

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 128 705**

21 Número de solicitud: 201400642

51 Int. Cl.:

C40B 60/00

(2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

25.07.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

15.10.2014

71 Solicitantes:

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (100.0%)
Avenida Blasco Ibáñez, 13
46010 Valencia ES**

72 Inventor/es:

**GARCÍA GIL-PEROTÍN, Sara María;
DURÁN MORENO, María;
FUENTES MAESTRE, Jorge Antonio y
GARCÍA VERDUGO, José Manuel**

54 Título: **Porta objetos multipocillo para microscopio**

ES 1 128 705 U

DESCRIPCIÓN

Portaobjetos multipocillo para microscopio

5 **Sector de la técnica**

La presente invención concierne, en general, a un portaobjetos multipocillo para microscopio, que comprende una placa base de vidrio como soporte y fondo de los pocillos, y más en particular a un portaobjetos apto para el montaje de muestras con volumen, que comprende una placa con unas aberturas pasantes adosada sobre la placa base de vidrio.

10 La presente invención es aplicable, entre otros, a los campos de la técnica relativos a la Biotecnología, las Neurociencias y las Ciencias Biológicas.

Estado de la técnica anterior

Los portaobjetos habituales no permiten el montaje de muestras con volumen ya que los cubreobjetos son rígidos y suelen quedar burbujas al montar, y es imposible la estanqueidad del sistema. Por ello, resulta problemático montar muestras de más de 500 µm de altura o espesor, ya que esto provoca problemas de montaje, penetración del medio de montaje, observación al microscopio y de preservación. Los presentes inventores han podido constatar la existencia de estos problemas y no conocen la existencia en el mercado de
20 ningún dispositivo de bajo coste (de uso habitual) que incluya características que resuelvan tales problemas.

Por la solicitud de patente con número de publicación US 2011/0172128 A1 se conoce un portaobjetos multipocillo para microscopio que reúne las características del preámbulo de la reivindicación 1 de la presente invención, ya que comprende, para algunos de sus ejemplos de realización, una placa base de vidrio y, sobre la misma, una agrupación ordenada de aberturas pasantes que, junto con el fondo que les proporciona la placa base, constituyen unos respectivos pocillos.

25 En US 2011/0172128 A1 cada una de las aberturas pasantes está constituida por la oquedad de un respectivo elemento tubular, por ejemplo de plástico, estando todos los elementos tubulares, según una realización, interconectados entre sí por sus bases por una tira o capa que se extiende entre las paredes laterales externas de elementos tubulares adyacentes, adosándose tal tira o capa también a la placa base de vidrio, donde la altura de
35 los elementos tubulares es muchísimo mayor que la de tal tira o capa de manera que los elementos tubulares sobresalen en gran medida con respecto a la placa base.

Los pocillos constituidos por el portaobjetos propuesto en US 2011/0172128 A1 son tan profundos que no permitirían el montaje de muestras con volumen (técnica conocida por sus términos en inglés "whole-mount"), ya que bailarían en el pocillo, cuando en tales casos lo que se pretende es que las muestras queden parcialmente aplastadas. Además, alrededor de los pocillos hay un sistema de paredes aislante medioambiental y térmico sólido o semi-sólido, como por ejemplo un gel polimerizado, que complica estructural y funcionalmente el portaobjetos propuesto en tal solicitud.

Por otra parte, la empresa Ibidi® comercializa un portaobjetos multipocillo para inmunofluorescencia que comprende una placa base de plástico, lo que hace que no sea adecuado para microscopía confocal. Parte de los pocillos se encuentran definidos por unas porciones tubulares que se extienden desde una placa dispuesta sobre la placa base, lo que hace que los pocillos tengan una altura de varios milímetros. Además de estas porciones tubulares, otras partes del portaobjetos de Ibidi® están sobreelevadas, en particular las que rodean al área ocupada por los pocillos, lo que también impediría su uso con un microscopio confocal, ya que tales partes sobreelevadas no permitirían encajar el portaobjetos en el enganche a ese efecto de un microscopio confocal, al darle la vuelta (porque en este caso se tendría que observar boca abajo).

Asimismo, existen diversas referencias que demuestran que existe la necesidad de un portaobjetos multipocillo para el montaje de muestras con volumen. Algunas de dichas referencias se citan a continuación, y establecen diferentes métodos para fabricar ad-hoc portaobjetos multipocillo para muestras con volumen.

Una de dichas referencias la constituye el siguiente enlace <http://www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource&rid=11330&source=pagetrap>, de la compañía abcam®, donde comentan que algunos investigadores quieren ver y obtener imágenes de embriones tal y como son. Se pueden tomar imágenes de muestras con volumen mientras flotan en glicerol en una placa petri. Comentan los problemas que se presentan al usar una placa petri para una muestra con volumen. En el caso de muestras pequeñas y aun añadiendo un medio de montaje espeso como el glicerol, se ha de poner grasa en los extremos del cubre y corre peligro de dañarse el cubreobjetos al posicionarlo en el microscopio. Para mayores tamaños se requiere el encastrado en geles de mayor consistencia y corte, no pudiéndose obtener imágenes tridimensionales de forma directa.

En la misma línea, en el artículo titulado "Whole mount techniques to evaluate subepithelial cellular populations in the adult mouse intestine", de Keely G. McDonald and Rodney D. Newberry; BioTechniques 43:50-56 (Julio 2007) exponen que para ver una muestra con volumen del intestino usando luz de alta potencia o microscopía de fluorescencia con un microscopio vertical, el tejido puede ser montado entre dos portaobjetos mediante la aplicación de una pequeña gota de pegamento alrededor del portaobjetos para mantener el intestino seguro e hidratado para su visualización. En este caso, el método utilizado supone unos problemas técnicos derivados de la puesta a punto de la técnica, alejada de la simplicidad del dispositivo, y no permite mantener una estanqueidad a largo plazo

Explicación de la invención

Resulta, por tanto, necesario ofrecer una alternativa al estado de la técnica que cubra las lagunas halladas en el mismo, mediante el aporte de un portaobjetos multipocillos que resulte apto para el montaje de muestras con volumen, y que pueda fabricarse industrialmente.

Con tal fin, la presente invención concierne a un portaobjetos multipocillo para microscopio, que comprende una placa base de vidrio y, como mínimo adosada sobre la placa base de vidrio, una agrupación ordenada de aberturas pasantes, de manera que cada una de las aberturas pasantes junto con el fondo que constituye la porción de placa base de vidrio sobre la que se encuentra adosada constituye un pocillo.

A diferencia de los portaobjetos multipocillo para microscopio conocidos, el propuesto por la presente invención está configurado para el montaje de muestras con volumen, donde la mencionada agrupación ordenada de aberturas pasantes está constituida por una placa que incluye a las mencionadas aberturas pasantes y que se encuentra adosada por una de sus caras a una de las caras de la placa de vidrio.

Con preferencia, la placa que incluye a las aberturas pasantes es de plástico, aunque otros materiales también son válidos, para otros ejemplos de realización.

Según un ejemplo de realización preferido la placa que incluye a las aberturas pasantes no solamente se encuentra adosada a la placa de vidrio sino que también se encuentra adherida a la misma.

De manera preferida ambas placas tienen las mismas dimensiones, al menos por lo que se refiere a largo y ancho, tal como 76 mm x 26 mm para cumplir con un formato estándar de portaobjetos para microscopio.

- 5 En cuanto al grosor, en general la placa que incluye a las aberturas pasantes tiene un grosor de entre 0,3 y 1,5 mm, con preferencia de entre 0,5 y 1 mm, habiéndose construido, y utilizado con muestras biológicas, un prototipo con una impresora 3D donde el grosor es de 1mm, para unas aberturas de 6 mm de diámetro, lo que proporciona un volumen para cada pocillo de 28 mm³, adecuado para el montaje de muestras voluminosas (de más de 500 µm de grosor).

Mediante la disposición de un cubremuestras sobre la cara expuesta de la placa que incluye a las aberturas pasantes, una vez realizado el montaje de las muestras de volumen en los pocillos, se consigue garantizar la estanqueidad de los pocillos así como un montaje más limpio de la muestra que en los portaobjetos convencionales, así como una correcta observación. El medio de montaje y el clarificador (este último opcional) dotan de solidez y transparencia a la muestra. La porción de cristal de la placa base permite el paso de la fluorescencia (incluyendo el microscopio confocal) o de la luz transmitida, con lo cual el portaobjetos es apto para su uso mediante diversas técnicas de microscopía

Las ventajas de la presente invención respecto al estado del arte son diversas, entre las que se encuentran su bajo coste, que el portaobjetos es fungible, que se consigue un ahorro de tiempo durante el montaje de las muestras y que ofrece una mejor calidad en la observación y preservación de las muestras.

Breve descripción de los dibujos

Las anteriores y otras ventajas y características se comprenderán más plenamente a partir de la siguiente descripción detallada de unos ejemplos de realización con referencia a los dibujos adjuntos, que deben tomarse a título ilustrativo y no limitativo, en los que:

la Fig. 1 muestra, mediante sendas vistas en planta, a las dos placas del portaobjetos propuesto por la presente invención, para un ejemplo de realización;

la Fig. 2 ilustra, en perspectiva, a las dos placas de la Fig. 1 en una posición previa al adosado de una sobre la otra;

la Fig. 3 ilustra a las mismas placas de la Fig. 2 una vez ambas placas ya se encuentran adosadas entre sí por una de sus caras; y

la Fig. 4 es una vista en sección longitudinal obtenida según un plano de corte que pasa por el centro geométrico de las tres aberturas del portaobjetos de la Fig. 3, con el añadido de un cubreobjetos sobre ambas placas tras haber montado una muestra con volumen en el pocillo central.

Descripción detallada de unos ejemplos de realización

Según se aprecia en las Figuras adjuntas, el portaobjetos multipocillo para microscopio propuesto por la presente invención comprende una placa base de vidrio 2 y, adosada (preferentemente también adherida) sobre la misma, una placa 1 que incluye a una fila de aberturas pasantes O1, O2, O3 equidistantes, de manera que cada una de las aberturas pasantes O1, O2, O3 junto con el fondo que constituye la porción de placa base de vidrio 2 sobre la que se encuentra adosada constituye un pocillo P1, P2, P3, según se ilustra en las Figuras 3 y 4.

Se han indicado las aberturas pasantes, en las Figuras 1 y 2, como O1, O2 y O3 antes de constituir los pocillos, es decir antes de adosar ambas placas 1, 2. Tras disponer a la placa 1 sobre la placa 2, según se ilustra en las Figuras 3 y 4, los pocillos ya se encuentran constituidos, por lo que se han indicado con las referencias P1, P2 y P3.

Para el ejemplo de realización ilustrado ambas placas 1, 2 tienen las mismas dimensiones, en cuanto a largo L1, L2, ancho A1, A2 y grosor G1, G2, en particular de 76 mm x 26 mm x 1 mm, aunque otros valores dimensionales son posibles para otros ejemplos de realización.

El uso habitual del portaobjetos propuesto por la invención consiste en insertar una o más muestras M en uno o más respectivos pocillos P1, P2, P3, preferentemente incluyendo un medio de montaje gelificado, y cubrirlos, es decir cubrir la placa 1, mediante una placa cubreobjetos 3, según se ilustra en la Fig. 4, quedando la muestra M parcialmente aplastada.

Un experto en la materia podría introducir cambios y modificaciones en los ejemplos de realización descritos sin salirse del alcance de la invención según está definido en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1.- Portaobjetos multipocillo para microscopio, que comprende una placa base de vidrio (2) y, al menos adosada sobre la placa base de vidrio (2), una agrupación ordenada de
5 aberturas pasantes (O1, O2, O3), de manera que cada una de las aberturas pasantes (O1, O2, O3) junto con el fondo que constituye la porción de placa base de vidrio (2) sobre la que se encuentra adosada constituye un pocillo (P1, P2, P3), **caracterizado** porque está configurado para el montaje de muestras con volumen, donde dicha agrupación ordenada de aberturas pasantes (O1, O2, O3) está constituida por una placa (1) que incluye a dichas
10 aberturas pasantes (O1, O2, O3) y que se encuentra adosada por una de sus caras a una de las caras de la placa de vidrio (2).

2.- Portaobjetos según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha placa (1) que incluye a las aberturas pasantes (O1, O2, O3) es de plástico.

15 3.- Portaobjetos según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la placa (1) que incluye a las aberturas pasantes (O1, O2, O3) se encuentra adherida a la placa de vidrio (2).

20 4.- Portaobjetos según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque ambas placas, la placa base de vidrio (2) y la placa (1) que incluye a las aberturas pasantes (O1, O2, O3), tienen las mismas dimensiones, al menos por lo que se refiere a largo (L1, L2) y ancho (A1, A2).

25 5.- Portaobjetos según la reivindicación 4, caracterizado porque dicho largo (L1, L2) es de 76 mm y dicho ancho (A1, A2) de 26 mm.

6.- Portaobjetos según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la placa que incluye a las aberturas pasantes tiene un grosor (G2) de entre 0,3 y 1,5
30 mm, con preferencia de entre 0,5 y 1 mm.

7.- Portaobjetos según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la placa base de vidrio tiene un grosor (G1) de entre 0,3 a 1,5 mm, con preferencia de 1 mm.

35

- 8.- Portaobjetos según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dicha agrupación ordenada de aberturas pasantes (O1, O2, O3) comprende al menos una fila de aberturas pasantes (O1, O2, O3) equidistantes entre sí.
- 5 9.- Portaobjetos según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende una placa cubreobjetos de vidrio (3) configurada para disponerse adosada sobre la cara de la placa (1) que incluye a las aberturas pasantes (O1, O2, O3) opuesta a la cara adosada sobre la placa base de vidrio (2).

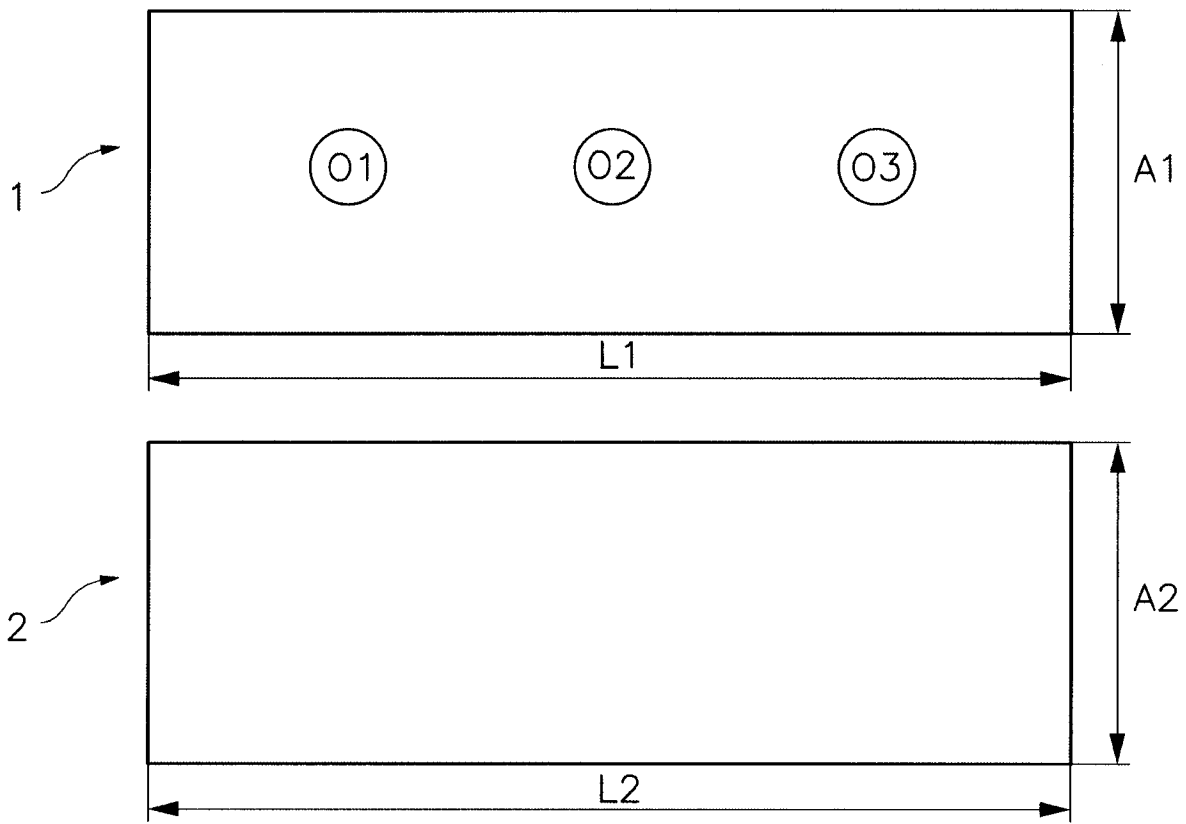


Fig. 1

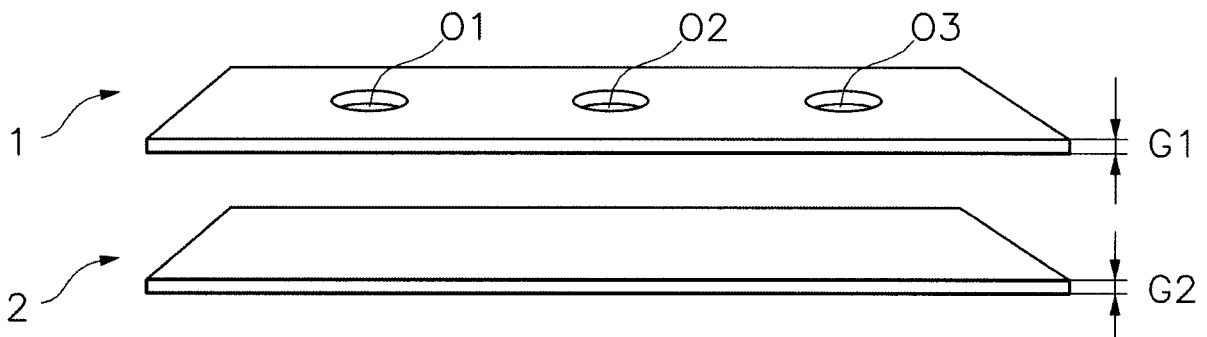


Fig. 2

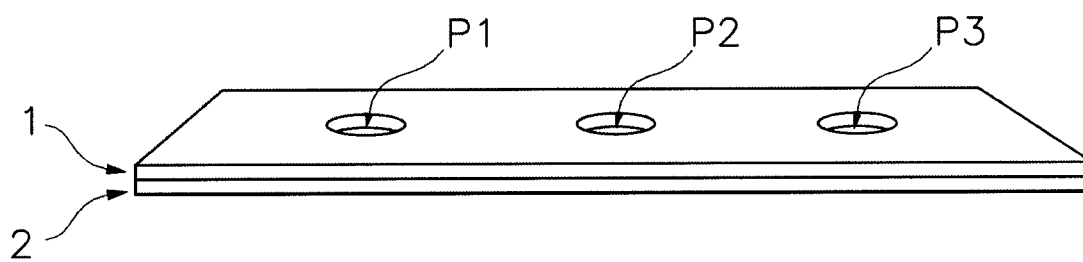


Fig. 3

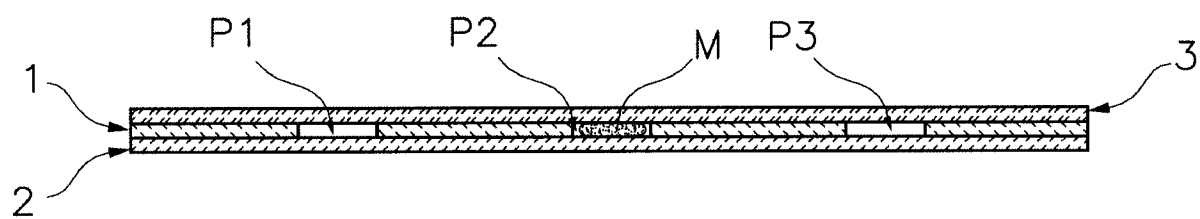


Fig. 4