

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 256**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/00** (2006.01)

**C12M 3/00** (2006.01)

**A01N 1/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2012 PCT/JP2012/075433**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.04.2013 WO13051522**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2012 E 12838646 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016 EP 2765182**

54 Título: **Herramienta de crioconservación de células vivas**

30 Prioridad:

**05.10.2011 JP 2011220691**

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

**31.01.2017**

73 Titular/es:

**KITAZATO BIOPHARMA CO., LTD. (100.0%)  
81, Nakajima  
Fuji-shi, Shizuoka 416-0907, JP**

72 Inventor/es:

**INOUE FUTOSHI**

74 Agente/Representante:

**RIZZO, Sergio**

**ES 2 599 256 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

Herramienta de crioconservación de células vivas.

### 5 **Campo técnico**

La presente Invención se refiere a una herramienta de crioconservación de células vivas para ser usada en la crioconservación de células vivas tales como óvulos de mamífero, cigotos tales como embriones, espermatozoides y células madre, tales como células madre hematopoyéticas, células madre pluripotentes, y similares.

### **Antecedentes de la técnica**

La crioconservación de embriones de mamífero permite la conservación de los recursos hereditarios de unos tipos y sistemas específicos. Es eficaz para el mantenimiento de animales que están al borde de una crisis. Es útil para los tratamientos de infertilidad.

Como método para la crioconservación de embriones de mamífero, según se divulga en el documento patente 1 (Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2000-189155), se propone un método para la crioconservación de embriones de mamífero en el que los embriones o los óvulos de mamífero que están unidos a la superficie interna del recipiente de crioconservación, tal como una rejilla congelada esterilizada, un vial congelado o un tubo congelado mediante el uso de un líquido de vitrificado en una cantidad mínima y suficiente para rodear a los embriones o los óvulos de mamífero con el mismo. El recipiente de crioconservación se cierra herméticamente y se enfría rápidamente poniendo el recipiente de crioconservación en contacto con nitrógeno líquido. En el método de descongelación, el recipiente de crioconservación almacenado en el método anterior se extrae del nitrógeno líquido y se abre un extremo del mismo. Se inyecta directamente un líquido diluido a entre 33 y 39 grados C en el recipiente para descongelar los embriones o los óvulos de mamífero y diluir el líquido de vitrificado. Este método elimina la posibilidad de que los embriones o los óvulos de mamífero se infecten con una enfermedad a través de virus o de bacterias, y es capaz de almacenarlos con un elevado índice de supervivencia y descongelarlos y diluirlos en el líquido de vitrificado.

Pero la operación de pegado de cigotos, tales como embriones, y de óvulos a la superficie interna del recipiente de crioconservación tales como la rejilla congelada, el vial congelado o el tubo congelado mediante el uso del líquido de vitrificado en una cantidad mínima y suficiente para rodearlos con el mismo, no es fácil.

### **Documentos de la técnica anterior**

#### **Documentos patentes**

Documento patente 1: Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2000-189155.

Documento patente 2: Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2004-329202 (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° 2004-0259072).

Documento patente 3: Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2002-315573 (documento WO 02-085110 A1).

## Resumen de la invención

5

### Problemas que van a ser resueltos por la invención

El presente solicitante también propone una invención según se divulga en un documento patente 2 (Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2004-329202. Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° 2004-0259072). La herramienta de crioconservación de cigotos del documento patente 2 tiene el tubo de crioconservación de cigotos 2 formado por el material resistente al nitrógeno líquido y el miembro protector tubular metálico 3 para la protección del tubo 2. El tubo 2 tiene la parte de cuerpo 21 y la parte de pequeño diámetro para el almacenamiento del cigoto 22 que tiene el diámetro interno de entre 0,1 mm y 0,5 mm. El tubo 2 puede ser termosellado en la parte delantera de la parte de diámetro pequeño y en la parte del cuerpo 21. El miembro protector tubular 3 tiene la parte tubular 31 que almacena el lado frontal de la parte de diámetro pequeño 22 del tubo 2, y la parte semitubular 32 que almacena la porción de la parte de diámetro pequeño 22 no almacenada en la parte tubular 31 y la porción frontal 21 a de la parte de cuerpo 21.

El método para la crioconservación de embriones de mamífero y la herramienta de crioconservación de cigotos divulgados en los documentos patentes 1 y 2 respectivamente necesitan la realización de una operación de acomodación de los cigotos en el interior del tubo, y por lo tanto debe invertirse un periodo de tiempo operativo.

El presente solicitante ha propuesto una invención según se divulga en un documento patente 3 (Publicación de Solicitud de Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público N° 2002-315573, documento WO 02-085110 A1). La herramienta de crioconservación de cigotos del documento patente 3 incluye la parte de cuerpo 2 hecha de un material resistente al frío; la tira de fijación y sujeción del cigoto 3, hecha de un material flexible, transparente y resistente al nitrógeno líquido, que está montada en un extremo de la parte de cuerpo 2, y el miembro cilíndrico 4, hecho de un material resistente al frío y precintado en un extremo del mismo, que permite que la tira de fijación y sujeción de cigoto 3 sea montada de forma rodeable y desprendible sobre la parte de cuerpo 2. En la herramienta de crioconservación de cigotos del documento patente 3, todo lo que tiene que hacer un operador es colocar los cigotos sobre la tira, y no es necesario realizar una operación de acomodación de los cigotos en el interior el tubo. Por lo tanto, la herramienta de crioconservación de cigotos tiene la ventaja de que la operación de congelación de los cigotos puede llevarse a cabo con facilidad.

Pero la herramienta de crioconservación de cigotos del documento patente 3 necesita que los cigotos entren en contacto con el medio refrigerante (específicamente, nitrógeno líquido) para la vitrificación de los cigotos. Aunque el contacto entre el nitrógeno líquido y los cigotos no afecta negativamente a los cigotos, es deseable no poner los cigotos en contacto directo con el nitrógeno líquido.

El documento WO2011/070973 A1 desvela una herramienta de crioconservación de células vivas, que comprende una porción de fijación y soporte de las células formada por una malla metálica, y un miembro de acomodación tubular para evitar el contacto entre el

miembro de soporte de las células y el medio refrigerante. No está previsto el contacto directo entre la porción de fijación y soporte de las células y el miembro de acomodación tubular.

- 5 Por lo tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar una herramienta de crioconservación de células vivas que permita que se realice con facilidad una operación de colocación de las células vivas en la misma y la congelación de las células vivas sin someter las células vivas a un contacto directo con un medio refrigerante.

## 10 **Medio para resolver los problemas**

El medio para conseguir el objeto descrito anteriormente es como se describe a continuación.

- 15 Una herramienta de crioconservación de células vivas comprende un miembro de soporte de las células vivas que tiene una parte de cuerpo formada por un material resistente al frío y una parte de soporte de las células vivas formada por el material resistente al frío y un miembro de acomodación tubular, cerrado en un extremo del mismo, que es capaz de  
20 acomodar el miembro de soporte de las células vivas y está formado por el material resistente al frío. La parte de soporte de las células vivas del miembro de soporte de las células vivas tiene una porción de fijación y soporte de las células vivas larga y estrecha. La porción de fijación y soporte de las células vivas tiene un conductor del calor extendido en una dirección longitudinal de la misma y proyectado desde un extremo distal de la  
25 misma. El miembro de acomodación tubular tiene provisto un miembro conductor del calor en una porción distal del mismo. Cuando el miembro de soporte de las células vivas es insertado en el miembro de acomodación tubular desde un lado distal del conductor del calor del mismo, una porción distal del conductor del calor es capaz de entrar en contacto con el miembro conductor del calor del miembro de acomodación tubular.

## 30 **Breve descripción de los dibujos**

La Fig. 1 es una vista frontal de una forma de realización de una herramienta de crioconservación de células vivas la presente invención en la que un miembro de soporte de las células vivas está acomodado en un miembro de la acomodación tubular.

35

La Fig. 2 es una vista frontal de la herramienta de crioconservación de células vivas de la forma da realización de la presente invención en la que el miembro de soporte de las células vivas no está acomodado en el miembro de acomodación tubular.

- 40 La Fig. 3 es una vista en sección longitudinal del miembro de acomodación tubular mostrado en la Fig. 2.

La Fig. 4 es una vista frontal ampliada de una porción distal del miembro de soporte de las células vivas mostrado en la Fig. 2.

45

La Fig. 5 es una vista lateral derecha del miembro de soporte de las células vivas mostrado en la Fig. 4.

La Fig. 6 es una vista en sección tomada a lo largo de una línea A-A de la Fig. 4.

50

La Fig. 7 es una vista en sección tomada a lo largo de una línea B-B de la Fig. 4.

La Fig. 8 es una vista inferior ampliada del miembro de soporte de las células vivas mostrado en la Fig. 4.

5 La Fig. 9 es una vista explicativa para explicar una sección obtenida mediante el corte del miembro de soporte de las células vivas a lo largo de una línea C-C de la Fig. 4.

La Fig. 10 es una vista frontal ampliada de una porción distal de un miembro de soporte y de congelación de las células vivas mostrado en la Fig. 2.

10 La Fig. 11 es una vista en sección tomada a lo largo de una línea D-D de la Fig. 10.

La Fig. 12 es una vista frontal ampliada de una porción distal de un miembro de soporte de las células vivas para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización de la presente invención.

15 La Fig. 13 es una vista lateral ampliada de una porción distal de un miembro de soporte de las células vivas para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

20 La Fig. 14 es una vista Inferior ampliada de una porción distal del miembro de soporte de las células vivas mostrado en la Fig. 13.

La Fig. 15 es una vista inferior ampliada de una porción distal de un miembro de soporte de las células vivas para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

25 La Fig. 16 es una vista frontal ampliada de una porción distal de un miembro de soporte de las células vivas para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

30 La Fig. 17 es una vista inferior ampliada del miembro de soporte de las células vivas mostrado en la Fig. 16.

35 La Fig. 18 es una vista en sección ampliada tomada a lo largo de una línea E-E de la Fig. 16.

La Fig. 19 es una vista frontal de un conductor del calor con forma de placa plana para su uso en el miembro de soporte de las células vivas mostrado en la Fig. 16.

40 La Fig. 20 es una vista explicativa para explicar un miembro de acomodación tubular para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

45 La Fig. 21 es una vista en sección longitudinal ampliada de una porción distal de una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente Invención.

50 La Fig. 22 es una vista en sección longitudinal ampliada de una porción distal de una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

La Fig. 23 es una vista en sección longitudinal ampliada parcialmente abreviada de un miembro de acomodación tubular para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

5 La Fig. 24 es una vista frontal ampliada parcialmente abreviada de un miembro de acomodación tubular para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas de otra forma de realización más de la presente invención.

10 La Fig. 25 es una vista explicativa para explicar la acción de la herramienta de crioconservación de células vivas de la presente invención.

### **Modo para llevar a cabo la invención**

15 La herramienta de crioconservación de células vivas de la presente invención se describirá a continuación mediante el uso de las formas de realización mostradas en los dibujos.

20 Una herramienta de crioconservación de células vivas 1 de la presente invención tiene un miembro de soporte de las células vivas 2 que tiene una parte de cuerpo 23 formada por un material resistente al frío y una parte de soporte de las células vivas 21 formada por el material resistente al frío y un miembro de acomodación tubular 3, cerrado en un extremo del mismo, que es capaz de acomodar el miembro de soporte de las células vivas 2 y está formado por el material resistente al frío. La parte de soporte de las células vivas 21 del miembro de soporte de las células vivas 2 tiene una porción de fijación y soporte de las células vivas larga y estrecha 22. La porción de fijación y soporte de las células vivas 22 tiene unos conductores del calor 25, 26 extendidos en una dirección longitudinal de la misma y proyectados desde un extremo distal de la misma. El miembro de acomodación tubular 3 tiene un miembro conductor del calor 32 acomodado en el interior de una porción distal del mismo. Cuando el miembro de soporte de las células vivas 2 es insertado en el miembro de acomodación tubular 3 desde un lado distal de cada uno de los conductores del calor 25, 26, una porción distal de cada uno de los conductores del calor 25, 26 es capaz de entrar en contacto con el miembro conductor del calor 32 del miembro de acomodación tubular 3.

35 La herramienta de crioconservación de células vivas 1 de la presente Invención está formada por el miembro de soporte de las células vivas 2 y el miembro de acomodación tubular 3 para la acomodación del miembro de soporte de las células vivas 2 en el mismo. En esta forma de realización, la herramienta de crioconservación de células 1 es una herramienta de crioconservación de cigotos. y el miembro de soporte de las células 2 es un miembro de soporte de cigotos. La herramienta de crioconservación de células 1 de la presente invención puede usarse para congelar y almacenar células vivas que incluyen cigotos. tales como embriones, óvulos, espermatozoides y células madre, tales como células madre hematopoyéticas, células madre pluripotentes, y similares.

45 Según se muestra en las Fig. 1, 2, 4 hasta 11, el miembro de soporte de las células vivas 2 tiene la parte de cuerpo 23 formada por el material resistente al frío, y la parte de soporte de las células vivas 21 formada por el material resistente al frío. En el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización, según se muestra en las Fig. 4 hasta 6 (particularmente en la Fig. 6), hay formada una porción de orificio 21a extendida hasta una longitud predeterminada hacia un lado distal de la parte de soporte de las células vivas 21 en una porción proximal del mismo. Una porción proyectada 24,

extendida hasta una longitud predeterminada, que es capaz de penetrar en la porción de orificio 21a, está formada en una porción distal de la parte de cuerpo 23. La porción proyectada 24 de la parte de cuerpo 23 está insertada en la porción de orificio 21a de la parte de soporte de las células vivas 21 para la fijación de ambas porciones 24 y 21a entre sí.

La parte de soporte de las células vivas 21 tiene una sección transversal aproximadamente rectangular. Según se ha descrito anteriormente, la parte de soporte de las células vivas 21 tiene la porción proximal conectada con la parte de cuerpo 23 y la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 proyectada desde la porción proximal de la misma hacia el lado distal de la misma. En el miembro de soporte de las células vivas de esta forma de realización, la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 tiene la forma de una cinta larga y estrecha. La superficie de la porción de fijación y soporte de las células vivas forma una superficie para la fijación y el soporte de las células vivas.

Según se muestra en las Fig. 4 hasta 11, en el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización, hay formada una pluralidad de porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e en la superficie de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 en su dirección longitudinal. Según se muestra en las Fig. 9 y 11, cada una de las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e está formada en forma de una porción cóncava aproximadamente hemisférica. Una pluralidad de las porciones cóncavas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e está dispuesta linealmente sobre la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 desde una posición separada a un intervalo predeterminado desde el extremo distal del miembro de soporte de las células vivas 2 hacia el lado proximal de la misma. Las porciones cóncavas están separadas a unos intervalos prácticamente regulares. Aunque hay formada una pluralidad de las porciones cóncavas en esta forma de realización, se permite la formación de una porción cóncava. En el caso de que se forme una pluralidad de las porciones cóncavas, es preferible formar entre dos y ocho porciones cóncavas. Es preferible establecer la profundidad de cada porción cóncava a entre 0,05 to 0,5 mm, y el diámetro de una abertura que se va a formar en la superficie superior de la misma a entre 0,1 y 0,5 mm. Es preferible establecer el intervalo separado entre las porciones cóncavas adyacentes a entre 1 y 3 mm. En el miembro de soporte de las células vivas de esta forma de realización, según se muestra en las Fig. 8, 9 y 11. las porciones engrosadas 38a, 38b, 38c, 38d y 38e están formadas en la parte trasera de una porción de la porción de soporte y fijación de las células 22 en la que están formadas las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e. Por lo tanto, la porción de la porción de soporte y fijación de las células en la que están formadas las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas no es delgada, pero tiene una resistencia suficiente. La superficie del miembro de soporte de las células vivas 2 puede estar formada en forma de una superficie plana sin formar las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas sobre la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 para usar la superficie plana formada como la porción de fijación y soporte de las células vivas. Es preferible establecer la anchura de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 a entre 0,4 y 1,0 mm, su longitud a entre 5 y 30 mm y su grosor total y el grosor en las porciones cóncavas a entre 0,08 y 1,0 mm. Es preferible establecer la longitud de porción proximal gruesa de la parte de soporte de las células vivas 21 a entre 5 y 30 mm y la longitud de la parte de cuerpo a entre 20 y 100 mm.

En el miembro de soporte de las células vivas 2 de la presente invención, la porción de fijación y soporte de las vivas 22 tiene los conductores del calor 25, 26 extendidos en la dirección longitudinal de la misma y proyectados desde el extremo distal de la misma. En el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización uno de los conductores del calor 25, 26 que son lineales, está formado en un lado de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22, mientras que el otro conductor del calor está formado en el otro lado de la misma. Los conductores del calor 25, 26 pueden estar formados únicamente en un lado de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22. Los conductores del calor 25, 26 están dispuestos esencialmente en uno o en ambos lados (en ambos lados en esta forma de realización) de la porción de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 en la que están formadas ras porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e y se proyectan desde el extremo distal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22. En el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización, los extremos proximales de los conductores del calor 25, 26 están extendidos hacia el lado proximal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 más allá de la porción de la porción de soporte y fijación de las células 22 en la que están formadas las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas, y alcanzan el extremo proximal de la parte de soporte de las células vivas 21 o las proximidades del mismo. Por lo tanto, las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e están posicionadas entre los dos conductores del calor 25, 26. Excepto los extremos distales 25a y 26a de los conductores del calor 25, 26, los conductores del calor 25, 26 están incluidos en el interior de las porciones engrosadas 35, 36 respectivamente. En otras palabras, los conductores del calor 25, 26 están proyectados desde el extremo distal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 con las superficies externas de los mismos expuestas hacia el exterior.

En esta forma de realización, los conductores del calor 25, 26 están formados por un miembro lineal o un miembro con forma de barra estrecha. Las porciones distales de los conductores del calor 25, 26 están proyectadas en la configuración original de las mismas. La configuración de las porciones distales de los conductores del calor 25, 26 no está limitada a una configuración en columna según se muestra en fas Fig. 10 y 11, sino como en un miembro de soporte de las células vivas 2a mostrado en fa Fig. 12, los extremos de las porciones distales de los conductores del calor 25, 26 pueden estar formados en forma de porciones engrosadas aproximadamente esféricas 25b, 26b. Además, como un miembro de soporte de las células vivas 2b de una forma de realización mostrada en las Fig. 13 y 14, las porciones distales de los conductores del calor 25, 26 pueden estar formadas en forma de porciones distales curvadas 25c, 26c que están curvadas hacia el lado proximal de las mismas. En este caso, según se muestra en la Fig. 13, es preferible que las porciones distales curvadas 25c, 26c se proyecten hacia delante desde una porción distal 27 del miembro de soporte de las células vivas 2 que se describirá más tarde y protejan la porción distal 27. El miembro de soporte de las células vivas según se muestra en fa Fig. 13 está construido de tal forma que cuando se aplica un impacto en las porciones distales curvadas 25c, 26c en una dirección hacia el lado proximal del mismo, las porciones distales curvadas 25c, 26c no entran en contacto la porción distal 27. Como un miembro de soporte de las células vivas 2c de una forma de realización mostrada en la Fig. 15, puede proporcionarse un miembro de placa plana 38 en los extremos de las porciones distales de las porciones distales curvadas 25c, 26c que se proyectan desde la porción de fijación y soporte de las células vivas 22. Al proporcionar los conductores del calor 25, 26 con el miembro de placa plana, se permite que los conductores del calor tengan una mayor área de contacto entre los



conductores del calor y el miembro conductor del calor 32 del miembro de acomodación tubular 3, que se describirá más tarde. Por lo tanto, es posible congelar las células vivas más rápidamente.

5 Según se muestra en las Fig. 8 y 9, el miembro de soporte de las células 2 de esta forma de realización tiene dos porciones laterales engrosadas 35, 36, una de las cuales está formada en un lado de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 en la que están formadas las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e, y el otro de los cuales está formado en el otro lado de la  
10 porción anteriormente descrita. Las dos porciones laterales engrosadas se extienden en la que dirección longitudinal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22. Debido a que el miembro de soporte de las células vivas 2 tiene la porción engrosada en ambos lados de las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas, es posible restringir de forma segura el movimiento de las células vivas hacia los lados de las  
15 porciones cóncavas de acomodación de las células vivas cuando se colocan en las mismas las células vivas, y además impedir que las células vivas se separen de las mismas.

20 En el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización, según se muestra en las Fig. 8 y 9, los conductores del calor 25, 26 están incluidos en el interior de las porciones laterales engrosadas 35, 36 respectivamente, excepto los extremos distales de los mismos, para restringir que los conductores del calor 25, 26 se separen del miembro de soporte de las células vivas 2 y se deformen. Por lo tanto, en esta forma de realización, la porción con forma de cinta conecta las dos porciones engrosadas 35, 36  
25 entre sí. Las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e están formadas en la porción con forma de cinta.

Según se muestra en las Fig. 4 hasta 11 (en la Fig. 11 en particular), en el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización, la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 tiene una porción proyectada 27 formada en una posición  
30 del lado del extremo distal de la misma con respecto a las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e. La porción proyectada 27 es proyectada desde el extremo distal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 hacia un lado de la superficie superior (el lado en el que están formadas las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas) de la misma. Según se muestra en la Fig.  
35 11, la superficie del extremo distal de la porción proyectada 27 está formada en forma de una superficie inclinada que se inclina un poco hacia el lado proximal de la porción de fijación y soporte de las células vivas. Al formar la porción proyectada 27 que tiene la construcción descrita anteriormente, es posible impedir que las células vivas se caigan del miembro de soporte de las células vivas 2, en otras palabras, de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22, si las células vivas se separan de la porción de acomodación de las células vivas y se mueven hacia el lado distal de la porción de fijación y soporte de las células vivas. En el miembro de soporte de las células 2 de esta forma de realización, como se ha descrito anteriormente, en cooperación entre la porción  
40 proyectada 27 y las porciones laterales engrosadas 35, 36, una de las cuales está formada en un lado de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 y la otra está formada en el otro lado de la misma, se impide que las células vivas se caigan de la porción de fijación y soporte de las células vivas.

50 Según se muestra en las Fig. 4 hasta 11 (en las Figs. 9 y 11 en particular), en el miembro de soporte de las células vivas 2 de esta forma de realización, la porción de fijación y

soporte de las células vivas 22 tiene unas porciones de surco 29a, 29b, 29c, 29d, 29e y 29f que se comunican con las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e y se extienden en la dirección longitudinal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22. En el miembro de soporte de las células vivas de esta forma de realización, cada una de las porciones de surco 29a, 29b, 29c, 29d y 29e comunica las porciones cóncavas adyacentes de acomodación de las células vivas entre sí. Más específicamente, la porción de surco 29b comunica las porciones cóncavas 28a y 28b entre sí. La porción de surco 29c comunica las porciones cóncavas 28b y 28c entre sí. La porción de surco 29d comunica las porciones cóncavas 28c y 28d entre sí. La porción de surco 29e comunica las porciones cóncavas 28d y 28e entre sí.

Según se muestra en la Fig. 10, en esta forma de realización, la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 tiene la porción de surco 29a extendida hacia el extremo distal de la misma desde la porción cóncava de acomodación de las células vivas 28a posicionada más próxima al extremo distal de la misma que cualquier otra porción cóncava de acomodación de las células vivas. El extremo distal de la porción de surco 29a alcanza la porción proyectada la descrita anteriormente o se extiende hasta las proximidades de la misma. En el miembro de soporte de las células vivas de esta forma de realización, la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 tiene la porción de surco 29f extendida hacia el extremo proximal de la misma desde la porción cóncava de acomodación de las células vivas 28e posicionada más próxima al extremo proximal de la misma que cualquier otra porción cóncava de acomodación de las células vivas.

Mediante la formación de las porciones de surco, que tienen la construcción descrita anteriormente, que comunican con las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas, fluye una cantidad en exceso de un líquido de criopreservación acomodado en las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas junto con las células vivas en las porciones de surco. Así es posible impedir que las células vivas queden recubiertas con una cantidad excesiva del líquido de criopreservación y se congelen rápidamente las células vivas. Además, debido a que las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas adyacentes se comunican entre sí a través de la porción de surco, el líquido de criopreservación es capaz de moverse fácilmente desde las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas hasta las porciones de surco. Además, se queda una cantidad igual del líquido de criopreservación en una pluralidad de las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas. Es preferible establecer la anchura de cada porción de surco a entre 100  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$  y la profundidad de las mismas a entre 50  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$ .

El conductor del calor no se limita al miembro anteriormente descrito con forma lineal o de barra, sino que puede consistir en un miembro con forma de placa. Pueden disponerse dos miembros con forma de placa sobre la porción de fijación y soporte de las células vivas como los conductores del calor 25, 26. Además, el conductor del calor puede estar construido como un miembro de soporte de las células vivas 2d mostrado en las Fig. 16 hasta 19.

Se usa un conductor del calor con forma de placa larga y estrecha 37 para el miembro de soporte de las células vivas 2d de esta forma de realización. El conductor del calor con forma de placa 37 está dispuesto en el lado inferior de las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e. En esta forma de realización, el conductor del calor 37 tiene una pluralidad de aberturas 39a, 39b, 39c, 39d y 39e que se corresponden con las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a,

28b, 28c, 28d y 28e respectivamente. Las aberturas del conductor del calor 37 están posicionadas por debajo de las respectivas porciones cóncavas. Según se muestra en las Fig. 17 y 18, uno y otro lado del conductor del calor 37 están incluidos en el interior de uno y otro lado de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22, respectivamente. Una porción central del conductor del calor 37 en su dirección longitudinal está formada como una porción descubierta 37b que no está cubierta por la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 y está expuesta al exterior. En el miembro de soporte de las células vivas 2d de esta forma de realización, un extremo distal 37a del conductor del calor 37 también está proyectado desde la porción de fijación y soporte de las células vivas 22.

La parte del cuerpo 23 y la parte de soporte de las células vivas 21 están formadas por el material resistente al frío. Es preferible formar la parte de cuerpo 23 y la parte de soporte de las células vivas 21 con un material resistente al nitrógeno líquido. En otras palabras, es preferible formarlas con un material que no se quiebre cuando el material entra en contacto con el nitrógeno líquido. También es preferible que la parte de soporte de las células vivas 21 sea transparente o semitransparente, y además sea hasta cierto punto flexible. Como materiales que forman la parte de cuerpo 23 y la parte de soporte de las células vivas 21, se usan preferentemente resinas sintéticas tales como fluoruro de 3-polietileno, polietileno de baja densidad, polietileno de densidad media, polietileno de alta densidad, policarbonato, nailon, polisulfona, poliéster, poliestireno, poliimida, polietileno de peso molecular ultra alto, copolímero de etileno-acetato de vinilo; y laminados de películas formados por estas resinas sintéticas.

Los conductores del calor 25, 26 y 37 están formados por un material conductor del calor. Como el material conductor del calor pueden usarse preferentemente metales tales como plata, cobre, aluminio y acero inoxidable; y cerámicas conductoras térmicas tales como nitruro de aluminio, nitruro de silicio y alúmina.

Según se muestra en las Fig. 1 hasta 3, el miembro de acomodación tubular 3 es un cuerpo tubular, cerrado en un extremo del mismo, que es capaz de acomodar el miembro de soporte de las células vivas 2 y está formado por el material resistente al frío. El miembro de acomodación tubular 3 está construido con un cuerpo tubular 30 que tiene una porción de acomodación del miembro de soporte de las células vivas 31 formada en su interior y un miembro conductor del calor 32 proporcionado en el extremo distal del cuerpo tubular 30. En esta forma de realización, el miembro de acomodación tubular 3 está construido con una porción del extremo distal cerrada 33, una porción proximal con el extremo abierto 34, el cuerpo tubular 30 que tiene la porción de acomodación del miembro de soporte de las células vivas 31 formado en su interior, y el miembro conductor del calor 32 acomodado en el interior de la porción distal del cuerpo tubular 30. El miembro conductor del calor 32 está acomodado de forma inamovible en el interior del cuerpo tubular 30. En la forma de realización mostrada en los dibujos, el miembro conductor del calor 32 está acomodado en el interior del cuerpo tubular con el miembro conductor del calor 32 en contacto con la superficie interna de la porción del extremo distal cerrada 33. Se usa un material de columna hecho de metal para el miembro conductor del calor 32. La superficie superior del miembro conductor del calor 32, a saber, la superficie del mismo que está en contacto con las porciones distales 25a, 26a de los conductores del calor 25, 26 del miembro de soporte de las células vivas 2, que se va a describir más tarde, está formada por una superficie plana. Como un miembro de acomodación tubular 3a mostrado en la Fig. 20, la superficie superior del miembro conductor del calor 32a puede proporcionarse con una porción cóncava 32b capaz de

acomodar los extremos distales de las porciones distales 25a, 26a de los conductores del calor 25, 26 del miembro de soporte de las células vivas 2 o prácticamente la totalidad de las porciones distales 25a, 26a. Según se muestra en la Fig. 20, es preferible que la porción cóncava 32b tenga una porción abierta (en otras palabras, una porción abierta ahusada) cuyo diámetro aumenta hacia su extremo abierto.

El miembro de acomodación tubular puede ser de un tipo similar al miembro de acomodación tubular 3b para su uso en una herramienta de crioconservación de células vivas 1a de una forma de realización mostrada en la Fig. 21. El miembro de acomodación tubular 3b de esta forma de realización está construido con un cuerpo tubular 30a, que tiene formada en su interior la porción de acomodación del miembro de soporte de las células vivas 31, cuyos extremos distal y proximal están abiertos, y el miembro conductor del calor 42 está fijado en la porción abierta del extremo distal del cuerpo tubular 30a. Por lo tanto, el cuerpo tubular 30a está cerrado por el miembro conductor del calor 42 y la superficie externa del miembro conductor del calor 42 está expuesta al exterior, y por lo tanto en contacto directamente con un medio de refrigeración (por ejemplo, nitrógeno líquido) cuando se lleva a cabo una operación de refrigeración. Una porción distal 32c del miembro conductor del calor 42 de esta forma de realización es semiesférica o de tipo bala. Una porción de surco anular 32d para la acomodación y el soporte de la porción distal del cuerpo tubular 30a está formada en la porción proximal del miembro conductor del calor 42. En un estado en el que la porción distal del cuerpo tubular 30a está insertada en la porción de surco anular 32d del miembro conductor del calor 42, el miembro conductor del calor 42 está fijado a la porción distal del cuerpo tubular 30a mediante el calafateado de una porción en la que está formada la porción de surco anular 32d del miembro conductor del calor 42.

En el miembro de acomodación tubular del tipo descrito anteriormente, como un miembro de acomodación tubular 3c de una herramienta de crioconservación de células vivas 1b de una forma de realización mostrada en la Fig. 22, la superficie superior del miembro conductor del calor 42 puede estar proporcionada con la porción cóncava 32b capaz de acomodar los extremos distales de las porciones distales 25a, 26a de los conductores del calor 25, 26 del miembro de soporte de las células vivas 2, o la práctica totalidad de las porciones distales 25a, 26a. Según se muestra en la Fig. 22, es preferible que la porción cóncava 32b tenga una porción abierta (en otras palabras, una porción abierta ahusada) cuyo diámetro aumenta hacia su extremo abierto.

En todos los miembros de acomodación tubular descritos anteriormente, como un miembro de acomodación tubular 3d mostrado en la Fig. 23, la porción proximal con el extremo abierto de un cuerpo tubular 30b puede estar formada en forma de una porción proximal con el extremo abierto con un diámetro creciente 34a cuyo diámetro aumenta hacia el extremo proximal de la misma. Además, como un miembro de acomodación tubular 3e mostrado en la Fig. 24, un cuerpo tubular 30c puede tener una porción de recorte 34b formada en la porción proximal con el extremo abierto 34 del mismo. Mediante la formación de la porción con el diámetro creciente descrita anteriormente o de la porción de recorte en el cuerpo tubular del miembro de acomodación tubular, el miembro de soporte de las células vivas 2 puede ser insertado fácilmente en el miembro de acomodación tubular.

El cuerpo tubular 30 está formado por el material resistente al frío. Es preferible formar el cuerpo tubular 30 con un material resistente al nitrógeno líquido. En otras palabras, es preferible formar el cuerpo tubular con un material que no se quebre cuando el material

entre en contacto con el nitrógeno líquido. Es preferible que el cuerpo tubular 30 sea transparente, de forma que su interior pueda reconocerse visualmente, o semitransparente. Como materiales que forman el cuerpo tubular 30, pueden usarse preferentemente resinas sintéticas tales como fluoruro de 3-polietileno, polietileno de baja  
 5 densidad, polietileno de densidad media, polietileno de alta densidad, policarbonato, nailon, polisulfona, poliéster, poliestireno, poliimida, polietileno de peso molecular ultra alto, copolímero de etileno-acetato de vinilo; y laminados de películas formados por estas resinas sintéticas.

10 Es preferible establecer la longitud de la porción de acomodación del miembro de soporte de las células vivas 31 del miembro de acomodación tubular 3 más larga que la longitud global del miembro de soporte de las células vivas 2 en entre 10 y 50 mm. Es preferible establecer la longitud global del miembro de acomodación tubular (cuerpo tubular 30) 3 a  
 15 entre 50 y 150 mm, y el diámetro interno del mismo a entre 2 y 5 mm.

El miembro conductor del calor 32 está formado por un material conductor del calor. Como el material conductor del calor es posible usar preferentemente metales tales como plata, cobre, aluminio y acero inoxidable; cerámicas conductoras térmicas tales como  
 20 nitruro de aluminio, nitruro de silicio y alúmina; metal en polvo; cerámica en polvo conductora térmica tal como nitruro de aluminio; y una resina conductora térmica que contenga una sustancia muy conductora térmica tal como fibra de carbono. El miembro conductor del calor está construido de forma que las superficies terminales de las porciones distales 25a, 26a de los conductores del calor 25, 26 del miembro de  
 25 acomodación de las células vivas 2 son capaces de estar en contacto simultáneamente con el miembro conductor del calor. Más específicamente, se usa el miembro conductor del calor que tiene un diámetro mayor que el intervalo entre las porciones distales 25a y 26a de los conductores del calor 25, 26 del miembro de acomodación de las células vivas 2.

30 A continuación se describe el método de uso de la herramienta de crioconservación de células vivas 1 de la presente invención.

En la descripción que se realiza a continuación se ejemplifica un caso en el que se congelan y almacenan óvulos, que son células vivas.

35 Inicialmente se lleva a cabo una operación de recolección de una pluralidad de óvulos y la sustitución de los líquidos intracelulares de los óvulos por soluciones de equilibrio. A continuación se lleva a cabo una operación de sustitución de los líquidos celulares extracelulares por líquidos de vitrificado. Después, los óvulos se disponen en cada una de  
 40 las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e formadas en la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 del miembro de soporte de las células vivas 2 junto con una pequeña cantidad del líquido de vitrificado bajo un microscopio, los óvulos se fijan a las porciones cóncavas de acomodación de las células vivas. Según se muestra en la Fig. 25, el miembro de soporte de las células vivas  
 45 2 al que se fijan los óvulos está insertado en el miembro de acomodación tubular 3 desde el lateral del mismo, en el que está dispuesta la porción de soporte y fijación de las células 22 para poner en contacto las porciones distales 25a, 26b de los conductores del calor 25, 26 proyectadas desde el extremo distal de la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 del miembro de soporte de las células vivas 2 con el miembro conductor  
 50 del calor 32 dispuesto en el interior el miembro de acomodación tubular 3. A continuación se sumerge el miembro de acomodación tubular 3, que acomoda el miembro de soporte

de las células vivas 2, en nitrógeno líquido preparado con antelación desde el lado distal (el lado en el que está dispuesto el miembro conductor del calor 32) del mismo para congelar (vitrificar) los óvulos. Debido al contacto entre el nitrógeno líquido y el miembro de acomodación tubular 3, el miembro conductor del calor 32 dispuesto en el interior el miembro de acomodación tubular 3 se enfría rápidamente. El miembro de acomodación tubular 3, que ha sido enfriado rápidamente, adquiere la temperatura de los conductores del calor 25, 26 de la porción de soporte y fijación de las células 22 del miembro de soporte de las células 2, debido a que los conductores del calor 25, 26 están en contacto con el miembro conductor del calor 32. Como resultado, los óvulos contenidos en la porción de fijación y soporte de las células vivas 22 se enfrían rápidamente. Después de que el miembro de acomodación tubular 3, que acomoda el miembro de soporte de las células vivas 2 que contiene los óvulos vitrificados que están unido al mismo, sea acomodado en un recipiente de acomodación (caña), el recipiente de acomodación se pone en un tanque con nitrógeno líquido para el almacenamiento de los óvulos congelados.

### Aplicación industrial

La herramienta de crioconservación de células vivas de la presente invención es como se describe a continuación.

(1) Una herramienta de crioconservación de células vivas que comprende: un miembro de soporte de las células vivas que tiene una parte de cuerpo formada por un material resistente al frío y una parte de soporte de las células vivas formada por dicho material resistente al frío; y un miembro de acomodación tubular, cerrado en un extremo del mismo, que es capaz de acomodar dicho miembro de soporte de las células vivas y que está formado por dicho material resistente al frío; en el que dicha parte de soporte de las células vivas de dicho miembro de soporte de las células vivas tiene una porción de fijación y soporte de las células vivas larga y estrecha; dicha porción de fijación y soporte de las células vivas tiene un conductor del calor extendido en una dirección longitudinal de la misma y proyectado desde un extremo distal de la misma; y dicho miembro de acomodación tubular tiene un miembro conductor del calor proporcionado en una porción distal del mismo, cuando dicho miembro de soporte de las células vivas es insertado en dicho miembro de acomodación tubular desde un lado distal de dicho conductor del calor del mismo, una porción distal de dicho conductor del calor es capaz de estar en contacto con dicho miembro conductor del calor de dicho miembro de acomodación tubular.

En la herramienta de crioconservación de células vivas de la presente invención, después de que las células vivas (por ejemplo, óvulos) tratadas con el líquido de crioconservación son succionadas y dispuestas en la porción de fijación y soporte de las células vivas del miembro de soporte de las células vivas. el miembro de soporte de las células vivas que contiene las células vivas es insertado en el miembro de acomodación tubular. Así, las células vivas que están contenidas en el miembro de soporte de las células vivas están protegidas por el miembro de acomodación tubular y no están expuestas al exterior. A continuación, al poner en contacto el miembro de acomodación tubular que acomoda el miembro de soporte de las células vivas con el medio de refrigeración (por ejemplo, nitrógeno líquido) con el lado distal del miembro de acomodación tubular orientado hacia abajo, y llevando a cabo una operación para evitar que el nitrógeno líquido fluya en el miembro de acomodación tubular, el miembro de acomodación tubular se enfría y además, el miembro conductor del calor del miembro de acomodación tubular se enfría instantáneamente. Así, también se enfría el conductor del calor del miembro de soporte

- 5 de las células en contacto con el miembro conductor del calor. Consecuentemente, el miembro de soporte de las células vivas y las células vivas que se han unido al mismo se enfrían rápidamente. Por lo tanto, la herramienta de crioconservación de células vivas de la presente invención permite que la operación de colocar las células vivas en el mismo se lleve a cabo fácilmente, y se pueden congelar las células vivas sin ponerlas en contacto directo con el medio de refrigeración.

## REIVINDICACIONES

1. Una herramienta de crioconservación de células vivas (1) que comprende: un miembro de soporte de las células vivas (2) que tiene una parte de cuerpo (23) formada por un material resistente al frío y una parte de soporte de las células vivas (21) formada por dicho material resistente al frío; y un miembro de acomodación tubular (3), cerrado en un extremo del mismo, que es capaz de acomodar dicho miembro de soporte de las células vivas y que está formado por dicho material resistente al frío; en la que dicha parte de soporte de las células vivas de dicho miembro de soporte de las células vivas tiene una porción de fijación y soporte de las células vivas larga y estrecha (22): dicha porción de fijación y soporte de las células vivas tiene un conductor del calor (25, 26) extendido en una dirección longitudinal de la misma y proyectado desde un extremo distal de la misma; y dicho miembro de acomodación tubular tiene un miembro conductor del calor (32) proporcionado en una porción distal del mismo, **caracterizada** por que el conductor del calor de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas se proyecta desde un extremo distal de la misma, y cuando dicho miembro de soporte de las células vivas es insertado en dicho miembro de acomodación tubular desde un lado distal de dicho conductor del calor del mismo, una porción distal de dicho conductor del calor es capaz de estar en contacto con dicho miembro conductor del calor de dicho miembro de acomodación tubular.
2. Una herramienta de crioconservación de células vivas según la reivindicación 1, en la que dicho miembro conductor del calor (32) está acomodado en el interior de dicha porción distal de dicho miembro de acomodación tubular (3) o fijado a dicha porción distal del mismo.
3. Una herramienta de crioconservación de células vivas según la reivindicación 1 o 2, en la que dicho conductor del calor (25, 26) está dispuesto en un lado o en ambos lados de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22), extendido en una dirección longitudinal de la misma y proyectado desde un extremo distal de la misma.
4. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 3, en la que dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22) tiene la forma de una placa delgada y tiene una pluralidad de porciones cóncavas de acomodación de las células vivas (28a, 28b, 28c, 28d, 28e) formadas en una dirección longitudinal de la misma; y dicho conductor del calor (25, 26) está dispuesto esencialmente en un lado o en ambos lados de una porción de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas. en la que están formadas dichas porciones cóncavas de acomodación de las células vivas, y se proyecta desde un extremo distal de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas.
5. Una herramienta de crioconservación de células vivas según la reivindicación 4, en la que dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22) tiene unas porciones de surco (29a, 29b, 29c, 29d, 29e) que se comunican con dichas porciones cóncavas de acomodación de las células vivas y se extienden en una dirección longitudinal de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas.
6. Una herramienta de crioconservación de células vivas según la reivindicación 5, en la que cada una de dichas porciones de surco (29a, 29b, 29c, 29d, 29e) comunica dichas porciones cóncavas de acomodación de las células vivas adyacentes (28a, 28b, 28c, 28d, 28e) entre sí.



- 5 7. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 4 hasta 6, en la que dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22) tiene una porción proyectada formada en una posición de un lado del extremo distal de la misma con respecto a dichas porciones cóncavas de acomodación de las células vivas.
- 10 8. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 4 hasta 7, en la que dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22) tiene una pluralidad de porciones cóncavas de acomodación de las células vivas (28a, 28b, 28c, 28d, 28e) formadas en una dirección longitudinal de la misma, y dos porciones laterales engrosadas (35, 36) que están formadas en ambos lados de una porción de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas en la que están formadas dichas porciones cóncavas de acomodación de las células vivas, y se extienden en una dirección longitudinal de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas.
- 15 9. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 8, en la que dicho conductor del calor (25, 26) está incluido en el interior de dicha porción de fijación y soporte de las células vivas excepto una porción distal del mismo.
- 20 10. Una herramienta de crioconservación de células vivas según la reivindicación 8, en la que dicho conductor del calor (25, 26) está incluido en el interior de dichas porciones engrosadas excepto una porción distal del mismo.
- 25 11. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 4 hasta 10, en la que dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22) tiene una porción de surco extendida hacia un extremo distal de la misma desde dicha porción cóncava de acomodación de las células vivas posicionada más próxima a dicho extremo distal de la misma que cualquier otra porción cóncava de acomodación de células vivas.
- 30 12. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 4 hasta 11, en la que dicha porción de fijación y soporte de las células vivas (22) tiene una porción de surco extendida hacia un extremo proximal de la misma desde dicha porción cóncava de acomodación de las células vivas posicionada más próxima a dicho extremo proximal que cualquier otra porción cóncava de acomodación de las células vivas.
- 35 13. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 12, en la que dicho material resistente al frío es un material resistente al nitrógeno líquido.
- 40 14. Una herramienta de crioconservación de células vivas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 hasta 13, en la que dicho conductor del calor (25, 26) y dicho miembro conductor del calor (32) están formados por un metal o por una cerámica conductora térmica.
- 45

Fig.1

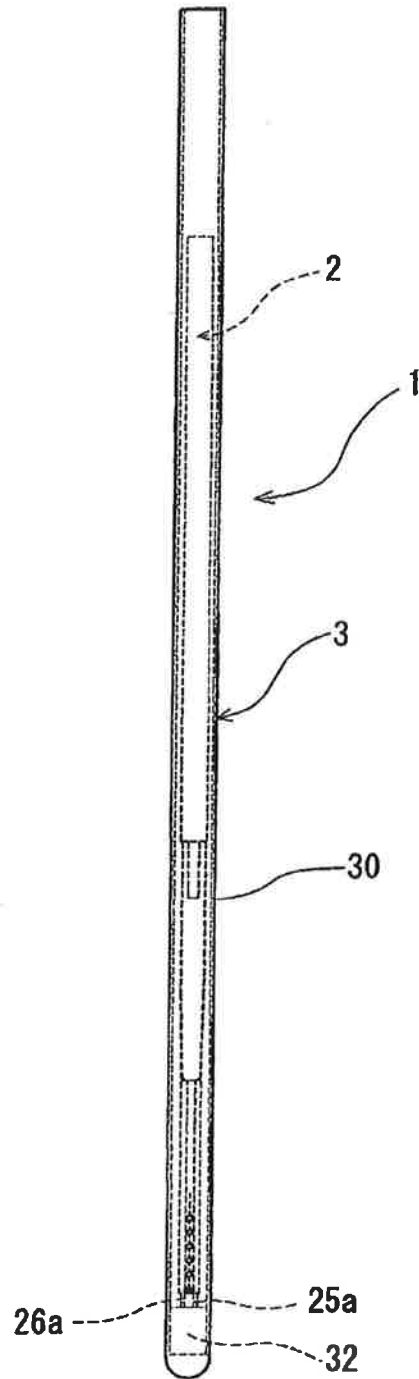


Fig.2

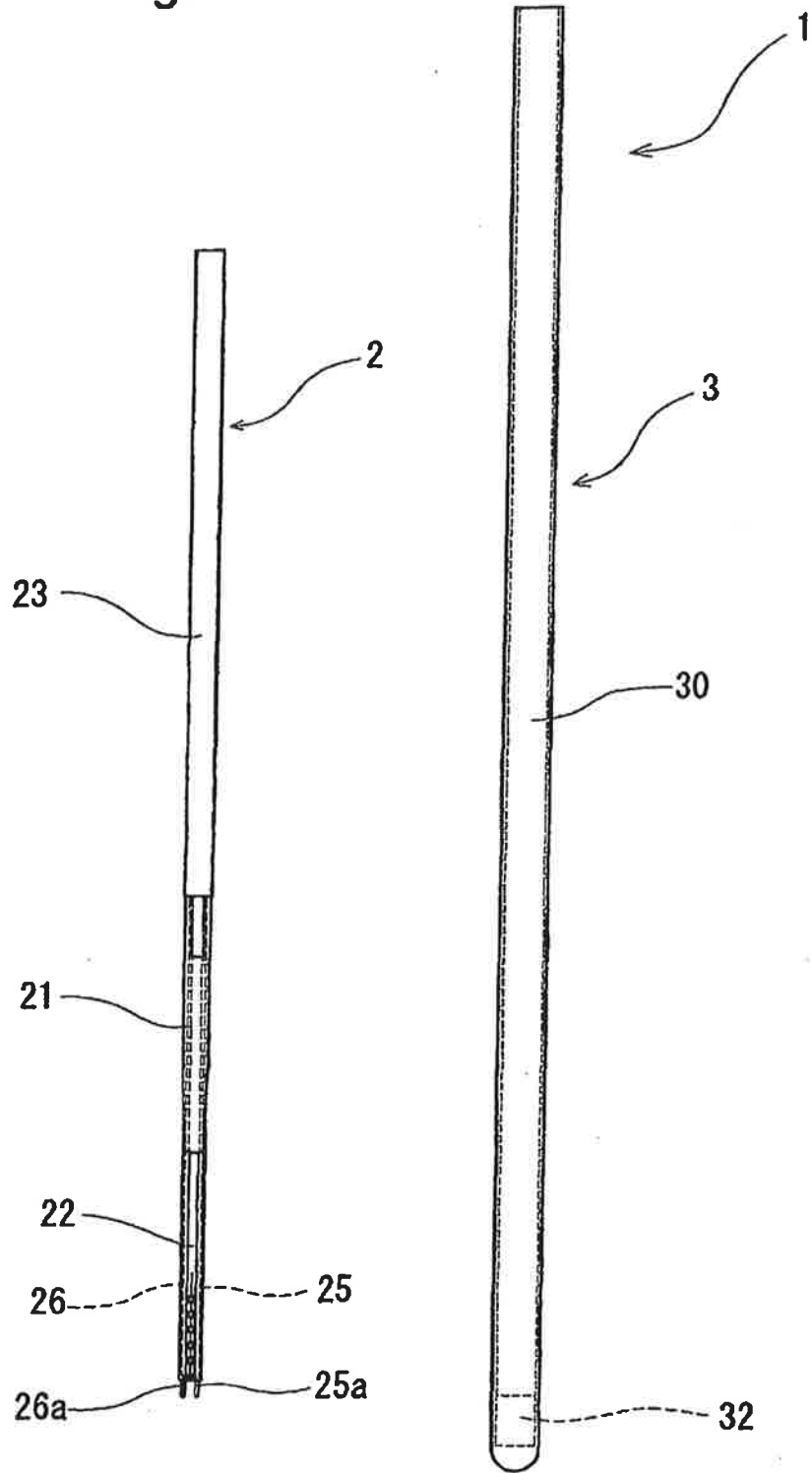


Fig.3

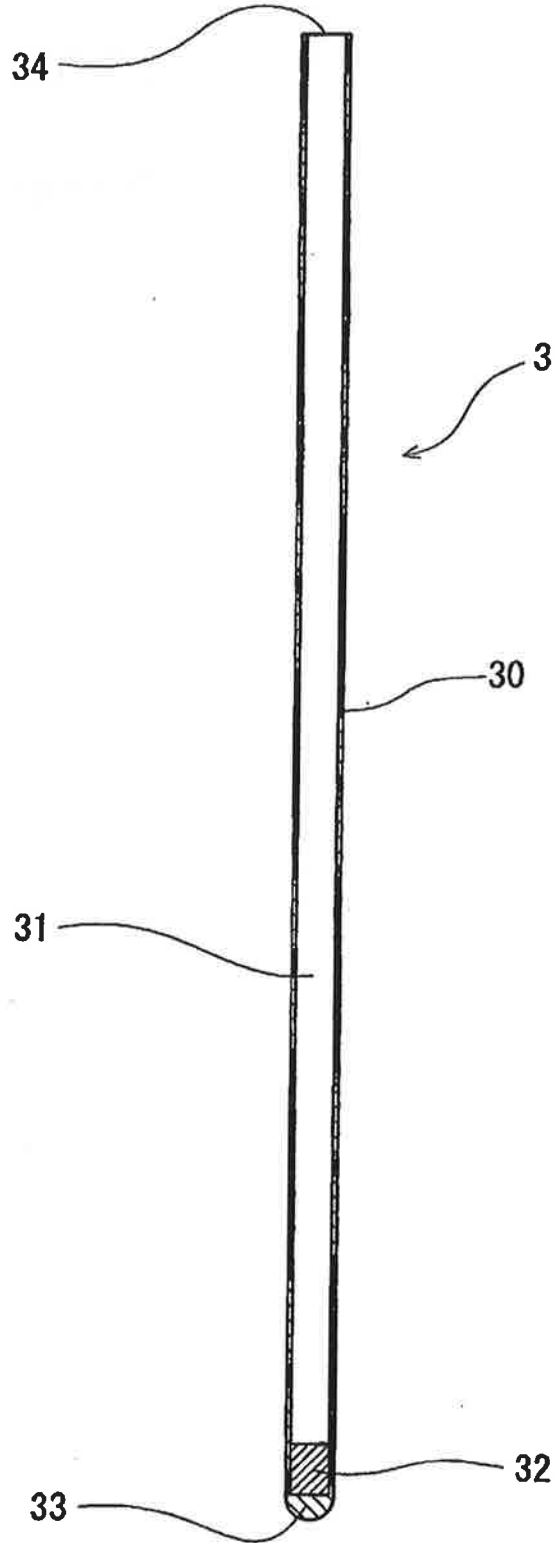


Fig.4

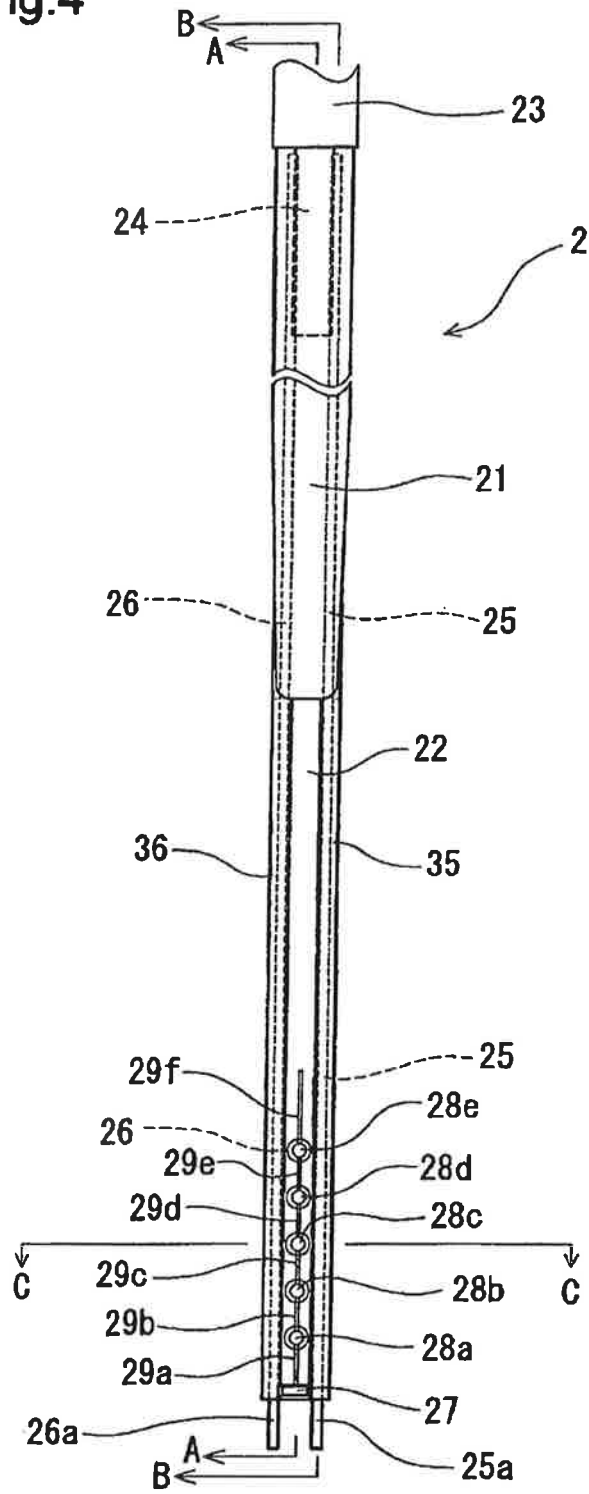


Fig.5

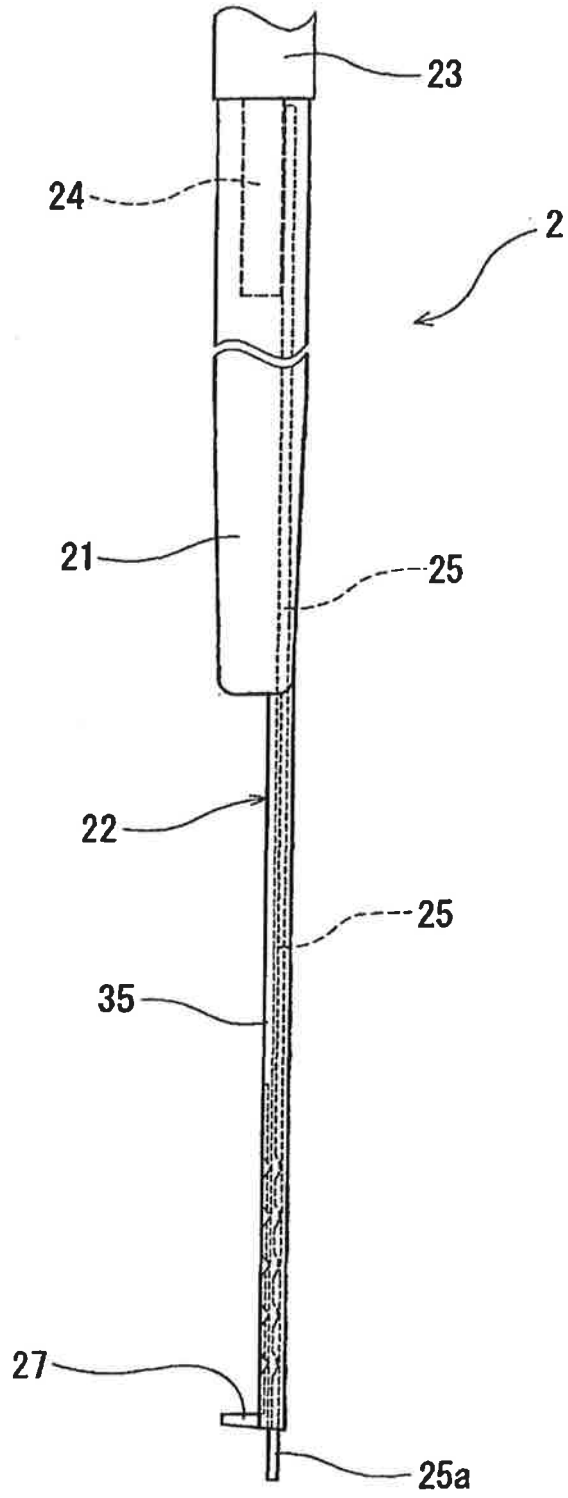


Fig.6

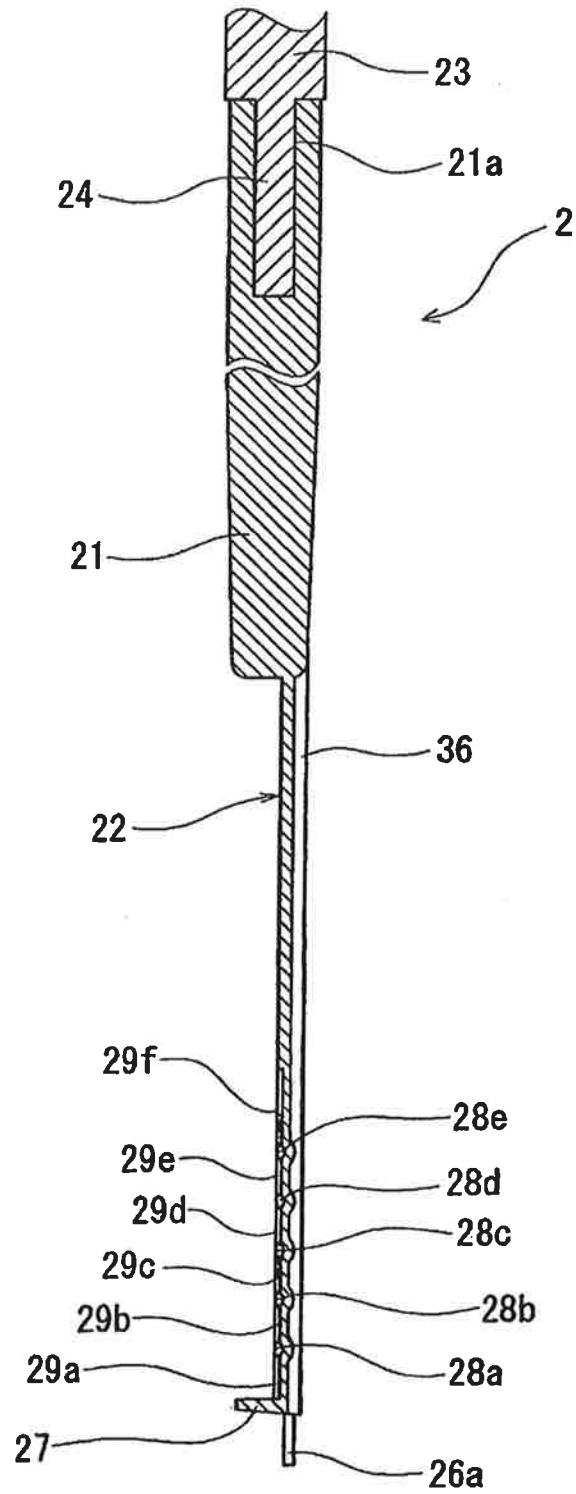


Fig.7

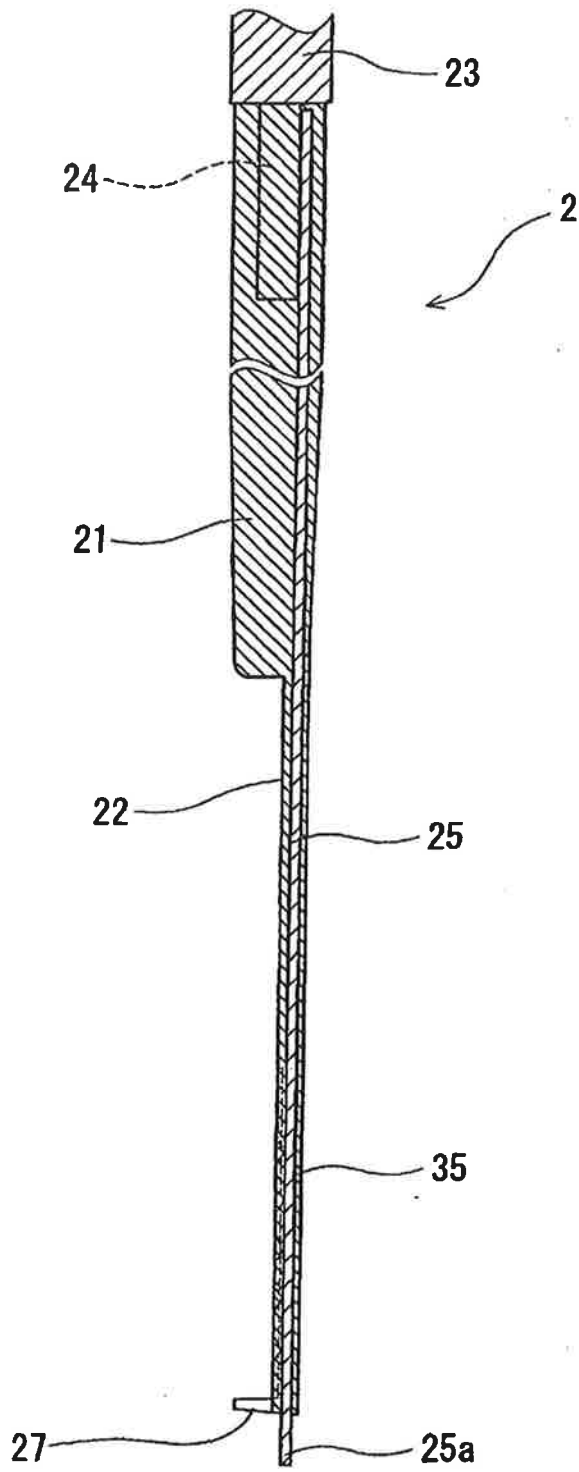




Fig.8

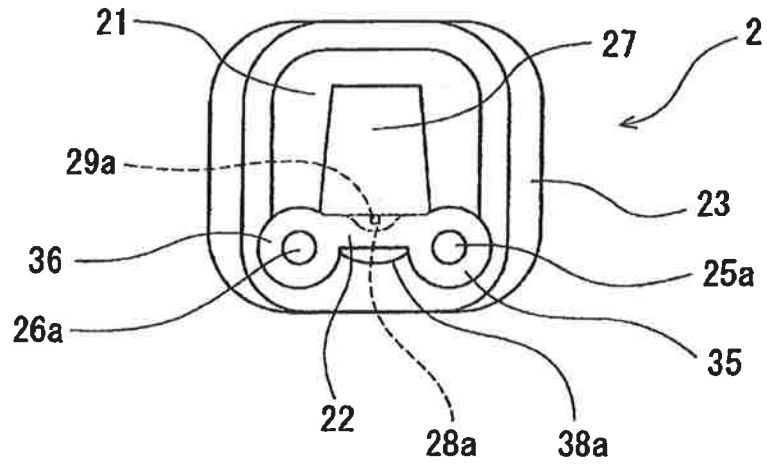


Fig.9

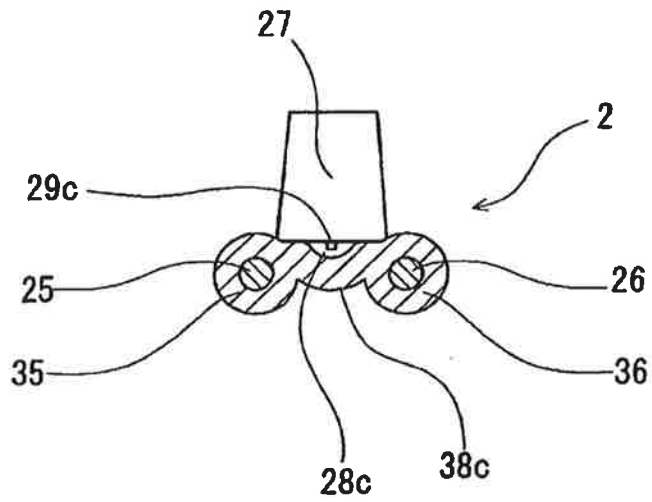


Fig.10

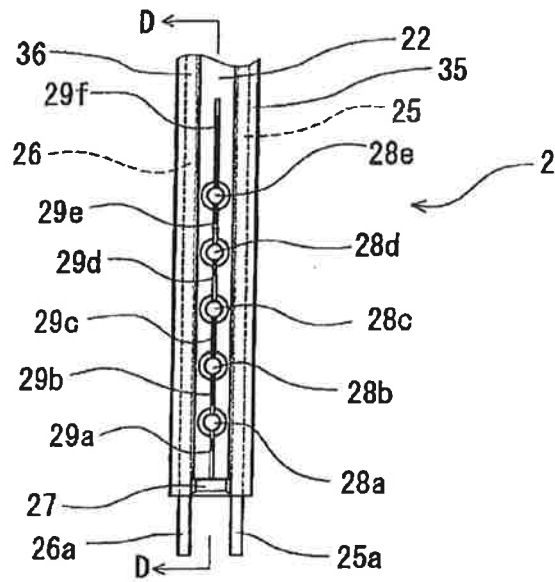


Fig.11

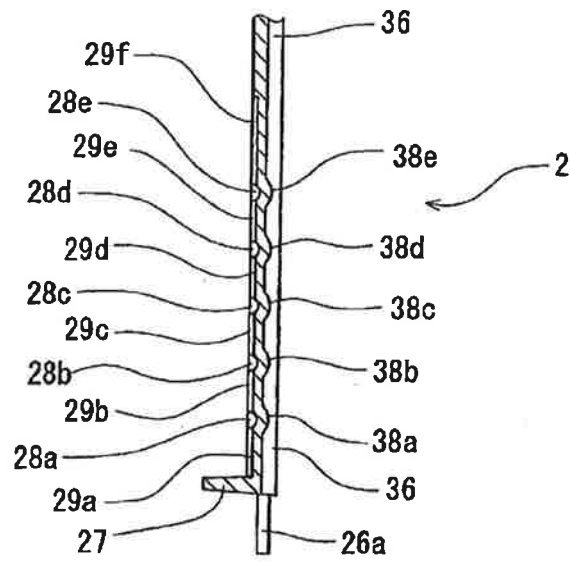


Fig.12

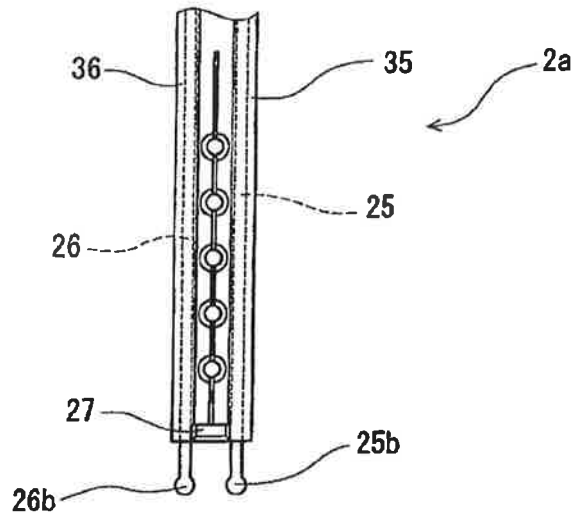


Fig.13

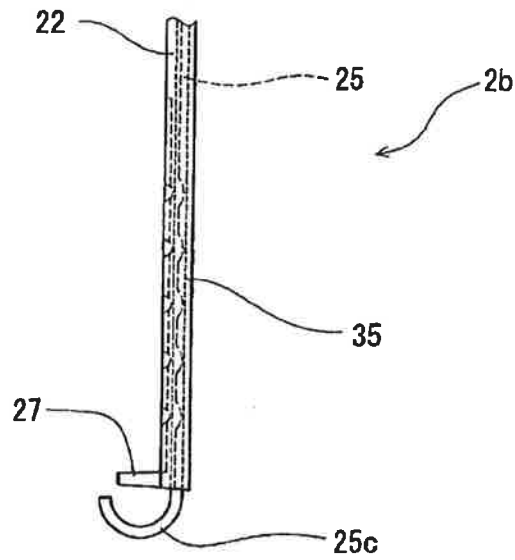


Fig.14

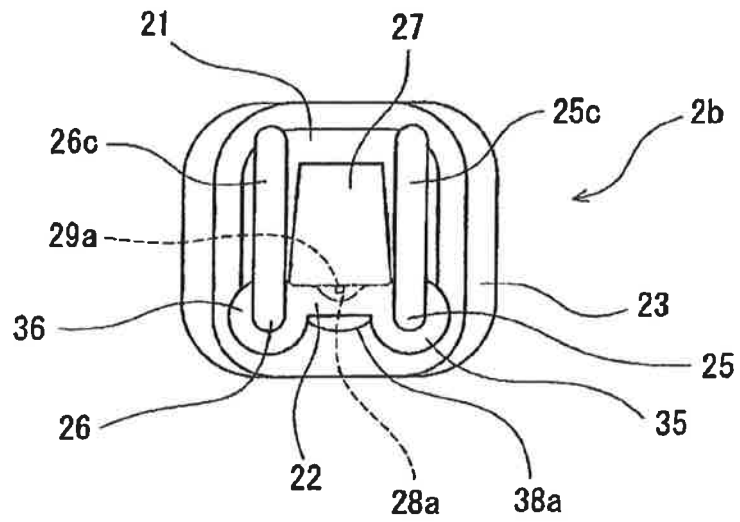


Fig.15

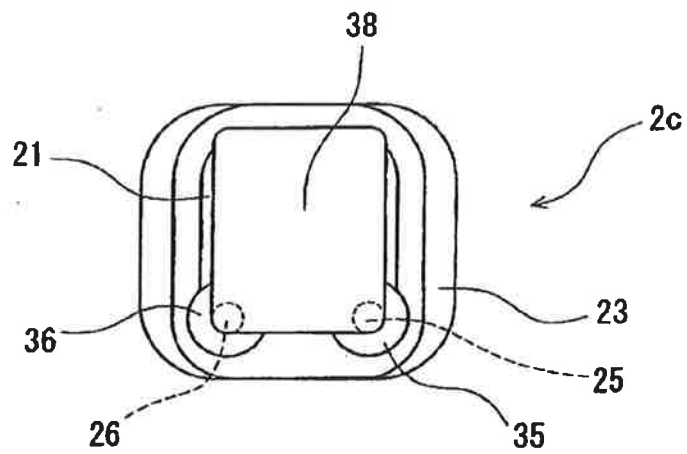


Fig.16

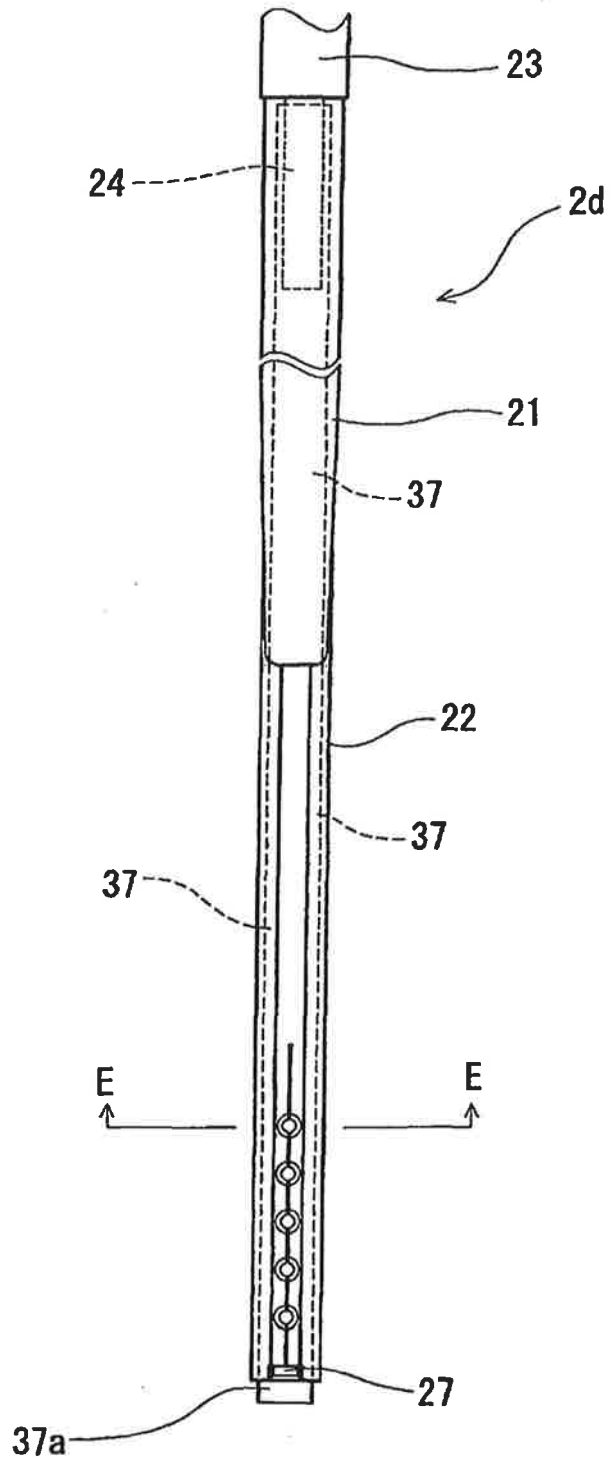


Fig.17

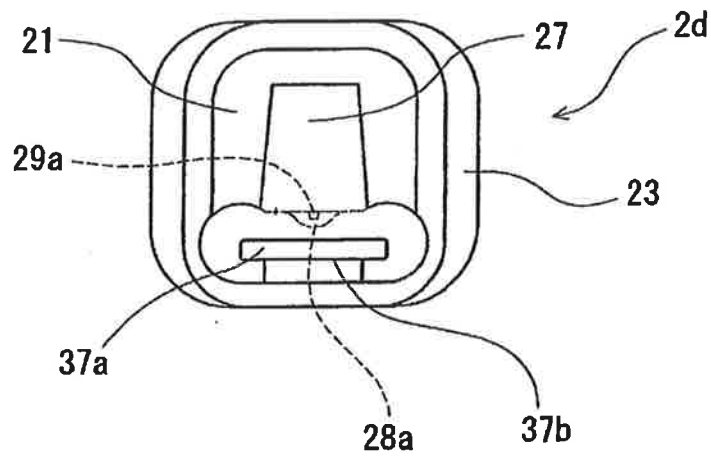


Fig.18

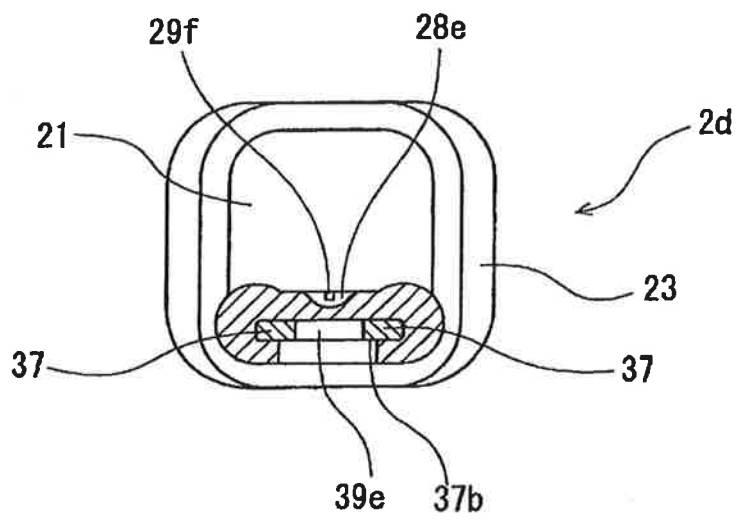


Fig.19

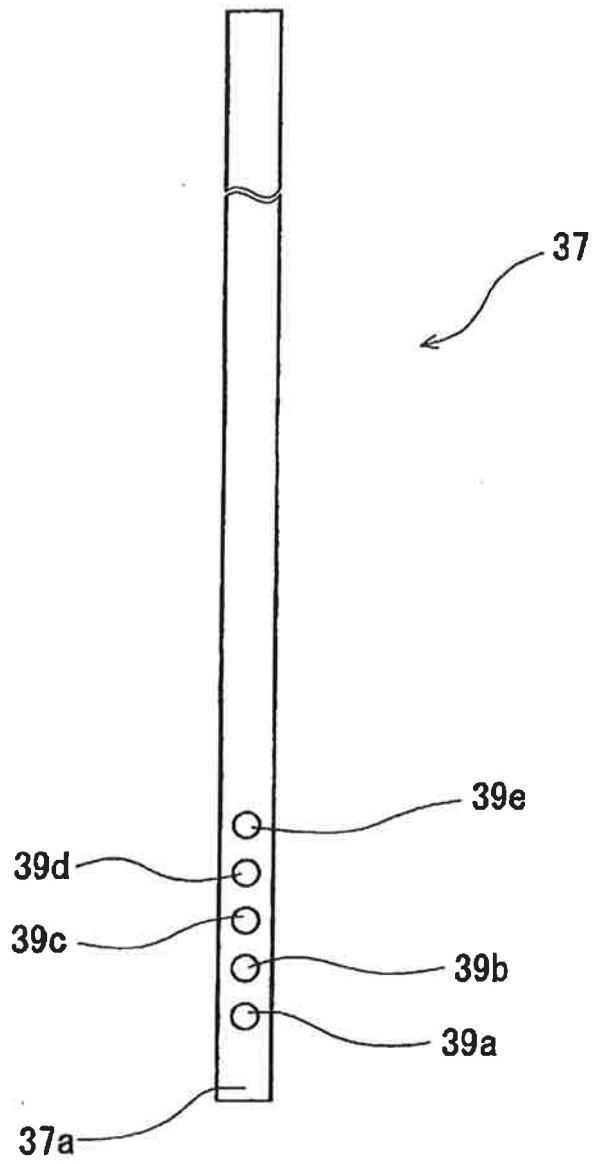


Fig.20

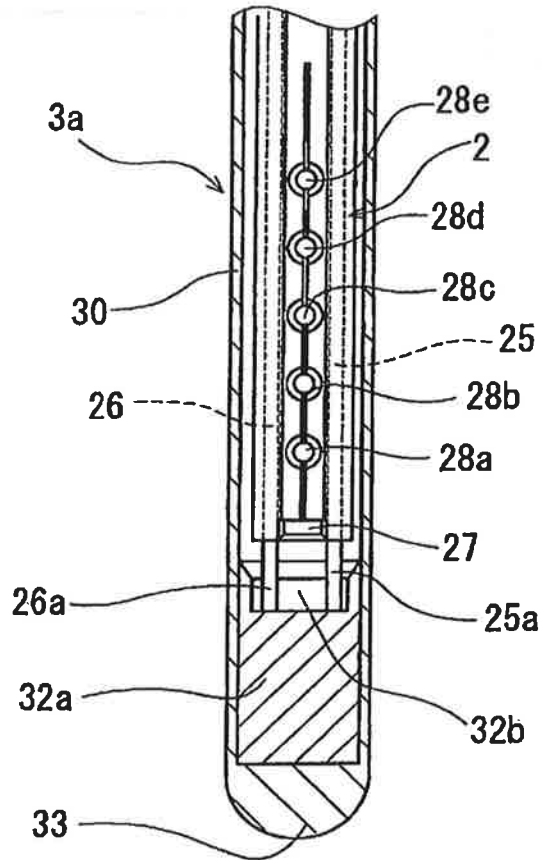




Fig.21

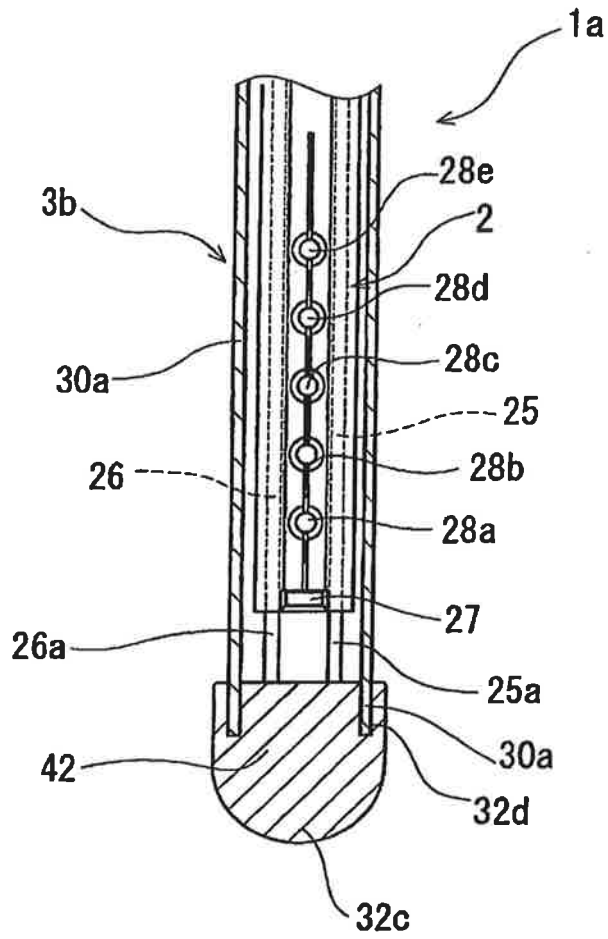


Fig.22

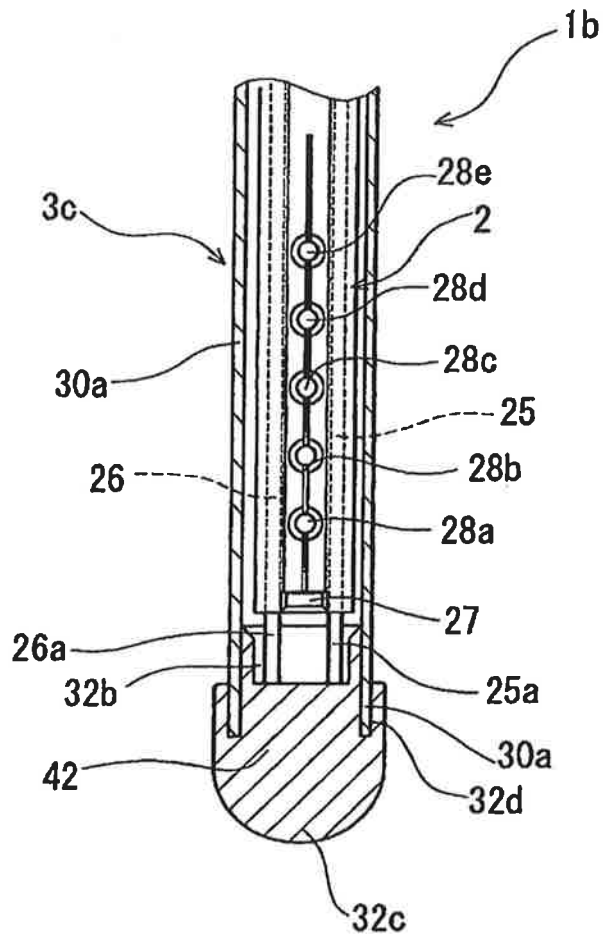


Fig.23

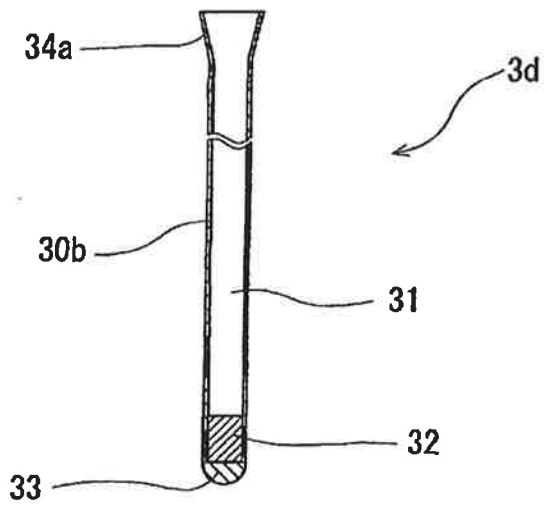


Fig.24

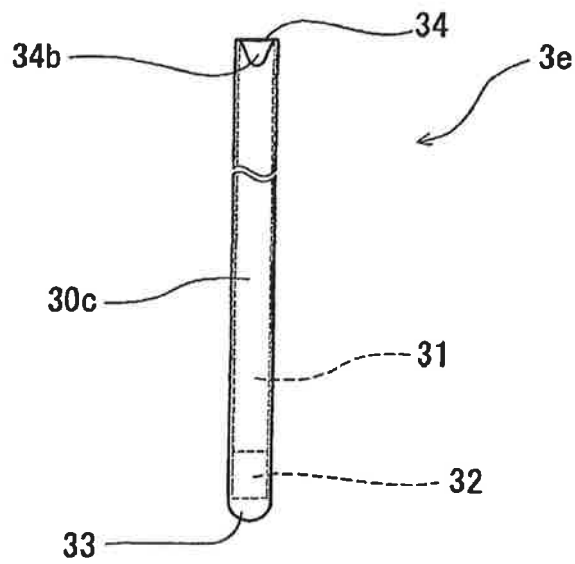


Fig.25

