

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 809 166**

51 Int. Cl.:

**B01L 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.10.2017 PCT/IB2017/056473**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.04.2018 WO18073760**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2017 E 17800613 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2020 EP 3528948**

54 Título: **Sistema microfluídico**

30 Prioridad:

**18.10.2016 IT 201600104601**

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

**03.03.2021**

73 Titular/es:

**MENARINI SILICON BIOSYSTEMS S.P.A. (100.0%)  
Via G. di Vittorio, 21 B/3  
40013 Castel Maggiore (BO), IT**

72 Inventor/es:

**MEDORO, GIANNI y  
CALANCA, ALEX**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 809 166 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**

Sistema microfluídico

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un sistema microfluídico para el aislamiento de partículas y a un aparato para la manipulación de partículas.

10 **Antecedentes de la invención**

En el campo del aislamiento de pequeñas partículas pertenecientes a una muestra, se conocen sistemas que comprenden una primera entrada a través de la que, en el uso, la muestra es introducida en el sistema; una unidad de separación, que comprende una cámara principal y una cámara de recuperación y está diseñada para transferir al menos parte de las partículas de un tipo dado desde la cámara principal a la cámara de recuperación de manera selectiva con respecto a más partículas de la muestra; uno o varios depósitos, diseñados para contener líquido y conectados fluidicamente a la unidad de separación; uno o varios accionadores para mover el líquido desde los depósitos a la unidad de separación.

20 US 2012/0184010 describe un ejemplo de tal sistema conocido.

En estos tipos de sistemas, parte del transporte de partículas se realiza moviendo el líquido (típicamente una solución tampón) en la que las partículas están contenidas. Sin embargo, se ha observado experimentalmente que este tipo de movimiento no siempre es fiable y exacto (no da resultados repetibles).

25 Además, el movimiento selectivo de las partículas dentro de la unidad de separación, realizándose dicho movimiento típicamente explotando otros sistemas (por ejemplo, dielectroforesis o magnetoforesis), en algunos casos no es completamente fiable y exacto.

30 El objeto de la presente invención es proporcionar un sistema microfluídico para el aislamiento de partículas y un aparato para la manipulación de partículas que superan, al menos parcialmente, los inconvenientes de la técnica conocida y son, al mismo tiempo, fáciles y baratos de producir.

35 **Resumen**

Según la presente invención, se proporcionan un sistema microfluídico para el aislamiento de partículas y un aparato para la manipulación de partículas como los definidos en las reivindicaciones independientes siguientes y, preferiblemente, en cualquiera de las reivindicaciones que dependen directa o indirectamente de las reivindicaciones independientes.

40 A no ser que se especifique explícitamente lo contrario, en el texto presente, los términos siguientes tienen los significados que se indican a continuación.

45 Por diámetro equivalente de una sección se entiende el diámetro de un círculo que tiene la misma área que la sección.

Por sistema microfluídico se entiende un sistema comprendiendo al menos un canal microfluídico y/o al menos una cámara microfluídica. En particular, el sistema microfluídico comprende al menos una bomba (más específicamente, una pluralidad de bombas), al menos una válvula (más específicamente, una pluralidad de válvulas) y, si es necesario, al menos una junta estanca (más específicamente, una pluralidad de juntas estancas).

50 En particular, por canal microfluídico se entiende un canal que tiene una sección con un diámetro equivalente menor de 0,5 mm.

55 En particular, la cámara microfluídica tiene una altura de menos de 0,5 mm. Más específicamente, la cámara microfluídica tiene una anchura y una longitud más grandes que la altura (más exactamente al menos cinco veces la altura).

60 En el texto presente, por partícula se entiende un corpúsculo que tiene una dimensión más grande menor de 500  $\mu\text{m}$  (ventajosamente menor de 150  $\mu\text{m}$ ). Ejemplos no limitadores de partículas son: células, residuos celulares (en particular, fragmentos de células), agregados de células (por ejemplo, pequeñas agrupaciones de células que derivan de células pluripotenciales tales como neuroesferas o mamoesferas), bacterias, lipoesferas, microesferas (en poliestireno y/o magnéticas), nanoesferas complejas (por ejemplo, nanoesferas de hasta 100 nm) formadas de microesferas unidas a células. Ventajosamente, las partículas son células.

65

Según algunas realizaciones, las partículas (ventajosamente células y/o residuos de células) tienen su dimensión más grande menor de 60  $\mu\text{m}$ .

5 Las dimensiones de las partículas pueden medirse de manera estándar usando microscopios con escala graduada o microscopios ordinarios usados con portaobjetos (en los que se depositan las partículas) que tienen una escala graduada.

En el texto presente, por dimensiones de una partícula se entiende la longitud, la anchura y el grosor de la partícula.

10 El término "selectivo" se usa para identificar un movimiento (u otros términos análogos que indiquen un movimiento y/o una separación) de partículas, en el que las partículas que son movidas y/o separadas son partículas en su mayor parte de uno o varios tipos dados. Ventajosamente, un movimiento selectivo (u otros términos análogos que indiquen un movimiento y/o una separación) implica mover partículas con al menos 90% (ventajosamente 95%) de partículas del tipo o tipos dados (porcentaje dado por el número de partículas del tipo o tipos dados con respecto al número de partículas en general).

### 15 Breve descripción de las figuras

20 La invención se describe a continuación con referencia a los dibujos acompañantes, que ilustran algunas de sus realizaciones no limitadoras, en los que:

La figura 1 es una vista lateral esquemática de un sistema según la presente invención.

25 La figura 2 es una vista en perspectiva despiezada de una parte del sistema de la figura 1.

La figura 3 es una vista en planta de la parte de la figura 2.

La figura 4 ilustra una sección a lo largo de la línea IV-IV de la parte de la figura 3.

30 La figura 5 es una fotografía de un componente del sistema de la figura 1 conectado a sensores durante una prueba experimental.

Y la figura 6 es una vista en planta de un elemento de la vista despiezada de la figura 2.

### 35 Descripción detallada

En la figura 1, el número 1 indica en general un sistema microfluídico para el aislamiento de partículas de al menos un tipo dado pertenecientes a una muestra. El sistema 1 comprende una entrada 2 (figura 6), a través de la que, en el uso, la muestra es introducida al sistema 1; una unidad de separación 3, que comprende una cámara principal 4 y una cámara de recuperación 5 y está diseñada para transferir al menos parte de las partículas de tipo dado desde la cámara principal 4 a la cámara de recuperación 5 de manera sustancialmente selectiva con respecto a partículas adicionales de la muestra. El sistema 1 también comprende al menos un depósito 6, que está diseñado para contener un líquido y está conectado fluidicamente (y directamente) a la unidad de separación 3; y al menos un accionador 7 (en particular, una bomba o un depósito a presión; figura 1) para mover el líquido al (a lo largo del) depósito 6 y al menos parte de la unidad de separación 3. En particular, el accionador 7 está diseñado para mover el líquido desde el depósito 6 a la unidad de separación 3.

50 En particular, el depósito 6 tiene un volumen (interno) de al menos 1  $\mu\text{l}$ . Más específicamente, el depósito 6 tiene un volumen (interno) de hasta 10 ml.

Según algunas realizaciones no limitadoras, la estructura y operación del sistema 1 corresponden a las descritas en las solicitudes de patente publicadas con los números WO2010/106428 y WO2010/106426.

55 Se deberá indicar que, según realizaciones que son alternativas entre sí, el depósito 6 está diseñado para contener la muestra (si es necesario, diluida en una solución tampón) o está diseñado para contener un líquido de transporte (más exactamente, una solución tampón), que, en particular, se usa en la práctica para transportar las partículas por arrastre.

60 En particular, en el primer caso, el depósito 6 está conectado fluidicamente (directamente) a la cámara principal 4 y el accionador 7 está diseñado para mover el líquido (conteniendo la muestra) desde el depósito 6 a la cámara principal 4. En particular, en el segundo caso, el depósito 6 está conectado fluidicamente (directamente) a la cámara de recuperación 5 y el accionador 7 está diseñado para mover el líquido de transporte desde el depósito 6 a la cámara de recuperación 5 (y si es necesario, posteriormente, a la cámara principal 4 y/o a una salida 10).

65 Según algunas variaciones, el depósito 6 está conectado fluidicamente (directamente) a la cámara principal 4 y está diseñado para contener un líquido de transporte (más exactamente, una solución tampón) que, en particular, se usa,

en la práctica, para transportar las partículas por arrastre. En estos casos, el accionador 7 está diseñado para mover el líquido de transporte desde el depósito 6 (directamente) a la cámara principal 4.

En la práctica, según algunas realizaciones no limitadoras y cuando el depósito 6 está conectado a la cámara de recuperación 5 y contiene el líquido de transporte, en el uso, la muestra (o una parte de ella) es transportada a la cámara principal 4 (figura 6). Las partículas de tipo dado son movidas selectivamente (por ejemplo, por medio de dielectroforesis) desde la cámara principal 4 a una zona de espera 8 de la cámara de recuperación 5. En este punto, debido al accionador 7 (figura 1) un flujo de una solución salina se hace fluir (operando apropiadamente las varias válvulas proporcionadas; en particular, manteniendo abierta una válvula 4' dispuesta en la salida de la cámara principal 4 y manteniendo cerradas las válvulas 8' y 9' dispuestas en la salida de la cámara de recuperación 5) del depósito 6 (figura 6) a través de la cámara principal 4. Por lo tanto, las partículas son movidas desde la zona de espera 8 a una zona de recuperación 9 de la cámara de recuperación 5. En este punto, debido al accionador 7 un flujo de una solución salina se hace fluir (operando apropiadamente las varias válvulas proporcionadas; en particular, manteniendo cerradas las válvulas 8' y 9' dispuestas en la salida de la cámara principal 4 y de la zona de espera 8 y manteniendo abierta la válvula 9' dispuesta en la salida de la zona de recuperación 9) del depósito 6 a través de la zona de recuperación 9 de modo que las partículas son enviadas a la salida 10, de la que pueden recuperarse después.

Obsérvese que cuando se indica que dos elementos están conectados "directamente" y/o en contacto, se quiere decir que ningún otro elemento está interpuesto.

Según algunas realizaciones no limitadoras, el sistema 1 comprende un dispositivo microfluídico 11 y un aparato 12 (figuras 1 y 2) para la manipulación (aislamiento) de partículas. En particular, el dispositivo microfluídico 11 y un aparato 12 son como los descritos en las solicitudes de patente publicadas con los números WO2010/106434 y WO2012/085884.

El sistema 1 comprende además un conjunto de regulación 13, que comprende al menos un dispositivo de regulación 14 que tiene al menos un elemento de transferencia de calor 15 dispuesto en (en particular, en contacto con) el depósito 6 para regular la temperatura del depósito 6, en particular, para absorber calor del depósito 6. Más exactamente, el elemento 15 comprende (se hace de) un material diseñado para conducir calor (en particular, metal; más específicamente, cobre). En particular, el elemento 15 no está en (en contacto con) la unidad de separación 3 (más exactamente, en la cámara principal 4 y la cámara de separación 3). Según algunas realizaciones, la distancia entre el elemento 15 y el depósito 6 es más corta que la distancia desde el elemento 15 a la unidad de separación 3 (más exactamente, a la cámara principal 4 y a la cámara de separación 3).

En algunos casos, el elemento 15 comprende (es) una chapa. Según realizaciones específicas (como la ilustrada; véase en particular la figura 4), el elemento 15 comprende (es) dos chapas de solapamiento.

En particular, el conjunto de regulación 13, por medio del dispositivo de regulación 14, que actúa, en el uso, mediante el elemento 15, está diseñado para regular la temperatura del depósito 6 (más específicamente, con el fin de mantener la temperatura del depósito 6 dentro de un rango dado). Ventajosamente, aunque no necesariamente, el dispositivo de regulación 14 está diseñado para quitar calor del elemento 15 (y, por lo tanto, del depósito 6).

Más exactamente, el elemento 15 (en particular, el dispositivo de regulación 14) está diseñado para transferir calor de y/o a (en particular, quitar calor de) una pared del depósito 6.

Se ha observado experimental e inesperadamente que, controlando la temperatura del líquido en el depósito 6, es posible obtener un movimiento más fiable, exacto y reproducible de las partículas.

Esto se debe probablemente principalmente a dos factores. En primer lugar, el control de la temperatura permite controlar la viscosidad del líquido y mantenerla dentro de un rango estrecho. En segundo lugar, el mantenimiento de la temperatura controlada (en particular, evitando que aumente) reduce el riesgo de que se desarrollen burbujas de aire.

En relación a la primera cuestión, se deberá indicar que, reduciendo la viscosidad del líquido, la cantidad de líquido necesaria para mover partículas por arrastre disminuye debido a una variación del número de Reynolds.

Con respecto a la segunda cuestión, se deberá indicar que las burbujas de aire crean obstrucciones que bloquean el movimiento de las partículas (también en la unidad de separación 3).

Según algunas realizaciones no limitadoras, el conjunto de regulación 13 (más exactamente, el dispositivo de regulación 14) comprende una bomba de calor 16 para quitar calor del elemento 15. Ventajosamente, aunque no necesariamente, la bomba de calor 16 está directamente en contacto (es decir, sin la interposición de más elementos) con el elemento 15. En particular, la bomba de calor 16 comprende (es) un refrigerador Peltier.

Según algunas realizaciones no limitadoras, la bomba de calor 16 (refrigerador Peltier) está diseñada para operar con una potencia de 5-8 vatios (en particular, 6-7 vatios).

5 Ventajosamente, aunque no necesariamente, el conjunto de regulación 13 (más exactamente, el dispositivo de regulación 14) comprende un aislante térmico 17 (ilustrado en la figura 2) dispuesto en el lado opuesto del elemento 15 con respecto al depósito 6. En particular, el aislante térmico 17 está directamente en contacto con una superficie del elemento 15 orientada al lado opuesto con respecto al depósito 6. Más exactamente, aunque no necesariamente, el aislante térmico 17 cubre dicha superficie (con la excepción de una zona en la que la bomba de calor 16 está dispuesta en contacto con el elemento 15).

10 Según algunas realizaciones no limitadoras, el conjunto de regulación 13 (más exactamente, el dispositivo de regulación 14) comprende un intercambiador de calor de líquido 18. En particular, el intercambiador de calor 18 está conectado a un circuito de refrigeración 19 (figura 1) provisto de un radiador 20, dos conductos 21 y 22, que conectan fluidicamente el intercambiador de calor 18 y el radiador 20, un ventilador 20' para enfriar el líquido presente en el radiador 20 y una bomba 23 para transportar el líquido refrigerante a lo largo de los conductos 21 y 22 y a través del intercambiador de calor 18 y el radiador 20.

15 Ventajosamente, aunque no necesariamente, el conjunto de regulación 13 (más exactamente, el dispositivo de regulación 14) comprende un sensor de temperatura 24 para detectar la temperatura del elemento 15. En particular, el sensor 24 está dispuesto en contacto directo con el elemento 15.

20 Según algunas realizaciones no limitadoras, el conjunto de regulación 13 (más exactamente, el dispositivo de regulación 14) comprende un sensor de temperatura 25 para detectar la temperatura del intercambiador de calor 18. En particular, el sensor 25 está dispuesto en contacto directo con el intercambiador de calor 18.

25 Según algunas realizaciones no limitadoras (y si el depósito 6 contiene el líquido de transporte y, por lo tanto, está conectado fluidicamente a la cámara de recuperación 5 y el accionador 7 y está diseñado para mover el líquido de transporte desde el depósito 6 a la cámara de recuperación 5), el sistema 1 comprende al menos otro depósito 26, que está dispuesto entre la entrada 2 y la unidad de separación 3 (en particular, la cámara principal) y conecta (directamente) fluidicamente (es decir, de manera que permita un paso de fluido) la entrada 2 y la unidad de separación 3 (en particular, la cámara principal). En particular, el depósito 26 está diseñado para contener al menos parte de la muestra. En este caso, el elemento 15 está dispuesto en el depósito 6 y el depósito 26.

30 En este caso, en particular, el sistema 1 también comprende otro accionador (más exactamente, una bomba de tipo conocido y no ilustrado), que está diseñado para mover el líquido desde el depósito 26 a la unidad de separación 3 (en particular, a la cámara principal 4).

35 Según realizaciones alternativas y no limitadoras, el accionador 7 también está diseñado para mover el líquido desde el depósito 26 a la unidad de separación 3. En estos casos, en particular, se proporciona un desviador que permite que el fluido a presión sea dirigido desde el accionador 7 hacia el depósito 6 o hacia el depósito 26 con el fin de mover el líquido desde el depósito 6 a la unidad de separación 3 o desde el depósito 26 a la unidad de separación 3, respectivamente.

40 Según algunas realizaciones no limitadoras, el depósito 26 está dispuesto entre este accionador adicional y la cámara principal 4. Según algunas realizaciones, la distancia entre el elemento 15 y el depósito 26 es más corta que la distancia desde el elemento 15 a la unidad de separación 3 (más exactamente, a la cámara principal 4 y a la cámara de separación 3).

45 En particular, el depósito 26 tiene un volumen (interno) de al menos 1  $\mu$ l. Más específicamente, el depósito 26 tiene un volumen (interno) de hasta 10 ml.

50 Según algunas realizaciones no limitadoras, el sistema 1 comprende un conducto 27, que está conectado fluidicamente a la cámara principal 4 para recibir el líquido procedente de la cámara principal 4; al menos una salida 10, que está conectada fluidicamente a la cámara de recuperación 5 y a través de la que, en el uso, pasa al menos parte de las partículas del tipo dado recogidas en la cámara de recuperación 5; y al menos un conducto 28 para conectar fluidicamente la cámara de recuperación a la salida.

En estos casos, el elemento 15 está dispuesto en la zona de los conductos 27 y 28 (y de los depósitos 6 y 26).

55 Según algunas realizaciones no limitadoras, el sistema 1 comprende un dispositivo microfluídico 11, que comprende la cámara principal 4, la cámara de recuperación 5, el depósito 6 (y, si es necesario, el depósito 26, los conductos 27 y 28 y la salida 10). En particular, en el uso, al menos parte de las partículas del tipo dado recogidas en la cámara de recuperación 5 salen del dispositivo microfluídico 11 a través de la salida 10.

60 Según algunas realizaciones no limitadoras, la unidad de separación 3 comprende un sistema de electrodos para el movimiento selectivo de las partículas.

En algunos casos, la unidad de separación comprende un sistema elegido del grupo que consta de: dielectroforesis, pinzas ópticas, magnetoforesis, acustoforesis (y su combinación). En particular, la unidad de separación comprende (es) un sistema de dielectroforesis.

5 Según algunas realizaciones, el sistema de dielectroforesis y/o su operación es el descrito en al menos una de las solicitudes de patente publicadas con los números WO0069565, WO2007010367, WO2007049120.

10 Ventajosamente, aunque no necesariamente, el sistema 1 comprende un aparato 12 para la manipulación (para el aislamiento) de partículas; el aparato 12 está provisto de un asiento 29 (ilustrado parcial y esquemáticamente en la figura 1), en el que se aloja el dispositivo 11 y que es móvil entre una posición abierta y una posición cerrada (para más detalle a este respecto, véanse, por ejemplo, las solicitudes de patente publicadas con los números WO2010/106434 y WO 2012/085884). El aparato 12 comprende el accionador 7 y el conjunto de regulación 13 (y, si es necesario, dicho accionador adicional). En particular, el dispositivo 11 es extraíble del aparato 12, cuando el  
15 asiento 29 está en la posición abierta.

20 Según algunas realizaciones, el aparato 12 comprende conectores eléctricos para conectar eléctricamente el aparato 12 al dispositivo microfluídico 11. En este caso, el dispositivo microfluídico 11 tiene más conectores eléctricos 11' acoplables con dichos conectores eléctricos.

25 Según algunas realizaciones no limitadoras, el sistema 1 (en particular, el conjunto de regulación 13) comprende un dispositivo de control 30 (figura 1), que está diseñado para controlar el dispositivo de regulación 14 con el fin de mantener sustancialmente constante la temperatura del depósito 6 (y, si es necesario, de dicho depósito adicional y conductos 27 y 28). En particular, el dispositivo de control 30 está diseñado para controlar el dispositivo de regulación 14 con el fin de mantener sustancialmente constante la temperatura del elemento 15. En particular, el dispositivo de control 30 está diseñado para regular la temperatura del elemento de transferencia de calor 15.

30 Más exactamente, el dispositivo de control 30 está diseñado para controlar el dispositivo de regulación 14 según los parámetros detectados por el sensor 24 con el fin de regular la temperatura del elemento de transferencia de calor 15, en particular con el fin de mantener la temperatura del elemento de transferencia de calor 15 a uno o varios valores definidos (más específicamente, en un rango de temperatura definido).

35 En particular, el dispositivo de control 30 está diseñado para operar el dispositivo de regulación 14 con el fin de mantener la temperatura del elemento 15 de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C (más específicamente, de aproximadamente 15°C a aproximadamente 25°C).

40 Más exactamente, el dispositivo de control 30 regula la operación de la bomba de calor 16 según los parámetros detectados por el sensor 24 (y por el sensor 25). De forma aún más exacta, en el uso, cuando el sensor 24 detecta una temperatura que es demasiado alta con respecto a una temperatura de referencia, el dispositivo de control 30 opera la bomba de calor 16 con el fin de quitar más calor del elemento 15.

45 Ventajosamente, aunque no necesariamente, el conjunto de regulación 13 comprende al menos un dispositivo de regulación adicional 31 que tiene al menos un elemento de transferencia de calor 32, que está dispuesto en la unidad de separación 3 para regular la temperatura de la cámara principal 4 y (y/o) de la cámara de recuperación 5 (en particular para absorber calor de la cámara principal 4 y/o de la cámara de recuperación 5).

50 Según algunas realizaciones, el elemento 32 no está en (en contacto con) el depósito 6 (más exactamente, una pared del depósito 6) (y posiblemente el depósito 26) (y posiblemente los conductos 27 y 28). Según algunas realizaciones, la distancia entre el elemento 32 y el depósito 6 (y posiblemente el depósito 26) (y posiblemente los conductos 27 y 28) es más grande que la distancia desde el elemento 32 a la unidad de separación 3 (más exactamente, a la cámara principal 4 y a la cámara de recuperación 5).

55 En este caso, ventajosamente, el dispositivo de control 30 está diseñado para controlar (operar) los dispositivos de regulación 14 y 31 independientemente uno de otro. En particular, el dispositivo de control 30 está diseñado para regular la temperatura de los elementos de transferencia de calor 15 y 32 independientemente uno de otro.

En particular, el dispositivo de control 30 está diseñado para regular la temperatura del elemento de transferencia de calor 32.

60 Más en concreto, el dispositivo de control 30 está diseñado para controlar el dispositivo de regulación 31 con el fin de mantener la temperatura del elemento 32 de aproximadamente -20°C a aproximadamente 40°C (más exactamente, de aproximadamente -5°C a aproximadamente 20°C).

65 Se ha observado que con el conjunto de regulación 13 y el dispositivo de regulación 31, se obtienen resultados especialmente buenos dado que es posible regular la temperatura de la unidad de separación 3 y el depósito 6

(conjuntamente con cualesquiera otros depósitos y/o conductos) de manera independiente. La unidad de separación 3 y el depósito 6 operan típicamente en condiciones muy diferentes.

5 Según realizaciones específicas no limitadoras (como la ilustrada en la figura 1), el dispositivo de regulación 31 comprende componentes similares sustancialmente idénticos a los del dispositivo de regulación 14 que cooperan uno con otro de manera sustancialmente idéntica a la descrita anteriormente con respecto al dispositivo de regulación 14. Más exactamente, el dispositivo de regulación 31 comprende un aislante térmico (no ilustrado), una bomba de calor 33 (en particular un refrigerador Peltier), un sensor 34 para detectar la temperatura del elemento 32 y un circuito de refrigeración 35, que está provisto de dos conductos 36 y 37, una bomba 38, un radiador 39 y un ventilador 39'.

Según algunas realizaciones no limitadoras, la bomba de calor 33 (refrigerador Peltier) está diseñada para operar con una potencia de 20-30 vatios (en particular, 24-16 vatios).

15 El dispositivo de control 30 actúa en los elementos del dispositivo de regulación 31 de forma análoga a la descrita anteriormente con respecto al dispositivo de regulación 14. También en este caso, más exactamente, el dispositivo de control 30 regula la operación de la bomba de calor 33 según los parámetros detectados por el sensor 34.

20 En particular, el dispositivo de control 30 está diseñado para operar el dispositivo de regulación 31 con el fin de mantener sustancialmente constante la temperatura de la unidad de separación 3. El dispositivo de control 30 está diseñado para operar el dispositivo de regulación 31 con el fin de mantener sustancialmente constante la temperatura del elemento 32.

25 Según realizaciones específicas no limitadoras (como la ilustrada), el dispositivo de control 30 comprende una unidad de control 41, que está diseñada para controlar (operar) el dispositivo de regulación 14, y una unidad de control 40, que está diseñada para controlar (operar) el dispositivo de regulación 31.

30 Ventajosamente, aunque no necesariamente, los elementos 15 y 32 están dispuestos en lados opuestos del dispositivo microfluídico 11. Esto reduce la posibilidad de su interferencia mutua.

35 Más exactamente, el sistema 1 no comprende más dispositivos reguladores (por ejemplo, comprendiendo una bomba de calor y/o un circuito de refrigeración, a través de los que fluye un líquido refrigerante, en el uso), diseñados para regular la temperatura (en particular, para absorber calor) del dispositivo 11 o una parte del mismo y comprendiendo respectivos elementos de transferencia de calor (dispuestos al menos cerca de, en particular en contacto con, el dispositivo 11).

Más en concreto, los elementos 15 y 32 están dispuestos encima y debajo (respectivamente) del dispositivo microfluídico 11.

40 Según algunas realizaciones, el elemento 15 está dispuesto a una distancia de menos de 500  $\mu\text{m}$  (en particular, menos de 300  $\mu\text{m}$ ) del dispositivo 11.

45 Ventajosamente, aunque no necesariamente, el elemento 32 está dispuesto separado de (no en contacto con) el dispositivo 11. En particular, el elemento 32 está dispuesto a al menos 0,1  $\mu\text{m}$  del dispositivo 11.

En algunos casos, el elemento 15 está dispuesto en contacto con el dispositivo 11.

50 Ventajosamente, aunque no necesariamente, el dispositivo de regulación 14 (más exactamente, el elemento 15) tiene una abertura pasante (un agujero) 42. En particular, la abertura 42 está dispuesta en la unidad de separación 3 (más exactamente, en la cámara principal 4 y la cámara de recuperación 5). Según algunas realizaciones, la abertura 42 está dispuesta en el elemento 32.

55 Se deberá indicar que la abertura 42 permite detectar ópticamente lo que sucede en la unidad de separación 3 (en particular, en la cámara principal 4 y/o en la cámara de recuperación 5). Esto permite que el movimiento selectivo de las partículas de tipo dado sea identificado y controlado de manera simple y eficiente.

60 Con referencia especial a la figura 5, se realizaron pruebas para probar el sistema 1 según la presente invención. Por ejemplo, en condiciones operativas era posible mantener la temperatura del depósito 6 a una temperatura del orden de 16°C a 17°C. De las pruebas realizadas se dedujo que es posible controlar correctamente la temperatura del depósito 6 y otras partes. En la figura 5 las letras A a I indican sensores de temperatura.

65 Según algunas realizaciones no limitadoras no ilustradas, el conjunto de regulación 13 comprende dos (o más) dispositivos de regulación 14 (cada uno estructurado y/u operando independientemente del otro, como se ha indicado anteriormente con respecto al dispositivo de regulación 14). Uno de los dispositivos reguladores 14 está dispuesto en el depósito 6 para regular su temperatura; el otro dispositivo de regulación 14 está dispuesto en el depósito 26 para regular su temperatura. El sistema 1 comprende el dispositivo de control 30, que está diseñado

5 para controlar (operar) los dispositivos reguladores 14 independientemente uno de otro. En particular, de esta forma es posible mantener los dos depósitos 6 y 26 a diferentes temperaturas uno de otro. Más exactamente, cada uno de los dispositivos reguladores 14 tiene un elemento respectivo 15, estando separados dichos elementos uno de otro (es decir, no en contacto). Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un aparato 12 como el definido anteriormente.

10 A no ser que se indique explícitamente lo contrario, al contenido de las referencias (artículos, libros, solicitudes de patente, etc) citadas en este texto se hace referencia en su totalidad en este documento.

## REIVINDICACIONES

1. Un sistema microfluídico para el aislamiento de partículas de al menos un tipo dado de una muestra; comprendiendo el sistema microfluídico (1) una entrada (2), a través de la que, en el uso, la muestra es introducida al sistema microfluídico (1); una unidad de separación (3), que comprende una cámara principal (4) y una cámara de recuperación (5) y está diseñada para transferir al menos parte de las partículas del tipo dado desde la cámara principal (4) a la cámara de recuperación (5) de manera selectiva con respecto a partículas adicionales de la muestra; al menos un primer depósito (6) que tiene un volumen interior de al menos 1  $\mu\text{l}$ , que está diseñado para contener un líquido y está conectado fluidicamente a la unidad de separación (3); y al menos un accionador (7) para mover el líquido desde el primer depósito (6) a la unidad de separación (3);
- 5  
10
- caracterizándose** el sistema microfluídico (1) porque comprende un conjunto de regulación (13), que comprende al menos un primer dispositivo de regulación (14) que tiene al menos un primer elemento de transferencia de calor (15) que está dispuesto en el primer depósito (6) con el fin de regular la temperatura del primer depósito (6), en particular, con el fin de absorber calor del primer depósito propiamente dicho; comprendiendo la unidad de separación (3) un sistema elegido del grupo que consta de: dielectroforesis, pinzas ópticas, magnetoforesis, acustoforesis y su combinación.
- 15
2. El sistema microfluídico según la reivindicación 1, donde el conjunto de regulación (13) comprende un dispositivo de control (30), que está diseñado para controlar el primer dispositivo de regulación (14) con el fin de regular la temperatura del primer elemento de transferencia de calor (15) y con el fin de mantener la temperatura del primer elemento de transferencia de calor (15) en un rango de temperatura definido.
- 20
3. El sistema microfluídico según la reivindicación 1 o 2, donde el conjunto de regulación (13) comprende un sensor de temperatura (24) para detectar la temperatura del primer elemento de transferencia de calor (15); y un dispositivo de control (30) diseñado para controlar el primer dispositivo de regulación (14) según los parámetros detectados por el sensor de temperatura (24) con el fin de regular la temperatura del elemento (15).
- 25
4. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes, donde el conjunto de regulación (13) comprende al menos un segundo dispositivo de regulación (31) que tiene al menos un segundo elemento de transferencia de calor (32), que está dispuesto en la zona de la unidad de separación (3) para regular la temperatura de la cámara principal (4) y la cámara de recuperación (5), en particular para absorber calor de la cámara principal (4) y de la cámara de recuperación (5).
- 30
5. El sistema microfluídico según la reivindicación 4, y comprendiendo un dispositivo de control (30), que está diseñado para controlar (operar) el primer y el segundo dispositivo de regulación (14, 31) independientemente uno de otro; en particular, el dispositivo de control (30) está diseñado para regular la temperatura del primer y el segundo elemento de transferencia de calor (15, 32) independientemente uno de otro.
- 35
6. El sistema microfluídico según la reivindicación 5, donde el dispositivo de control (30) comprende una primera y una segunda unidad de control (41, 40), independientes una de otra; la primera unidad de control (41) está diseñada para controlar (operar) el primer dispositivo de regulación (14); la segunda unidad de control (40) está diseñada para controlar (operar) el segundo dispositivo de regulación (31).
- 40
7. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones 4 a 6, y comprendiendo un dispositivo microfluídico (11) que, a su vez, comprende la cámara principal (4), la cámara de recuperación (5) y el primer depósito (6); el primer y el segundo elemento de transferencia de calor (15, 32) están dispuestos en lados opuestos del dispositivo microfluídico (11); en particular, el primer y el segundo elemento de transferencia de calor (15, 32) están dispuestos encima y debajo del dispositivo microfluídico (11).
- 45  
50
8. El sistema microfluídico según la reivindicación 7, donde el segundo elemento de transferencia de calor (32) está dispuesto en contacto con el dispositivo microfluídico (11); el primer elemento de transferencia de calor (15) está dispuesto a una distancia de menos de 500 pm del dispositivo microfluídico (11).
- 55
9. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes y comprendiendo al menos un segundo depósito (26), que conecta fluidicamente la entrada (2) a la unidad de separación (3) (y, en particular, está diseñado para contener al menos parte de la muestra); estando conectado fluidicamente el primer depósito (6) a la cámara de recuperación (5); estando dispuesto el primer elemento de transferencia de calor (15) en el primer y el segundo depósito (6, 26); en particular, el segundo depósito (26) está dispuesto entre la entrada (2) y la cámara principal (4) y conecta fluidicamente la entrada (2) a la cámara principal (4).
- 60
10. El sistema microfluídico según la reivindicación 9 y comprendiendo al menos un primer conducto (27), que está conectado fluidicamente a la cámara principal (4) para recibir líquido procedente de la cámara principal (4); al menos una salida (10), que está conectada fluidicamente a la cámara de recuperación (5) y a través de la que, en el uso, fluye al menos parte de las partículas del tipo dado recogidas en la cámara de recuperación (5); y al menos un segundo conducto (28) para conectar fluidicamente la cámara de recuperación (5) a la salida (10).
- 65

- 5 11. El sistema microfluídico según la reivindicación 10 y comprendiendo un dispositivo microfluídico (11), que comprende la cámara principal (4), la cámara de recuperación (5), el primer y el segundo depósito (6, 26) y el primer y el segundo conducto (27, 28); en el uso, al menos parte de las partículas del tipo dado recogidas en la cámara de recuperación (5) salen del dispositivo microfluídico (11) a través de dicha salida (10).
- 10 12. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones 7, 8 y 11 y comprendiendo un aparato (12) para la manipulación de partículas que está provisto de un asiento (29) que aloja el dispositivo microfluídico (11), que comprende primeros conectores eléctricos diseñados para conectar eléctricamente el aparato (12) al dispositivo microfluídico (11) y que es móvil entre una posición abierta y una posición cerrada; el dispositivo microfluídico (11) tiene además conectores eléctricos (11') que están acoplados a los primeros conectores eléctricos de manera separable y puede quitarse del aparato (12) cuando el asiento (29) está en la posición abierta; comprendiendo el aparato (12) el accionador (7) y el conjunto de regulación (13).
- 15 13. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes, donde la unidad de separación (3) comprende un sistema de electrodos para movimiento selectivo de las partículas.
- 20 14. El sistema microfluídico según alguna de las reivindicaciones precedentes, donde el dispositivo de regulación (14) para la transferencia de calor tiene una abertura pasante (42) en la zona de la unidad de separación (3), en particular con el fin de poder supervisar lo que sucede en la unidad de separación (3) (más en concreto, en la cámara principal (4) y en la cámara de recuperación (5)).
- 25 15. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes, donde el conjunto de regulación (13) comprende un sensor (24) para detectar la temperatura del primer elemento de transferencia de calor (15) y un dispositivo de control (30) para controlar el primer dispositivo de regulación (14) dependiendo de los parámetros detectados por el sensor (24), con el fin de regular la temperatura del primer elemento de transferencia de calor (15), en particular con el fin de mantener la temperatura del primer elemento de transferencia de calor (15) en uno o varios valores definidos.
- 30 16. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes, donde el conjunto de regulación (13) comprende el primer y al menos un segundo dispositivo de regulación (14, 31); el primer dispositivo de regulación (14) está dispuesto en el primer depósito (6), para regular su temperatura; el segundo dispositivo de regulación (31) está dispuesto en el segundo depósito (26), para regular su temperatura; el sistema (1) comprende un dispositivo de control (30), que está diseñado para controlar (operar) el primer y el segundo dispositivo de regulación (14, 31)
- 35 independientemente uno de otro.
- 40 17. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes, donde el conjunto de regulación (13) (en particular, el primer dispositivo de regulación (14)) comprende una bomba de calor (16) para absorber calor del primer elemento de transferencia de calor (15); la bomba de calor (16) comprende (en particular, es) un refrigerador Peltier.
- 45 18. El sistema microfluídico según una de las reivindicaciones precedentes, donde el primer dispositivo de regulación (14) comprende un intercambiador de calor (18) y un circuito de refrigeración (19), a través del que, en el uso, fluye un líquido refrigerante.
- 50 19. Un aparato provisto de un asiento (29), que está diseñado para alojar un dispositivo microfluídico (11), comprende primeros conectores eléctricos para conectar eléctricamente el aparato (12) al dispositivo microfluídico (11) y es móvil entre una posición abierta y una posición cerrada; el aparato comprende un accionador (7) y un conjunto de regulación (13) definido en alguna de las reivindicaciones precedentes; en particular, el dispositivo microfluídico (11) comprende la cámara principal (4), la cámara de recuperación (5) y el primer depósito (6).

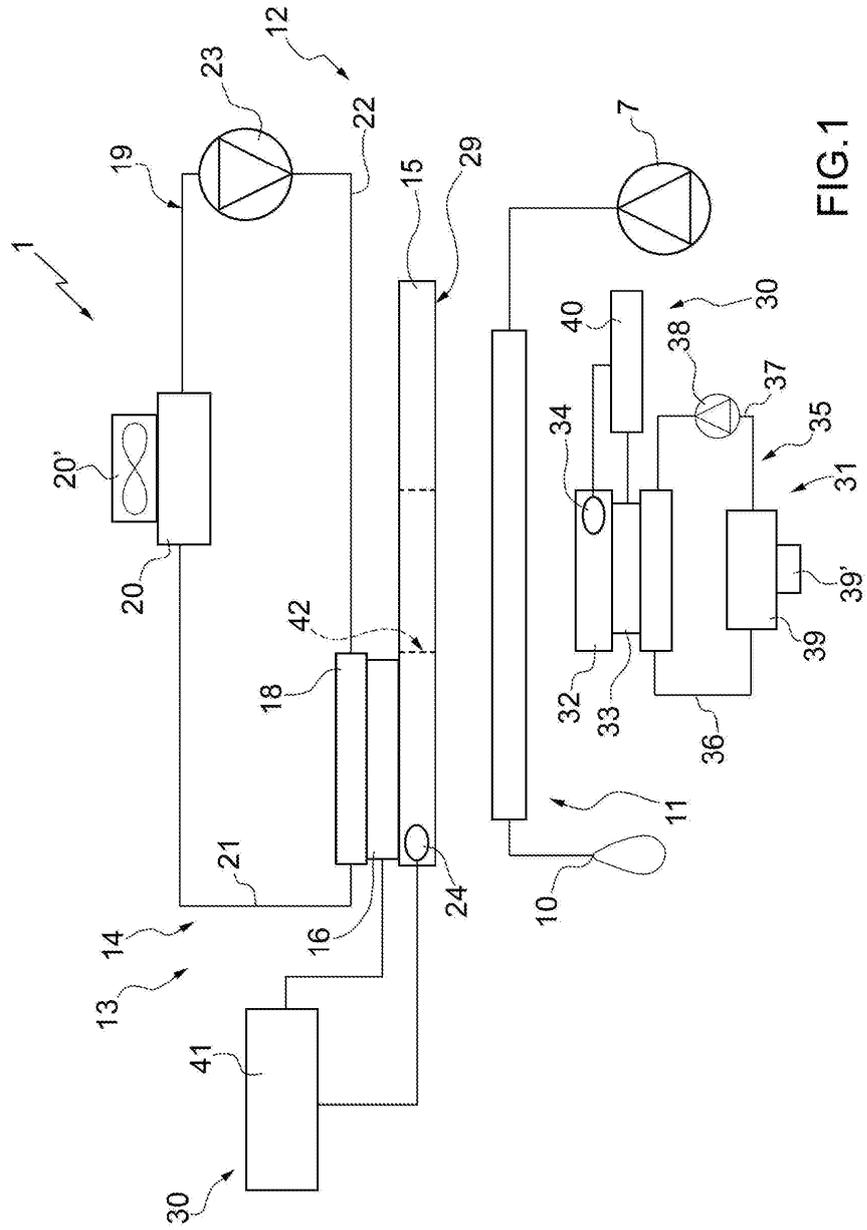


FIG.1

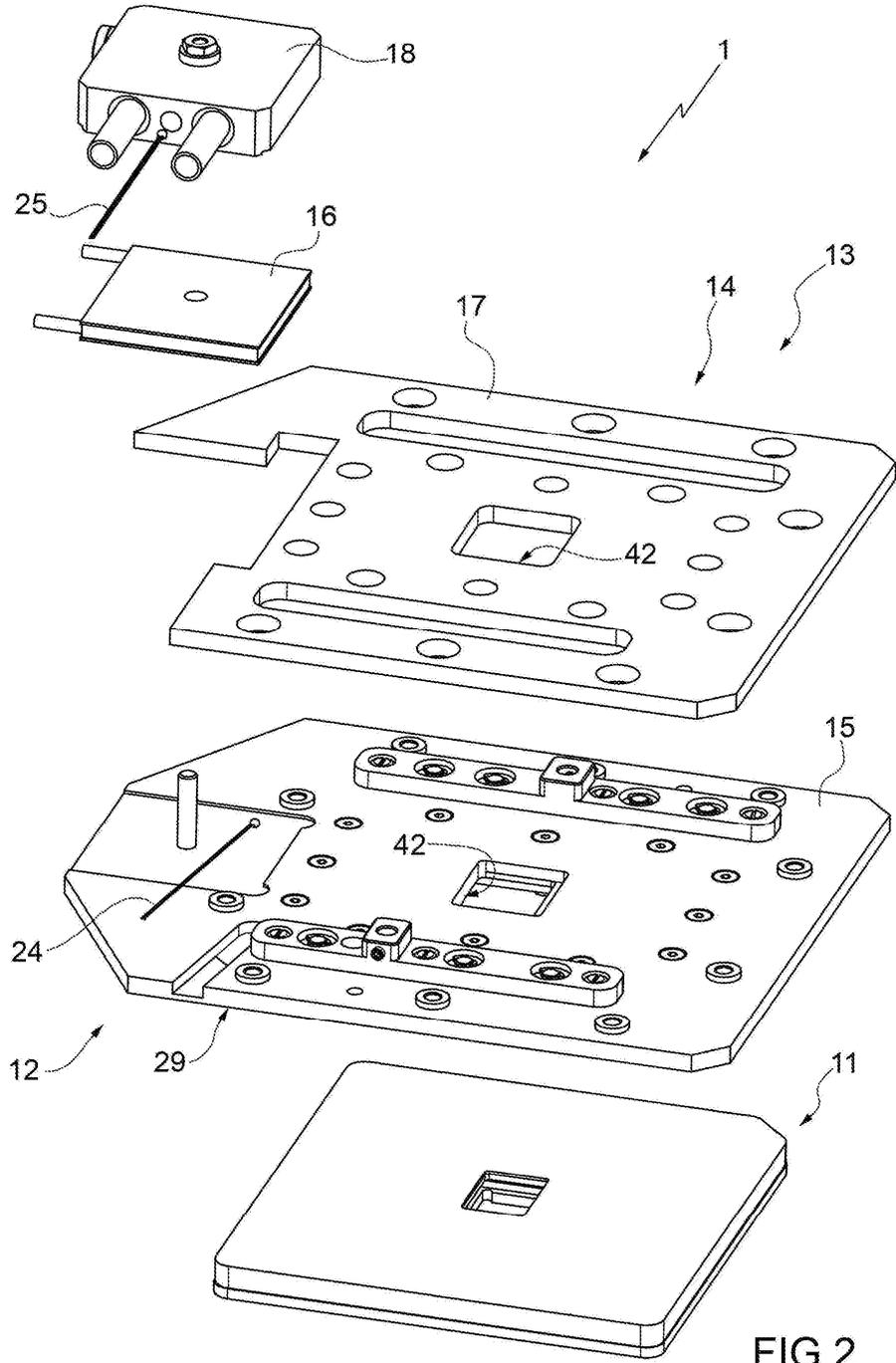


FIG.2

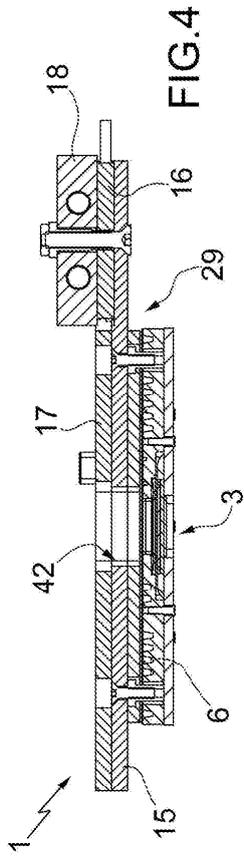


FIG. 4

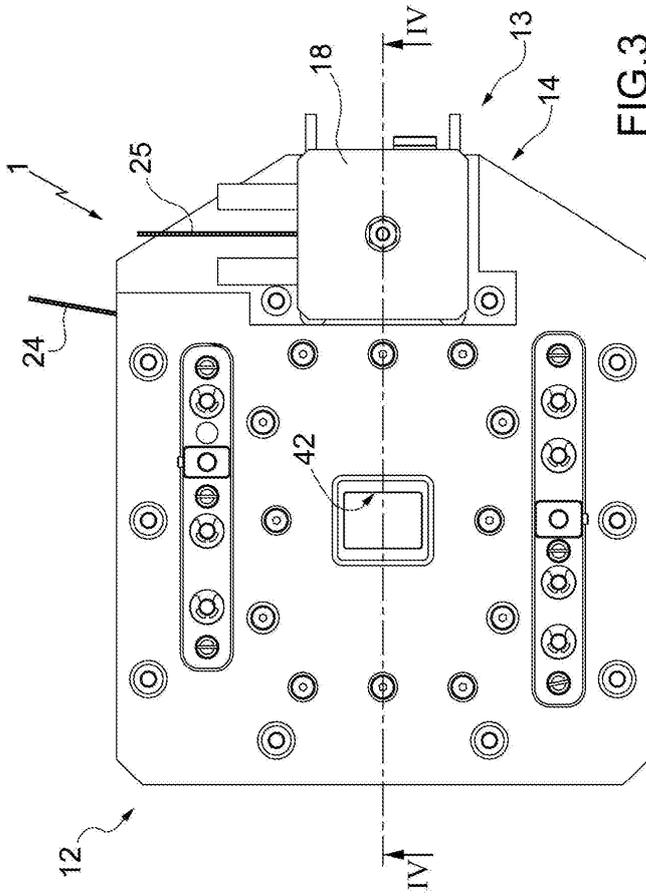


FIG. 3

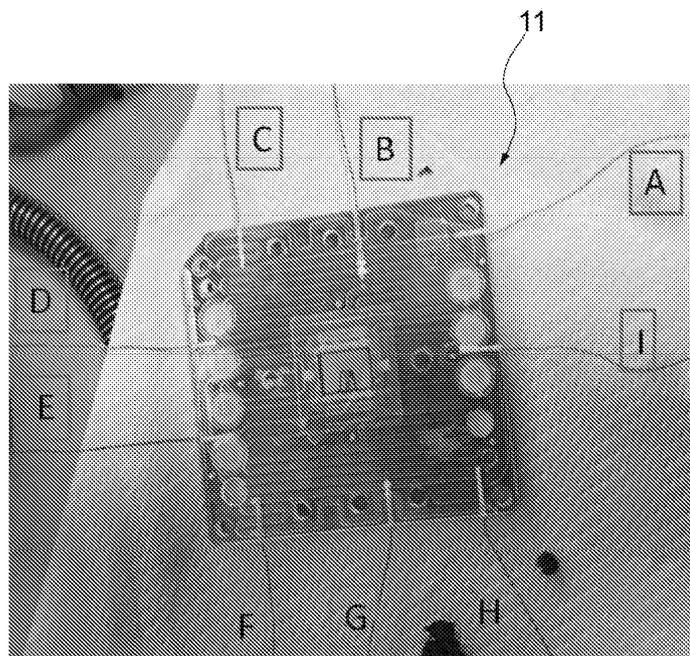


FIG.5

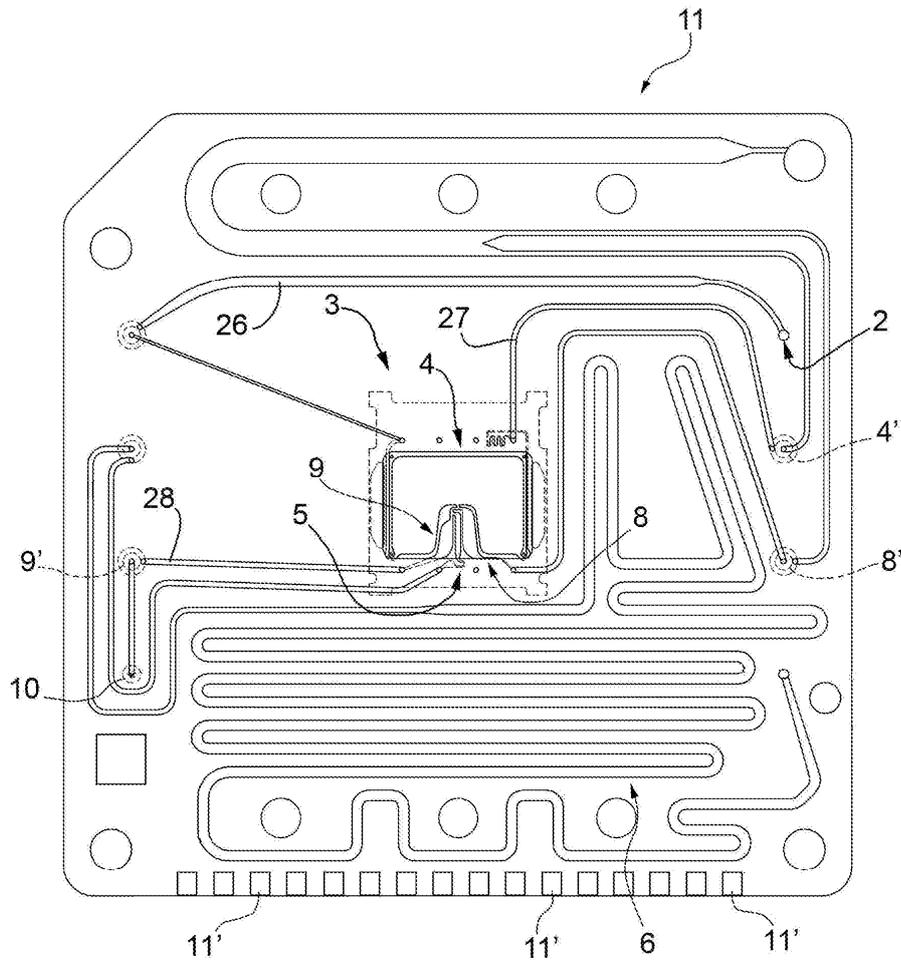


FIG.6