(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 599 056**

(21) Número de solicitud: 201500574

(51) Int. CI.:

G01N 15/14 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

31.07.2015

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

31.01.2017

(71) Solicitantes:

ALBERTOS SÁNCHEZ , Pablo (100.0%)
1255 Everton Pl 209e
92507 Riverside, California CA US

(72) Inventor/es:

ALBERTOS SÁNCHEZ , Pablo

(74) Agente/Representante:

FALCÓN MORALES, Alejandro

(54) Título: **Dispositivo para ensayar una muestra de células**

(57) Resumen:

Dispositivo para ensayar una muestra de células que comprende un primer depósito (1) fijado a un bastidor (38) que se apoya en una superficie de apoyo (39), un segundo depósito (2) fijado también al bastidor (38) que se apoya en la superficie de apoyo (39), un conducto plano (3) formado por dos cristales, que comunica el primer depósito (1) y el segundo depósito (2), una cámara de presión (16), un imán (40) que se mueve al menos en paralelo al conducto plano (3), una cámara (47) que recorre el conducto plano (3) en su totalidad, un alimentador (14), un elemento de presión (15), y un microcontrolador (60) que maneja los distintos elementos del dispositivo, donde el primer depósito (1), el conducto plano (3), la cámara de presión (16) y el segundo depósito (2) forman un circuito cerrado tal que una muestra puede ser llevada a cualquier punto del circuito cerrado.

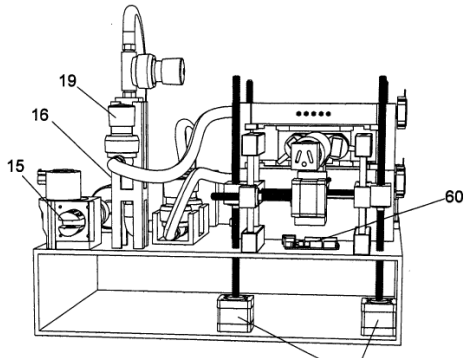


FIG. 1

ES 2 599 056 A1

DISPOSITIVO PARA ENSAYAR UNA MUESTRA DE CÉLULAS

DESCRIPCIÓN

SECTOR DE LA TÉCNICA

La invención se encuadra en el sector de la técnica de cualquiera de las siguientes industrias: biomédica, biotecnológica, farmacéutica y toda aquella que utilice células para investigar, diagnosticar o tratar con ellas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La separación y clasificación de células, a partir de soluciones en las que se encuentran diferentes tipos de células es necesaria para realizar tratamientos y ensayos, es decir para realizar ensayos sobre células y poder aplicar tratamientos específicos a determinadas células es necesario separar dichas células determinadas y en ocasiones es importante tener información adicional de las células como es la rugosidad de las células, el tamaño, moléculas de superficie para poder clasificarlas e identificarlas ...

Existe una técnica para clasificación de células activadas por fluorescencia, que es un tipo especializado de citometría de flujo. Esta técnica provee un método para la clasificación y selección de células provenientes de una mezcla de varias poblaciones en dos o más contenedores pero célula a célula, según las características particulares de dispersión y fluorescencia de cada célula.

Es un instrumento científico de gran utilidad ya que provee un método de grabación de datos provenientes de las señales de fluorescencia de cada célula que es a la vez rápido, objetivo y cuantitativo; además permite la separación física de aquellas células pertenecientes a una población de interés.

En la técnica de clasificación de células activadas por fluorescencia la suspensión de células es arrastrada hacia el centro de una corriente de líquido estrecha, que fluye rápidamente. El flujo está dispuesto de manera que no existe una gran separación entre células en relación con su diámetro por lo que el flujo debe de estar extremadamente ajustado. Un mecanismo de vibración provoca que la corriente de líquido conteniendo las células se rompa en pequeñas gotitas. El sistema se ajusta de modo que haya una baja probabilidad de que más de una célula quede contenida en cada gota. Justo antes de que la corriente se rompa en gotitas, el

flujo pasa a través de una estación de medición de fluorescencia y de otras características de las células como son el tamaño, la rugosidad), donde se mide el carácter fluorescente de interés de cada célula (y las otras características singulares de cada célula que sean de interés). Un anillo capaz de adquirir una carga eléctrica se coloca justo en el punto donde la corriente se rompe en gotitas.

Según la medición de la fluorescencia recogida para cada célula, el sistema entrega una determinada carga eléctrica al anillo, como consecuencia las gotitas se cargan eléctricamente con un signo contrario al del anillo mientras se desprenden de la corriente de líquido. Las gotitas cargadas luego caen a través de un sistema de deflexión electrostática que desvía las gotas en los contenedores dependiendo de su carga. En algunos sistemas, la carga se aplica directamente a la corriente de líquido, y como resultado la gotita que se desprende retiene carga del mismo signo que la aplicada. Luego de que la gotita se desprende, el anillo recupera una carga neutra.

Es conocida otra técnica para clasificación de células, que es la clasificación mediante separación celular magnética, que es un método para la separación de diversas poblaciones de células en función de sus antígenos de superficie.

El método de clasificación mediante separación celular magnética permite que las células se separen por incubación con partículas magnéticas recubiertas con anticuerpos contra un antígeno de superficie en particular. Esto hace que las células que expresan este antígeno se unan a los anticuerpos que se unen a su vez a las partículas magnéticas. Después, la solución de células se transfiere en una columna colocada en un campo magnético fuerte. En este paso, las células unidas a las partículas permanecen en la columna, mientras que otras células fluyen a través de la columna. Con este método, las células se pueden separar de manera positiva o negativamente con respecto al antígeno en particular.

La selección positiva

En la selección positiva de las células que expresan el antígeno de interés, lo que unido a la columna magnética, se lavan a cabo a un recipiente separado, después de retirar la columna del campo magnético. Este método es útil para el aislamiento de un tipo de célula particular.

La selección negativa

En la selección negativa el anticuerpo utilizado es contra el antígeno de superficie que se sabe que está presente en las células que no son de interés. Después de la administración de las

células/solución de partículas magnéticas en la columna las células que expresan estos antígenos se unen a la columna y la fracción que pasa a través se recoge, ya que casi no contiene células con antígenos no deseados.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCIÓN

Es objeto de la invención un dispositivo para ensayar una muestra de células que comprende:

- un primer depósito y un segundo depósito fijados a un bastidor, con el bastidor apoyado en una superficie de apoyo,
- un conducto plano formado por dos cristales, que comunica el primer depósito y el segundo depósito,
- una cámara de presión,
- un imán con capacidad de moverse al menos en paralelo al conducto plano,
- una cámara con capacidad de recorrer el conducto plano en su totalidad,
- un alimentador,
- un elemento de presión, y
- un microcontrolador que maneja los distintos elementos del dispositivo,

En el dispositivo objeto de la invención el primer depósito, el conducto plano, la cámara de presión y el segundo depósito están comunicados entre sí formando un circuito cerrado tal que una muestra introducida mediante el alimentador puede ser llevada a cualquier punto del circuito cerrado.

El dispositivo para ensayar una muestra de células comprende también una primera válvula conectada por un extremo al alimentador y estando conectada por el extremo opuesto a la cámara de presión y a una segunda válvula mediante una conexión en "T", una tercera válvula que abre y cierra la comunicación del segundo depósito con la cámara de presión y una cuarta válvula entre el elemento de presión y la cámara de presión, donde la segunda válvula controla la comunicación de la cámara de presión con el primer depósito y la cuarta válvula controla la entrada de presión en el circuito.

En el dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención el primer depósito comprende una primera estructura exterior y una primera estructura interior de forma cilíndrica con un primer saliente que da lugar a una primera arista que configura una primera salida que comunica con un extremo del conducto plano formado por los dos cristales; y el segundo depósito comprende una segunda estructura exterior y una segunda estructura interior de forma cilíndrica con un segundo saliente que da lugar a una segunda arista que configura una

segunda salida que comunica con el extremo opuesto del conducto plano.

En el dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención la primera salida del primer depósito está regulada por una primera compuerta deslizable guiada por al menos una primera guía lateral y una primera guía frontal e impulsada por un primer servo-motor y la segunda salida del segundo depósito está regulada por una segunda compuerta deslizable guiada por al menos una segunda guía lateral y una segunda guía frontal e impulsada por un segundo servo-motor.

El dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención comprende:

- un primer mecanismo de agitación del contenido del primer depósito, el citado primer mecanismo de agitación comprende unas primeras hélices unidas a un primer eje que es movido por un primer motor eléctrico situado fuera del primer depósito, y
- un segundo mecanismo de agitación del contenido de dicho segundo depósito, el citado segundo mecanismo de agitación comprende unas segundas hélices unidas a un segundo eje que es movido por un segundo motor eléctrico situado fuera del segundo depósito.

En el dispositivo para ensayar una muestra de células según tanto el primer depósito como el segundo depósito comprenden una pluralidad de orificios conectados con válvulas para introducir o extraer de su interior diferentes compuestos.

El dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención comprende una estructura de apoyo para el imán.

La mencionada estructura de apoyo para el imán está apoyada en una pareja de carriles que guían un movimiento horizontal del imán, está unida a un tornillo sinfín horizontal unido a un primer motor paso a paso, está unida a una primera pareja de tornillos sinfín verticales unidos a dos segundos motores paso a paso y en dicha estructura de apoyo para el imán el primer motor paso a paso y el tornillo sinfín horizontal mueven la estructura de apoyo en horizontal y la primera pareja de tornillos sinfín verticales con los dos segundos motores paso a paso mueven la estructura de apoyo en vertical.

La cámara para ensayar una muestra de células objeto de la invención comprende un objetivo, un cuerpo de microscopio y una fuente de iluminación que apunta hacia la zona del conducto plano que se está fotografiando.

En el dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención la cámara se sitúa en una estructura de sujeción de la cámara, donde la estructura de sujeción de la cámara se apoya en la superficie de apoyo.

La citada estructura de sujeción de la cámara comprende:

- dos columnas de guía, sobre las que se desplazan verticalmente una pieza de guiado por cada columna de guía ,
- dos carriles uniendo las piezas de guiado, sobre los que se desplaza una pletina de fijación a la que se fija el microscopio de la cámara,
- una segunda pareja de tornillos sinfín verticales que atraviesan las piezas de guiado,

En la estructura de sujeción de la cámara cada tornillo sinfín vertical gira unido a un tercer motor paso a paso proporcionando movimiento vertical a las piezas de guiado y la pletina de fijación está unida a un cuarto motor paso a paso que a su vez está unido a un sinfín horizontal que pasa por una de las piezas de guiado proporcionando mediante el giro del sinfín horizontal movimiento horizontal a la cámara.

En el dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención la fuente de iluminación está situada en el objetivo de la cámara mediante una estructura en forma de revólver o de anillo.

La fuente de iluminación del dispositivo para ensayar una muestra de células objeto de la invención comprende al menos tres leds distintos cada led con una longitud de onda específica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

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

Figura 1.- Muestra una vista en perspectiva desde un lateral del dispositivo de la invención.

Figura 2.- Muestra una vista en perspectiva del dispositivo de la invención desde otro lateral distinto al de la figura 1.

Figura 3.- Muestra una vista en perspectiva del dispositivo objeto de la invención sin el imán

ni la estructura que lo sostiene.

Figura 4.- Muestra una vista en perspectiva del imán con la estructura que lo sostiene y también aparecen los depósitos como referencia.

Figura 5.- Muestra una vista en perspectiva de la cámara del dispositivo objeto de la invención con la estructura que la sostiene.

Figura 6.- Muestra una vista en perspectiva de la cámara del dispositivo objeto de la invención desde otra perspectiva distinta a la de la figura 5.

Figura 7.- Muestra una vista en perspectiva de los depósitos del dispositivo objeto de la invención desde un lateral.

Figura 8.- Muestra una vista en perspectiva de los mecanismos de agitación del interior de los depósitos del dispositivo objeto de la invención.

Figura 9.- Muestra una vista de los depósitos enfrentados habiendo retirado el conducto plano, mostrando las dos salidas de los depósitos.

Las referencias numéricas empleadas en las figuras se corresponden con los siguientes elementos:

1. primer depósito,
2. segundo depósito,
3. conducto plano,
4. primera estructura exterior,
5. primera estructura interior,
6. primer saliente,
7. primera arista,
8. primera salida,
9. segunda estructura exterior,
10. segunda estructura interior,
11. segundo saliente,
12. segunda arista,
13. segunda salida,
14. elemento alimentador,
15. elemento de presión,
16. cámara de presión,
17. primera válvula,
18. segunda válvula,
19. tercera válvula,
20. cuarta válvula,

21. pluralidad de orificios,
22. primera compuerta,
23. primera guía lateral
24. primera guía frontal,
25. primer servo-motor,
26. segunda compuerta,
27. segunda guía lateral
28. segunda guía frontal,
29. segundo servo-motor,
30. primer mecanismo de agitación,
31. primeras hélices,
32. primer eje,
33. primer motor eléctrico,
34. segundo mecanismo de agitación,
35. segundas hélices,
36. segundo eje,
37. segundo motor eléctrico,
38. bastidor,
39. superficie de apoyo,
40. imán,
41. estructura de apoyo del imán,
42. carriles,
43. tornillo sinfín horizontal,
44. primer motor paso a paso,
45. primera pareja de tornillos sinfín verticales,
46. segundo motor paso a paso,
47. cámara,
48. cuerpo de microscopio,
49. objetivo,
50. fuente de iluminación,
51. estructura de sujeción de la cámara,
52. columnas de guía,
53. pieza de guiado,
54. carril de la cámara,
55. pletina de fijación,
56. tornillo sinfín vertical,

57. tercer motor paso a paso,
58. cuarto motor paso a paso,
59. tornillo sinfín horizontal, y
60. microcontrolador.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCIÓN

El dispositivo objeto de la invención comprende un primer depósito (1) y un segundo depósito (2) comunicados mediante un conducto plano (3) formado por dos cristales enfrentados, y separados, donde el espacio libre entre los cristales genera el citado conducto plano (3).

El primer depósito (1) comprende una primera estructura exterior (4) y una primera estructura interior (5) de forma cilíndrica con un primer saliente (6) que da lugar a una primera arista (7) que configura una primera salida (8) que comunica con un extremo del conducto plano (3) formado por los dos cristales. El segundo depósito (2) comprende una segunda estructura exterior (9) y una segunda estructura interior (10) de forma cilíndrica con un segundo saliente (11) que da lugar a una segunda arista (12) que configura una segunda salida (13) que comunica con el extremo opuesto del conducto plano (3).

El dispositivo objeto de la invención comprende un elemento alimentador (14) a través del que se introduce en el dispositivo objeto de la invención una muestra que se desea ensayar, y a través del que se extrae la muestra una vez ensayada.

Para manejar la circulación de la muestra entre los depósitos (1, 2), el dispositivo comprende un elemento de presión (15) que introduce presión en un circuito cerrado generado por el primer depósito (1), el segundo depósito (2), el conducto plano (3) y el elemento de presión (15) comunicados todos entre sí. Además el dispositivo objeto de la invención comprende una cámara de presión (16) conectada con los otros dos depósitos (1, 2), con el elemento de presión (15) y con el elemento alimentador (14).

Para controlar la entrada de cualquier muestra, el dispositivo objeto de la invención comprende una primera válvula (17) conectada por un extremo al elemento alimentador (14) y estando conectada por el extremo opuesto a la cámara de presión (16) y a una segunda válvula (18) mediante una conexión en "T", donde la segunda válvula (18) controla la comunicación de la cámara de presión (16) con el primer depósito (1). El segundo depósito (2) se comunica con la cámara de presión (16) mediante una tercera válvula (19) que abre y cierra la comunicación del segundo depósito (2) con la cámara de presión (16). Entre el

elemento de presión (15) y la cámara de presión (16) el dispositivo objeto de la invención comprende una cuarta válvula (20) que controla la presión que entra en el circuito.

El elemento de presión (15) junto con las válvulas (17, 18, 19, 20) maneja la presión sobre el circuito cerrado del dispositivo objeto de la invención, pudiendo hacer circular la muestra introducida en el dispositivo objeto de la invención en el sentido que se desee, de un depósito (1, 2) a otro, retener la muestra en la cámara de presión (16), retener partes de una muestra en un depósito (1, 2), partes en otro depósito (1, 2) o extraer una parte de la muestra o la totalidad por el elemento alimentador (14).

Tanto el primer depósito (1), como el segundo depósito (2) tienen una pluralidad de orificios (21) para introducir o extraer de su interior diferentes compuestos, de manera que los dos depósitos (1, 2) pueden ser acomodados a diferentes condiciones de pH, gases o nutrientes así como otras moléculas. Esto permite que los dos depósitos (1, 2) puedan actuar como una incubadora de células en las que se puede variar las condiciones de las células contenidas en su interior, para realizar el ensayo que se desee.

La comunicación del primer depósito (1) con el conducto plano (3) a través de la primera salida (7), es regulable, es decir el dispositivo objeto de la invención comprende una primera compuerta (22) que se desliza impulsada por dos primeros servomotores (25) y es guiada a lo largo de dos primeras guías laterales (23) unidas a los primeros servomotores (25) y con una primera guía frontal (24), de modo que la primera compuerta (22) puede abrir y cerrar en mayor o menor medida la primera salida (7) del primer depósito (1) al conducto plano (3). La primera guía frontal (24) facilita que la primera compuerta (22) al final de su recorrido vaya a su lugar cubriendo en mayor o menor medida la primera salida (8).

La comunicación del segundo depósito (2) con el conducto plano (3) a través de la segunda salida (13), es regulable, es decir el dispositivo objeto de la invención comprende una segunda compuerta (26) que se desliza impulsada por dos segundos servomotores (29) y es guiada a lo largo de dos segundas guías laterales (27) unidas a los segundos servomotores (29) y con una segunda guía frontal (28), de modo que la segunda compuerta (26) puede abrir y cerrar en mayor o menor medida la segunda salida (13) del segundo depósito (2) al conducto plano (3). La segunda guía frontal (28) facilita que la segunda compuerta (26) al final de su recorrido vaya a su lugar cubriendo en mayor o menor medida la segunda salida (13).

En el interior del primer depósito (1) se localiza un primer mecanismo de agitación (30) del

contenido de dicho primer depósito (1), el citado primer mecanismo de agitación (30) comprende unas primeras hélices (31) unidas a un primer eje (32) que es movido por un primer motor eléctrico (33) situado fuera del primer depósito (1).

En el interior del segundo depósito (2) se localiza un segundo mecanismo de agitación (34) del contenido de dicho segundo depósito (2), el citado segundo mecanismo de agitación (34) comprende unas segundas hélices (35) unidas a un segundo eje (36) que es movido por un segundo motor eléctrico (37) situado fuera del segundo depósito (2).

Los dos depósitos (1, 2) están unidos a un bastidor (38) que sostiene los dos depósitos (1, 2) en posición paralela entre ellos. El bastidor (38) se apoya en una superficie de apoyo (39) sobre la que se sitúan todos los componentes del dispositivo objeto de la invención.

El dispositivo objeto de la invención comprende un imán (40), que en la realización preferente de la invención es un imán de neodimio, que está sostenido en una estructura de apoyo (41) que a su vez se une a la superficie de apoyo (39) del dispositivo. La estructura de apoyo (41) está apoyada en una pareja de carriles (42) que guían un movimiento horizontal del imán (40), y está unida a un tornillo sinfín horizontal (43) unido a un primer motor paso a paso (44) tal que el primer motor paso a paso (44) y el tornillo sinfín horizontal (43) mueven la estructura de apoyo (41) en horizontal, haciendo que el imán (40) pueda alejarse y/o acercarse al conducto plano (3).

La estructura de apoyo (41) también está unida a una primera pareja de tornillos sinfín verticales (45) que en colaboración con dos segundos motores paso a paso (46) mueven la estructura de apoyo (41) en vertical y consecuentemente producen el movimiento en vertical del imán (40).

El movimiento en vertical junto con el movimiento en horizontal del imán (40), hace que el citado imán (40) pueda acercarse y alejarse de la primera arista (7) del primer depósito (1) y del conducto plano (3) lo que hace que se pueda regular la intensidad con la que se atrae a la muestra que se encuentra en el interior de dicho primer depósito (1) y del conducto plano (3).

Aunque en la realización preferente de la invención, el imán (40) es un imán (40) de neodimio, con un campo electromagnético fijo, el imán (40) puede ser un electroimán que esté conectado a una fuente de alimentación de modo que la fuente de alimentación varía la intensidad de

corriente que hace pasar por el imán (40), permitiendo modificar el campo electromagnético que ejerce el imán (40) lo que se traduce en que el imán (40) puede hacer que, a una misma distancia del primer depósito (1) o del conducto plano (3), aumente o reduzca la fuerza de atracción ejercida sobre la muestra de células cargadas con anticuerpos monoclonales magnéticos de la muestra heterogénea que se encuentra o distribuida por el conducto plano (3), en el primer depósito (1) o en el segundo depósito (2).

El funcionamiento del dispositivo objeto de la invención con el primer depósito (1), el conducto plano (3), el segundo depósito (2) junto con el imán (40) y el elemento de presión (15), es como sigue:

- se realiza el ensayo que se desee sobre las células distribuidas en el primer deposito (1),
- el primer depósito (1) contiene una muestra de células en dispersión en un líquido disolvente,
- algunas de las células de la muestra son marcadas con anticuerpos monoclonales magnéticos,
- los dos cristales que forman el conducto plano (3) están separados una distancia pequeña que hace que, una vez el primer depósito (1) está en comunicación con el conducto plano (3) por efecto de la capilaridad, la muestra de células en dispersión suban por el citado conducto plano (3),
- el imán (40) desciende y se aproxima a la primera arista (7) del primer depósito (1) excitando aquellas células marcadas con anticuerpos monoclonales magnéticos de la muestra que se encontraba en dispersión del primer depósito (1),
- se abre la primera compuerta (22) y se comunica el primer depósito (1) con el conducto plano (3),
- el imán (40) asciende y arrastra las células excitadas distribuyéndolas a lo largo del conducto plano (3),
- el primer depósito (1) cierra la comunicación con el conducto plano (3),
- la cámara (47) realiza un barrido del conducto plano (3), realizando fotos de todo lo que se encuentra en el conducto plano (3),
- La información obtenida de estas fotos es procesada y se obtiene información del tipo de células que se encuentran en el conducto plano (3),
- se abre la segunda compuerta (26) y se comunica el segundo depósito (2) con el conducto plano (3),
- el imán (40) arrastra las células en dispersión desde el conducto plano (3) hasta el segundo depósito (2).

La función del imán (40) es asegurar el movimiento de las células en dispersión de la muestra heterogénea que se encuentran en el primer depósito (1) o en el segundo depósito (2) ya que el movimiento por capilaridad no asegura una distribución de las células marcadas con anticuerpos magnéticos en todo el conducto plano (3) y el imán (40), por el contrario sí garantiza dicha distribución.

El dispositivo objeto de la invención comprende una cámara (47) que realiza fotos por sectores del conducto plano (3), para lo que realiza un recorrido por el conducto plano (3) de manera que va sacando fotos de las células de la muestra que se encuentran distribuidas a lo largo y ancho de dicho conducto plano (3).

La cámara (47) está conectada a un cuerpo de microscopio (48) en cuyo extremo se localiza el objetivo (49), además la cámara (47) comprende una fuente de iluminación (50) que, en una realización de la invención comprende seis de leds que se localizan alrededor del objetivo (49) en forma de revolver. Los leds se encuentran enfocando hacia la zona del conducto plano (3) que se está fotografiando para irradiar las células de la muestra en estudio y que emitan fluorescencia.

El que la fuente de iluminación (50) comprenda seis leds distintos, hace que se puedan irradiar las células de la muestra con seis longitudes de onda distintas, y de cada sector que se fotografía se pueden hacer seis fotos, una foto con cada led encendido, por lo que se pueden marcar diferentes tipos de moléculas que se excitan a diferentes longitudes de onda (muchas células pueden compartir moléculas en la superficie celular) células y puedo obtener seis parámetros de las moléculas de la muestra distribuida en el conducto plano (3), por ejemplo se puede obtener un dato del porcentaje de pureza o eficacia de separación así como garantizar la eficacia y purezas requeridas en la separación de un tipo de célula para un ensayo concreto, con reproducibilidad y exactitud. Los leds son fuentes de iluminación con longitudes de onda específicas que permiten excitar a marcadores unidos a las células mediante anticuerpos modificados con partículas fluorescentes (que son magnéticos a la vez). La mayoría de anticuerpos tienen patrones de fluorescencia peculiares y únicos.

La cámara (47) del dispositivo objeto de la invención se sitúa en una estructura de sujeción de la cámara (51) que se apoya en la superficie de apoyo (39) del dispositivo objeto de la invención. La estructura de sujeción de la cámara (51) comprende dos columnas de guía (52), sobre las que se desplazan verticalmente una pieza de guiado (53) por cada columna de guía

(52), uniendo las piezas de guiado (53) la estructura de sujeción de la cámara (51) comprende dos carriles (54) sobre los que se desplaza una pletina de fijación (55) a la que se fija la cámara (47). Para el movimiento vertical de la cámara (47) cada pieza de guiado (53) es atravesada por un tornillo sinfín vertical (56) que gira unido a un tercer motor paso a paso (57), mientras que para el movimiento horizontal de la cámara (47), la pletina de fijación (55) está unida a un cuarto motor paso a paso (58) que a su vez está unido a un sinfín horizontal (59) que pasa por una de las piezas de guiado (53) de modo que el giro del sinfín horizontal (59) arrastra el cuarto motor paso a paso (58) , con el cuarto motor paso a paso(58), la pletina de fijación (55) y con ella la cámara (47).

El dispositivo objeto de la invención comprende un microcontrolador (L) que maneja los distintos elementos del dispositivo, la apertura y cierre de las distintas válvulas, el suministro y extracción a los depósitos (1, 2) tanto de células como diferentes sustancias y componentes, la apertura y cierre de los depósitos (1, 2), el funcionamiento de los distintos servomotores (25, 29), motores eléctricos (33 ,37) y motores paso a paso (44, 46, 57, 58) del dispositivo que realizan la subida y bajada del imán (40) y los movimientos de la cámara (47) en su recorrido por el conducto plano (3) o el movimiento de los mecanismos de agitación (30 ,34), así como el funcionamiento de la cámara (47) sacando fotos por sectores del conducto plano (3) y la apertura o cierre de las compuertas que comunican los depósitos (1,2) con la cámara plana (3).

La cámara (47) del dispositivo objeto de la invención está conectada a un ordenador, que almacena las fotos de la cámara (47), tal que en el ordenador mediante un programa específicamente diseñado y mediante patrones de visión artificial analiza la forma, el tamaño y la fluorescencia de las células.

El análisis y procesamiento por un software de estos patrones encontrados en las fotografías tomadas por la cámara, permite identificar que cuerpos están siendo irradiados con los diferentes leds.

Aunque en la realización preferente del dispositivo objeto de la invención el conducto plano (3) se ha generado por dos cristales cuya distancia permanece fija, es posible modificar este dispositivo e incluirle un conducto plano (3) con una distancia entre cristales que se pueda modificar, bien de forma manual bien automáticamente.

El desarrollo de la realización preferente de la invención realizado previamente pretende servir

como guía para mostrar un desarrollo particular de la invención si bien el alcance de la invención se define mediante las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para ensayar una muestra de células **caracterizado porque** comprende:

- un primer depósito (1) fijado a un bastidor (38) que se apoya en una superficie de apoyo (39),
- un segundo depósito (2) fijado también al bastidor (38) que se apoya en la superficie de apoyo (39),
- un conducto plano (3) formado por dos cristales, que comunica el primer depósito (1) y el segundo depósito (2),
- un imán (40) con capacidad de moverse al menos en paralelo al conducto plano (3),
- una cámara (47) con capacidad de recorrer el conducto plano (3) en su totalidad,
- un alimentador (14),

donde el primer depósito (1), el conducto plano (3), la cámara de presión (16) y el segundo depósito (2) están comunicados entre sí formando un circuito cerrado tal que una muestra introducida mediante el alimentador (14) puede ser llevada a cualquier punto del circuito cerrado.

2. Dispositivo para ensayar una muestra de células según la reivindicación 1 **caracterizado porque** comprende:

- un elemento de presión (15),
- una cámara de presión (16), y
- un microcontrolador (60) que maneja los distintos elementos del dispositivo,

donde el elemento de presión (15) y la cámara de presión (16) introducen presión en el circuito cerrado para mover la muestra automáticamente a cualquier punto de dicho circuito cerrado.

3. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** comprende

- una primera válvula (17) conectada por un extremo al alimentador (14) y estando conectada por el extremo opuesto a la cámara de presión (16) y a una segunda válvula (18) mediante una conexión en "T", y
- una tercera válvula (19) que abre y cierra la comunicación del segundo depósito (2) con la cámara de presión (16),
- una cuarta válvula (20) entre el elemento de presión (15) y la cámara de presión (16),

donde la segunda válvula (18) controla la comunicación de la cámara de presión (16) con el primer depósito (1) y la cuarta válvula (20) controla la entrada de presión en el circuito.

4. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** el primer depósito (1) comprende una primera estructura exterior (4) y una primera estructura interior (5) de forma cilíndrica con un primer saliente (6) que da lugar a una primera arista (7) que configura una primera salida (8) que comunica con un extremo del conducto plano (3) formado por los dos cristales; y donde el segundo depósito (2) comprende una segunda estructura exterior (9) y una segunda estructura interior (10) de forma cilíndrica con un segundo saliente (11) que da lugar a una segunda arista (12) que configura una segunda salida (13) que comunica con el extremo opuesto del conducto plano (3).

5. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** la primera salida (8) del primer depósito (1) está regulada por una primera compuerta (22) deslizable guiada por al menos una primera guía lateral (23) y una primera guía frontal (24) e impulsada por al menos un primer servo-motor (25) y la segunda salida (13) del segundo depósito (2) está regulada por una segunda compuerta (26) deslizable guiada por al menos una segunda guía lateral (27) y una segunda guía frontal (28) impulsada por al menos un segundo servo-motor (29).

6. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** comprende:

- un primer mecanismo de agitación (30) del contenido de dicho primer depósito (1), el citado primer mecanismo de agitación (30) comprende unas primeras hélices (31) unidas a un primer eje (32) que es movido por un primer motor eléctrico (33) situado fuera del primer depósito (1), y
- un segundo mecanismo de agitación (34) del contenido de dicho segundo depósito (2), el citado segundo mecanismo de agitación (34) comprende unas segundas hélices (35) unidas a un segundo eje (36) que es movido por un segundo motor eléctrico (37) situado fuera del segundo depósito (2).

7. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** tanto el primer depósito (1) como el segundo depósito (2) comprenden una pluralidad de orificios (21) conectados con válvulas para introducir o extraer de su interior diferentes compuestos.

8. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** comprende una estructura de apoyo (41) para el imán (40),

donde la estructura de apoyo (41):

- está apoyada en una pareja de carriles (42) que guían un movimiento horizontal del imán (40), y
- está unida a un tornillo sinfín horizontal (43) unido a un primer motor paso a paso (44),
- está unida a una primera pareja de tornillos sinfín verticales (45) unidos a dos segundos motores paso a paso (46),

tal que el primer motor paso a paso (44) y el tornillo sinfín horizontal (43) mueven la estructura de apoyo (41) en horizontal y la primera pareja de tornillos sinfín verticales (45) con los dos segundos motores paso a paso (46) mueven la estructura de apoyo (41) en vertical.

9. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** la cámara (47) comprende un objetivo (49), un cuerpo de microscopio (48), y una fuente de iluminación (50) que apunta hacia la zona del conducto plano (3) que se está fotografiando.

10. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** la cámara (47) se sitúa en una estructura de sujeción de la cámara (51), donde la estructura de sujeción de la cámara (51) se apoya en la superficie de apoyo (39).

11. Dispositivo para ensayar una muestra de células según la reivindicación 9 **caracterizado porque** la fuente de iluminación (25) está situada en el objetivo (49) de la cámara (47) en forma de revólver.

12. Dispositivo para ensayar una muestra de células según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** la fuente de iluminación (47) comprende al menos un led con una longitud de onda específica.

13. Dispositivo para ensayar una muestra de células según la reivindicación 10 **caracterizado porque** la estructura de sujeción de la cámara (51) comprende:

- dos columnas de guía (52), sobre las que se desplazan verticalmente una pieza de guiado (53) por cada columna de guía (52), ,
- dos carriles (54) uniendo las piezas de guiado (53), sobre los que se desplaza una pletina de fijación (55) a la que se fija la cámara (47),
- una segunda pareja de tornillos sinfín verticales (56) que atraviesan las piezas de guiado (53),

donde cada tornillo sinfín vertical (56) gira unido a un tercer motor paso a paso (57)

proporcionando movimiento vertical a las piezas de guiado (53) y la pletina de fijación (55) está unida a un cuarto motor paso a paso (58) que a su vez está unido a un sinfín horizontal (59) que pasa por una de las piezas de guiado (53) proporcionando mediante el giro del sinfín horizontal (59) movimiento horizontal a la cámara (47).

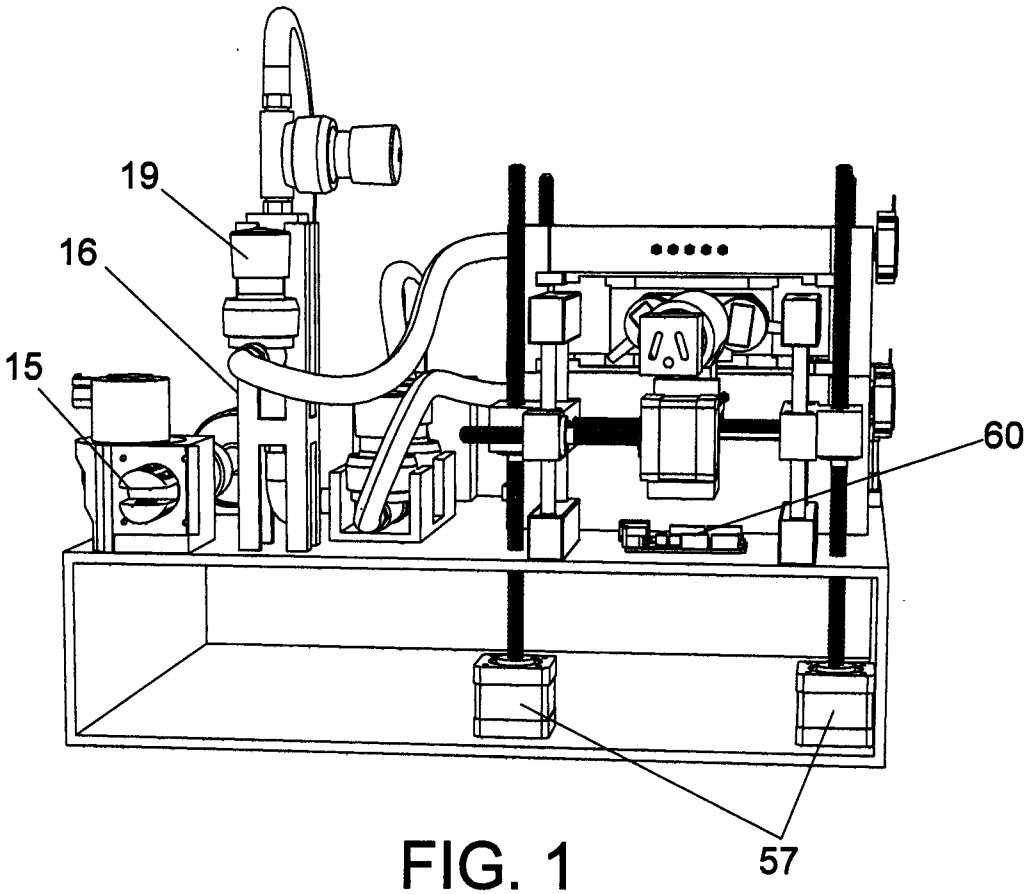


FIG. 1

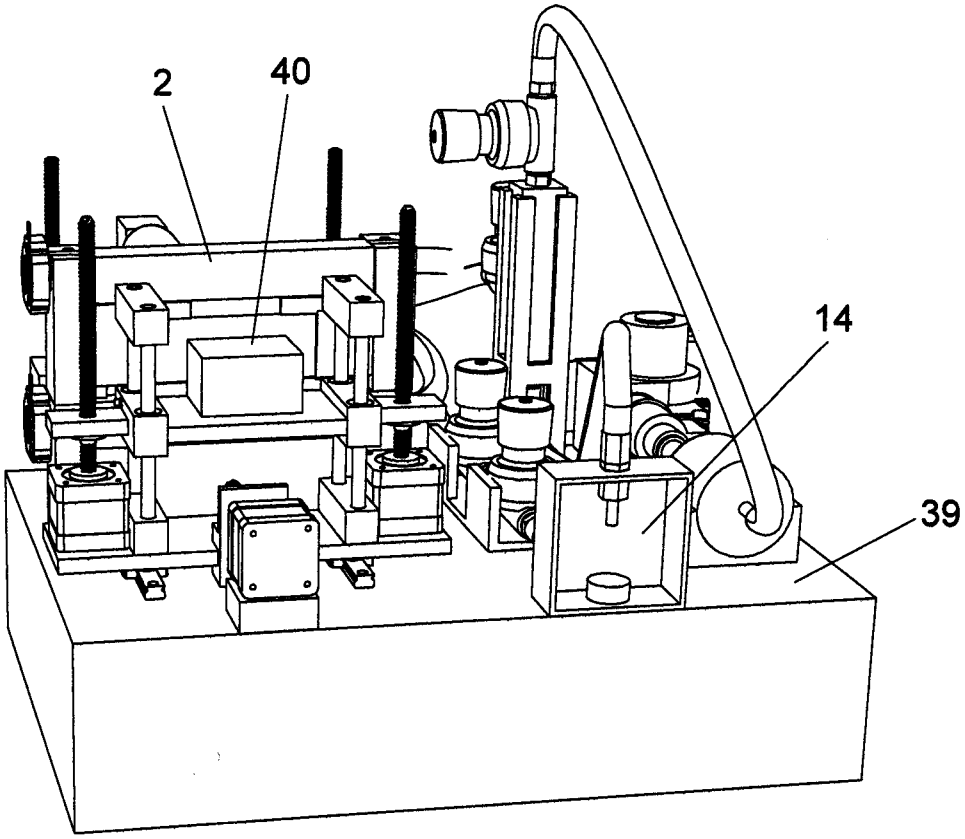


FIG. 2

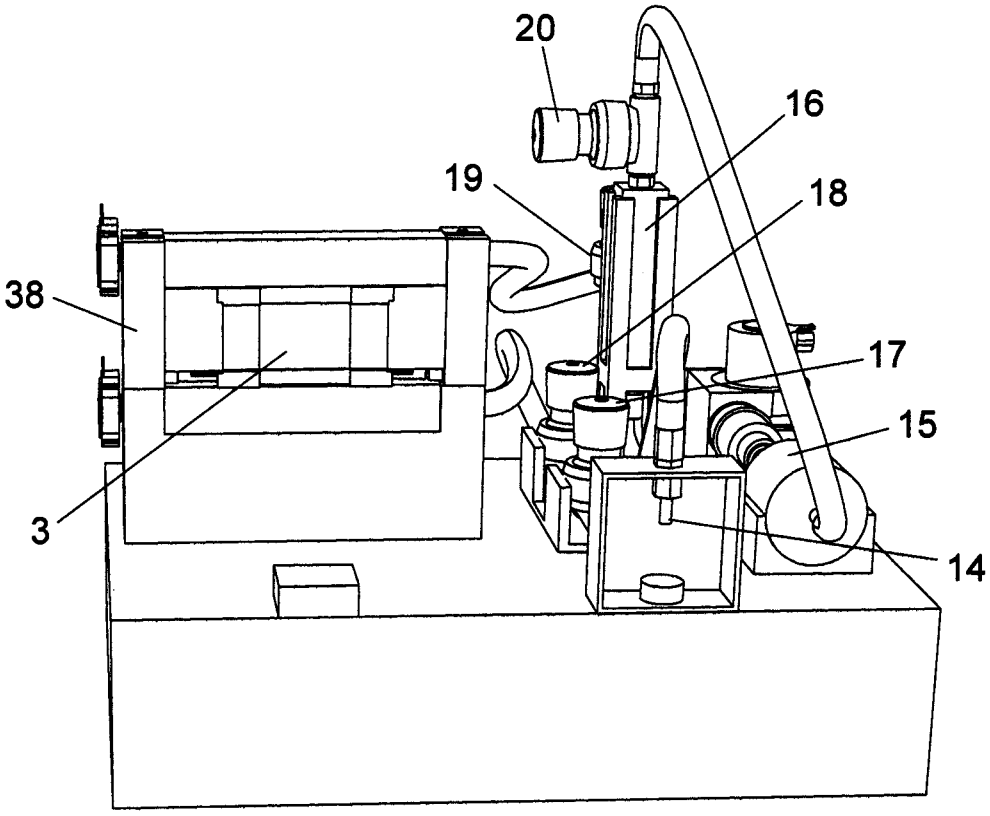


FIG. 3

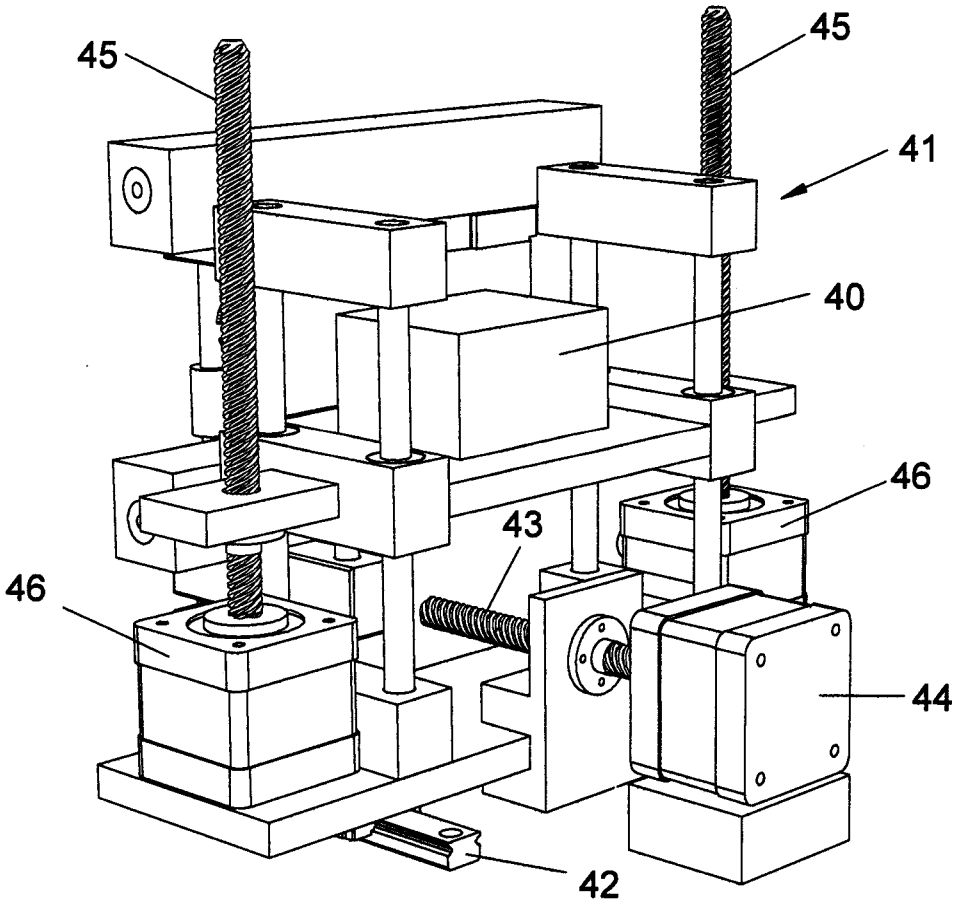


FIG. 4

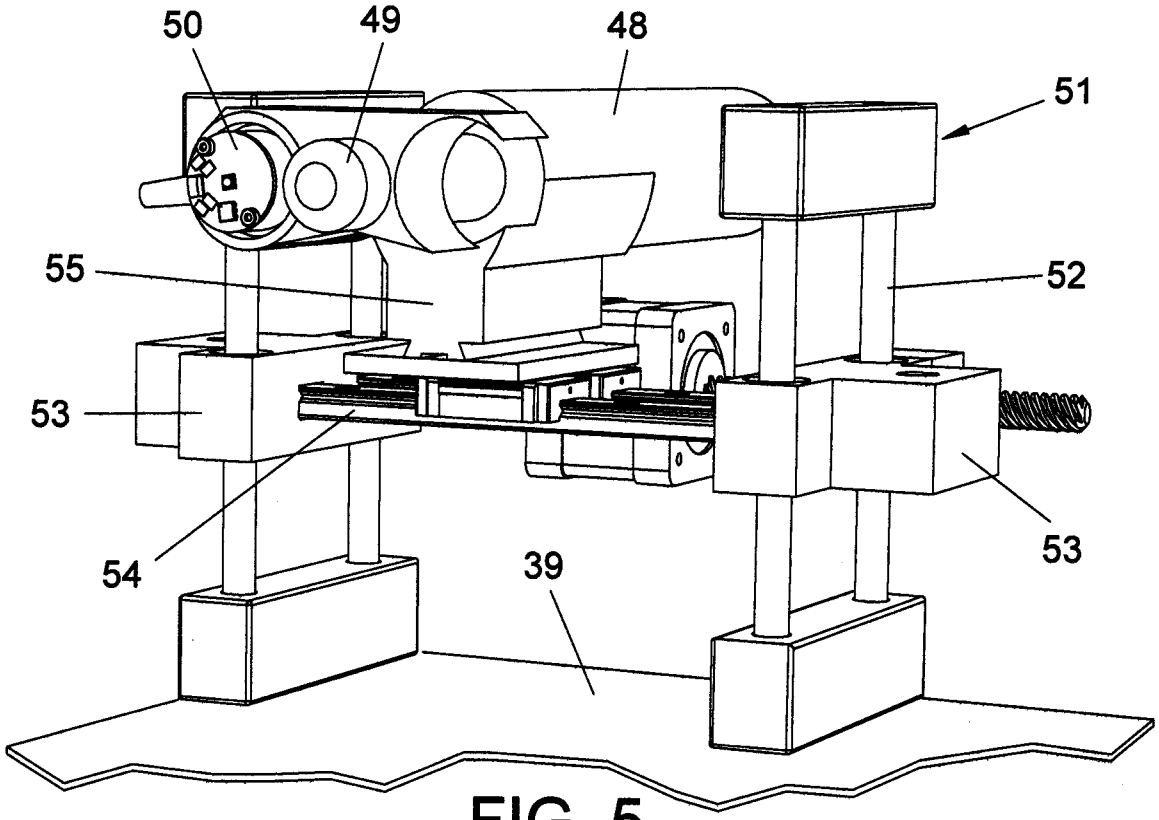


FIG. 5

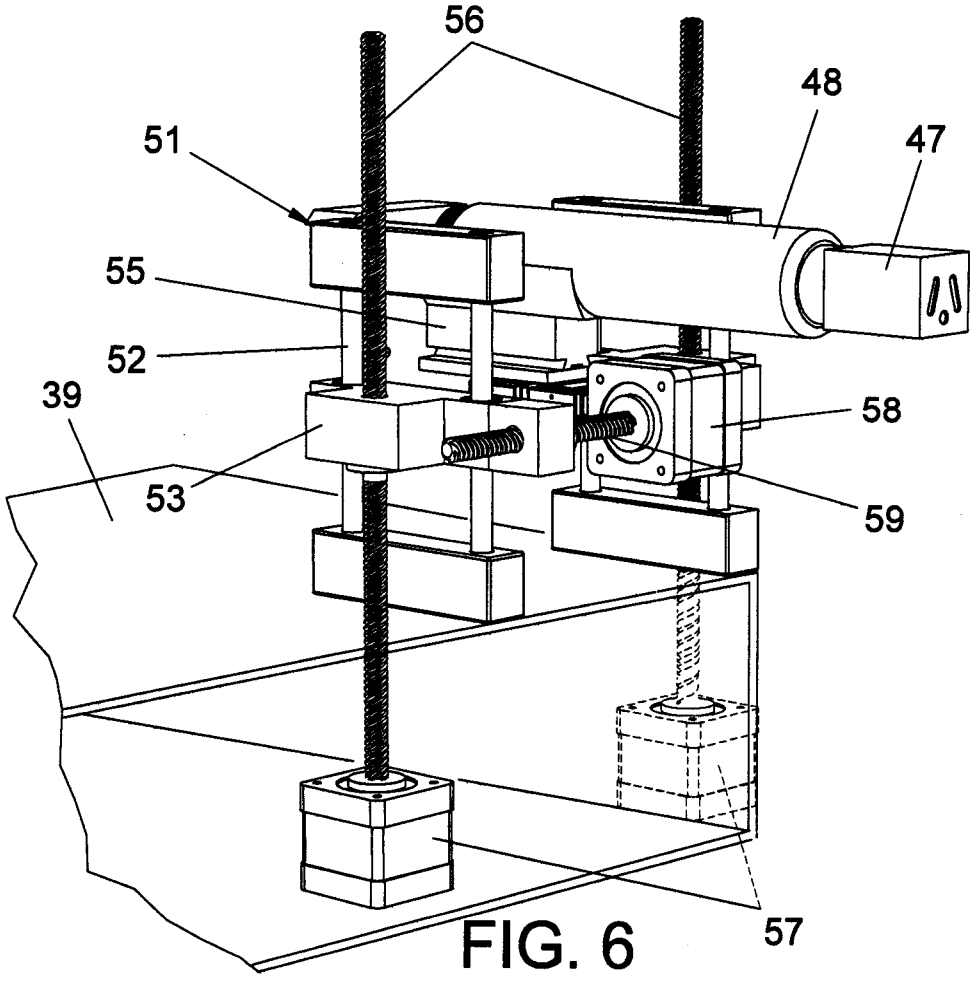


FIG. 6

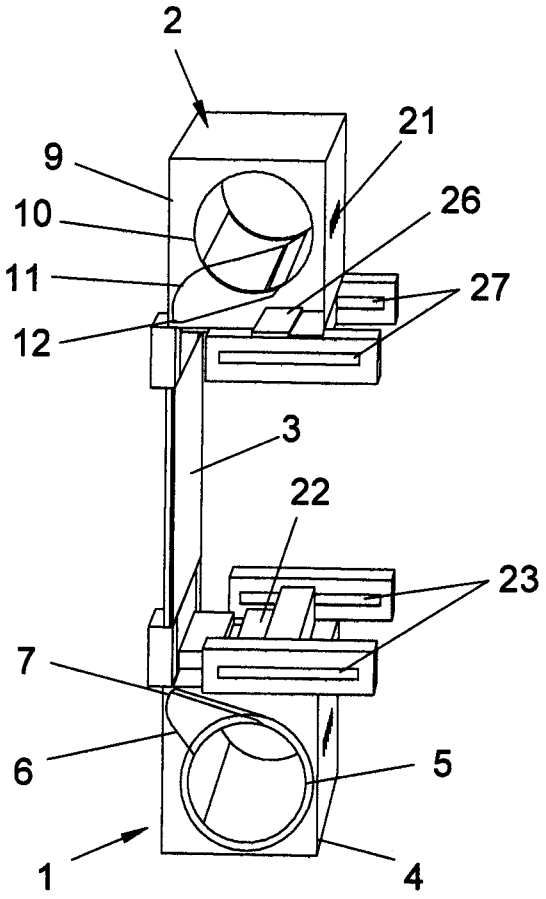


FIG. 7

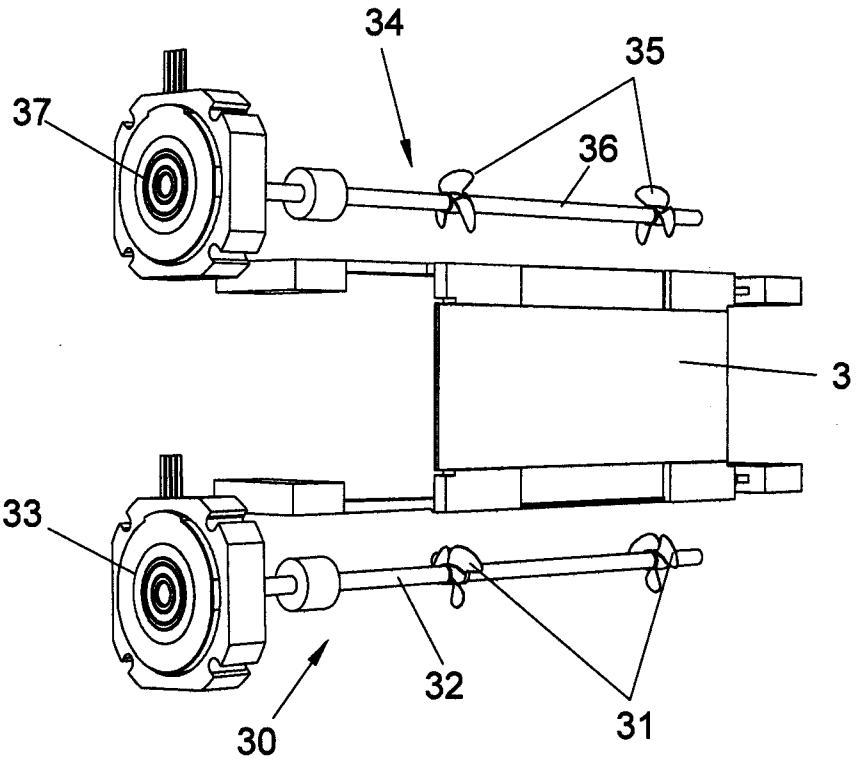
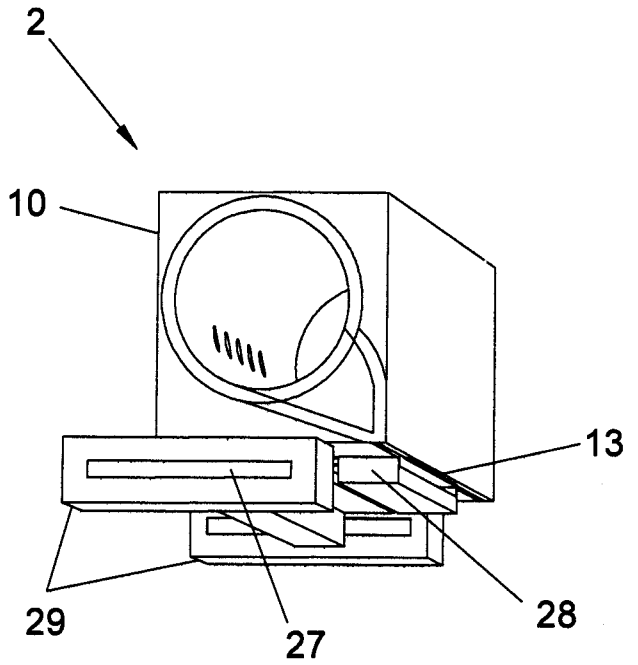


FIG. 8



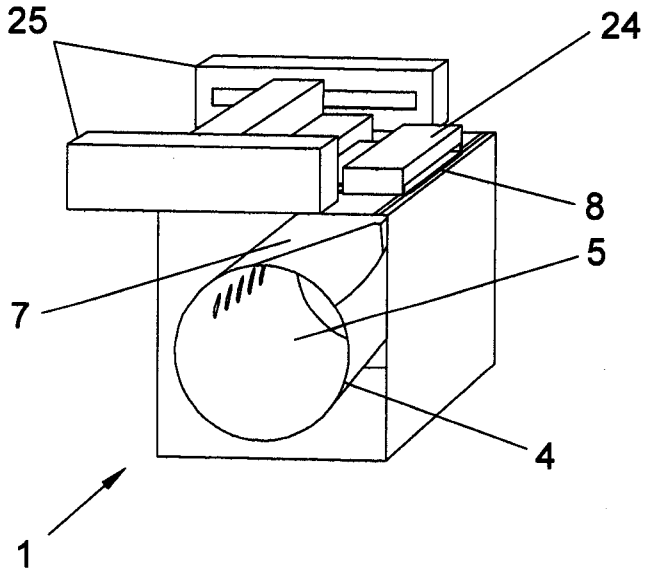


FIG. 9

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201500574

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 31.07.2015

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** ***G01N15/14*** (2006.01)
C12M1/34 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) **Documentos citados**	**Reivindicaciones afectadas**
A	US 2006094109 A1 (TRAINER MICHAEL N) 04/05/2006, Párrafos [0020 - 0054]; figuras.	1
A	GB 1389553 A (LEGORRETA G) 03/04/1975, Reivindicaciones; resumen; figuras.	1
A	WO 2008128213 A1 (UNIV MINNESOTA et al.) 23/10/2008, Resumen.	1

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	**Examinador**	**Página**
19.10.2016	R. E. Reyes Lizcano	1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

B01L, G01N, C12M

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 19.10.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-13	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	1-13	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2006094109 A1 (TRAINER MICHAEL N)	04.05.2006

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

En relación a la reivindicación independiente 1, el documento D01 (ver reivindicación 1; resumen) divulga un aparato para detectar y analizar entidades biológicas presentes en una muestra biológica, comprendiendo dicho aparato:
a. una cámara de muestra que contiene dicha muestra biológica,
b. uno o más medios de iluminación para iluminar dichas entidades biológicas presentes en la muestra biológica,
c. uno o más medios de detección para detectar y formar una imagen de dichas entidades biológicas, y
d. una etapa que proporciona los medios para sostener y mover dicha cámara de muestra a través de las áreas de iluminación.

Sin embargo, el documento D01 no divulga un dispositivo para ensayar una muestra de células que comprenda las características técnicas definidas en la reivindicación 1, y se considera que dichas características técnicas no serían evidentes para un experto en la materia.

Por lo tanto, la reivindicación independiente 1, y sus dependientes 2 a 13, cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva a la vista del estado de la técnica conocido (art. 6.1 y 8.1 LP).