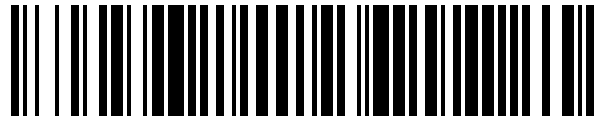


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 229 586**

21 Número de solicitud: 201930067

51 Int. Cl.:

C12Q 1/24 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

16.01.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

17.05.2019

71 Solicitantes:

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y
TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA)
(100.0%)**

**Ctra. de La Coruña, Km. 7,5
28040 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**PÉREZ CEREZALES, Serafín;
GUTIÉRREZ ADÁN, Alfonso y
RIABZEV, Sergey**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **DISPOSITIVO PARA LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES**

ES 1 229 586 U

DISPOSITIVO PARA LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES

DESCRIPCIÓN

5 OBJETO DE LA INVENCION

La presente invención da a conocer un dispositivo para la selección de espermatozoides. Más en particular, la presente invención da a conocer un dispositivo de selección de espermatozoides con la mejor capacidad migratoria bajo la aplicación de un gradiente de temperatura.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La utilización de algunos dispositivos para la selección de espermatozoides resulta conocida en el estado de la técnica.

Por ejemplo, la solicitud de patente WO2005027634 A1 describe un procedimiento y un dispositivo para la separación de espermatozoides por termotaxis. El dispositivo consiste en dos pocillos paralelos separados por una pared. Cada pocillo se encuentra a una temperatura diferente (con una diferencia de 2 grados) y los espermatozoides se mueven por un paso dispuesto entre ambos pocillos que comprende una matriz permeable a los espermatozoides, siguiendo un gradiente de temperatura hacia el pocillo con la temperatura más alta (37°C-39°C).

Este paso entre ambos compartimentos puede tener la forma de un tubo (WO2005027634A1, pág. 15, lín. 9-10) y de este segundo pocillo se recupera una subpoblación de espermatozoides capacitados. También se ensayaron gradientes de 1°C y 0.5°C. Se utilizan espermatozoides de conejo y humanos. Para mantener del gradiente de temperatura se utilizan termocicladores de PCR modificados para los requerimientos de la invención.

En la solicitud de patente WO2010056755A2 se describe un sistema de fertilización in vitro microfluídico. Los espermatozoides se separan según su movilidad y velocidad siguiendo lo que se denomina un gradiente de movilidad. (pág. 15, lín. 17-20). También se describe una separación de los espermatozoides por un gradiente de temperatura que se puede aplicar a lo largo o a lo ancho del chip de separación (WO2010056755A2, pág. 21, lín. 19-28; rev. 100) (Fig. 21- Fig. 37).

El artículo "Involvement of opsins in mammalian sperm thermotaxis" describe un dispositivo y método para la separación de espermatozoides por gradiente de temperatura (Fig. 1 a de dicho artículo). Incluye un tubo de un diámetro de 3,8 o 4,1 mm con dos o tres compartimentos. Los espermatozoides se disponen en el compartimento a 34°C y se recogen del compartimento que está a 39°C en el otro extremo. Los compartimentos están separados por discos porosos (pág. 14 de dicho artículo).

Los artículos "Thermotaxis of Human Sperm Cells in Extraordinarily Shallow Temperature Gradients Over a Wide Range" y "Human Sperm Thermotaxis Is Mediated by Phospholipase C and Inositol Trisphosphate Receptor Ca²⁺ Channel" utilizan dispositivos y métodos de las mismas características que el descrito en el artículo anterior con solo dos compartimentos.

El artículo "Sperm selection by thermotaxis improves ICSI outcome in mice" describe un sistema de separación de espermatozoides por gradiente de temperatura entre dos gotas de medio conectadas por un capilar (Figura 1 y figura suplementaria S1). El sistema se monta sobre una placa de cultivo tipo Petri y está cubierto con aceite mineral. El gradiente de temperatura se genera sobre una superficie metálica en la que un extremo es calentado con una placa calefactora.

Los aparatos diseñados hasta la fecha para la selección de espermatozoides mediante termotaxis presentan importantes desventajas. Por ejemplo, no permiten la separación de múltiples muestras en unidades individuales y desechables, no han sido diseñados para su fabricación en cadenas de producción, y no han demostrado que los espermatozoides seleccionados mejoren la eficiencia de las técnicas de reproducción asistida. Asimismo, el procesamiento de las muestras y su utilización en los sistemas existentes es laborioso y requiere personal cualificado.

Asimismo, los dispositivos en el estado de la técnica no han demostrado que mejoren la eficiencia de las técnicas de reproducción asistida.

30

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención pretende solucionar alguno de los problemas mencionados en el estado de la técnica.

Más en particular, la presente invención da a conocer un dispositivo para la selección de espermatozoides con capacidad migratoria por medio de un gradiente de temperatura, que comprende:

- 5 - al menos una unidad de selección que presenta dos compartimentos, un compartimento de carga y un compartimento de recuperación, dicha unidad de selección comprendiendo, además, una sección capilar que interconecta el compartimento de carga con el de recuperación,
- 10 - una unidad de sujeción destinada a encajar con al menos una unidad de selección, para facilitar el llenado y vaciado de la muestra espermática en dicha unidad de selección,
- 15 - una unidad de generación y control de temperatura, que comprende un recipiente exterior adaptado para encajar la unidad de sujeción con la unidad de selección, dicho recipiente exterior comprende además calentadores a cada extremo de la unidad de selección, disponiendo de al menos un calentador en el compartimento de carga y un calentador en el compartimento de recuperación,
- 20 - una unidad de bloqueo en la sección capilar, entre el compartimento de carga y el compartimento de recuperación,
- en donde los calentadores a cada extremo de la unidad de selección generan un gradiente de temperatura permitiendo una migración de espermatozoides desde el compartimento de carga hasta el compartimento de recuperación, durante un tiempo determinado, hasta que se acciona la unidad de bloqueo, seleccionando así, los espermatozoides con mayor capacidad migratoria.

25 Preferentemente los espermatozoides seleccionados en la unidad de recuperación son aspirados por medio de una pipeta.

30 Preferentemente, la unidad de selección es desechable y comprende un único material flexible y biodegradable, por ejemplo, polímero orgánico, silicona de grado médico o polipropileno.

 Más preferentemente, dicha unidad de selección es fabricada por procesos de moldeo por inyección

35 Preferentemente, cada compartimento, tanto el de carga como el de recuperación pueden abrirse y cerrarse mediante un tapón.

De acuerdo con la presente invención la unidad de sujeción presenta elementos de unión con la unidad de selección. Más preferentemente, la unidad de sujeción puede presentar pestañas de encaje con la unidad de selección. Preferentemente la unidad de sujeción comprende, además, una parte distal a la zona de encaje de la unidad de selección para su
5 agarre y manejo, facilitando tanto el llenado, como el vaciado de la unidad de selección, así como su transporte hasta la unidad de generación y control de temperatura.

Preferentemente, el recipiente exterior comprende dos reservorios de líquido, cubriendo dicho líquido cada extremo de la unidad de selección para obtener un gradiente de
10 temperatura estable y homogéneo. De acuerdo con la presente invención ese líquido puede ser agua.

Preferentemente, los calentadores a cada extremo de la unidad de selección para generar un gradiente de temperatura son intercambiadores de calor de tipo Peltier. Según la
15 presente invención, dicho intercambiador puede, además, estar conectado a un intercambiador de calor de aire.

Preferentemente, la unidad de sujeción está adaptada para encajar a más de una unidad de selección. Más preferentemente, puede estar configurada para sujetar múltiples unidades de
20 selección al mismo tiempo.

Para el procedimiento de selección espermática primero se llena completamente con medio el compartimiento de recuperación y el capilar. Después, manteniendo cerrado el compartimiento de recuperación, se llena el compartimiento de carga con los
25 espermatozoides en suspensión. El llenado se realiza con la unidad de selección encajada en la unidad de sujeción facilitando la carga del medio y de la muestra espermática. Tras un tiempo para permitir la migración por termotaxis se bloquea el capilar de cada unidad de selección con ayuda de la unidad de bloqueo y se recuperan los espermatozoides migrados al compartimiento de recuperación. Este sistema de bloqueo no se contempla en otros
30 modelos existentes y representa una ventaja al eliminar la posibilidad de mezclado de espermatozoides no seleccionados con los seleccionados, lo que a su vez simplifica el manejo del sistema y permite su uso por operarios sin entrenamientos especiales. Los espermatozoides seleccionados se pueden utilizar inmediatamente para investigación o para técnicas de reproducción asistida.

35 Ningún dispositivo de selección de espermatozoides por termotaxis conocido en el estado de la técnica permite su fabricación a gran escala con tanta facilidad debido o a la

complejidad o a la existencia de múltiples partes en dichos dispositivos de selección. El diseño de esta unidad de selección desechable con una zona capilar central evita procesos de convección durante la selección por termotaxis y evita el mezclado accidental entre ambos compartimentos mientras se mantienen ambos compartimentos cerrados lo que
5 representa una ventaja en cuanto a facilidad de manejo con respecto al resto de dispositivos conocidos.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

15 La Fig. 1 muestra una vista de la sección lateral de la unidad de selección con los dos compartimentos conectados por un capilar.

20 La Fig. 2 muestra la sección lateral del dispositivo de sujeción, incluyendo la unidad de selección encajada en él.

La Fig. 3 muestra una sección lateral de la unidad para el control y generación de un gradiente de temperatura estable y lineal donde se ha colocado la unidad de selección encajada en el dispositivo de sujeción.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

La figura 1 muestra una vista de la sección lateral de la unidad de selección (1), donde se aprecia el compartimento de carga (1b) y el compartimento de recuperación (2b) unidos por
30 una sección capilar (3) que conecta dichos compartimentos. Ambos compartimentos se cierran con sendos tapones (1a y 2a). Para realizar la selección de espermatozoides primero se llenan completamente tanto el compartimento de recuperación (2b) como el capilar con medio libre de espermatozoides. Una vez llenado se cierra con el tapón el compartimento de recuperación y se procede a llenar con la suspensión de espermatozoides el compartimento de carga (1b) y
35 dicho compartimento también se cierra con su tapón correspondiente (1a).

Este llenado se realiza con la unidad de selección (1) encajada en una unidad de sujeción (4) tal como se muestra en la Figura 2. La unidad de sujeción comprende dos elementos móviles para bloquear los tapones de dicha unidad de selección que actúan también como elementos de encaje (4b) entre ambas unidades. El dispositivo de sujeción (4) consta también de una parte distal a la zona de encaje de la unidad de selección para su agarre, facilitando tanto el llenado, como el vaciado de la unidad de selección (1), así como su transporte hasta la unidad de generación y control de gradiente de temperatura

En la Figura 2 se muestra la unidad de sujeción (4) que se encaja con la unidad de selección (1). Una vez encajada en dicha unidad es cuando se realiza el llenado anteriormente descrito. Para ello se sujeta con una mano el dispositivo en la zona distal a la zona de sujeción de la unidad de selección. Una vez llenado, el dispositivo cuenta con unos elementos de encaje (4b) para evitar que los tapones de la unidad de selección (1) se abran.

El dispositivo de sujeción (4) cargado con la unidad de selección se coloca en la unidad de generación y control de gradiente de temperatura (Figura 3). Dicha unidad comprende un recipiente (5) con una zona elevada sobre la que se sitúa el dispositivo de sujeción (4) cargado con la unidad de selección (1). La unidad de selección (1) queda orientada de tal manera que cada compartimento se sitúa en un extremo hacia los reservorios del recipiente (5b). Dicho recipiente se llena con líquido (6), por ejemplo, con agua, hasta cubrir la unidad de selección (1). En cada uno los reservorios y en contacto directo con el líquido hay un intercambiador de calor a líquido (7a) conectado a un calentador–enfriador (7) que a su vez está conectado a un intercambiador de calor a aire (7b). El elemento calentador-enfriador está conectado también a un controlador de temperatura (8), estando éste conectado a su vez a un sensor de temperatura (9) localizado en el reservorio. De esta manera se controla la temperatura del líquido en ambos reservorios permitiendo generar un gradiente de temperatura a lo largo de la zona central del aparato. El dispositivo de sujeción (4) se coloca de tal manera que el compartimento de carga (1b) de la unidad de selección (1) presenta la temperatura más baja y el compartimento de recuperación (2b) la temperatura más alta, generando un gradiente y una migración de espermatozoides en dicho sentido.

Una vez pasado un tiempo determinado para permitir la migración de los espermatozoides desde el compartimento de carga (1b) al de recuperación (2b), se bloquea la conexión entre ambos compartimentos a la altura del capilar mediante una unidad de bloqueo (4c) en el dispositivo de sujeción (4). Una vez bloqueado el paso se puede destapar el compartimento de recuperación y aspirar con una pipeta el contenido de dicho compartimento, donde

estarán los espermatozoides que han migrado y que han sido seleccionados por su mayor capacidad de migrar en un determinado gradiente de temperatura.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para la selección de espermatozoides con capacidad migratoria por medio de un gradiente de temperatura, que comprende:

- 5
- al menos una unidad de selección (1) que presenta dos compartimentos, un compartimento de carga (1b) y un compartimento de recuperación (2b), dicha unidad de selección (1) comprendiendo, además, una sección capilar (3) que interconecta el compartimento de carga (1b) con el de recuperación (2b),
 - una unidad de sujeción (4) destinada a encajar con una unidad de selección (1),
- 10 para facilitar el llenado y vaciado de muestra espermática en dicha unidad de selección (1),

caracterizado por que comprende un recipiente exterior (5) adaptado para encajar la unidad de sujeción (4) con la unidad de selección (1), dicho recipiente exterior comprende calentadores a cada extremo de la unidad de selección (1),

15 comprendiendo además al menos un calentador en el compartimento de carga (1b) y un calentador en el compartimento de recuperación (2b), en donde el dispositivo comprende adicionalmente una unidad de bloqueo (4c) en la sección capilar (3), entre el compartimento de carga (1b) y el compartimento de recuperación (2b), en donde los calentadores a cada extremo de la unidad de selección (1) generan un

20 gradiente de temperatura permitiendo una migración de espermatozoides desde el compartimento de carga (1b) hasta el compartimento de recuperación (2b), durante un tiempo determinado hasta que se acciona la unidad de bloqueo (4c), seleccionando así los espermatozoides con mayor capacidad migratoria.

25 2. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que comprende una pipeta en la que son aspirados los espermatozoides seleccionados en la unidad de recuperación (2b).

30 3. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la unidad de selección (1) es desechable.

4. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por que la unidad de selección (1) está compuesta por un único material flexible y biodegradable.

35

5. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la unidad de sujeción (4) cuenta con elementos de encaje (4b) con al menos una unidad de selección (1).
- 5 6. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el recipiente (5) comprende dos reservorios (5b) de líquido (6) cubriendo la unidad de selección a cada extremo.
- 10 7. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado por que el líquido (6) es agua para obtener un gradiente de temperatura estable y homogéneo.
- 15 8. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado por que calentadores comprenden intercambiadores de calor de tipo Peltier (7).
- 20 9. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado por que el intercambiador de calor (7) está conectado a un intercambiador de calor a aire (7b).
10. Dispositivo para la selección de espermatozoides de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la unidad de sujeción (4) está adaptada para encajar múltiples unidades de selección (1).

FIG 1

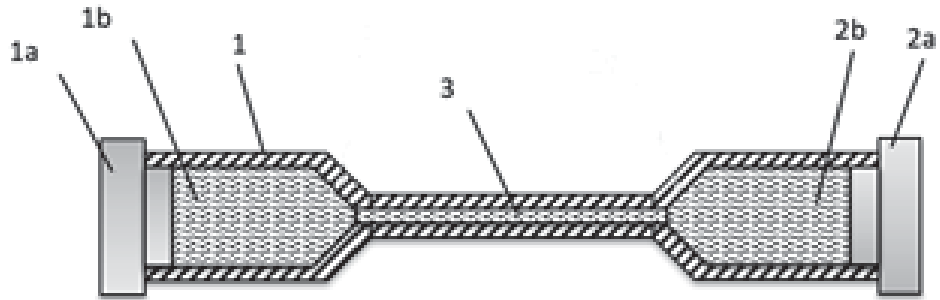


FIG 2

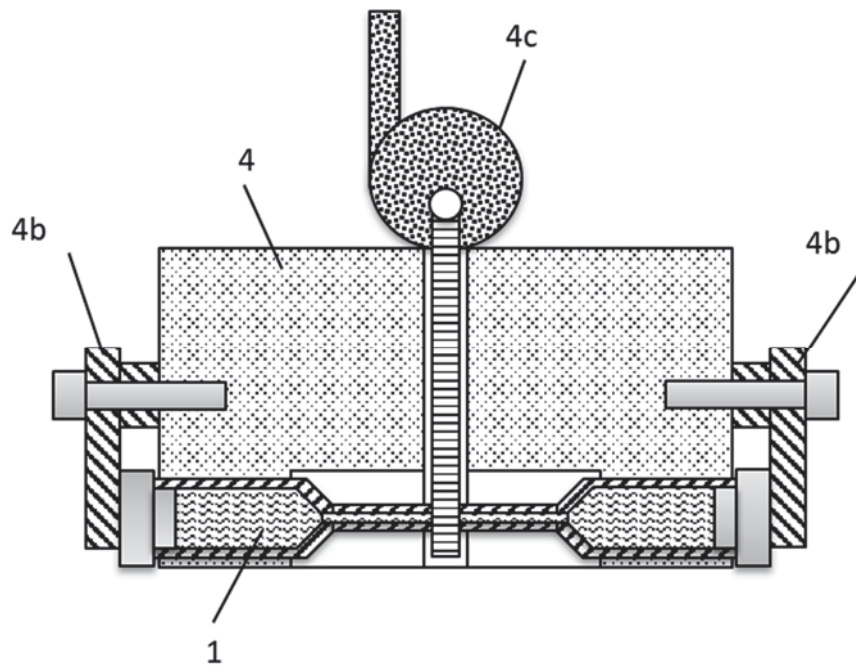


FIG 3

