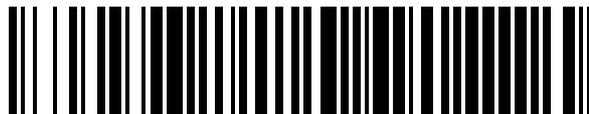


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 201 911**

21 Número de solicitud: 201731036

51 Int. Cl.:

**C12M 1/36** (2006.01)

**C12M 3/00** (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

**07.09.2017**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**21.12.2017**

71 Solicitantes:

**CRIADO SCHOLZ, Enrique (100.0%)**  
**Avenida Severo Ochoa nº 67**  
**29600 MARBELLA (Málaga) ES**

72 Inventor/es:

**CRIADO SCHOLZ, Enrique**

74 Agente/Representante:

**SEGURA MAC-LEAN, Mercedes**

54 Título: **PLACA DE DESVITRIFICACIÓN DE PROTOCOLOS CON INDICADOR DE TEMPERATURA**

ES 1 201 911 U

**PLACA DE DESVITRIFICACIÓN DE PROTOCOLOS CON INDICADOR DE  
TEMPERATURA**

5

**DESCRIPCIÓN**

**OBJETO DE LA INVENCION**

10 La presente invención pertenece al campo del cultivo o conservación de células y microorganismos; más concretamente a la conservación de células humanas, animales o vegetales.

15 El objeto principal de la presente invención es una placa de cultivo que permite desvitrificar células a 37°C con un indicador de temperatura independiente para estar seguro (sin contaminar los medios que estarán en contacto con las células) que el protocolo de desvitrificación se realiza a la misma temperatura en todos los “pocillos” que contienen el medio de desvitrificación con las distintas concentraciones de crioprotector.

20

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Actualmente existen dos técnicas para la conservación celular: el enfriamiento lento y la vitrificación.

25

El enfriamiento lento o “slow freezing” está basado en el control de la tasa de enfriamiento con el objetivo de crear un equilibrio entre los distintos factores que causan daño celular, entre los que se encuentran la formación de hielo, fracturas y una excesiva deshidratación de la célula.

30

35 En 1986, Chen C. logra el primer nacimiento obtenido a partir de ovocitos humanos criopreservados tras la aplicación de este método, usando un protocolo de congelación basado en la adición de dimetilsulfoxido (DMSO). Desde entonces los resultados han sido muy variables, obteniéndose una baja supervivencia debido a la formación intracelular de cristales de hielo y otros daños, tales como la alteración del huso mitótico y la zona pelúcida. Se parte desde una temperatura ambiente hasta valores de -150°C, realizando

cada fase con diferentes velocidades de descenso de temperatura que oscilan entre los -2°C/min, de la primera fase, a -50°C/min, de la última. Finalmente, los capilares que contienen las células se transfieren a depósitos con nitrógeno líquido a -196°C para su almacenamiento.

5

- La vitrificación es un proceso mediante el cual un líquido se solidifica en una fase vítrea (no cristalina) con un descenso rápido de la temperatura y un aumento de la viscosidad, evitando así la toxicidad y la formación de cristales intracelulares que pueden dañar el contenido celular. Son varios los factores que afectan a la probabilidad de conseguir una adecuada vitrificación, como son: ritmo de enfriamiento y calentamiento, viscosidad de la muestra y volumen de la muestra.

10

Existen varias formas de conseguir la vitrificación, pasando todas ellas por el empleo de una alta concentración de agentes crioprotectores (etilenglicol, dimetilsulfoxido, 1,2-propanodiol, etc.) llegando incluso a concentraciones de hasta 8M en algunos protocolos. Dichos crioprotectores resultan muy tóxicos para la célula a elevadas concentraciones y a largos periodos de exposición. Además, se necesitan velocidades de enfriamiento muy altas, del orden de decenas de miles de grados por minuto, haciendo una inmersión de la muestra directamente en nitrógeno líquido.

20

Tanto la técnica de enfriamiento lento como técnica de la vitrificación se pueden realizar con unos protocolos de descongelación celular donde todos los medios tienen que estar a 37°C ya que estos medios no contienen un crioprotector tóxico a altas temperaturas (DMSO). Actualmente no existe una placa o dispositivo que asegure visualmente que todos los medios de cultivo estén a la misma temperatura.

25

### **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

30 Mediante la presente invención se resuelven los inconvenientes anteriormente citados proporcionando una placa o dispositivo que contiene:

1. Un "pocillo" destinado al medio de desvitrificación

2. 3 "pocillos" destinados a los medios de equilibrio antes de pasar las células a su placa de cultivo

35

3. Un "pocillo medidor" destinado a alojar un medidor de la temperatura del medio.

5 Este "pocillo" es independiente a los demás por lo que si queremos medir con una sonda de temperatura no estaremos contaminando el resto de medios de la placa

10 La placa o dispositivo para la desvitrificación celular, objeto de la presente patente presenta este "pocillo" independiente que tendrá un termómetro de contacto incorporado haciendo visible, sin necesidad de algún medidor de temperatura, la temperatura del medio que este en este "pocillo".

15 Al estar todos los pocillos a la misma distancia del fondo de la placa y a la misma distancia de la superficie calefactada donde queremos llevar a 37°C los medios de desvitrificación, todos los medios que estén en la placa estarán a la misma temperatura que el "pocillo medidor". De esta manera estamos seguros de que todos los medios están a la temperatura adecuada para obtener un alto % de supervivencia celular.

## DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

20 Para complementar la descripción que seguidamente se va a realizar y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características del invento, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica del mismo, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de planos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

30 Figura 1.- Muestra una vista en perspectiva de la placa o dispositivo de desvitrificación celular objeto de invención para desvitrificar 6 células (2 pajuelas) con su tapadera. Ya que en los protocolos de desvitrificación las células se suelen vitrificar de 3 en 3.

Figura 2.- Muestra una vista general de la placa o dispositivo de desvitrificación celular objeto de invención para desvitrificar 6 células (2 pajuelas) con su tapadera, donde se aprecian:

- 1.- El "pocillo" para desvitrificar
- 35 2.- El "pocillo" para equilibrar las células

3.- El “pocillo medidor” para alojar un medidor de la temperatura de todos los medios de todos los “pocillos”

5 Figura 3.- Muestra una vista en perspectiva de la placa o dispositivo de desvitrificación celular objeto de invención para desvitrificar 3 células (1 pajuelas) con su tapadera. Ya que en los protocolos de desvitrificación las células se suelen vitrificar de 3 en 3.

10 Figura 4.- Muestra una vista general de la placa o dispositivo de desvitrificación celular objeto de invención para desvitrificar 3 células (1 pajuelas) con su tapadera, donde se aprecian:

1.- El “pocillo” para desvitrificar

2.- El “pocillo” para equilibrar las células

3.- El “pocillo medidor” para alojar un medidor de la temperatura de todos los medios de todos los “pocillos”.

15

### **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

20 Tal y como se puede observar en la figura 1,2,3 y 4 la placa o dispositivo de desvitrificación celular objeto de invención está constituida a partir de un cuerpo principal (6) y una tapa (5), cuerpo principal (6) que comprende un “pocillo de desvitrificación” (1), unos “pocillos de equilibrado” (2) y un “pocillo medidor” (3) donde irá incorporado un termómetro adhesivo de contacto para medir y ver a simple vista la temperatura del medio que haya en este “pocillo medidor” y así saber la temperatura a la que están el resto de medios en los demás  
25 “pocillos”.

Este “pocillo medidor” está completamente aislado del resto para poder medir la temperatura del medio con una sonda de temperatura sin contaminar el resto de medios que están en los demás “pocillos”.

30

Todos los “pocillos” están a la misma distancia de la base por lo que se calentaran a la misma temperatura en el mismo periodo de tiempo.

35

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Placa de desvitrificación de protocolos con indicador de temperatura, caracterizada porque está constituida a partir de un cuerpo principal (6) y su correspondiente tapa (5),  
5 cuerpo principal (6) en el que se establece un pocillo de desvitrificación (1), una serie de pocillos de equilibrado (2) y un pocillo medidor (3) de temperatura.
- 2.- Placa de desvitrificación de protocolos con indicador de temperatura, según reivindicación 1ª, caracterizada porque el pocillo de desvitrificación (1) tiene un volumen de  
10 1 ml, los pocillos de equilibrado (2) tienen un volumen de 0.5 ml y el pocillo medidor (3) tiene un volumen de 1 ml.
- 3.- Placa de desvitrificación de protocolos con indicador de temperatura, según reivindicación 1ª, caracterizada porque en el pocillo medidor (3) se integra un termómetro  
15 adhesivo de contacto.
- 4.- Placa de desvitrificación de protocolos con indicador de temperatura, según reivindicación 1ª, caracterizada porque el pocillo medidor (3) incluye medios de aislamiento con respecto al resto de elementos que participan en la placa.  
20
- 5.- Placa de desvitrificación de protocolos con indicador de temperatura, según reivindicación 1ª, caracterizada porque el cuerpo principal (6) incorpora tres pocillos de equilibrado (2).
- 25 6.- Placa de desvitrificación de protocolos con indicador de temperatura, según reivindicación 1ª, caracterizada porque el cuerpo principal (6) incorpora seis pocillos de equilibrado (2).
- 30

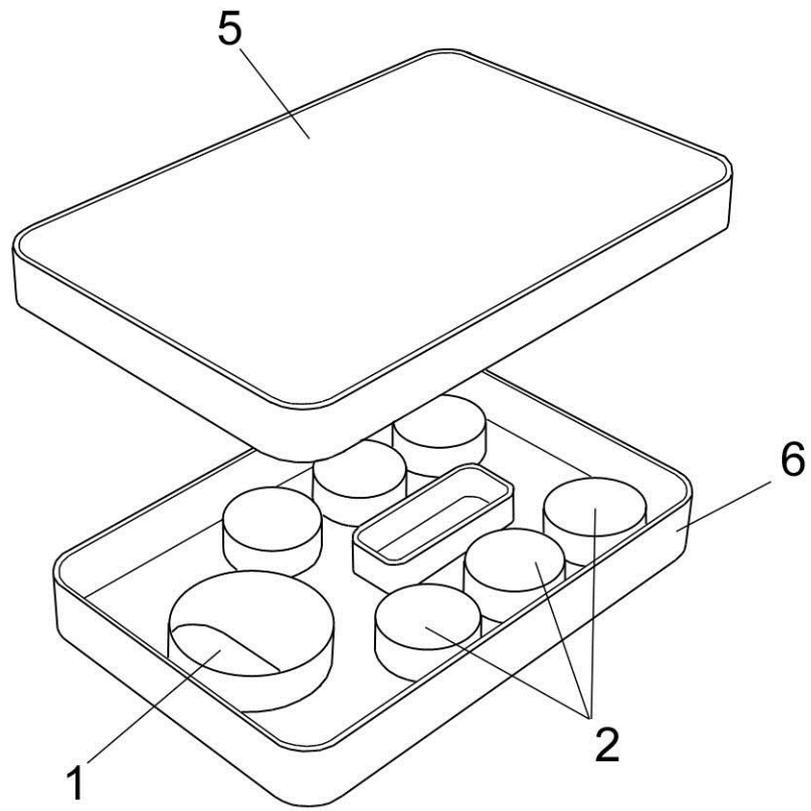


FIG. 1

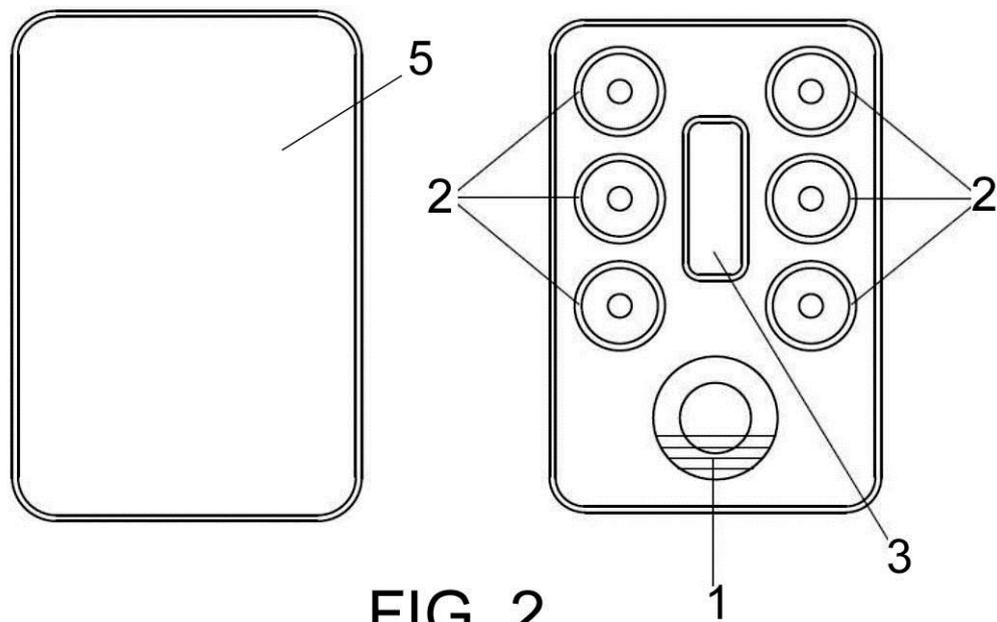


FIG. 2

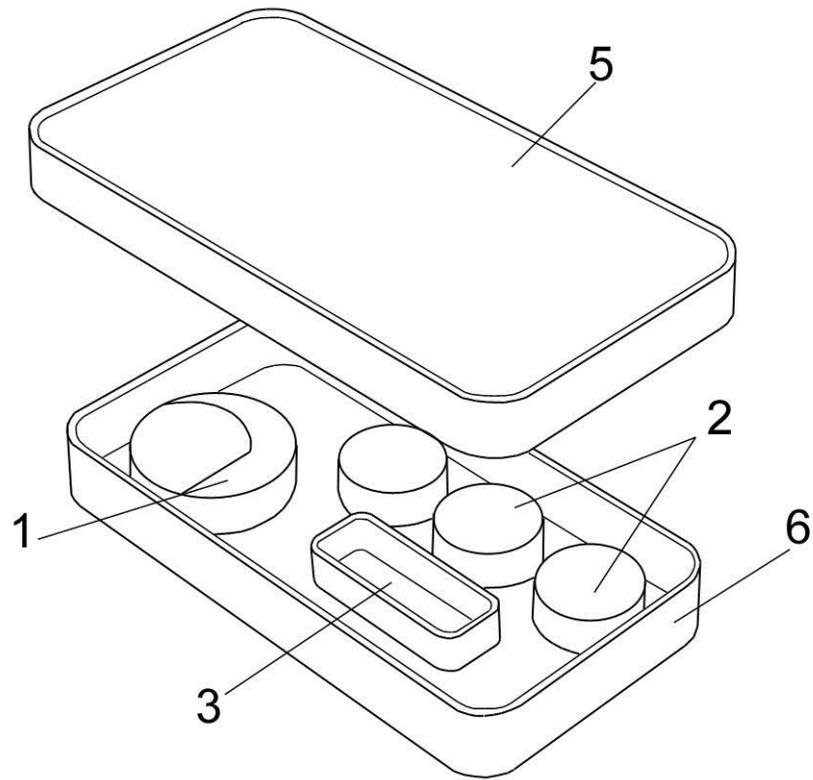


FIG. 3

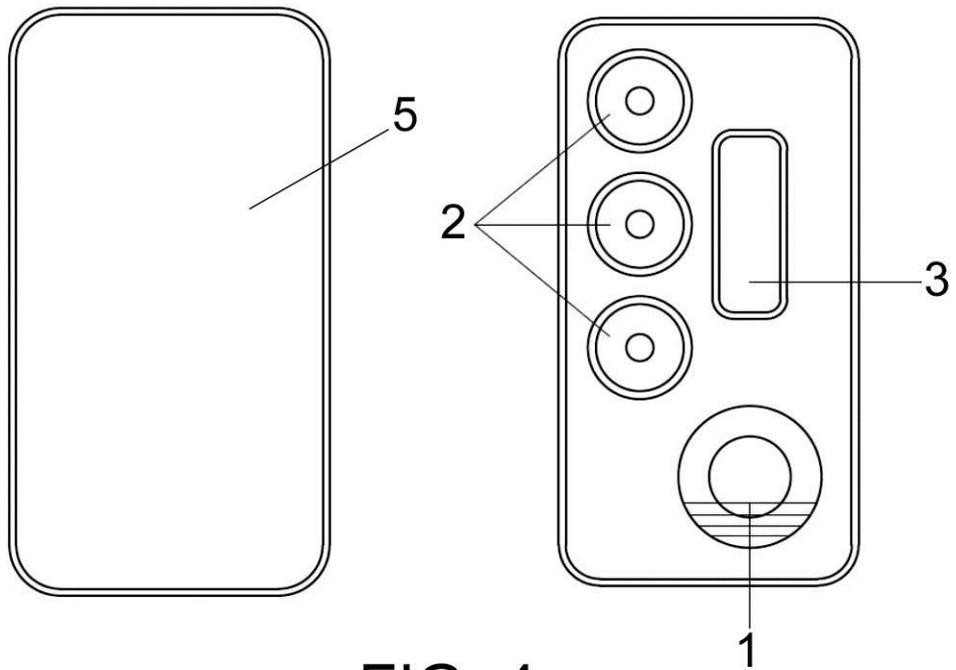


FIG. 4