

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 263 814**

21 Número de solicitud: 202130179

51 Int. Cl.:

C12M 1/12 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

30.04.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

26.03.2021

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE MÁLAGA (62.5%)
Avenida Cervantes,2
29071 Málaga (Málaga) ES;
SERVICIO ANDALUZ DE SALUD (12.5%);
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (12.5%) y
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
(12.5%)**

72 Inventor/es:

**MORENO FERNÁNDEZ, Román Darío;
BASCUÑANA PAREJA, Juan Antonio;
FERNÁNDEZ CABRERA, Joaquín;
PEDRAZA BENÍTEZ, Carmen;
SANTÍN NÚÑEZ, Luis;
AZCOITIA ELÍAS, Íñigo;
TREJO PÉREZ, José Luis y
CASTILLA ORTEGA, María Estela**

54 Título: **Accesorio para inmunohistoquímica en secciones por flotación**

ES 1 263 814 U

DESCRIPCIÓN

Accesorio para inmunohistoquímica en secciones por flotación

5 OBJETO DE LA INVENCION

La presente invención pertenece al campo de la biomedicina en general, y en particular al campo de la inmunohistoquímica.

10 El objeto de la presente invención es un nuevo accesorio particularmente diseñado para evitar daños en las secciones de tejido durante las operaciones de pipeteo directo en los pocillos que las contienen.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

La inmunohistoquímica realizada en secciones en flotación (en adelante inmunohistoquímica por flotación) constituye un procedimiento habitual en los laboratorios de investigación que procesan muestras biológicas en forma de sección procedentes de diversos tejidos, tales como tejido hepático, cardíaco y nervioso entre otros. La inmunohistoquímica por flotación
20 ofrece ciertas ventajas para el estudio de los tejidos en comparación con la inmunohistoquímica realizada directamente sobre portaobjetos de vidrio, siendo la principal ventaja el uso de secciones histológicas más gruesas (por encima de los 40-50 micrómetros) que, a su vez, garantizan una mejor penetración de los anticuerpos empleados en la sección.

25

Generalmente, el desarrollo de la inmunohistoquímica por flotación se realiza en placas de múltiples pocillos no tratadas, que han sido diseñadas para el crecimiento de células (placas de cultivo celular). Estas placas disponen de un número variable de pocillos de diferente tamaño y forma generalmente redonda (aunque también se pueden encontrar comercializadas placas con pocillos con otras formas geométricas, principalmente cuadradas
30 o rectangulares). En otras ocasiones, los propios investigadores desarrollan sistemas personalizados de forma y tamaño variable. En cualquier caso, la inmunohistoquímica en flotación normalmente se realiza introduciendo directamente las secciones de tejido a procesar en cada uno de los pocillos de la placa, y requiere la adición y aspiración repetitiva de diferentes soluciones acuosas mediante micropipetas o pipetas de tipo Pasteur.

35

Un problema habitual, que surge al verter o aspirar la solución acuosa directamente en el

pocillo que contiene las secciones de tejido, es el riesgo de deteriorar, fracturar o incluso perder definitivamente alguna de las secciones de las muestras biológicas que se van a analizar. Desafortunadamente, no existen soluciones a este problema disponibles comercialmente, lo que hace que la pericia para pipetear que tenga el investigador sea un factor clave para solventar este problema.

En la actualidad, existen accesorios particularmente diseñados para el cultivo de células que resuelven parcialmente este problema. En particular, estos accesorios presentan forma de cestillas o canastillas insertables en las placas de múltiples pocillos y que disponen de una membrana microporosa en su superficie inferior que sirve como sustrato para el cultivo de células. El documento US7598076B2 constituye un ejemplo de este tipo de accesorios. Como se puede apreciar, el accesorio (100) está encajado en el interior de un pocillo (200) de una placa de pocillos (no mostrada en su totalidad). La superficie inferior (110) del accesorio es porosa, de manera que la solución del pocillo entra en el accesorio (100) y baña la muestra alojada en su interior.

Este tipo de accesorios, aplicados al procesamiento de tejidos biológicos mediante inmunohistoquímica por flotación, permite introducir y extraer las secciones de las muestras en los pocillos de la placa de manera más segura. Sin embargo, no solucionan el problema del deterioro de las secciones de tejido debido al uso de una pipeta o micropipeta.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente solicitud resuelve el problema anterior mediante un nuevo accesorio para inmunohistoquímica donde el espacio en que se encuentra la muestra en forma de sección está físicamente separado de una cavidad adicional a través de la cual se realizan las operaciones de pipeteo. Gracias a esta configuración, se evita completamente la posibilidad de que la sección sufra cualquier tipo de deterioro debido a posibles golpes recibidos a causa de la repetida introducción y retirada de la punta de la pipeta.

Además, este nuevo accesorio no solo es útil para su uso en el campo de la inmunohistoquímica, sino que también puede utilizarse en cualquier tipo de técnica o procedimiento que requiera la adición o retirada de fluidos en secciones en flotación. Por ejemplo, para exponer al tejido a soluciones colorantes para tinciones, o para añadir o retirar soluciones de lavado o conservante (por ejemplo, tampón fosfato con azida sódica).

El accesorio para inmunohistoquímica en secciones por flotación comprende un alojamiento de forma esencialmente prismática que es insertable en el pocillo de una placa de pocillos.

5 En este contexto, la expresión “*de forma prismática*” hace referencia a una forma obtenida a partir de cualquier figura plana mediante la prolongación en paralelo de todo el perímetro de dicha figura plana en una dirección perpendicular a la misma. Por tanto, dicha expresión incluye no solo prismas propiamente dichos, es decir, aquellos que tienen una base poligonal, sino también figuras tales como cilindros o similares, que se obtienen a partir de la prolongación de un círculo u otra figura plana no poligonal. Por tanto, el alojamiento
10 esencialmente prismático de la presente invención puede adaptarse a la forma específica del pocillo en el que se va a instalar, ya sea este circular, cuadrado, rectangular, u otros. Además, el término “*esencialmente*” se refiere a que es posible que el prisma en cuestión tenga una cierta conicidad de pequeño valor, por ejemplo de manera que tiene un lado superior más ancho que su fondo. Esta configuración puede observarse, por ejemplo, en el accesorio
15 perteneciente a la técnica anterior mostrado en la Fig. 1.

Pues bien, el alojamiento prismático del accesorio de la invención comprende fundamentalmente dos porciones diferenciadas.

20 a) Primera porción de pared lateral no porosa

Se trata de una porción de pared lateral cuya forma es complementaria con la forma de la pared lateral del pocillo de la placa. En este contexto, el término “*porción*” hace referencia a una porción del alojamiento prismático que abarca la totalidad de la altura
25 del alojamiento a lo largo de un determinado ángulo de giro alrededor del eje principal del prisma. Por ejemplo, la primera porción de pared lateral no porosa puede abarcar un ángulo de entre 70° y 80° del alojamiento prismático.

En general, la forma de la primera porción de pared lateral no porosa se elegirá en
30 función de la forma de la pared lateral del pocillo en el que se va a insertar y tendrá unas dimensiones adecuadas para su inserción en uno de tales pocillos. Por ejemplo, para pocillos de forma cuadrada, la primera porción de pared lateral no porosa será también cuadrada, es decir, tendrá forma de prisma cuadrado. Alternativamente, y de acuerdo con una realización particularmente preferida de la invención, la primera
35 porción de pared lateral no porosa tiene una forma esencialmente cilíndrica, es decir, forma de prisma circular o cilindro. Esta forma es complementaria con la pared lateral

de un pocillo circular, permitiendo así que el alojamiento encaje en el interior del pocillo.

b) Segunda porción de pared lateral porosa

5 Se trata de una porción de pared lateral que está rehundida esencialmente en dirección al eje central del alojamiento con relación a la primera porción de pared lateral. La segunda porción de pared lateral no porosa abarcará el ángulo restante de entre 20° y 10° del alojamiento prismático.

10 Por tanto, la segunda porción de pared lateral del accesorio está separada de la pared lateral del pocillo en el que se introduce el accesorio en cuestión. Gracias a esta configuración, entre la segunda porción de pared lateral porosa del alojamiento y la pared lateral del pocillo se genera una cavidad vertical adecuada para la introducción de una pipeta para introducir o aspirar una solución del pocillo.

15 La segunda porción de pared lateral puede en principio tener cualquier forma independientemente de la forma del pocillo y de la primera porción de pared lateral, únicamente es necesario que esté suficientemente separada de la pared lateral del pocillo como para permitir la entrada de la punta de una pipeta. Por ejemplo, de acuerdo con una realización particularmente preferida de la invención, la segunda
20 porción de pared lateral porosa tiene una forma esencialmente cilíndrica, aunque también podría tener forma de prisma cuadrado, rectangular, u otras.

Además, la segunda porción de pared lateral del accesorio es porosa, de manera que
25 la solución presente en el pocillo en cuestión pueda pasar al interior del alojamiento del accesorio de la presente invención para entrar en contacto con la sección de muestra que se está analizando. El tamaño de los microporos puede en principio ser cualquiera siempre que permita el paso de la solución, aunque en una realización particularmente preferida de la invención los microporos tienen entre 0,3 mm y 0,5 mm
30 de diámetro, aún más preferentemente 0,4 mm de diámetro.

Así, el accesorio de la presente invención se encaja en el pocillo de una placa de pocillos. La solución presente en el interior del pocillo entra en el interior del alojamiento del accesorio a través de la segunda porción de pared lateral porosa. A continuación, se introduce en el
35 interior del alojamiento la sección de muestra que se va a analizar. A partir de este momento, para vaciar y volver a llenar el pocillo con la solución necesaria en cada momento basta con

introducir la punta de la pipeta en la solución haciéndola pasar a través de la cavidad creada entre la segunda porción de pared lateral porosa y la pared lateral del pocillo. Puesto que la sección de la muestra se encuentra en el interior del alojamiento del accesorio, al otro lado de la segunda porción de pared lateral porosa, se evita el peligro de contactos indeseados entre la sección de la muestra y la pipeta.

En una realización preferida adicional, el alojamiento del accesorio de la presente invención carece de pared inferior, o bien comprende una pared inferior porosa. Por un lado, esta característica facilita la entrada de la solución del pocillo en el interior del alojamiento. Por otro lado, según si el alojamiento tiene o no pared inferior, es posible seleccionar si la sección de la muestra que se está analizando queda en el pocillo cuando se extrae el accesorio o, alternativamente, si es arrastrada con el accesorio cuando éste se retira.

Además, preferentemente el alojamiento del accesorio de la invención es de color oscuro, más preferentemente de color negro. Esta coloración facilita que los cortes puedan apreciarse más fácilmente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Fig. 1 muestra un ejemplo de accesorio de acuerdo con la técnica anterior.

La Fig. 2 muestra una vista en perspectiva de un ejemplo de accesorio según la presente invención.

La Fig. 3 muestra otra vista en perspectiva de un ejemplo de accesorio según la presente invención.

La Fig. 4 muestra una vista de alzado de un ejemplo de accesorio según la presente invención.

La Fig. 5 muestra una vista en planta de un ejemplo de accesorio según la presente invención.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

Se describe a continuación un ejemplo particular de accesorio de acuerdo con la presente invención haciendo referencia a las figuras adjuntas.

Las Figs. 2 y 3 muestran el accesorio de la invención formado por un alojamiento (1) con forma esencialmente de prisma circular, es decir, con forma esencialmente cilíndrica, que está pensado para encajar en el interior de un pocillo cilíndrico de una placa de pocillos. Más concretamente, el alojamiento (1) tiene una primera porción de pared lateral no porosa (11) y una segunda porción de pared lateral porosa (12).

La primera porción de pared lateral no porosa (11) tiene una forma cilíndrica complementaria con la forma cilíndrica de la pared lateral del pocillo en cuestión. En este contexto, el término “complementario” se refiere a que la primera porción de pared lateral no porosa (11) tiene la misma forma que la pared lateral del pocillo pero con unas dimensiones ligeramente menores. Como se puede apreciar en las figuras, esta primera porción (11) abarca la totalidad de la altura del alojamiento (1) a lo largo de aproximadamente un ángulo de 70°. Así, cuando el accesorio se introduce en el pocillo, la primera porción de pared lateral no porosa (11) está situada en paralelo a la pared lateral del pocillo y muy cerca de ésta.

La segunda porción de pared lateral porosa (12) tiene también una forma cilíndrica, aunque en este caso la forma cilíndrica está rehundida hacia el centro del alojamiento (1) con relación a la primera porción de pared lateral no porosa (11), y abarca un ángulo de unos 20°. Es decir, la segunda porción de pared lateral porosa (12) está sensiblemente más separada de la pared lateral del pocillo en el que se inserta el accesorio que la primera porción de pared lateral no porosa (11). Esta separación genera una cavidad (2) separada de aquella en la que está la sección de la muestra en la que el usuario puede introducir la pipeta para extraer o introducir una solución en el pocillo.

Las Figs. 4 y 5 muestran también sendas vistas del accesorio de la presente invención donde se han representado las dimensiones que pueden adoptar las diferentes partes del alojamiento (1). En cualquier caso, nótese que estas dimensiones corresponden a una realización particularmente preferida de la invención, y que es posible modificarlas en función de las necesidades de cada aplicación.

REIVINDICACIONES

1. Accesorio para inmunohistoquímica en secciones por flotación, que comprende un alojamiento (1) de forma esencialmente prismática que es insertable en el pocillo de una placa de pocillos, caracterizado por que el alojamiento (1) comprende:
 - una primera porción de pared lateral (11) no porosa cuya forma es complementaria con la forma de la pared lateral del pocillo de la placa, y
 - una segunda porción de pared lateral (12) porosa que está rehundida esencialmente en dirección a un eje central del alojamiento (1) con relación a la primera porción de pared lateral (11) no porosa,de modo que entre dicha segunda porción de pared lateral (12) porosa del alojamiento (1) y la pared lateral del pocillo se genera una cavidad vertical (2) adecuada para la introducción de una pipeta para introducir o aspirar una solución del pocillo.
2. Accesorio de acuerdo con la reivindicación 1, donde la primera porción de pared lateral (11) no porosa tiene una forma esencialmente cilíndrica complementaria con la pared lateral de un pocillo circular.
3. Accesorio de acuerdo con la reivindicación 2, donde la segunda porción de pared lateral (12) porosa tiene una forma esencialmente cilíndrica.
4. Accesorio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el alojamiento (1) carece de pared inferior.
5. Accesorio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el alojamiento (1) comprende una pared inferior porosa.
6. Accesorio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la segunda porción de pared lateral (12) porosa comprende una pluralidad de microporos de entre 0,3 mm y 0,5 mm de diámetro.
7. Accesorio de acuerdo con la reivindicación 6, donde la segunda porción de pared lateral (12) porosa comprende una pluralidad de microporos 0,4 mm de diámetro.
8. Accesorio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el alojamiento (1) es de color oscuro.
9. Accesorio de acuerdo con la reivindicación 8, donde el alojamiento (1) es negro.

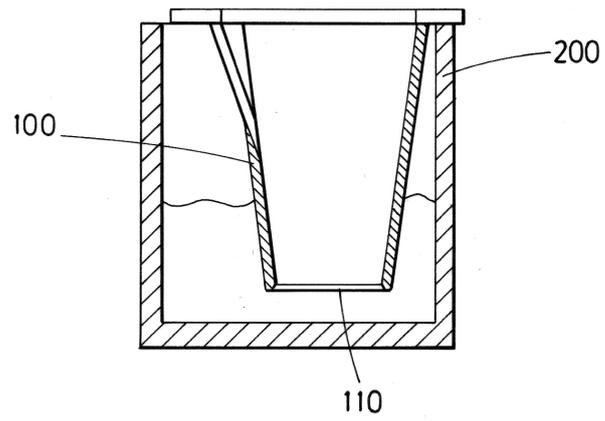


FIG.1

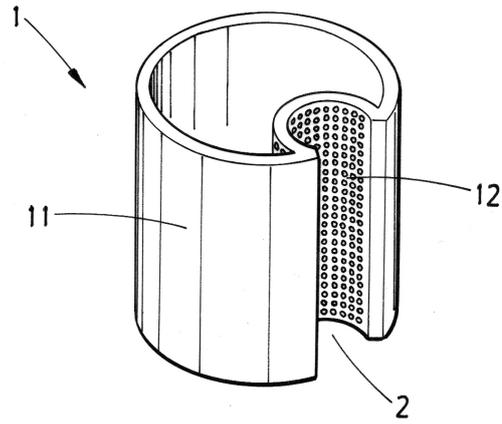


FIG. 2

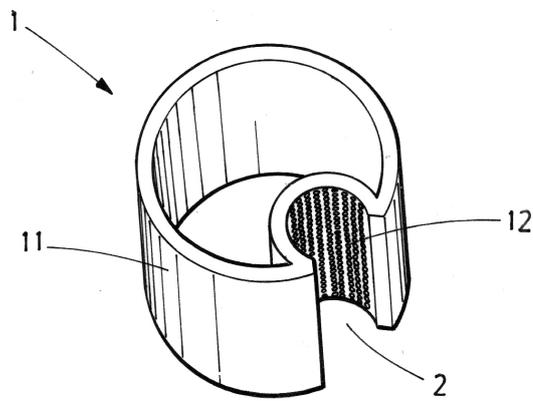


FIG. 3

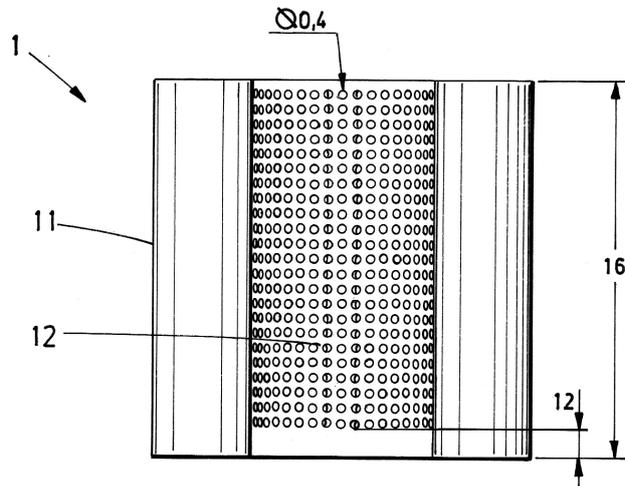


FIG. 4

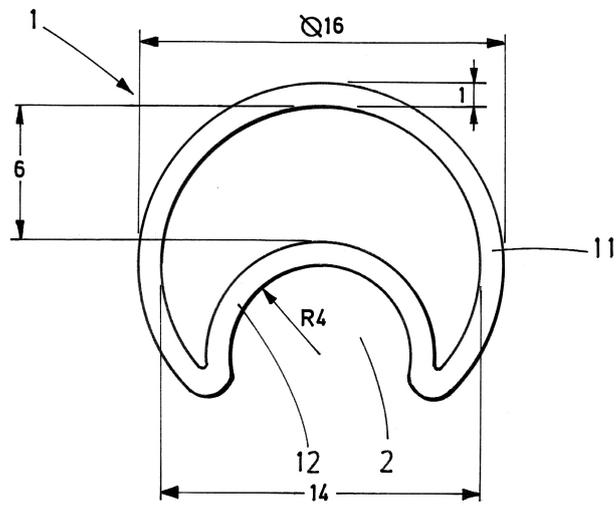


FIG. 5