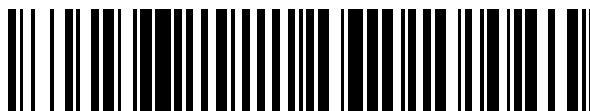


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 429**

51 Int. Cl.:

**A61B 5/11** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2007 E 07849127 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2013 EP 2086408**

54 Título: **Procedimiento y dispositivo para el registro locomotor de organismos pequeños, registro de comportamiento obtenido y uso del mismo**

30 Prioridad:

**21.11.2006 AR P060105084**

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

**03.05.2013**

73 Titular/es:

**CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES  
CIENTIFICAS Y TECNICAS (CONICET) (33.3%)**

**Av. Rivadavia 1906 3 "F"**

**Buenos Aires C1033 AAJ, AR;**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE QUILMES (33.3%) y**

**INIS BIOTECH LLC (33.3%)**

72 Inventor/es:

**GOLOMBEK, DIEGO ANDRÉS y**

**SIMONETTA, SERGIO HERNÁN**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 402 429 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

Procedimiento y dispositivo para el registro locomotor de organismos pequeños, registro de comportamiento obtenido y uso del mismo

5

**Campo técnico**

La automatización del registro de comportamiento en organismos modelos es una herramienta extremadamente útil que puede utilizarse en el campo cronobiológico, de longevidad, toxicidad y estudios de farmacología. El desarrollo de sistemas automáticos de registro del comportamiento permite que ciertos campos de investigación progresen con vigor en un período de tiempo muy breve.

10

La presente invención se refiere a un procedimiento y dispositivo para el registro locomotor de organismos pequeños. Potencialmente, la invención puede utilizarse en el desarrollo de fármacos (es decir, blancos u objetivos farmacológicos) y toxinas, como así también en defectos de la locomoción, estudios circadianos y de longevidad (o envejecimiento), y cribados genéticos y mutantes.

15

**Antecedentes de la técnica**

Los estudios locomotores en los organismos pequeños normalmente se llevan a cabo a través de mediciones indirectas (genes informantes) o registro de video (seguimiento de errores).

20

La comercialización del *sistema de monitorización de la actividad de Drosophila melanogaster* (Trikinetics [www.trikinetix.com](http://www.trikinetix.com)) causó un gran impacto en la investigación de este modelo animal. La característica principal de este equipamiento es la posibilidad de registrar la actividad de un gran número de animales, con monitorización de un solo animal. Este equipamiento se utiliza en la cronobiología y estudios farmacológicos que incluyen la investigación de numerosas áreas tales como enfermedad de Parkinson, envejecimiento, y toxicidad.

25

Sin embargo, los estudios de comportamiento en organismos más pequeños se han limitado a las mediciones de la población o al registro indirecto de la actividad del gen informante. Por ejemplo, se han utilizado informantes bioluminiscentes en cianobacterias; las mediciones de toda la población del consumo de oxígeno y producción metabólica o crecimiento de la biomasa se han utilizado para levaduras; la impedancia y densidad óptica del medio se han empleado para las bacterias.

30

Otros organismos modelo, tales como las larvas pez cebra o el nematodo *C. elegans*, se han estudiado a través de genes informantes (bioluminiscencia y biofluorescencia) y a través de monitorización de video (por el uso de registro de video más análisis de imágenes digitales).

35

En este momento, el análisis de movimientos complejos únicamente es posible por el uso de "seguimiento de errores". Sin embargo, la implementación de este ajuste para el seguimiento de canales múltiples (número elevado de animales aislados) no es práctica. El elevado coste de COD y equipamiento óptico, más la gran cantidad de procesamiento de datos requerido (equivalente a una cámara acoplada a un microscopio, más una PC por cámara) hace que sea difícil y costoso el uso del seguimiento de múltiples organismos aislados.

40

El estudio de comportamientos más simples, tales como la posibilidad de saber si un animal se mueve en un momento particular o, incluso, si está vivo, requiere sistemas simplificados con la posibilidad de seguir múltiples individuos simultáneamente y procesamiento de datos en tiempo real.

45

El sistema locomotor diseñado para *Drosophila* e insectos con tamaños similares (tamaño de *Drosophila* = 5 mm de largo x 3 mm de ancho, color opaco) no es adecuado para animales más pequeños. Cuando se ha intentado utilizar este sistema para organismos más pequeños (es decir, *C. elegans*, aproximadamente 1 mm de largo x 100 µm de diámetro, translúcido), se han hallado numerosas limitaciones. Se mencionan unas pocas: formato inadecuado del recipiente de cultivo (tubos de vidrio de 5 mm de diámetro), gran tamaño del haz infrarrojo con relación al pequeño cuerpo del organismo (haz = 3-5 mm de diámetro vs. organismo = 100 µm) y sensibilidad a la detección menor a la requerida (dado que las moscas no son transparentes).

50

55

El documento WO 99/42557A se refiere a un sistema de análisis de esperma que tiene un portador de muestras de esperma (20) y un módulo "lector". El portador de muestras de esperma incluye: 1) una varilla (24) que define una cámara (26) con una abertura para el ingreso y egreso de una muestra de esperma; una bomba de operación manual (28) para aspirar una muestra de esperma hacia dentro de la cámara (26), y una pluralidad de vías de fotones distintas (34) que se cruzan y pasan a través de la cámara (26). El módulo incluye: un procesador responsivo a una señal accionante de un operador, una fuente de fotones, por ej., una fuente lumínica, energizada por el procesador en respuesta a la señal accionante, para enviar los haces respectivos de fotones a través de cada una de las vías de fotones, una pluralidad de sensores fotoeléctricos, uno para cada vía de fotones, cada uno para producir una señal indicativa de la aparición y frecuencia de perturbaciones en el haz de fotos que pasa a través de dicha vía de fotones respectiva y comunicar la señal al procesador, y un algoritmo operado por el procesador para

60

65

procesar la pluralidad de señales de sensores fotoeléctricos para producir una figura cuantificada indicadora del mérito de la movilidad del esperma dentro de la cámara.

5 Las diferencias entre la presente solicitud y el documento WO 99/42557A se basan en el uso de una cantidad menor de organismos que permite tener un número elevado de animales individuales disponibles para las pruebas. Esto significa que se permite la prueba del efecto de los compuestos diferentes (que se agregan al medio de cultivo) en animales individuales aislados que, además, asegura una disponibilidad correcta de nutrientes y oxígeno en cada uno de los hábitats cerrados.

10 De acuerdo con lo anterior, la posibilidad de llevar a cabo un número elevado de pruebas de forma simultánea es posible en menos tiempo y con un coste menor. La ventaja de obtener medidas de los organismos individuales se asocia con sus aplicaciones biomédicas.

### 15 Sumario de la invención

El objetivo de la invención es el desarrollo de un sistema de seguimiento de la actividad locomotora para organismos pequeños (con bajo coste, facilidad de construcción e implementación). Un objetivo particular es la implementación para seguir los ritmos circadianos y la locomoción general en el nematodo *C. elegans*.

20 La presente invención se refiere a un sistema de seguimiento de la actividad locomotora para organismos muy pequeños que actúa a través de un microhaz infrarrojo. El procedimiento de detección se logra por el cruce del recipiente del organismo (donde el organismo está cultivado) con un microhaz infrarrojo, y la generación de una señal como una función de la dispersión de luz generada por la difracción del cuerpo del organismo. La señal se procesa digitalmente para detectar la actividad locomotora del organismo.

25 Este sistema de construcción sencilla y múltiples canales tiene aplicaciones múltiples, que incluyen las de cronobiología, tiempo de vida, comportamiento locomotor, toxicología y estudios de farmacología.

### 30 Descripción de las figuras

Estas y otras características y detalles del objetivo de esta invención y de la forma en que la invención puede desarrollarse y llevarse a cabo se comprenderán mejor mediante la siguiente descripción detallada de una forma de realización representativa y no limitativa ilustrada en las figuras adjuntas. No obstante pueden realizarse otras variaciones, modificaciones, adaptaciones y/o adiciones sin alterar la naturaleza ni apartarse del espíritu de la invención. En las figuras:

Figura 1: diagrama esquemático del sistema de adquisición de acuerdo con la presente invención.

Figura 2: registro de video de la dispersión de luz producida por el movimiento del nematodo.

40 Figura 3: trazado de la señal procesada digitalmente. a) período de la señal de frecuencia adquirida del conversor V/F. b) señal derivada c) integración de derivadas d) umbral e) casos de actividad locomotora detectada.

45 Figura 4: diagrama del circuito electrónico de un panel de ocho canales para lectura que comprende adquirir el dispositivo de la figura 1.

Figura 5: presentación de datos (por actogramas) en la pantalla de la misma computadora u otra computadora conectada a la red.

50 Figura 6: Actograma de un nematodo masculino de tipo salvaje bajo condiciones de oscuridad constantes. Las barras negras corresponden a períodos de actividad del nematodo mostrados como una función de tiempo, los días se muestran uno debajo del otro. La línea roja representa la regresión lineal del inicio de la actividad.

### 55 Definiciones

V/F = voltaje a frecuencia, LD = ciclo de luz/oscuridad, pocillo = unidad contenedora de la placa de microtitulación.

### Exposición de la invención

60 **Exposición**

La siguiente descripción muestra una aplicación de la invención. Se presenta a continuación un ejemplo de aplicación referente al seguimiento de la actividad locomotora de *C. elegans*. Esta aplicación también es válida para organismos de tamaños similares, con los evidentes ajustes de las condiciones de cultivo.

65

- Para registrar el movimiento de gusanos individuales, estos se colocan en una placa de microtitulación de 96 pocillos [3] (1 gusano por pocillo) (placa de microtitulación: marca registrada "Orange" o similar: El tamaño de esta placa es de 127 mm de largo x 85 mm de ancho, y el tamaño de cada pocillo es de 7 mm de diámetro x 14 mm de profundo, con fondo plano o en "U"). En el caso de los nematodos, la mejor sensibilidad se obtiene por el empleo de placas de microtitulación con forma en "U" (donde la gravedad limita el área de movimiento del gusano). Sin embargo, puede ser posible emplear placas con fondo plano en otros estudios de población (tales como, larvas de peces o insectos). Además, pueden utilizarse otras placas de microtitulación (12-1536 pocillos/placa), con la condición de que haya al menos 1 microhaz por pocillo para seguir animales individuales.
- Cada placa de microtitulación [3] define un hábitat cerrado, comprendido por el medio de cultivo (en esta solicitud se utilizó tampón líquido M9, CeMM (CeHR) o medio L15 de Leivobitz, con baja absorbancia óptica infrarroja). El medio de cultivo puede ser o no axénico, y puede comprender un medio líquido o incluso aire (para insectos). La característica principal a satisfacer es la baja absorbancia en el rango de longitud de onda del microhaz.
- Se muestra en la Figura 1 el diagrama de bloques del sistema correspondiente a un único pocillo. La placa de microtitulación [3] se introduce en receptáculo del registrador, entre un led infrarrojo [1] y un fototransistor [4]. Es adecuado utilizar un haz infrarrojo con una longitud de onda de 940 nm con una potencia de emisión de 1 mW/cm<sup>2</sup> o menos (un ejemplo de emisor sería el LED TLN 105A Toshiba Semiconductor o similar, y un fototransistor SFH300FA Siemens Semiconductor con filtro de luz del ambiente o similar). Sin embargo, la luz del microhaz puede tener cualquier longitud de onda con la condición de que no interfiera con el proceso que está siendo registrado.
- La transducción del movimiento comienza con la emisión de luz infrarroja del LED [1]. Se genera un microhaz infrarrojo por la filtración de la luz por medio de un sistema de matriz de microagujeros [2]. Este microhaz cruza el medio de cultivo del gusano y es recibido por el fototransistor [4].
- El sistema de matriz de microagujeros está comprendido por una placa acrílica (2,5 mm de ancho) con microagujeros de 100 μm alineados con los LED. El alineamiento preciso de los LED, microagujeros, y fototransistores se obtiene por el uso de un sistema de trazado láser y el montaje del equipo con tornillos guía más cojinetes.
- La detección del movimiento se produce cuando el gusano pasa a través del microhaz infrarrojo (figura 2). A medida que el cuerpo del gusano dispersa la luz infrarroja, se produce una pequeña reducción transitoria en la luz sentida por el fototransistor [4]. Esta fluctuación reflejada en la corriente de salida del fototransistor se convierte a frecuencia por un conversor V/F lineal de rango amplio [5].
- La amplificación y conversión digital de la señal se realiza en un paso por el conversor de precisión V/F (circuito integrado LM331N). Este circuito tiene un rango lineal de conversión de 1Hz a 100KHz, que ofrece una gran sensibilidad únicamente limitada por la velocidad de muestra del microprocesador asociado. (El circuito del conversor V/F es una adaptación de la aplicación típica LM231N D5005680-9 National Semiconductor)
- La señal digitalizada se adquiere y analiza matemáticamente por una unidad procesadora central implementada por un PIC16F84A-20. Este microcontrolador se programa con un algoritmo derivado/integrador (descrito a continuación) capaz de traducir las fluctuaciones de la luz en recuentos de la actividad locomotora.
- A continuación, la actividad locomotora se transmite a un Ordenador Personal (PC) a cada lapso de tiempo fijo, definido por el usuario, para guardar los datos. Esta transmisión se lleva a cabo a través de una interfaz serial con un protocolo RS-232.
- El microcontrolador también enciende o apaga los led infrarrojos cuando comienza la adquisición.
- El bloque de adquisición descrito en la figura 1 se repite para cada uno de los 96 pocillos [3]. Este bloque se materializa por el circuito electrónico mostrado en la figura 4. Todo el sistema de adquisición está comprendido por 6 paneles de adquisición, de 8 canales cada uno, totalizando 48 canales por unidad de asignación del registrador. Una placa de microtitulación de 96 pocillos se coloca en una unidad de asignación.
- El panel de adquisición (esquemático en la figura 4) contiene 8 conversores V/F [5], 1 microprocesador [6] y componentes asociados.
- Pueden agregarse como un accesorio cuatro LED blancos que trabajan intermitentemente durante períodos de 24 horas y con ciclos de carga al 50% para utilizar sistemas de ritmos biológicos, cuando sea necesario o conveniente para sincronizar los animales con ciclos diarios de luz-oscuridad.
- Los pines de entrada/salida del microcontrolador [6] son:
1. – 8 entradas asignadas para la lectura de los conversores V/F [4].

## ES 2 402 429 T3

1. – 1 salida para el control de 8 LED infrarrojos.

1. – 1 salida para el control de LED de iluminación.

5 1. – 1 salida asignada para repetir la frecuencia de lectura de los conversores V/F (utilizados para la calibración del sistema).

1. – 2 entrada/salidas para comunicación en serie.

10 Cada panel de adquisición tiene un número de dirección asignado al microcontrolador. Este número de dirección se utiliza para la comunicación del PC.

15 Los LED infrarrojos [1] se activan durante 30 segundos. Tras este tiempo de adquisición, el microcontrolador [6] espera la comunicación del PC. El procesamiento digital multiplexa 4 canales cada ciclo de adquisición debido a la limitación de la velocidad de procesamiento (por el uso del microcontrolador más rápido P1160622-40MHz esta multiplexación no es requerida).

20 El PC recoge los datos cada 30 segundos, después de lo cual se reinicia el ciclo de adquisición. Este lapso de tiempo proporciona 1 muestra/minuto, que es un intervalo de tiempo aceptable para los estudios cronobiológicos y otros estudios. Este tiempo puede ajustarse, de unos pocos segundos a minutos, obteniendo resultados similares.

Descripción del procesamiento de la señal matemática:

25 El algoritmo para procesar la señal digital consiste en:

1) Cálculo del período entre 2 picos de la onda de frecuencia al cuadrado:

30 El número de ciclos de muestra se cuenta entre un flanco del pico hacia arriba y el próximo. Dado que la velocidad de muestra se programa en 10Kbaudios/segundo, la frecuencia máxima para resolver es de 5KHz. Para evitar problemas relacionados con la escasez de muestras, la frecuencia de referencia de los conversores se ajusta a 3KHz, por el ajuste de la potencia de los IR LED con resistores.

2) La derivación del período (n) se calcula de acuerdo con la siguiente ecuación:

35 Derivada (n) = Período (n) – Período(n-1)

3) La integración de las derivadas se calcula de la siguiente manera:

40 Integral (n) = Integral (n-1) + Derivada(n)

Este proceso es equivalente al cálculo de un filtro bloqueador de CD FIR con valor de R de 1. Este se utiliza para eliminar el valor de la señal de referencia.

45 4) Si el Valor Integral es mayor que un umbral (calculado empíricamente como el 6% del Período anterior), la actividad locomotora se reconoce:

IF ABS(Integral)>0,06 \* Período(n-1)--> OK Actividad e Integral=0

50 (ABS = Valor Absoluto)

Quando se detecta la actividad locomotora, se incrementa una contra-actividad. Posteriormente, este contra-valor se transmite al PC cuando sea requerido.

55 La comunicación entre el microcontrolador y el PC se lleva a cabo por la interfase RS-232 (puerto COM o adaptador USB). A continuación, los datos son recogidos por un software dedicado con las siguientes características:

1. – Guardar los datos de la contra-actividad locomotora en un archivo de texto (.txt) incluyendo fecha y hora.

60 1. – Configuración del número de canales, tiempo y muestra y puerto de comunicación.

1. – Programación del evento de encendido de la luz on/off.

65 1. – Modo de calibración: activación manual de la iluminación, IR LED, modo en tiempo real (lectura de la frecuencia del convertidor V/F) para cada canal.

Una vez recogidos los datos del experimento, los datos pueden trazarse y analizarse con otro software (es decir: TEMPS o CLOCKLAB) localmente o a través de una conexión de red al PC (la figura 5 representa los datos recogidos). El programa de adquisición se utiliza para trazar actogramas para evitar interferencias con el tiempo de recogida de datos.

5 La figura 6 muestra un ejemplo de un actograma trazado con los datos adquiridos con el sistema descrito. Luego, es posible analizar el momento de mayor actividad, anomalías locomotoras, período circadiano y, también, si el nematodo está vivo o no.

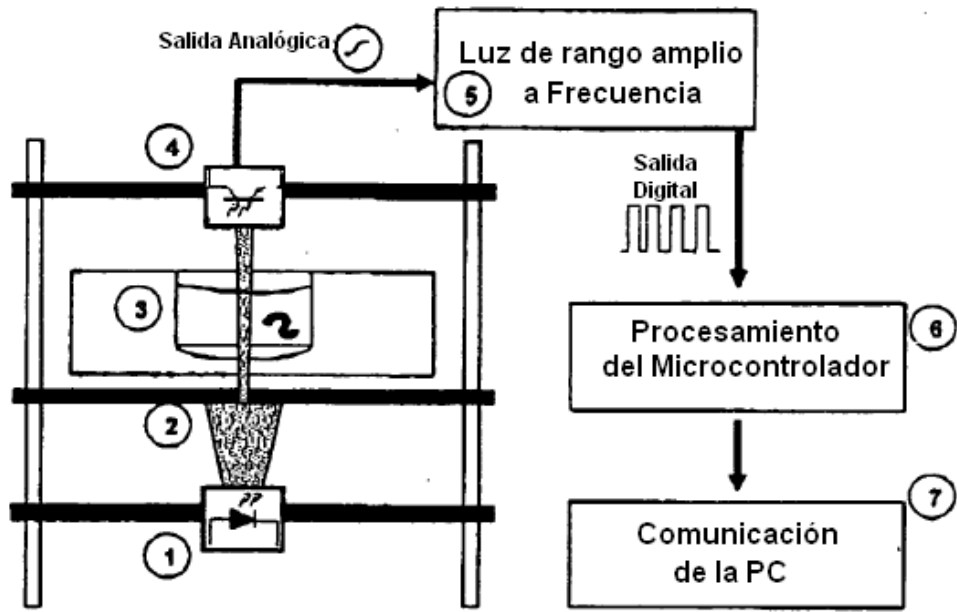
10 Por lo tanto, aunque se han descrito las características preferidas de la presente invención para permitir a los expertos en la materia construir y utilizar el aparato y procedimiento de la presente invención, se comprende que pueden emplearse variaciones y modificaciones sin apartarse, por ello, de la intención principal de la presente invención, definida en las siguientes reivindicaciones. Por consiguiente, se pretende que la descripción anterior sea representativa y no debería utilizarse para limitar el alcance de la invención. El alcance y la invención deben  
15 determinarse únicamente por referencia a las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para seguir la actividad locomotora de nematodos u organismos pequeños de tamaños similares, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:
- 5 aislar una pluralidad de organismos que deben ser registrados en una placa de microtitulación que comprende una pluralidad de hábitats cerrados individuales, generalmente colocando un organismo por hábitat;
- 10 atravesar cada hábitat aislado con un microhaz con las características adecuadas para producir una difracción mensurable con el cuerpo del organismo sin alterar el comportamiento o fisiología del organismo, filtrando previamente cada microhaz a través de unas microtransparencias que preceden a los hábitats cerrados;
- 15 detectar la intensidad o la potencia del microhaz que cruza el hábitat cerrado;
- 20 determinar si hay fluctuación o atenuación en la intensidad o potencia del microhaz medido causada por la difracción del cuerpo del organismo que cruza el microhaz, de acuerdo con un umbral de detección, y registrar la actividad locomotora del organismo, ubicado dentro del hábitat, sobre la base de la determinación de fluctuaciones de los parámetros determinados del microhaz.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque los hábitats cerrados contienen un medio axénico, con una absorbancia óptica baja en el rango óptico de la longitud de onda del microhaz.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque presenta un microhaz infrarrojo.
4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque el microhaz tiene una longitud de onda de aproximadamente 940 nm.
5. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende la irradiación de los microhaces en los hábitats cerrados a una potencia menor que  $1\text{mW}/\text{cm}^2$ .
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque los microhaces se irradian en ciclos de trabajo on/off alternantes.
7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque el ciclo ON dura aproximadamente medio minuto.
8. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque los filtros microtransparentes están formados por unos microagujeros de aproximadamente  $100\ \mu\text{m}$  de diámetro en una placa oscura.
9. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende un sistema de detección que incluye la conversión de la señal medida a una frecuencia directamente proporcional a la luz incidente.
10. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las etapas de detección de la fluctuación o atenuación en la intensidad o potencia del microhaz medido y de registro de la actividad locomotora del organismo incluyen:
- 50 calcular el período entre dos picos sucesivos de la onda de frecuencia,
- 55 calcular la derivada del período,
- integrar las derivadas sucesivas y
- generar un registro de actividades cada vez que el valor de integración sobrepase un umbral precalculado en función del período anterior.
11. Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque dicho umbral se calcula previamente como el 6% del período de frecuencia anterior.
12. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dicha detección de la fluctuación en la intensidad o potencia medida comprende detectar reducciones pequeñas y transitorias en la intensidad o potencia del microhaz medido.
13. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende las etapas adicionales de arrastrar los organismos a ciclos diarios de luz y oscuridad y analizar si dichas fluctuaciones siguen un patrón circadiano.

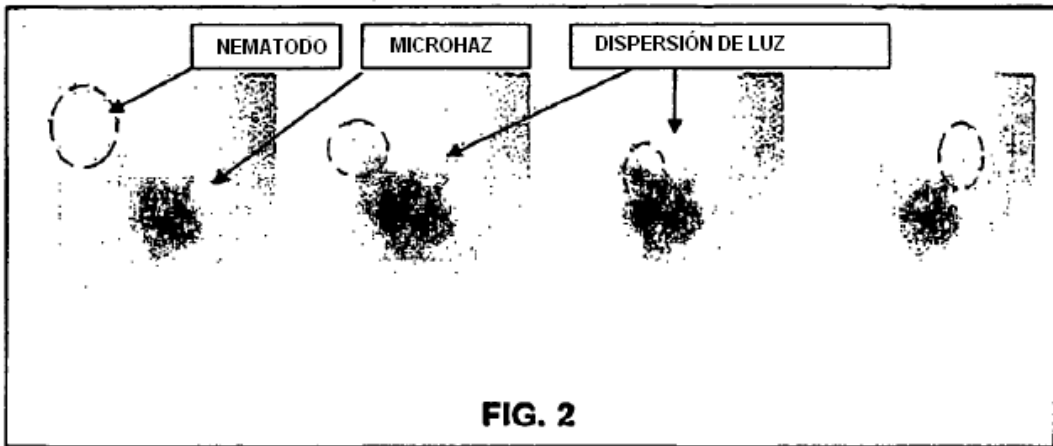
14. Aparato para medir la actividad locomotora de nematodos u organismos pequeños de tamaños similares, que comprende:
- 5 una placa de microtitulación (3) que comprende una pluralidad de hábitats cerrados, siendo cada uno adecuado para cultivar uno de dichos organismos,
- una pluralidad de respectivos medios generadores de microhaces infrarrojos (1), presentando cada uno una salida provista de un microagujero o microtransparencia y alineado a través de un hábitat cerrado correspondiente;
- 10 una pluralidad de respectivos medios receptores de microhaces infrarrojos (4), estando cada uno alineado con una salida generadora correspondiente tal que cada hábitat esté ubicado entre un par de respectivos medios generadores y receptores, para que cada medio receptor produzca una señal de salida proporcional a la intensidad o potencia recibida de un microhaz infrarrojo;
- 15 unos medios de circuitos receptores para detectar fluctuaciones en la señal de salida; y
- un registro vinculado a la salida de los medios de circuitos detectores para registrar la actividad locomotora del organismo sobre la base de las fluctuaciones detectadas en la intensidad o potencia del microhaz.
- 20 15. Aparato según la reivindicación 14, caracterizado porque cada hábitat contiene un medio axénico con absorbancia óptica infrarroja baja.
- 25 16. Aparato según la reivindicación 14 o 15, caracterizado porque dichos medios generadores de microhaces dan una potencia de salida menor que 1 mW/cm<sup>2</sup>.
17. Aparato según la reivindicación 14, 15 o 16, caracterizado porque los medios detectores de la fluctuación incluyen un convertor V/f.
- 30 18. Aparato según la reivindicación 17, caracterizado porque incluye un circuito procesador conectado a la salida del convertor V/f y contiene algoritmos de derivación/integración.
19. Aparato según la reivindicación 14 a 18, caracterizado porque además incluye unos medios para irradiar dichos hábitats con ciclos diarios de luz-oscuridad.
- 35 20. Registro de comportamiento obtenido por el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 13.
21. Uso del procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 13 o el aparato según una de las reivindicaciones 14 a 19 para un uso seleccionado de entre un grupo constituido por: cribado de mutantes, toxicidad de compuestos y pruebas farmacológicas.
- 40





Sistema de Registro de la Actividad

FIG. 1



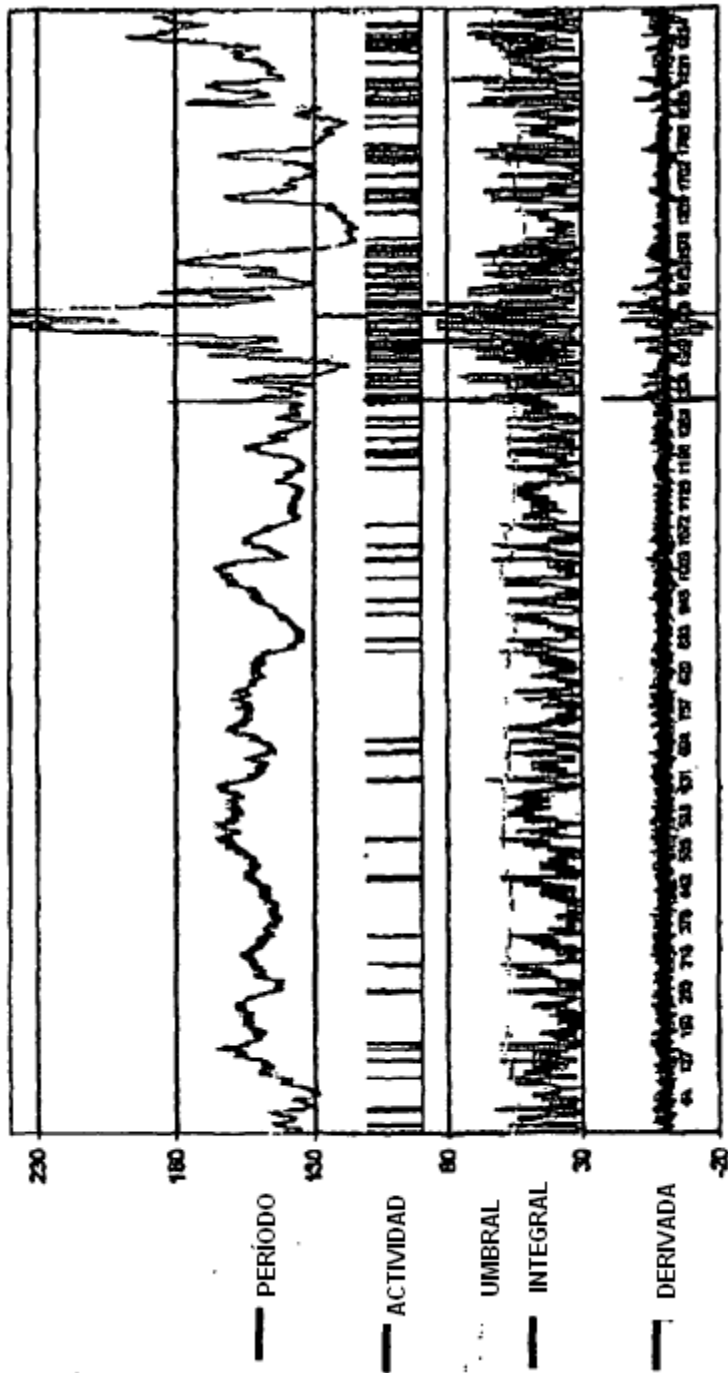


FIG. 3

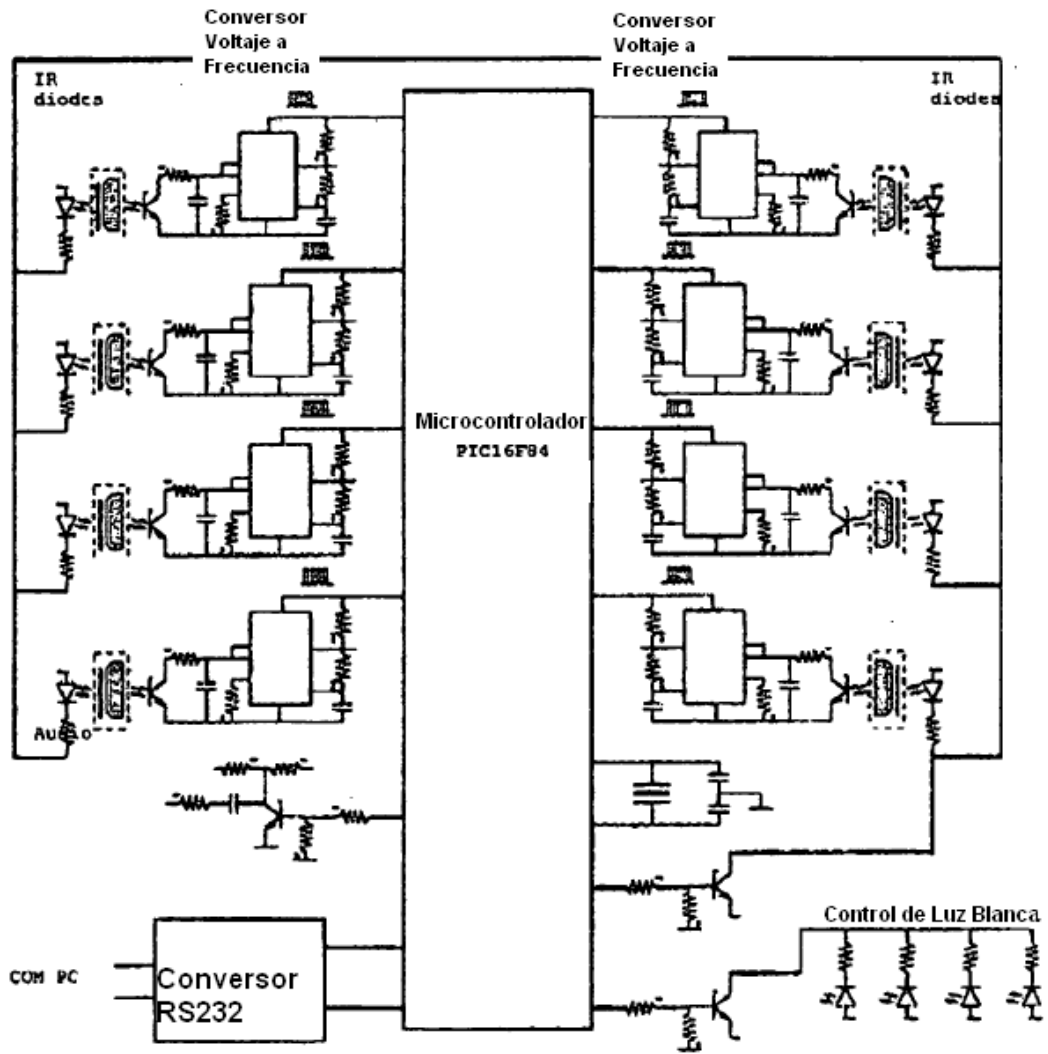


FIG. 4

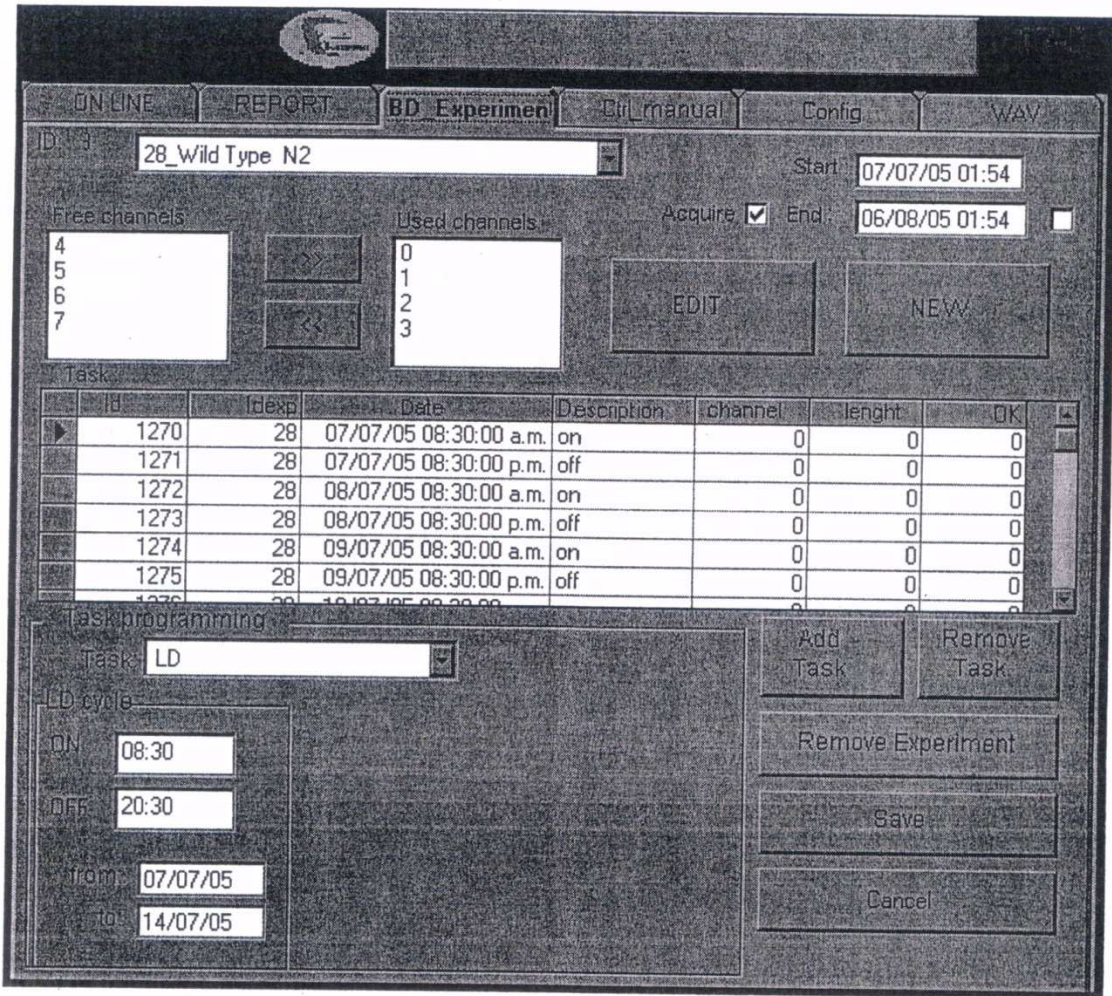


FIG. 5

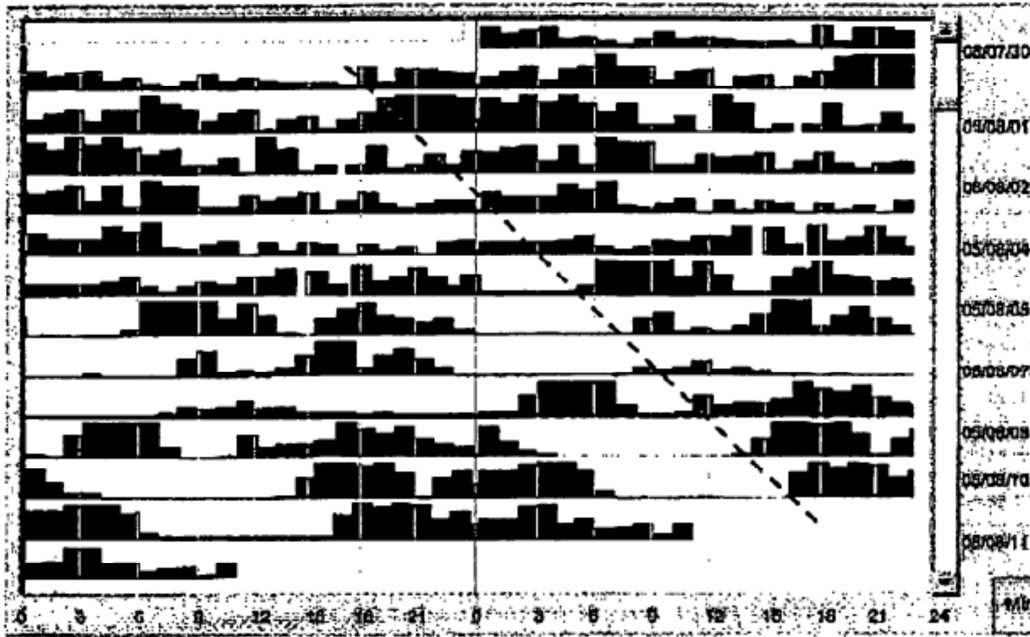


FIG. 6