticas en la sonda de recolección para que puedan manipularse en un fluido. En otra realización, una fuente de vibración está unida a la sonda de recolección de tal forma que, en combinación con el imán en una posición externa al recipiente, las cuentas pueden lavarse sin soltarlos de la sonda de recolección.
- 10 En una realización, un sistema para la manipulación de cuentas magnéticas en un fluido incluye un recipiente para recibir una alícuota de una muestra de fluido y una pluralidad de cuentas magnéticas en su interior; una sonda de recolección de cuentas; y un imán externo al recipiente para establecer selectivamente un campo magnético dentro del recipiente. El sistema se caracteriza porque la sonda de recolección de cuentas está hecha de un material polimérico y por que un
- 15 traslador mecánico está en comunicación con la sonda de recolección de cuentas y el imán para la traslación selectiva y coordinada hacia arriba de la sonda de recolección de cuentas, el imán y el campo magnético establecido con respecto al recipiente para extraer del recipiente la sonda de recolección de cuentas con la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas; o un traslador mecánico en comunicación con el recipiente para la traslación selectiva hacia abajo del recipiente en relación con la sonda de recolección de cuentas, el imán, el campo magnético establecido y la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas, en la que la sonda de recolección de cuentas
- 20 está configurada para colocarse contra una superficie interior de una pared del recipiente, en la que la pluralidad de cuentas magnéticas se acumula en la sonda de recolección de cuentas en presencia del campo magnético establecido, estando el imán dispuesto próximo a la porción de la pared del recipiente a la que la sonda de recolección de cuentas está opuesta y adyacente.
- 25 El sistema incluye un agitador en comunicación mecánica con al menos uno de los recipientes y la sonda de recolección de cuentas para agitar selectivamente el recipiente y/o el contenido del recipiente mientras la pluralidad de cuentas magnéticas permanece acumulada en la sonda de recolección de cuentas. Además, el agitador sirve para agitar selectivamente el recipiente y/o el contenido del recipiente con el campo magnético establecido.
- 30 Un traslador mecánico está en comunicación con la sonda de recolección de cuentas y el imán para la traslación selectiva y coordinada hacia arriba de la sonda de recolección de cuentas, el imán y el campo magnético establecido en relación con el recipiente para extraer del recipiente la sonda de recolección de cuentas con la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas.
- 35 En una realización, un primer traslador mecánico está en comunicación con el imán para la traslación selectiva hacia arriba del imán y el campo magnético establecido para el movimiento selectivo hacia arriba de la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas en la sonda de recolección de cuentas. Además, un segundo traslador mecánico está en comunicación con la sonda de recolección de cuentas para extraer la sonda de recolección de cuentas y la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas del recipiente después de que el primer traslador mecánico haya desplazado la
- 40 pluralidad acumulada de cuentas magnéticas hacia arriba y fuera de la alícuota de muestra de fluido.
- Alternativamente, un traslador mecánico está en comunicación con el recipiente para la traslación selectiva hacia abajo del recipiente en relación con la sonda de recolección de cuentas, el imán, el campo magnético establecido y la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas.
- 45 En una realización, un método de extracción de cuentas magnéticas de una muestra de fluido incluye depositar una alícuota de muestra de fluido dentro de un recipiente; depositar una pluralidad de cuentas magnéticas dentro del recipiente; disponer una sonda de recolección de cuentas hecha de un material polimérico dentro del recipiente adyacente a una porción de la pared del mismo; disponer un imán cerca de la parte de la pared del recipiente a la que la sonda de
- 50 recolección de cuentas está opuesta y adyacente, estableciendo el imán un campo magnético dentro del recipiente; acumular la pluralidad de cuentas magnéticas en la sonda de recolección de microesferas bajo la influencia del campo magnético; y mover el recipiente en relación con la sonda de recolección de microesferas y la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas sobre ella.
- 55 En otra realización, el método incluye la disposición de un imán auxiliar próximo a una porción de pared del recipiente opuesta a la porción de pared del recipiente a la que está adyacente la sonda de recolección de cuentas, estableciendo el imán auxiliar un campo magnético dentro del recipiente.
- En otra realización, el método incluye agitar al menos uno de los recipientes y la sonda de recolección de cuentas para
- 60 lavar la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas.
- En otra realización, el método incluye mover la sonda de recolección de cuentas, la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas y el imán con respecto al recipiente para extraer la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas de la alícuota de muestra de fluido.
- 65 En otra realización, el método incluye mover el imán y el campo magnético establecido en relación con la sonda de

recolección de cuentas y el recipiente para desplazar la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas fuera de la alícuota de muestra de fluido. Además, el método puede incluir la retirada del imán y del campo magnético establecido del recipiente y de la sonda de recolección de cuentas, quedando la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas. El método también puede incluir el desplazamiento de la sonda de recolección de cuentas y de las cuentas magnéticas acumuladas fuera del recipiente.

En otra realización, el método incluye mover el recipiente en relación con la sonda de recolección de cuentas, el imán, el campo magnético establecido y la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas para extraer la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas de la alícuota de muestra de fluido. Además, el método puede incluir el desplazamiento de la sonda de recolección de cuentas y de la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas fuera del recipiente. Aún más, el método puede incluir la retirada del imán y del campo magnético establecido del recipiente y de la sonda de recolección de cuentas, quedando la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas.

En una realización, un sistema para recoger y lavar cuentas magnéticas incluye un recipiente para recibir una alícuota de una muestra líquida y una pluralidad de cuentas magnéticas en su interior; una sonda de recolección de cuentas dispuesta dentro del recipiente adyacente a una porción de la pared del mismo; un imán próximo a la porción de pared del recipiente a la que la sonda de recolección de cuentas está opuesta y adyacente para establecer un campo magnético dentro del recipiente, acumulándose la pluralidad de cuentas magnéticas en la sonda de recolección de cuentas en presencia del campo magnético establecido; y un agitador en comunicación mecánica con al menos uno de los recipientes y la sonda de recolección de cuentas para agitar selectivamente el recipiente y/o el contenido del recipiente.

En otra realización, el agitador sirve para agitar selectivamente el recipiente y/o el contenido del recipiente en ausencia del campo magnético establecido. Además, el agitador puede agitar selectivamente el recipiente y/o el contenido del recipiente con el campo magnético establecido.

En otra realización, el agitador sirve para agitar selectivamente la alícuota de muestra fluida mientras la pluralidad de cuentas magnéticas permanece acumulada en la sonda de recolección de cuentas. Además, la agitación selectiva puede provocar el movimiento de la pluralidad de cuentas magnéticas entre sí mientras están acumuladas en la sonda de recolección de cuentas.

En otra realización, el sistema incluye una pipeta para extraer selectivamente la alícuota de muestra de fluido del recipiente tras la agitación selectiva con la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en la sonda de recolección de cuentas. Además, el sistema incluye una fuente de fluido de lavado para inyectar una cantidad de fluido de lavado en el recipiente después de que la alícuota de muestra de fluido se haya extraído del recipiente.

En otra realización, el sistema incluye un trasladador mecánico en comunicación con al menos una de las sondas de recolección de cuentas, el imán y el recipiente para separar la sonda de recolección de cuentas, con la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en ella, del recipiente.

En una realización, un método para extraer cuentas magnéticas dentro de un recipiente que contiene una muestra fluida incluye depositar una alícuota de la muestra fluida dentro del recipiente; depositar una pluralidad de cuentas magnéticas dentro del recipiente; disponer una sonda de recolección de cuentas dentro del recipiente adyacente a una porción de la pared del mismo; disponer un imán cerca de la porción de pared del recipiente a la que la sonda de recolección de cuentas está opuesta y adyacente, y agitar al menos uno de los recipientes y la sonda de recolección de cuentas para lavar la pluralidad de cuentas magnéticas, con lo que la pluralidad de cuentas magnéticas se acumula en la sonda de recolección de cuentas bajo la influencia de un campo magnético asociado al imán y permanece acumulada antes, durante y después de la agitación.

En otra realización, el método incluye la disposición de un imán auxiliar próximo a una porción de pared del recipiente opuesta a la porción de pared del recipiente a la que está adyacente la sonda de recolección de cuentas, estableciendo el imán auxiliar un campo magnético dentro del recipiente.

En otra realización, el método incluye pipetear la alícuota de muestra fluida del recipiente después de la agitación. Además, el método puede incluir la extracción de la sonda de recolección de cuentas y de la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas en ella tras el pipeteado.

En otra realización, la agitación se realiza mediante un agitador conectado mecánicamente a una porción del recipiente. Además, la agitación puede realizarse mediante un agitador conectado mecánicamente a una porción de la sonda de recolección de las cuentas.

En otra realización, la agitación se realiza a una intensidad igual o inferior a aquella a la que las cuentas magnéticas de la pluralidad de cuentas magnéticas se mueven unas respecto a otras mientras permanecen acumuladas en la sonda de recolección de cuentas. Además, la agitación se produce antes de disponer el imán próximo a la pared del recipiente. Aún más, la agitación se produce después de disponer el imán próximo a la pared del recipiente.

Breve descripción de los dibujos

Las realizaciones ilustrativas de la tecnología divulgada se describen en detalle a continuación con referencia a las figuras de los dibujos adjuntos, en los que:

- 5 Las FIGURAS 1A - 1D ilustran una variedad de sondas de recolección según la presente divulgación.
 La FIGURA 2A ilustra un recipiente que contiene un fluido a analizar con una cantidad de cuentas magnéticas suspendidas en él.
 La FIGURA 2B ilustra el recipiente de la FIGURA 2A con una sonda de recolección.
 Las FIGURAS 3A y 3B ilustran sistemas para la extracción de las cuentas magnéticas del recipiente de la FIGURA 2A.
 10 La FIGURA 4 ilustra un sistema para mezclar cuentas magnéticas en el recipiente de la FIGURA 2A.
 Las FIGURAS 5A - 5C ilustran una vista más detallada del proceso de mezcla proporcionado por el sistema de la FIGURA 4.
 La FIGURA 6 es un diagrama de flujo de un proceso para extraer cuentas magnéticas de un fluido, según las realizaciones.
 La FIGURA 7 es un diagrama de flujo de un proceso para mezclar cuentas magnéticas en un fluido, según las realizaciones.

Descripción detallada

- 20 las cuentas magnéticas pueden utilizarse para capturar objetivos moleculares de interés y separarlos de un fluido, por ejemplo, un fluido corporal. las cuentas magnéticas pueden diseñarse para que se unan a moléculas que sean objetivos de interés y, a continuación, añadirse a un recipiente que contenga fluido para capturar las moléculas objetivo. Puede utilizarse un imán externo al recipiente para acumular las cuentas en una sonda, junto con cualquier objetivo capturado, para su posterior procesamiento. Separar del fluido las cuentas magnéticas con sus objetivos acumulados puede dejar trazas de fluido en los objetivos, lo que puede requerir múltiples pasos de lavado para purificar los objetivos para su posterior análisis. Una cantidad de fluido en un recipiente puede ser una alícuota de una muestra de fluido.

- 25 En la presente se describen un aparato y un método para la manipulación molecular de cuentas magnéticas mediante una sonda de recolección de cuentas. Las referencias a las cuentas magnéticas en la presente engloban tanto las cuentas magnéticas como las cuentas magnéticas con objetivos capturados. Los números de referencia comunes indican elementos comunes en todas las figuras.

- 30 Las FIGURAS 1A - 1D ilustran varias realizaciones ejemplares de una sonda de recolección de cuentas de centrado. Aunque se muestran geometrías específicas, es sólo a efectos ilustrativos. Pueden utilizarse muchas formas y configuraciones diferentes sin apartarse de las enseñanzas de la presente divulgación. La FIGURA 1A es una vista frontal y la FIGURA 1B una vista lateral de una sonda de recolección de cuentas de centrado 10. La sonda 10 está fabricada con un material consumible destinado a aplicaciones de un solo uso, que es un material polimérico. Una superficie de recolección 12 de la sonda 10 es generalmente circular y ligeramente curvada hacia el interior de lado a lado. Dicha curva convexa puede coincidir con la curvatura interior de un recipiente en el que esté previsto utilizar la sonda. En una realización alternativa, la superficie de recolección puede tener una forma diferente, como rectangular u oblonga.

- 40 La FIGURA 1C es una vista frontal y la FIGURA 1D una vista lateral de una sonda de recolección de cuentas de centrado 14. En una realización, la superficie de recolección 16 de la sonda 14 es rectangular y plana. Como se ha indicado anteriormente, pueden utilizarse diversas formas y curvaturas para la superficie de recolección 16. En otras realizaciones, ambas sondas 10 y 14 pueden incluir vástagos huecos o sólidos.

- 45 La FIGURA 2A ilustra un recipiente 20 que contiene una cantidad de fluido 22 a analizar. Una cantidad de cuentas magnéticas 24 están suspendidas en el fluido 22. La sonda 14 está situada por encima y cerca de una pared de la superficie interna del recipiente 20. Aunque en las figuras siguientes se muestra la sonda 14, puede utilizarse cualquier sonda adecuada como las descritas anteriormente en relación con las FIGURAS 1A - 1D. La sonda 14 puede introducirse en el recipiente 20 bajando la sonda 14 hasta un recipiente 20 que esté inmóvil, elevando el recipiente 20 mientras la sonda 14 está inmóvil, o mediante una combinación de ambos movimientos para proporcionar, por ejemplo, una traslación selectiva y coordinada hacia arriba y/o hacia abajo de la sonda de recolección de cuentas, el imán y el campo magnético establecido. En una realización, el recipiente 20 puede tener cualquier forma adecuada para contener un fluido, incluyendo la cilíndrica y la cuadrada, por ejemplo. Además, el lateral del recipiente 20 puede ser plano o curvo. En otra realización, el recipiente 20 también puede tener una superficie inferior curvada o puntiaguda en lugar de plana, como se muestra.

- 50 La FIGURA 2B ilustra el recipiente 20 de la FIGURA 2A en donde la sonda 14 se ha introducido en el recipiente 20 cerca de la pared 28 del recipiente. En una realización, el imán 26 está situado contra o adyacente a la pared 28 y próximo a la superficie de recolección 16 de la sonda 14. Un campo magnético generado por el imán 26 hace que las cuentas magnéticas 24 sean estiradas hacia la superficie de recolección 16 y retenidas en ella.

- 60 Las FIGURAS 3A - 3B ilustran el recipiente 20 durante la extracción de las cuentas magnéticas 24 del fluido 22. Tanto la sonda 14 como el imán 26 se mueven juntos con respecto al fluido 22. En la FIGURA 3A, la extracción de las cuentas magnéticas 24 puede realizarse de varias maneras. Por ejemplo, las cuentas magnéticas 24 pueden retirarse moviendo la sonda 14 y el imán 26 hacia arriba, como muestra la flecha 32, moviendo el recipiente 20 hacia abajo, como muestra la flecha 34, manteniendo la sonda 14 y el imán 26 en su sitio, o mediante una combinación de ambos movimientos. Un

trasladador mecánico está en comunicación con la sonda o el recipiente. En otra realización, los trasladadores mecánicos primero y segundo están en comunicación con la sonda y el recipiente, respectivamente. También se pueden proporcionar trasladadores mecánicos adicionales. A medida que la sonda 14 se extrae del fluido 22, el imán 26 se mantiene en una posición próxima a la superficie de recolección 16 de la sonda 14, y contra o adyacente a la pared del recipiente 28 en el exterior del recipiente, por lo que el campo magnético generado por el imán 26 hace que las cuentas magnéticas queden retenidas contra la superficie de recolección 16 a medida que las cuentas se extraen del fluido.

La FIGURA 3B ilustra otra realización de la extracción de las cuentas magnéticas 24 del fluido 22. En esta realización, tanto el recipiente 20 como la sonda 14 se mantienen sustancialmente inmóviles mientras el imán 26 se desplaza a lo largo de la pared 28 del recipiente, permaneciendo en las proximidades de la sonda 14. El campo magnético generado por el imán 26 hace que las cuentas magnéticas 24 permanezcan en contacto con la sonda 14 mientras se desplazan a lo largo de ésta hasta salir del fluido 22. En una realización, la superficie de recolección 16 de la sonda 14 puede alargarse de forma que se extienda por encima y por debajo de la superficie del fluido 22.

Una vez extraída del fluido 22, la sonda 14 puede retirarse completamente del recipiente, con o sin mover el imán 26. Para ello, las posiciones relativas de la sonda 14 y el imán 26 permanecen en proximidad el tiempo suficiente para que las cuentas magnéticas 24 salgan del fluido. Una vez libre del fluido, el imán 26 puede retirarse y la sonda 14 puede moverse libremente con las cuentas recogidas, ya que éstas permanecerían en la sonda 14. La sonda 14 puede trasladarse entonces (libre de cualquier imán) a un nuevo recipiente lleno de fluido (por ejemplo, otra memoria temporal de lavado).

Durante el procesamiento, las cuentas magnéticas y sus objetivos capturados pueden someterse a múltiples pasos de lavado en los que se introducen en un fluido, se agitan y luego se vuelven a extraer. Las realizaciones anteriores divulgan un método para extraer las cuentas magnéticas de un fluido. En otra realización, las cuentas magnéticas pueden colocarse en un fluido y lavarse por agitación sin soltar las cuentas magnéticas de la sonda de recolección de cuentas.

La FIGURA 4 ilustra una realización de una sonda de recolección de cuentas y un sistema para lavar las cuentas magnéticas sin soltarlas de la sonda. La sonda 14 se introduce en el fluido 22 dentro del recipiente 20. El imán 26 se utiliza para recoger y acumular las cuentas magnéticas 24 contra la superficie de recolección 16 de la sonda 14. Un agitador 40 está en comunicación mecánica con la sonda 14. En una realización, el agitador 40 puede ser cualquier dispositivo capaz de impartir movimiento a la sonda 14. Durante un paso de lavado, el agitador 40 imparte una vibración a la sonda 14. Los parámetros de vibración se eligen para dar lugar a una intensidad de vibración que haga que las cuentas magnéticas 24 se muevan unas respecto a otras sin soltarse de la superficie de recolección 16 debido al campo magnético establecido por el imán 26. En algunas realizaciones, el agitador 40 puede agitar selectivamente la sonda en ausencia de un campo magnético establecido por el imán 26.

Las FIGURAS 5A - 5C ilustran el proceso de mezcla proporcionado en asociación con la realización de la FIGURA 4. Sin embargo, el proceso de mezcla descrito a continuación puede utilizarse con cualquier realización descrita anteriormente. La superficie de recolección 50 de una sonda como la sonda 14 de la FIGURA 1C se inserta en un recipiente como el mostrado en la FIGURA 4 junto a la pared del recipiente 52 y por debajo de la superficie de un fluido como se indica en 54. Una cantidad de cuentas magnéticas representadas por 56, 58 se mantienen contra la superficie de recolección 50 mediante un campo magnético generado por el imán 60 en o próximo a una superficie exterior de la pared del recipiente 52. Las distinciones entre los distintos cuentas de centrado mostrados sirven para ilustrar el método de mezcla y no indican necesariamente diferencias en la composición de las cuentas.

En la FIGURA 5A, las cuentas magnéticas 56 se han retirado de un primer fluido (o el fluido se ha retirado del recipiente), pero aún conservan una cantidad de arrastre de fluido intersticial 62. En la FIGURA 5B, la superficie de recolección 50 se hace vibrar mediante un agitador 40 como el mostrado en la FIGURA 4. Una dirección de vibración se muestra mediante las flechas 64. Aunque las flechas 64 muestran una vibración de lado a lado, en una realización alternativa, la sonda y la superficie de recolección pueden vibrar en sentido ascendente y descendente, circularmente o en cualquier otro rango de movimiento.

Como se muestra en la FIGURA 5C, la vibración impartida a la superficie de sonda/recogida 50 produce un movimiento de las cuentas magnéticas con respecto a su ubicación original, como indica el cambio de posición de las cuentas magnéticas 56 y 58 entre las FIGURAS 5A y 5C. A medida que se mueven las cuentas magnéticas, la agitación también produce una liberación de fluido intersticial 62. El proceso de mezcla se realiza sin liberar las cuentas magnéticas en el fluido.

La FIGURA 6 es un diagrama de flujo que ilustra un método 600 para el proceso de extracción de cuentas magnéticas de un fluido, tal como se representa, por ejemplo, en las FIGURAS 3A o 3B. El método 600 incluye los pasos 608, 610, 612 y 614. En algunas realizaciones, el método 600 incluye al menos uno de los pasos 602, 604 y 606.

El paso 602 incluye depositar fluido en un recipiente. En un ejemplo del paso 602, se deposita una alícuota de una muestra de fluido. El fluido puede ser cualquier fluido que contenga una molécula objetivo de interés. El paso 604 incluye depositar una pluralidad de cuentas de centrado magnéticos dentro del recipiente. En un ejemplo del paso 604, las cuentas magnéticas pueden ser de diversos tamaños y pueden estar recubiertas de una superficie de sílice funcionalizada, por

ejemplo, para proporcionar la unión de moléculas que son objetivos de interés a las cuentas magnéticas. Los pasos 602 y 604 pueden realizarse en cualquier orden temporal, o sustancialmente de forma simultánea.

5 El paso 606 incluye la preconcentración de las cuentas magnéticas en el recipiente. En un ejemplo del paso 606, se coloca un imán junto al recipiente opuesto al lado en el que se introducirá o ya se ha introducido la sonda. En algunas realizaciones, el paso 606 puede llevarse a cabo antes o después del paso 608.

10 El paso 608 incluye disponer una sonda de recolección de cuentas de centrado dentro del recipiente. En un ejemplo del paso 608, una sonda de recolección de cuentas de centrado puede adoptar cualquiera de las formas descritas como se muestra en las FIGURAS 1A - 1D y se coloca en un recipiente en un lugar adyacente a una porción de una pared del recipiente.

15 El paso 610 incluye la disposición de un imán próximo a la sonda. En un ejemplo del paso 610, se coloca un imán fuera de la porción de pared del recipiente a la que la sonda de recolección de cuentas está opuesta y adyacente, estableciendo el imán un campo magnético dentro del recipiente.

20 El paso 612 incluye la acumulación de cuentas magnéticas en la sonda. En un ejemplo del paso 612, se recoge una pluralidad de cuentas magnéticas en la sonda de recolección de cuentas bajo la influencia del campo magnético establecido por el imán en el paso 610.

25 El paso 614 incluye la extracción de las cuentas magnéticas recogidas del fluido. En un ejemplo del paso 614, la sonda de recolección de cuentas y la pluralidad de cuentas magnéticas acumuladas se retiran moviendo el recipiente con respecto a la sonda de recolección de cuentas, moviendo la sonda de recolección de cuentas con respecto al recipiente, o una combinación de ambos movimientos.

La FIGURA 7 es un diagrama de flujo que ilustra un método 700 para el proceso de mezcla de cuentas magnéticas en un fluido, tal como se representa, por ejemplo, en la FIGURA 4. El método 700 incluye los pasos 708, 710, 712 y 714. En algunas realizaciones, el método 700 incluye al menos uno de los pasos 702, 704 y 706.

30 El paso 702 incluye depositar fluido en un recipiente. En un ejemplo del paso 702, se deposita una alícuota de una muestra de fluido. El fluido puede ser cualquier fluido que contenga una molécula objetivo de interés. El paso 704 incluye depositar una pluralidad de cuentas de centrado magnéticos dentro del recipiente. En un ejemplo del paso 702, las cuentas magnéticas pueden ser de diversos tamaños y pueden estar recubiertas de una superficie de sílice funcionalizada, por ejemplo, para proporcionar la unión de moléculas que son objetivos de interés a las cuentas magnéticas. Los pasos 702 y 704 pueden realizarse en cualquier orden temporal, o sustancialmente de forma simultánea.

35 El paso 706 incluye la preconcentración de las cuentas magnéticas en el recipiente. En un ejemplo del paso 706, se coloca un imán junto al recipiente opuesto al lado en el que se introducirá o ya se ha introducido la sonda. En algunas realizaciones, la etapa 706 puede llevarse a cabo antes o después de la etapa 708.

40 El paso 708 incluye disponer una sonda de recolección de cuentas de centrado dentro del recipiente. En un ejemplo del paso 708, una sonda de recolección de cuentas de centrado puede adoptar cualquiera de las formas descritas como se muestra en las FIGURAS 1A - 1D y se coloca en un recipiente en un lugar adyacente a una porción de una pared del recipiente.

45 La etapa 710 incluye la disposición de un imán próximo a la sonda. En un ejemplo del paso 710, se coloca un imán fuera de la porción de pared del recipiente a la que la sonda de recolección de cuentas está opuesta y adyacente, estableciendo el imán un campo magnético dentro del recipiente.

50 El paso 712 incluye la acumulación de cuentas magnéticas en la sonda. En un ejemplo del paso 712, se recoge una pluralidad de cuentas magnéticas en la sonda de recolección de cuentas bajo la influencia del campo magnético establecido por el imán en el paso 710.

55 El paso 714 incluye la agitación de al menos uno de los recipientes y la sonda de recolección de cuentas. En un ejemplo del paso 714, la agitación de al menos uno de los recipientes o de la sonda de recolección de cuentas hace que las cuentas magnéticas acumuladas en la sonda se muevan unas respecto a otras y liberen líquido intersticial de las cuentas, lavando así las cuentas. La pluralidad de cuentas magnéticas se acumula en la sonda de recolección de cuentas bajo la influencia de un campo magnético asociado al imán y permanece acumulada antes, durante y después de la agitación.

60 Las realizaciones descritas proporcionan varias ventajas. La provisión de una fuerza magnética desde el exterior del recipiente significa que las cuentas magnéticas pueden recogerse y/o concentrarse en un área relativamente pequeña, lo que da como resultado una sonda mucho más pequeña. El resultado es un menor arrastre de fluidos entre las fases de lavado y, por tanto, un proceso de lavado más rápido y eficaz. Otra ventaja es que el imán y la sonda consumible pueden controlarse de forma independiente. Esto simplifica la automatización y el accionamiento del imán y la sonda en el sistema.

65 Ambas ventajas sirven para mejorar y simplificar la extracción con cuentas magnéticas. Además, las realizaciones divulgadas permiten manipular las cuentas magnéticas a partir del fluido, lo que resulta mucho más rápido que manipular

el propio fluido. Sin necesidad de manipular el fluido, los amortiguadores pueden precargarse y desecharse tras su uso; esto elimina la necesidad de transferir los volúmenes de fluido dentro y fuera de los tubos mediante pipeta para realizar lavados secuenciales, reduciendo así el tiempo de procesamiento.

- 5 En una realización, las cuentas magnéticas pueden concentrarse dentro de un fluido utilizando un imán como el descrito anteriormente, pero en lugar de extraer las cuentas magnéticas del fluido, éste puede aspirarse y sustituirse por fluido fresco, como el fluido de lavado, evitando así el riesgo de derrame inadvertido de fluido durante el cruce entre recipientes de lavado sucesivos.
- 10 Otras ventajas de las realizaciones anteriores incluyen la mezcla de las cuentas magnéticas sin dispersarlos completamente en el fluido. Esto puede reducir el tiempo de lavado de las cuentas, ya que no es necesario soltar las cuentas de la sonda, resuspenderlos, mezclarlos y volver a recogerlos en la sonda. Además, no es necesario subir y bajar la sonda en el recipiente, ni desplazarla entre recipientes. Otra ventaja es que la agitación proporciona una mezcla eficaz de las cuentas en una zona muy localizada y no perturba el fluido, por lo que no es necesario cubrir o tapar el recipiente.
- 15 Pueden realizarse otras variaciones y modificaciones a las realizaciones descritas, con la consecución de algunas o todas sus ventajas. Los expertos en la materia apreciarán además que los sistemas y métodos descritos pueden modificarse sin apartarse de los conceptos expuestos en la presente. En consecuencia, la invención no debe considerarse limitada por las realizaciones divulgadas. Además, varias características de las realizaciones descritas pueden utilizarse sin el correspondiente uso de otras características. Por lo tanto, esta descripción debe leerse como meramente ilustrativa de
- 20 varios principios, y no en limitación de la invención que se define por las reivindicaciones adjuntas.
- 25 Los expertos en la materia pueden realizar muchos cambios en los detalles, los materiales y la disposición de las piezas y los escalones, aquí descritos e ilustrados, a la luz de las enseñanzas contenidas en el presente documento. Se entenderá que ciertas características y subcombinaciones son de utilidad y pueden emplearse sin referencia a otras características y subcombinaciones siempre que entren dentro del ámbito de las reivindicaciones. En consecuencia, se entenderá que las reivindicaciones siguientes no deben limitarse a las realizaciones divulgadas en la presente y pueden incluir prácticas distintas de las descritas específicamente, y deben interpretarse tan ampliamente como permita la ley.
- 30 Además, no es necesario que todos los pasos enumerados en las distintas figuras se lleven a cabo en el orden específico descrito.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema para la manipulación de cuentas de centrar magnéticos en un fluido, que comprende:

5 un recipiente (20) para recibir una alícuota de una muestra de fluido y una pluralidad de cuentas magnéticas (24) en su interior;
 una sonda de recolección de cuentas de centrar (14), y
 un imán (26) externo al recipiente (20) para establecer selectivamente un campo magnético dentro del recipiente (20),
 10 **caracterizado porque** la sonda de recolección de cuentas (14) está hecha de un material polimérico **y porque** el sistema comprende además un trasladador mecánico que está en comunicación con la sonda de recolección de cuentas (14) y el imán (26) para seleccionar y trasladar de manera coordinada hacia arriba de la sonda de recolección de cuentas de centrado (14), el imán (26) y el campo magnético establecido con respecto al recipiente (20) para extraer la sonda de recolección de cuentas (14) con la pluralidad de cuentas magnéticas (24) acumuladas del recipiente (20), o bien
 15 un trasladador mecánico que está en comunicación con el recipiente (20) para la traslación selectiva hacia abajo del recipiente (20) con respecto a la sonda de recolección de cuentas de centrado (14), el imán (26), el campo magnético establecido y la pluralidad de cuentas magnéticas (24) acumuladas en la sonda de recolección de cuentas (14), en la que la sonda de recolección de cuentas (14) está configurada para disponerse contra una superficie interior de una pared (28) del recipiente (20), en la que la pluralidad de cuentas magnéticas (24) se acumula en la sonda de recolección de cuentas (14) en presencia del campo magnético establecido, estando el imán (26) dispuesto próximo a la porción de la pared del recipiente (28) a la que la sonda de recolección de cuentas (14) está opuesta y adyacente.

2. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además un agitador (40) en comunicación mecánica con al menos uno de los recipientes (20) y la sonda de recolección de cuentas (14) para agitar selectivamente el recipiente (20) y/o el contenido del recipiente mientras la pluralidad de cuentas magnéticas (24) permanece acumulada en la sonda de recolección de cuentas (14), en donde el agitador (40) es para agitar selectivamente el recipiente (20) y/o el contenido del recipiente con el campo magnético establecido.

3. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el trasladador mecánico comprende:

un primer trasladador mecánico en comunicación con el imán (26) para la traslación selectiva hacia arriba del imán (26) y el campo magnético establecido para el movimiento selectivo hacia arriba de la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) en la sonda de recolección de cuentas (14), y
 35 un segundo trasladador mecánico en comunicación con la sonda de recolección de cuentas (14) para extraer la sonda de recolección de cuentas (14) y la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) del recipiente (20) después de que el primer trasladador mecánico haya desplazado la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) hacia arriba y fuera de la alícuota de muestra de fluido.

4. El sistema de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la agitación selectiva produce el movimiento de la pluralidad de cuentas magnéticas (24) unas respecto a otras mientras están acumuladas en la sonda de recolección de cuentas (14).

5. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado además porque comprende:

45 una pipeta para extraer selectivamente la alícuota de muestra de fluido del recipiente (20) tras la agitación selectiva con la pluralidad de cuentas magnéticas (24) acumuladas en la sonda de recolección de cuentas (14), que comprende además una fuente de fluido de lavado para inyectar una cantidad de fluido de lavado en el recipiente (20) tras extraer la alícuota de muestra de fluido del recipiente (20), y/o
 50 un trasladador mecánico en comunicación con al menos una de la sonda de recolección de cuentas (14), el imán (26) y el recipiente (20) para separar la sonda de recolección de cuentas (14), con la pluralidad de cuentas magnéticas (24) acumuladas en ella, del recipiente (20).

6. Método de extracción de cuentas magnéticas (24) de una muestra de fluido, que comprende:

55 depositar una alícuota de muestra de fluido dentro de un recipiente (20);
 depositar una pluralidad de cuentas magnéticas (24) en el interior del recipiente (20);
 disponer una sonda de recolección de cuentas de centrado (14) hecha de un material polimérico dentro del recipiente (20) adyacente a una porción de la pared (28) del mismo;
 60 disponiendo un imán (26) próximo a la porción de pared del recipiente (28) a la que la cuenta sonda de recolección (14) es opuesta y adyacente, el imán (26) estableciendo un campo dentro del recipiente (20);
 acumular la pluralidad de cuentas magnéticas (24) en la sonda de recolección de cuentas (14) bajo la influencia del campo magnético; y
 65 mover el recipiente (20) con respecto a la sonda de recolección de cuentas (14), el imán (26) y la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) recogidas en la sonda de recolección de cuentas (14).

7. El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque comprende:

5 disponer de un imán auxiliar próximo a una porción de pared del recipiente (28) opuesta a la porción de pared del recipiente (28) a la que está adyacente la sonda de recolección de cuentas (14), estableciendo el imán auxiliar un campo magnético dentro del recipiente (20), o bien
 10 agitando al menos uno de los recipientes (20) y la sonda de centrado (14) para lavar la pluralidad de cuentas magnéticas (24) acumuladas en la sonda de centrado (14), o bien
 mover la sonda de recolección de cuentas (14), la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) y el imán (26) con respecto al recipiente (20) para extraer la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) de la alícuota de muestra de fluido, o bien
 15 moviendo el imán (26) y el campo magnético establecido en relación con la sonda de recolección de cuentas (14) y el recipiente (20) para desplazar la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) en la sonda de recolección de cuentas (14) fuera de la alícuota de muestra de fluido.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 6, que además comprende:

20 mover el recipiente (20) en relación con la sonda de recolección de cuentas (14), el imán (26), el campo magnético establecido y la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) para extraer la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) de la alícuota de muestra de fluido, comprendiendo además
 desplazar la sonda de recolección de cuentas (14) y la pluralidad acumulada de cuentas magnéticas (24) fuera del recipiente (20).

9. El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado además porque comprende:

25 agitar al menos uno de los recipientes (20) y la sonda de recolección de cuentas (14) para lavar la pluralidad de cuentas magnéticas (24),
 mediante el cual la pluralidad de cuentas magnéticas (24) se acumula en la sonda de recolección de cuentas (14) bajo la influencia de un campo magnético asociado al imán (26) y permanece acumulada antes, durante y después de la agitación,
 30 en donde la agitación se produce antes de disponer el imán (26) próximo a la pared del recipiente (28), o bien
 en donde la agitación se produce tras disponer el imán (26) próximo a la pared del recipiente (28).

10. El método de acuerdo con la reivindicación 9 comprende además la disposición de un imán auxiliar próximo a una porción de pared del recipiente (28) opuesta a la porción de pared del recipiente (28) a la que está adyacente la sonda de recolección de cuentas (14), estableciendo el imán auxiliar un campo magnético dentro del recipiente (20).

11. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque comprende:

40 pipetear la alícuota de muestra fluida del recipiente (20) después de agitarla, y
 extraer la sonda de recolección de cuentas (14) y la pluralidad de cuentas magnéticas (24) acumuladas en ella tras el pipeteado.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la agitación se realiza mediante un agitador conectado mecánicamente a una porción del recipiente (20), o bien

45 en donde la agitación se realiza mediante un agitador conectado mecánicamente a una porción de la sonda de recolección de cuentas (14), o bien
 en donde la agitación se realiza a una intensidad igual o inferior a aquella a la que las cuentas magnéticas (24) de la pluralidad de cuentas magnéticas (24) se mueven unas respecto a otras mientras permanecen acumuladas en la sonda de recolección de cuentas (14).

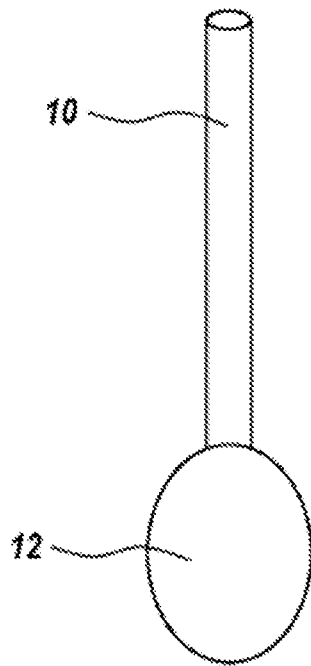


Fig. 1A

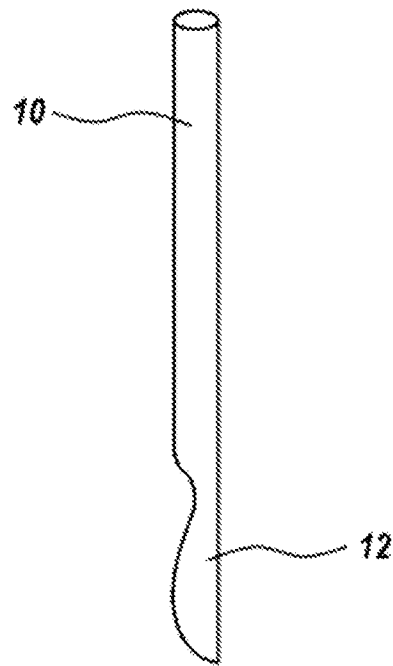


Fig. 1B

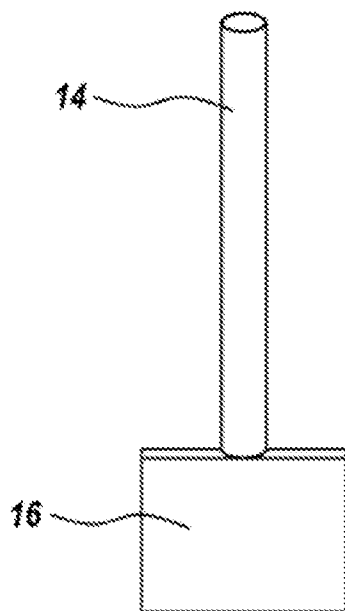


Fig. 1C

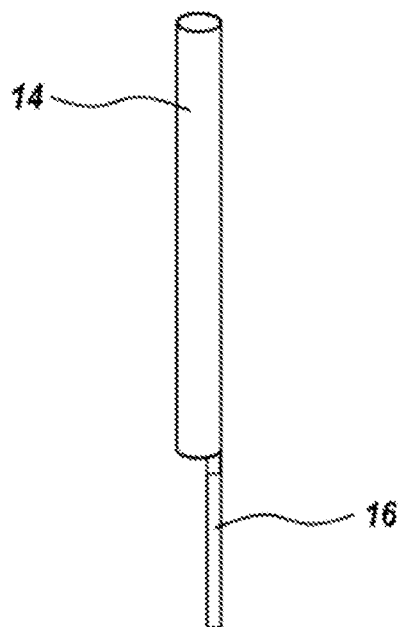


Fig. 1D

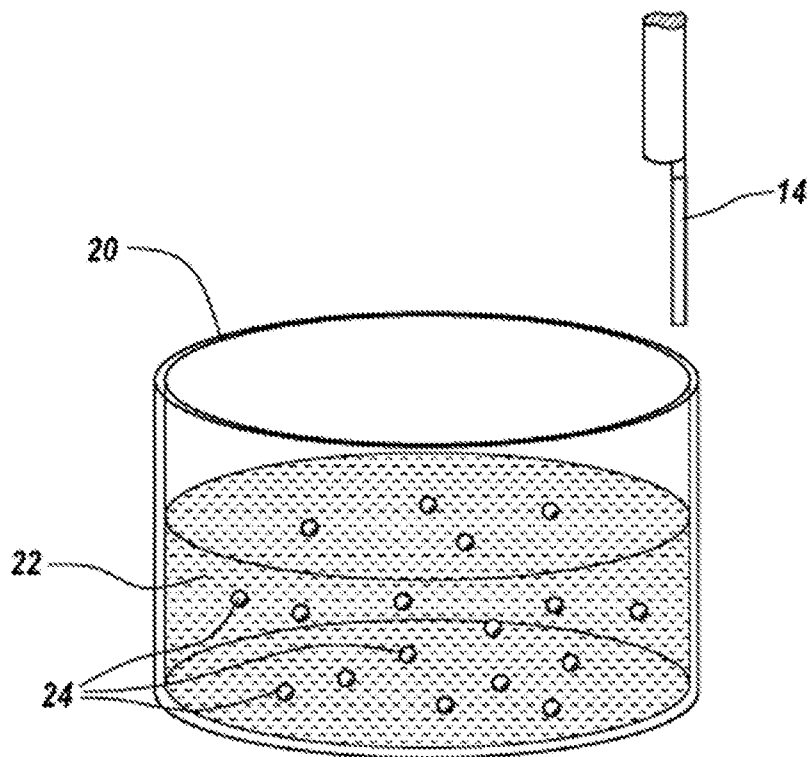


Fig. 2A

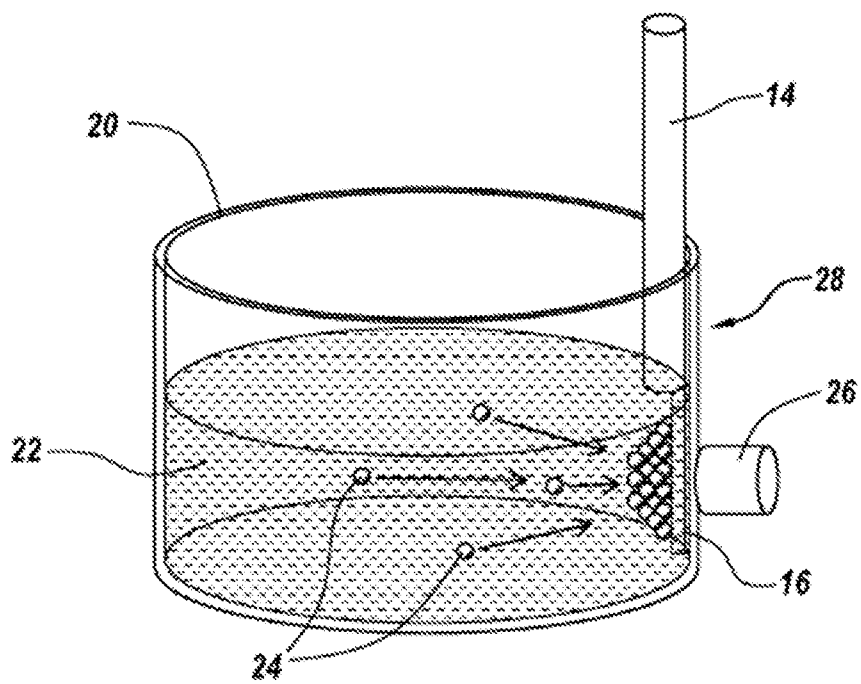


Fig. 2B

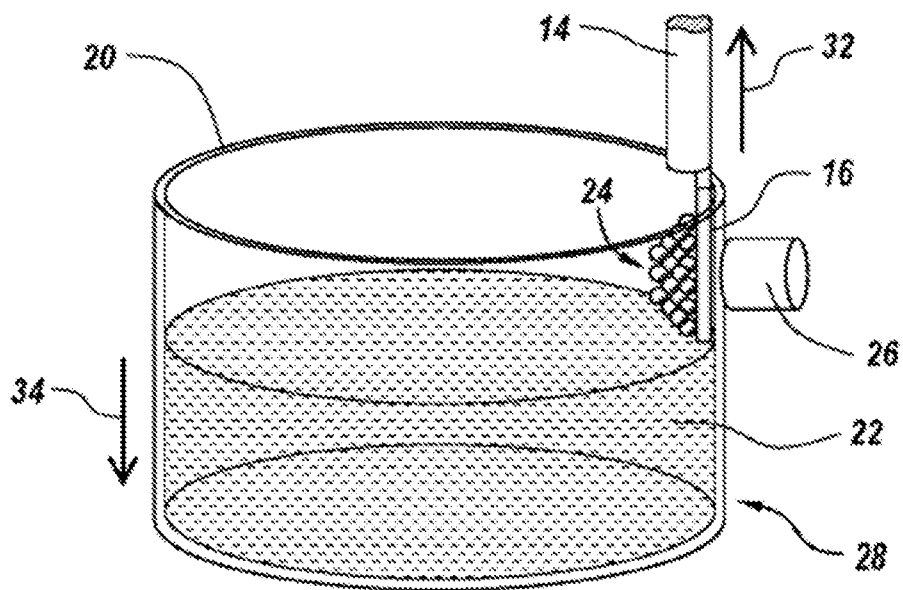


Fig. 3A

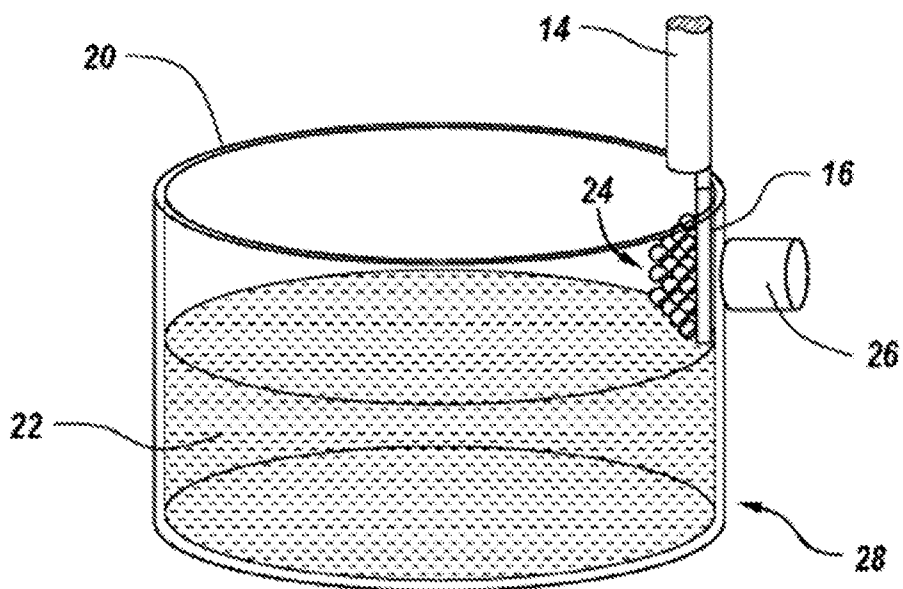


Fig. 3B

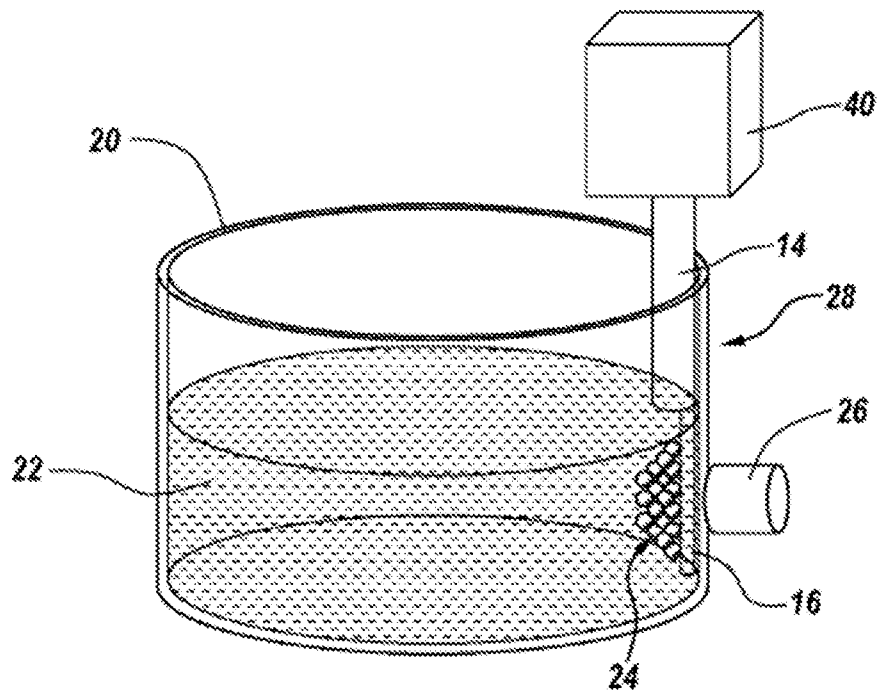


Fig. 4

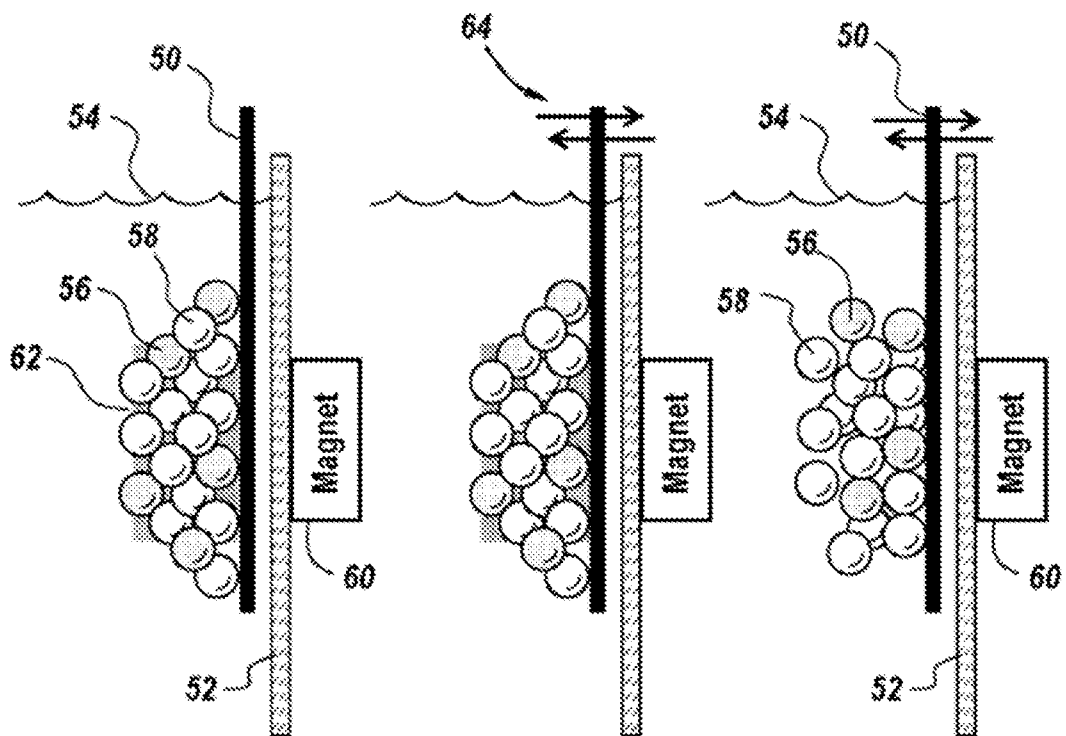


Fig. 5A

Fig. 5B

Fig. 5C

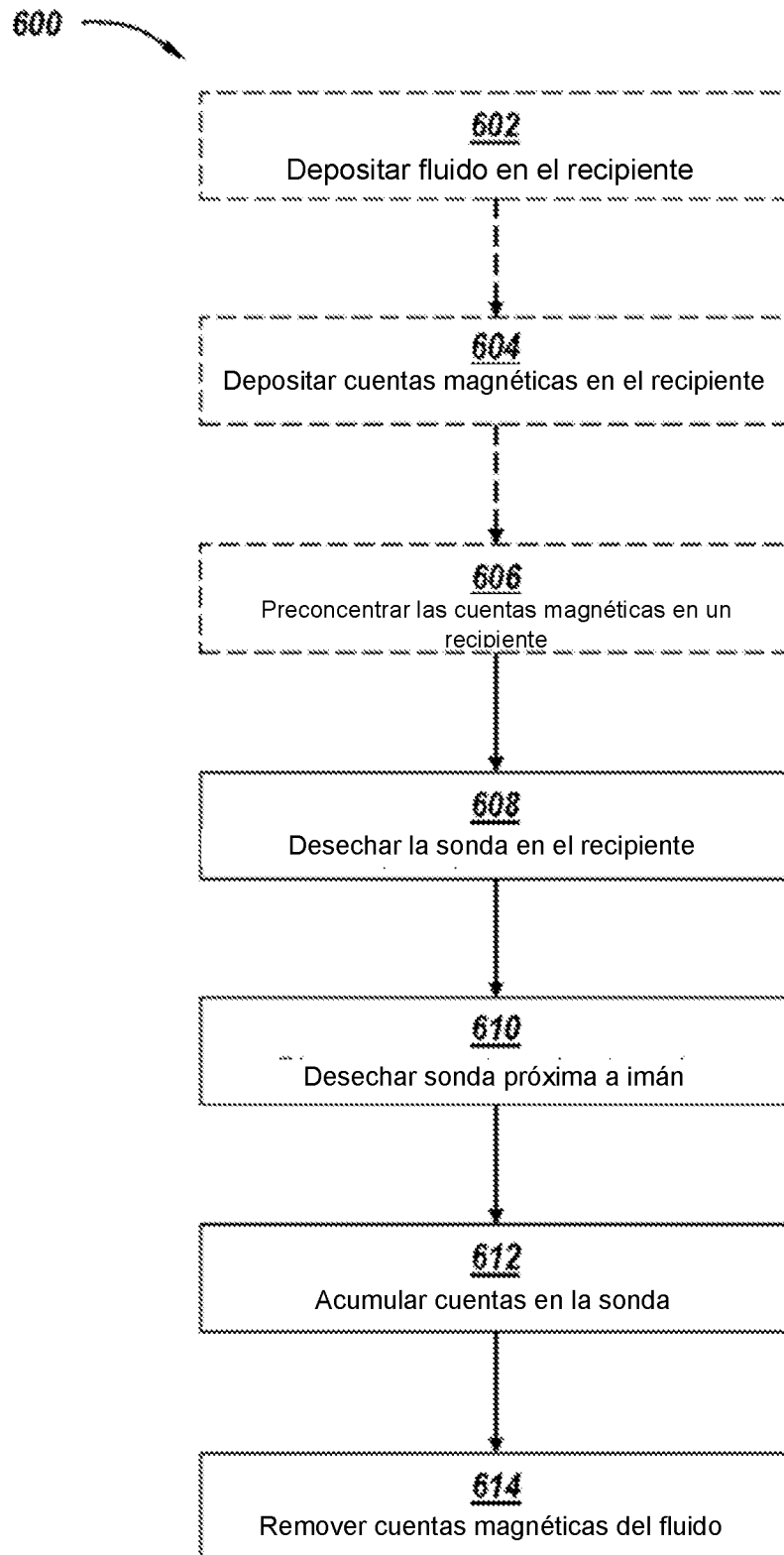


Fig. 6

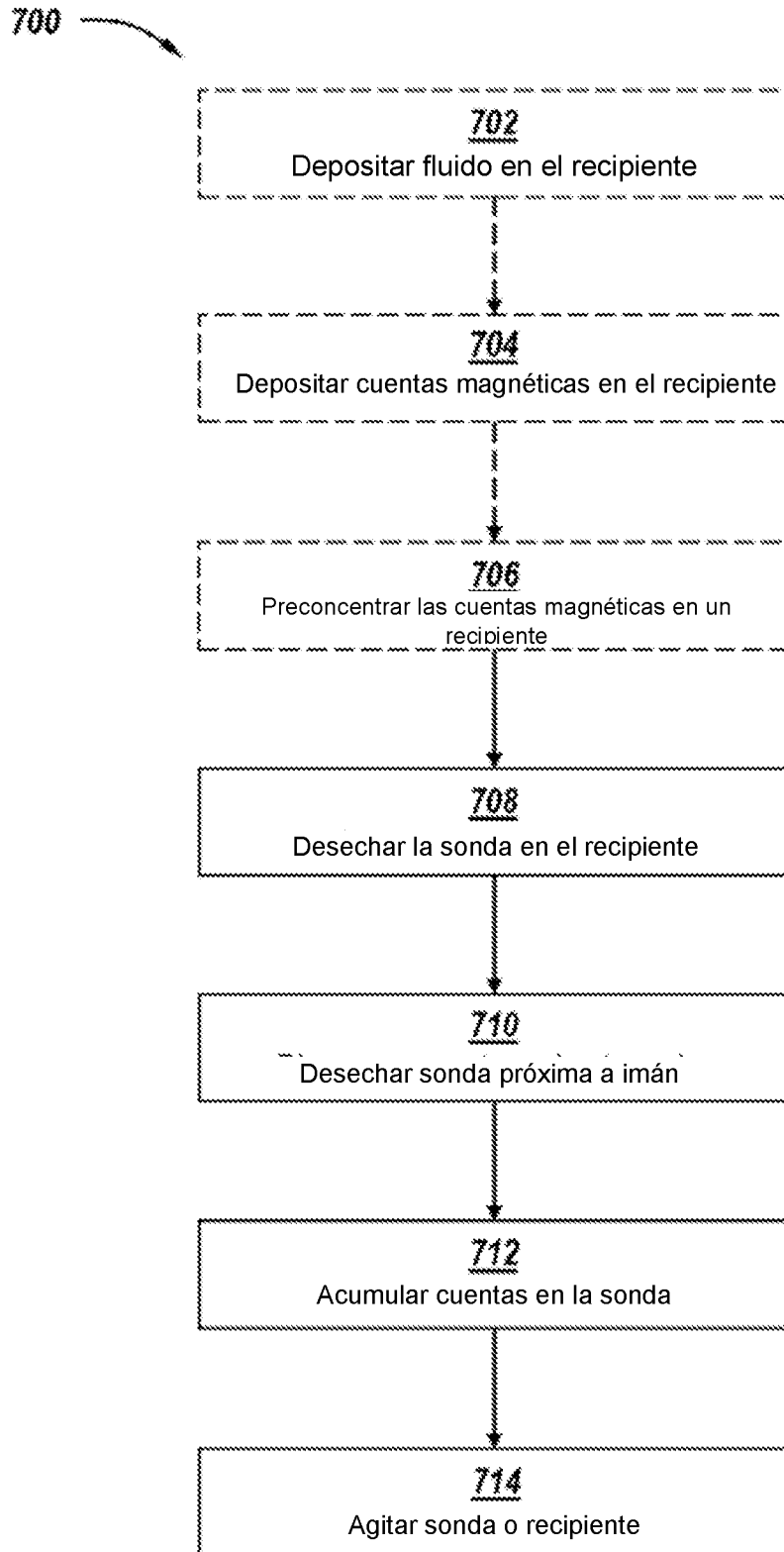


Fig. 7