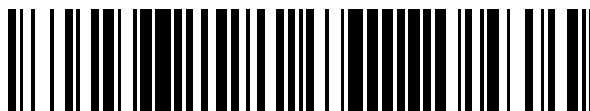


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 367**

51 Int. Cl.:

G01N 35/10 (2006.01)

G01N 1/14 (2006.01)

B01L 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014 PCT/US2014/028505**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14144201**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014 E 14762494 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2019 EP 2972408**

54 Título: **Pipeteador de lavado**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361792453 P

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

22.11.2019

73 Titular/es:

**DOUGLAS SCIENTIFIC, LLC (100.0%)
3600 Minnesota Street
Alexandria MN 56308 , US**

72 Inventor/es:

**SCHOENECK, RICHARD J. y
WAGNER, PAUL H.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 732 367 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

Pipeteador de lavado

5 **Antecedentes**

La presente invención se refiere a pipeteadores para cribado de alto rendimiento y, en concreto, al uso de un pipeteador de lavado de paso para dispensado y aspiración.

10 Los laboratorios utilizan pipeteadores para transferir líquidos de un recipiente a otro. Los pipeteadores automatizados para el cribado de alto rendimiento normalmente transfieren líquido de una matriz de contenedores a otra matriz de contenedores. Las matrices de contenedores suelen ser placas de microtitulación de 96 pocillos o 384 pocillos. El formato de matriz de 96 utiliza 8 filas por 12 columnas con un espaciado de rejilla de 9 mm. El formato 384 utiliza el doble de densidad con 16 filas por 24 columnas con un espacio de rejilla de 4,5 mm. Cuando se usan estos pipeteadores, es necesario desechar o lavar las puntas al cambiar los líquidos. El procedimiento actual para lavar las puntas de las pipetas consiste en aspirar el fluido de lavado y luego dispensarlo dentro de un contenedor de residuos. El ciclo de lavado se repite varias veces para diluir el residuo en el interior de las puntas a un nivel aceptable.

20 Otra preocupación que existe con los pipeteadores es la precisión del volumen de dispensado, especialmente cuando se trata de volúmenes inferiores a 1 μL . Cuando se dispensan volúmenes pequeños, el comportamiento de humectación y rotura de pequeñísimas gotas en la punta se ve influenciado por muchos factores. Si se prefiere humedecer el líquido en el recipiente de destino (ya sea seco o que ya contenga líquido), entonces la columna de líquido en la punta de la pipeta experimentará una fuerza descendente a medida que el líquido se humedezca en el pozo de destino. La cantidad de líquido dispensado puede variar dependiendo de la acción humectante en comparación con las fuerzas que mantendrán el resto del líquido en la punta. Por el contrario, si el líquido es repelido del objetivo, entonces puede ser empujado de nuevo hacia arriba en la punta. Las fuerzas entre las puntas y los contenedores son a menudo aleatorias y variables. Todos los pipeteadores actuales tienen un volumen de aire considerable sobre el líquido que actúa como elemento de acoplamiento entre el pistón y el líquido. La compresibilidad del aire y la presión de vapor en el mismo crean un acoplamiento débil entre la posición del pistón y la posición del fluido.

El documento US7727476B2 describe un dispositivo para aspirar y dispensar muestras de líquido provisto de una bomba que comprende una cámara cilíndrica, un pistón móvil en tal cámara cilíndrica y un accionamiento de pistón que se acopla al pistón. El dispositivo comprende, además, una punta conectada a la cámara cilíndrica con una línea y un sistema de canales que se descargan en la cámara cilíndrica para el lavado o enjuague de esta última. Si el pistón se posiciona en la cámara cilíndrica de tal manera que un extremo libre del mismo descansa entre el sistema de canales y la línea, el pistón sella completamente la cámara cilíndrica del sistema de canales. La cámara cilíndrica puede ubicarse en un bloque de cilindro que consta de dos partes separadas por un sistema de canales intermedios y que rodean al mismo. El sistema de canales puede implementarse como una cavidad coherente. De acuerdo con un primer ejemplo, la cámara cilíndrica se implementa como un manguito que se inserta en un orificio situado en un bloque de cilindro. De acuerdo con un segundo ejemplo, la cámara cilíndrica se implementa como un orificio situado en un bloque de cilindro. También se describen sistemas con, por ejemplo, 384 o más dispositivos de este tipo que están dispuestos en una matriz.

45 **Sumario**

La presente invención se refiere a un pipeteador y a un procedimiento para operar un pipeteador tal como se define en las reivindicaciones. En el presente documento, se describe un pipeteador que incluye una placa superior, una placa inferior y una cámara de lavado definida por un espacio entre la placa superior y la placa inferior. El pipeteador incluye, además, un sello superior con una ranura y un sello inferior, estando el sello superior situado debajo de la placa superior y retenido por el sello inferior y estando el sello inferior situado sobre la placa inferior y retenido por el sello superior. El pipeteador incluye, además, una junta situada debajo de la placa inferior, una punta de pipeta retenida por la junta y un pistón con una punta cónica que pasa a través de la placa superior, el sello superior, el sello inferior, la placa inferior y la junta hacia la punta de pipeta. El sello superior y el sello inferior aíslan el pistón de la cámara de lavado. El pistón define un canal que se extiende hacia la punta de pipeta. El pipeteador incluye, además, un accionador para hacer avanzar y retraer el pistón. Cuando el accionador retrae el pistón de tal manera que el pistón pierde el contacto de sellado con el sello inferior y la cámara de lavado recibe un fluido de lavado y se presuriza, el fluido de lavado pasa a través de la ranura en el sello superior y hacia el canal definido por el pistón.

60 También se describe en el presente documento, un procedimiento para operar un pipeteador que incluye retraer un pistón con una punta cónica de tal manera que el pistón pase a través de una placa inferior y un sello inferior y pierda el contacto de sellado con el sello inferior, reteniendo el sello inferior un sello superior con una ranura y reteniendo el sello superior el sello inferior. El procedimiento también incluye el suministro de fluido de lavado a una cámara de lavado que rodea el sello inferior y el sello superior y la presurización de la cámara de lavado de manera que el fluido de lavado pase a través de la ranura del sello superior hacia un canal definido por el pistón, pasando el

canal a través de la placa inferior por debajo del sello inferior, a través de una junta por debajo de la placa inferior, y hacia una punta de pipeta retenida por la junta. El procedimiento también incluye el avance del pistón de tal manera que el fluido de lavado fluya a través del canal, llenando la punta de la pipeta y de tal manera que el pistón selle el canal desde la cámara de lavado.

- 5 **Breve descripción de los dibujos**
- La FIGURA 1 es una vista frontal del pipeteador de lavado de paso de la presente invención.
- 10 La FIGURA 2 es una vista en sección transversal del pipeteador de lavado de paso de la presente invención a lo largo de la línea 2-2 de la FIGURA 1.
- La FIGURA 3A es una vista en despiece del mecanismo de sellado del pipeteador de lavado de paso de la presente invención.
- 15 La FIGURA 3B es una vista lateral del mecanismo de sellado del pipeteador de lavado de paso de la presente invención.
- La FIGURA 4A es una vista en sección transversal del mecanismo de sellado del pipeteador de lavado de paso de la presente invención a lo largo de la línea 4-4 de la FIGURA 3B.
- 20 La FIGURA 4B es una vista ampliada de la vista en sección transversal del mecanismo de sellado de la FIGURA 4A.
- La FIGURA 5 es una vista en sección transversal de una punta de pipeta del pipeteador de lavado de paso de la presente invención.
- 25

Descripción detallada

- 30 La FIGURA 1 es una vista frontal del pipeteador de lavado de paso 10. La FIGURA 2 es una vista en sección transversal del pipeteador de lavado de paso a lo largo de la línea 2-2 de la FIGURA 1. Tal como se muestra en la FIGURA 1 y la FIGURA 2, el pipeteador de lavado de paso 10 incluye un conjunto de pistón 12, un conjunto de accionador 14 y una bandeja de puntas 16. El conjunto de accionador 14 incluye un bastidor de accionador 18, una placa de accionador 20, cojinetes lineales 22, una tuerca de bola 24, un tornillo de bola 26, un motor de accionador 28 y una abrazadera de bandeja de puntas 30. El conjunto de pistón 12 incluye una serie de pistones 32 con puntas cónicas 36, una placa de pistón 34, una placa de sellado superior 38, un sello superior 40, un retenedor de sello superior de la placa de lavado 42, una cámara de lavado 44, una placa de lavado 46, un sello inferior 48, un bloque de cilindro 50, una junta de punta pasante 52, un puerto de suministro 56 y un retenedor de la junta de punta 58. La bandeja de puntas 16 incluye puntas de pipeta 54 y un soporte de puntas 60.
- 35 Los pistones 32 están conectados a una placa de pistón 34. Los pistones 32 con puntas cónicas 36 pasan a través de la placa de sellado superior 38, el sello superior 40, el retenedor de sello superior de la placa de lavado 42, la cámara de lavado 44, la placa de lavado 46, el sello inferior 48, el bloque de cilindro 50 y la junta de punta pasante 52. Los pistones 32 definen canales de flujo de fluido 61. La capacidad volumétrica de cada canal de flujo de fluido 61 se determina multiplicando el área de la sección transversal de cada pistón 32 por la longitud máxima de la carrera. La longitud máxima de la carrera es la suma del grosor del bloque de cilindro 50 y la longitud que los pistones 32 pueden avanzar hacia el interior de las puntas de pipeta 54.
- 40 La placa de lavado 46 incluye una cámara de lavado 44 a la que se suministra el fluido de lavado a través de un puerto de suministro 56. El sello superior 40 se retiene entre la placa de sellado superior 38 y el retenedor del sello superior de la placa de lavado 42. El sello inferior 48 se retiene entre la placa de lavado 46 y el bloque de cilindro 50. El sello superior 40 y el sello inferior 48 están diseñados para proporcionar un sellado alrededor de los pistones 32. La junta de punta pasante 52 está diseñada para no proporcionar un sellado alrededor de los pistones 32. La junta de punta pasante 52 está diseñada para el sellado contra el borde superior de las puntas de pipeta 54. La junta de punta pasante 52 es retenida por el retenedor de junta de punta pasante 58. La bandeja de puntas 16 se carga en la abrazadera de bandeja de puntas 30, que presiona la bandeja de puntas 16 contra la junta de punta pasante 52 para formar un sello entre las puntas de pipeta 54 y la junta de punta pasante 52.
- 45 La junta de punta pasante 52 es retenida por el retenedor de junta de punta pasante 58. La bandeja de puntas 16 se carga en la abrazadera de bandeja de puntas 30, que presiona la bandeja de puntas 16 contra la junta de punta pasante 52 para formar un sello entre las puntas de pipeta 54 y la junta de punta pasante 52.
- 50 El conjunto de accionador 14 sostiene el conjunto de pistón 12 y la bandeja de puntas 16. Cuando el motor del accionador 28 gira el tornillo de bola 26, el motor del accionador 28 mueve la tuerca de bola 24 para colocar la placa del accionador 20 a lo largo de los cojinetes lineales 22. La placa del accionador 20 se fija mediante pernos a la placa de pistón 34 a fin de mover los pistones 32 a través de la placa de sellado superior 38, el sello superior 40, el retenedor de sello superior de la placa de lavado 42, la cámara de lavado 44, la placa de lavado 46, el sello inferior 48, el bloque de cilindro 50 y la junta de punta pasante 52. Los pistones 32 se retraen alejándose de las puntas de pipeta 54 en un movimiento de aspiración. Durante el movimiento de aspiración, se introduce fluido o gas en las puntas de pipeta 54. Los pistones 32 avanzan hacia las puntas de pipeta 54 en un movimiento de dispensado.
- 55
- 60
- 65

Durante el movimiento de dispensado, se dispensa fluido o gas desde las puntas de pipeta 54.

Las FIGURAS 3A y 3B son una vista en despiece y una vista lateral que ilustran el mecanismo de sellado del pipeteador de lavado de paso 10. La FIGURA 4A es una vista en sección transversal del mecanismo de sellado del pipeteador de lavado de paso 10 a lo largo de la línea 4-4 de la FIGURA 3B. La FIGURA 4B es una vista ampliada de la vista en sección transversal del mecanismo de sellado de la FIGURA 4A. El mecanismo de sellado del pipeteador de lavado de paso 10 incluye pistones 32 con puntas cónicas 36, una placa de sellado superior 38, un sello superior 40 con una ranura 62, un sello inferior 48 y un bloque de cilindro 50. La holgura 64 proporciona un espacio entre la placa de sellado superior 38 y el bloque de cilindro 50. El sello superior 40 es retenido por el sello inferior 48 y el sello inferior 48 es retenido por el sello superior 40.

Un ciclo de lavado del pipeteador de lavado de paso 10 comienza con la retracción de los pistones 32 hasta que las puntas cónicas 36 pierden el contacto de sellado con el sello inferior 48, que actúa a modo de válvula mecánica que abre los canales de flujo de fluido 61 a la cámara de lavado 44. Se suministra un fluido de lavado, tal como agua purificada, al puerto de suministro 56. La cámara de lavado 44 se presuriza, el sello superior 40 se aprieta y el sello inferior 48 se afloja, y el fluido de lavado inunda la cámara de lavado 44. El fluido de lavado fluye a través de la holgura 64 hacia los canales de flujo de fluido 61. La ranura 62 del sello superior 40 asegura que el agua de lavado pueda entrar entre el sello superior 40 y el sello inferior 48 a los canales de flujo de fluido 61. Las puntas cónicas 36 de los pistones 32 aumentan el flujo de fluido de lavado en los canales de fluido 61 cuando los pistones 32 se retraen de manera parcial a completa desde sello inferior 48.

El fluido de lavado fluye a través de los canales de flujo de fluido 61, pasando a través de la placa de lavado 46, el sello inferior 48, el bloque de cilindro 50 y la junta de punta pasante 52 y lavando las puntas de pipeta 54. En una realización alternativa, el sello inferior 48 puede ser una válvula de retención con una presión de disparo adecuada para la apertura con agua de lavado a alta presión, pero que permanece sellada para presiones de aspiración y dispensado normales, permitiendo que el fluido de lavado fluya hacia los canales de fluido 61 sin retraer los pistones 32. El pipeteador de lavado de paso 10 puede colocarse sobre un contenedor de residuos para el agua residual a medida que fluye por las puntas de pipeta 54. El contenedor de residuos también puede ser un recipiente tipo baño en el que se sumergen las puntas de pipeta 54 para limpiar el exterior de las puntas de pipeta 54, con o sin sonicación.

Después de lavar suficientemente el interior de cada canal de los canales de flujo de fluido 61, el puerto de suministro 56 se cierra. Los pistones 32 avanzan para pasar a través del sello inferior 48, cerrando los canales de flujo de fluido 61 de la cámara de lavado 44. Los pistones 32 avanzan más para dispensar el exceso de fluido de lavado en el contenedor de residuos. Si se conoce el volumen de aspiración para la siguiente operación, los pistones 32 pueden avanzar una carrera parcial suficiente para las necesidades de la siguiente aspiración. Esto ahorrará tiempo y evitará que se acumulen contaminantes más arriba en los canales de flujo de fluido 61. Cuando finaliza la acción de dispensado de agua de lavado, se completa el ciclo de lavado. Al final de un ciclo de lavado, cada canal de los canales de flujo de fluido 61 se llena con el fluido de lavado 64 desde el sello superior 40 hasta el final de las puntas de pipeta 54.

La FIGURA 5 es una vista en sección transversal de una punta de pipeta de las puntas de pipeta 54 del pipeteador de lavado de paso 10, que incluye un fluido de lavado 64, una holgura de aire 66 y un fluido de muestra 68. El ciclo de aspiración del pipeteador de lavado de paso 10 comienza después de la finalización del ciclo de lavado. Los pistones 32 se retraen para aspirar la holgura de aire 66. Se necesita una holgura de aire 66 para separar el fluido de lavado 64 del fluido de muestra aspirado 68. El tamaño de la holgura de aire 66 determinará la rigidez del acoplamiento entre el movimiento del pistón y el movimiento del fluido. Si la holgura de aire 66 es demasiado pequeña, aumenta el riesgo de que el fluido de lavado 64 y el fluido de muestra aspirado 68 se mezclen. Si la holgura de aire 66 es demasiado grande, el acoplamiento será menos rígido. Cuando se dispensan grandes volúmenes, se puede aumentar la holgura de aire 66 para evitar una dilución accidental. Cuando se dispensan volúmenes pequeños, la holgura de aire 66 se mantiene lo más pequeña posible. Dado que los canales de flujo de fluido 61 están en su mayoría llenos de líquido, se evita el problema de una presión de vapor variable. Esto es más significativo cuando los canales de flujo de fluido 61 se llenan de gas seco y la aspiración de un líquido hace que el gas absorba vapor, creando un aumento lento de la presión de vapor. Este problema constituye un desafío habitual en los pipeteadores convencionales, ya que la presión de vapor del gas en cada canal de los canales de flujo de fluido 61 varía cuando las puntas de las pipetas se abren a la atmósfera en lugar de llenarse con líquidos de muestra.

Después de crear la holgura de aire 66, el pipeteador de lavado de paso 10 se coloca con las puntas de pipeta 54 sumergidas en una placa fuente. La placa fuente puede ser una placa con una pluralidad de pocillos, tal como una microplaca. Los pistones 32 se retraen aún más para aspirar el líquido de muestra 68 de la placa fuente. Luego, las puntas de pipeta 54 se retraen de la placa fuente. La velocidad de retracción puede ajustarse para influir en el comportamiento de rotura del líquido en las puntas de pipeta 54 para aumentar la precisión de aspiración.

Una vez completado el ciclo de aspiración, el ciclo de dispensado comienza colocando las puntas de pipeta 54 sobre la placa de destino. Existen muchas variaciones de los procedimientos de dispensado que incluyen el dispensado

5 previo de un volumen pequeño antes de hacer contacto físico con el objetivo. El ciclo puede incluir mover el fluido hacia arriba y hacia abajo dentro de las puntas de pipeta 54 para evitar que un menisco seco impida que el fluido de muestra 68 se mueva libremente dentro de los canales de flujo de fluido 61. El fluido de muestra 68 se dispensa haciendo avanzar los pistones 32 a través de los canales de flujo de fluido 61 hacia y/o dentro de las puntas de pipeta 54. Una vez completado el ciclo de dispensado y cuando el fluido de muestra 68 entra en contacto con el objetivo, las puntas de pipeta 54 se retiran de la placa de destino. La velocidad de retracción puede ajustarse para influir en el comportamiento de rotura del líquido en las puntas de pipeta 54 para aumentar la precisión de dispensado. El ciclo de dispensado a menudo se repite varias veces para un solo ciclo de aspiración. Una vez completados los ciclos de dispensado, se realiza el ciclo de lavado.

10 En realizaciones alternativas, se puede suministrar aire comprimido a través del puerto de suministro 56 para expulsar el líquido de lavado 64 o para realizar el secado de los canales de flujo de fluido 61. Los ciclos de lavado pueden incluir la alternancia de líquido de lavado con aire para operar el pipeteador de lavado de paso 10 con las ventajas la limpieza con lavado de paso, pero evitar el uso del líquido de lavado 64 con una holgura de aire 66. Al aspirar y dispensar en modo de solo aire, los pistones 32 pueden avanzar hacia las puntas de pipeta 54, minimizando el volumen de aire en los canales de flujo de fluido 61, haciendo que el acoplamiento entre el movimiento del pistón y el movimiento del fluido sea más rígido y mejorando la precisión del volumen de dispensado.

15 Aunque la presente invención se ha descrito con referencia a realizaciones preferidas, los expertos en la materia reconocerán que se pueden realizar cambios en la forma y en los detalles sin apartarse del alcance de la invención.

20

REIVINDICACIONES

1. Pipeteador (10) que comprende:

- 5 una placa de sellado superior (38);
 un bloque de cilindro (50);
 una cámara de lavado (44) definida por un espacio entre la placa de sellado superior (38) y el bloque de cilindro (50);
 un sello superior (40) provisto de una ranura (62) y un sello inferior (48), estando el sello superior (40) situado
 10 debajo de la placa de sellado superior (38) y retenido por el sello inferior (48) y estando el sello inferior situado encima del bloque de cilindro (50) y retenido por el sello superior (40);
 una junta de punta pasante (52) situada debajo del bloque de cilindro (50);
 una punta de pipeta (54) retenida por la junta de punta pasante (52);
 un pistón (32) con una punta cónica (36) que pasa a través de la placa de sellado superior (38), el sello superior (40), el sello inferior (48), el bloque de cilindro (50) y la junta de punta pasante (52) hacia la punta de pipeta (54);
 15 en donde el sello superior (40) y el sello inferior (48) aíslan el pistón (32) de la cámara de lavado (44);
 un canal de flujo de fluido (61) definido por el pistón (32) y que se extiende hacia la punta de pipeta (54); y
 un accionador para hacer avanzar y retraer el pistón (32);
 en donde el accionador está configurado para retraer el pistón (32) de tal manera que el pistón (32) pierda el
 20 contacto de sellado con el sello inferior (48) y la cámara de lavado (44) reciba un fluido de lavado (64) y se presurice para permitir que el fluido de lavado (64) pase a través de la ranura (62) en el sello superior (40) y hacia el canal de flujo de fluido (61) definido por el pistón (32).

- 25 2. El pipeteador (10) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el pipeteador (10) comprende una pluralidad de puntas de pipeta (54), pistones (32) y canales de flujo de fluido (61); estando cada punta de pipeta (54) retenida por la junta de punta pasante (52), pasando cada pistón (32) a través de la placa de sellado superior (38), el sello superior (40), el sello inferior (48), el bloque de cilindro (50) y la junta de punta pasante (52) hacia una de las puntas de pipeta (54); y estando cada canal de flujo de fluido (61) definido por uno de los pistones (32).

- 30 3. Procedimiento para manejar un pipeteador (10) de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo el procedimiento:

- retraer un pistón (32) provisto de una punta cónica (36) de manera que el pistón (32) pase a través de un bloque de cilindro (50) y un sello inferior (48) y pierda el contacto de sellado con el sello inferior (48), reteniendo el sello inferior (48) un sello superior (40) provisto de una ranura (62) y reteniendo el sello superior (40) el sello inferior (48);
 35 suministrar un fluido de lavado (64) a una cámara de lavado (44) que rodea el sello inferior (48) y el sello superior (40);
 presurizar la cámara de lavado (44) de manera que el fluido de lavado (64) pase a través de la ranura (62) del
 40 sello superior (40) hacia un canal de flujo de fluido (61) definido por el pistón (32), pasando el canal de flujo de fluido (61) a través de un bloque de cilindro (50) debajo del sello inferior (48), a través de una junta de punta pasante (52) debajo del bloque de cilindro (50), y hacia una punta de pipeta (54) retenida por la junta de punta pasante (52); y
 hacer avanzar el pistón (32) de manera que el fluido de lavado (64) fluya a través del canal de flujo de fluido (61),
 45 llenando la punta de pipeta (54) y de tal manera que el pistón (32) selle el canal de flujo de fluido (61) de la cámara de lavado (44).

4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende, además:

- 50 retraer el pistón (32) para aspirar una holgura de aire (66) en la punta de pipeta (54) debajo del líquido de lavado (64);
 sumergir la punta de pipeta (54) en una muestra (68); y
 retraer aún más el pistón (32) para aspirar la muestra (68).

- 55 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4 que comprende, además, hacer avanzar el pistón (32) para dispensar la muestra (68).

- 60 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la pipeta (10) comprende una pluralidad de pistones (32), canales de flujo de fluido (61) y puntas de pipeta (54).

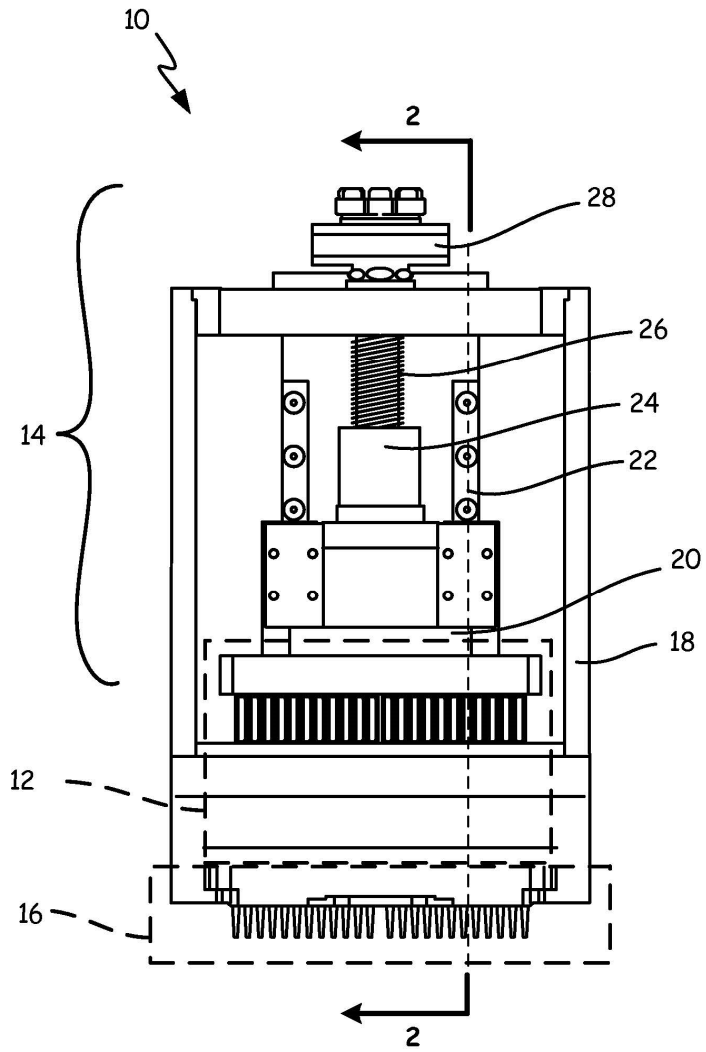


FIG. 1

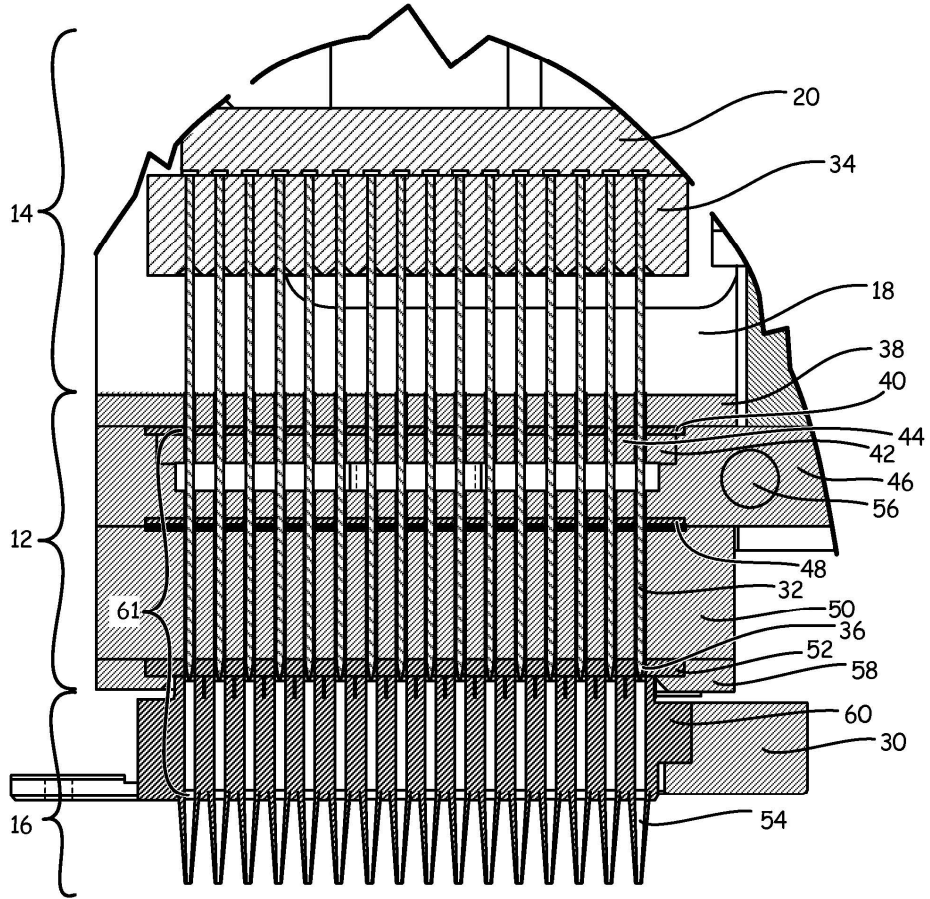


FIG. 2

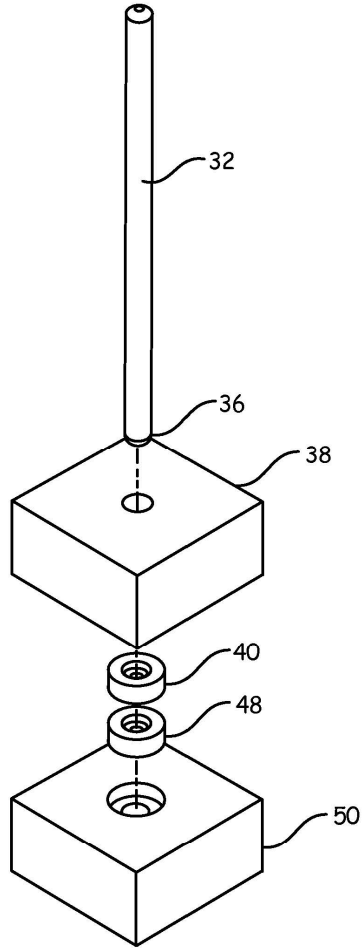


FIG. 3A

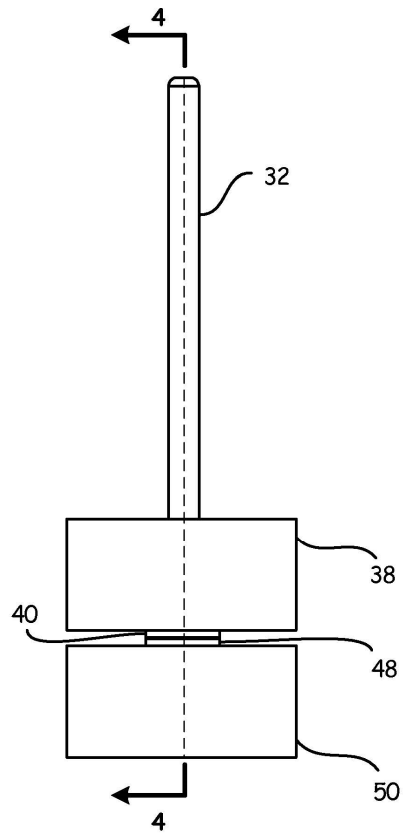
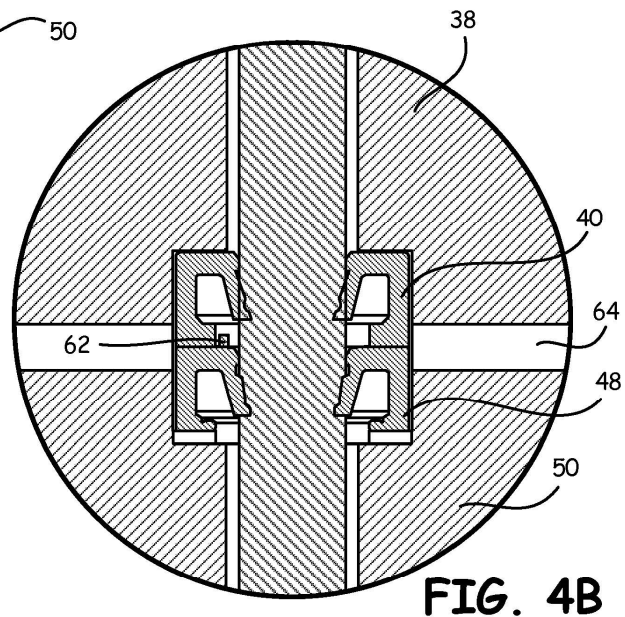
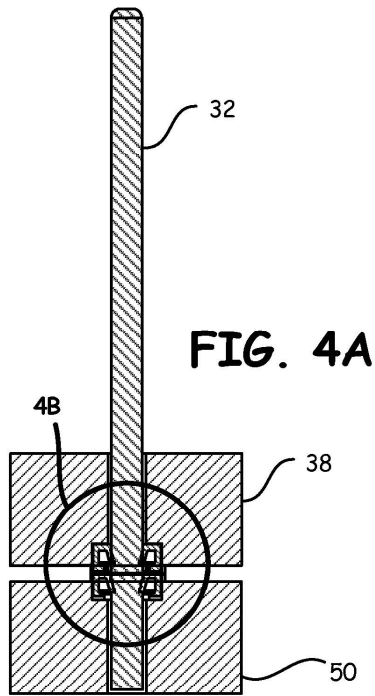


FIG. 3B



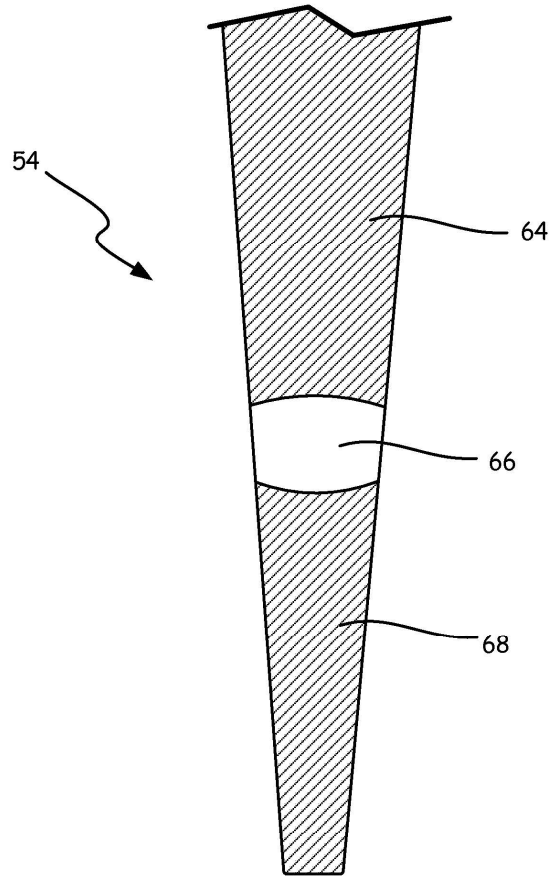


FIG. 5