



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101997900580745
Data Deposito	07/03/1997
Data Pubblicazione	07/09/1998

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	12	Q		

Titolo

SISTEMA PER IL MONITORAGGIO DELL'ATTIVITA' METABOLICA DI POPOLAZIONI
CELLULARI VIVENTI.

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:
"Sistema per il monitoraggio dell'attività metabolica
di popolazioni cellulari viventi"

di: ISTITUTO TRENINO DI CULTURA , nazionalità ita-
liana, Via S. Croce 77, 38100 TRENTO;

OMEGA S.r.l., nazionalità italiana, Piazza
Remondini 8/1 - 16131 GENOVA

Inventori designati: Mario ZEN, Benno MARGESIN, Al-
berto LUI, Sergio CHIARUGI, Massimo GRATTAROLA, Ser-
gio MARTINOIA, Luca CHIARUGI

Depositata il: 7 marzo 1997 7097A000188

* * *

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce ad un siste-
ma per il monitoraggio dell'attività metabolica di
popolazioni cellulari viventi ed al suo procedimento
di funzionamento.

Scopo della presente invenzione è quello di for-
nire un sistema di monitoraggio dell'attività catabo-
lica di popolazioni cellulari eucariote e/o procario-
te viventi, adatto ad operare sia in continuo che in
discontinuo, suscettibile di effettuare misurazioni
sia di tipo qualitativo che quantitativo ed avente un
ampio spettro di applicazioni che spaziano dall'atti-
vità di ricerca a quella di analisi routinaria.

Tale scopo viene raggiunto grazie ad un sistema di monitoraggio avente le caratteristiche richiamate in modo specifico nelle rivendicazioni che seguono.

Ulteriori vantaggi e caratteristiche della presente invenzione risulteranno dalla descrizione seguente fatta a titolo esemplificativo, ma non limitativo, con riferimento ai disegni annessi, in cui:

la figura 1 è una rappresentazione schematica di un sistema secondo l'invenzione,

la figura 2 è una rappresentazione esplosa di un componente del sistema di figura 1 in una fase di funzionamento,

la figura 3 è una rappresentazione esplosa del componente di figura 2 in un'altra fase di funzionamento,

la figura 4 è una rappresentazione esplosa di una forma alternativa di realizzazione del componente delle figure 2 e 3 in una fase di funzionamento,

la figura 5 è una rappresentazione esplosa del componente di figura 4 in un'altra fase di funzionamento, e

la figura 6 è una rappresentazione di un altro componente del sistema di figura 1.

Un sistema per il monitoraggio dell'attività metabolica di popolazioni cellulari eucariote e/o pro-

cariote comprende (fig. 1) una camera di misurazione 10 provvista di mezzi di termostatazione. Questi ultimi in particolare comprendono una resistenza riscaldante 12 a cui sono associati un motoventilatore 14 ed un trasduttore di temperatura 15, e sono governati in modo di per sé noto da una centralina elettronica 16 di controllo ed acquisizione e presentazione di dati.

Nella camera 10 è collocata una cella 20, nella quale è presente la popolazione cellulare vivente da monitorare.

La cella 20 comprende (figg. 2 e 3) un'involucro formato da due conchiglie assemblabili 21, che racchiudono una membrana 22 ed un supporto poroso 24 di questa (ricordiamo che, per maggior chiarezza, le figure 2 e 3 rappresentano le conchiglie 20 come disassemblate). La membrana 22 costituisce una superficie di ancoraggio per la popolazione cellulare 26 da monitorare.

Nell'involucro sono ricavati un canale 28 per l'alimentazione di una soluzione contenente la popolazione cellulare 26 ed un canale 30 di passaggio di un terreno di coltura, le cui modalità di funzionamento verranno descritte in seguito. I canali 28, 30, provvisti di rispettive aperture di entrata 32, 34 e

di uscita 36, 38, lambiscono la membrana 22 da parti opposte e sono separati l'uno dall'altro.

Alternativamente è possibile utilizzare una cella multipla (figg. 4 e 5) comprendente una pluralità di celle singole del tipo sopra descritto, i cui canali di passaggio 30 del terreno di coltura sono collegati in serie l'uno rispetto all'altro come pure, indipendentemente dai canali di passaggio 30 del terreno di coltura, i canali 28 per l'alimentazione della soluzione contenente la popolazione cellulare 26. Per semplicità di rappresentazione, nella figura 4 sono raffigurati solo i canali 28 di alimentazione della soluzione contenente la popolazione cellulare, mentre nella figura 5 sono raffigurati solo i canali 30 di passaggio del terreno di coltura. Entro la conchiglie 21 sono inoltre disposte guarnizioni 40 di gomma siliconica o altro materiale.

Secondo un'ulteriore forma di attuazione alternativa non illustrata nelle figure, è possibile utilizzare una cella costituita da un filtro standard da siringa, di porosità atta a trattenere la popolazione cellulare e realizzato in materiale biocompatibile. Tali filtri sono in sé noti e comunemente utilizzati nella pratica di laboratorio.

Nella cella 20, comunque realizzata, sfocia

(fig. 1) un condotto 42 di alimentazione di terreno di coltura, sul quale sono disposti una pompa 44 e mezzi di termostatazione comprendenti un'ulteriore resistenza riscaldante 46 ed un trasduttore di temperatura 48 anch'essi pilotati dalla centralina 16.

In parallelo alla cella 20 è disposto un condotto di by-pass 50. Rispettive valvole di intercettazione 52, 54 sono disposte a monte della cella 20 e sul condotto di by-pass 50.

Dalla cella 20 si diparte un condotto di deflusso 56, su cui sono collocati mezzi di rivelazione del valore di pH determinato dal catabolismo della popolazione cellulare 26. Alternativamente, secondo una forma non illustrata di attuazione dell'invenzione, questi mezzi di rivelazione possono essere integrati con la cella 20.

I mezzi di rilevazione comprendono un sensore 58 di tipo ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) in sé noto. Questo sensore è sensibile alla concentrazione di ioni idrogeno in soluzione, grazie alla presenza di siti specifici per gli ioni H^+ e OH^- sulla superficie esposta a tale soluzione, ed è in grado di produrre un segnale elettrico, in particolare una tensione, dipendente da tale concentrazione. La sensibilità tipica a temperatura ambiente è di circa 50

mV/unità di pH.

Lungo il condotto di deflusso 56 è disposto un serbatoio 60 contenente un elettrodo di riferimento e/o di lavoro 62 atto a polarizzare la soluzione per garantire il funzionamento del sensore 58.

Sempre lungo il condotto di deflusso 56, fra il sensore 58 ed il serbatoio 60, è collocato un rivelatore 64 di bolle d'aria. Quest'ultimo può essere di un qualunque tipo, ad esempio ottico o a conducibilità, disponibile in commercio. Sia il rivelatore di bolle 64 che il sensore 58 sono collegati alla centralina 16.

Il serbatoio 60 è provvisto di condotto di scarico di fondo 66 con valvola di intercettazione 68 e di condotto di scarico di troppo pieno 70, sul quale sono disposte una pompa di deflusso 72 ed una valvola 73 per lo scarico all'esterno. Vantaggiosamente le pompe 72 e 44 costituiscono due differenti sezioni di una stessa pompa peristaltica azionata da un motore passo passo 75.

Alla camera di misura 10 è affiancata una camera ausiliaria 74 provvista di mezzi di termostatazione. Questi ultimi in particolare includono una pompa di calore del tipo batteria Peltier 76 pilotata dalla centralina 16. Il calore estratto dalla camera 74 è

smaltito verso l'ambiente tramite un dissipatore ad alette 78 raffreddato da un motoventilatore 80.

Nella camera 74 è contenuta una pluralità di contenitori 82 di terreno di coltura, ad esempio in numero di quattro, dei quali, per semplicità, lo schema di figura 1 ne rappresenta uno solo.

Quest'ultimo è sagomato sostanzialmente a guisa di bottiglia ed è provvisto, in corrispondenza del fondo, di una protuberanza oblunga 84 (figura 6).

Il contenitore 82 ha (fig. 1) un condotto di uscita 86 che è provvisto di valvola di intercettazione 88 ed è collegato al condotto 42 di alimentazione della cella 20. Lo schema di figura 1 rappresenta le valvole di intercettazione 90, 92, 94 disposte sul tratto terminale dei condotti di uscita degli altri tre contenitori non illustrati, i quali condotti sono tutti collegati al condotto di alimentazione 42.

Il contenitore 82 ha inoltre un condotto di entrata 96 - che è provvisto di valvola di intercettazione 98 ed è collegato al condotto 70 di scarico del serbatoio 60 - ed un condotto 100 di riequilibrio di pressione, sul quale è disposto, fra due valvole 102, 104, un filtro 106.

Dal contenitore 82 si diparte inoltre un condot-

to di scarico di troppo pieno 108 provvisto di valvola 110.

Resta inteso che tutti i contenitori 82 sono provvisti dei condotti 96, 100 e 108 con relative valvole ed accessori, che, per semplicità, la figura 1 rappresenta con riferimento ad un solo contenitore 82.

Nella camera ausiliaria 74 sono inoltre disposti mezzi di iniezione 112 nei contenitori 82 di additivi desiderati. Questi mezzi di iniezione 112 comprendono siringhe intercambiabili di capacità differenti azionabili da un motore passo passo sotto il controllo della centralina 16.

Un primo modo di funzionamento del sistema sopra descritto per la misurazione a ciclo aperto del metabolismo basale di una data popolazione cellulare 26 è il seguente.

Dapprima occorre fissare sulla membrana 22 della cella 20 estratta dalla camera 10 la popolazione cellulare 26 da monitorare. A questo scopo (fig. 2) si occlude l'apertura di entrata 34 del canale 30 e si collegano le aperture 32, 36 del canale 28 ad un circuito di circolazione di una soluzione contenente la popolazione cellulare comprendente un serbatoio di alimentazione 114, una pompa 116 e tubi di collega-

mento 118.

A seguito del flusso della soluzione lungo la membrana 22 della cella 20, parte della popolazione cellulare 26 si arresta sui pori della membrana 22, mentre parte del solvente percola attraverso quest'ultima ed è scaricata attraverso l'apertura di uscita 38 del canale 30, a valle del quale è predisposto un condotto di scarico 120 avente perdita di carico inferiore a quella dei tubi 118 di ricircolo del circuito.

In questo modo si ottiene una progressiva concentrazione della soluzione ed il fissaggio sulla membrana 22 della maggior parte della popolazione cellulare 26. Quest'ultima potrà così essere successivamente sottoposta a misurazioni, anche se in origine era presente in soluzione ad un livello di diluizione talmente elevato, da rendere sostanzialmente impraticabile una qualunque procedura analitica. La possibilità di effettuare una concentrazione del campione costituisce quindi uno dei vantaggi più significativi del sistema di monitoraggio della presente invenzione.

Il funzionamento della cella multipla è sostanzialmente analogo (fig. 4) con la differenza che la soluzione che defluisce da una singola cella è avvia-

ta alla successiva fino all'ultima cella, da dove è riciclata.

Come appare dalle figure 2 e 4, il flusso della soluzione è parallelo rispetto alla/e membrana/e 22. Se invece si utilizza una cella del tipo a filtro standard - a cui si è fatto cenno in precedenza - si ha l'inconveniente di una sua progressiva otturazione dovuta al regime di flusso trasversale che vi si instaura.

La cella 20 caricata della popolazione cellulare da monitorare 26 è poi collocata nella camera di misura 10, occludendo le aperture 32, 36 del canale 28 e collegando le aperture 34, 38 del canale 30 rispettivamente al condotto di alimentazione 42 ed al condotto di deflusso 56 (figg. 1 e 3).

Quindi, una volta introdotto nel contenitore 82 un terreno di coltura liquido avente buone caratteristiche nutritive per la popolazione cellulare 26, si aprono le valvole 88, 102, 104, 52 e 73 tenendo chiuse le restanti valvole 90, 92, 94, 98, 110, 68 e 54, e si avviano le pompe 44 e 72 per effettuare una fase di lavaggio dei componenti del sistema e portarli alla temperatura desiderata.

In questo modo il terreno di coltura fluisce attraverso il condotto di uscita 86, la valvola 88, il

condotto di alimentazione 42, preriscaldandosi grazie alla resistenza 46, la valvola 52, la cella 20, il sensore 58, il rivelatore 64 ed il serbatoio 60, da cui viene scaricato attraverso il condotto 70 e la valvola 73. Nello stesso tempo l'apertura delle valvole 102, 104 consente l'entrata di aria filtrata nel contenitore 82, così da riequilibrare la pressione che altrimenti calerebbe a seguito del deflusso di terreno di coltura.

I parametri di funzionamento, quali temperatura delle camere 10, 74, portata dei flussi, durata delle varie operazioni sono controllati dalla centralina 16, a cui possono inoltre pervenire eventuali segnali di allarme emessi dal rivelatore 64 nel caso della presenza protratta nel tempo di bolle d'aria.

In particolare conviene regolare la temperatura della camera 74 a valori piuttosto bassi, dell'ordine di 10°C, così da impedire che batteri, eventualmente infiltrativi dall'esterno, possano svilupparsi e moltiplicarsi. La resistenza 46 provvede poi a riscaldare il terreno di coltura proveniente dalla camera 74 a temperature più elevate, dell'ordine di 37°C, favorevoli allo sviluppo della popolazione cellulare 26 da monitorare.

Se necessario, la fase di lavaggio sopra de-

scritta può essere ripetuta una o più volte.

Quindi si effettua una fase di bianco, in cui, a differenza della fase di lavaggio, la valvola 52 è chiusa, mentre la valvola 54 è aperta. In tal modo il terreno di coltura fluisce attraverso il condotto di by-pass 50 senza venire a contatto con la cella 20 e la popolazione cellulare 26 contenutavi.

In questo modo, una volta arrestate le pompe 44, 72 e conseguentemente il flusso di liquido nel condotto di deflusso 56, i valori di pH rilevati dal sensore 58 corrispondono a quelli del terreno di coltura vergine e potranno servire come termine di confronto nella successiva fase di misura.

In quest'ultima la condizione delle valvole è uguale a quella della fase di lavaggio, con assenza quindi di flusso nel condotto di by-pass 50. L'attivazione delle pompe 44, 72 provoca quindi un flusso di terreno di coltura attraverso la cella 20 ed in particolare nel canale 30 (cfr. fig. 3 per la cella singola e fig. 5 per la cella multipla). Attraverso la/e membrana/e 22 il terreno di coltura può così cedere alla popolazione cellulare 26 i principi nutritivi ed assorbire gli ioni H^+ prodotti dal catabolismo cellulare. Dopo un tempo prestabilito si arrestano le pompe 44, 72 e si effettua, grazie al sensore

ISFET 58, una misurazione di pH del terreno caricato dei prodotti del catabolismo che defluisce attraverso il condotto di deflusso 56. Tale valore è trasmesso alla centralina 16.

La fase di misura sopra descritta può essere ripetuta per un numero desiderato di volte, così da monitorare l'evoluzione temporale del valore di pH. I valori rilevati possono essere visualizzati, ad esempio sotto forma di grafico del pH in funzione del tempo, sotto il controllo della centralina 16.

La portata di terreno di coltura che fluisce attraverso la cella 20 in ogni fase di misura può essere stabilita a piacere. In particolare tale portata può variare da un valore minimo che consente di rinnovare in ogni fase solo una microquantità del terreno di coltura presente nella cella 20, ad un valore massimo che consente di rinnovare completamente in una fase la quantità di terreno di coltura presente nella cella 20.

Nel primo caso la popolazione cellulare 26 si trova in un ambiente con condizioni fisiologiche variabili, nel secondo caso costanti.

A seconda della concentrazione, del tipo e dell'attività della popolazione cellulare 26 da monitorare è possibile scegliere il valore di portata più

opportuno. In particolare, se la concentrazione è bassa, è preferibile scegliere una bassa portata, così da accrescere la sensibilità della misura. Se la concentrazione è invece alta è preferibile scegliere una portata elevata, così da evitare variazioni nel tempo delle condizioni fisiologiche che inducono variazioni di risposta significative.

La centralina 16 può inoltre essere programmata per comandare l'effettuazione a scadenza predefinita di una fase di bianco come sopra descritta, per compensare l'eventuale deriva del sensore 58 e controllare lo stato del pH del terreno di coltura vergine.

L'eventuale presenza di bolle d'aria nel condotto di deflusso 56 è segnalata dal rivelatore 64 alla centralina 16 che provvede ad interrompere la fase di misura e ad effettuare, se necessario, uno o più ulteriori fasi di lavaggio.

La misurazione del metabolismo basale di una data popolazione cellulare 26 può anche essere effettuata a ciclo chiuso anziché aperto.

In questo caso si effettuano dapprima fasi di lavaggio e bianco analogamente a come descritto in precedenza.

Nell'effettuazione delle fasi di misura, invece, il terreno di coltura viene prelevato da un conteni-

tore 82 differente da quello utilizzato per le altre fasi e riempito solo in corrispondenza della protuberanza 84. La conformazione oblunga di quest'ultima assicura comunque un certo battente, anche operando con ridotte quantità di terreno di coltura, ed evita così la formazione di bolle d'aria quando quest'ultimo viene mandato in circolo.

A questo scopo si attivano le pompe 44, 72, tenendo aperta la valvola (ad esempio la numero 88) associata a quest'ultimo contenitore e chiusa la valvola 90 associata al contenitore utilizzato per le fasi di lavaggio e di bianco. Un'ulteriore differenza rispetto alla fase di misura a ciclo aperto consiste nel fatto che la valvola di scarico 73 ora è chiusa, mentre la valvola 98 è aperta. In questo modo il terreno di coltura fluente nel condotto di scarico 70 viene riciclato al contenitore 82 attraverso il condotto 96 e la valvola 98, anziché essere scaricato all'esterno.

Anche in questo caso si possono effettuare a scadenza predefinita dei cicli di bianco, in cui il terreno di coltura vergine è alimentato dal contenitore associato alla valvola 90.

Con questo modo di funzionamento, vantaggioso in presenza di basse concentrazioni cellulari, lo stesso

terreno di coltura può essere sottoposto più volte all'azione della popolazione cellulare, finché il suo valore di pH rimane sufficientemente alto, così da permettere la vita delle cellule.

Ad esempio è possibile conoscere il quantitativo di cellule presenti in un campione da esaminare, effettuando fasi di misura con parametri omologhi per tale campione e per uno standard noto e confrontando il numero di fasi rispettivamente necessarie per raggiungere uno stesso valore di acidità.

Il sistema dell'invenzione permette anche l'effettuazione di misurazioni delle variazioni del metabolismo basale di una popolazione cellulare indotte da un agente esterno.

In questo caso si può operare dapprima in modo analogo al caso a ciclo aperto precedentemente descritto, ottenendo un'indicazione relativa al metabolismo basale in presenza di un terreno di coltura non additivato.

Quindi si effettuano fasi di misura alimentando alla cella 20 da un differente contenitore 82 (mediante quindi l'apertura della valvola disposta sul relativo condotto di uscita 86 e la chiusura della valvola associata al precedente contenitore) terreno di coltura additivato da un agente esterno desidera-

to.

Anche in questo caso si possono effettuare a scadenza predefinita delle fasi di bianco, in cui il terreno di coltura vergine è alimentato dal contenitore contenente terreno di coltura non additivato.

L'agente esterno additivato al terreno di coltura induce delle variazioni nell'attività metabolica della popolazione cellulare rispetto al terreno di coltura non additivato. Dalla comparazione delle misure effettuate con e senza additivo sarà pertanto possibile risalire ad una misura degli effetti dell'additivo stesso sulla popolazione cellulare. Questo modo di operare trova applicazioni notevoli in campo immunologico, farmacologico, cosmetologico ed in molti casi può vantaggiosamente sostituire i test in vivo.

L'effettuazione della misurazione delle variazioni del metabolismo basale di una popolazione cellulare indotte da un agente esterno può anche essere effettuata in ciclo chiuso.

Questo modo di operare è identico al precedente a ciclo aperto con la differenza che nelle fasi di misura la valvola 73 è chiusa e la valvola 98 è invece aperta.

Il terreno di coltura additivato da un agente

esterno è quindi prelevato da uno dei contenitori 82, fluisce attraverso la cella 20 ed è riciclato allo stesso contenitore 82, mantenendo chiusa la valvola di scarico 73.

Lo stesso terreno di coltura viene così più volte in contatto con la popolazione cellulare 26, cosicché, a parità di concentrazione di quest'ultima, la risposta del sistema è più rapida rispetto al ciclo aperto.

Il modo operativo a ciclo chiuso consente inoltre di monitorare popolazioni cellulari a basse concentrazioni non analizzabili a ciclo aperto, presentando peraltro l'inconveniente di produrre un'acidificazione progressiva del terreno di coltura, che, superando un certo valore, finisce col provocare la morte della popolazione cellulare.

Un ulteriore modo operativo del sistema prevede un funzionamento analogo a quello di misurazione a ciclo aperto del metabolismo basale, con la differenza che le fasi di misura vengono effettuate secondo una successione predeterminata con differenti terreni di coltura alimentati di volta in volta da contenitori differenti 82.

Questo modo operativo è vantaggiosamente impiegato quando si devono monitorare popolazioni cellula-

ri composite. Infatti i metabolismi di cellule appartenenti a ceppi diversi hanno differenti risposte a seconda del tipo di terreno di coltura utilizzato, il che consente di favorire o inibire il metabolismo di cellule di uno specifico ceppo rispetto a quello di cellule di altri ceppi.

E' così possibile verificare l'effettiva presenza di un ceppo presente in miscela con altri in un campione da analizzare.

Esempi applicativi specifici di questo modo operativo sono ad esempio la verifica della presenza di cellule somatiche nel latte (essenziale per la determinazione della carica batterica) o la verifica della presenza in alimenti di salmonella, che è solitamente associata ad altri ceppi cellulari.

Il sistema dell'invenzione è anche realizzato in modo tale da consentire di effettuarne agevolmente la disinfezione e la sterilizzazione fra una prova e l'altra, onde evitare che residui di terreno o popolazioni cellulari di prove precedenti influenzino i risultati di quelle successive.

A questo fine è possibile effettuare, quando desiderato, un programma di disinfezione, riempiendo tutti i contenitori 82 con una soluzione biocida, ad esempio ipoclorito, smontando la cella 20 con colle-

gamento diretto dei condotti 42, 56, aprendo le valvole 88, 90, 92, 94, 98, 52, 54, 110, chiudendo la valvola 73 ed azionando le pompe 44, 72.

In questo modo tutti i componenti del sistema, attraverso i quali si ha un flusso di terreno di coltura durante l'effettuazione di misurazioni, vengono a contatto con la soluzione biocida e sono sterilizzati. Il condotto di scarico 108, in cui la valvola è aperta 110, funge da troppo pieno e consente l'eliminazione di un eccesso di soluzione biocida dal relativo contenitore 82.

Successivamente al programma di disinfezione, si effettua un programma di risciacquo con modalità analoghe al precedente ed utilizzando come fluido di trattamento acqua distillata possibilmente sterile. In tal modo si eliminano eventuali residui di soluzione biocida ed il sistema è così pronto per l'effettuazione di successive misurazioni.

Da quanto sopra esposto risulta in modo evidente la flessibilità del sistema dell'invenzione, che può essere indifferentemente utilizzato in una grande varietà di campi differenti: ad esempio farmacologico, immunologico, biologico, biomedico, di controllo di produzione, di controllo delle acque, cosmetologico, tossicologico, ecologico, batteriologico, del con-

trollo di alimenti, scarichi industriali, acque potabili e simili.

Naturalmente si intende che, fermo restando il principio dell'invenzione, i particolari di realizzazione e le forme di attuazione potranno ampiamente variare rispetto a quanto sopra descritto, senza per questo uscire dall'ambito della presente invenzione.

RIVENDICAZIONI

1. Sistema per il monitoraggio dell'attività metabolica di popolazioni cellulari viventi (26), caratterizzato dal fatto che comprende:

- una cella (20), atta ad ospitare la popolazione cellulare (26) da monitorare,

- mezzi di alimentazione alla cella (20) di un terreno di coltura, e

- mezzi di rivelazione del valore di pH determinato dal catabolismo della popolazione cellulare (26) in detta cella (20).

2. Sistema secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detti mezzi di rivelazione comprendono un sensore (58) atto a produrre un segnale elettrico correlato al valore di pH sentito.

3. Sistema secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che detto sensore (58) è disposto su un condotto di deflusso (56) della cella (20) oppure è integrato con la cella (20).

4. Sistema secondo la rivendicazione 2 o 3, caratterizzato dal fatto che detto sensore (58) è di tipo ISFET.

5. Sistema secondo la rivendicazione 4, caratterizzato dal fatto che lungo detto condotto di deflusso (56) è disposto un serbatoio (60) contenente un elet-

trodo di riferimento e/o di lavoro (62) atto a polarizzare la soluzione per garantire il funzionamento del sensore (58).

6. Sistema secondo la rivendicazione 5, caratterizzato dal fatto che lungo detto condotto di deflusso (56), fra detto sensore (58) e detto elettrodo di riferimento (62), è collocato un rivelatore (64) di bolle d'aria.

7. Sistema secondo una qualunque delle rivendicazioni 5 e 6, caratterizzato dal fatto che detto serbatoio (60) è provvisto di condotto di scarico di fondo (66) e di condotto di scarico di troppo pieno (70), sul quale sono disposte una pompa di deflusso (72) ed una valvola di scarico (73).

8. Sistema secondo una qualunque delle precedenti rivendicazioni, caratterizzato dal fatto che in parallelo a detta cella (20) è disposto un condotto di by-pass (50), rispettive valvole di intercettazione (54, 52) essendo disposte su detto condotto di by-pass (50) ed a monte della cella (20).

9. Sistema secondo una qualunque delle precedenti rivendicazioni, caratterizzato dal fatto che detta cella (20) comprende un'involucro che racchiude una membrana (22), sulla quale è suscettibile di essere fissata detta popolazione cellulare (26), in detto

involucro essendo ricavati un canale (30) di passaggio di detto terreno di coltura, ed un canale (28) per l'alimentazione di una soluzione contenente la popolazione cellulare (26), detti canali (28, 30) lambendo la membrana (22) da parti opposte ed essendo separati l'uno dall'altro.

10. Sistema secondo la rivendicazione 9, caratterizzato dal fatto che comprende una pluralità di celle, i cui canali (30) di passaggio del terreno di coltura sono collegati in serie l'uno rispetto all'altro come pure, indipendentemente dai canali (30) di passaggio del terreno di coltura, i canali (28) per l'alimentazione della soluzione contenente la popolazione cellulare (26).

11. Sistema secondo una qualunque delle precedenti rivendicazioni, caratterizzato dal fatto che detta cella (20) è collocata in una camera di misurazione (10) provvista di mezzi di termostatazione.

12. Sistema secondo una qualunque delle precedenti rivendicazioni, caratterizzato dal fatto che detti mezzi di alimentazione alla cella (20) del terreno di coltura comprendono un condotto di alimentazione (42) sul quale è disposta una pompa (44), e mezzi di termostatazione di detto condotto (42).

13. Sistema secondo una qualunque delle precedenti

rivendicazioni, caratterizzato dal fatto che comprende una camera ausiliaria (74) contenente almeno un contenitore (82) di detto terreno di coltura e provvista di mezzi di termostatazione e di mezzi di iniezione (112) in detto contenitore (82) di additivi desiderati, detto contenitore (82) avendo un condotto di uscita (86) che è provvisto di valvola di intercettazione (88, 90, 92, 94) ed è collegato al condotto di alimentazione (42) della cella (20), un condotto di entrata (96) che è provvisto di valvola di intercettazione (98) ed è collegato al condotto di scarico (70) del serbatoio (60), ed un condotto (100) di riequilibrio di pressione, sul quale è disposto un filtro (106).

14. Sistema secondo la rivendicazione 13, caratterizzato dal fatto che detto almeno un contenitore (82) è sagomato sostanzialmente a guisa di bottiglia ed è provvisto di una protuberanza oblunga (84) in corrispondenza del fondo.

15. Sistema secondo la rivendicazione 14, caratterizzato dal fatto che comprende una pluralità di contenitori (82).

16. Procedimento di monitoraggio dell'attività metabolica di popolazioni cellulari (26), che prevede l'impiego di un sistema secondo una qualunque delle

precedenti rivendicazioni.

VERENDARIO

Dott. Francesco SERRA
N. Iscriz. ALBO 90
(In proprio e per gli altri)



JACOBACCI & PERINI S.p.A.

88000188 A 0970

FIG. 1

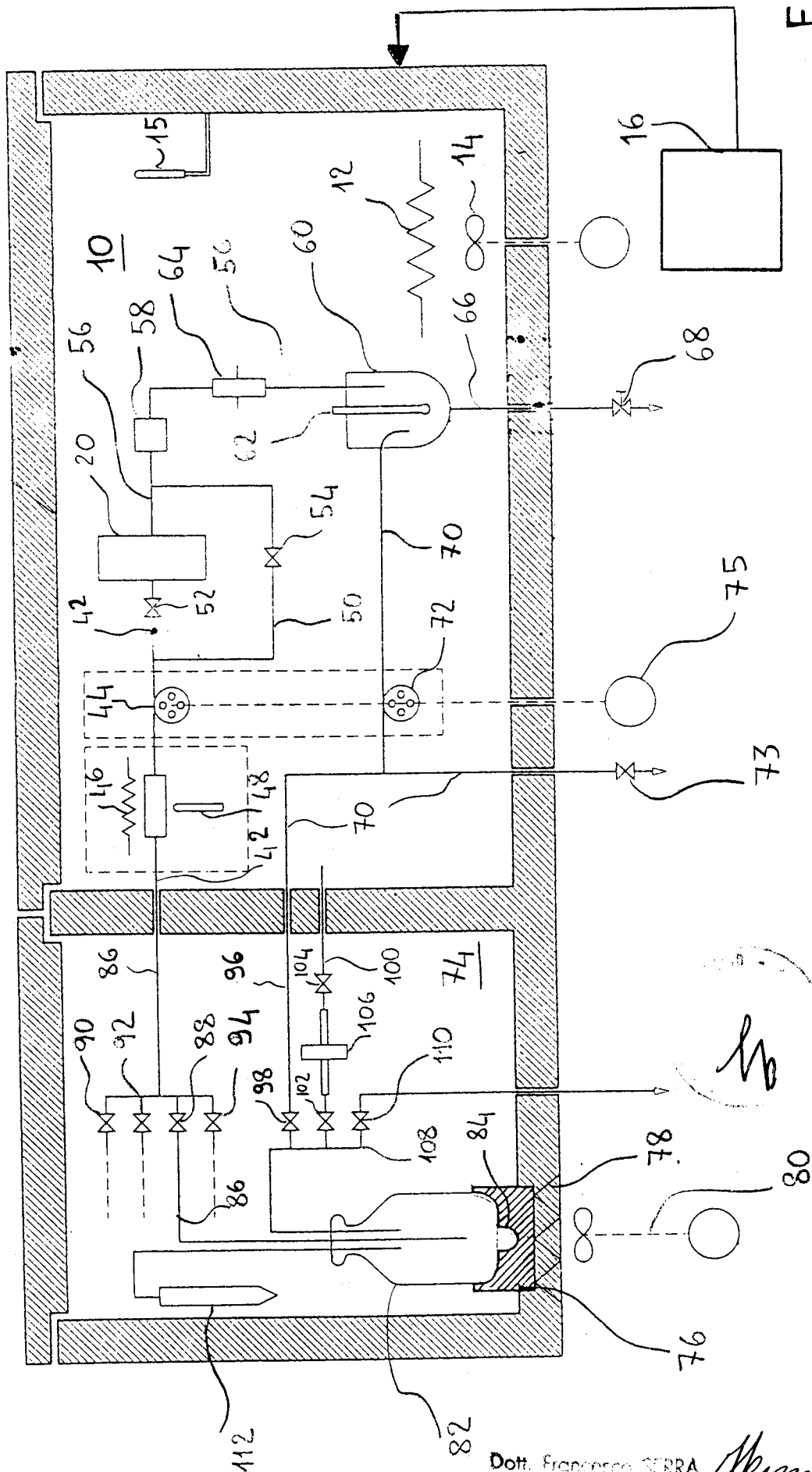


FIG 2

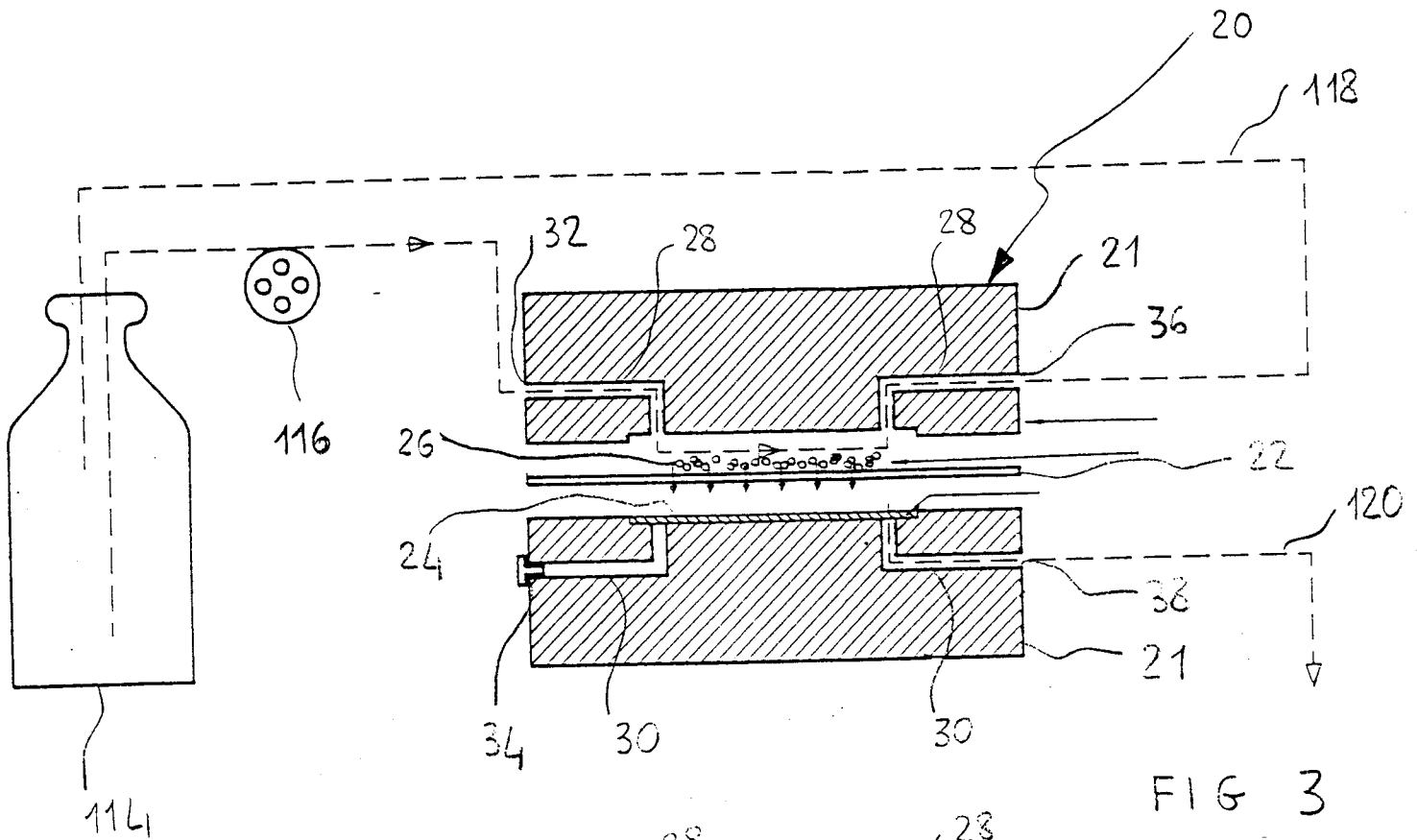
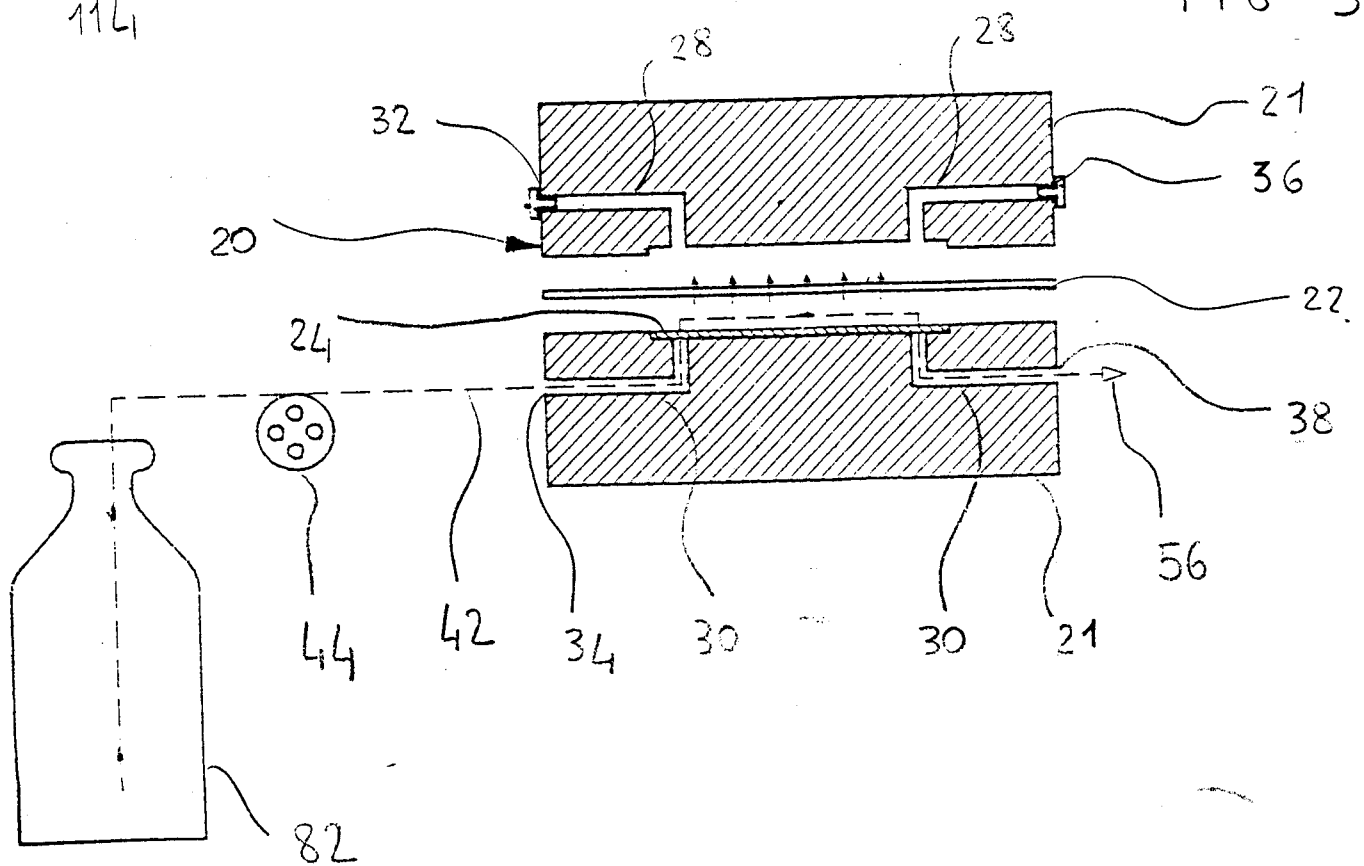


FIG 3



lb
Perry

FIG 5

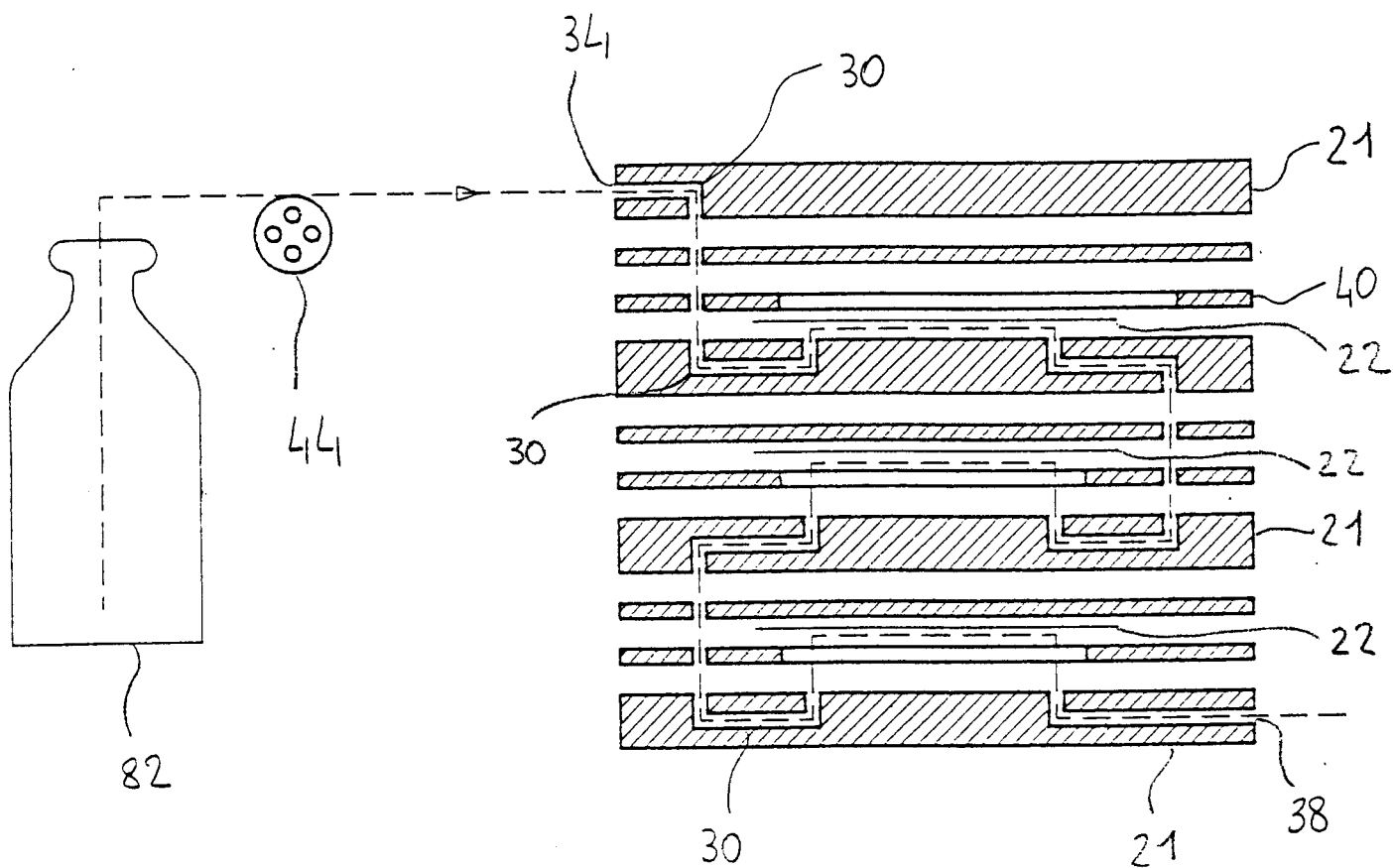
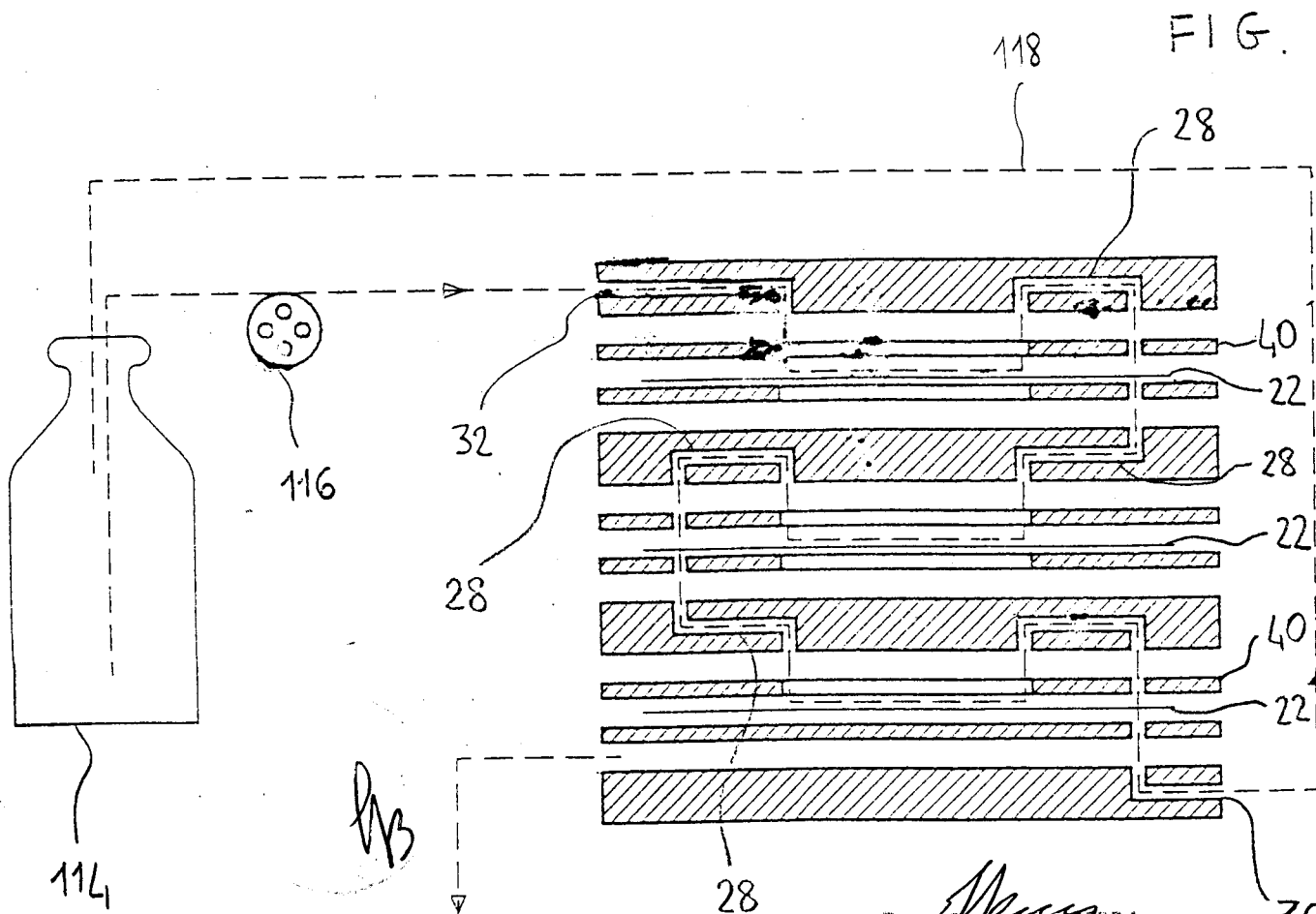


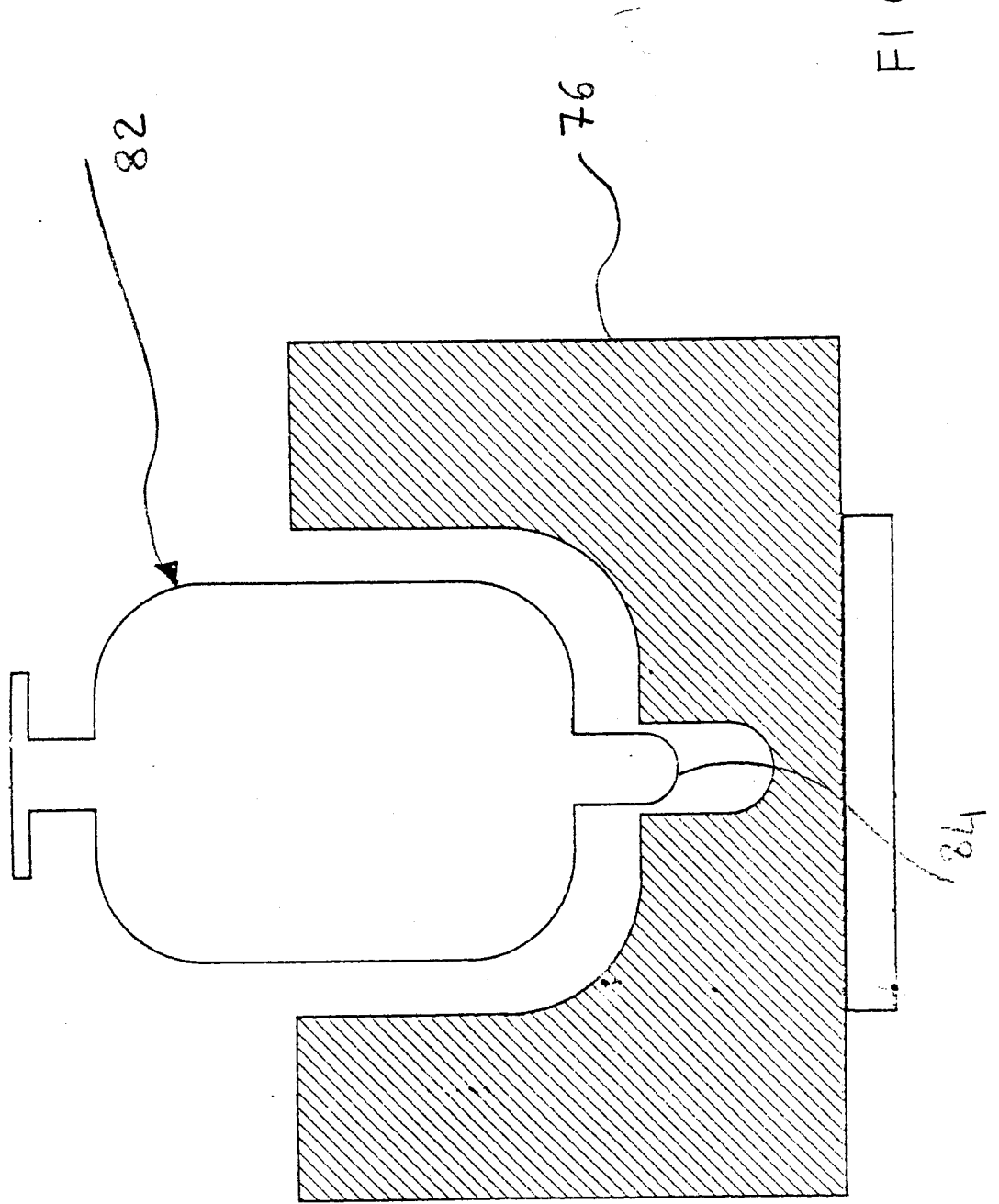
FIG. 4



Dott. ...

7094 A 000188

FIG. 6



Henry W.
DOTTOR
INGEGNERE