



УКРАЇНА

(19) UA (11) 19141 (13) U
(51) МПК (2006)
B01D 35/06

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) БАГАТОЗРАЗКОВИЙ МАГНІТНИЙ СЕПАРАТОР

1

2

(21) u200602576

(22) 09.03.2006

(24) 15.12.2006

(46) 15.12.2006, Бюл. №12, 2006р.

(72) Горобець Світлана Василівна, Волкова Надія
Миколаївна, Горобець Оксана Юріївна, Гойко Іри-
на Юріївна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ
ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Багатозразковий магнітний сепаратор, який
містить елементи, які створюють напрямок магніт-

ного поля та виконані в формі одного або групи
магніточутливих стержнів, які занурюються в тес-
тові комірки, наповнені магніточутливими частин-
ками з лінійними розмірами від 500нм до 25мкм, а
також постійний магніт, який встановлений ззовні
тестових зразків, але у безпосередній близькості
до магнітних елементів, який відрізняється тим,
що на кінцях магніточутливих стержнів жорстко
прикріплена дендритна система, яка рівномірно
розподілена в об'ємі тестового середовища.

Корисна модель відноситься до приладів та
методів магнітної сепарації, в яких використовую-
ються магніточутливі частинки для виділення пот-
рібної речовини з немагнітного середовища та
забезпечують створення магнітного поля в сере-
дині тестового середовища з метою сепарації маг-
ніточутливих частинок, наприклад парамагнітних
частинок від немагнітного середовища, а також
для проведення сепарації біологічних об'єктів у
різних клінічних та лабораторних дослідженнях,
включаючи біоспецифічні споріднені реакції. Він
може бути використаний в тих галузях промисло-
вості, де необхідне очищення рідких і газоподібних
середовищ як від феромагнітних, так і від нефе-
ромагнітних домішок.

Відомий багатозразковий магнітний сепаратор
[Офіційна газета США, US Patent 5.567.326, Oct.
22.1996], який складається з елементів, які ство-
рюють напрямок магнітного поля та виконуються в
формі одного або групи магніточутливих стержнів,
які занурюються в тестові комірки, наповнені маг-
ніточутливими частинками з лінійними розмірами
від 500нм до 25мкм, а також постійного магніту,
який встановлюється ззовні тестових зразків, але у
безпосередній близькості до магнітних елементів.

Недоліком цього сепаратора є магнітний за-
хват, який реалізується за допомогою стержнів, в
околі яких створюються значні градієнти магнітно-
го поля, завдяки дії яких, частинки притягуються та
утримуються в комірках, але збільшується кіль-
кість захоплених неспецифічних біооб'єктів, для
відокремлення яких необхідним є проведення опе-

рацій відмивання та ресуспендування частинок з
захопленими мішенями. Подібна технологія є дуже
незручною та громіздкою при сепарації та обробці
великої кількості зразків.

В основу корисної моделі поставлено завдан-
ня створити конструктивно простий сепаратор,
причому нескладний у експлуатації, який би змен-
шив втрати іммобілізованих клітин-мішеней, а та-
кож знизив кількість захоплених клітин-
немішеней. Крім того, цей сепаратор повинен ха-
рактеризуватися здатністю до одночасної магніт-
ної сепарації різних тестових зразків, використан-
ням одного джерела магнітного поля, яке зазвичай
виконується у виді магнітної системи, яка забезпе-
чує створення магнітного поля у магніточутливих
елементах з дендритною системою занурених у
тестові зразки, а також використовувати стандарт-
ні багатостінні комірки і бути придатним для вико-
ристання у різних лабораторних процесах сепара-
ції, зокрема для проб білок/ліганд та проб
гібридизації. Дані переваги досягаються за раху-
нок нової комбінації структурних характеристик та
фізичних параметрів.

Поставлене завдання досягається тим, що у
багатозразковому магнітному сепараторі, який
складається з елементів, які створюють напрямок
магнітного поля та виконуються в формі одного
або групи магніточутливих стержнів, які занурю-
ються в тестові комірки, наповнені магніточутли-
вими частинками з лінійними розмірами від 500нм
до 25мкм, а також постійного магніту, який встано-
влюється ззовні тестових зразків, але у безпосе-

(13) U
(11) 19141
(19) UA

редній близькості до магнітних елементів, згідно корисної моделі, на кінцях магніточутливих стержнів жорстко прикріплена дендритна система, яка рівномірно розподілена в об'ємі тестового середовища.

Причинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками та технічним результатом буде в наступному.

Термін "клітина-мішень" відповідає будь-якому елементу з специфічно зв'язаної пари, іншими словами пара елементів і їх структура, яка проявляє взаємно споріднену взаємодію. Дана система всюди вступає в реакції специфічного зв'язування. Термін "ліганд", відноситься до речовин, таких як біотин, антигени, білки, гаптени та різні клітинні структури, які здатні біоспецифічно зв'язуватися з рецепторами. Термін "рецептор" відноситься до будь-яких елементів чи груп елементів, які мають зв'язуючу ділянку чи високу зв'язуючу спорідненість відносно заданого ліганда. Більшість рецепторів можна визначити через біоспецифічні реакції з біотин-зв'язаними білками, антитілами (поліклональними та моноклональними), фрагментами антитіл, ферментами, нуклеїновими кислотами тощо. Визначення одного з елементів біоспецифічної зв'язаної пари залежить від його селективної взаємодії з іншим елементом пари. Термін "магніточутливий" відноситься до матеріалів, які можуть бути постійно намагніченими або до тимчасово магнітних матеріалів, тобто матеріалів, які можуть намагнічуватись у постійному магнітному полі, але залишаються немагнітними у його відсутності, наприклад, парамагнетики.

Магнітний сепаратор, запропонований у даній корисній моделі, може проводити одночасний процес обробки великої кількості зразків (96 зразків), а також дозволяє здійснювати кількісний відбір магніточутливих часток і просто та легко передавати їх на наступний етап обробки, наприклад, промивання. Зазвичай відсоток захоплених часток відповідає 95%. Сепаратор має відносно просту будову, а також легкий в експлуатації, проведення магнітної сепарації в рамках даної корисної моделі мінімізує витрати робочої рідини, так як тут використовуються одноразові комірки. Застосування даного пристрою дасть змогу значно підвищити ефективність сепарації.

Магніт встановлюється таким чином, щоб лінії напруженості магнітного поля були паралельними до елементів, тобто, при зануренні елементів у тестові зразки, індукується магнітне поле, яке притягує магніточутливі частинки до поверхні елемента. Як правило, магніт розташовують над елементами та тестовими зразками, крім того, конструктивно, передбачається можливість переміщення магніту з метою позиціонування зони захвату магніточутливих частинок, а також для створення можливості винесення тестових зразків з магнітного поля. Дана здатність до переміщення являється основною перевагою даної корисної моделі.

Магніточутливий елемент має циліндричну форму, типу шпильки чи заклепки, на кінцях якого знаходиться жорстко закріплена дендритна система. Характерні розміри дендритної системи дорівнюють розмірам цільових об'єктів, які підлягають

видаленню. Елемент виготовляється з парамагнітного матеріалу. Магніточутливі частинки, зазвичай, також парамагнітні.

На Фіг.1 представлений багатозразковий магнітний сепаратор, загальний вигляд; на Фіг.2 - вид збоку окремої комірки, магніточутливого елемента з дендритною системою.

Багатозразковий магнітний сепаратор складається з комірок 1 для утримання тестового середовища 2, множини магніточутливих металевих елементів 3 з жорстко прикріпленою дендритною системою 4, бази 5 для утримання комірок, плоскої магнітної системи 6, розташованої над або перпендикулярно по поздовжньої осі комірок та стержнів. В кожній з таких комірок 1 може проходити реакція по зв'язуванню елементів тестового зразка на поверхні магніточутливих частинок. Комірки 1 використовуються для утримання тестового середовища 2 і може мати циліндричну форму з відкритим верхом 7 та закритим дном 8. Комірки 1 мають циліндричну форму і вбудовані в базу. Комірки складаються з 96 елементів розташованих прямокутником зі сторонами дванадцять та вісім комірок, відповідно. Таке розташування комірок зустрічається найбільш часто, але являється можливим проектування будь-якої їх комбінації. Дані комірки можна використовувати одночасно або послідовно в залежності від вимог до проходження процесу сепарації.

Використовуються магніточутливі частинки, лінійні розміри яких лежать у діапазоні від 500нм до 25мкм. Ці частинки внесені у реакційні комірки 1. Магніточутливі елементи 3 з дендритними системами 4 розташовані таким чином, щоб було можливим їх занурення в окремі комірки з тестовими зразками, так щоб один елемент занурювався в одну комірку, а дендритна система рівномірно розподілена в усьому об'ємі тестового зразка. Магнітне поле, яке створюється в комірках змушує магніточутливі частинки рухатись до магніточутливого стержня з дендритною системою та прилипати до них. Після цього немагнітне середовище виводиться із сепаратора, поки магнітні частинки закріплені на магніточутливих елементах. Після чого, магнітне поле вимикають і відсепаровані частинки піддають промиванню. Особливості будови сепаратора передбачають можливість протікання різних реакцій у різних комірках. Виходячи з цього, можна зауважити, що даний спосіб значно скорочує час обробки, а відповідно і вартість біоаналітичних тестів.

При роботі, коли магнітна система 6 розташована над площиною елементів 9, елементи 3 занурюються в тестове середовище 2 і створюють магнітне поле у всьому їх об'ємі. На кінцях елементи 3 надійно закріплена дендритна система 4, яка занурена у комірку 1 з тестовим зразком 2. Інший кінець 10 кожного елемента 3 прикріплено до площини елемента 9. Постійне магнітне поле 6 розміщували так, щоб його джерело було розташоване вище комірок з тестовими зразками та магніточутливими елементами.

У якості елементів можна використовувати немагнітні, але магніточутливі матеріали. Дані елементи повинні мати діаметр більший, чим ста-

ндартна голка, тобто від 0,5 до 2мм та довжину від 6 до 15мм. Більш короткі голки зменшують втрати магнітного поля. Дендритна система 4 може мати тупі чи плоскі кінці, але їх характерний розмір повинен задовольняти розмірам об'єктам, які підлягають видаленню та рівномірно розташовуватися в об'ємі тестового середовища.

Багатозразковий магнітний сепаратор працює наступним чином.

Для проходження сепарації магніточутливих частинок від тестового середовища 2 за допомогою сепаратора, площина стержнів 9 виймається з комірок 1 і тестове середовище 2 поміщається у магнітне поле, на час необхідний для захоплення магніточутливих частинок на кінці 10 елементів 3 з дендритною системою 4 опущених в тестове середовище 2. Магніточутливі частинки залишаються на елементах з дендритною системою, навіть після видалення немагнітного тестового середовища 2. Схожі комірки з буферним розчином, можна помістити на базу 5 для промивки елементів або для будь-яких інших цілей. Якщо необхідно, ресуспендувати магнітні частинки назад в рідину, достатньо просто прибрати дію магнітного поля, забравши магнітну систему з позиції над площиною елементів. Тоді магнітні частинки звільняються від елементів та ресуспендуються в рідкий реагент, що полегшує проведення аналізів. Утримання магнітних частинок на елементах протягом деякого часу можна досягти, якщо винести елементи з області дії магнітного поля, до проведення подальшої обробки магнітних частинок. Слід відмітити, що стержні з дендритною системою мають залишкову намагніченість навіть після вимикання магнітного поля, однак для того, щоб

змити дані частинки достатньо поверхневого натягу рідини при вийманні та зануренні даних елементів. Перед використанням металеві стержні, з жорстко прикріпленою дендритною системою, протягом двох хвилин обробляється в 1N розчині гідроксиду натрію. Після чого елементи промивають дистильованою водою. Для багатократного використання, стержні, після кожного використання, промивають стандартним лабораторним миючим засобом з використанням щітки. Дана процедура слідує за промиванням у розчині гідроксиду натрію. Крім того, стержні можна стерилізувати в автоклаві для видалення нуклеотидів та нуклеїнових кислот.

Зовнішнє магнітне поле, як правило, створюється за допомогою постійного магніту. Для даного приладу, використовувались 24 циліндричних магніти, 0,6 дюймів в діаметрі та 1/4 дюйма в висоту, розташованих у одній площині.

Технічна перевага полягає у конструктивно простому, нескладному в експлуатації сепараторі, зменшенні втрати іммобілізованих клітин-мішеней, зниженні кількості захоплюваних клітин-немішеней. Крім того, цей сепаратор характеризується здатністю до одночасної магнітної сепарації різних тестових зразків, використанням одного джерела магнітного поля, яке виконується у виді магнітної системи, яка забезпечує створення магнітного поля у магніточутливих елементах з дендритною системою занурених у тестові зразки, а також у використанні стандартних багатостінних комірок і придатний для використання у різних лабораторних процесах сепарації. Ці переваги досягаються за рахунок нової комбінації структурних характеристик та фізичних параметрів.

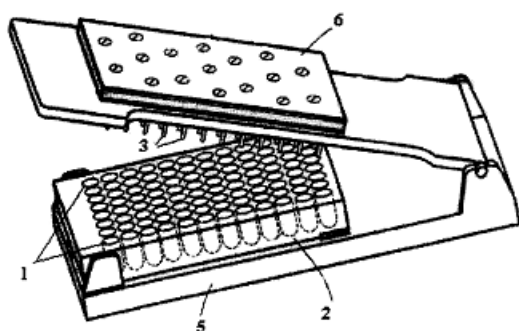


Fig. 1

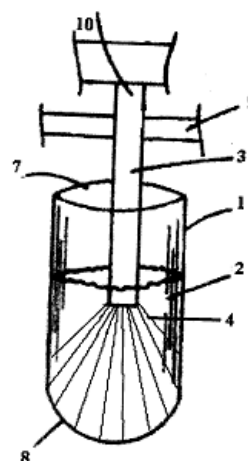


Fig. 2