

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 257**

51 Int. Cl.:

**A01N 1/02** (2006.01)

**G01N 1/42** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2012 PCT/JP2012/075432**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.04.2013 WO13051521**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2012 E 12838870 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 2765183**

54 Título: **Instrumento de crioconservación de células**

30 Prioridad:

**04.10.2011 JP 2011219922**

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 2 599 257 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

Instrumento de crioconservación de células.

### 5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un dispositivo de crioconservación de células usado en la crioconservación de células tales como óvulos de mamíferos, sistemas celulares tales como embriones, espermatozoides y citoblastos tales como citoblastos hematopoyéticos, 10 citoblastos pluripotentes, y similares.

### **Antecedentes de la técnica**

La crioconservación de embriones de mamíferos permite la conservación de recursos 15 hereditarios de sistemas y clases específicos. Es eficaz para conservar animales en un estado al borde de la destrucción. Es útil para tratamiento de infertilidad.

Como procedimiento para la crioconservación de embriones de mamíferos, como se describe en el documento de patente 1 (solicitud de patente japonesa abierta a consulta 20 por el público nº 2000-189155), se propone un procedimiento para la crioconservación de embriones de mamíferos, donde los embriones o los óvulos de mamífero se unen a la superficie interna del recipiente de crioconservación tal como la pajueta congelada. vial congelado o tubo congelado esterilizados, usando un líquido de vitrificación en una cantidad mínima y suficiente para encerrar en el mismo los embriones o los óvulos de 25 mamífero. El recipiente de crioconservación se cierra herméticamente y se enfría rápidamente poniendo el recipiente de crioconservación en contacto con nitrógeno líquido. En el procedimiento de descongelación, el recipiente de crioconservación almacenado en el procedimiento anterior se saca del nitrógeno líquido y se abre un extremo del mismo. Se inyecta un líquido diluido de 33 a 39°C directamente en el 30 recipiente para descongelar los embriones o los óvulos de mamífero y diluir el líquido de vitrificación. Este procedimiento elimina la posibilidad de que los embriones o los óvulos de mamífero se infecten con una enfermedad mediante virus o bacterias y es capaz de almacenarlos con una tasa de supervivencia alta y descongelarlos y diluir el líquido de vitrificación.

35 Pero la operación de unir los sistemas celulares tales como embriones y óvulos a la superficie interna del recipiente de crioconservación tal como la pajueta congelada, el vial congelado o el tubo congelado con el líquido de vitrificación en una cantidad mínima y suficiente para encerrarlos en el mismo, no es fácil.

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

#### **Documentos de patente**

45 Documento de patente 1: publicación de solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público nº 2000-189155.

Documento de patente 2: publicación de solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público nº 2004-329202 (publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2004- 50 0259072.)

Documento de patente 3: publicación de solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público nº 2002-315573 (WO 02-085110 A1).

## Resumen de la invención

5

### Problemas a resolver por la invención

Los autores de la presente invención también propusieron una invención como se describe en un documento de patente 2 (publicación de solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público nº 2004-329202, publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2004-0259072). El dispositivo de crioconservación de sistemas celulares 1 del documento de patente 2 tiene el tubo de crioconservación de sistemas celulares 2 formado de material resistente al nitrógeno líquido y el elemento de protección tubular metálico 3 para proteger el tubo 2. El tubo 2 tiene el componente central 21 y el componente de diámetro pequeño de almacenamiento de sistema celular 22 que tiene un diámetro interno de 0,1 mm a 0,5 mm. El tubo 2 se puede termosellar en la parte delantera del componente de diámetro pequeño y en el componente central 21. El elemento protector tubular 3 tiene el componente tubular 31 que incluye la parte delantera del componente de diámetro pequeño 22 del tubo 2 y el componente semitubular 32 que incluye la parte del componente de diámetro pequeño 22 no incluido en el componente tubular 31 y la parte frontal 21 a del elemento central 21.

El procedimiento de crioconservación de embriones de mamíferos y el dispositivo de crioconservación de sistemas celulares descritos en los documentos de patentes 1 y 2 respectivamente, requieren llevar a cabo una operación de alojamiento de los sistemas celulares dentro del tubo, y por lo tanto gastar un periodo de tiempo de operación.

Los autores de la presente invención propusieron una invención como se describe en el documento de patente 3 (publicación de solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público nº 2002-315573, WO 02-085110 A1). El dispositivo de crioconservación de sistemas celulares 1 del documento de patente 3 incluye el componente central 2 hecho de material a prueba de frío; la tira de fijación y soporte de sistemas celulares 3, hecha de material flexible, transparente y resistente al nitrógeno líquido, que está montada en un extremo del componente central 2 y el elemento cilíndrico 4, hecho del material a prueba de frío y sellado en uno de sus extremos, que permite que la tira de fijación y soporte de sistemas celulares 3 esté montada de forma encerrable y desprendible en el componente central 2. En el dispositivo de crioconservación de sistemas celulares del documento de patente 3, todo lo que tiene que hacer el operario es colocar los sistemas celulares en la tira, y no es necesario llevar a cabo una operación de alojamiento de los sistemas celulares dentro del tubo. Por lo tanto, el dispositivo de crioconservación tiene la ventaja de que se puede llevar a cabo fácilmente una operación de congelación de sistemas celulares.

Pero el dispositivo de crioconservación del documento de patente 3 requiere poner en contacto los sistemas celulares con el medio de enfriamiento (específicamente nitrógeno líquido) para vitrificar los sistemas celulares. Aunque el contacto entre el nitrógeno líquido y los sistemas celulares no afecta de forma adversa a los sistemas celulares, es conveniente no poner los sistemas celulares en contacto directo con el nitrógeno líquido.

El documento WO 2011/070973 A1 describe un dispositivo de crioconservación de células que comprende: un elemento de soporte de células que tiene un componente

central y un componente de soporte de células, ambos formados de metal; y un elemento de alojamiento tubular, que está implícitamente cerrado en uno de sus extremos de modo que la célula no se pone en contacto directo con el nitrógeno líquido, y que es capaz de alojar dicho elemento de soporte de células y está formado también de metal, y donde dicho componente de soporte de células tiene una parte de fijación y soporte de células estrecha larga y formada de una red metálica.

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar un dispositivo de crioconservación de células que permita llevar a cabo fácilmente una operación de colocar las células en el mismo y congelar las células sin someter a las células al contacto directo con el medio de enfriamiento.

### **Medios para resolver los problemas**

Los medios para lograr el objeto descrito anteriormente son como se describen a continuación.

Un dispositivo de crioconservación de células de la presente invención tiene un elemento de soporte de células que tiene un componente central formado de un material resistente al frío y un componente de soporte de células formado del material resistente al frío y un elemento de alojamiento tubular, cerrado en uno de sus extremos, que puede alojar el elemento de soporte de células, y formado del material resistente al frío. El componente de soporte de células del elemento de soporte de células tiene una parte larga y estrecha de fijación y soporte de células. La parte de fijación y soporte de células tiene un termoconductor que se extiende en una dirección longitudinal del mismo. Cuando el elemento de soporte de células se aloja en el elemento de alojamiento tubular, el termoconductor es capaz de poner en contacto una superficie interna del elemento de alojamiento tubular.

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

La figura 1 es una vista frontal de una realización de un dispositivo de crioconservación de células de la presente invención, donde un elemento de soporte de células está alojado en un elemento de alojamiento tubular.

La figura 2 es una vista frontal de una realización de un dispositivo de crioconservación de células de la presente invención, donde un elemento de soporte de células no está alojado en el elemento de alojamiento tubular.

La figura 3 es una vista en corte longitudinal del elemento de alojamiento tubular mostrado en la figura 2.

La figura 4 es una vista frontal aumentada de una parte distal del elemento de soporte de células mostrado en la figura 2.

La figura 5 es una vista del lado derecho del elemento de soporte de células mostrado en la figura 4.

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

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

La figura 8 es una vista inferior aumentada del elemento de soporte de células mostrado en la figura 4.

5 La figura 9 es una vista explicativa para explicar una sección obtenida cortando el elemento de soporte de células a lo largo de la línea C-C de la figura 4.

La figura 10 es una vista aumentada de un elemento de soporte de células para usar en un dispositivo de crioconservación de células de otra realización de la presente invención.

10 La figura 11 es una vista explicativa para explicar una construcción en corte del elemento de soporte de células mostrado en la figura 10.

La figura 12 es una vista en corte tomada a lo largo de la línea D-D de la figura 1.

15 La figura 13 es una vista frontal aumentada de una parte distal de un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

20 La figura 14 es una vista explicativa para explicar una construcción en corte de un elemento de alojamiento tubular del dispositivo de crioconservación de células mostrado en la figura 13.

La figura 15 es una vista frontal aumentada de una parte distal de un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

25 La figura 16 es una vista explicativa para explicar una construcción en corte de un elemento de alojamiento tubular del dispositivo de crioconservación de células mostrado en la figura 15.

30 La figura 17 es una vista frontal aumentada de una parte distal de un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

35 La figura 18 es una vista explicativa para explicar una construcción en corte de un elemento de alojamiento tubular del dispositivo de crioconservación de células mostrado en la figura 17.

La figura 19 es una vista frontal aumentada de una parte distal de un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

40 La figura 20 es una vista explicativa para explicar una construcción en corte de un elemento de alojamiento tubular del dispositivo de crioconservación de células mostrado en la figura 19.

45 La figura 21 es una vista frontal aumentada parcialmente abreviada de un elemento de alojamiento tubular para usar para un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

50 La figura 22 es una vista aumentada del corte transversal de un dispositivo de crioconservación de sistemas celulares en donde se usa el elemento de alojamiento tubular mostrado en la figura 21.

La figura 23 es una vista frontal parcialmente abreviada de un elemento de alojamiento tubular para usar para un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

5 La figura 24 es una vista frontal parcialmente abreviada de un elemento de alojamiento tubular para usar para un dispositivo de crioconservación de células de otra realización más de la presente invención.

10 La figura 25 es una vista frontal de un elemento de tapa para usar para el dispositivo de crioconservación de células de la presente invención.

La figura 26 es una vista en corte longitudinal del elemento de tapa mostrado en la figura 25.

15 **Modo de llevar a cabo la invención**

El dispositivo de crioconservación de células de la presente invención se describirá a continuación usando realizaciones mostradas en los dibujos.

20 El dispositivo de crioconservación de células 1 de la presente invención tiene un elemento de soporte de células 2 que tiene un componente central 23 formado de un material resistente al frío y un componente de soporte de células 21 formado del material resistente al frío y un elemento de alojamiento tubular 3, cerrado por uno de sus extremos, que puede alojar el elemento de soporte de células 2 y formado del material  
25 resistente al frío. El componente de soporte de células 21 del elemento de soporte de células 2 tiene una parte larga y estrecha de fijación y soporte de células (parte de fijación y soporte de sistemas celulares) 22. La parte de fijación y soporte de células 22 tiene termoconductores 25, 26, que se extienden en una dirección longitudinal del mismo. Cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado en el elemento de alojamiento  
30 tubular 3, los termoconductores 25, 26 pueden ponerse en contacto con la superficie interior del elemento de alojamiento tubular 3.

El dispositivo de crioconservación de células 1 de la presente invención está compuesto del elemento de soporte de células 2 y el elemento de alojamiento tubular 3 para el  
35 alojamiento del elemento de soporte de células 2 en el mismo. En esta realización, el dispositivo de crioconservación de células 1 es un dispositivo de crioconservación de sistemas celulares, y el elemento de soporte de células 2 es un elemento de soporte de sistemas celulares. El dispositivo de crioconservación de células 1 de la presente invención se puede usar para congelar y almacenar células, que incluyen sistemas  
40 celulares tales como embriones, óvulos, espermatozoides y citoblastos tales como citoblastos hematopoyéticos, citoblastos pluripotentes y similares, y en particular las células vivas descritas anteriormente. El dispositivo de crioconservación de células 1 de esta realización tiene un elemento de tapa 4 que se monta en una parte abierta del elemento de alojamiento tubular 3.

45 Como se muestra en las figuras 1, 2, 4 a 9, el elemento de soporte de células (más específicamente, elemento de soporte de células vivas, elemento de soporte de sistemas celulares) 2 tiene el componente central 23 formado del material resistente al frío y el componente de soporte de células (más específicamente, componente de soporte de  
50 células vivas, componente de soporte de sistemas celulares) 21 formado del material resistente al frío. En el elemento de soporte de células de esta realización, como se

muestra en las figura 4 a 6 (en particular la figura 6), hay formada una parte hueca 21a que se extiende una longitud predeterminada hacia un lado distal del componente de soporte de células 21, en una parte proximal del mismo. Una parte proyectada 24, que se extiende una longitud predeterminada, que puede penetrar en la parte hueca 21a está formada en una parte distal del componente central 23. La parte proyectada 24 del componente central 23 está insertada en la parte hueca 21a del componente de soporte de células 21 para fijar entre sí ambas partes 24 y 21a.

El componente de soporte de células 21 tiene un corte transversal aproximadamente rectangular. Como se ha descrito antes, el componente de soporte de células 21 tiene la parte proximal conectada con el componente central 23 y la parte de fijación y soporte de células 22 proyectada desde la parte proximal del mismo hacia el lado distal del mismo. En el elemento de soporte de células de esta realización, la parte de fijación y soporte de células 22 tiene forma de una correa larga y estrecha. La superficie de la parte de fijación y soporte de células forma una superficie de fijación y soporte de células (superficie de fijación y soporte de sistemas celulares).

Como se muestra en las figuras 4 a 9, en el elemento de soporte de células 2 de esta realización, hay formada una parte cóncava de alojamiento de células (específicamente, parte cóncava de alojamiento de células vivas, parte cóncava de alojamiento de sistemas celulares) en la superficie de la parte de fijación y soporte de células 22. En esta realización, hay formadas una pluralidad de partes cóncavas de alojamiento de células (partes cóncavas de alojamiento de células vivas, partes cóncavas de alojamiento de sistemas celulares) 28a, 28b, 28c, 28d y 28e en la superficie de la parte de fijación y soporte de células 22 en su dirección longitudinal. Como se muestra en las figuras 6 y 9, cada una de las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e, está formada como una parte cóncava aproximadamente semiesférica. Las partes cóncavas 28a, 28b, 28c, 28d y 28e están dispuestas linealmente sobre la parte de fijación y soporte de células 22 desde una posición separada un intervalo predeterminado del extremo distal del elemento de soporte de células 2 hacia el lado proximal del mismo. Las partes cóncavas están separadas a intervalos casi regulares. Aunque hay formadas una pluralidad de partes cóncavas en esta realización, está permitida la formación de una parte cóncava. En el caso donde haya formada una pluralidad de partes cóncavas, se prefiere la formación de dos a ocho partes cóncavas. Es preferible ajustar la profundidad de cada parte cóncava de 0,05 a 0,5 mm y el diámetro de una apertura que se va a formar en la superficie superior de la misma de 0,1 a 0,5 mm. Es preferible ajustar el intervalo de separación entre partes cóncavas adyacentes de 1 a 3 mm. En el elemento de soporte de células de esta realización, hay formadas partes protuberantes 38a, 38b, 38c, 38d y 38e en la parte posterior de una parte de la parte de fijación y soporte de células 22, donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e. Por lo tanto, la parte de la parte de fijación y soporte de células donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células no es fina pero tiene una resistencia suficiente. La superficie del dispositivo de crioconservación de células 1 puede estar formado como una superficie plana sin formación de las partes cóncavas de alojamiento de células para usar la superficie plana formada del mismo como la parte de fijación y soporte. Es preferible ajustar la anchura de la parte de fijación y soporte de células 22 de 0,4 a 1,0 mm, su longitud de 5 a 30 mm, y su grosor entero y su grosor en las partes cóncavas de 0,08 a 1,0 mm. Es preferible ajustar la longitud de la parte proximal gruesa de la parte de soporte de células 21 de 5 a 30 mm, y la longitud del componente central de 20 a 100 mm.

Como se muestra en las figuras 4 a 9, en el elemento de soporte de células 2 de la presente invención, la parte de fijación y soporte de células 22 tiene los termoconductores 25, 26, que se extienden en la dirección longitudinal de la misma. En el elemento de soporte de células 2 de esta realización, uno de los termoconductores 25, 26 está formado en un lado de la parte de fijación y soporte de células 22, mientras que el otro termoconductor está formado en el otro lado de la misma. El termoconductor puede estar formado solo en un lado de la parte de fijación y soporte de células 22. Los termoconductores 25, 26, están dispuestos esencialmente en un lado o a ambos lados (ambos lados en esta realización) de la parte de fijación y soporte de células 22 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e. Además, las superficies de los extremos distales de los termoconductores 25, 26 están expuestas al exterior en la superficie del extremo distal de la parte de fijación y soporte de células 22. Por lo tanto, hay colocada una pluralidad de partes cóncavas de alojamiento de sistemas celulares 28a, 28b, 28c, 28d y 28e entre los dos termoconductores 25, 26. En el elemento de soporte de células de esta realización, un componente de la superficie lateral que se extiende axialmente de cada uno de los termoconductores 25, 26, está expuesto al exterior y por lo tanto se puede poner en contacto con la superficie interna del elemento de alojamiento tubular 3, en concreto, la superficie interna de un cuerpo tubular 30 que tiene una parte de alojamiento del elemento de soporte de células 31 formado dentro del mismo, como se muestra en la figura 12. De este modo se lleva a cabo satisfactoriamente la termoconducción a través del elemento de alojamiento tubular 3. En el elemento de soporte de células de esta realización, un componente de cada uno de los termoconductores 25, 26, está expuesto al exterior, mientras que el otro componente (componente no expuesto) de los mismos está insertado en la parte de fijación y soporte de células 22.

En esta realización, los termoconductores 25, 26, están formados por un elemento lineal o un elemento en forma de barra estrecha. Están expuestas la superficie distal del extremo de cada termoconductor y un elemento lateral del mismo.

Como se muestra en las figuras 8 y 9, el elemento de soporte de células 2 de esta realización tiene dos partes protuberantes laterales 35, 36, una de las cuales está formada en un lado de la parte de la parte de fijación y soporte de células 22 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e, y la otra de las cuales está formada en el otro lado de la parte descrita antes. Las dos partes protuberantes laterales se extienden en la dirección longitudinal de la parte de fijación y soporte de células 22. Debido a que el elemento de soporte de células 2 tiene la parte protuberante a ambos lados de las partes cóncavas de alojamiento de células, se puede restringir con seguridad el movimiento de las células a los lados de las partes cóncavas de alojamiento de células cuando las células se colocan sobre estas y, además, prevenir que las células se separen de estas. Por lo tanto, en esta realización, la parte en forma de correa conecta entre sí las dos partes protuberantes 35, 36. Las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e están formadas en la parte en forma de correa.

Como en el elemento de soporte de células 2a mostrado en las figuras 10 y 11, la parte protuberante entera puede estar formada por los termoconductores 25a, 26a. En esta realización, uno de los termoconductores 25a, 26a está formado en un lado de la parte de la parte de fijación y soporte de células 22 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e, y el otro de los termoconductores está formado en el otro lado de la parte descrita antes. Los termoconductores 25a, 26a se



extienden en la dirección longitudinal de la parte de fijación y soporte de células 22 para formar las dos partes protuberantes laterales. Los termoconductores 25a, 26a están en su mayor parte expuestos al exterior.

5 Como se muestra en las figuras 4 a 9, en el elemento de soporte de células 2 de esta realización, la parte de fijación y soporte de células 22 tiene una parte proyectada 27 formada en una posición de la misma más cercana al extremo distal de la misma que las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e. La parte proyectada 27 se proyecta desde el extremo distal de la parte de fijación y soporte de células 22 hacia el lado de la superficie superior (el lado donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células) de la misma. Como se muestra en la figura 6, la superficie del extremo distal de la parte proyectada 27 está formada como una superficie inclinada que se inclina un poco hacia el lado proximal de la parte de fijación y soporte de células. Mediante la formación de la parte proyectada 27 que tiene la construcción descrita antes, se puede prevenir que las células caigan del elemento de soporte de células 2, en otras palabras, de la parte de fijación y soporte de células 22, si las células se separan de la parte de alojamiento de células y se mueven hacia el lado distal de la parte de fijación y soporte de células. En el elemento de soporte de células 2 de esta realización, como se ha descrito antes, en cooperación entre la parte proyectada 27 y las partes protuberantes laterales 35, 36, una de las cuales está formada un lado de la parte de fijación y soporte de células 22 y la otra de las cuales está formada en el otro lado de la misma, se previene que las células caigan de la parte de fijación y soporte de células.

Como se muestra en las figuras 4 a 9, en el elemento de soporte de células 2 de esta realización, la parte de fijación y soporte de células 22 tiene partes ranuradas 29a, 29b, 29c, 29d, 29e y 29f que se comunican con las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e, y se extienden en la dirección longitudinal de la parte de fijación y soporte de células 22. En el elemento de soporte de células de esta realización, cada una de las partes ranuradas 29a, 29b, 29c, 29d, 29e y 29f comunica entre sí las partes cóncavas de alojamiento de células adyacentes. Más específicamente, la parte ranurada 29b comunica entre sí las partes cóncavas 28a y 28b. La parte ranurada 29c comunica entre sí las partes cóncavas 28b y 28c. La parte ranurada 29d comunica entre sí las partes cóncavas 28c y 28d. La parte ranurada 29e comunica entre si las partes cóncavas 28d y 28e.

Como se muestra en la figura 6, en esta realización, la parte de fijación y soporte de células 22 tiene la parte ranurada 29a que se extiende hacia el extremo distal de la misma desde la parte cóncava de alojamiento de células 28a situada más cerca del extremo distal de la misma que cualquier otra de las partes cóncavas de alojamiento de células. El extremo distal de la parte ranurada 29a llega a la parte proyectada descrita antes o se extiende hasta la proximidad de la misma. En el elemento de soporte de células de esta realización, la parte de fijación y soporte de células 22 tiene la parte ranurada 29f que se extiende hacia el extremo proximal de la misma desde la parte cóncava de alojamiento de células 28e situada más cerca del extremo proximal de la misma que cualquier otra de las partes cóncavas de alojamiento de células.

Mediante la formación de las partes ranuradas, que tienen la construcción descrita antes, que comunican con las partes cóncavas de alojamiento de células, una cantidad en exceso de un líquido de crioconservación alojado en las partes cóncavas de alojamiento de células junto con las células, fluye a las partes ranuradas. De esta forma se puede prevenir que las células estén recubiertas con una cantidad en exceso del líquido de

crioconservación y congelen rápidamente las células. Además, debido a que las partes cóncavas de alojamiento de células adyacentes se comunican entre sí por la parte ranurada, el líquido de crioconservación es capaz de moverse fácilmente desde las partes cóncavas de alojamiento de células a las partes ranuradas. Además, permanece una cantidad igual de líquido de crioconservación en una pluralidad de las partes cóncavas de alojamiento de células. Es preferible fijar la anchura de la parte ranurada de 100  $\mu\text{m}$  a 500  $\mu\text{m}$  y la profundidad de la misma de 50  $\mu\text{m}$  a 500  $\mu\text{m}$ .

El termoconductor no está limitado al elemento en forma de barra estrecha o lineal descrito antes, sino que puede consistir en un elemento en forma de placa. Pueden estar dispuestos dos elementos en forma de placa en la parte de fijación y soporte de células como los termoconductores 25, 26.

El componente central 23 y el componente de soporte de células 21 están formados de material resistente al frío. Se prefiere que el componente central 23 y el componente de soporte de células 21 estén formados de un material resistente al nitrógeno. En otras palabras, es preferible que estén formados de un material que no sea quebradizo cuando el material se pone en contacto con nitrógeno líquido. Es preferible que el componente de soporte de células 21 sea transparente o semitransparente y además flexible en cierta medida. Como materiales que forman el componente central 23 y el componente de soporte de células 21, se usan preferiblemente resinas sintéticas tales como 3-poli(fluoruro de etileno), polietileno de baja densidad, polietileno de densidad media, polietileno de alta densidad, policarbonato, nailon, polisulfona, poliéster, poliestireno, poliiimida, polietileno de peso molecular ultraalto, copolímero de etileno-acetato de vinilo; y laminados de películas formados de estas resinas sintéticas.

Los termoconductores 25, 26 están formados de un material termoconductor. Como material termoconductor, se pueden usar preferiblemente metales tales como plata, cobre, aluminio y acero inoxidable; materiales cerámicos térmicamente conductores tales como nitruro de aluminio, nitruro de silicio y alúmina; metal en polvo, materiales cerámicos térmicamente conductores en polvo tales como nitruro de aluminio; y una resina térmicamente conductora que contiene una sustancia altamente conductora térmicamente tal como fibra de carbono.

Como se muestra en las figuras 1 a 3, el elemento da alojamiento tubular 3 es un cuerpo tubular, uno de cuyos extremos está cerrado, que puede alojar el elemento de soporte de células 2 y está hecho del material resistente al frío. El elemento de alojamiento tubular 3 es un cuerpo tubular 30 que tiene una parte cerrada en el extremo distal 33, una parte abierta en el extremo proximal 34, y una parte de alojamiento del elemento de soporte de células 31 formado dentro del mismo.

Es preferible que el elemento de alojamiento tubular de esta realización tenga un elemento termoconductor. En un dispositivo de crioconservación de células 1a de una realización mostrada en las figuras 13 y 14, un elemento de alojamiento tubular 3a tiene un elemento termoconductor 32 proporcionado en un extremo distal de un cuerpo tubular 30a. El elemento de alojamiento tubular 3a tiene el elemento termoconductor 32 fijado en el extremo distal abierto del cuerpo tubular 30a. La superficie interior del elemento termoconductor 32 está expuesta al interior del elemento de alojamiento tubular 3a y puede ponerse en contacto con la superficie del extremo distal expuesta de cada uno de los termoconductores 25, 26 del elemento de soporte de células 2. El elemento termoconductor 32 tiene una parte tubular corta 32a que forma una parte cóncava. La

superficie exterior de la parte tubular 32a disminuye progresivamente. Por lo tanto el diámetro de la parte tubular 32a se hace gradualmente menor hacia su extremo proximal. En correspondencia con la configuración de disminución progresiva de la parte tubular 32a, el diámetro interior de una parte abierta 55 del elemento de alojamiento tubular 3a aumenta hacia su extremo distal abierto. La parte tubular 32a del elemento termoconductor 32 está insertada en la parte abierta 55 del elemento de alojamiento tubular 3a para fijar la parte tubular 32a al mismo. En el elemento de alojamiento tubular de esta realización, la superficie exterior del elemento termoconductor 32 montado en el elemento de alojamiento tubular 3a está expuesta al exterior. El elemento termoconductor 32 puede estar alojado dentro del elemento de alojamiento tubular 3a.

Como elemento de alojamiento tubular, como un elemento de alojamiento tubular 3f mostrado en la figura 23, una parte abierta del extremo proximal de un cuerpo tubular 30f del mismo puede estar formada como una parte abierta en el extremo proximal de mayor diámetro 34a cuyo diámetro aumenta hacia su extremo proximal. Como elemento de alojamiento tubular 3g mostrado en la figura 24, un cuerpo tubular 30g del mismo puede tener una parte cortada 34b formada en su parte abierta en el extremo proximal 34. Mediante la formación de la parte de diámetro mayor o la parte cortada en el elemento de alojamiento tubular, el elemento de soporte de células 2 se puede insertar fácilmente dentro del mismo.

El cuerpo tubular 30 está formado de material resistente al frío. Es preferible que el cuerpo tubular 30 esté formado de un material resistente al nitrógeno líquido. En otras palabras, es preferible que el cuerpo tubular esté formado de un material que no sea quebradizo cuando el material se pone en contacto con nitrógeno líquido. Es preferible que el cuerpo tubular 30 sea transparente de modo que el interior se puede reconocer visualmente o semitransparente. Como materiales que forman el cuerpo tubular 30, se usan preferiblemente resinas sintéticas tales como 3-poli(fluoruro de etileno), polietileno de baja densidad, polietileno de densidad media, polietileno de alta densidad, policarbonato, nailon, polisulfona, poliéster, poliestireno, poliimida, polietileno de peso molecular ultraalto, copolímero de etileno-acetato de vinilo; y laminados de películas formados de estas resinas sintéticas.

Es preferible ajustar la longitud de la parte de alojamiento del elemento de soporte de células 31 del elemento de alojamiento tubular 3 más largo que la longitud total del elemento de soporte de células 2 en de 10 a 50 mm. Es preferible ajustar la longitud total del elemento de alojamiento tubular (cuerpo tubular 30) de 3 a 50 a 150 mm y el diámetro interior del mismo de 2 a 5 mm.

El elemento termoconductor 32 está formado de un material termoconductor. Como material termoconductor, se pueden usar preferiblemente metales tales como plata, cobre, aluminio y acero inoxidable; materiales cerámicos térmicamente conductores tales como nitruro de aluminio, nitruro de silicio y alúmina; metal en polvo; materiales cerámicos térmicamente conductores en polvo tales como nitruro de aluminio; y una resina térmicamente conductora que contiene una sustancia altamente conductora térmicamente tal como fibra de carbono.

El modo de montar el elemento termoconductor en el elemento de alojamiento tubular 3 no está limitado al descrito anteriormente, pero como un dispositivo de crioconservación de células 1b de una realización mostrada en las figuras 15 y 16, el elemento termoconductor 32 tiene una parte tubular 32b que está fijada (específicamente, cierra el

extremo distal abierto) a un extremo distal de un cuerpo tubular 30b de un elemento de alojamiento tubular 3b y se extiende una longitud predeterminada dentro del cuerpo tubular 30b. Como se muestra en la figura 16, la longitud de la parte tubular 32b se ajusta de modo que la parte tubular 32b puede encerrar la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células, cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado dentro del elemento de alojamiento tubular 3b. En esta realización, las superficies laterales expuestas de los termoconductores 25, 26, pueden ponerse en contacto con la superficie interior de la parte tubular 32b del elemento termoconductor 32.

A modo de elemento termoconductor, como un dispositivo de crioconservación de células 1c de una realización mostrada en las figuras 17 y 18, el elemento termoconductor puede ser uno en forma de anillo fijado a la superficie lateral de un elemento de alojamiento tubular 3c. En esta realización, como se muestra en las figuras 17 y 18, cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado en el elemento de alojamiento tubular 3c, los elementos termoconductores en forma de anillo 37, 38 están fijados a una parte de un cuerpo tubular 30c, que encierra parcial o totalmente la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células. Los elementos termoconductores en forma de anillo 37, 38 están situados en posiciones donde los elementos termoconductores 37, 38 no previenen el reconocimiento visual de las partes cóncavas de alojamiento de células desde el exterior. Más específicamente, cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado dentro del elemento de alojamiento tubular 3c, el elemento termoconductor 37 dispuesto en el lado distal del elemento de alojamiento tubular está fijado a la superficie exterior del cuerpo tubular 30c en una posición del mismo más cerca del extremo distal del mismo que la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células. Cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado dentro del elemento de alojamiento tubular 3c, el elemento termoconductor 37 dispuesto en el lado proximal del elemento de alojamiento tubular está fijado a la superficie exterior del cuerpo tubular 30c en una posición del mismo dispuesto más cerca del extremo distal del mismo que la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células.

El elemento termoconductor puede estar formado como un elemento tubular encerrando casi enteramente la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células, aunque el elemento termoconductor prevenga el reconocimiento visual de las partes cóncavas de alojamiento de células desde el exterior.

A modo de elemento termoconductor, como un dispositivo de crioconservación de células 1d de una realización mostrada en las figuras 19 y 20, el elemento termoconductor puede tener forma de anillo insertado en la superficie lateral de un elemento de alojamiento tubular 3d. En esta realización, como se muestra en las figuras 19 y 20, cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado en el elemento de alojamiento tubular 3d, los elementos termoconductores en forma de anillo 39, 40 están insertados en una parte de un cuerpo tubular 30d, que encierra parcial o totalmente la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células. Los elementos termoconductores en forma de anillo 39, 40 están situados en posiciones donde los elementos termoconductores 39, 40 no previenen el reconocimiento visual de las partes cóncavas de alojamiento de células desde el exterior. Más específicamente, cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado dentro del

elemento de alojamiento tubular 3d, el elemento termoconductor 39 dispuesto en el lado distal del elemento de alojamiento tubular está insertado en el cuerpo tubular 30d en una posición del mismo dispuesto más cerca del extremo distal del mismo que la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células. Cuando el elemento de soporte de células 2 está alojado en el elemento de alojamiento tubular 3d, el elemento termoconductor 40 dispuesto en el lado proximal del elemento de alojamiento tubular está insertado en el cuerpo tubular 30d en una posición del mismo más cerca del extremo distal del mismo que la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células. Los elementos termoconductores de forma de anillo 39, 40, insertados en el cuerpo tubular 30d están expuestos a la superficie interior del elemento de alojamiento tubular 3d y pueden ponerse en contacto con las superficies laterales expuestas de los termoconductores 25, 26.

Los elementos termoconductores pueden estar formados como un elemento tubular encerrando casi enteramente la parte del elemento de soporte de células 2 donde están formadas las partes cóncavas de alojamiento de células, aunque el elemento termoconductor prevenga el reconocimiento visual de las partes cóncavas de alojamiento de células desde el exterior.

A modo de elemento termoconductor, como un dispositivo de crioconservación de células de una realización mostrada en las figuras 21 y 22, el elemento termoconductor puede estar construido como uno lineal que se extiende axialmente insertado en una superficie lateral de un elemento de alojamiento tubular 3e. Como se muestra en las figuras 21 y 22, en esta realización, se proporciona una pluralidad de elementos termoconductores 51 a, 51b y 51c (específicamente se proporcionan de dos a seis elementos termoconductores. Se proporcionan tres elementos termoconductores en esta realización) que se extienden axialmente en paralelo al eje de un elemento de alojamiento tubular 3e, están insertados en un cuerpo tubular 30e del mismo. Los elementos termoconductores lineales insertados 51 a, 51b y 51c están expuestos a la superficie interior del elemento de alojamiento tubular 3e y pueden ponerse en contacto con las superficies laterales expuestas de los termoconductores 25, 26 del elemento de soporte de células 2, como se muestra en la figura 22.

El dispositivo de crioconservación de células 1 de esta realización tiene un elemento de tapa 4 para montar en la parte abierta del elemento de alojamiento tubular 3. El elemento de tapa 4 tiene un componente central de la tapa 41 que tiene una parte cóncava 43 para montar en el extremo de la parte abierta del elemento de alojamiento tubular 3 y una parte extendida 42 que se extiende una longitud predeterminada desde una superficie inferior del componente central de la tapa 41 y puede penetrar en el elemento de alojamiento tubular 3. Como se muestra en la figura 1, montando el elemento de tapa 4 en la parte abierta del elemento de alojamiento tubular 3, se puede prevenir que el elemento de soporte de células 2 se separe del interior del elemento de alojamiento tubular 3 y restringe el movimiento del elemento de soporte de células 2 dentro del dispositivo de crioconservación de células 1.

Se describe a continuación el procedimiento de uso del dispositivo de crioconservación de células 1 de la presente invención, cuyo procedimiento no forma parte de la presente invención.

En la descripción hecha a continuación, se ilustra un caso donde óvulos que son células vivas se congelan y almacenan.

5 Inicialmente se lleva a cabo una operación de recogida de una pluralidad de óvulos y sustitución de los fluidos intracelulares de los óvulos con soluciones de equilibrio. Después se lleva a cabo una operación de sustitución de fluidos extracelulares por líquidos de vitrificación. Después los óvulos se disponen en cada una de las partes cóncavas de alojamiento de células 28a, 28b, 28c, 28d y 28e formadas en la parte de fijación y soporte de células 22 del elemento de soporte de células 2 junto con una  
10 pequeña cantidad de líquido de vitrificación bajo microscopio, los óvulos se fijan a las partes cóncavas de alojamiento de células. El elemento de soporte de células 2 al que se han fijado los óvulos, se inserta en el elemento de alojamiento tubular 3 desde el lado del mismo donde está dispuesta la parte de fijación y soporte de células 22, para poner la parte expuesta de los termoconductores 25, 26 de la parte de fijación y soporte de células  
15 22 del elemento de soporte de células 2 en contacto con la superficie interior del elemento de alojamiento tubular 3. Después, el elemento de alojamiento tubular 3 que aloja el elemento de soporte de células 2 se sumerge en nitrógeno líquido preparado previamente, desde el lado distal del elemento de alojamiento tubular 3 para congelar (vitrificar) los óvulos. Debido al contacto entre el nitrógeno líquido y el elemento de  
20 alojamiento tubular 3, el elemento de alojamiento tubular 3 se enfría rápidamente. El elemento de alojamiento tubular 3 que se ha enfriado rápidamente alcanza la temperatura de los termoconductores 25, 26 de la parte de fijación y soporte de células 22 del elemento de soporte de células 2 porque los termoconductores 25, 26, están en contacto con la superficie interior del elemento de alojamiento tubular 3. Como resultado, los  
25 óvulos mantenidos por la parte de fijación y soporte de células 22 se enfrían rápidamente. Cuando sea necesario, después se monta el elemento de tapa 4 en la parte abierta del elemento de alojamiento tubular 3, el elemento de alojamiento tubular 3 que aloja el elemento de soporte de células 2 que soporta los óvulos vitrificados que tiene fijados al mismo se aloja en un recipiente de alojamiento (lata). Después, el recipiente de  
30 alojamiento se pone en un tanque de nitrógeno líquido para almacenar los óvulos.

En el dispositivo de crioconservación de células de la presente invención, después de tratar las células (por ejemplo, óvulos) con el líquido de crioconservación, se aspiran y se disponen en la parte de fijación y soporte de células del elemento de soporte de células,  
35 el elemento de soporte de células que soporta las células se inserta en el elemento de alojamiento tubular. De esta forma, las células soportadas en el elemento de soporte de células están protegidas por el elemento de alojamiento tubular y no están expuestas al exterior.

40 Después, poniendo el elemento de alojamiento tubular que aloja el elemento de soporte de células en contacto con el medio de enfriamiento (por ejemplo, nitrógeno líquido) con el lado distal del elemento de alojamiento tubular de cara hacia abajo y llevando a cabo una operación para prevenir que el nitrógeno líquido fluya al elemento de alojamiento tubular, el elemento de alojamiento tubular se enfría, y después el termoconductor del  
45 elemento de soporte de células en contacto con el elemento tubular también se enfría. De esta forma el elemento de soporte de células y las células que se han fijado al mismo se enfrían rápidamente. Por lo tanto, el dispositivo de crioconservación de células de la presente invención, permite llevar a cabo fácilmente la operación de poner las células en el dispositivo de almacenamiento de células y congelar las células sin ponerlas en  
50 contacto directo con el medio de enfriamiento.

Se define la invención en las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de crioconservación de células (1) que comprende: un elemento de soporte de células (2) que tiene un componente central (23) formado de un material resistente al frío y un componente de soporte de células (24) formado de dicho material resistente al frío; y un elemento de alojamiento tubular (3a), cerrado por uno de sus extremos, que puede alojar dicho elemento de soporte de células y formado de dicho material resistente al frío,
- 5
- 10 donde dicho componente de soporte de células de dicho elemento de soporte de células tiene una parte larga y estrecha de fijación y soporte de células (22); dicha parte de fijación y soporte de células tiene un termoconductor (25, 26) que se extiende en una dirección longitudinal de la misma; y donde cuando dicho elemento de soporte de células está alojado en dicho elemento de alojamiento tubular, dicho termoconductor puede
- 15 ponerse en contacto con la superficie interior de dicho elemento de alojamiento tubular.
2. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho elemento de alojamiento tubular tiene un elemento termoconductor (32).
- 20 3. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con la reivindicación 2, donde un componente de dicho elemento termoconductor está expuesto a un espacio interior de dicho elemento de alojamiento tubular; y cuando dicho elemento de soporte de células está alojado dentro de dicho elemento de alojamiento tubular, dicho termoconductor de dicho elemento de soporte de células puede ponerse en contacto con
- 25 una parte expuesta de dicho elemento termoconductor.
4. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho termoconductor se proporciona en un lado o ambos lados de dicha parte de fijación y soporte de células de modo que dicho termoconductor se extiende desde una parte distal de dicha parte de fijación y soporte de células a una
- 30 parte proximal de la misma.
5. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde dicho elemento termoconductor se proporciona en una
- 35 parte distal de dicho elemento de alojamiento tubular.
6. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde dicho elemento termoconductor se proporciona en una
- 40 superficie lateral de dicho elemento de alojamiento tubular.
7. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicho termoconductor se proporciona a ambos lados de dicha parte de fijación y soporte de células de modo que dicho termoconductor se extiende desde una parte distal de dicha parte de fijación y soporte de células a una
- 45 parte proximal de la misma.
8. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicha parte de fijación y soporte de células tiene una
- 50 parte cóncava de alojamiento de células; y dicho termoconductor está dispuesto esencialmente a un lado o ambos lados de una parte de dicha parte de fijación y soporte de células donde está formada la parte cóncava de alojamiento de células.



9. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con la reivindicación 8, donde dicha parte de fijación y soporte de células tiene una parte ranurada (29a-29f) que comunica con dicha parte cóncava de alojamiento de células.
- 5 10. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicho material resistente al frío es un material resistente al nitrógeno líquido.
- 10 11. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho termoconductor está formado de metal, materiales cerámicos termoconductores o plásticos termoconductores.
- 15 12. Un dispositivo de crioconservación de células de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en donde dicho elemento termoconductor está formado de metal, materiales cerámicos termoconductores o plásticos termoconductores.

Fig.1

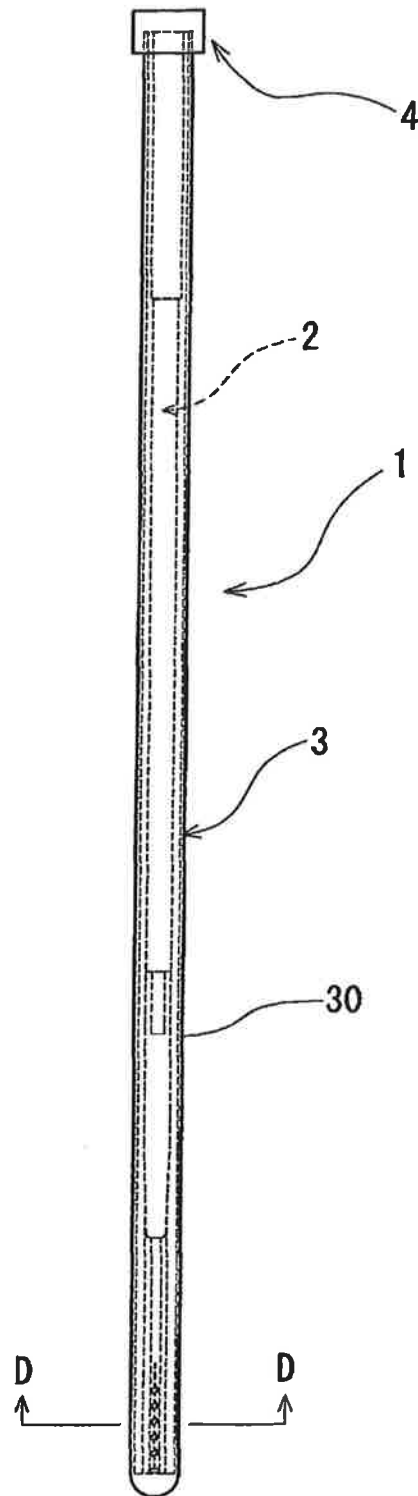


Fig.2

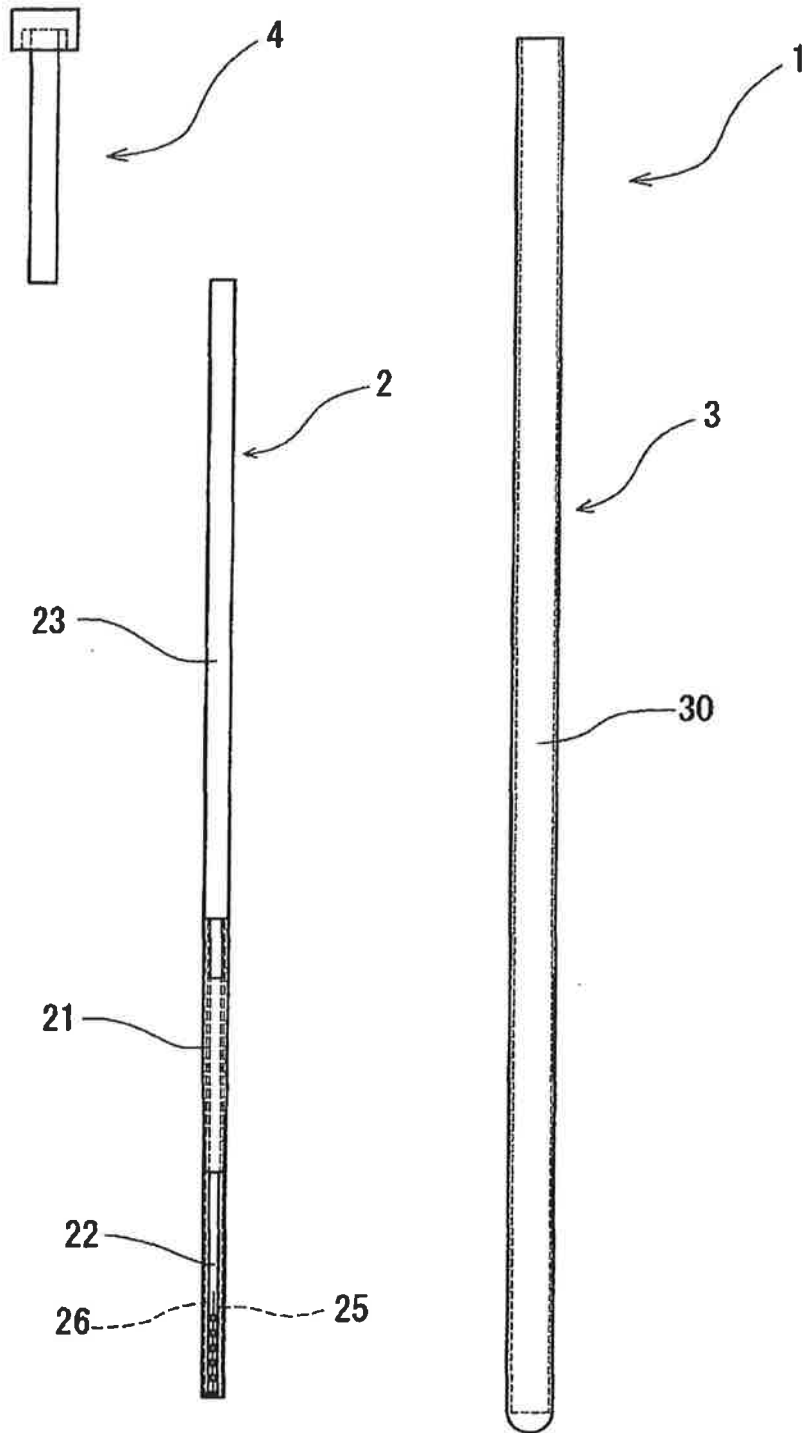


Fig.3

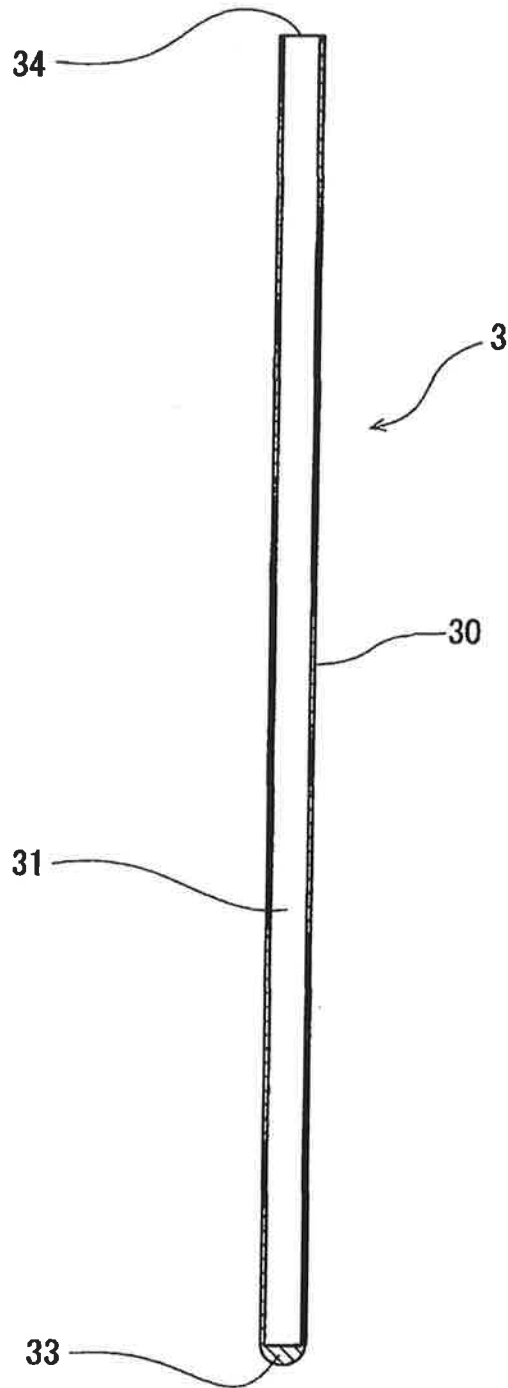


Fig.4

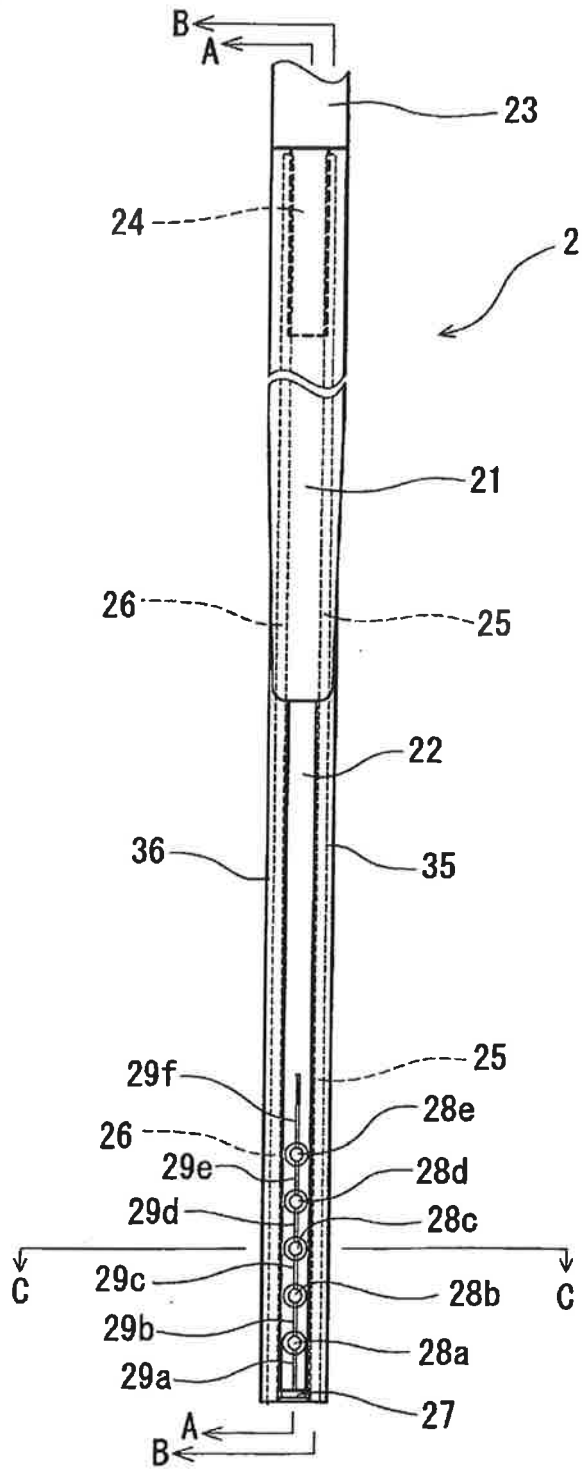


Fig.5

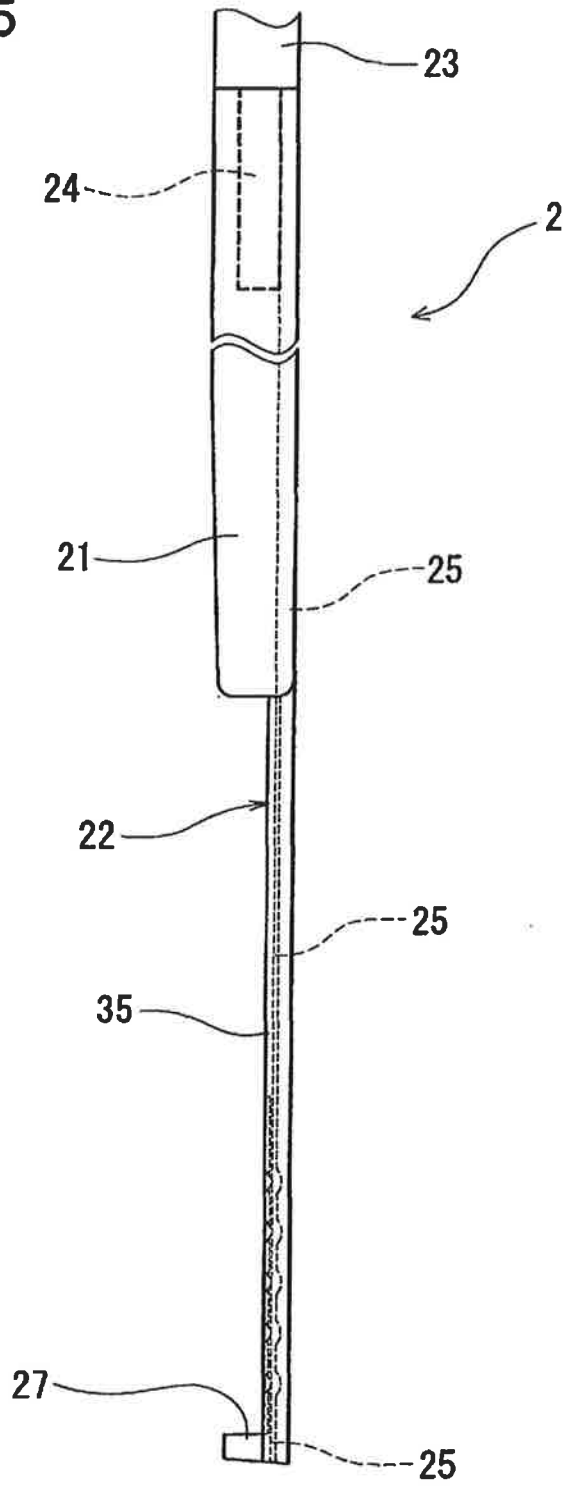


Fig.6

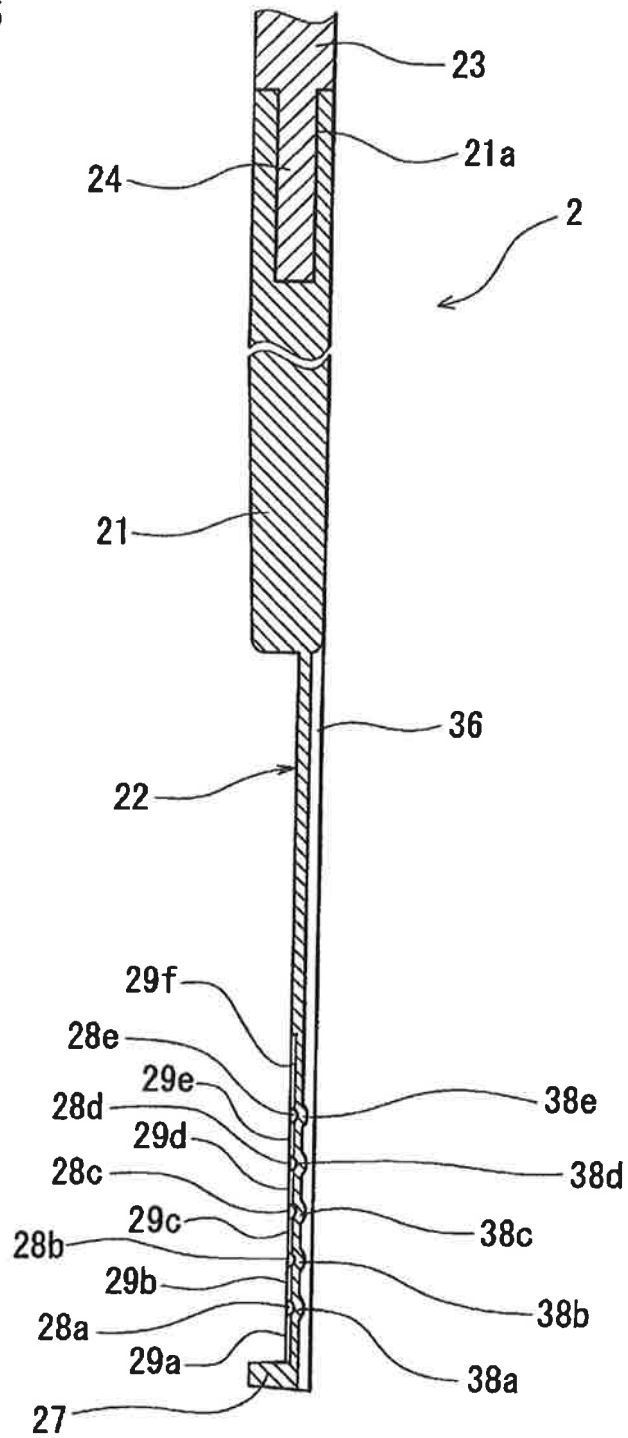


Fig.7

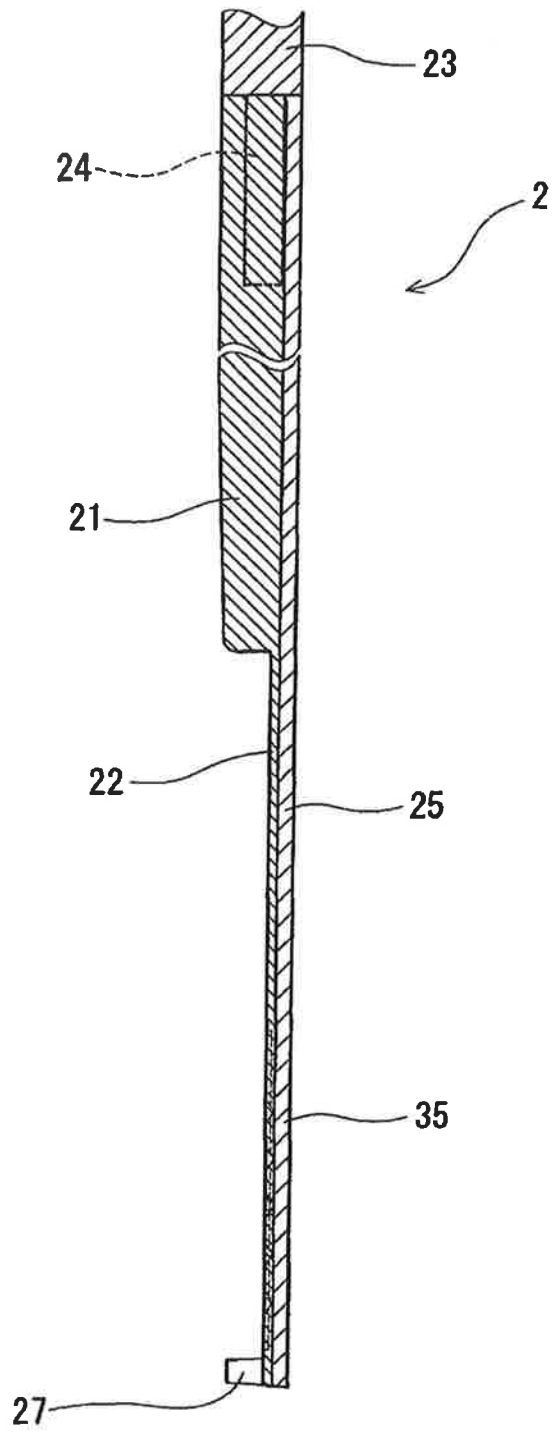




Fig.8

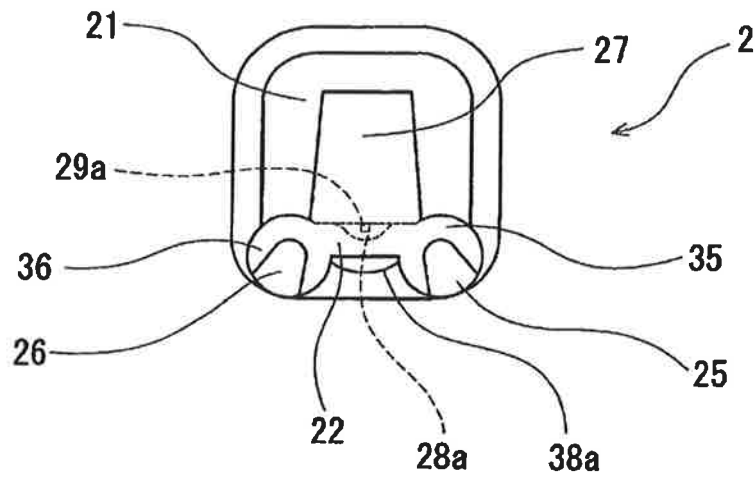


Fig.9

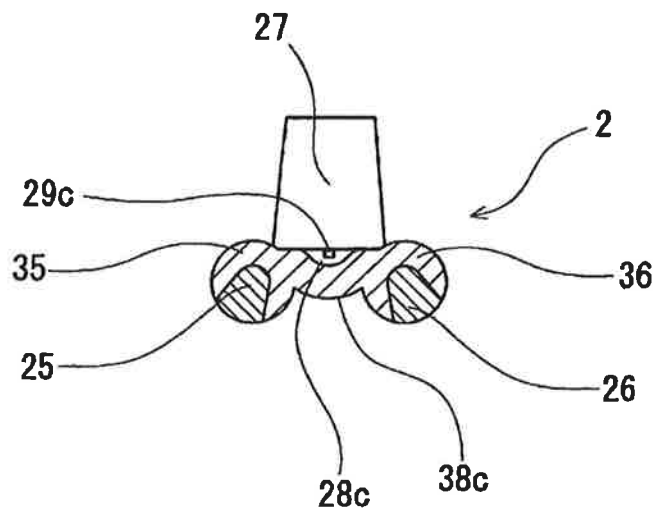


Fig.10

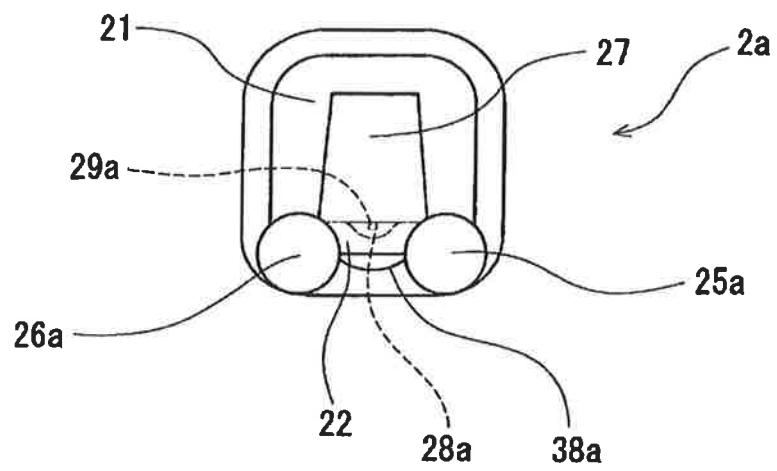


Fig.11

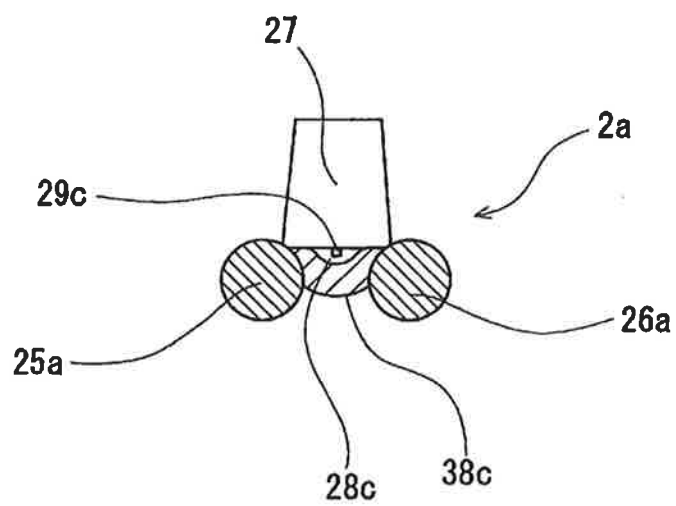


Fig.12

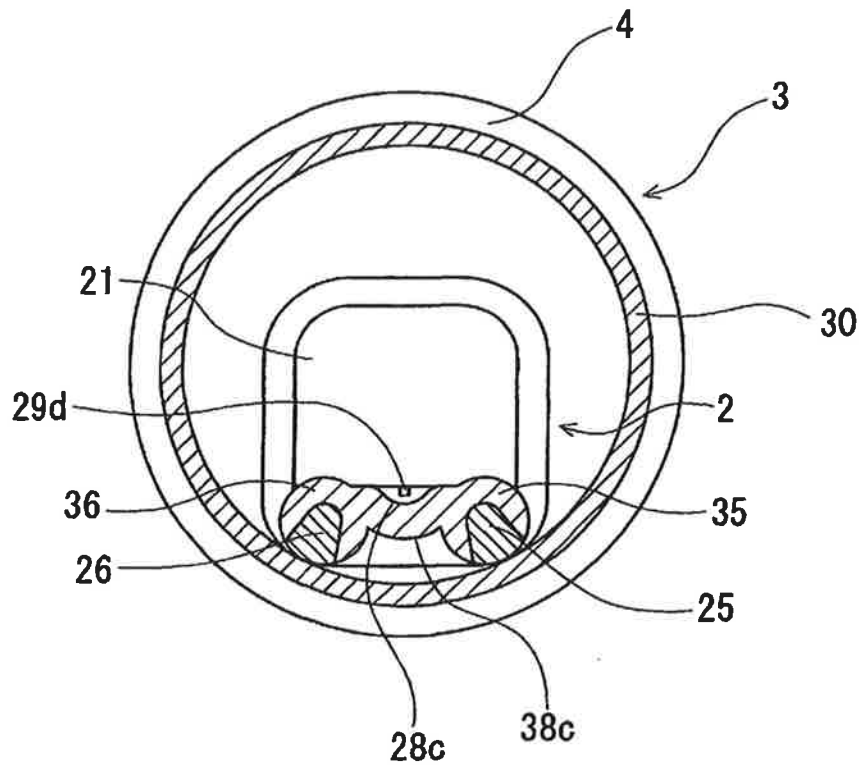


Fig.13

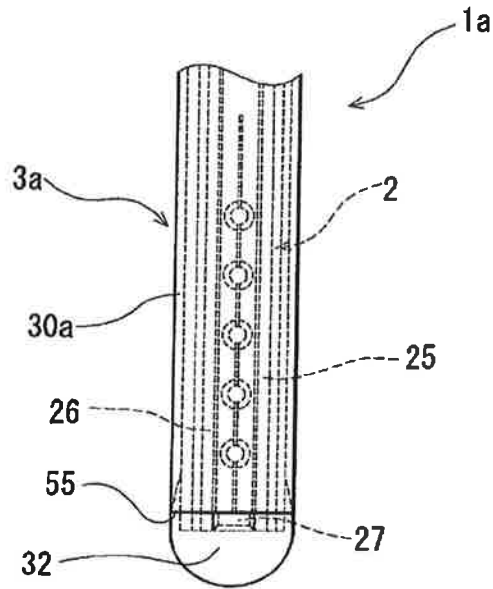


Fig.14

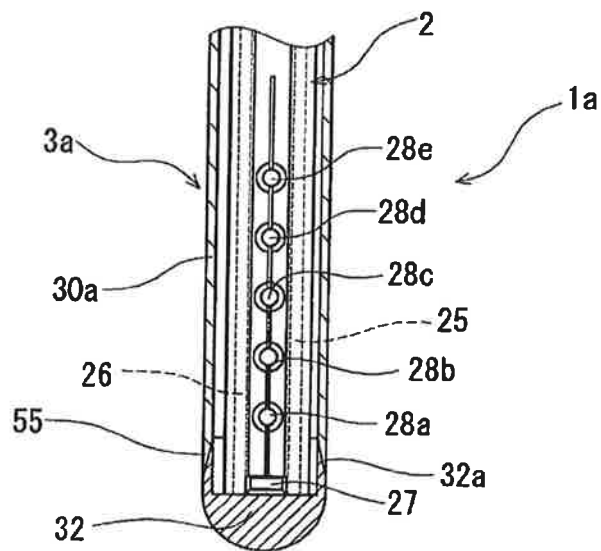


Fig.15

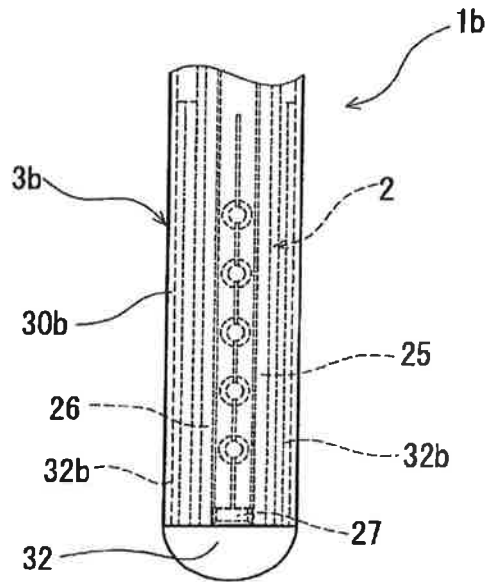


Fig.16

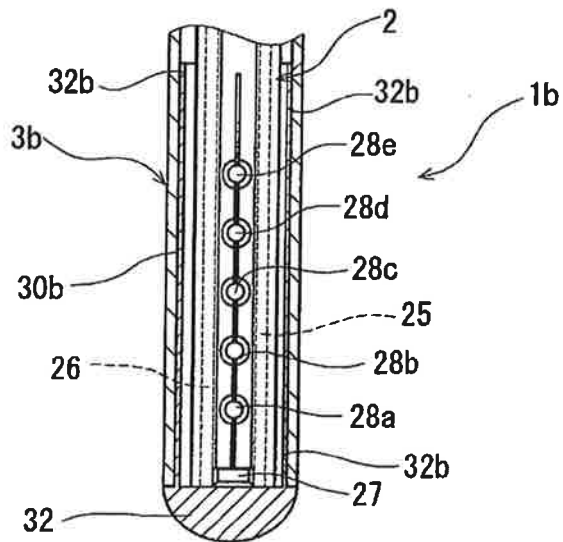


Fig.17

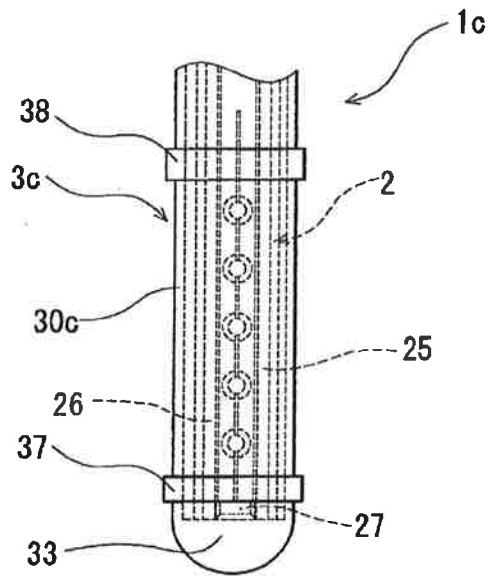


Fig.18

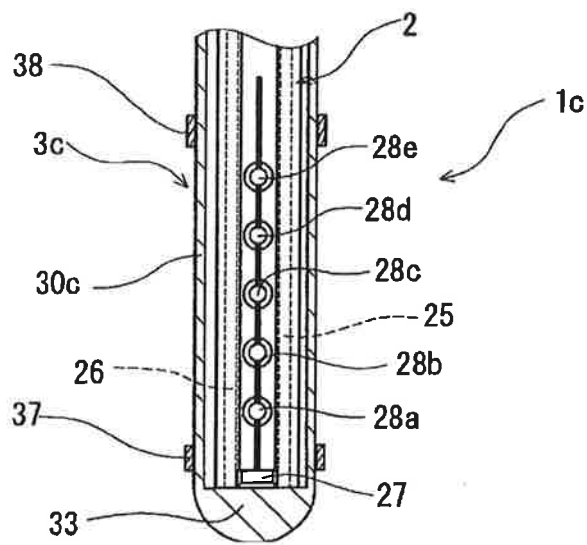


Fig.19

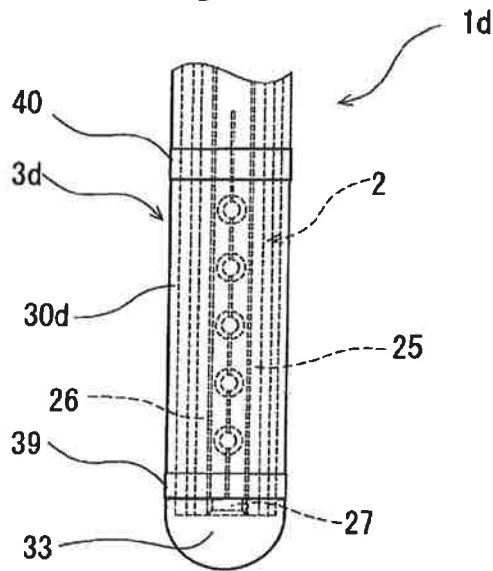


Fig.20

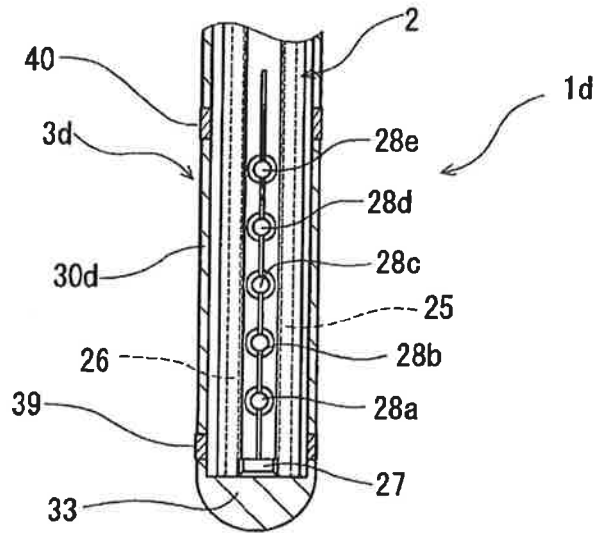


Fig.21

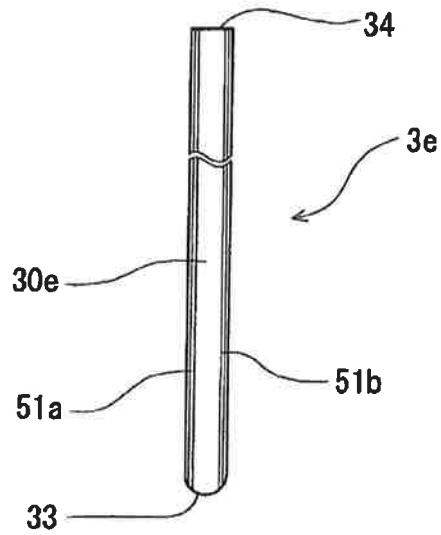


Fig.22

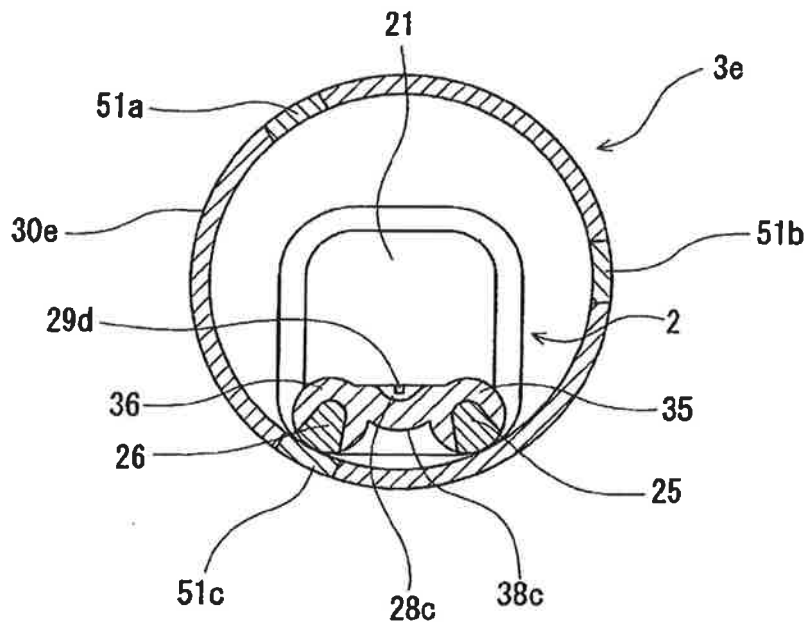




Fig.23

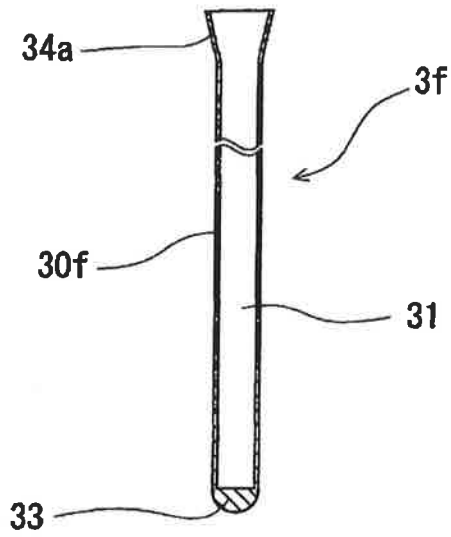


Fig.24

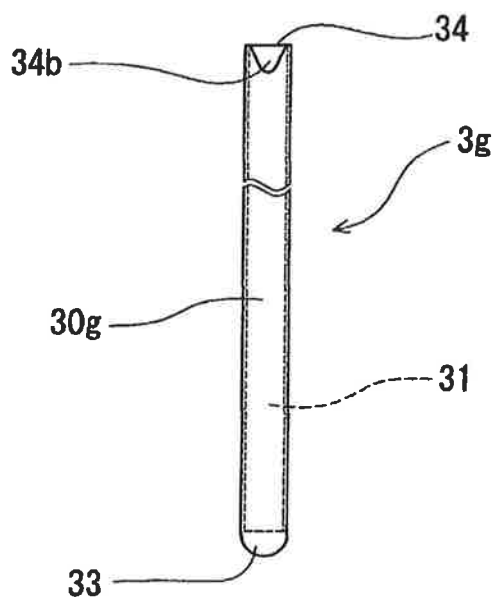


Fig.25

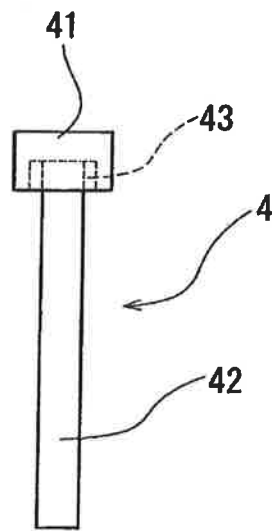


Fig.26

