

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 081**

51 Int. Cl.:

G01N 1/36 (2006.01)

B01L 9/00 (2006.01)

B01J 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05762255 .7**

96 Fecha de presentación: **16.06.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1756545**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.02.2007**

54 Título: **MICROMATRICES DE TEJIDO CONGELADO.**

30 Prioridad:
18.06.2004 US 580370 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.12.2011

73 Titular/es:
COVANCE, INC.
210 CARNEGIE CENTER
PRINCETON, NEW JERSEY 08540, US

72 Inventor/es:
POSTOYALKO, Andrew y
ROBERTS, John

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

ES 2 371 081 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

Micromatrices de tejido congelado

CAMPO DE LA INVENCION

5 La invención se relaciona de manera general con el análisis de tejidos y, más específicamente, con un método y aparato mejorado para formar micromatrices de tejido congelado.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Las micromatrices de tejido aumentan el rendimiento de los análisis moleculares al disponer en forma simultánea las proteínas, ácidos nucleídos y otra biomoléculas. Las micromatrices de tejido permiten el estudio de la expresión de proteínas, localización de antígenos y perfilado molecular de las muestras de tejido. Estas micromatrices de tejido incluyen típicamente biopsias cilíndricas de tejido animal o humano tomadas de bloques de tejido embebidos en parafinas ya fijados o de tejidos congelados frescos. Las biopsias cilíndricas se posicionan en un bloque de micromatrices de receptor de tejido que luego se pueden preparar histológicamente para producir secciones para posterior estudio. Las micromatrices de tejido pueden proporcionar un gran número de tejidos que se van a seleccionar sobre un único portaobjetos y permitir una evaluación rápida de tejidos, a gran escala en comparación con las técnicas histológicas convencionales.

20 En la Patente Estadounidense No. 6,103,518 otorgada a Leighton, incorporada aquí como referencia, Leighton describe un instrumento de micromatriz para crear automáticamente micromatrices de tejido. Un ejemplo de esta micromatriz se muestra en la Fig. 1. En la realización ilustrada, se utiliza un punzón /aguja pequeña de receptor para elaborar agujeros en un bloque de receptor 4. Un punzón/aguja más grande de donante 2, que tiene un diámetro interno que corresponde al diámetro externo del punzón de receptor 1, se utiliza para obtener muestras del núcleo de tejido del bloque donante 19. El punzón donante 2 incrusta luego las muestras de núcleo de tejido en los agujeros en el bloque receptor 4 formado por el punzón de receptor 1. Cada punzón 1, 2 está provisto con su propio estilete/émbolo para depurar el material dentro del punzón 1, 2, y cada estilete tiene su propio diámetro que se aproxima al del diámetro interno de su respectivo punzón 1, 2. En su mayor extensión, la punta del estilete se desliza más allá de la punta de punzón 1, 2.

30 Los bloques con la cavidades 24, 25 y los ganchos se utilizan para sostener los punzones respectivos 1, 2 sobre un brazo de pivote 26. El brazo de pivote 26 se monta de manera giratoria sobre un carro vertical o portaobjeto 7 mediante un cojinete de pivote 3. El portaobjeto 7 se mueve verticalmente (eje z) sobre un riel 28, que se mueve de adelante hacia atrás (eje y) sobre un portaobjeto horizontal 8 controlado por un impulsor 10. El portaobjeto horizontal 8 se mueve lateralmente (eje x) sobre otro portaobjeto 9 controlado por otro impulsor 11. El portaobjeto 9 se fija a una placa base 6.

35 Las barras separadoras 13, 14 se fijan a un brazo de pivote 26, y cada barra separadora 13, 14 está provista de un tornillo de ajuste 15. Cada tornillo 15 hace contacto en un lado opuesto del mismo retén 12, que se fija con respecto al portaobjeto 7, limitando por lo tanto el movimiento de pivote y definiendo cuándo el brazo de pivote está en cualquiera de las primera o segunda posiciones. Con el ajuste de los tornillos 15, se puede fijar en forma precisa al extremo exacto de desplazamiento. En un extremo de desplazamiento, el punzón donante 2 se posiciona en registro sobre un agujero específico en el bloque de receptor, y en el otro extremo del desplazamiento, el punzón receptor 1 está precisamente sobre la misma ubicación, asumiendo que no se han accionado los impulsores 10 y 11 de los ejes x y y .

40 Se fijan imanes 23 a la base 6 y sostienen una placa ferromagnética 22 contra la placa base 6 y contra los bordillos o retenes 21, 27. La placa ferromagnética 22 es parte de un soporte de bloque de receptor 5, que sostiene el bloque receptor 4. El soporte 5, que incluye la placa 22 y contiene el bloque 4, se puede retirar fácilmente de y reinsertar en la misma posición sobre la base 6 en forma alterna, o puede ser mantenido firmemente en el lugar. El bloque 4 se forma a partir de parafina, o de un material similar, y los agujeros de receptores individuales de un patrón de rejilla completo de agujeros de receptor pueden tener núcleos en el bloque de receptor 4 antes de recolectar las muestras del bloque donante 4. El bloque de tejido donante 19 descansa sobre un puente removible 20 que se puede ubicar ente los retenes 21, 27 o a los lados del soporte de bloque de receptor 22.

50 Un problema asociado con la creación de micromatrices de tejido que utilizan el método y aparato descrito anteriormente es la eliminación de material incrustado congelado del bloque de receptor utilizando el punzón de receptor. El punzón se inserta como una aguja en el material incrustado, el material incrustado inmediatamente adyacente a la aguja es calentado por la aguja y se vuelve líquido, y este material de incrustación líquido adyacente a la aguja y de núcleo congelado de material de incrustación reduce la fricción entre la aguja y el núcleo congelado. Durante un intento para eliminar el núcleo congelado de material de incrustación del bloque del receptor al retirar la

aguja, si existe fricción insuficiente entre el núcleo congelado de material de incrustación y la aguja, el núcleo congelado se deslizará en relación con la aguja, y el núcleo congelado no se eliminará del bloque del receptor.

Otro problema asociado con la creación de micromatrices de tejido es la dificultad en crear núcleos en el bloque de receptor que tengan una profundidad consistente. Para resolver este problema, las micromatrices descritas anteriormente incluyen un juego de retenes de profundidad que permiten tomar muestras de los núcleos de una profundidad exacta desde el bloque donante y el bloque receptor. Este sistema permite que los núcleos procesados en parafina de una profundidad exacta sean colocados en los agujeros que tienen una profundidad idéntica. Debido a que el núcleo procesado en parafina es sólido, el usuario del instrumento puede determinar fácilmente cuándo el núcleo se inserta completamente al detectar la resistencia que resulta del fondo sólido de núcleo que entra en contacto con el fondo del agujero en el bloque de receptor.

Sin embargo, los núcleos de tejidos procesados en parafina pueden no ser la mejor opción para demostrar antígenos específicos. Para resolver este problema, se utilizan núcleos de tejidos completamente congelados. Sin embargo, las técnicas utilizadas para controlar el tamaño de los núcleos tienen problemas cuando se utilizan con tejidos completamente congelados puesto que la capacidad de un usuario para detectar cuándo se inserta completamente un núcleo dentro del bloque de receptor está comprometida cuando el núcleo se forma a partir de tejido completamente congelado. Cuando el núcleo se retira del bloque donante, el material inmediatamente adyacente al émbolo se puede congelar ligeramente debido al diferencial de temperatura entre el émbolo y el material congelado. Cuando ocurre el descongelamiento del material congelado, el usuario inserta el núcleo en el bloque de receptor y no detecta exactamente cuándo el fondo del núcleo hace contacto con el fondo del agujero en el bloque de receptor debido a que el material descongelado se flexiona. En razón a que el usuario no puede detectar cuándo se inserta completamente el núcleo, éste no se puede sobreinsertar en el agujero en el bloque de receptor, lo que da como resultado que el núcleo se aplasta. Debido a que el tejido es frágil y se puede dañar al aplastarse, subsiste por lo tanto la necesidad de una metodología y herramienta mejorada para crear micromatrices de tejido congelado que reduzcan esa incidencia de aplastamiento del tejido utilizado para crear las micromatrices.

La US2003/038401 A1 se relaciona con un método para la producción de un material de bloque que contiene un número de muestras de prueba, particularmente muestras de tejido, un blanco de material, hecho de parafina y que contiene un número de aberturas para acomodar las muestras de tejidos correspondientes. El bloque de material se produce primero, con lo cual se forma un blanco de material con una disposición regular de aberturas por medio de un molde con la forma adecuada, extendiéndose dichas aberturas desde la primera superficie principal del blanco de material en la dirección de una segunda superficie principal del blanco de material hasta una profundidad específica, que penetra completamente a través del bloque. Estas aberturas se llenan luego con muestras de tejidos en la forma de núcleos de tejidos cilíndricos, y esos núcleos se unen cercanamente con el material circundante del blanco de material por medio de un procedimiento de fusión doble.

La US 6103518 A describe un instrumento para construir matrices de tejidos. El instrumento incluye múltiples punzones montados sobre una plataforma de punzones, desplazándose la plataforma de punzones en forma precisa entre posiciones definidas. Se proporcionan retenes o tapones mecánicos d+E, acu e+EE que detienen mecánicamente el movimiento de la plataforma de punzón en las posiciones definidas en forma precisa. Al mover la plataforma de punzón de una primera posición a una segunda posición, el punzón se puede poner en operación y el otro se mueve en una posición de no interferencia mediante medios manuales o automáticos.

La US 2002137198 A1 proporciona un método para crear una criomatriz de núcleos de tejido congelados que utilizan un sistema de criomatrices. Tal sistema comprende un molde de tejido, un medio de incrustación y un dispositivo de criomatriz. El dispositivo de criomatriz comprende una placa de molde, una placa eyectora, pasadores de alineación de molde, pasadores eyectores, y pasadores de criomatriz. Tal método/sistema se puede utilizar para preparar secciones congeladas con múltiples muestras de tejido para ensayos tal como hibridación in-situ e inmunohistoquímica.

La WO 0186250 A1 se relaciona con un método y dispositivo para retirar tapones de gel unidos a una placa de soporte, en donde dicho dispositivo tiene una cabeza selectora con una aguja que tiene un diámetro interno D y tiene medios de control para desplazar dicha aguja en forma lateral después de que se ha puesto en contacto con dicha placa.

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta y otras necesidades se cumplen por parte de la presente invención, que de acuerdo con un aspecto incluye una micromatriz de tejido que tiene núcleos de tejido congelado que se extienden desde la parte superior de la micromatriz de tejido hasta un elemento de liberación. El elemento de liberación es un material del que se puede retirar fácilmente del material de incrustación de la micromatriz de tejido. Se utiliza un endurecedor con el elemento de liberación para mantener una forma plana del elemento de liberación. Los núcleos de tejido se pueden formar a partir de tejido congelado completo (es decir, libre de parafinas). Al utilizar el elemento de liberación, los núcleos de

material de incrustación congelado se pueden retirar fácilmente de la micromatriz de tejido durante el proceso de insertar núcleos de tejido donante dentro del material de incrustación de la micromatriz de tejido.

5 En otro aspecto de la invención, un proceso de micromatriz de tejido incluye disponer un nivelador sobre un molde parcialmente lleno. El nivelador crea una superficie plana en el material de incrustación sobre el cual se posiciona el elemento de liberación y el endurecedor. El molde se carga luego con material embebido, y después del congelamiento, se retira el bloque de receptor del molde. Se utiliza un punzón de receptor para retirar un núcleo de material de incrustación del bloque de receptor, y cuando se retira el punzón de recipiente del bloque de receptor, el núcleo de material de incrustación se despega del elemento de liberación, lo que crea un agujero en el bloque de receptor que se extiende hasta el elemento de liberación.

10 En aún otro aspecto de la invención, un punzón de donante inserta un núcleo congelado de material dentro del agujero en el bloque de receptor. El punzón de donante incluye un émbolo que no se extiende más allá de la parte inferior de la aguja. De esta forma, cuando se inserta el núcleo de tejido en el agujero, el émbolo no comprime el núcleo de tejido.

15 Ventajas adicionales de la presente invención serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada, en donde sólo se muestra una realización de ejemplo de la presente invención y se describe, simplemente a manera de ilustración del mejor modo contemplado para llevar a cabo la presente invención. Como se notará, la presente invención puede tener otras realizaciones y diferentes realizaciones, y sus diversos detalles pueden experimentar modificaciones en diversos aspectos obvios, todos sin apartarse de la invención. De acuerdo con lo anterior, los dibujos y la descripción se consideran de naturaleza ilustrativa y no como
20 de naturaleza restrictiva.

En aun otro aspecto de la presente invención, se proporciona una barrera contra la humedad para proteger el micrómetro y los mecanismos de deslizamiento de una micromatriz de la humedad y del daño por congelamiento durante la producción de micromatrices de tejidos.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25 Se hace referencia a los dibujos adjuntos, en donde los elementos que tienen las mismas designaciones de número de referencia representan elementos similares, y en donde:

La Fig. 1 es una vista en perspectiva de una micromatriz convencional;

La Fig. 2 es una vista de sección lateral de una micromatriz de acuerdo con una realización de la invención;

30 La Fig. 3 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se carga parcialmente un molde con el material para incrustación.

La Fig. 4 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se ha insertado un nivelador dentro del molde;

35 La Fig. 5 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se ha congelado el material de incrustación, el nivelador se retira del molde y se ha colocado un elemento de liberación /endurecedor sobre el material de incrustación congelado.

La Fig. 6 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se ha insertado un casete en el molde y se carga el molde con el material de incrustación.

La Fig. 7 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formar la micromatriz de tejido después de que el material de incrustación se ha congelado y se ha retirado un bloque de receptor del molde:

40 La Fig. 8 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se han insertado los dos núcleos de tejido dentro del bloque de receptor;

La Fig. 9 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se ha insertado un punzón de receptor dentro del material de incrustación del bloque de receptor;

45 La Fig. 10 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se ha retirado un núcleo del material de incrustación del bloque de receptor y se ha posicionado un punzón de donante sobre un soporte en el bloque de receptor; y

La Fig. 11 es una vista de sección lateral de una etapa en el proceso de formación de la micromatriz de tejido después de que se ha insertado un núcleo de tejido congelado dentro del agujero en el bloque de receptor utilizando el punzón de donante:

La Fig. 12 es una vista de plano de una barrera contra la humedad de acuerdo con una realización de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS.

La Fig. 2 ilustra una micromatriz de tejido 100 de acuerdo con un aspecto de la invención. De acuerdo con las micromatrices de tejido convencional, la micromatriz de tejido 100 incluye material de incrustación 102 posicionado con un casete 110, y la micromatriz de tejido 100 no se limita a un tipo de casete particular 110. El casete 110 es un accesorio que es sostenido por una micromatriz de tejido (mostrado en la Fig. 1) cuando los núcleos de tejidos 108 se van a insertar en el material de incrustación 102 de la micromatriz de tejido 100. Existen muchos tipos de material de incrustación 102, y las micromatrices de tejido no se limitan a un material de incrustación particular 102. Por ejemplo, el material de incrustación 102, también conocido como compuestos con temperatura de corte óptimo (OCP), se puede formar a partir de materiales tales como cera de parafina, nitrocelulosa, alcohol polivinílico, carbowax (poli etilenglicoles), gelatina y agar.

Las micromatrices de tejido 100 también incluyen un elemento de liberación 106 y un endurecedor 104. El elemento de liberación 106 y el endurecedor 104 pueden ser una única pieza o, como se ilustra en la Fig. 2, el elemento de liberación 106 y el endurecedor 104 pueden estar separados. El elemento de liberación 106 se forma a partir de un material del que se puede retirar el material de incrustación 102 con poca fuerza. Como lo reconoce el experto en la técnica, dependiendo del tipo en particular de material de incrustación 102 utilizado para formar la micromatriz de tejido 100, muchos tipos diferentes de materiales son capaces de realizar esta función, y la micromatriz de tejido 100 no se limita a un material particular con tal capacidad. También, el elemento de liberación 106 puede ser un recubrimiento sobre el endurecedor 104. Sin embargo, en un aspecto de la micromatriz de tejido 100, el elemento de liberación 106 se forma a partir de látex. El endurecedor 104 actúa para mantener el elemento de liberación 106 como una superficie plana, y cualquier material capaz de realizar esta función es aceptable para uso con la micromatriz de tejido 100. En un aspecto de la micromatriz de tejido 100, el endurecedor 104 es una banda de papel que se adhiere al elemento de liberación de látex 106.

La altura de los núcleos de tejido 108 de la micromatriz de tejidos 100 se extiende desde la parte superior de la micromatriz de tejido 100 hasta el elemento de liberación 106. Los núcleos de tejido 108 se pueden elaborar a partir de cualquier tipo de tejido procesado utilizado para formar micromatrices de tejido. Sin embargo, en un aspecto de la invención, los núcleos de tejido 108 son tejido congelado completo (es decir, libre de parafina).

Se ilustra un método para fabricar la micromatriz de tejido 100 en las Figs. 3-11. En la Fig. 3, se carga parcialmente un molde 112 con un medio de incrustación 102. El molde 112 define la periferia externa de la micromatriz de tejido 100. Aunque no se limita de esta forma, la profundidad a la que se carga el molde 112 es aproximadamente igual a la altura de los núcleos de tejido 108 (mostrados en la Fig. 1) que se van a insertar en la micromatriz de tejido 100.

En la Fig. 4, se inserta un nivelador 114 sobre el medio de incrustación 102. El nivelador 114 tiene una superficie plana 116 que se ubica contra el medio de incrustación 102 para crear una superficie plana sobre el medio de incrustación 102. El nivelador 114 se forma a partir de un material que se puede retirar del medio de incrustación 102 sin interrumpir excesivamente el medio de incrustación 102. En un aspecto de la invención, el nivelador 114 está formado de vidrio.

El nivelador 114 también se puede posicionar sobre el medio de incrustación 102 de tal manera que la distancia desde la parte inferior del molde 112 hasta la superficie plana 106 del nivelador 114 es aproximadamente igual a la altura de los núcleos de tejido 108 que se van a insertar dentro de la micromatriz de tejido 100. Como lo reconocerá el experto en la técnica, se pueden emplear muchos tipos de dispositivos/métodos diferentes para mantener una separación deseada entre la superficie plana 116 del nivelador 114, y la invención no se limita a un dispositivo/método particular para lograr esta separación. Por ejemplo, el nivelador 114, cuando se coloca sobre el medio de incrustación 102, puede descansar sobre un separador (no mostrado) dentro del molde 112 que mantiene una distancia predeterminada dentro de la parte inferior del molde 112 y la superficie plana 116 del nivelador 114.

Después de que el nivelador 114 se coloca sobre el medio de incrustación 102, se congela la construcción. El nivelador 114 se retira luego del medio de incrustación 102, que deja una superficie plana sobre el medio de incrustación congelado 102. En la Fig. 5, una combinación de elemento de liberación 106 y endurecedor 104 se colocan sobre la superficie plana del medio de incrustación congelado 102 con el lado del elemento de liberación hacia abajo. Antes de colocar el elemento de liberación 106 y el endurecedor 104 sobre el medio de incrustación congelado 102, se puede cubrir el elemento de liberación 106 con medio de incrustación líquido 102 para ayudar a la adherencia del elemento de liberación 106 al medio de incrustación congelado 102.

Como se muestra en la Fig. 6, una vez que el elemento de liberación 106 y el endurecedor 104 están en el lugar sobre el medio de incrustación congelado 102, se coloca un casete 110 dentro del molde 112 y el molde 112 se carga con el medio de incrustación 102. Después de que el casete 110 y el medio de incrustación restante 102 se han introducido en el molde 112, se congela de nuevo el ensamble. Como se muestra en la Fig. 7, una vez que se congela el ensamble, se retira el ensamble del molde 112 y se vuelve un bloque receptor 100, que después se transformará en una micromatriz de tejido 100.

La formación de micromatrices de tejido 100 que utilizan un bloque receptor y un bloque donante es similar a los procesos convencionales, tales como los procesos descritos en la Patente Estadounidense No. 6,103,518, que se relacionó anteriormente. Se describen ciertas excepciones a los procesos convencionales con referencia a las figuras 8-11. La Fig. 8 ilustra una micromatriz de tejido formada parcialmente 100 que tiene núcleo de tejido 108 que se extiende aproximadamente hasta la superficie del elemento de liberación 106. En la Fig. 9, se utiliza un perforador de receptor 120 para retirar un núcleo 122 del material de incrustación de la micromatriz de tejido 100.

El perforador de receptor 120 alcanza una profundidad aproximadamente igual a una profundidad en la que se posiciona el elemento de liberación 106. Luego de la remoción del perforador del receptor 120 de la micromatriz de tejido 100 (no mostrada), el núcleo 122 dentro del perforador de receptor 120 se separa fácilmente del receptor 106. Esta separación del núcleo 122 del elemento de liberación 106 ocurre aun si el perforador de receptor 120 no se extiende completamente hasta el elemento de liberación 106. De esta forma, se puede obtener una profundidad consistente del agujero 124 (Fig. 10).

En la Fig. 10, se posiciona un núcleo de tejido 108 dentro de una aguja 122 de un punzón de donante 126 sobre el agujero 124 en la micromatriz de tejido 100. La parte inferior de la aguja 128 se ubica sustancialmente uniforme con la superficie superior de la micromatriz de tejido 100 para mantener una distancia conocida entre la superficie superior de la micromatriz de tejido 100 y una superficie inferior del émbolo 130 del punzón donante 126.

En la Fig. 11, el émbolo 130 se presiona para insertar el núcleo de tejido 108 dentro del agujero 124. Con un punzón de donante convencional, el émbolo inferior es capaz de extenderse más allá de la parte inferior de la aguja. En contraste, el punzón de donante 126 en un aspecto de la presente invención, tiene un émbolo 130 y una aguja 128 con lo cual el émbolo 130 se extiende hasta un extremo de la aguja 128 pero no más allá del extremo de la aguja 128.

Como es evidente para el experto en la técnica, existen diversas modificaciones para un punzón de donante convencional que son capaces de prevenir que el émbolo se extienda más allá del extremo de la aguja, y la invención no se limita a una modificación particular. Por ejemplo, el punzón de donante se puede acortar para evitar que se extienda más allá del extremo de la aguja. Otro ejemplo, que se ilustra en la Fig. 11, es incluir un separador de anillos 136 dispuesto entre el retén superior 134 del émbolo 130 y un retén inferior 132 de la aguja 128. El separador de anillos 136 es de un tamaño tal que se desplaza desde el émbolo 130 en el punzón de donante 126 y se detiene antes de que el émbolo 130 se extienda más allá del extremo de la aguja 128.

El núcleo de tejido 108 se ubica completamente dentro del agujero 124 y está a ras con la superficie superior de la micromatriz de tejido 100 debido a que la profundidad del agujero 124 es sustancialmente igual al tamaño del núcleo de tejido 108. También, debido a que el émbolo 130 no excede más allá de la parte inferior de la aguja 128, el émbolo 130 no se extiende en el agujero 124. Así, al proporcionar un agujero de tamaño consistente 124 y un núcleo de tejido 108 que son sustancialmente iguales entre sí, una distancia conocida desde la parte inferior del agujero 124 hasta la parte inferior del émbolo 130, y un émbolo 130 no se extiende más allá de la parte inferior de la aguja 128, el núcleo de tejido 108 se puede insertar completamente dentro del agujero 124 utilizando un émbolo 130 sin que se comprima el núcleo de tejido 108 (y por lo tanto sin que se dañe) por parte del émbolo 130.

Aunque en un aspecto de la invención, se evita que el émbolo 130 se extienda más allá del extremo de la aguja 128, en otro aspecto, el émbolo 130 se extiende ligeramente pasado el extremo de la aguja 128. Cuando se secciona una micromatriz de tejido 100, las primeras pocas secciones retiradas de la micromatriz de tejido 100 se consideran normalmente inútiles por diversos factores de calidad. Estos factores incluyen irregularidades en la superficie superior de la micromatriz de tejido 100, daño menor a la superficie superior del núcleo de tejido 108 debido al contacto con el émbolo 130, y la micromatriz de tejido 100 no se monta perpendicular a la cuchilla de corte durante el corte. Estos problemas son particularmente prevalentes cuando el núcleo de tejido 108 tiene un diámetro de 2 mm o menos.

Al permitir que el émbolo 130 se extienda ligeramente pasado el extremo de la aguja 128, el núcleo de tejido 108 se incrusta más profundamente en el agujero 124 y permite un espacio entre la parte superior del núcleo de tejido 108 y la superficie superior de la micromatriz de tejido 100. Este espacio puede tener un tamaño que corresponda a la porción superior de la micromatriz de tejido 100 que experimenta mayor parte de los problemas de calidad. De este modo, se pueden obtener secciones más utilizables para una longitud dada de un núcleo de tejido 108 debido a que las primeras pocas secciones retiradas de la micromatriz de tejido 100 no incluyen el núcleo de tejido 108. Para un

núcleo de tejido 108 que tiene un diámetro de 2 mm o menos, el espacio es por lo menos 0.5 mm, y en ciertos aspectos, entre aproximadamente 0.5 mm y aproximadamente 1.0 mm.

5 Al colocar un nivelador 114, tal como una placa de vidrio, sobre el material de incrustación 102, se puede formar una superficie plana 116 sobre el material de incrustación 102 después de que el material de incrustación 102 se congela y el nivelador 114 se retira del material de incrustación 102. Sobre esta superficie plana 116, se puede
10 colocar un elemento de liberación 106 y un endurecedor 104. El elemento de liberación 106 permite que un núcleo 122 de material de incrustación 102 adyacente al elemento de liberación 106 sea fácilmente retirado durante un proceso de formación de núcleos, lo que evita que el núcleo 122 salga prematuramente del punzón de receptor 120 durante el retiro del punzón de receptor 120 del material de incrustación 102. Un separador de anillo 136 detiene el desplazamiento de un émbolo 130 en un punzón de donante 126 que pasa un punto particular para evitar que un núcleo de tejido 108 que se inserta en el material de incrustación 102 sea triturado por el émbolo 130.

15 En otro aspecto de la presente invención, el mecanismo de disposición se protege del daño de la humedad mediante una lámina plástica. Cuando una micromatriz, tal como la mostrada en la Fig. 1, se utiliza para producir criomatrices, su mitad delantera (es decir, el área adyacente a la placa 22) se cubre normalmente con glóbulos de dióxido de carbono congelados para mantener congelado el bloque receptor 4. Como resultado, la matriz completa llega a estar extremadamente fría, lo que da como resultado humedad en el aire y que la respiración del operador forme una acumulación de escarcha en la matriz. Esta escarcha es indeseable debido a que este puede introducirse en micrómetros 10, 11, dañando potencialmente sus mecanismos internos. Más aun, se puede acumular escarcha en las series 8, 9, deteriorando su movimiento suave y provocando que las matrices se peguen.

20 En esta realización de la presente invención, se proporciona una barrera contra la humedad, tal como una lámina plástica; por ejemplo una lámina de polietileno transparente, como se muestra en la Fig. 12. La barrera contra la humedad 1200 de la invención tiene un agujero rectangular 1210 en su centro delantero, y dos ranuras 1220, 1230, una a la derecha del agujero rectangular 1210 y una segunda hacia la parte trasera del agujero 1210. El agujero rectangular 1210 se ajusta sobre el lado vertical 7 de la micromatriz, y se une alrededor de la base de portaobjeto 7, mediante cinta adhesiva de doble faz. El borde delantero 1200a de la barrera 1200 también se une, mediante cinta, permitiendo suficiente holgura para posibilitar el movimiento de los ejes x/y hacia la placa base 6 detrás del soporte de bloque del receptor 27. Los extremos de los micrómetros x y 10, 11 se empujan a través de ranuras 1220, 1230, respectivamente, permitiendo acceso a sus mandos giratorios, mientras mantienen cubiertos el resto de los mecanismos. Las ranuras 1220, 1230 son lo suficientemente holgadas para permitir al operador girar los micrómetros, y suficientemente herméticos para mantenerlos a salvo del exceso de humedad. El lado y los bordes traseros 1200b-d de la barrera 1200 se meten por debajo de la placa de base de la matriz 6, dejando suficiente holgura para permitir el movimiento x/y.

35 La barrera contra la humedad de la invención 1200 no crea un sello hermético contra la humedad, sino que restringe el flujo de aire de manera suficiente para evitar la generación de humedad y niebla sobre los micrómetros y las matrices que permiten el movimiento x/y.

40 La presente invención se puede practicar al incorporar metodología y equipo convencionales. De acuerdo con lo anterior, los detalles de tal equipo y metodología no se establecen aquí en detalle. En las descripciones anteriores, se establecen numerosos detalles específicos, tales como instrucciones, procesos, etc., específicos, con el fin de proporcionar un entendimiento de la presente invención. Sin embargo, se debe reconocer que la presente invención se puede practicar sin retomar los detalles establecidos específicamente.

45 En la presente descripción sólo se muestra y se describe un aspecto de ejemplo de la presente divulgación y unos ejemplos de su versatilidad. Cabe entender que la presente invención es susceptible de ser utilizada en diversas combinaciones y ambientes y es susceptible de cambios o modificaciones dentro del alcance del concepto de la invención como se expresa aquí.

REIVINDICACIONES

1. Un bloque receptor de tejido (100) para alojar una muestra de tejido en un núcleo (108) que se extiende desde una superficie superior del bloque (100) hasta una superficie interna del bloque (100), comprendiendo el bloque (100): un material de incrustación (102) que se extiende entre la superficie superior del bloque (100) y una superficie inferior del bloque (100) por debajo de la superficie interna del bloque (100);
 5 un elemento de liberación (106) dispuesto en la superficie interna del bloque (100), siendo el elemento de liberación (106) un material del que se puede separar el material de incrustación (102), de tal manera que el núcleo (108) se extiende desde la superficie superior del bloque (100) hasta el elemento de liberación (106);
 10 y un endurecedor (104) por debajo del elemento de liberación (106) para mantener el elemento de liberación (106) de manera que tenga una superficie sustancialmente plana.
2. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un casete (110) dispuesto por debajo y en contacto con la superficie inferior del material de incrustación (102) para fijar el bloque (100) a un aparato para formar el núcleo (108) y posicionar las muestras de tejido en el núcleo (108).
- 15 3. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 1, en donde el material de incrustación (102) se selecciona del grupo que consiste en cera de parafina, nitrocelulosa, alcohol polivinílico, carbowax, gelatina y agar.
4. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 1, en donde el endurecedor (104) y el elemento de liberación (106) son unitarios.
5. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 1, en donde el endurecedor (104) y el elemento de liberación (106) son no unitarios.
- 20 6. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 4, en donde el elemento de liberación (106) comprende un recubrimiento sobre el endurecedor (104).
7. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 1, en donde el elemento de liberación (106) comprende látex.
- 25 8. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente una pluralidad de núcleos (108) que se extiende desde la superficie superior del bloque (100) hacia el elemento de liberación (106).
9. El bloque receptor de tejido (100) de la reivindicación 8, que comprende adicionalmente una pluralidad de muestras de tejidos dentro de los núcleos (108), respectivamente, comprendiendo cada una de las muestras de tejidos parafina o tejido congelado completo libre de parafina, y sustancialmente coextensivo con su núcleo respectivo (108).
- 30 10. Un método para fabricar un bloque receptor de tejido (100) para alojar una muestra de tejido en un núcleo (108) que se extiende entre una superficie exterior del bloque (100) y una superficie interna del bloque (100), comprendiendo el método: llenar parcialmente un molde (112) con una primera cantidad de un medio de incrustación de líquido, nivelar la superficie expuesta del medio de incrustación para formar una superficie sustancialmente plana sobre el medio de incrustación; congelar la primera cantidad de medio de incrustación; colocar un elemento de liberación (106), del que se pueda separar el medio de incrustación, sobre la superficie sustancialmente plana de la primera cantidad de medio de incrustación; colocar un endurecedor (104), para mantener el elemento de liberación (106) de manera que tenga una superficie sustancialmente plana, sobre el elemento de liberación (106); ubicar un casete (110) dentro del molde (112) para formar una parte inferior del bloque receptor de tejido (100); llenar la parte restante del molde (112) con una segunda cantidad de medio incrustador de líquido, y congelar las primeras y segundas cantidades del medio de incrustación.
- 35 11. El método de la reivindicación 10, que comprende llenar parcialmente el molde (112) con la primera cantidad de material incrustado (102) de tal manera que la profundidad a la que se llena el molde (112) es aproximadamente igual a una altura del núcleo (108).
- 40 12. El método de la reivindicación 10, que comprende ubicar un nivelador que tiene una superficie plana sobre el medio de incrustación de tal manera que una distancia desde el fondo del molde (112) hasta la superficie plana del nivelador sea aproximadamente igual a una altura del núcleo (108).
- 45 13. El método de la reivindicación 12, que comprende apoyar el nivelador sobre un separador para mantener una distancia predeterminada entre la parte inferior del molde (112) hasta la superficie plana del nivelador.

14. El método de la reivindicación 10, que comprende recubrir el elemento de liberación (106) con medios incrustadores de líquidos antes de colocar el elemento de liberación (106).

15. El método de la reivindicación 10, que comprende seleccionar el medio de incrustación del grupo que consiste en cera de parafina, nitrocelulosa, alcohol polivinílico, carbowax, gelatina y agar.

5 16. El método de la reivindicación 10, en donde el elemento de liberación (106) comprende látex.

10 17. El método de la reivindicación 10, que comprende adicionalmente: retirar dicho bloque receptor de tejido (100) del molde (112) e invertir el bloque (100) de tal manera que el casete (110) esté en el fondo del bloque (100); insertar un punzón de receptor hueco dentro de la superficie superior del bloque (100) a una profundidad aproximadamente igual a una profundidad en la que se posiciona el elemento de liberación (106); y retirar el punzón de receptor y un núcleo (108) del medio de incrustación del bloque (100) para formar un agujero en el bloque (100) que se extiende desde la superficie superior del bloque (100) hasta el elemento de liberación (106).

15 18. El método de la reivindicación 17, que comprende adicionalmente: posicionar un núcleo de tejido (108) dentro de una aguja de un punzón de donante hueco sobre el agujero, de tal manera que una superficie inferior de la aguja esté sustancialmente nivelada con la superficie superior del bloque (100); y presionar hacia abajo un émbolo del punzón donante para insertar el núcleo de tejido (108) dentro del agujero del tal manera que el émbolo no se extienda más allá del extremo de la aguja, y el núcleo del tejido (108) se extienda desde la superficie superior del bloque (100) hasta el elemento de liberación (106).

20 19. Una herramienta para fabricar un bloque receptor de tejido (100) para soportar una muestra de tejido en un núcleo (108) que se extiende desde una superficie superior del bloque (100) hasta una superficie interna el bloque (100), comprendiendo la herramienta: un molde (112) que define una periferia externa y una superficie superior del bloque (100); un nivelador que tiene una superficie plana para posicionarse contra la superficie expuesta de un medio de incrustación líquido llenando parcialmente el molde (112), para formar una superficie sustancialmente plana sobre el medio de incrustación, en donde el nivelador se puede retirar desde el material de incrustación (102) después de que el material de incrustación (102) se ha congelado; y un casete (110) que se ajusta dentro del molde (112) para definir una superficie inferior del bloque (100).

25

20. La herramienta de la reivindicación 19, en donde el nivelador comprende vidrio.

21. La herramienta de la reivindicación 19, que comprende adicionalmente un separador dentro del molde (112) para mantener una distancia predeterminada entre la parte inferior del molde (112) hasta la superficie plana del nivelador.

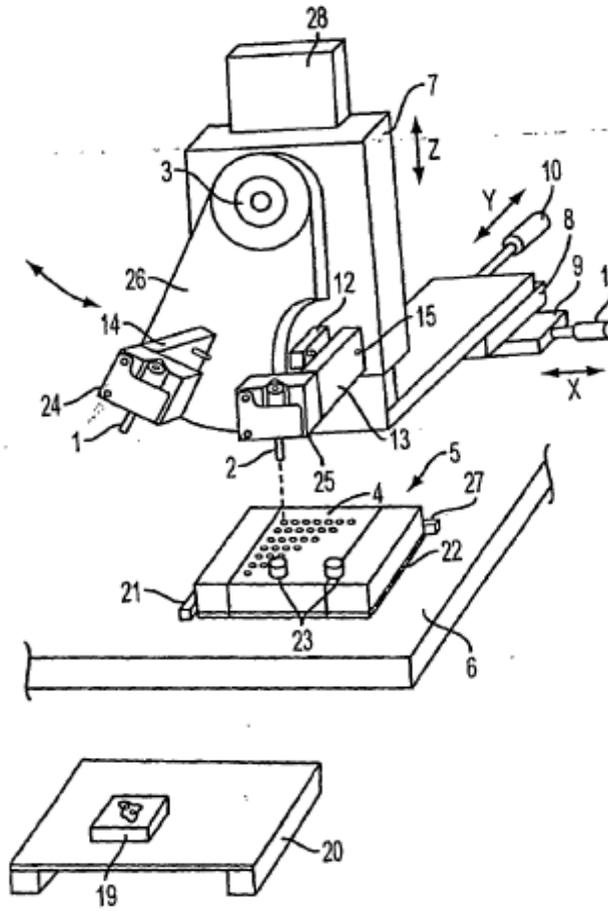


FIG. 1

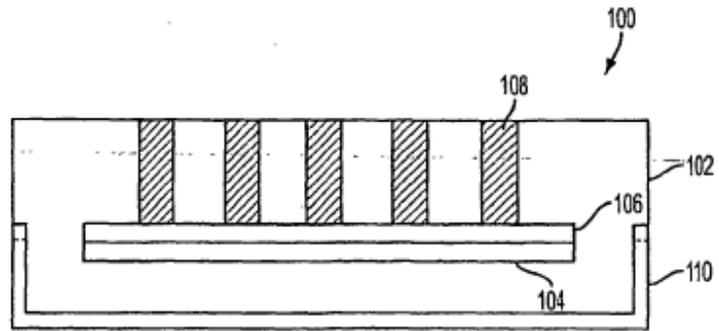


FIG. 2

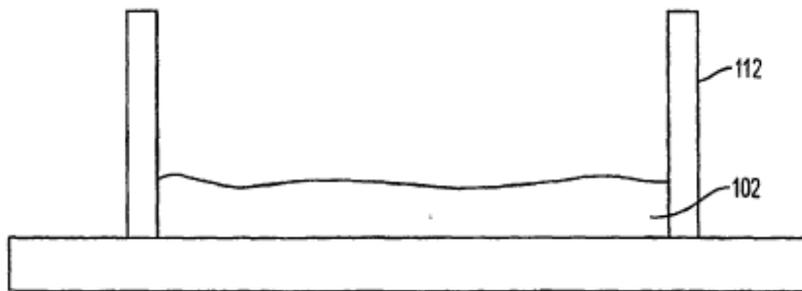


FIG. 3

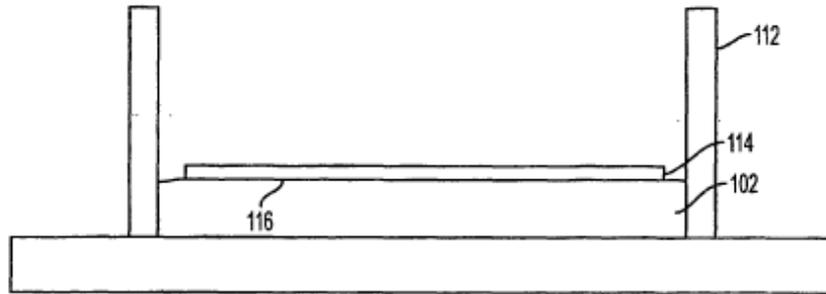


FIG. 4

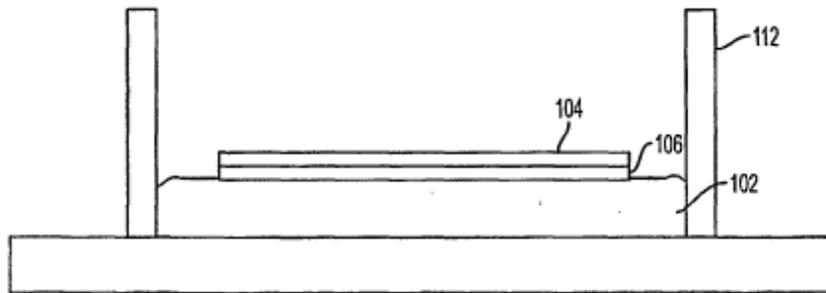


FIG. 5

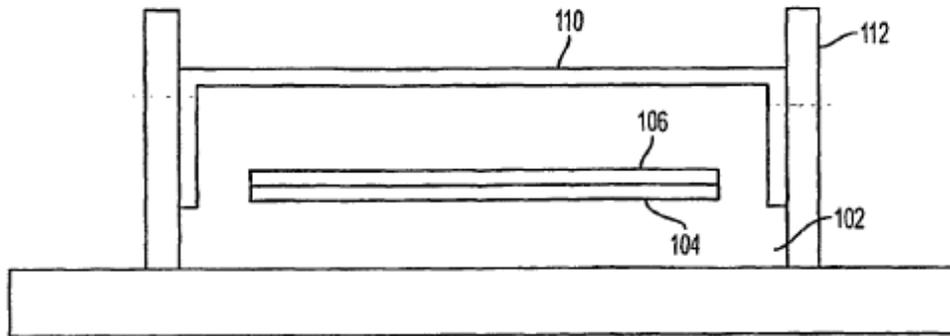


FIG. 6

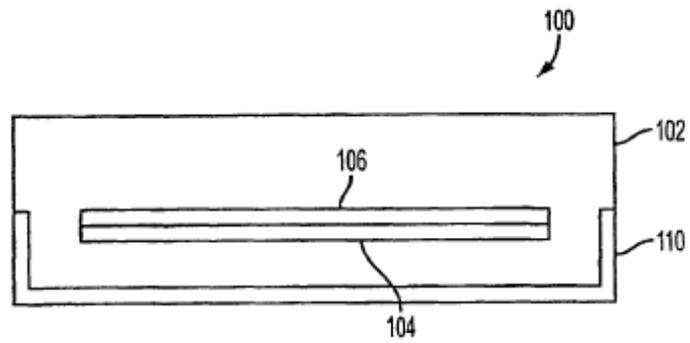


FIG. 7

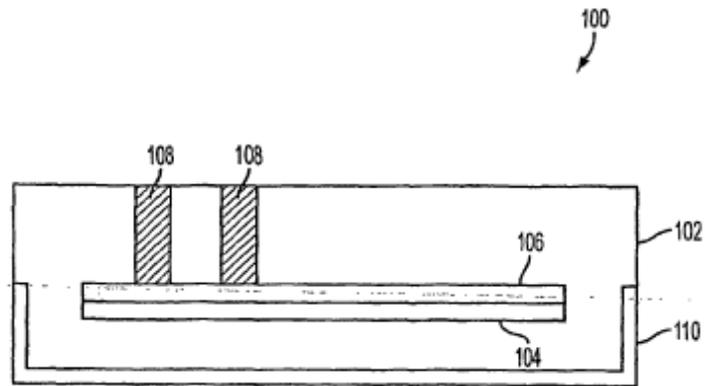


FIG. 8

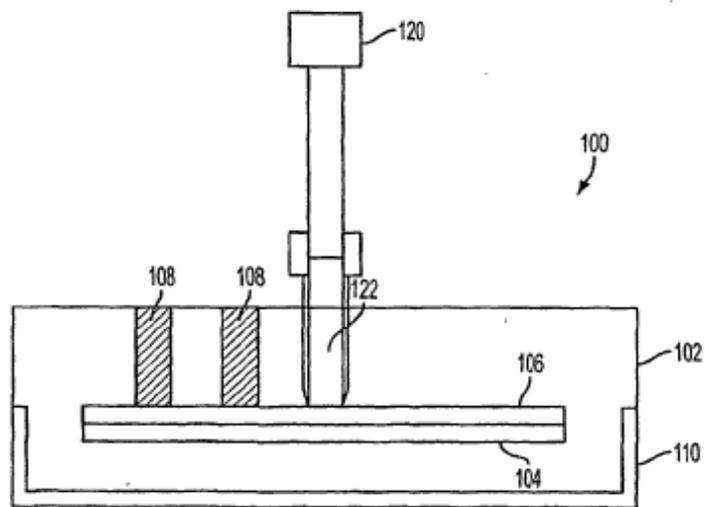


FIG. 9

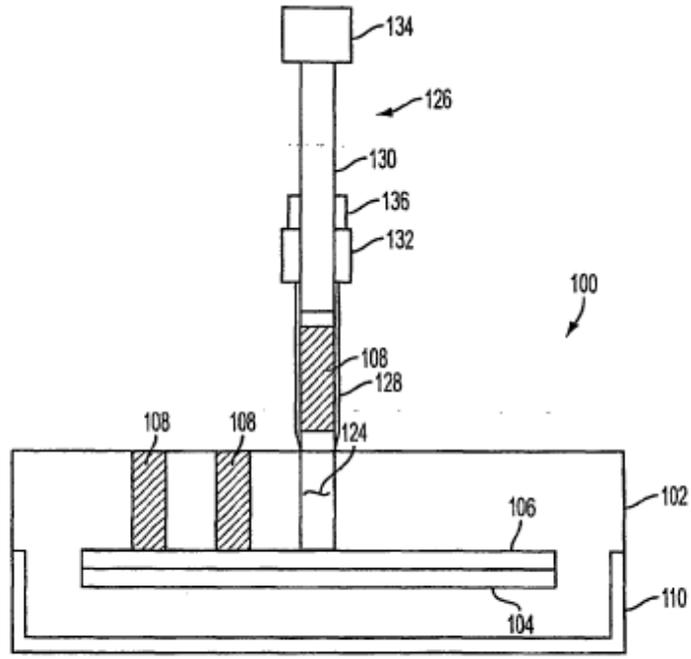


FIG. 10

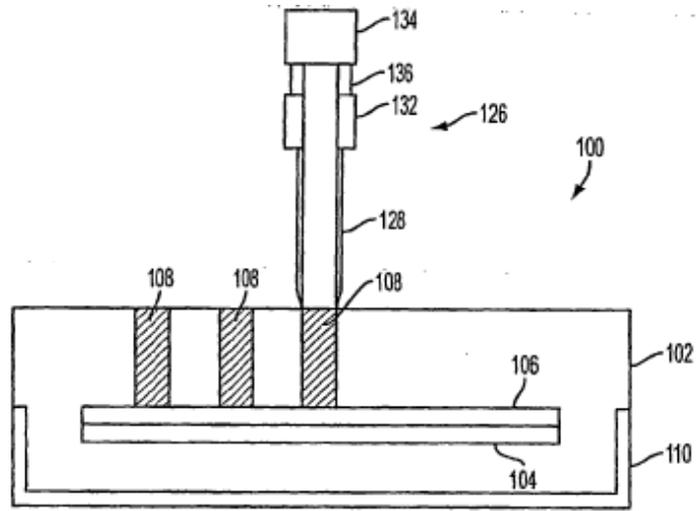


FIG. 11

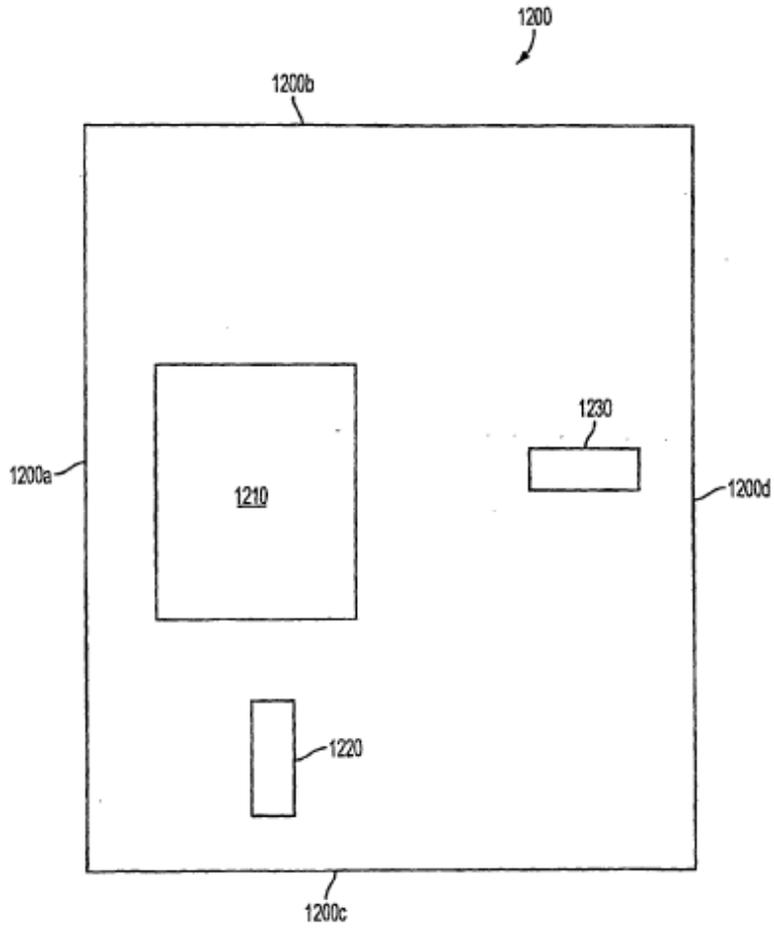


FIG. 12