

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 574 666**

51 Int. Cl.:

**B01F 15/00** (2006.01)

**B02C 19/00** (2006.01)

**B01F 13/10** (2006.01)

**B01F 7/16** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

**B02C 19/22** (2006.01)

**G01N 1/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2011** **E 11171503 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.05.2016** **EP 2540394**

54 Título: **Dispositivo para fragmentar el tejido**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.06.2016**

73 Titular/es:

**MILTENYI BIOTEC GMBH (100.0%)**  
**Friedrich-Ebert-Str 68**  
**51429 Bergisch-Gladbach, DE**

72 Inventor/es:

**PETERS, RALF-PETER ;**  
**KABAHA, EIAD ;**  
**STÖTERS, WOLFGANG;**  
**WINKELMAYER, GERHARD y**  
**BUCHER, FRANZ G.**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 574 666 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**

Dispositivo para fragmentar el tejido

5 La presente invención se refiere a un dispositivo para fragmentar, mezclar u homogeneizar muestras biológicas como el tejido.

Técnica anterior

10 Son conocidos los dispositivos para la fragmentación del tejido. Por ejemplo, el documento WO 2006/081694 A1 y WO 2004/035191 describen un homogeneizador y mezclador unidireccional para muestras biológicas, que comprende un recipiente de prueba de laboratorio tubular con un elemento de procesamiento que tiene elementos de corte y/o molido.

15 La desventaja de este dispositivo es que cuando se procesan sustancias fibrosas o que contienen cuerdas como el tejido muscular, el grado de fragmentación es insuficiente. Las fuerzas centrífugas generadas por el agitador presionan las sustancias que se fraccionan contra el recipiente de laboratorio en el que no pueden molerse lo suficiente, lo que resulta en partículas demasiado grandes y/o en un material procesado no homogéneo.

Objeto de la invención

20 Por lo tanto, era un objetivo de la presente invención proporcionar un dispositivo mejorado para fragmentar, mezclar u homogeneizar las muestras biológicas.

25 Se encontró que con un dispositivo en el que se evita la acumulación de material de muestra en las paredes del recipiente de laboratorio, las muestras pueden fraccionarse de manera homogénea a bajos tamaños de partículas.

En consecuencia, el primer objeto de la invención es un dispositivo adecuado para fragmentar u homogeneizar las muestras biológicas, de acuerdo con el objeto de la reivindicación 1.

30 El dispositivo puede usarse para procesar (fraccionar, moler u homogeneizar) muestras biológicas o material biológico como el tejido para propuestas de investigación, uso en laboratorio, diagnóstico o de patología. Las muestras biológicas o el material biológico pueden tener cualquier consistencia y pueden provenir de cualquier tejido animal, humano o planta como los músculos, órganos internos como el corazón o los pulmones, el cerebro o partes de plantas como el grano.

35 En el dispositivo de la invención, las sustancias se fuerzan mediante la rotación de un elemento de transporte de forma helicoidal (8) más allá de y sobre la herramienta de procesamiento (5) que comprende una pluralidad de estructuras similares a dientes (4a-c) y al menos una cuchilla de corte exterior (6) localizada en la periferia de la herramienta de procesamiento (5) hasta que se logre el tamaño o la consistencia de partícula deseado del producto.

40 Es además un objetivo de la invención proporcionar un proceso para extraer, fragmentar, mezclar u homogeneizar las muestras biológicas en un dispositivo de la invención, en donde el elemento de agitación (11) se hace girar con relación a la tapa de cierre (2) y la herramienta de procesamiento (5), lo que guía de esta manera al elemento de transporte (8) sobre al menos un grupo de dientes (4 a-c) y al menos una cuchilla de corte exterior (6) a través de las ranuras (6a) del elemento de transporte (8) en una manera de molido y corte.

45 La rotación del elemento de agitación (11) y del elemento de transporte (8) con relación a la tapa de cierre (2) y a la herramienta de procesamiento (5) se lleva a cabo mediante el acoplamiento de un motor de accionamiento a la porción de acoplamiento (16) del tubo de guía (13). El elemento de agitación (11) y el elemento de transporte (8) se ponen en rotación por el motor de accionamiento a través del tubo de guía (13), mientras que la tapa de cierre (2), la herramienta de procesamiento (5) y el recipiente (1) permanecen inactivos.

50 Durante el proceso de la invención, el tubo de guía (13) y el elemento de agitación (11) se hacen girar contra la herramienta de procesamiento (5) de 20 a 4000 rpm.

55 El tiempo de procesamiento varía en dependencia del tamaño de partícula deseado, la resistencia mecánica de la muestra y la velocidad de rotación del elemento de agitación (11) y del elemento de transporte (8). El tiempo de procesamiento típico es de entre 1 y 30 minutos.

60 Breve descripción de los dibujos

Fig. 1: vista en sección transversal del dispositivo de la invención con el recipiente de prueba de laboratorio (1), la tapa (2) y la herramienta de procesamiento (5) ensamblado.

65 Fig. 2: el mismo dispositivo de la invención como se muestra en la Fig. 1, vista girada 90°.

Fig. 3: vista lateral y superior de la tapa (2) con la herramienta de procesamiento (5) y el elemento de agitación (11).

Descripción detallada de las modalidades preferidas

5 El dispositivo de la invención como por ejemplo el que se muestra en las Figs. 1 y 2 se abre mediante el enroscado de la  
 10 tapa (2) del recipiente de prueba de laboratorio (1). Entonces, la muestra biológica a procesar se inserta en el recipiente  
 (1) a través de la abertura (3). Después de cerrar el recipiente con la tapa (2), el dispositivo se coloca por el tubo de guía  
 (13) en el eje de accionamiento de un accionamiento motorizado no mostrado. Mediante la rotación del eje de  
 accionamiento, la sustancia a procesar se guía o se fuerza sobre al menos un grupo de dientes 4 a-c y cuchillas de  
 corte exterior (6) por el elemento de transporte (8). Cuando se logra el grado de fragmentación u homogeneización  
 deseado de la muestra biológica, el motor de accionamiento se detiene y el dispositivo se retira de la unidad. La  
 sustancia fraccionada puede entonces retirarse del recipiente (1) por la abertura de la tapa (2).

15 Para la mejora adicional del proceso de fragmentación, la herramienta de procesamiento (5) comprende  
 preferentemente al menos una cuchilla de corte interior (7) localizada entre las cuchillas de corte exterior (6) y el tubo de  
 guía (13).

20 En esta modalidad de la invención, el elemento de transporte (8) se proporciona con ranuras apropiadas (7a), que  
 ajustan las cuchillas de corte interior (7).

25 La descripción de cuchillas de corte "interior" y "exterior" se dirige a la localización de las cuchillas de corte con respecto  
 al eje de rotación del dispositivo, es decir, al tubo de guía (13) del elemento de agitación (11). La posición "interior" está  
 más cerca del eje de rotación del dispositivo mientras que la posición "exterior" está en la periferia de la herramienta de  
 procesamiento (5).

30 El grado resultante de fragmentación o el tamaño de partícula de las sustancias fragmentadas depende de la velocidad  
 de rotación del elemento de agitación (11), el tiempo de procesamiento y la eficiencia del molido y el corte de los dientes  
 y/o las cuchillas de corte.

35 Si partículas pequeñas, materia celular o moléculas celulares como el ADN o las proteínas se aíslan de la muestra  
 biológica, la fragmentación tiene que ser tan intensa como sea posible y no debe tenerse ningún cuidado para mantener  
 la integridad celular. En esta modalidad de la invención, el espacio entre los dientes (4a-c) y las superficies  
 correspondientes del elemento de agitación (11) y/o del elemento de transporte (8) puede ser tan estrecho como sea  
 posible, por ejemplo, entre 0 y 75  $\mu\text{m}$ , especialmente entre 1 y 50  $\mu\text{m}$ , o entre 1 y 20  $\mu\text{m}$ .

40 Si el proceso y el dispositivo de la invención se usan para obtener células vivas aisladas mediante la ruptura de la  
 estructura celular de las muestras biológicas, la fragmentación necesita ajustarse a un procesamiento más cauteloso.

45 En esta modalidad de la invención, el espacio entre los dientes (4a-c) y las superficies correspondientes del elemento de  
 agitación (11) y/o del elemento de transporte (8) se ajusta a al menos 100  $\mu\text{m}$ , especialmente de 100 a 300  $\mu\text{m}$  con el fin  
 de evitar que las células sean molidas. Esto puede lograrse al proporcionar los dientes (4a-c) con elementos  
 separadores al elemento de transporte (8) y/o viceversa. Los elementos separadores pueden tener forma de puntos con  
 una altura de al menos 100  $\mu\text{m}$ , preferentemente de 100 a 300  $\mu\text{m}$  y especialmente de 100 a 200  $\mu\text{m}$  y se producen a  
 partir del mismo material que los elementos en los que están localizados. Preferentemente, los elementos separadores  
 se fabrican con los elementos en los que están localizados.

50 Además de los elementos separadores en los dientes (4a-c) o el elemento de transporte (8), las cuchillas de corte  
 interior (7) y exterior (6) pueden comprender además elementos separadores en las respectivas ranuras (6a, 7a) del  
 elemento de transporte (8). Por supuesto, los elementos separadores también pueden acoplarse a las ranuras (6a, 7a)  
 del elemento de transporte (8) contra las cuchillas de corte interior (7) y exterior (6).

55 Para la separación de los componentes no procesados aún contenidos en el material de la muestra a partir de  
 sustancias fragmentadas u homogeneizadas, el dispositivo de la invención puede comprender un tamiz. El tamiz divide  
 el espacio de procesamiento en el recipiente de prueba de laboratorio en un espacio inferior y un espacio en la tapa de  
 cierre. Después del procesamiento, el material de muestra puede tamizarse para separar el material procesado con el  
 grado de fragmentación deseado a partir de material no procesado con un tamaño de partícula muy grande.

60 En consecuencia, en una modalidad adicional de la invención, el dispositivo de acuerdo con la invención comprende un  
 tamiz (9) que se localiza en el recipiente de prueba de laboratorio (1) a una distancia desde una parte inferior (10) del  
 mismo de manera que un espacio inferior se separa de un espacio en la tapa de cierre. La periferia del tamiz (9) entra  
 en contacto con la pared interior del recipiente (1) en una manera de sellado.

65 El tamiz (9) puede ser estable mecánicamente o puede ser penetrable o perforable por la punta de una pipeta. Como tal,  
 el tamiz puede comprender solamente un área como un punto penetrable por la punta de una pipeta, por ejemplo, por  
 predeterminados líneas o puntos de ruptura.

El tamiz (9) puede ser una placa perforada, una membrana o una o más cuadrículas de alambre o plástico posicionadas sobre la parte superior entre sí. Los tamaños de pantalla no son particularmente importantes y pueden variar en amplios intervalos.

5

Después del procesamiento, esta variante del dispositivo se gira de manera que la tapa (2) está en la parte superior y la sustancia procesada fluye a través del tamiz (9) a la parte inferior (10) del recipiente, que se forma preferentemente como un sumidero. Las partes gruesas se retienen por el tamiz (9). La sustancia fragmentada y filtrada puede retirarse del recipiente al abrir el dispositivo y perforar, por ejemplo, una pipeta a través del tamiz. Después de tomar la muestra, el recipiente puede cerrarse de nuevo por la tapa (2) para almacenar el producto homogeneizado restante.

10

En una modalidad adicional de la invención, el recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) comprende un orificio cerrable (19 en la Fig. 1) similar a una llave de paso preferentemente con un conector "Luer". El orificio cerrable (19) puede localizarse en cualquier lugar del recipiente (1), en dependencia del procesamiento adicional de la muestra con el recipiente (1), por ejemplo, en una centrifuga. Preferentemente, el orificio cerrable (19) se localiza en la parte inferior (10) del recipiente (1).

15

El orificio cerrable (19) puede usarse como un puerto de entrada/salida para el recipiente (1) para introducir los gases, líquidos o auxiliares de procesamiento como las enzimas en el recipiente o para recuperar el material procesado del recipiente.

20

El dispositivo de la invención puede comprender un orificio cerrable y un tamiz. En esta modalidad, el tamiz no necesita penetrarse para la eliminación del material fraccionado y tamizado. El material procesado puede retirarse sin abrir el dispositivo a través del orificio cerrable, que en esta variante se localiza en la parte inferior (10) del recipiente.

25

Alternativa o adicionalmente a un orificio cerrable (19), el recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) puede comprender un orificio no cerrable (20 en la Fig. 2) que se sella por un elemento perforable o penetrable como una membrana o una película delgada. El orificio no cerrable puede abrirse mediante la penetración del sello con una herramienta como una pipeta después del procesamiento, pero no puede cerrarse de nuevo.

30

El orificio no cerrable (20) puede localizarse en cualquier lugar del recipiente (1), en dependencia del uso adicional o procesamiento adicional de la muestra en el recipiente (1). Preferentemente, el orificio no cerrable (20) se localiza en la parte inferior (10) del recipiente (1).

35

Durante el proceso de fragmentación de la invención, la muestra se calienta debido a las fuerzas mecánicas del elemento de transporte/agitación. El aumento de temperatura conduce a un aumento de presión en el interior del recipiente que preferentemente se equilibra por un medio de ventilación. En otra modalidad de la invención, el recipiente de prueba de laboratorio (1) y/o el elemento de agitación (11) comprenden un medio de ventilación para la compensación de presión.

40

El medio de ventilación puede ser, por ejemplo, una membrana permeable a los gases o un medio de compensación de presión que no es permeable a los gases como un objeto similar a un balón.

45

En una primera variante de esta modalidad, el orificio cerrable (19) se usa como medio de ventilación. Esto puede lograrse simplemente abriendo el orificio cerrable (19) durante el proceso de la invención con el fin de descargar cualquier presión desde el interior del dispositivo a la atmósfera circundante. El orificio cerrable (19) puede equiparse con una membrana o tamiz permeable para los gases para este propósito. Es posible además equipar el orificio cerrable (19) con un medio para la compensación de presión que no sea permeable a los gases como un objeto similar a un balón.

50

En una segunda variante de esta modalidad, el orificio no cerrable (20) se usa como medio de ventilación mediante el sellado del orificio no cerrable (20) con una membrana perforable/penetrable y permeable a los gases.

55

En una tercera variante de esta modalidad, el medio de ventilación se proporciona por un elemento permeable a los gases integrado en el elemento de agitación (11), por ejemplo, en el extremo del tubo de guía (13) orientado lejos de la tapa (2). Por ejemplo, el medio de ventilación puede proporcionarse en la forma de una tapa (14) fabricada de material permeable a los gases. Alternativamente, el elemento de agitación (11), el tubo de guía (13) o el tapón (14) pueden comprender un medio para la compensación de presión que no sea permeable a los gases como un objeto similar a un balón.

60

El material permeable a los gases puede tener la forma de una membrana fabricada de PTFE o poliamida, preferentemente en una condición aséptica.

65

La tapa de cierre (2) del dispositivo puede ser un tapón de rosca, pero las tapas con un mecanismo de cierre a presión o de bayoneta pueden emplearse también. La tapa del tapón de rosca (2) comprende una rosca interna (17) que se ajusta en una rosca externa adecuada (18) del recipiente (1). Las roscas y/o la tapa (2) y/o el recipiente de prueba de

laboratorio tubular (1) comprenden preferentemente una localización de lengüeta o punto de ajuste a presión para indicar al usuario que el dispositivo está firmemente cerrado y no es necesario más torsión.

5 La eficiencia de fragmentación u homogeneización del dispositivo puede incrementarse aún más al proporcionar la superficie interior del recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) con al menos una aleta o cresta (21 en la Fig. 1). La aleta o cresta (21) se extiende desde la abertura (3) en dirección a la parte inferior (10) del recipiente (1) en un área por encima del elemento de agitación (11), es decir, en un área donde el material de muestra fluirá durante el procesamiento. La aleta o cresta (21) se dispone lo más cercana posible al elemento de transporte (8) sin interferir con el agitador (11) y se extiende, por ejemplo, hasta la altura de la tapa (14) del agitador (11). Tales estructuras actúan como interruptores de vórtice, interruptores de flujo o deflectores para las muestras durante el procesamiento.

10 En otra modalidad de la invención, la superficie interior del recipiente (1) se proporciona al menos en parte con un recubrimiento hidrófobo. El recubrimiento hidrófobo asegura que después del procesamiento, la muestra se recupere con una pérdida mínima durante el vaciado del recipiente. La superficie hidrófoba puede obtenerse al producir el recipiente de material hidrófobo o al recubrir al menos una parte de la superficie interior del recipiente con material hidrófobo. Los materiales hidrófobos adecuados son polímeros fluorados como PTFE.

El recipiente puede tener una forma tubular con un diámetro interior de 1 a 5 cm y un volumen de 20 a 200 ml.

20 El dispositivo de la invención se produce preferentemente a partir de polímeros como polipropileno, polietileno, poliamida, tereftalato de polietileno (PET) o PTFE. El recipiente, la tapa, el dispositivo de agitación, el dispositivo de procesamiento y de transporte pueden producirse a partir del mismo o de diferente material. Los sellos y las membranas se producen a partir de elastómeros como silicona o caucho fluorado.

25 Descripción detallada de las figuras y modalidades preferidas

Las Figs. 1 y 2 muestran el dispositivo de la invención con el recipiente de prueba de laboratorio (1) en posición invertida, es decir, con la parte inferior (10) del recipiente de prueba de laboratorio (1) en la parte superior y la tapa (2) que cierra la abertura (3) del recipiente de prueba de laboratorio (1) apuntando hacia abajo. La tapa de cierre (2) se muestra como un tapón de rosca con una rosca interna (17) que se ajusta en una rosca externa (18) del recipiente (1).

30 La herramienta de procesamiento (5) se monta en la tapa (2) de una manera a prueba de rotación, preferentemente formada de manera integral con la tapa. La herramienta de procesamiento (5) comprende una multitud de dientes (4 a-c), dispuestos en uno o más planos desplazados axialmente uno con referencia al otro. Las Figs. 1-3 muestran a manera de ejemplo tres grupos de dientes, dispuestos axialmente en la herramienta de procesamiento (5) uno detrás del otro y que tienen forma de ruedas cónicas. El número de grupos de dientes no se limita particularmente y puede variar entre 1 y 10.

40 La fila de dientes posicionada más inferior (4a) puede tener una distancia más larga desde la segunda fila más inferior (4b) de manera que las cuchillas de corte interior (7) pueden colocarse entre las filas de dientes.

45 La herramienta de procesamiento (5) comprende un orificio central que sirve como un cojinete de deslizamiento para un tubo de guía (13) del elemento de agitación (11). En el extremo orientado hacia la tapa, este orificio de cojinete puede proporcionarse con una nervadura que apunta hacia dentro, que une una ranura envolvente en el tubo de guía (13) para guiar axialmente este último. En el extremo superior del orificio en la herramienta de procesamiento (5), se proporciona un sello hidráulico (12).

50 El extremo del tubo de guía (13) orientado lejos de la tapa (2) puede proporcionarse en la forma de una tapa (14) que tiene, por ejemplo, una punta que se extiende de manera cónica o un plano inclinado con el fin de hacer que el material apoyado en el mismo durante el procesamiento se deslice automáticamente y se guíe de nuevo a los dientes (4a-c).

55 La tapa (14) puede fabricarse como no penetrable a propósito, por ejemplo, por una pipeta. En esta modalidad, la tapa (14), la punta y el tubo de guía (13) se producen preferentemente a partir del mismo material y/o se forman de manera integral entre sí, por ejemplo, en un método de un solo componente similar al moldeo por inyección.

60 En otra modalidad de la invención, la tapa (14) se forma de manera que pueda ser penetrada por una herramienta apropiada como una pipeta. Para este propósito, la tapa (14) o la punta de la tapa pueden proporcionarse con un punto de ruptura predeterminado o pueden fabricarse de un material elástico como el silicio o una membrana permeable a los gases fabricada de PTFE.

65 En la periferia del elemento de agitación (11), el elemento de transporte (8) se extiende con una forma helicoidal. La superficie interior del elemento de transporte (8) se guía más allá de las coronas de los dientes (4a-c) en una manera de molido y corte. Adicionalmente, cuando el elemento de agitación (11) se hace girar con relación a la herramienta de procesamiento (5), el elemento de transporte (8) pasa por encima de las cuchillas de corte para moler y cortar aún más las sustancias a fraccionar.

5 En la periferia (la posición más exterior) de la herramienta de procesamiento (5), en la proximidad cercana del recipiente de laboratorio, se localiza al menos una cuchilla de corte exterior (6). La cuchilla de corte exterior (6) garantiza que las muestras biológicas que se mueven durante el procesamiento contra el recipiente de laboratorio por la rotación del agitador (11) no evadan el proceso de fraccionamiento, sino que se someten a una fragmentación adicional. Para mejorar el proceso de fraccionamiento, el elemento de transporte (8) comprende ranuras exteriores (6a) que ajustan las cuchillas de corte exterior (6). Las sustancias que se fraccionan se cortan por las cuchillas de corte y las ranuras del elemento de transporte (8) durante la rotación del elemento de agitación (11) en piezas cada vez más pequeñas.

10 En una modalidad preferida de la invención, la herramienta de procesamiento comprende, además de la cuchilla de corte exterior (6), al menos una cuchilla de corte interior (7). El elemento de transporte (8) se proporciona preferentemente con una o más ranuras interior (7a) que ajustan la cuchilla de corte interior (7). La combinación de las cuchillas de corte interior y exterior (6) y (7) permiten una fragmentación gruesa de la muestra.

15 Dado que la herramienta de procesamiento puede tener una pluralidad de grupos de dientes, es posible localizar una pluralidad de cuchillas de corte interior (7) entre dos grupos de dientes, por ejemplo, entre (4a) y (4b). Las figuras muestran una modalidad preferida de la invención con tres grupos de dientes, un conjunto de al menos una cuchilla de corte interior (7) localizado entre el grupo externo e intermedio de los dientes y un conjunto de al menos una cuchilla de corte exterior (6) localizado en la periferia (la posición más exterior) de la herramienta de procesamiento (5). El elemento de transporte (8) se equipa con una o más ranuras internas (7a) y externas (6a) que se ajustan a las cuchillas de corte durante la rotación del elemento de agitación (11).

20 El tubo de guía (13) y/o el elemento de agitación (11) con el elemento de transporte (8) se ponen en rotación por un motor de accionamiento externo (no mostrado en las Figs. 1-3), con su eje de accionamiento que se acopla a través de la tapa (2) en el tubo de guía (13). La forma ajustada de entrada del tubo de guía (13) se garantiza por los cortes (16) dispuestos en sus orificios.

25 La modalidad de la invención con un tamiz se muestra en las Figs. 1 y 2, en donde el tamiz (9) se inserta en el extremo inferior del recipiente de prueba de laboratorio (1).

30 La base (10) del recipiente de prueba de laboratorio (1) puede nivelarse o rebordarse o, como se muestra en la Fig. 1, formarse como un sumidero. Opcionalmente, la base (1) se proporciona con un orificio cerrable (19) como se muestra en la Fig. 1 o de un orificio no cerrable (20) como se muestra en la Fig. 2.

35 Con el fin de aumentar la eficacia del elemento de transporte (8), la carcasa del recipiente (1) se estrecha en un ángulo de 120°, por ejemplo, con el extremo superior de la sección estrecha puede formar una cuerda en el recipiente (1). Esta modalidad se muestra en la Fig. 2.

## 40 EJEMPLOS

El tejido del pulmón y el corazón de los ratones donde se homogeneizó con un dispositivo de acuerdo con la invención (Ex1-Ex5, como se muestra en las Figs. 1 y 2) y con la cámara de homogeneización y mezcla descrita en el documento WO2006/081694 (C1-C3, no de acuerdo con la invención).

45 Para esta propuesta, el tejido se lavó primero en el amortiguador PBS y después se introdujo con 2,5 ml de amortiguador PBS en los dispositivos, ambos equipados con un tamiz penetrable que tiene un tamaño de malla de 0,6 x 0,6 mm, pero sin orificios y medios de ventilación. Los dispositivos se unieron por el soporte físico gentleMACS® (Miltenyi Biotec GmbH) y se hicieron funcionar con la incorporación de los programas/protocolo gentleMACS® "Heart\_01" (H\_01) y "Lung\_01" (L\_01) o la configuración de velocidades de rotación del dispositivo. Después de la fragmentación, el material se tamizó y se retiró de los recipientes mediante la penetración del tamiz con una pipeta.

50 El material obtenido se evaluó por la evaluación visual (VA) en un intervalo de 1 a 4 (4: mejor, 1: peor). El tamaño de partícula promedio (APS) en [mm] se determinó mediante la comparación visual del tejido procesado con partículas estándares que tienen un tamaño de partícula conocido. Antes y después del procesamiento, el tamiz se retiró de dispositivo, se secó y se pesó para calcular la muestra no procesada, es decir, el material de la muestra que no se procesó a un tamaño de partícula suficientemente pequeño para pasar el tamiz. El material no procesado restante en el tamiz se calcula como "residuo" en [mg] o % con respecto al peso original de la muestra.

55 Los resultados para el tejido del corazón y los pulmones que se originan de los ratones se recogen en las siguientes tablas 1 y 2.

65

Tabla 1/Corazón

No	Rpm/programa	peso de la muestra [mg]	Residuo [mg]	Residuo [%]	APS [mm]	VA
Ejemplo 1	500	107,3	56,8	52,94	2,6	4
C1	500	98,8	96,3	97,47	8,0	1
Ejemplo 2	H_01	96,7	13,4	13,86	0,5	4
C2	H_01	106,1	100,4	94,63	8,0	1
Ejemplo 3	H_01	102,9	14,9	14,48	0,5	4
C3	H_01	106,0	75,8	71,51	3,9	3
Ejemplo 4	H_01	93,6	12,1	12,93	0,5	4
Ejemplo 5	H_01	99,8	11,9	11,92	0,5	4

Tabla 2/Pulmón

No	Rpm/programa	peso de la muestra [mg]	Residuo [mg]	Residuo [%]	APS [mm]	VA
Ejemplo 6	500	132,5	76,8	57,96	3,9	4
C6	500	126,1	116,9	92,70	5,0	1
Ejemplo 7	L_01	135,6	26,9	19,84	0,5	4
C7	L_01	148,5	103,7	69,83	2,3	1
Ejemplo 8	L_01	129,6	21,0	16,2	0,5	4
C8	L_01	163,5	86,7	53,03	2,1	3
Ejemplo 9	L_01	128,7	16,4	12,74	0,5	4
Ejemplo 10	L_01	131,1	29,2	14,65	0,5	4

El tejido fragmentado con la cámara de mezcla descrita en el documento WO2006/081694 (C1-C3) muestra mayor tamaño de partícula promedio, lo que resulta en un residuo mucho mayor retenido por el tamiz. En consecuencia, el rendimiento obtenido es más bien bajo y la evaluación visual es mala.

El tejido fragmentado con el dispositivo de acuerdo con la invención tiene un tamaño de partícula promedio mucho menor, lo que resulta en menos pérdida de residuo en el tamiz y un rendimiento mucho más alto de las células. La evaluación visual es buena en todos los experimentos lo que indica un producto de fragmentación homogénea.

Reivindicaciones

- 5 1. Dispositivo para fragmentar u homogeneizar las muestras biológicas, que comprende:
  - un recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) que tiene un primer extremo abierto (3) y un segundo extremo cerrado por una parte inferior (10);
  - una tapa de cierre (2) para el recipiente de prueba de laboratorio (1) conectado al extremo abierto (3) del recipiente de prueba de laboratorio (1);
  - una herramienta de procesamiento (5) dispuesta en dicha tapa de cierre (2), que comprende una pluralidad de dientes (4a-c) y un elemento de agitación (11) que tiene un tubo de guía (13) que se monta de manera giratoria a través de un orificio central en la tapa (2) e incluye una porción de acoplamiento (16) que se adapta para acoplarse por un motor de accionamiento; caracterizado por
    - tres grupos de dientes, en donde un conjunto de al menos una cuchilla de corte interior (7) se localiza entre el grupo exterior e intermedio de los dientes y un conjunto de al menos una cuchilla de corte exterior (6) se localiza en la periferia, la posición más exterior, de la herramienta de procesamiento (5) y
    - un elemento de transporte (8) dispuesto en el tubo de guía (13) que se extiende hacia fuera en una forma helicoidal sobre la cuchilla de corte exterior (6) y que se proporciona con las ranuras (6a) que ajustan las cuchillas de corte exterior (6).
- 20 2. Dispositivo de conformidad con la reivindicación 1, en donde el elemento de transporte (8) se proporciona con las ranuras (7a) que ajustan las cuchillas de corte interior (7).
- 25 3. Dispositivo de conformidad con la reivindicación 1 o 2, que comprende además un medio de ventilación para la compensación de la presión (14).
4. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el elemento de agitación (11) comprende una tapa superior (14), que se fabrica a partir del mismo material que el elemento de agitación (11).
- 30 5. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además un tamiz (9), localizado en el recipiente de prueba de laboratorio (1) a una distancia de la parte inferior (10) de manera que un espacio inferior se separa de un espacio en la tapa de cierre (2).
- 35 6. Dispositivo de conformidad con la reivindicación 5, en donde el tamiz (9) es perforable o penetrable o comprende un área perforable o penetrable por la punta de una pipeta.
7. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) comprende un orificio cerrable (19).
- 40 8. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) comprende un orificio no cerrable (20).
9. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde los dientes (4a-c) comprenden los elementos separadores para el elemento de transporte (8).
- 45 10. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el elemento de transporte (8) comprende los elementos separadores para los dientes (4a-c).
- 50 11. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la tapa (2) y/o el recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) comprende una localización de lengüeta o punto de ajuste a presión.
12. Dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el recipiente de prueba de laboratorio tubular (1) comprende en el interior al menos una aleta o cresta (21).
- 55 13. Un proceso para la extracción, fragmentación, mezcla u homogeneización de las muestras biológicas en un dispositivo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en donde el elemento de agitación (11) se hace girar con relación a la tapa de cierre (2) y a la herramienta de procesamiento (5), lo que guía de esta manera al elemento de transporte (8) sobre al menos un grupo de dientes (4 a-c) y al menos una cuchilla de corte exterior (6) a través de las ranuras (6a) del elemento de transporte (8) en una manera de molido y corte.
- 60



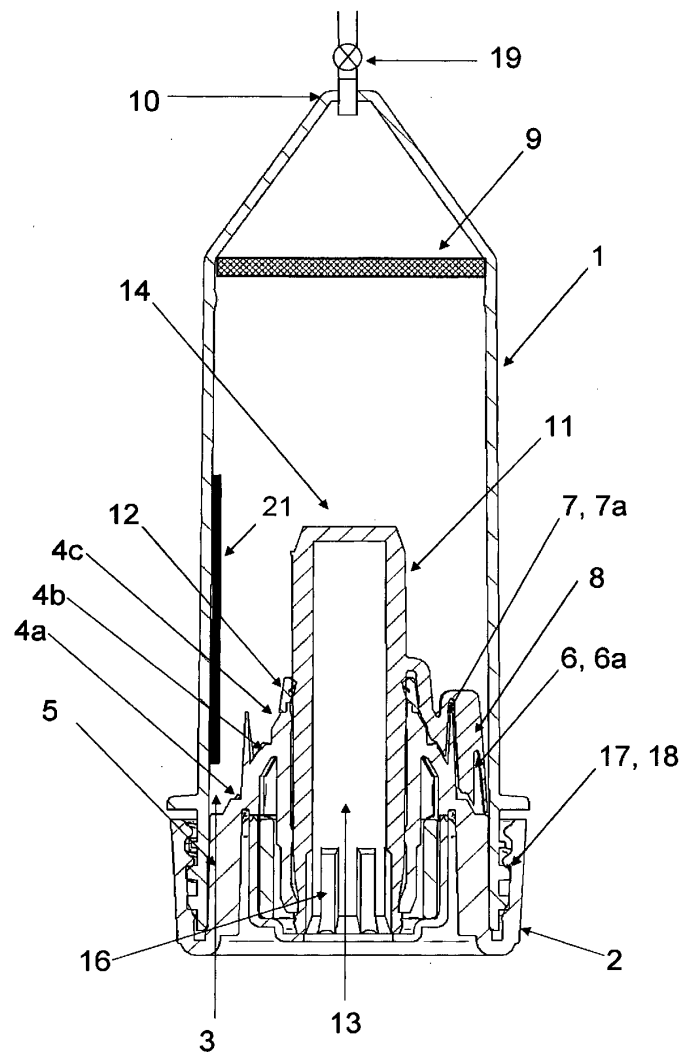


Fig. 1

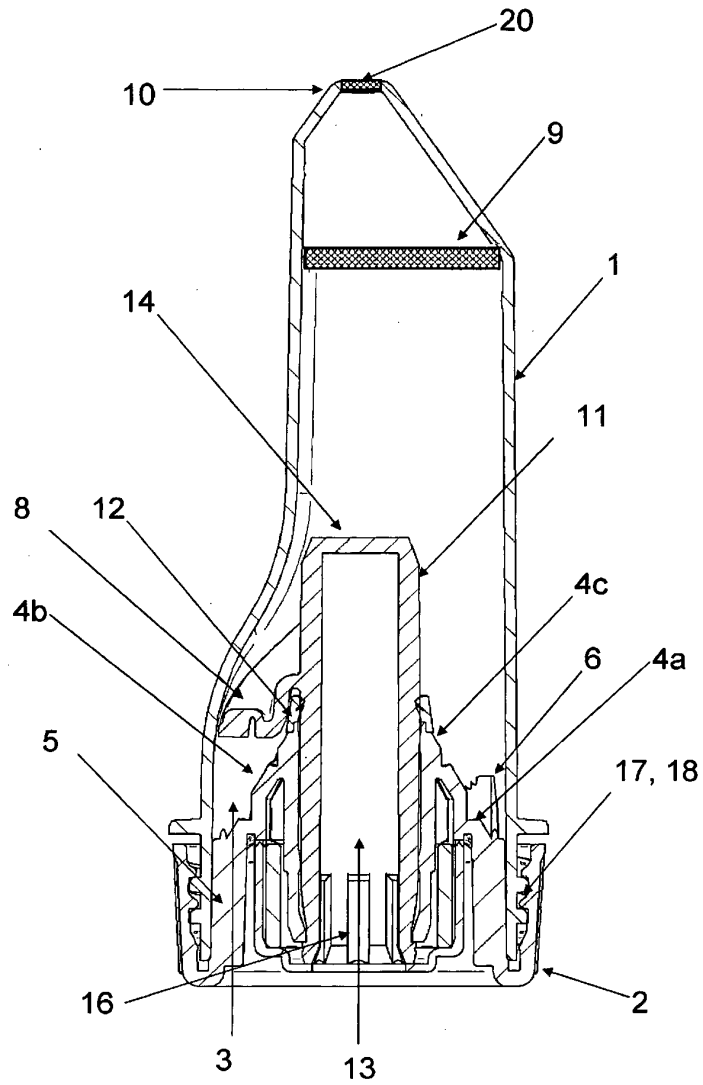


Fig. 2

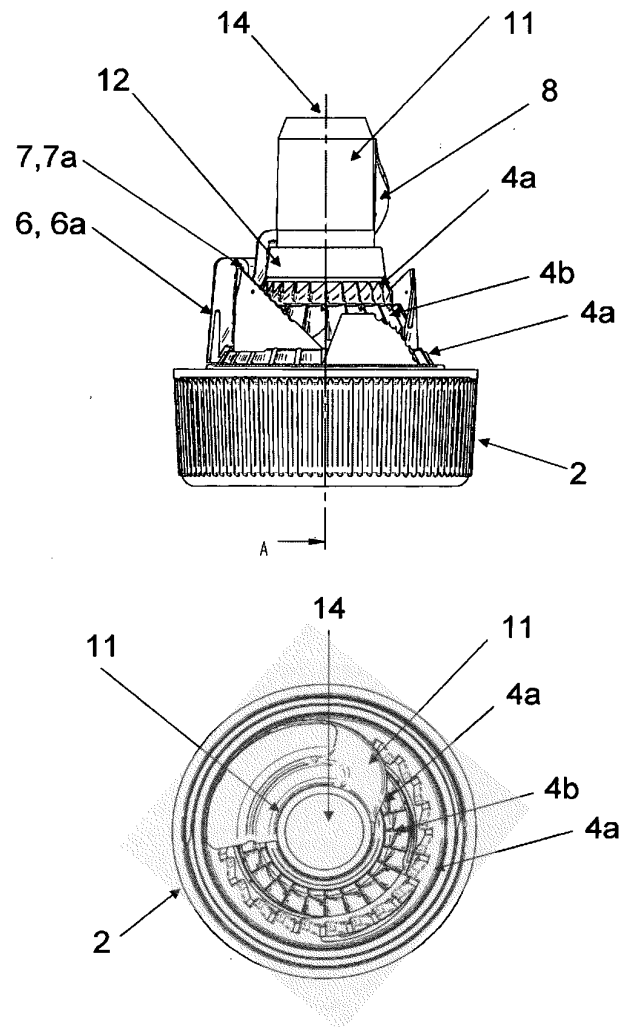


Fig. 3