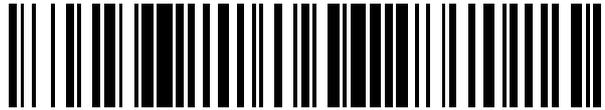


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 938 495**

21 Número de solicitud: 202231111

51 Int. Cl.:

G01N 3/08 (2006.01)

G01N 33/483 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

27.12.2022

43 Fecha de publicación de la solicitud:

11.04.2023

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

22.06.2023

Fecha de concesión:

18.09.2023

45 Fecha de publicación de la concesión:

25.09.2023

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID
(100.0%)**

**Avda. Ramiro de Maeztu 7
28040 Madrid (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**PLAZA BAONZA, Gustavo Ramón;
GONZÁLEZ BERMÚDEZ, Blanca de los Reyes;
GUINEA TORTUERO, Gustavo Víctor;
PÉREZ RIGUEIRO, José;
ROJO PÉREZ, Francisco Javier y
DAZA GARCÍA, Rafael**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

54 Título: **Dispositivo y método para realizar ensayos mecánicos sobre muestras micrométricas**

57 Resumen:

Dispositivo y método para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas que comprende:

- un soporte (8, 9, 10) para depositar un sustrato (17) que contiene la muestra (16) micrométrica,
- un elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) que comprende una placa (6) paralela al soporte (8, 9, 10) y desplazable linealmente respecto al mismo (8, 9, 10) para producir una compresión o tracción sobre la muestra micrométrica (16),
- un transductor de fuerza (2) en conexión con el elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) para la medición de la fuerza aplicada sobre la muestra micrométrica (16),
- al menos un sensor (15) de distancia para la medición del espesor de la muestra (16) durante el ensayo,
- unos medios de control en conexión con el transductor de fuerza (2) y con el sensor (15) para la recogida de los datos medidos.

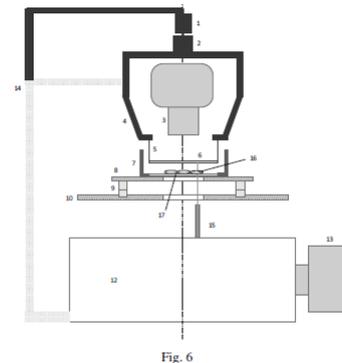


Fig. 6

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 938 495 B2

DESCRIPCIÓN

Dispositivo y método para realizar ensayos mecánicos sobre muestras micrométricas

Sector técnico

5 La invención consiste en un dispositivo y un método para medir propiedades mecánicas de muestras micrométricas, por ejemplo, monocapas de células, sobre un sustrato. El aparato también sirve para medir propiedades mecánicas de láminas micrométricas. Los sectores de interés del dispositivo son, entre otros, los siguientes:

- 10 a) Investigación científica en estudios en los que las propiedades mecánicas de células tienen interés. Hay varios campos que confluyen en este ámbito, incluyendo la mecanobiología, biomecánica, biofísica, biología celular, tecnología biomédica.
- b) Empresas farmacéuticas.
- c) Laboratorios de análisis médicos.

Antecedentes de la invención

15 Cuantiosos trabajos de investigación, recogidos en publicaciones científicas, muestran el interés de realizar medidas de propiedades mecánicas de células. La deformabilidad es un biomarcador del estado celular, de interés en desarrollo de fármacos, de potencial uso en pruebas médicas, y utilizado en estudios de biofísica y biología celular, según se explica en Di Carlo, "A mechanical biomarker of cell state in medicine". J Lab Autom. 17(1), pp.32-42, 2012. Por tanto, las propiedades mecánicas se pueden emplear para el diagnóstico y
20 tratamiento de patologías; en González-Bermúdez et al., "Possibilities of using T-cell biophysical biomarkers of ageing", Expert Reviews in Molecular Medicine, 24, p.e35, 2022, por ejemplo, se pone de manifiesto el interés de medir las propiedades mecánicas de linfocitos T para estudiar el envejecimiento.

25 La investigación de métodos para medir propiedades mecánicas de células comenzó a mediados del último siglo, y ha dado lugar al desarrollo de múltiples técnicas que actualmente permiten cuantificar parámetros mecánicos celulares empleando principios mecánicos, ópticos, acústicos y/o electromagnéticos. En Rodríguez et al., "Review on cell mechanics: experimental and modeling approaches." Applied Mechanics Reviews, 65(6), 2013, se detallan los principios de funcionamiento y los límites de detección y cuantificación
30 de varias técnicas para medir el comportamiento mecánico celular.

En general, las técnicas actuales presentan una serie de desventajas. Son complicadas, costosas en tiempo de manipulación, requieren formación y entrenamiento durante un

tiempo importante, y los experimentos pueden tener duraciones relativamente grandes, tal y como se pone de manifiesto en Lee et al., "Toward deep biophysical cytometry: prospects and challenges", Trends in Biotechnology, 39(12), p. 1249-1262, 2021. El origen de la idea de la presente invención fue esta complejidad práctica de las técnicas disponibles
5 previamente.

No se conoce un dispositivo que permita medir propiedades mecánicas en compresión, o tracción, de toda una monocapa de células, en dirección perpendicular al plano del sustrato sobre el que se adhieren las células de la monocapa. En el conocimiento de los autores, no hay ninguna técnica alternativa a la de esta invención para realizar este tipo de medidas.

10 **Descripción de la invención**

Para superar estas limitaciones, la invención provee de una tecnología que pueda ser utilizada de forma sencilla, en particular por científicos y técnicos del ámbito biológico y biomédico, sin una formación especializada en biomecánica y biofísica. El dispositivo y método objeto de la invención permite realizar ensayos fácilmente con un dispositivo de fácil
15 manejo.

Además, debido a que en el campo biológico y biomédico es común trabajar con cultivos celulares, y en general con células sobre sustratos de vidrio u otros materiales, la estructura del dispositivo objeto de la invención permite que la preparación de muestras sea sencilla y fácilmente accesible al personal de laboratorio que trabaja con células.

20 El dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras micrométricas objeto de la invención comprende:

- un soporte para depositar un sustrato que contiene la muestra micrométrica,
- un elemento de aplicación de fuerza que comprende una placa paralela al soporte y desplazable linealmente respecto al mismo de modo que está configurado para
25 producir una compresión o tracción sobre la muestra micrométrica depositada en el sustrato,
- un transductor de fuerza en conexión con el elemento de aplicación de fuerza para la medición de la fuerza aplicada sobre la muestra micrométrica,
- al menos un sensor de distancia configurado para la medición del espesor de la
30 muestra durante el ensayo, por ejemplo, mediante la medición de la distancia entre el soporte o el sustrato y la base del elemento de aplicación de fuerza,

- unos medios de control en conexión con el transductor de fuerza y con el sensor para la recogida de los datos medidos.

Se entiende por espesor de la muestra una de las tres dimensiones de la misma, ordinariamente la menor y medida en la dirección perpendicular a la superficie del soporte en el cual se deposita la muestra.

Según lo anterior uno de los aspectos más relevantes de la invención es el empleo de dos superficies paralelas con un error muy pequeño y la medida precisa y control del espesor de la muestra, por ejemplo, controlando la distancia entre ellas. El dispositivo incluye un sistema de aplicación de carga y medida de espesor de la muestra en tiempo real. Opcionalmente puede comprender un sistema de imagen por microscopía.

La muestra de células, que podrán estar vivas o no, o de una lámina de pequeño espesor, deberá prepararse sobre un sustrato. El sustrato será transparente a la luz láser si se emplean sensores láser para las medidas de distancias, por ejemplo, podrá ser de vidrio. El soporte también podrá ser transparente a la luz láser, por ejemplo, mediante un orificio para el paso de la luz. En un ejemplo de realización, el sustrato podrá formar parte de una caja, que podrá tener varias formas, y que se colocará en el dispositivo para la realización de los experimentos.

Los experimentos consistirán en producir una deformación por compresión, o tracción, en la muestra de células o lámina de pequeño espesor objeto del estudio, midiendo durante el experimento la fuerza aplicada y el espesor de la muestra. En un ejemplo de realización se medirá la distancia entre superficies del sustrato y la muestra y/o el elemento de aplicación de fuerza, por ejemplo, una placa-prensa utilizada para producir la compresión. La medida precisa del espesor de la muestra durante el ensayo, que podrá obtenerse a partir de la medida de la distancia entre sustrato y placa-prensa es realizada con un sensor que lo permita, pudiendo ser un sensor láser.

Los experimentos de compresión podrán consistir en la compresión de la muestra a velocidad constante y podrán dar como resultado curvas fuerza de compresión versus, por ejemplo, distancia entre el sustrato y la placa-prensa. También, podrán realizarse experimentos de tracción empleando superficies, de sustrato y de placa-prensa, que produzcan la adhesión de la muestra. El dispositivo objeto de la invención también permite realizar experimentos a velocidades de compresión o tracción no constantes, procesos de carga y descarga, mantenimiento de la fuerza de compresión o tracción constante, o mantenimiento de la distancia entre sustrato y placa-prensa constante, etc.

Los experimentos requieren que las superficies enfrentadas de sustrato y de placa-prensa tengan una rugosidad suficientemente pequeña y sean suficientemente planas y paralelas. En un ejemplo de realización, podrán ser de calidad óptica. Es necesario que ambas superficies sean paralelas con un error muy pequeño, para garantizar que la distancia entre ambas superficies sea suficientemente homogénea en toda la superficie de la muestra.

Según lo anterior, los aspectos más importantes de la invención son el empleo de uno o varios sensores, que podrán ser sensores láser, para medir el espesor de la muestra, por ejemplo, mediante la medición de la distancia entre las superficies que comprimen la muestra, la necesidad de que ambas superficies sean muy planas y poco rugosas, pudiendo ser de calidad óptica, y el hecho de que la muestra es muy flexible, y puede ser deformada fácilmente en el dispositivo, siendo su rigidez despreciable frente a la de las placas que la comprimen.

Es también objeto de la presente invención un método para realizar ensayos mecánicos sobre muestras micrométricas que comprende los siguientes pasos:

- 15 - depositar una muestra en un sustrato sobre un soporte de un dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras micrométricas,
- desplazar linealmente un elemento de aplicación de fuerza que comprende una placa paralela al soporte de modo que se produzca una compresión o tracción sobre la muestra micrométrica depositada en el sustrato,
- 20 - medir la fuerza aplicada mediante un transductor de fuerza en conexión con el elemento de aplicación de fuerza,
- medir mediante al menos un sensor de distancia el espesor de la muestra mientras es deformada durante el ensayo, el cual podrá obtenerse de la medida la distancia entre la placa del soporte o el sustrato y la placa del elemento de aplicación de fuerza,
- 25 - recoger los datos medidos mediante unos medios de control en conexión con el transductor de fuerza y con el sensor.

El objetivo inicial de la invención ha sido utilizar un dispositivo que permita como muestra una monocapa de células, en principio vivas. Las células son muy flexibles, con un módulo de elasticidad de Young en un rango de $10 - 10^6$ Pa, como se describe en Rodríguez et al., "Review on cell mechanics: experimental and modeling approaches." Applied Mechanics Reviews, 65(6), 2013. Dicho módulo es muy inferior al del vidrio, del orden de $10^{10} - 10^{11}$ Pa,

o de un material polimérico vítreo, del orden de $10^9 - 10^{10}$ Pa, que podrían ser los materiales del soporte de la muestra y de la placa-prensa. El dispositivo sería también apropiado para estudiar láminas micrométricas con una flexibilidad similar a la de las células.

Breve descripción de los dibujos

- 5 Figura 1. Esquema del procedimiento experimental. La muestra de células o de lámina micrométrica es preparada sobre un sustrato transparente, y se emplea una placa-prensa que podrá ser transparente para comprimir al conjunto de células. Las imágenes a, b, c muestran situaciones de mayor cercanía progresiva entre la placa-prensa y el sustrato con células.
- 10 Figura 2. En esta figura se muestran de nuevo las imágenes de la figura 1, representando además el sustrato con células integrado en una caja como soporte (por ejemplo, similar a una placa tipo Petri), de modo que el ensayo se realiza con las células en medio líquido.
- Figura 3. Ejemplo de realización de un procedimiento para la medida de la distancia entre sustrato con células y el elemento de aplicación de fuerza. En esta figura se muestran de nuevo las imágenes de la figura 1, representando además un sensor de distancia, en dos posiciones, para medida de la distancia entre sustrato con células y placa-prensa.
- 15 Figura 4. Curva esquemática fuerza de compresión, F , frente a distancia entre sustrato con células y placa-prensa, d . El espesor inicial de la muestra estimado es d_0 .
- Figura 5. Esquema de un ejemplo de realización de un dispositivo en el momento en que se observan las células para obtener una micrografía.
- 20 Figura 6. Esquema de un ejemplo realización de dispositivo en el momento en que se mide la distancia entre superficies empleando un sensor láser.
- Figura 7. (a) Imagen de un cultivo de células sobre un sustrato de vidrio. (b) Misma imagen segmentada, para medir el área total que ocupan las células.
- 25 Figura 8. (a) Imágenes de un gel de poliacrilamida con concentración del 15% durante un ensayo de compresión, en el que se aplica una fuerza F sobre un gel de geometría cilíndrica, con sección transversal sin deformar A_0 y espesor sin deformar d_0 . (b) Curva de fuerza de compresión F frente a la distancia, d , que separa las placas-prensas durante el ensayo de compresión. (c) Curva de tensión nominal, $s = F / A_0$, frente a la deformación nominal del gel, $e = (d_0 - d) / d_0$.
- 30

Figura 9. Esquema de un ejemplo de realización de una posible distribución de orificios en placa-prensa, para facilitar el paso del fluido en el que se encuentra la muestra.

Descripción detallada de la invención

5 La figura 1 representa un esquema del procedimiento experimental. La muestra (16) de células o de lámina micrométrica es preparada sobre un sustrato (17) transparente y se emplea una placa-prensa (6), que podrá ser transparente para comprimir al conjunto de células.

10 La figura 2 muestra las imágenes de la figura 1, representando además el sustrato (17) con células integrado en una caja (7), por ejemplo, similar a una placa tipo Petri, de modo que el ensayo se realiza con las células en medio líquido.

15 La figura 3 muestra un ejemplo de realización de un procedimiento para la medida de la distancia entre sustrato (17) con células y la placa (6) o placa-prensa (6) del elemento de aplicación de fuerza. En esta figura se muestran de nuevo las imágenes de la figura 1, representando además un sensor (15) de distancia, en dos posiciones, para medida de la distancia entre sustrato (17) con células y la placa-prensa (6).

La figura 4 representa una curva esquemática fuerza de compresión, F , frente a distancia entre sustrato (17) con células y placa-prensa (6), d . El espesor inicial de la muestra estimado es d_0 .

Las figuras 5 y 6 muestran un ejemplo de realización del dispositivo.

20 En la figura 5 se recoge un esquema del dispositivo permitiendo adquirir una imagen micrográfica de la muestra (16) y en la figura 6 un esquema del dispositivo en el momento en el que un sensor (15) láser mide la distancia entre las superficies utilizadas para comprimir la muestra.

25 El dispositivo puede comprender uno o varios sensores (15) fijos y/o uno o varios sensores (15) móviles para medir distancias en varios puntos.

En un ejemplo de realización el dispositivo comprende al menos un actuador lineal (9), en la figura se muestran unos actuadores lineales (9), en conexión con la base (8, 9, 10) para el desplazamiento de la misma (8, 9, 10) para lograr su paralelismo con el elemento de aplicación de fuerza (4, 5, 6).

30 Según lo indicado anteriormente, el dispositivo representado en la figura 5 comprende adicionalmente un sistema de imagen por microscopía para obtener una imagen micrográfica de la muestra (16).

El dispositivo mostrado comprende:

- 5 - un soporte (8, 9, 10) para depositar un sustrato (17) que contiene la muestra micrométrica (16). En el ejemplo de realización mostrado el soporte (8, 9, 10) comprende una placa soporte (8) de una caja (7) con células, actuadores lineales (9) que pueden ser piezoeléctricos para nivelación de la placa soporte y una plataforma inferior (10).
- 10 - un elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) paralelo al soporte (8, 9, 10) y desplazable linealmente respecto al mismo (8, 9, 10) de modo que está configurado para producir una compresión o tracción sobre la muestra micrométrica (16) depositada en el sustrato (17),
- un transductor de fuerza (2) en conexión con el elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) para la medición de la fuerza aplicada sobre la muestra micrométrica (16),
- 15 - al menos un sensor (15) de distancia configurado para la medición en varios puntos de la distancia entre el soporte (8, 9, 10) o el sustrato (17) y una superficie del elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6).

El elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) de las figuras 5 y 6 comprende un actuador lineal (1), en conexión con el transductor de fuerza (2), unas barras (4) de anclaje al transductor de fuerza (2), un elemento de unión (5) entre la placa (6) y las barras (4) y la propia placa (6) que puede ser transparente.

20 Comprende también un sistema de iluminación (3) y un sistema de imagen por microscopía que comprende un objetivo (11) y también una cámara de adquisición de imágenes (13).

Adicionalmente comprende una base del dispositivo (12) y unos soportes (14) para el sistema de iluminación y para el sistema de aplicación de fuerza.

25 Para garantizar que la placa (6) del elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) y el sustrato (7) sean suficientemente paralelos durante los experimentos, en una fase inicial del experimento se podrá utilizar el sensor (15) del equipo destinado, por ejemplo, a medir la distancia entre las superficies, midiendo y ajustando la distancia normalmente en al menos tres puntos.

30 Para ello, el actuador lineal (9) está en conexión con los medios de control, estando los medios de control configurados para recibir una señal del sensor (15) relativa a la distancia en al menos tres puntos distintos del soporte (8, 9, 10) y la base (6) del elemento de

aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) y actuar sobre el actuador lineal (9) para su desplazamiento.

El dispositivo podrá incluir varios actuadores lineales (9), que podrán ser piezoeléctricos. El software de control del equipo podrá permitir las medidas de las distancias iniciales en al menos tres puntos y, a partir de ellas, calcular los desplazamientos requeridos de los actuadores lineales (9) para asegurar que las superficies son paralelas con un error pequeño. Este proceso podrá ser automático e incluir un acercamiento inicial de la placa-prensa (6) al sustrato (7), previo a la medida y ajuste de distancias entre ambas superficies. Sucesivas comprobaciones y ajustes podrán realizarse durante el proceso del experimento.

La figura 7 muestra una imagen microscópica de una muestra de células sobre un sustrato (7) de vidrio, y la misma imagen en la que se identifica de forma automática el perímetro de las células, para poder cuantificar la fracción del área ocupada por células.

El elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) y el sustrato (17) comprenden una superficie que produce adhesión a la muestra (16). Pueden formar enlaces débiles o covalentes con ella, o será posible recubrir las superficies del sustrato y/o de la placa-prensa (6) con moléculas que puedan producir la adhesión de la muestra (16) del experimento de modo que también será posible realizar ensayos de tracción de la muestra.

La posibilidad mencionada de utilizar para la placa-prensa (6) y para el sustrato (17) materiales que se adhieran a la muestra (16), o que formen enlaces débiles o covalentes con ella, o recubrimientos de las superficies del sustrato y/o de la placa-prensa (6) con moléculas, permitirá medir fuerzas relacionadas con la interacción entre las moléculas y la muestra (16) o también seleccionar células, o bien algunos componentes del material de la muestra (16), al quedar adheridos, o no, a las moléculas que recubran una u otra de las superficies.

También podrá ser importante que la placa-prensa (6) permita el paso de fluido a través de ella. Para ello, la placa (6) del elemento de aplicación de fuerza (4, 5, 6) es porosa y/o comprende orificios para el paso de fluido a través de ella. En la figura 9 se representa un ejemplo de realización.

Para tener en cuenta los efectos del fluido y su evacuación a través de la placa-prensa (6), podrán realizarse ensayos sin muestra. Las curvas obtenidas en estos ensayos servirán como calibración del efecto del fluido para cada velocidad de aplicación de la fuerza de compresión. Estas curvas permitirán corregir, en los experimentos, el efecto del fluido,

obteniendo un valor corregido de la fuerza ejercida sobre la muestra F_m , restando el efecto del fluido F_f a la fuerza medida por el sensor, F . Esto es,

$$F_m = F - F_f$$

Las curvas podrán estar ya incluidas en el software de control y análisis del dispositivo, o
5 podrán ser obtenidas por el usuario.

El análisis del experimento incluirá el análisis de la curva o curvas fuerza de compresión frente a distancia entre superficies de compresión, ver figura 4, y de la imagen microscópica de la muestra (16), ver figura 7.

Los experimentos permitirán computar, a partir del área de muestra ensayada, ver figura 7,
10 la tensión nominal s , calculada como fuerza de compresión F dividida por el área de la muestra (16) A_m :

$$s = F_m/A_m$$

El área de la muestra (16) A_m podrá calcularse a partir de imágenes microscópicas, ver
figura 7. Asimismo, se podrá computar, en función de la distancia entre superficies d , ver
15 figura 4, la deformación nominal de compresión de la muestra (16), e_c , tras estimar el espesor nominal de la muestra d_0 , ver figura 4 y ejemplo del análisis de geles en ensayo de compresión en figura 8:

$$e_c = (d_0 - d)/d_0$$

En el caso de experimentos de tracción podrá calcularse la deformación a partir de esa
20 misma expresión, o calcularla con el signo opuesto:

$$e_t = (d - d_0)/d_0$$

Donde la deformación e_t sería positiva si durante el ensayo el espesor de la muestra (16) deformada d es mayor del espesor sin deformar d_0 .

Los ensayos podrán realizarse con la muestra (6) en medio líquido, o con la muestra en aire.

25 El dispositivo podrá comprender opcionalmente un sistema para control de temperatura de la muestra (16) durante el ensayo y opcionalmente un sistema para control de la concentración de gases en la muestra (16) durante el ensayo, en particular CO_2 .

El procedimiento metodológico de un experimento podrá ser el siguiente:

- (i) Inicialmente se prepara la muestra (16) sobre el sustrato (17) transparente.

- (ii) Se colocan en el dispositivo el sustrato (17) con la muestra (16) y la placa-prensa (6). Ambos elementos podrán ser desechables.
- (iii) Si el dispositivo incluye el sistema de microscopía, podrá obtenerse una imagen de la muestra (16) de células antes del experimento, o bien en otro momento. Si el dispositivo no incluye el sistema de microscopía, podrá obtenerse una imagen de microscopía previamente y/o tras finalizar el experimento en el dispositivo.
- (iv) El sensor (15) láser, situado secuencialmente en tres posiciones distintas, o el empleo de varios sensores fijos, permitirá orientar las dos superficies de compresión para que sean paralelas, mediante los actuadores lineales (9) unidos al soporte (8).
- (v) Durante el ensayo se podrán realizar uno o varios procesos de carga y descarga de la muestra (16), que permitirán obtener curvas fuerza de compresión frente a distancia entre superficies de compresión (ver figura 4), a partir de las cuales se podrán calcular otros parámetros. También se podrán hacer ensayos a varias velocidades, ensayos en los que se mantenga constante la distancia entre placas o la fuerza de compresión, etc.
- (vi) Será posible también hacer ensayos en diferentes instantes de tiempo, que opcionalmente podrían programarse en el software de control del equipo, para hacer un seguimiento del efecto en células vivas de alguna sustancia, lo cual podría ser de interés, por ejemplo, en estudios con medicamentos.
- (vii) Tras finalizar el ensayo, se podrá retirar la muestra (16) del equipo. El análisis de las curvas y la obtención de parámetros mecánicos podrá hacerse tras concluir el experimento o en tiempo real. Tanto la caja (7) y sustrato (17) para la muestra (16), como la placa-prensa (16) podrán ser desechables.
- Un ejemplo de realización del experimento sería la obtención de las curvas de compresión tensión nominal s frente a deformación de compresión e_c , para células vivas en dos estados biológicos diferentes, sean dos muestras (16) diferentes o la misma muestra (16) en diferentes tiempos. La diferencia entre las curvas permitirá identificar una diferencia biofísica entre las dos muestras (16). Tal comparación podrá ser de interés en múltiples campos; por ejemplo, para estudiar el proceso de diferenciación progresiva de células a partir de células madre, o para estudiar el efecto de fármacos sobre un cultivo celular, estudiando cómo cambian las propiedades mecánicas de las células a lo largo del tiempo tras la aplicación del fármaco, para el cual podrá estudiarse el efecto en varias concentraciones.

REIVINDICACIONES

1.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, caracterizado por que comprende:

- 5
- un soporte (8, 9, 10) para depositar un sustrato (17) que contiene la muestra (16) micrométrica,
 - un elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) que comprende una placa (6) paralela al soporte (8, 9, 10) y desplazable linealmente respecto al mismo (8, 9, 10) de modo que está configurado para producir una compresión o tracción sobre la

10

 - un transductor de fuerza (2) en conexión con el elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) para la medición de la fuerza aplicada sobre la muestra micrométrica (16),
 - al menos un sensor (15) de distancia configurado para la medición del espesor de la

15

 - unos medios de control en conexión con el transductor de fuerza (2) y con el sensor (15) para la recogida de los datos medidos.
 - al menos un actuador lineal (9) en conexión con el soporte (8, 9, 10) para el desplazamiento del mismo (8, 9, 10) para lograr su paralelismo con la base (6) del

20

 - elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6).

2.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según la reivindicación 1, caracterizado por que el sensor (15) de distancia está configurado para la medición de la distancia entre superficies del sustrato (17) y la muestra (61) y/o el elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) para la medición del espesor de la muestra (16).

25

3.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el actuador lineal (9) está en conexión con los medios de control, estando los medios de control configurados para recibir una señal del sensor (15) relativa a la distancia en al menos tres puntos del soporte (8, 9, 10) y la base del elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) y actuar sobre

30

el actuador lineal (9) para su desplazamiento.

4.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el elemento de

aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) y el sustrato (17) comprenden una superficie que produce adhesión a la muestra (16).

5 5.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende adicionalmente un sistema de imagen por microscopía para obtener una imagen micrográfica de la muestra (16).

10 6.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende adicionalmente un sistema para control de temperatura de la muestra (16) durante el ensayo.

15 7.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende adicionalmente un sistema para control de la concentración de gases en la muestra (16) durante el ensayo.

8.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que las superficies del sustrato (17) y del elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) son de calidad óptica.

20 9.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la placa (6) del elemento de aplicación de fuerza (4, 5, 6) es porosa y/o comprende orificios para el paso de fluido a través de ella.

25 10.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende una caja (7) para depositar la muestra (16) que integra el sustrato (17).

11.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende uno o varios sensores (15) láser.

30 12.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según la reivindicación 12, caracterizado por que el sustrato (17) es transparente a la luz empleada por los sensores (15) láser.

13.- Dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende uno o

varios sensores (15) fijos y/o uno o varios sensores (15) móviles para medir distancias en varios puntos.

5 14.- Método para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas que comprende los siguientes pasos:

- depositar una muestra (16) en un sustrato (17) y posteriormente el sustrato (17) sobre un soporte (8, 9, 10) de un dispositivo para realizar ensayos mecánicos sobre muestras (16) micrométricas,
- 10 - desplazar linealmente un elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6) que comprende una placa (6) paralela al soporte (8, 9, 10) de modo que se produzca una compresión o tracción sobre la muestra micrométrica (16) depositada en el sustrato (17),
- desplazar el soporte (8, 9, 10) mediante al menos un actuador lineal (9) en conexión con el soporte (8, 9, 10) para lograr su paralelismo con la base (6) del elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6),
- 15 - medir la fuerza aplicada mediante un transductor de fuerza (2) en conexión con el elemento de aplicación de fuerza (1, 2, 4, 5, 6),
- medir mediante al menos un sensor (15) de distancia el espesor de la muestra (16) durante el ensayo,
- 20

recoger los datos medidos mediante unos medios de control en conexión con el transductor de fuerza (2) y con el sensor (15).

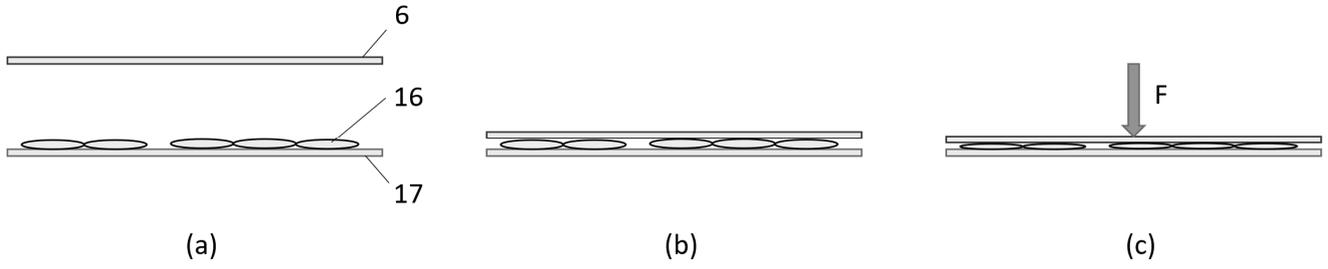


Fig. 1

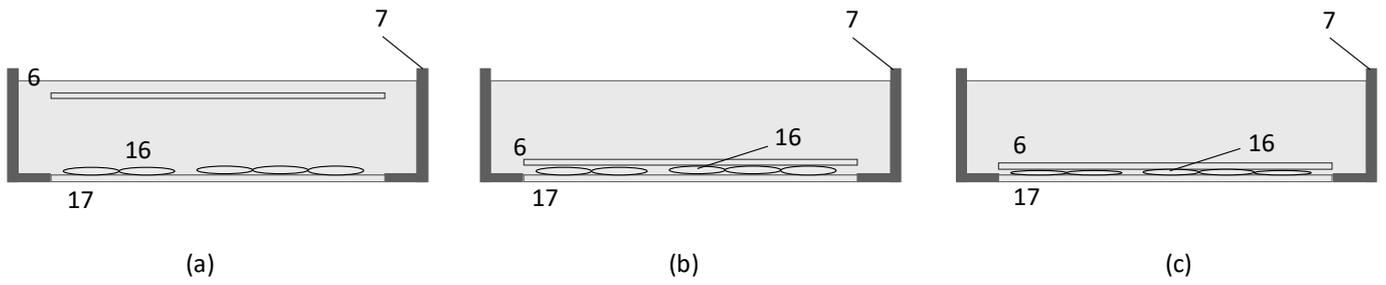


Fig. 2

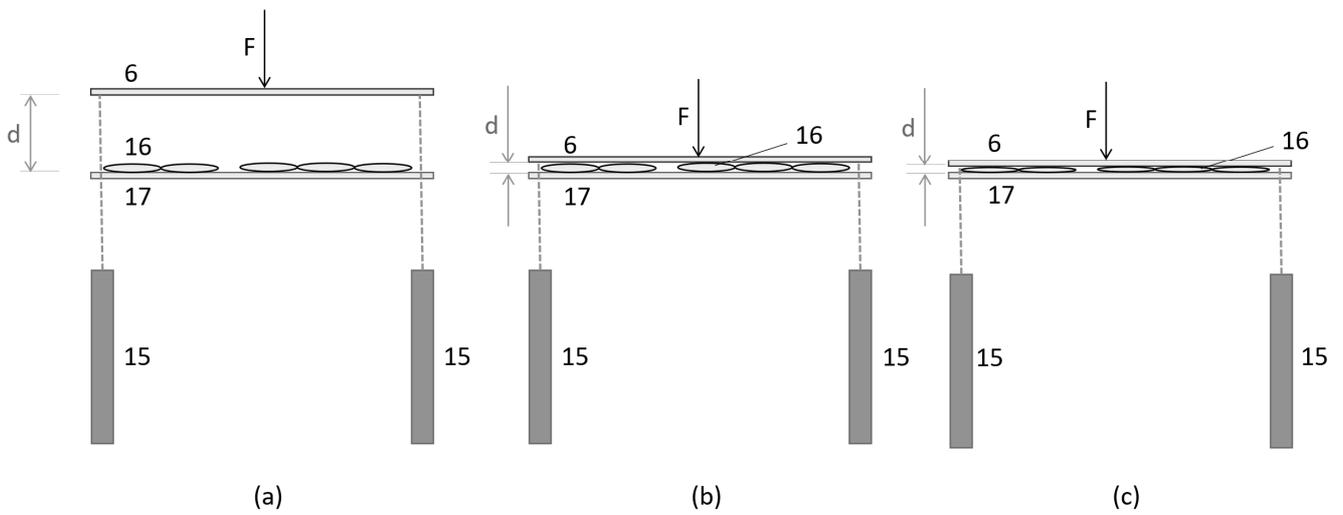


Fig. 3

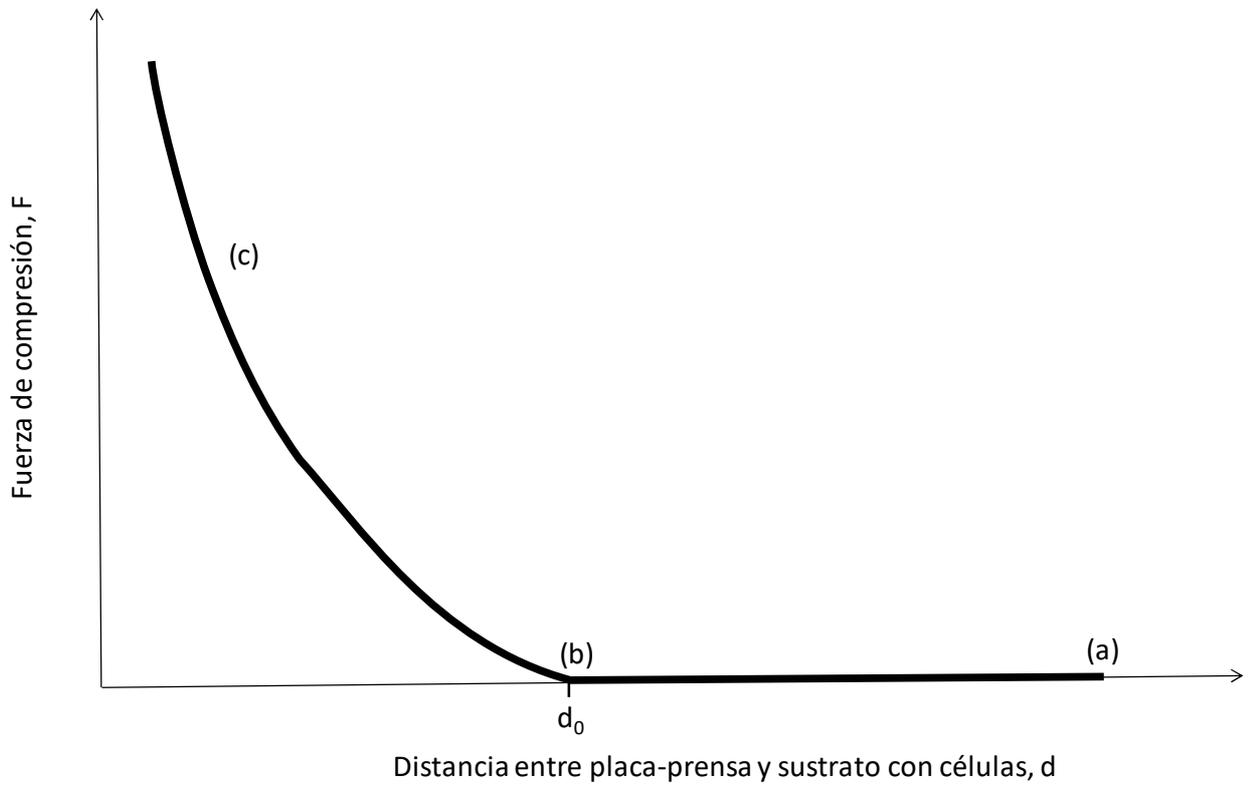


Fig. 4

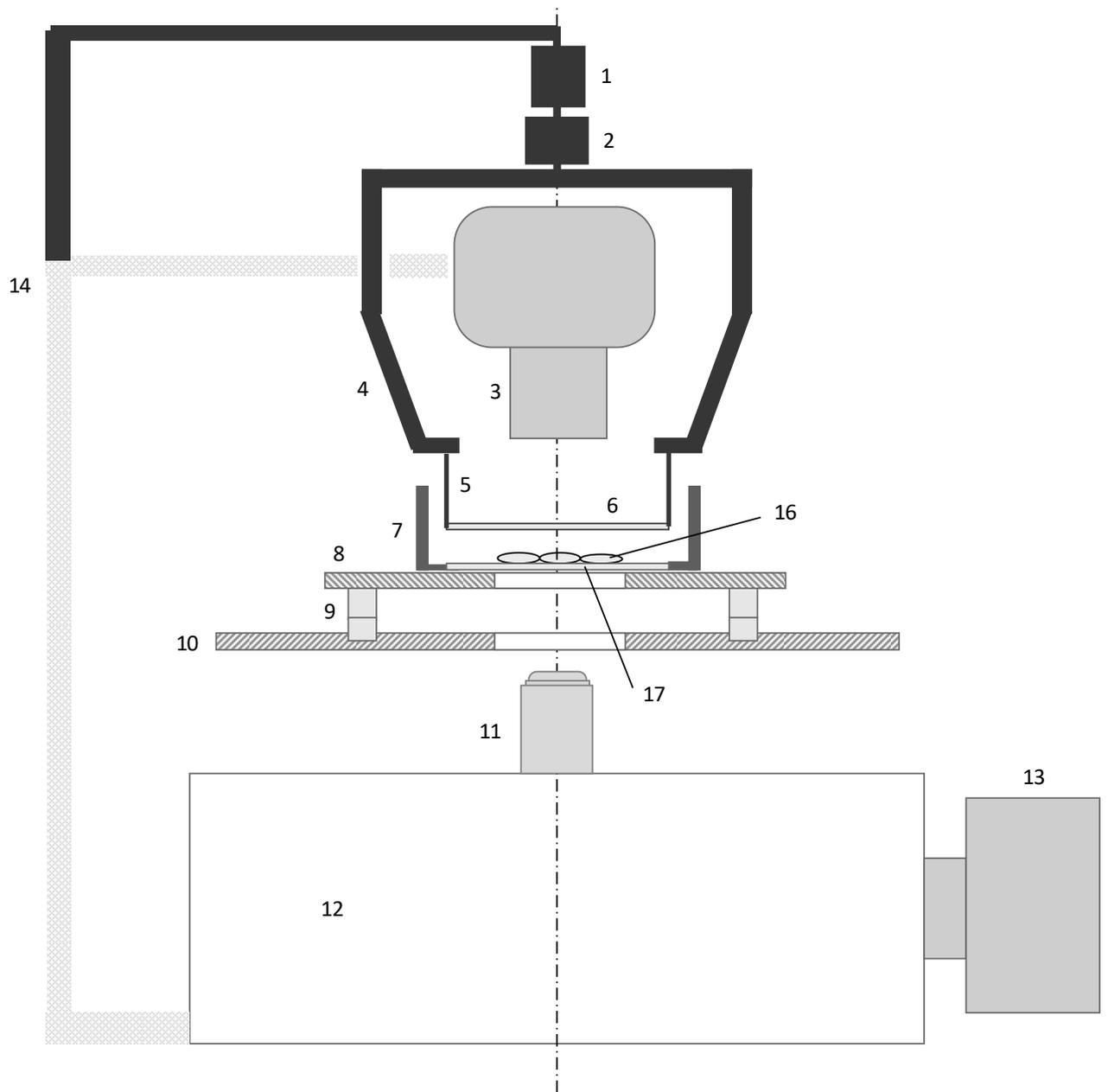


Fig. 5

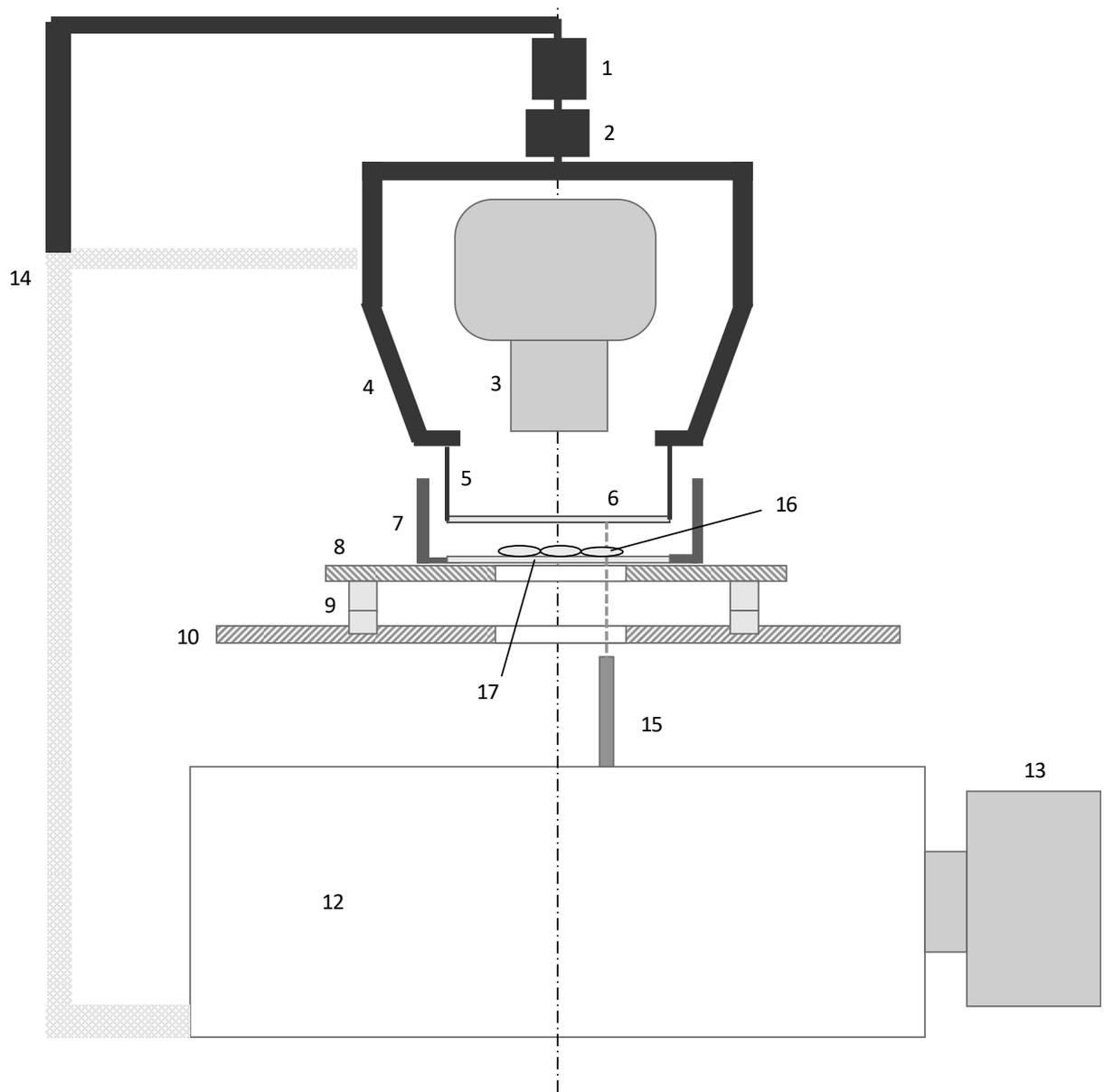


Fig. 6

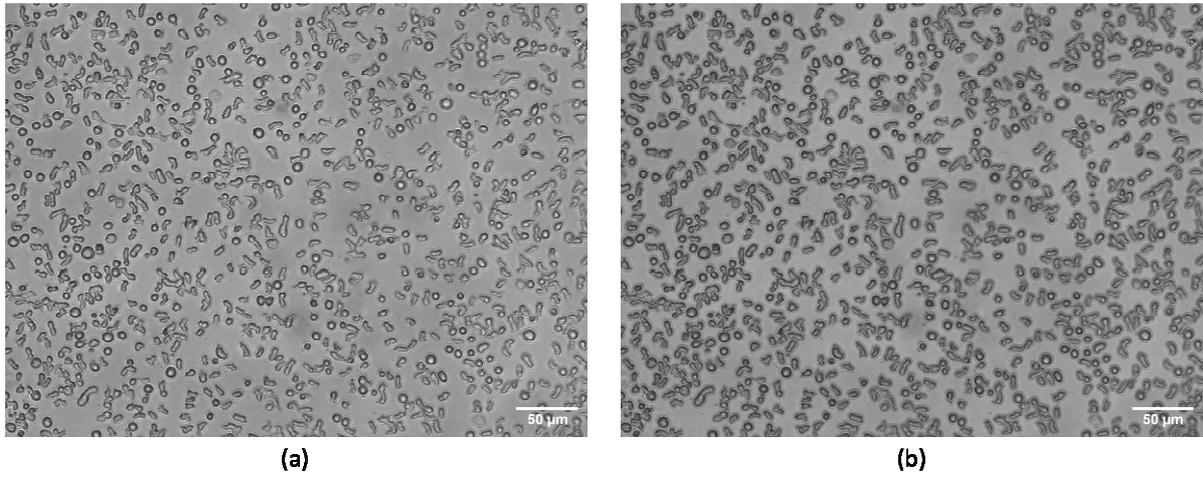


Fig. 7

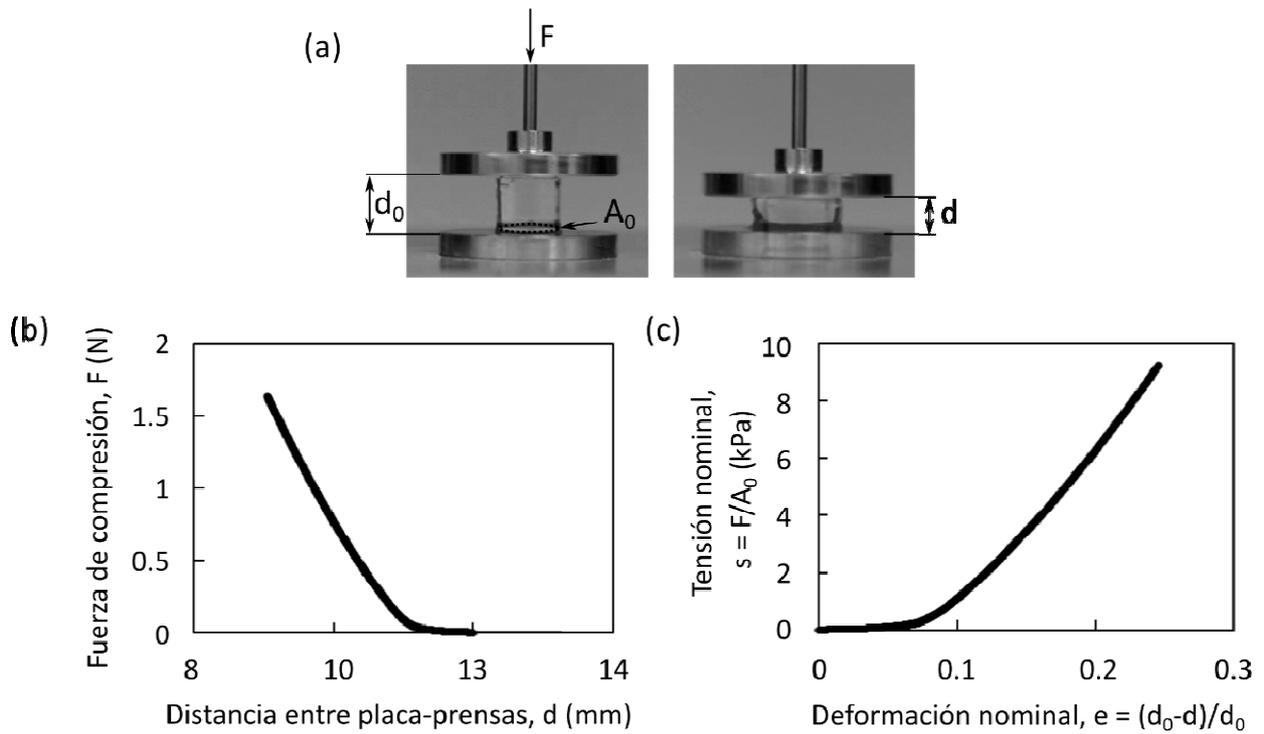


Fig. 8

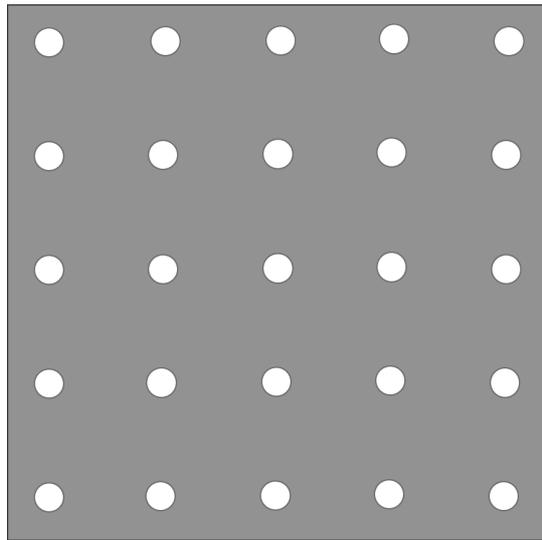


Fig. 9