

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 657**

51 Int. Cl.:

A01N 1/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2018** **PCT/US2018/062194**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2019** **WO19108453**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2018** **E 18826141 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2024** **EP 3716761**

54 Título: **Recipientes de muestras y procedimientos relacionados**

30 Prioridad:

28.11.2017 US 201762591424 P

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

31.03.2025

73 Titular/es:

COOPERSURGICAL, INC. (100.00%)
95 Corporate Drive
Trumbull, CT 06611, US

72 Inventor/es:

GUTELIUS, PATRICK N.;
KULAKOWSKI, DEREK R.;
STANHOPE, TIMOTHY;
CONISBEE, SIMON W.H.;
SAWARKAR, SARTHAK;
GORDON, JOSEPH;
PANCOAST, JASON y
GLABERSON, JOHN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 3 009 657 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Recipientes de muestras y procedimientos relacionados

5 SECTOR TÉCNICO

Esta invención se refiere a recipientes de muestras y procedimientos relacionados para vitrificar muestras transportadas dentro de los recipientes de muestras.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Los portadores de muestras a baja temperatura, tales como los dispositivos de criopreservación, se utilizan en el sector de la tecnología de reproducción asistida (TRA) para almacenar y preservar muestras reproductivas vivas (por ejemplo, ovocitos, embriones y blastocistos). La criopreservación se refiere a un proceso en el que las muestras se conservan durante períodos prolongados de tiempo enfriándolas a temperaturas bajo cero. Por ejemplo, un dispositivo de criopreservación puede albergar y sostener muestras que se someten a vitrificación, que es la transición rápida de una sustancia de una fase líquida a una fase sólida (por ejemplo, vidrio) sin la formación de cristales de hielo dentro de las células de la muestra.

Los protocolos habituales para vitrificar una muestra reproductiva incluyen el acceso a un portador (por ejemplo, una placa de Petri, un tubo de ensayo o un matraz) en el que se coloca la muestra varias veces para exponerla a múltiples soluciones de procesamiento. Dichos protocolos incluyen, además, la transferencia posterior de la muestra a un dispositivo de criopreservación y, a continuación, la exposición del dispositivo de criopreservación, que contiene la muestra en su interior, a un medio de enfriamiento (por ejemplo, nitrógeno líquido) para hacer que las células de la muestra se enfríen rápidamente hasta un estado vítreo antes de que se puedan formar cristales de hielo dentro de las células. El dispositivo de criopreservación se puede almacenar en el medio de enfriamiento hasta que la muestra esté lista para usarse en procedimientos reproductivos.

Se describen ejemplos de protocolos conocidos en las siguientes referencias:

- YASUSHI INABA ET AL., "In-straw Cryoprotectant Dilution for Bovine Embryos Vitrified Using Cryotop", JOURNAL OF REPRODUCTION AND DEVELOPMENT, Japón, (20110405), vol. 57, n.º 4, doi: 10.1262/jrd.10-154M, ISSN 0916-8818, páginas 437 - 443
- CAMPOS-CHILLON L F ET AL., "In vitro assessment of a direct transfer vitrification procedure for bovine embryos", THERIOGENOLOGY, vol. 65, n.º 6, ISSN 0093-691X, (20060401), páginas 1200 - 1214
- Ashley Morgan Payne, "Efficiency of two cryopreservation methods using direct in-straw rehydration after repeated vitrification of mouse embryos", (20120101), páginas 1 - 11

Las referencias anteriores se refieren a la vitrificación de embriones y dan a conocer recipientes de muestras precargados con soluciones que inicialmente están separadas por aire.

CARACTERÍSTICAS

En general, esta invención se refiere a recipientes para muestras configurados para la preparación y el almacenamiento de una muestra en una sustancia a baja temperatura y se refiere a procedimientos asociados. Dichos recipientes para muestras se pueden utilizar para conservar muestras vivas en un estado viable durante un período prolongado de tiempo.

La reivindicación 1 da a conocer un recipiente para muestras de acuerdo con la presente invención. En lo sucesivo, la expresión "primer medio de procesamiento de muestras" se utiliza como sinónimo de "solución de equilibrado" y "segundo medio de procesamiento de muestras" como sinónimo de "solución de vitrificación".

Las realizaciones pueden incluir una o más de las siguientes características.

En algunas realizaciones, el elemento alargado es un tubo capilar.

En algunas realizaciones, el primer y el segundo medio de procesamiento de muestras están separados entre sí por la barrera dentro del lumen del elemento alargado en una configuración precargada del recipiente para muestras.

En ciertas realizaciones, el elemento alargado incluye una primera porción que tiene un ancho constante y una segunda porción que tiene un ancho variable.

En ciertas realizaciones, la segunda porción es una porción cónica.

En algunas realizaciones, el segundo medio de procesamiento de muestras es más denso que el primer medio de procesamiento de muestras.

5 En ciertas realizaciones, el primer medio de procesamiento de muestras tiene un volumen de aproximadamente 1 μL a aproximadamente 50 μL .

En ciertas realizaciones, el primer medio de procesamiento de muestras tiene un volumen de aproximadamente 1 μL a aproximadamente 50 μL .

10 En ciertas realizaciones, el recipiente para muestras incluye, además, uno o más medios de procesamiento de muestras adicionales.

En algunas realizaciones, la barrera es un fluido.

15 En ciertas realizaciones, el fluido incluye aire.

En algunas realizaciones, la barrera incluye una válvula.

20 En ciertas realizaciones, la barrera es un sólido inerte que experimenta un cambio de fase de sólido a líquido a una temperatura de aproximadamente 10 $^{\circ}\text{C}$.

En algunas realizaciones, la barrera, en una fase líquida, es menos densa que el primer y segundo medios de procesamiento de muestras.

25 En ciertas realizaciones, la barrera incluye un mecanismo de sujeción dispuesto externamente al elemento alargado.

En algunas realizaciones, el elemento alargado incluye un tubo flexible.

30 En algunas realizaciones, un diámetro del elemento alargado varía de manera escalonada a lo largo de un eje del elemento alargado.

En ciertas realizaciones, el recipiente para muestras incluye, además, una etiqueta de identificación electrónica.

35 En algunas realizaciones, un extremo proximal del tubo alargado es más ancho que una porción central del tubo alargado.

En ciertas realizaciones, el tubo alargado define una abertura de pared lateral ubicada proximal al primer medio de procesamiento.

40 En ciertas realizaciones, el recipiente de muestras incluye, además, un tapón configurado para encajar dentro del lumen del tubo alargado y un portador de muestras que se extiende desde el tapón.

45 En algunas realizaciones, uno o ambos del primer y segundo medios de procesamiento incluye nanopartículas magnéticas.

En ciertas realizaciones, el recipiente de muestras está formado de un material que puede soportar mecánicamente una temperatura de aproximadamente -196°C o menos durante al menos aproximadamente 15 años.

50 La reivindicación 13 da a conocer un dispositivo criogénico según la presente invención.

La reivindicación 14 da a conocer un sistema de vitrificación según la presente invención.

55 La reivindicación 15 da a conocer un procedimiento para procesar criogénicamente una muestra según la presente invención.

Las realizaciones pueden incluir una o más de las siguientes características.

60 En algunas realizaciones, el procedimiento incluye, además, pasar la muestra a través de una abertura proximal en el recipiente de muestras.

En ciertas realizaciones, la abertura proximal está ubicada en un extremo del recipiente de muestras.

En algunas realizaciones, la abertura proximal está ubicada a lo largo de una pared lateral del recipiente de muestras.

En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye, además, sellar la abertura proximal del recipiente de muestras después de depositar la muestra dentro del lumen del recipiente de muestras.

- 5 En algunas realizaciones, el procedimiento incluye, además, fusionar el primer y segundo medios de procesamiento para formar un medio de procesamiento combinado dentro del lumen del elemento alargado.

- 10 En ciertas realizaciones, el período de tiempo predeterminado es un primer período de tiempo predeterminado, y el procedimiento incluye, además, exponer la muestra al medio de procesamiento combinado durante un segundo período de tiempo predeterminado.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye, además, el giro del recipiente de muestras alrededor de un eje del recipiente de muestras mientras la muestra está contenida dentro del recipiente de muestras.

- 15 En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye, además, hace que el recipiente de muestras de vueltas alrededor de un eje de revolución mientras la muestra está contenida dentro del recipiente de muestras.

En algunas realizaciones, el primer medio de procesamiento incluye nanopartículas magnéticas.

- 20 En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye, además, aplicar una fuerza magnética a las nanopartículas magnéticas.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye, además, sumergir el recipiente de muestras en nitrógeno líquido.

- 25 En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye, además, exponer la muestra a una temperatura de aproximadamente -196 °C o menos mientras la muestra está dispuesta dentro del recipiente de muestras.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye, además, vitrificar la muestra dentro del recipiente de muestras.

- 30 En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye, además, descongelar la muestra dentro del recipiente de muestras.

En algunas realizaciones, el procedimiento incluye, además, extraer la muestra del recipiente de muestras.

- 35 En ciertas realizaciones, el procedimiento incluye, además, leer una etiqueta de identificación electrónica del recipiente de muestras.

En algunas realizaciones, la muestra incluye una o más células reproductivas.

- 40 Las realizaciones pueden proporcionar una o más de las siguientes ventajas.

- El recipiente de muestras está diseñado para explotar las propiedades de masa de una muestra con respecto a las propiedades de masa de varios medios de procesamiento. En consecuencia, el lumen del recipiente de muestras está precargado internamente con múltiples fluidos a los que la muestra estará expuesta durante un proceso de criopreparación. En particular, el recipiente de muestras puede estar precargado con una solución de equilibrado de densidad relativamente baja y una solución de vitrificación de densidad relativamente alta que están separadas por un fluido de separación 124. Dicha separación de la solución de equilibrado y la solución de vitrificación permite el procesamiento apropiado de la muestra (por ejemplo, exposición secuencial de la muestra a soluciones particulares durante períodos de tiempo deseados) durante los protocolos de vitrificación.

- 50 Además, debido a un estado precargado de la solución de equilibrado y la solución de vitrificación dentro del recipiente de muestras, una muestra se puede preparar para la vitrificación dentro de un entorno único y aislado (por ejemplo, el lumen del recipiente de muestras) sin exponerse a contaminación, daño mecánico (por ejemplo, de una micropipeta u otro dispositivo de contención de la muestra o de suministro de fluido), u otro mal manejo accidental que de otro modo podría ocurrir cuando se accede a un recipiente que contiene una muestra varias veces para suministrar y retirar varios medios de procesamiento o cuando una muestra se mueve a varios recipientes durante un proceso de TRA. En este sentido, los recipientes de muestras analizados en este documento son dispositivos fáciles de usar que permiten a un usuario simplemente depositar una muestra dentro de un recipiente y luego colocar el recipiente dentro de una consola del sistema o una centrifuga para llevar a cabo ciertas etapas de un protocolo de TRA. En consecuencia, el usuario puede evitar pasos que implican agregar y retirar múltiples fluidos diferentes a un recipiente de muestras. Además, el recipiente de muestras tiene una geometría que optimiza la densidad de almacenamiento, de modo que el recipiente de muestras ocupa poco espacio. Una construcción del recipiente de muestras también tiene una baja capacidad térmica, de modo que el recipiente de muestras experimenta velocidades de enfriamiento y calentamiento rápidas, lo que promueve el bienestar de las muestras de tejido contenidas en él.

- 65 **DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

La Figura 1 es una vista en sección transversal de un recipiente para muestras que está diseñado para la criopreparación y criopreservación de una muestra.

La Figura 2 es una vista en sección transversal de un tubo alargado del recipiente para muestras de la Figura 1.

La Figura 3 es una vista en sección transversal ampliada de una región del extremo proximal del recipiente para muestras de la Figura 1.

La Figura 4 es una vista en perspectiva de una consola del sistema en una configuración cerrada que se puede utilizar para procesar una muestra contenida dentro del recipiente para muestras de la Figura 1.

La Figura 5 es una vista en perspectiva de la consola del sistema de la Figura 4 en una configuración abierta.

La Figura 6 es una vista en perspectiva en sección transversal de la consola del sistema de la Figura 4 en una configuración abierta.

Las Figuras 7-15 ilustran un procedimiento de vitrificación de una muestra dentro del recipiente para muestras de la Figura 1 utilizando la consola del sistema de la Figura 4.

Las Figuras 16-18 ilustran un procedimiento para recuperar una muestra que se ha conservado en un estado vitrificado dentro del recipiente para muestras de la Figura 1.

La Figura 19 es una vista en sección transversal de un recipiente para muestras que incluye un cierre proximal formado como un tapón.

La Figura 20 es una vista en sección transversal de un recipiente para muestras que incluye un cierre proximal que incluye una porción de transporte de muestras.

La Figura 21 es una vista en sección transversal de un recipiente para muestras que incluye un elemento de separación mecánica.

La Figura 22 es una vista en sección transversal de un recipiente para muestras que incluye múltiples medios de procesamiento de muestras.

La Figura 23 es una vista lateral de un recipiente para muestras que incluye un primer medio de procesamiento de muestras con partículas magnéticas y separado de un segundo medio de procesamiento de muestras.

La Figura 24 es una vista lateral del recipiente para muestras de la Figura 23 con el primer y el segundo medios de procesamiento de muestras combinados bajo la influencia de un campo magnético.

La Figura 25 es una vista en sección transversal ampliada de una zona del extremo proximal de un recipiente para muestras que incluye una etiqueta de código de barras.

La Figura 26 es una vista en sección transversal ampliada de una zona del extremo proximal de un recipiente para muestras que incluye una etiqueta de código de respuesta rápida (QR).

Las Figuras 27 y 28 son vistas laterales de un recipiente de muestras que incluye una etiqueta de identificación que sirve como cierre proximal, con la etiqueta de identificación mostrada en una configuración abierta y una configuración cerrada, respectivamente.

La Figura 29 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye una zona del extremo proximal ensanchada.

La Figura 30 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye una zona bulbosa cerca de un extremo proximal del recipiente de muestras.

La Figura 31 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye una zona bulbosa cerca de un extremo distal del recipiente de muestras.

La Figura 32 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye una zona bulbosa a lo largo de una porción central del recipiente de muestras.

La Figura 33 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye un puerto de acceso cerca de un extremo proximal del recipiente de muestras.

La Figura 34 es una vista en perspectiva de un mango que se puede utilizar para alojar, almacenar y manipular el recipiente de muestras de la Figura 33.

La Figura 35 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye un tamiz para drenar medios desde un extremo distal del recipiente de muestras.

La Figura 36 es una vista en perspectiva ampliada de una zona del extremo distal del recipiente de muestras de la Figura 35.

La Figura 37 es una vista en perspectiva de un mango que se puede utilizar para alojar, almacenar y manipular el recipiente de muestras de la Figura 35.

La Figura 38 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye clips en una orientación transversal y en un estado cerrado para definir múltiples cámaras de fluido dentro del recipiente de muestras.

La Figura 39 es una vista en perspectiva del recipiente de muestras de la Figura 38, con los clips en un estado abierto para abrir un lumen del recipiente de muestras.

La Figura 40 es una vista en perspectiva de un recipiente de muestras que incluye clips en una orientación en línea y en un estado cerrado para definir múltiples cámaras de fluido dentro del recipiente de muestras.

La Figura 41 es una vista lateral de un recipiente de muestras que incluye una barrera de separación en estado sólido.

La Figura 42 es una vista lateral del recipiente de muestras de la Figura 41 con la barrera de separación en estado líquido después de sufrir un cambio de fase de sólido a líquido.

La Figura 43 proporciona vistas laterales de un recipiente de muestras con un diámetro que varía de manera escalonada según los volúmenes de las barreras de separación que han sufrido un cambio de fase de sólido a líquido.

La Figura 44 es una vista lateral de un recipiente de muestras que incluye un cierre proximal que puede suministrar una muestra al recipiente de muestras.

La Figura 45 ilustra una serie de pasos para utilizar el recipiente de muestras de la Figura 44 para transferir una muestra desde una placa de cultivo a un sistema de vitrificación automatizado.

5 La Figura 46 es una vista en perspectiva de una consola del sistema en una configuración abierta que se puede utilizar para procesar una muestra contenida dentro de un recipiente de muestras.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

10 La Figura 1 ilustra un recipiente de muestras 100 que se puede utilizar para preparar una muestra de acuerdo con un protocolo biológico u otro y para almacenar posteriormente la muestra en una sustancia de baja temperatura. En particular, el recipiente de muestras 100 es un dispositivo criogénico que está configurado para la criopreparación y criopreservación de una muestra en un estado viable y vitrificado dentro de la sustancia de baja temperatura hasta que se desee utilizar la muestra (por ejemplo, durante un período de hasta aproximadamente 30 años). La muestra
15 puede ser una sola célula, una colección de células libres (por ejemplo, no adheridas) o una colección de células adheridas (por ejemplo, un tejido multicelular).

Los ejemplos de muestras incluyen muestras reproductivas (por ejemplo, ovocitos, cigotos, embriones, blastocistos y gástrulas) y otras muestras no reproductivas (por ejemplo, células T y células sanguíneas). La muestra puede ser una
20 muestra de mamífero o una muestra de no mamífero. En algunos ejemplos, la muestra es una muestra agrícola, tal como la colza. En algunos casos, la muestra es una muestra no biológica, tal como diversos productos químicos u otras muestras no biológicas. La sustancia de baja temperatura (por ejemplo, nitrógeno líquido, plasma criogénico o helio líquido) normalmente tiene una temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente -296 °C (por ejemplo, aproximadamente -196 °C para nitrógeno líquido) y mantiene la muestra en un estado vitrificado.

25 Con referencia a las Figuras 1 y 2, el recipiente de muestras 100 incluye un tubo alargado 102, un cierre proximal 104 que sella herméticamente un extremo proximal 106 del tubo alargado 102 y un cierre distal 108 que sella herméticamente un extremo distal 110 del tubo alargado 102. El tubo alargado 102 es un tubo capilar delgado de diámetro muy pequeño (por ejemplo, que tiene un diámetro interno del orden de 10^{-4} m). El tubo alargado 102 tiene
30 un diámetro sustancialmente constante a lo largo de una porción principal 114 (por ejemplo, una porción cilíndrica) y tiene un diámetro variable que disminuye gradualmente a lo largo de una porción cónica 116 que se extiende desde la porción principal 114 hasta el extremo distal 110.

El cierre proximal 104 es una tapa que está diseñada para rodear el extremo proximal 106 del tubo alargado 102. El
35 cierre proximal 104 se puede instalar y quitar de manera reversible del extremo proximal 106 para sellar el extremo proximal 106 y para abrir el extremo proximal 106 para permitir el acceso proximal al tubo alargado 102, respectivamente. El cierre distal 108 es un sello de un solo uso (por ejemplo, un sello de fusión, un pliegue, pegamento o adhesivo, o un elemento de oclusión) que se puede quitar (por ejemplo, cortar o separar de otro modo) del extremo distal 110 del tubo alargado 102 para permitir que el material pase distalmente fuera del tubo alargado 102.

40 La porción principal 114 del tubo alargado 102 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 10 mm a aproximadamente 200 mm (por ejemplo, aproximadamente 80 mm), un diámetro exterior de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 8 mm (por ejemplo, aproximadamente 3 mm) y un espesor de pared de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 2 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,75 mm). La porción cónica 116 del tubo alargado
45 102 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 60 mm (por ejemplo, aproximadamente 15 mm), un diámetro exterior máximo que es adyacente e igual al diámetro exterior de la porción principal 114, un diámetro exterior mínimo (por ejemplo, en el extremo distal 110 del tubo alargado 102) de aproximadamente 0,3 mm a aproximadamente 8 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,5 mm), y un espesor de pared de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 2 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,2 mm). Un lumen del tubo
50 alargado 102, en un diámetro interior más pequeño, es lo suficientemente grande para alojar una muestra, que habitualmente tiene un diámetro o un ancho en un intervalo de aproximadamente 50 μ m a aproximadamente 150 μ m. Una geometría y una construcción (por ejemplo, un perfil delgado y pequeño) del tubo alargado 102 están configuradas para aumentar (por ejemplo, maximizar) la transferencia de calor y reducir (por ejemplo, minimizar) la masa térmica para proporcionar velocidades de enfriamiento y calentamiento adecuadas del recipiente de muestras 100 durante los
55 protocolos de TRA. El recipiente de muestras 100 normalmente tiene una longitud total (por ejemplo, incluidas las longitudes del tubo alargado 102, el cierre proximal 104 y el cierre distal 108) de aproximadamente 15 mm a aproximadamente 260 mm (por ejemplo, aproximadamente 150 mm).

El tubo alargado 102 puede fabricarse mediante un proceso de moldeo por inyección, un proceso de fundición o un
60 proceso de extrusión. El tubo alargado 102 normalmente está hecho de uno o más materiales que pueden soportar la sustancia a baja temperatura, incluidos, entre otros, polímeros tales como poliestireno, polipropileno, acetato de polivinilo y policarbonato, y fluoropolímeros. El tubo alargado 102 también es habitualmente transparente o translúcido para permitir la visualización de la muestra a través de la pared del tubo alargado 102. Los cierres proximal y distal 104, 108 pueden fabricarse mediante sellado por radiofrecuencia (RF) o ultrasónico y, por lo general, están hechos de
65 uno o más materiales que pueden soportar la sustancia a baja temperatura, incluidos, entre otros, polímeros tales como poliestireno, polipropileno, acetato de polivinilo y policarbonato, y fluoropolímeros.

El recipiente de muestras 100 está diseñado para aprovechar las propiedades de masa (por ejemplo, densidad o mecánica de fluidos) de una muestra con respecto a las propiedades de masa de varios medios de procesamiento. En consecuencia, el lumen del tubo alargado 102 está precargado internamente con múltiples fluidos a los que se expondrá la muestra durante un proceso de criopreparación. En algunas implementaciones, por ejemplo, el tubo alargado 102 está precargado con una solución de equilibrio 120 (por ejemplo, un crioprotector de densidad relativamente baja) y una solución de vitrificación 122 (por ejemplo, un crioprotector de densidad relativamente alta) que están separadas por un fluido de separación 124 (por ejemplo, una burbuja de aire o un medio inmiscible). Dicha separación de la solución de equilibrio 120 y la solución de vitrificación 122 permite el procesamiento apropiado de la muestra (por ejemplo, exposición secuencial de la muestra a soluciones particulares durante períodos de tiempo deseados) durante los protocolos de vitrificación. El tubo alargado 102 está precargado, además, con una bolsa de aire proximal 126 que separa la solución de equilibrio 120 del cierre proximal 104 y una bolsa de aire distal 128 (por ejemplo, que ocupa una parte de un volumen interior de la parte cónica 116 del tubo alargado 102) que separa la solución de vitrificación 122 del cierre distal 108.

Las soluciones de equilibrio 120 de ejemplo incluyen aminoácidos esenciales y no esenciales, sulfato de gentamicina (0,01 g/L), 7,5 % (v/v) de DMSO y etilenglicol y 12 mg/mL de albúmina humana. Dichas soluciones de equilibrio 120 tienen habitualmente una densidad en un intervalo de aproximadamente 1,030 g/mL a aproximadamente 1,095 g/mL. El volumen de la solución de equilibrio 120 dentro del tubo alargado 102 es habitualmente de aproximadamente 2 μ L a aproximadamente 20 μ L. Las soluciones de vitrificación 122 de ejemplo incluyen aminoácidos no esenciales, sulfato de gentamicina (0,01 g/L), 15 % (v/v) de DMSO y etilenglicol, 12 mg/mL de albúmina humana y 0,6 M de sacarosa. Tales soluciones de vitrificación 122 tienen habitualmente una densidad en un intervalo de aproximadamente 1,100 g/mL a aproximadamente 1,200 g/mL, de modo que la solución de vitrificación 122 es habitualmente más densa que la solución de equilibrio 120. El volumen de la solución de vitrificación 122 dentro del tubo alargado 102 es habitualmente de aproximadamente 2 μ L a aproximadamente 20 μ L. El volumen del fluido de separación 124 es habitualmente de aproximadamente 0,1 μ L a aproximadamente 20 μ L. El fluido de separación 124 habitualmente tiene una densidad que es menor que las densidades de la solución de equilibrio 120 y la solución de vitrificación 122. Por ejemplo, el fluido de separación 124 habitualmente tiene una densidad en un intervalo de aproximadamente 1 g/mL a aproximadamente 179×10^{-6} g/mL. La solución de equilibrio 120 y la solución de vitrificación 122 habitualmente están espaciadas axialmente de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 20 mm entre sí dentro del tubo alargado 102 (por ejemplo, de acuerdo con el volumen del fluido de separación 124 y un diámetro interno del tubo alargado 102). La muestra que se colocará en el recipiente normalmente tiene una densidad que es diferente de las densidades de la solución de equilibrio 120 y la solución de vitrificación 122. La muestra normalmente tiene una densidad que es ligeramente mayor que aproximadamente 1,000 g/mL fuera de las soluciones 120, 122, pero que cambia rápidamente tras la exposición a las soluciones 120, 122. Por ejemplo, inicialmente, la muestra casi flota en la solución de equilibrio 120, pero se vuelve más densa a medida que las células de la muestra se hidratan con la solución de equilibrio 120.

Con referencia a la Figura 3, el recipiente de muestras 100 incluye, además, una etiqueta de identificación (ID) 134 unida al tubo alargado 102 cerca del extremo proximal 106. La etiqueta de identificación 134 puede ser una etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) (por ejemplo, que incluye una antena interna) que incluye información legible por máquina. Además, la información legible por humanos puede estar escrita en una superficie exterior de la etiqueta de identificación 134. La información legible por máquina o la información legible por humanos pueden incluir varios datos del paciente, tales como un nombre, una fecha de nacimiento y un código de referencia único (por ejemplo, una secuencia alfanumérica). La etiqueta de identificación 134 del recipiente de muestras 100 puede ser detectada y leída por un componente de escaneo de una consola del sistema, como se analizará con más detalle a continuación con respecto a las Figuras 4-6.

El recipiente de muestras 100 es un dispositivo estéril de un solo uso que no es tóxico para las muestras contenidas en el mismo. El recipiente de muestras 100 se envasa habitualmente como una sola unidad, y tanto el recipiente de muestras 100 como el envase permanecerán estériles durante una vida útil garantizada del recipiente de muestras 100. La longitud total del recipiente de muestras 100 habitualmente permite que el recipiente de muestras 100 encaje dentro de recipientes de almacenamiento estándar y otros equipos estándar utilizados en protocolos de TRA.

En algunas realizaciones, se puede utilizar una consola del sistema que incluye varios componentes de TRA para procesar una muestra contenida dentro del recipiente de muestras 100. Por ejemplo, haciendo referencia a las Figuras 4-6, una consola del sistema 200 incluye una carcasa base 202, un receptáculo 204 que puede girar dentro de un bolsillo interior 206 de la carcasa base 202, un componente lector 208 (por ejemplo, una antena RFID u otro tipo de componente lector, ilustrado esquemáticamente) que está programado para leer la etiqueta de identificación 134 del recipiente de muestras 100, y un enfriador 210 que se puede deslizar dentro de un cajón 226 de la carcasa base 202 y que está configurado para contener una sustancia de baja temperatura. La consola del sistema 200 incluye, además, una tapa 212 que se puede abrir para permitir el acceso al receptáculo 204, una pantalla de interfaz de usuario 214 colocada a lo largo de un lado frontal de la tapa 212, un temporizador 232 (ilustrado esquemáticamente) y un módulo de control 216 (ilustrado esquemáticamente) que está programado para controlar varias características y funcionalidades de la consola del sistema 200. El componente lector 208, el temporizador 232 y el módulo de control 216 pueden colocarse en ubicaciones respectivas dentro de la consola del sistema 200 que sean adecuadas para sus

respectivas funciones. En algunas realizaciones, la consola del sistema 200 incluye, además, un tubo accesorio 234 que tiene el tamaño adecuado para rodear el recipiente de muestras 100 y para ser recibido en el receptáculo 204.

La carcasa base 202 está configurada para soportar el receptáculo 204 y la tapa 212, para recibir el enfriador 210 y para descansar sobre un piso u otra superficie plana. El receptáculo 204 se proporciona como un canal alargado que tiene el tamaño adecuado para recibir el recipiente de muestras 100 en una abertura de entrada 218. El componente lector 208 puede detectar la presencia del recipiente de muestras 100 dentro del receptáculo 204 leyendo la etiqueta de identificación 134 (por ejemplo, la etiqueta RFID) y puede comunicar dicha detección al módulo de control 216, lo que puede hacer que se active el temporizador 232. Según una o más señales recibidas desde el módulo de control 216, el receptáculo 204 puede girar dentro del bolsillo interior 206 alrededor de un eje de giro 220 del receptáculo 204. Dicho giro hace que la muestra se mueva dentro del recipiente de muestras 100 a lo largo de un eje radial 222 del receptáculo 204 hacia el extremo distal 110 del tubo alargado 102. De acuerdo con una o más señales recibidas desde el módulo de control 216, una abertura de salida ajustable 224 del receptáculo 204 se puede cerrar o restringir para soportar el recipiente de muestras 100 durante el giro. La abertura de salida 224 también se puede abrir o agrandar para liberar el recipiente de muestras 100 hacia abajo a través de un canal de salida 228 de la carcasa base 202 y hacia el interior del enfriador 210 después del giro para la vitrificación y el almacenamiento del recipiente de muestras 100 dentro de la sustancia de baja temperatura contenida dentro del enfriador 214.

Se pueden disponer uno o más recipientes de almacenamiento dentro del enfriador 210 para recibir el recipiente de muestras 100. En algunas realizaciones, el enfriador 210 se puede deslizar dentro y fuera del cajón 226 de la carcasa base 202 de manera automatizada de acuerdo con una o más señales recibidas desde el módulo de control 216 para permitir que un usuario verifique un nivel de la sustancia de baja temperatura (por ejemplo, que puede ser susceptible a la evaporación) y/o para rellenar el enfriador 210 con la sustancia de baja temperatura. En algunas realizaciones, el enfriador 210 está configurado para deslizarse manualmente dentro y fuera del cajón 226 a través de un asa 230. En algunas realizaciones, la consola del sistema 200 incluye un sensor que puede detectar el nivel de la sustancia de baja temperatura dentro del enfriador 210.

La tapa 212 se puede mover manualmente (por ejemplo, pivotar, deslizar o quitar) con respecto a la carcasa base 202 para permitir el acceso al receptáculo 204. La pantalla de interfaz de usuario 214 permite que un usuario introduzca varios parámetros que rigen el funcionamiento de la consola del sistema 200 para vitrificar la muestra 101, tal como una etapa de la muestra 101 (por ejemplo, una selección de protocolo de ovocito o blastocisto). La pantalla de interfaz de usuario 214 puede ser una pantalla táctil integrada o una pantalla sin contacto asociada con elementos de control táctiles, tales como botones, perillas, diales o similares. El módulo de control 216 incluye uno o más procesadores que están en comunicación con, y/o están programados para controlar varios actuadores y sensores de la consola del sistema 200 relacionados con varias funciones automatizadas, tales como recibir e instanciar selecciones de usuario introducidas en la pantalla de interfaz de usuario 214, leer la etiqueta de identificación 134 del recipiente de muestras 100, ejecutar el temporizador 232, girar el receptáculo 204 a una velocidad de giro especificada durante una duración especificada, ajustar la abertura de salida 224 del receptáculo 204, deslizar el enfriador 210 a lo largo del cajón 226, detectar el nivel de la sustancia a baja temperatura, detectar un estado abierto/cerrado de la tapa 212 y proporcionar retroalimentación audible y/o visual con respecto a una progresión del proceso.

En algunas realizaciones, la carcasa base 202 y la tapa 212 de la consola del sistema 200 tienen una longitud de aproximadamente 0,2 m a aproximadamente 1 m y un ancho de aproximadamente 0,1 m a aproximadamente 0,5 m. En algunas realizaciones, la carcasa base 202 tiene una altura de aproximadamente 0,1 m a aproximadamente 1,0 m, y la tapa 212 tiene una altura de aproximadamente 0,05 m a aproximadamente 0,25 m, de modo que la consola del sistema 200 tiene una altura total (por ejemplo, cuando la tapa 112 está cerrada) de aproximadamente 0,15 m a aproximadamente 1,25 m. En algunas realizaciones, la consola del sistema 200 (por ejemplo, sin la sustancia de baja temperatura) tiene un peso en un intervalo de aproximadamente 10 kg a aproximadamente 75 kg y se almacena habitualmente en el piso de un laboratorio, el piso de una instalación de almacenamiento, una mesa o una encimera, que tiene una temperatura ambiente de aproximadamente 18 °C a aproximadamente 28 °C. En algunas realizaciones, el receptáculo 204 tiene una longitud de aproximadamente 5 cm a aproximadamente 90 cm. En algunas realizaciones, el receptáculo 204 tiene un tamaño adecuado para contener un recipiente de muestras 100, de modo que el receptáculo 204 tiene un diámetro interno de aproximadamente 0,5 cm a aproximadamente 2 cm. En realizaciones alternativas, el receptáculo 204 tiene un tamaño adecuado para contener múltiples (por ejemplo, ocho) recipientes de muestras 100, de modo que el receptáculo 204 tiene un diámetro interno de aproximadamente 1 cm a aproximadamente 10 cm.

El receptáculo 204 está hecho habitualmente de metal. La carcasa base 202 y la tapa 212 están hechas habitualmente de materiales que proporcionan un grado de aislamiento térmico, tales como polímeros. En algunas realizaciones, el enfriador 210 tiene una longitud de aproximadamente 0,1 m a aproximadamente 0,5 m, una altura de aproximadamente 0,1 m a aproximadamente 0,5 m, un ancho de aproximadamente 0,1 m a aproximadamente 0,5 m y un espesor de pared de aproximadamente 1 cm a aproximadamente 5 cm. El enfriador 210 está hecho habitualmente de uno o más materiales aislantes, tales como espuma de poliestireno extruido o construcciones de material de recipiente laminado y al vacío.

Las Figuras 7-15 ilustran un procedimiento de vitrificación de una muestra 101 dentro del recipiente de muestras 100

utilizando la consola del sistema 200. Con referencia a la Figura 7, se retira el cierre proximal 104 (por ejemplo, se tira de él o se retuerce) del tubo alargado 102 para permitir el acceso al lumen del tubo alargado 102. Con referencia a las Figuras 8 y 9, se utiliza un dispositivo de suministro 103 (por ejemplo, una micropipeta, una espátula u otro dispositivo) para suministrar la muestra 101 al lumen a través del extremo proximal 106 del tubo alargado 102. La muestra 101, junto con un pequeño volumen circundante de medio de cultivo, se puede depositar directamente en la solución de equilibrado 120 o depositarse justo encima de la solución de equilibrado 120 dentro de la bolsa de aire proximal 126. A continuación, se vuelve a instalar el cierre proximal 104 en el extremo proximal 106 para volver a sellar el tubo alargado 102.

Con referencia nuevamente a la Figura 5, se abre la tapa 212 de la consola del sistema 200 y el recipiente de muestras 100, con la muestra 101 contenida en el mismo, se carga entonces en el receptáculo 204 de la consola del sistema 200, de modo que, con respecto al eje de giro 220, el extremo distal 110 está más separado del eje de giro 220 que el extremo proximal 106. Haciendo referencia nuevamente a la Figura 4, se cierra la tapa 212 y el componente lector 208 de la consola del sistema 200 detecta la presencia del recipiente de muestras 100, de modo que el temporizador 232 se activa para funcionar durante un primer período de exposición predeterminado en respuesta a la detección. El recipiente de muestras 100 se deja reposar en su lugar (por ejemplo, estacionario) en el receptáculo 204 durante el primer período de exposición predeterminado para que la muestra 101 pueda equilibrarse en la solución de equilibrado 120. El primer período de exposición puede variar de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 15 minutos, dependiendo de varios parámetros de los protocolos de TRA habituales.

Durante el primer período de exposición, la solución de equilibrado 120 extrae moléculas de agua de la muestra 101 e infunde crioprotectores en la muestra 101 de acuerdo con el potencial osmótico. La reducción del contenido de agua y la adición de crioprotectores ayudan a minimizar el daño a los componentes celulares de la muestra 101 durante los ciclos de congelación y calentamiento. Aunque la muestra 101 es más densa que la solución de equilibrado 120 y, por lo tanto, descenderá muy gradualmente a través de la solución de equilibrado 120 debido a las fuerzas gravitacionales a lo largo del tiempo, la muestra 101 normalmente seguirá suspendida dentro de la solución de equilibrado 120 y aún no habrá alcanzado el fluido de separación 124 al final del primer período de exposición, como se muestra en la Figura 10.

Con referencia a las Figuras 11-14, una vez que la muestra 101 ha sido expuesta a la solución de equilibrado 120 durante el período de exposición predeterminado, el receptáculo 204 se activa para hacer girar el recipiente de muestras 100 a una velocidad baja seleccionada para hacer avanzar la solución de equilibrado 120 y la muestra 101 axialmente a través del fluido de separación 124 hasta la solución de vitrificación 122. El recipiente de muestras 100 se hace girar habitualmente durante aproximadamente 0,5 minutos a aproximadamente 5 minutos a una velocidad angular de aproximadamente 50 rpm a aproximadamente 1200 rpm, lo que ejerce suficiente fuerza centrípeta sobre la muestra 101 para hacer que la muestra 101 descienda a la solución de vitrificación 122 de manera oportuna, pero no lo suficiente para causar daño mecánico a la muestra 101. Dicha velocidad (por ejemplo, correspondiente de aproximadamente 5 g a aproximadamente 200 g) es significativamente más lenta que las velocidades de las centrifugas de laboratorio convencionales de incluso muy baja velocidad, que normalmente son capaces de hacer girar muestras alrededor de un eje de centrifugado a velocidades en un intervalo de aproximadamente 4000 rpm a aproximadamente 300.000 rpm (por ejemplo, correspondientes a aproximadamente 2.500 g a aproximadamente 65.000 g).

Refiriéndose particularmente a la Figura 11, durante una fase inicial de centrifugado, la muestra 101 desciende dentro de la solución de equilibrado 120 mientras que la solución de equilibrado 120, que contiene la muestra 101, desciende mediante un movimiento en masa a través del fluido de separación 124 (por ejemplo, desplazando de ese modo el fluido de separación 124) hacia la solución de vitrificación 122. Refiriéndose particularmente a la Figura 12, durante una fase posterior de centrifugado, la solución de equilibrado 120 alcanza la solución de vitrificación 122, y la muestra 101 pasa de la solución de equilibrado 120 a la solución de vitrificación 122. Refiriéndose particularmente a la Figura 13, durante una siguiente fase de giro, la solución de equilibrado 120 se fusiona con la solución de vitrificación 122 para formar una solución de vitrificación combinada 130 (por ejemplo, que incluye la solución de equilibrado 120, la solución de vitrificación 122 y una capa de interfaz de solución mixta entre la solución de equilibrado 120 y la solución de vitrificación 122), y la muestra 101 continúa descendiendo a través de la solución de vitrificación combinada 130.

Haciendo referencia en particular a la Figura 14, durante una fase final de giro, la muestra 101 reposa sobre un menisco 132 de la bolsa de aire distal 128 debido a la tensión superficial y, por lo tanto, evita el contacto con la pared relativamente dura del tubo alargado 102. Por ejemplo, debido a un equilibrio entre la tensión superficial en la interfaz de la solución de vitrificación combinada 130 y la bolsa de aire distal 128, y la tensión entre la solución de vitrificación combinada 130 y una pared interior de la porción cónica 116, la fuerza de flotabilidad potencial de la bolsa de aire distal 128 no es suficiente para atravesar el menisco 132. Por lo tanto, la muestra 101 no puede penetrar el menisco 132.

Con la muestra 101 reposando sobre el menisco de la bolsa de aire distal 128 al finalizar el giro, se activa el temporizador 232 y se permite que el recipiente de muestras 100 permanezca en su lugar (por ejemplo, estacionario) en el receptáculo 204 durante un segundo período de exposición predeterminado para que la muestra 101 se exponga a la solución de vitrificación combinada 130. El segundo período de exposición puede variar de aproximadamente 0,5

minutos a aproximadamente 2 minutos, dependiendo de varios parámetros de los protocolos habituales de TRA. Durante el segundo período de exposición, la permeación de crioprotectores dentro de la solución de vitrificación combinada 130 en la muestra 101 reemplaza el agua dentro de la muestra 101, deshidratando así la muestra e infundiendo más crioprotectores en la muestra 101. Esta progresión en forma de etapas de las concentraciones de los medios evita un diferencial osmótico inicial excesivamente alto que, de lo contrario, podría hacer que las células de la muestra 101 se encojan demasiado y demasiado rápido, ya que el agua sale de las células a una velocidad más rápida a la que pueden entrar los crioprotectores en las células.

Debido a un estado precargado de la solución de equilibrado 120 y la solución de vitrificación 122 dentro del recipiente de muestras 100, una muestra se puede preparar para la vitrificación dentro de un solo entorno aislado (por ejemplo, el lumen del recipiente de muestras 100) sin exponerse a contaminación, daño mecánico (por ejemplo, de una micropipeta u otro dispositivo de sujeción de muestra o suministro de fluido), u otro mal manejo accidental que de otra manera podría ocurrir cuando se accede varias veces a un recipiente que aloja una muestra para entregar y retirar varios medios de procesamiento o cuando una muestra se mueve a varios recipientes (por ejemplo, placas de Petri, tubos de ensayo o matraces) durante un proceso de TRA.

En algunas implementaciones, una vez que ha finalizado el segundo período de exposición, el recipiente de muestras 100, que contiene la muestra 101, se libera directamente desde el receptáculo 204 hacia abajo a través del canal de salida 228 de la carcasa base 202 (consulte la Figura 6) y hacia la sustancia de baja temperatura (por ejemplo, N₂ líquido a una temperatura de aproximadamente -196 °C) contenida dentro del enfriador 210 para el almacenamiento temporal a baja temperatura. El recipiente de muestras 100 se deposita de manera tal que al menos una porción distal del recipiente de muestras 100 que rodea la muestra 101 se sumerge en la sustancia de baja temperatura. El temporizador 232 se activa, lo que hace que la muestra 101 se enfríe rápidamente a un estado vítreo antes de que se puedan formar cristales de hielo dentro de las células de la muestra 101 de modo que la muestra 101 se pueda conservar en un estado viable. El recipiente de muestras 100, que contiene la muestra 101, se transfiere luego manualmente desde el enfriador 210 de la consola del sistema 200 a una estructura de almacenamiento a baja temperatura a largo plazo, donde la muestra 101 se puede mantener en un estado criogénico durante un período de hasta aproximadamente 20 años. En algunos casos, el recipiente de muestras 100 se puede almacenar en la estructura de almacenamiento a baja temperatura a largo plazo durante un período mucho más corto (por ejemplo, tan corto como unas pocas horas).

En algunas implementaciones alternativas, una vez que ha terminado el segundo período de exposición, el recipiente de muestras 100, que contiene la muestra 101, se retira manualmente del receptáculo 204, se inspecciona visualmente y luego se vuelve a introducir posteriormente en el receptáculo 204 para liberarlo en el enfriador 210, en lugar de liberarlo inmediatamente hacia abajo en el enfriador 210 al finalizar el segundo período de exposición. Con referencia a la Figura 15, en algunas implementaciones, una vez que ha terminado el segundo período de exposición, el recipiente de muestras 100, que contiene la muestra 101, se retira manualmente del receptáculo 204 y se sumerge en una sustancia de baja temperatura 105 dentro de un vaso de precipitados 107 u otro recipiente en lugar de liberarse en el enfriador 210. Como se analizó anteriormente, el recipiente de muestras 100 se sumerge de una manera tal que al menos una porción distal del recipiente de muestras 100 que rodea la muestra 101 se sumerge en la sustancia de baja temperatura 105. El temporizador 232 (u otro temporizador) se puede activar para rastrear la duración relativamente corta en la que el recipiente de muestras 100 está sumergido. El recipiente de muestras 100, que contiene la muestra 101, se transfiere luego manualmente desde el vaso de precipitados 107 a una estructura de almacenamiento a baja temperatura a largo plazo.

Con referencia a las Figuras 16-18, el recipiente de muestras 100 se puede almacenar en la estructura de almacenamiento a baja temperatura a largo plazo hasta que la muestra 101 esté lista para usarse en procedimientos reproductivos u otros. En ese momento, el recipiente de muestras 100 se puede retirar de la estructura de almacenamiento y posteriormente descongelar mediante protocolos de calentamiento estándar en los que la muestra 101 se expone a una o más soluciones de calentamiento. Por ejemplo, haciendo referencia a la Figura 16, el recipiente de muestras 100, que contiene la muestra 101, se transfiere a una o más soluciones de calentamiento 109 a una temperatura de habitualmente aproximadamente 37 °C durante un período de aproximadamente 3 segundos a aproximadamente 1 minuto. En algunas implementaciones, las soluciones de calentamiento 109 pueden estar aproximadamente a temperatura ambiente. Haciendo referencia a las Figuras 17A y 17B, el recipiente de muestras 100 se abre mediante una o ambas de: retirar el cierre distal 108 (por ejemplo, cortando el cierre distal 108 a lo largo de la bolsa de aire distal 128) del tubo alargado 102 (Figura 17A) y retirar (por ejemplo, tirando, retorciendo o cortando) el cierre proximal 104 del tubo alargado (Figura 17B). Con referencia a la Figura 18, la muestra 101 y la solución de vitrificación combinada 130 se pueden extraer (por ejemplo, drenar o purgar) del recipiente de muestras 100 abierto en una placa de Petri 111 u otro recipiente a una temperatura de aproximadamente 37 °C para un procesamiento posterior de la muestra 101 de acuerdo con protocolos de TRA seleccionados.

Si bien se han descrito anteriormente ciertas realizaciones de recipientes de muestras, son posibles otras realizaciones.

Si bien se han descrito anteriormente ciertas implementaciones de vitrificación de una muestra, son posibles otras implementaciones. Por ejemplo, si bien se ha descrito que el proceso de vitrificación de la muestra 101 incluye el paso de sumergir el recipiente de muestras 100 dentro de una sustancia a baja temperatura después de girar dentro de la

consola 200, en algunas implementaciones, la muestra 101 se libera sobre un portador de muestras convencional para su uso inmediato en un procedimiento de TRA sin exponer el recipiente de muestras 100 a la sustancia a baja temperatura para su criopreservación. En tales casos, el recipiente de muestras 100 se desecha después de liberar la muestra 101.

Si bien se ha descrito que el proceso para vitrificar la muestra 101 incluye el paso de hacer girar el recipiente de muestras 100 dentro de la consola 200 para sedimentar gradualmente la muestra 101 a través de la solución de equilibrado 120 y la solución de vitrificación 122, en algunas implementaciones, la muestra 101 se puede agarrar manualmente con una herramienta adecuada (por ejemplo, una micropipeta), sumergir manualmente en la solución de equilibrado 120 durante un período de tiempo definido con la herramienta, avanzar con la herramienta hacia la solución de vitrificación 122 y mantenerla en la solución de vitrificación 122 con la herramienta durante un período de tiempo definido. A continuación, la muestra 101 se libera de la herramienta hacia la solución de vitrificación 122 para exponer el recipiente de muestras 100, con la muestra 101 contenida en el mismo, a una sustancia a baja temperatura, o bien la muestra 101 se retira manualmente del tubo alargado 102 con la herramienta y se sumerge directamente en nitrógeno líquido u otra sustancia refrigerante con la herramienta.

Si bien se ha descrito que el proceso para vitrificar la muestra 101 incluye el paso de hacer girar el recipiente de muestras 100 dentro del receptáculo 204 de la consola 200 alrededor del eje de giro 220, en algunas implementaciones, el recipiente de muestras 100, con la muestra 101 contenida en el mismo, puede hacerse girar dentro de una centrífuga convencional que está diseñada para hacer girar los recipientes de muestras a velocidades apropiadamente bajas alrededor del eje de centrifugado.

Si bien el proceso para vitrificar la muestra 101 se ha descrito como vitrificar una sola muestra 101 a la vez dentro del recipiente de muestras 100, en algunas implementaciones, se pueden depositar múltiples muestras en un solo recipiente de muestras 100 para procesamiento simultáneo de acuerdo con el proceso descrito anteriormente con respecto a las Figuras 7-15. En algunas realizaciones, se pueden colocar múltiples recipientes de muestras 100 juntos, cada uno de los cuales lleva una o más muestras 101, dentro del receptáculo 204 para el giro simultáneo.

Si bien se ha descrito que el recipiente de muestras 100 incluye el cierre proximal 104 formado como una tapa que rodea una pared exterior del tubo alargado 102, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras 300 incluye un cierre proximal 304 formado como un tapón (por ejemplo, un corcho) que se asienta dentro del lumen del tubo alargado 102, como se muestra en la Figura 19. Si bien se han omitido algunas características del dibujo para mayor claridad, el recipiente de muestras 300 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100, excepto que el recipiente de muestras 300 incluye el cierre proximal 304 en lugar del cierre proximal 104. El cierre proximal 304 incluye un tapón 340 (por ejemplo, una porción de inserción) que tiene el tamaño adecuado para introducirse cómodamente en el lumen del tubo alargado 102 para sellar el tubo alargado 102 en el extremo proximal 106. El cierre proximal 304 incluye, además, una brida superior 342 que es más ancha que el tubo alargado 102 de modo que la brida superior 342 permanece externa al lumen mientras que el tapón 340 está dispuesto dentro del lumen para facilitar la manipulación del cierre proximal 304. El cierre proximal 304 está hecho habitualmente de plástico.

En algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye un cierre proximal que tiene una porción de transporte de muestras. La Figura 20 ilustra un recipiente de muestras 400 que incluye dicha característica. El recipiente de muestras 400 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100, excepto que el recipiente de muestras 400 incluye un soporte de cierre 444 y un cierre proximal 404 en lugar del cierre proximal 104. El soporte de cierre 444 está formado como una estructura de hoja circunferencial que es más ancha que el tubo alargado 102 y que se encuentra adyacente al extremo proximal 106 del tubo alargado 102. El cierre proximal 404 incluye un tapón 440 que está dimensionado para introducirse cómodamente en una porción tubular 446 del soporte de cierre 444 y para descansar contra una plataforma anular 448 del soporte de cierre 444 para sellar el tubo alargado 102 en el soporte de cierre 444. El tapón 440 está dimensionado para extenderse más allá de un extremo del soporte de cierre 444 cuando descansa sobre la plataforma anular 448 de modo que el tapón 440 se pueda usar para manipular el cierre proximal 404. El cierre proximal 404 incluye, además, un portador de muestras 450 que está dimensionado para contener una muestra 401 y para entregar la muestra 401 al lumen del tubo alargado 102. La entrega, o transferencia, de la muestra 401 a la solución de equilibrado 120 puede llevarse a cabo por simple inmersión, o se pueden aplicar fuerzas g a la muestra 401 para empujar la muestra 401 fuera del portador de muestras 450 hacia la solución de equilibrado 120. El cierre proximal 404 está hecho habitualmente de plástico.

En algunas realizaciones, un recipiente de muestras que es similar a cualquiera de los recipientes de muestras 100, 300, 400 descritos anteriormente o cualquiera de los recipientes de muestras descritos a continuación incluye un cierre distal que está formado como un tapón.

Si bien se ha descrito que el recipiente de muestras 100 incluye un fluido de separación 124 (por ejemplo, una burbuja de aire) que separa la solución de equilibrado 120 de la solución de vitrificación 122, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye un mecanismo de separación diferente. Por ejemplo, Figura 21 ilustra una parte de un recipiente de muestras 500 que incluye un elemento de separación mecánica 524 que sirve como barrera entre la solución de equilibrado 120 y la solución de vitrificación 122. El recipiente de muestras 500 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100, excepto que el recipiente de muestras 500 incluye el elemento

de separación mecánica 524 en lugar del fluido de separación 124. En la realización de ejemplo 500, el elemento de separación mecánica 524 se proporciona como una barrera (por ejemplo, una válvula de mariposa) que evita el paso de vapor de agua entre la solución de equilibrio 120 y la solución de vitrificación 122, así como también evita la mezcla prematura de las mismas. El elemento de separación mecánica 524 está diseñado para permanecer cerrado en condiciones nominales y para abrirse bajo una carga de fuerza g suficiente, como ocurrirá durante el giro del recipiente de muestras 500 dentro de la consola del sistema 200 o dentro de una centrífuga diseñada apropiadamente.

Otros ejemplos de elementos de separación mecánica que pueden incluirse en recipientes de muestras similares incluyen una esfera que se ajusta perfectamente dentro de una constricción interna local, un fluido de separación con propiedades que promueven la migración deseada del fluido de separación mientras está bajo carga centrípeta (por ejemplo, un fluido de separación con una densidad que es menor que la de la solución de equilibrio 120), un fluido viscoelástico que se mueve solo cuando está sujeto a una fuerza g suficientemente alta y una película que puede perforarse (o penetrarse de otro modo) para crear un camino lo suficientemente grande para que la muestra 101 pase fácilmente a través de la película.

Si bien se ha descrito que el recipiente de muestras 100 incluye una solución de equilibrio 120 y una solución de vitrificación 122, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye más de una solución de equilibrio y/o más de una solución de vitrificación 122. Por ejemplo, la Figura 22 ilustra una parte de un recipiente de muestras 600 que incluye múltiples soluciones de vitrificación. El recipiente de muestras 600 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100, excepto que el recipiente de muestras 600 incluye las múltiples soluciones de vitrificación 652, 654, 656 de diferentes densidades, que pueden ser útiles en situaciones en las que es ventajoso procesar una muestra 601 en graduaciones de concentración más pequeñas. En algunas realizaciones, el recipiente de muestras 600 se carga previamente y se envasa con una solución de vitrificación inicial 622, que luego se separa en las tres soluciones de vitrificación 652, 654, 656 cuando el recipiente de muestras 600 se retira del envase y se somete a fuerzas g elevadas (por ejemplo, aproximadamente 10 000 g) durante un corto período de tiempo (por ejemplo, aproximadamente 10 segundos). De esta manera, se puede crear un gradiente de concentración de las soluciones de vitrificación 652, 654, 656 justo antes de la introducción de una muestra en el recipiente de muestras 600.

En algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye una o ambas de una solución de equilibrio y una solución de vitrificación con propiedades magnéticas. Por ejemplo, las Figuras 23 y 24 ilustran una parte de un recipiente de muestras 700 con dicha característica. El recipiente de muestras 700 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100, excepto que el recipiente de muestras 700 incluye una solución de equilibrio 720 que está cargada con nanopartículas magnéticas 758 formadas de óxido de hierro (Fe_3O_4). Las nanopartículas magnéticas 758 están recubiertas con una sustancia inerte biocompatible, tal como biotina o polietilenglicol (PEG).

Con referencia particularmente a la Figura 23, durante un proceso de vitrificación, una muestra 701 puede ser suministrada a la solución de equilibrio 720 como se describió anteriormente con respecto a las Figuras 8 y 9. Con referencia a la Figura 24, se puede encender una fuente de campo magnético externa 713 para proporcionar un campo magnético constante (por ejemplo, no alterno) que atrae las nanopartículas magnéticas 758 y la solución de equilibrio circundante 720 hacia abajo dentro de la solución de vitrificación 122 para formar una solución de vitrificación combinada 730. En algunas realizaciones, la fuente de campo magnético 713 se proporciona como una caja que está diseñada para contener el recipiente de muestras 700. En consecuencia, la fuente de campo magnético 713 puede estar diseñada de manera que actúe sobre el recipiente de muestras 700 mientras protege otros objetos circundantes del campo magnético. El movimiento descendente de las nanopartículas magnéticas 758 y la solución de equilibrio circundante 720 arrastra a su vez la muestra 701 hacia abajo, hacia un menisco 732 de la solución de vitrificación combinada 730. Debido a la sedimentación de la muestra 701 por un campo magnético, el recipiente de muestras 700 puede no necesitar someterse a un proceso de centrifugado, como se explicó anteriormente con respecto a la consola del sistema 200.

Si bien se ha descrito que el recipiente de muestras 100 incluye una etiqueta de identificación 134 en forma de etiqueta RFID, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye una etiqueta de identificación en forma de código de barras o código de respuesta rápida (QR). Por ejemplo, las Figuras 25 y 26 ilustran respectivamente partes de los recipientes de muestras 800, 900 que incluyen etiquetas de identificación 834, 934 en forma de un código de barras y un código QR en el extremo proximal 106 del tubo alargado 102. Los recipientes de muestras 800, 900 son, por lo demás, sustancialmente similares en construcción y función al recipiente de muestras 100.

En algunas realizaciones, como se muestra en las Figuras 27 y 28, una etiqueta de identificación puede, en sí misma, servir como un cierre proximal (por ejemplo, que tiene una superficie interna estéril) y, por lo tanto, puede proporcionarse como parte de un recipiente de muestras en lugar de un cierre proximal similar a una tapa o un tapón. Por ejemplo, el recipiente de muestras 1000 incluye una etiqueta de identificación 1034 en forma de una etiqueta RFID y que está recubierta con un adhesivo. La Figura 27 ilustra la etiqueta de identificación 1034 en una configuración abierta, mientras que la Figura 28 ilustra la etiqueta de identificación 1034 en una configuración cerrada y envuelta. La etiqueta de identificación 1034 incluye una zona imprimible 1060 en la que un usuario puede escribir sobre una superficie exterior. El recipiente de muestras 1000 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente

de muestras 100, excepto que el recipiente de muestras 1000 incluye la etiqueta de identificación 1034 en una configuración que sirve como un cierre proximal del tubo alargado 102.

En algunas realizaciones, como se muestra en la Figura 29, un recipiente de muestras 1100 incluye un tubo alargado 1102 con un extremo proximal ensanchado 1106. El recipiente de muestras 1100 es sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100 excepto que el recipiente de muestras 1100 incluye el tubo alargado 1102 con el extremo proximal ensanchado 1106 en lugar del tubo alargado 102 con el extremo proximal tubular 106. Aunque se omite por claridad, el recipiente de muestras 1100 incluye, además, la solución de equilibrado 120, el fluido de separación 124, la solución de vitrificación 122, la bolsa de aire proximal 126 y la bolsa de aire distal 128. El extremo proximal ensanchado 1106 está formado como un receptáculo que es más ancho que el tubo alargado 1102, facilitando así la carga de una muestra dentro de un lumen del tubo alargado 1102 utilizando un dispositivo de suministro 103. En algunas realizaciones, un recipiente de muestras similar incluye un tubo alargado con un extremo proximal ensanchado de una forma diferente a la que se muestra en la Figura 29.

En algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye una zona bulbosa que actúa como una jeringa de pera para ayudar a extraer una muestra del recipiente de muestras sin abrir ambos extremos del recipiente de muestras. Por ejemplo, Figuras 30-32 ilustran respectivamente los recipientes de muestras 1200, 1300, 1400 que incluyen zonas bulbosas 1262, 1362, 1462 ubicadas en las zonas proximal, distal y central de los recipientes de muestras 1200, 1300, 1400. Los recipientes de muestras 1200, 1300, 1400 son sustancialmente similares en construcción y función al recipiente de muestras 100, excepto por que los recipientes de muestras 1200, 1300, 1400 incluyen las zonas bulbosas 1262, 1362, 1462 a lo largo de los tubos alargados 1202, 1302, 1402. En algunas realizaciones, se puede utilizar un sistema de visión para ver un estado y una posición de una muestra a medida que la muestra se extrae desde un recipiente de muestras 1200, 1300, 1400. Por ejemplo, un estado de reexpansión de la muestra después de permanecer en la solución de equilibrado 120 indicaría un estado de equilibrado osmótico, que podría indicar al sistema que la muestra está lista para avanzar a la solución de vitrificación 122).

En algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye un puerto de acceso para depositar una muestra en un lumen del recipiente de muestras. Por ejemplo, la Figura 33 ilustra un recipiente de muestras 1500 que incluye un tubo alargado 1502 que define un puerto de acceso 1562. El recipiente de muestras 1500 incluye, además, un cierre proximal 1504 que sella herméticamente una zona del extremo proximal del tubo alargado 1502 y un cierre distal 1508 que sella herméticamente un extremo distal 1510 del tubo alargado 1502. El tubo alargado 1502 es un tubo capilar delgado de diámetro muy pequeño (por ejemplo, que tiene un diámetro interno del orden de 10^{-4} m). El tubo alargado 1502 tiene un diámetro sustancialmente constante a lo largo de una porción principal 1514 (por ejemplo, una porción cilíndrica) y tiene un diámetro variable que disminuye gradualmente a lo largo de una porción cónica 1516 que se extiende desde la porción principal 1514 hasta el extremo distal 1510.

El cierre proximal 1504 es un émbolo que está diseñado para asentarse dentro de un lumen del tubo alargado 1502 para cerrar un extremo proximal 1506 y el puerto de acceso 1562 del tubo alargado 1502. En consecuencia, el cierre proximal 1504 incluye un tapón 1580 (por ejemplo, un elemento cilíndrico alargado) que está dimensionado para introducirse en el lumen del tubo alargado 1502 y un elemento de agarre 1582 que se apoya en el extremo proximal 1506 del tubo alargado 1502 (por ejemplo, de este modo, permanece externo al lumen) cuando el tapón 1580 está dispuesto apropiadamente dentro del lumen. El elemento de agarre 1582 puede tener una superficie exterior lisa (por ejemplo, cilíndrica) o una superficie exterior facetada (por ejemplo, hexagonal) que facilita la manipulación del cierre proximal 1504 y que limita el movimiento del cierre proximal 1504 en casos en los que el cierre proximal 1504 se separa del tubo alargado 1502 y se coloca encima de una superficie. En algunas realizaciones, la superficie exterior del elemento de agarre 1582 puede tener un perfil asimétrico para evitar dicho movimiento no deseado encima de una superficie. El cierre proximal 1504 se puede instalar y quitar de manera reversible de la zona del extremo proximal del tubo alargado 1502 para sellar el extremo proximal 1506 y el puerto de acceso 1562 y para abrir la zona del extremo proximal para permitir el acceso proximal al tubo alargado 1502 a través del puerto de acceso 1562, respectivamente. El cierre distal 1508 es un elemento de sellado de un solo uso (por ejemplo, un elemento de sellado de fusión, un pliegue, pegamento o adhesivo, u otro elemento de oclusión) que se puede quitar (por ejemplo, cortar o separar de otro modo) del extremo distal 1510 del tubo alargado 1502 para permitir que el material pase distalmente fuera del tubo alargado 1502.

La porción principal 1514 del tubo alargado 1502 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 20 mm a aproximadamente 100 mm (por ejemplo, aproximadamente 50 mm), un diámetro exterior de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 5 mm (por ejemplo, aproximadamente 1,8 mm) y un espesor de pared de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 2 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,2 mm). La porción cónica 1516 del tubo alargado 1502 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 60 mm (por ejemplo, aproximadamente 15 mm), un diámetro exterior máximo que es adyacente e igual al diámetro exterior de la porción principal 1514, un diámetro exterior mínimo (por ejemplo, en el extremo distal 1510 del tubo alargado 1502) de aproximadamente 0,2 mm a aproximadamente 2 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,3 mm), y un espesor de pared de aproximadamente 0,05 mm a aproximadamente 0,5 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,1 mm). El cierre proximal 1504 tiene una longitud de aproximadamente 10 mm a aproximadamente 50 mm (por ejemplo, aproximadamente 25 mm).

El puerto de acceso 1562 tiene una forma de sección transversal elíptica y tiene un ancho que es aproximadamente igual al diámetro de la porción principal 1514. El puerto de acceso 1562 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 10 mm (por ejemplo, aproximadamente 2,5 mm). Un centro del puerto de acceso 1562 se ubica habitualmente de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 50 mm (por ejemplo, aproximadamente 10 mm) del extremo proximal 1506 del tubo alargado 1502. Un lumen del tubo alargado 1502, en un diámetro interno más pequeño, es lo suficientemente grande para alojar una muestra. Una geometría y una construcción (por ejemplo, un perfil delgado y pequeño) del tubo alargado 1502 están configuradas para maximizar la transferencia de calor y minimizar la masa térmica para maximizar las tasas de enfriamiento y calentamiento del recipiente de muestras 1500 durante los protocolos de TRA. El recipiente de muestras 1500 normalmente tiene una longitud total (por ejemplo, incluyendo las longitudes del tubo alargado 1502, el cierre proximal 1504 tal como está instalado y el cierre distal 1508) de aproximadamente 100 mm a aproximadamente 200 mm (por ejemplo, aproximadamente 150 mm).

El cierre proximal 1504 puede estar hecho de uno o más materiales, incluyendo plástico y acero inoxidable. El tubo alargado 1502 puede fabricarse de acuerdo con los procesos analizados anteriormente con respecto al tubo alargado 102 y formarse a partir de los mismos materiales que los del tubo alargado 102, como se analizó anteriormente. Como se explicó más adelante con respecto al recipiente de muestras 100, el lumen del tubo alargado 1502 está precargado internamente con múltiples fluidos (omitido de la Figura 15 para mayor claridad) ubicados distalmente al puerto de acceso 1562, incluyendo secuencialmente la solución de equilibrado 120, la solución de vitrificación 122, el fluido de separación 124 y la bolsa de aire distal 128 en cantidades volumétricas descritas anteriormente. El recipiente de muestras 1500 incluye, además, la etiqueta de identificación 134 (omitida para mayor claridad) adherida al tubo alargado 1502 cerca del extremo proximal 1506.

De manera similar al recipiente de muestras 100, el recipiente de muestras 1500 es un dispositivo estéril de un solo uso que no es tóxico para las muestras contenidas en el mismo. El recipiente de muestras 1500 puede envasarse como una sola unidad, y tanto el recipiente de muestras 1500 como el envase permanecerán estériles durante una vida útil garantizada del recipiente de muestras 1500. La longitud total del recipiente de muestras 1500 habitualmente permite que el recipiente de muestras 1500 encaje dentro de recipientes de almacenamiento estándar y otros equipos estándar utilizados en protocolos de TRA.

Durante un proceso de vitrificación de una muestra 101 dentro del recipiente de muestras 1500, el cierre proximal 1504 se retira (por ejemplo, se tira o se retuerce) del tubo alargado 1502 para abrir el puerto de acceso 1562. Se utiliza un dispositivo de suministro (por ejemplo, tal como el dispositivo de suministro 103) para suministrar la muestra 101, suspendida dentro de una pequeña cantidad de medio de cultivo, al lumen del tubo alargado 1502 a través del puerto de acceso 1562. La muestra 101 y el medio de cultivo se pueden depositar directamente en la solución de equilibrado 120 o depositarse justo proximales a la solución de equilibrado 120. A continuación, se vuelve a instalar el cierre proximal 1504 en el tubo alargado 102 para volver a sellar el extremo proximal 1506 y el puerto de acceso 1562 para un procesamiento posterior de la muestra 101.

En algunas realizaciones, se puede utilizar un mango para alojar, almacenar y manipular el recipiente de muestras 1500. Por ejemplo, la Figura 34 ilustra un mango 1600 de este tipo. El mango 1600 incluye un cuerpo 1664 del mango y una tapa 1666 que está formada para cerrar el cuerpo 1664 del mango. El cuerpo 1664 del mango está abierto en un extremo proximal 1606 y está dimensionado para transportar el recipiente de muestras 1500. El cuerpo 1664 del mango incluye una porción principal 1668 que rodea la porción principal 1514 del tubo alargado 1502 y un soporte distal 1670 que sostiene la porción cónica 1516 del tubo alargado 1502.

La porción principal 1668 tiene una superficie exterior facetada (por ejemplo, hexagonal) y una forma de sección transversal que facilita la manipulación del cuerpo 1664 del mango y que evita que el mango 1600 ruede u otro movimiento no deseado sobre una superficie. En algunas realizaciones, la superficie exterior de la porción principal 1668 puede tener un perfil asimétrico para evitar dicho movimiento no deseado encima de una superficie. La porción principal 1668 define una ventana 1672 que se alinea con el puerto de acceso 1562 cuando el tubo alargado 1502 está dispuesto de forma segura dentro del mango 1600. La ventana 1672 es una abertura definida por un recorte en la porción principal 1668 del cuerpo 1664 del mango. El tapón 1580 se guía de forma deslizable dentro del cuerpo 1664 del mango y puede ser empujado para moverse, ocluyendo así el puerto de acceso 1562, por fuerzas g inducidas como ocurrirían durante el giro del recipiente de muestras 1500, integrado dentro del mango 1600, dentro de la consola del sistema 200 o dentro de una centrífuga diseñada apropiadamente. El soporte distal 1670 está formado como un tubo cilíndrico que se extiende desde la porción principal 1668 para soportar la parte cónica 1516 del tubo alargado 1502 que pasa a través de la misma. La tapa 1666 está formada como un elemento tubular que puede asentarse contra la porción principal 1668 y el soporte distal 1670 a través de un ajuste por fricción para cerrar distalmente el cuerpo 1664 del mango. La tapa 1666 se puede quitar del cuerpo 1664 del mango para permitir el acceso al extremo proximal 1510 del recipiente de muestras 1500.

La porción principal 1668 del cuerpo 1664 del mango tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 30 mm a aproximadamente 200 mm (por ejemplo, aproximadamente 150 mm), un ancho de aproximadamente 1,5 mm a aproximadamente 3 mm (por ejemplo, aproximadamente 2,2 mm) y un espesor de pared de aproximadamente 0,5 mm

a aproximadamente 2 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,8 mm). La ventana 1672 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 3 mm a aproximadamente 20 mm (por ejemplo, aproximadamente 5 mm). Un centro de la ventana 1672 se ubica habitualmente de aproximadamente 10 mm a aproximadamente 80 mm (por ejemplo, aproximadamente 40 mm) del extremo proximal 1606 del cuerpo 1664 del mango. Aunque la porción principal 1668 tiene una forma de sección transversal exterior hexagonal, la porción principal 1668 tiene una forma de sección transversal interior cilíndrica para un alojamiento suave del recipiente de muestras 1500. La guía distal 1670 del cuerpo 1667 del mango habitualmente tiene una longitud de aproximadamente 2 mm a aproximadamente 10 mm (por ejemplo, aproximadamente 3,5 mm), y un diámetro exterior de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 2,5 mm (por ejemplo, aproximadamente 1,8 mm). La porción cónica 1516 del recipiente de muestras 1500 se extiende habitualmente de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 20 mm más allá de la guía distal 1670 cuando el recipiente de muestras 1500 está asegurado dentro del mango 1600. La tapa 1666 del mango 1600 habitualmente tiene una longitud de aproximadamente 7 mm a aproximadamente 30 mm (por ejemplo, aproximadamente 10 mm), un diámetro de aproximadamente 1,5 mm a aproximadamente 3 mm (por ejemplo, aproximadamente 2,2 mm) y un espesor de pared de aproximadamente 0,2 mm a aproximadamente 1 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,5 mm). El cuerpo 1664 del mango habitualmente se fabrica mediante moldeo por inyección y puede estar hecho de uno o más materiales, tales como poliestireno, polipropileno, policarbonato y otras resinas moldeables por inyección. La tapa 1666 se fabrica habitualmente mediante moldeo por inyección o extrusión y puede estar hecha de uno o más materiales, tales como poliestireno, polipropileno, policarbonato y otras resinas moldeables por inyección o de grado de extrusión.

En algunas realizaciones, el mango 1600 o un mango que sea sustancialmente similar en construcción y función al mango 1600 (por ejemplo, pero sin la ventana 1672) se puede utilizar para alojar, almacenar y manipular cualquiera de los recipientes de muestras analizados anteriormente.

En algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye un tamiz para drenar el medio desde un extremo distal del recipiente de muestras. Por ejemplo, las Figuras 35 y 36 ilustran un recipiente de muestras 1700 que incluye un tamiz 1784. El recipiente de muestras 1700 incluye, además, un tubo alargado 1702, un tubo proximal afilado 1704 que se une en la zona del extremo proximal del tubo alargado 1702 y un cierre distal 1708 que sella herméticamente un extremo distal 1710 del tubo alargado 1702. El tubo alargado 1702 es un tubo capilar delgado de diámetro muy pequeño (por ejemplo, que tiene un diámetro interno del orden de 10^{-4} m). El tubo alargado 1702 tiene un diámetro sustancialmente constante a lo largo de una porción principal 1714 (por ejemplo, una porción cilíndrica) y tiene un diámetro variable que disminuye gradualmente a lo largo de una porción cónica 1716 que se extiende desde la porción principal 1714 hasta el extremo distal 1710.

El elemento proximal 1704 es un tubo afilado con un extremo distal romo y un extremo proximal afilado. El elemento proximal 1704 está diseñado para acoplarse de manera deslizable dentro de un lumen del tubo alargado 1702 para sellar el diámetro interior del tubo 1702 en el extremo proximal 1706 y para sellar el puerto de acceso 1762 del tubo alargado 1702. Un vial 1750 (por ejemplo, un recipiente) contiene la solución de equilibrado 120. Durante un giro de centrifugado inicial, el vial 1750 se puede hacer avanzar para perforarlo en el elemento proximal 1704 y drenar. El cierre distal 1708 es un elemento de sellado de un solo uso (por ejemplo, un elemento de sellado de fusión, un pliegue, pegamento o adhesivo, u otro elemento de oclusión) que se puede quitar (por ejemplo, cortar o separar de otro modo) del extremo distal 1710 del tubo alargado 1702 para permitir que el material pase distalmente fuera del tubo alargado 1702.

Se puede utilizar un dispositivo de suministro (por ejemplo, tal como una micropipeta) para suministrar la muestra, suspendida dentro de una pequeña cantidad de medio de cultivo, al lumen del tubo alargado 1702 a través del puerto de acceso 1762. La muestra y un pequeño volumen de medio de cultivo se pueden depositar directamente en el lumen interno del tubo alargado 1702.

El vial 1750 se inclina (por ejemplo, por fuerza centrípeta o empujándolo) hasta que el tubo afilado 1704 perfora una membrana distal frangible del vial 1750. Simultáneamente, las mismas fuerzas que actúan sobre el vial 1750 deslizan el tubo afilado 1704 distalmente dentro del tubo alargado 1702 hasta que el puerto de acceso 1762 queda ocluido por el extremo distal y romo del tubo afilado 1704, atrapando así la muestra y el medio de cultivo. Al perforar, el contenido (por ejemplo, la solución de equilibrado 120) del vial 1750 puede drenar a través del lumen del tubo afilado 1704 y hacia el volumen interno cerrado del tubo alargado 1702.

El tamiz 1784 es una colección de orificios 1786 (por ejemplo, orificios perforados con láser) que están dispuestos en múltiples filas a lo largo de la porción cónica 1716 del tubo alargado 1702. El tamiz 1784 permite que los fluidos (por ejemplo, medios de cultivo, solución de equilibrado, solución de vitrificación y otros fluidos sobrantes) se drenen distalmente del recipiente de muestras 1700 durante una fase de giro de un procedimiento de vitrificación, mientras que una muestra se retiene dentro de la porción cónica 1716 del tubo alargado 1702 distal al tamiz 1784. La fase de giro del procedimiento de vitrificación drena el exceso de fluido hasta el punto en el que la muestra reside dentro del tamiz 1784 o ligeramente distal al tamiz en la solución de vitrificación 122 de la porción cónica 1716. El tamiz 1784 tiene habitualmente una longitud total de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 5 mm y está espaciado aproximadamente de 5 mm a aproximadamente 20 mm desde el extremo distal 1710 del tubo alargado 1702. Las filas

de los orificios 1786 están espaciadas habitualmente entre sí de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 1 mm, cada orificio 1786 tiene habitualmente un diámetro de aproximadamente 10 μ m a aproximadamente 70 μ m.

La porción principal 1714 del tubo alargado 1702 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 20 mm a aproximadamente 100 mm (por ejemplo, aproximadamente 50 mm), un diámetro exterior de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 3 mm (por ejemplo, aproximadamente 1,8 mm) y un espesor de pared de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 1 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,2 mm). La porción cónica 1716 del tubo alargado 1702 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 20 mm a aproximadamente 50 mm (por ejemplo, aproximadamente 30 mm), un diámetro exterior máximo que es adyacente e igual al diámetro exterior de la porción principal 1714, un diámetro exterior mínimo (por ejemplo, en el extremo distal 1710 del tubo alargado 1702) de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 2 mm (por ejemplo, aproximadamente 1 mm), y un espesor de pared de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 0,5 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,2 mm). El elemento proximal 1704 tiene una longitud de aproximadamente 20 mm a aproximadamente 70 mm (por ejemplo, aproximadamente 50 mm).

El puerto de acceso 1762 tiene una forma de sección transversal elíptica y tiene un ancho que es aproximadamente igual al diámetro de la porción principal 1714. El puerto de acceso 1762 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 10 mm (por ejemplo, aproximadamente 2,5 mm). Un centro del puerto de acceso 1762 se ubica habitualmente de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 50 mm (por ejemplo, aproximadamente 10 mm) del extremo proximal 1706 del tubo alargado 1702. Un lumen del tubo alargado 1702, en un diámetro interno más pequeño, es lo suficientemente grande para alojar una muestra. Una geometría y una construcción (por ejemplo, un perfil delgado y pequeño) del tubo alargado 1702 están configuradas para maximizar la transferencia de calor y minimizar la masa térmica para maximizar las tasas de enfriamiento y calentamiento del recipiente de muestras 1700 durante los protocolos de TRA. El recipiente de muestras 1700 tiene habitualmente una longitud total (por ejemplo, incluyendo las longitudes del tubo alargado 1702 y el cierre distal 1708) de aproximadamente 100 mm a aproximadamente 200 mm (por ejemplo, aproximadamente 150 mm).

El cierre proximal 1704 puede estar hecho de uno o más materiales, incluyendo un tubo hipodérmico de acero inoxidable. El tubo alargado 1702 puede fabricarse de acuerdo con los procesos analizados anteriormente con respecto al tubo alargado 102 y formarse a partir de los mismos materiales que los del tubo alargado 102, como se analizó anteriormente. Como se explicó adicionalmente con respecto al recipiente de muestras 100, el lumen del tubo alargado 1702 está precargado internamente con múltiples fluidos (omitido de la Figura 17 para mayor claridad) ubicados distalmente al puerto de acceso 1762, secuencialmente, comenzando adyacente al extremo distal 1710 y moviéndose proximalmente, la solución de vitrificación 122 y un fluido de separación 124. El recipiente de muestras 1700 incluye, además, la etiqueta de identificación 134 (omitida para mayor claridad) adherida al tubo alargado 1702 cerca del extremo proximal 1706.

De manera similar al recipiente de muestras 100, el recipiente de muestras 1700 es un dispositivo estéril de un solo uso que no es tóxico para las muestras contenidas en el mismo. El recipiente de muestras 1700 puede envasarse individualmente, y tanto el recipiente de muestras 1700 como el envase permanecerán estériles durante una vida útil garantizada del recipiente de muestras 1700. La longitud total del recipiente de muestras 1700 habitualmente permite que el recipiente de muestras 1700 encaje dentro de recipientes de almacenamiento estándar y otros equipos estándar utilizados en protocolos de TRA.

En algunas realizaciones, se puede utilizar un mango para alojar, almacenar y manipular el recipiente de muestras 1700. Por ejemplo, la Figura 34 ilustra un mango 1800 de este tipo. El mango 1800 es sustancialmente similar en construcción al mango 1600, excepto por que una ventana 1872 del mango está dimensionada y posicionada para alinearse con el puerto de acceso 1762 del recipiente de muestras 1700. En consecuencia, el mango 1800 incluye un cuerpo 1864 del mango y una tapa que está formada para cerrar el cuerpo de mango 1864.

Si bien se ha descrito que la consola del sistema 200 incluye un componente lector 208 que está posicionado y programado para detectar la presencia del recipiente de muestras 100 dentro del receptáculo 204, en algunas realizaciones, una consola del sistema que es sustancialmente similar a la consola del sistema 200 incluye un componente lector adicional que está programado y posicionado en una ubicación adecuada para leer la etiqueta de identificación 134 para detectar la presencia del recipiente de muestras 100 dentro del enfriador 210.

Si bien se ha descrito que la consola del sistema 200 incluye un único receptáculo 204, en algunas realizaciones, una consola del sistema que es sustancialmente similar a la consola del sistema 200 incluye múltiples receptáculos 204 que pueden recibir cada uno un recipiente de muestras y girar simultáneamente múltiples recipientes de muestras.

Si bien el recipiente de muestras 100 se ha descrito e ilustrado incluyendo el fluido de separación 124 como barrera entre la solución de equilibrado 120 y la solución de vitrificación 122 dentro del recipiente de muestras 100, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras incluye un tipo diferente de barrera para separar las soluciones dentro del recipiente. Por ejemplo, las Figuras 38 y 39 ilustran una porción principal 1914 de un recipiente de muestras 1900 que incluye un tipo diferente de barrera de separación.

El recipiente de muestras 1900 es similar en función y en algunos aspectos similar en construcción al recipiente de muestras 100. Por ejemplo, como se analizó anteriormente con respecto al recipiente de muestras 100, el recipiente de muestras 1900 se puede utilizar para preparar una muestra 1901 de acuerdo con un protocolo biológico u otro y para almacenar posteriormente la muestra 1901 en una sustancia a baja temperatura en un estado viable y vitrificado. Además, el recipiente de muestras 1900 es un dispositivo estéril de un solo uso que no es tóxico para las muestras contenidas en el mismo. El recipiente de muestras 1900 puede envasarse como una sola unidad, y tanto el recipiente de muestras 1900 como el envase permanecerán estériles durante una vida útil garantizada del recipiente de muestras 1900. Una longitud total del recipiente de muestras 1900 habitualmente permite que el recipiente de muestras 1900 encaje dentro de recipientes de almacenamiento estándar y otros equipos estándar utilizados en protocolos de TRA.

El recipiente de muestras 1900 incluye un tubo alargado 1902 y dos clips 1915 (por ejemplo, elementos de engarce mecánicos) que están unidos al tubo alargado 1902. Los clips 1915 están unidos en diferentes posiciones para separar una solución de equilibrado 1920, una primera solución de vitrificación 1921 y una segunda solución de vitrificación 1922 entre sí dentro del tubo alargado 1902. El tubo alargado 1902 es un elemento flexible, y los clips 1915 están inclinados hacia una configuración cerrada durante la fabricación del recipiente de muestras 1900 de manera que los clips 1915 aprietan el tubo alargado 1902 para cerrarlo en ubicaciones seleccionadas para formar cámaras herméticamente selladas 1903, 1905, 1907 que contienen respectivamente la solución de equilibrado 1920, la primera solución de vitrificación 1921 y la segunda solución de vitrificación. 1922, como se muestra en la Figura 38.

Por ejemplo, los clips 1915 se cierran secuencialmente a medida que las soluciones 1920, 1921, 1922 se suministran secuencialmente al tubo alargado 1902. Los clips 1915 están orientados perpendicularmente (por ejemplo, transversalmente) a un eje 1909 del tubo alargado 1902. El recipiente de muestras 1900 también incluye la etiqueta de identificación 134 (consulte la Figura 3) en un extremo proximal e incluye cierres proximal y distal que, respectivamente, sellan herméticamente los extremos proximal y distal (no se muestran) del tubo alargado 1902, como se explicó anteriormente con respecto a componentes similares del recipiente de muestras 100. Los volúmenes, propiedades y constituyentes de las soluciones 1920 y 1921, 1922 dentro del recipiente de muestras 1900 son equivalentes a los de las soluciones 120 y 122 analizadas anteriormente con respecto al recipiente de muestras 100.

Como se ha comentado anteriormente con respecto al tubo alargado 102, el tubo alargado 1902 es un tubo capilar fino de diámetro muy pequeño y tiene un diámetro sustancialmente constante a lo largo de la porción principal 1914. El tubo alargado 1902 tiene un diámetro variable que disminuye gradualmente a lo largo de una parte cónica (por ejemplo, similar a la parte cónica 116) que se extiende desde la porción principal 1914 hasta el extremo distal. El tubo alargado 1902 también tiene el tamaño descrito anteriormente con respecto al tubo alargado 102 y puede fabricarse mediante extrusión de plástico u otras técnicas y tratamientos de fabricación secundarios (por ejemplo, estiramiento y reducción térmica) para lograr la geometría deseada. El tubo alargado 1902 está fabricado normalmente con uno o más materiales semielásticos que pueden soportar la sustancia a baja temperatura, incluidos, entre otros, poliolefinas, policarbonatos y poliestirenos. El tubo alargado 1902 también es habitualmente transparente o translúcido para permitir la visualización de la muestra 1901 a través de la pared del tubo alargado 1902. Los clips 1915 están hechos habitualmente de uno o más materiales maleables y resistentes a la corrosión que pueden deformarse adecuadamente para cerrarse y abrirse, tales como acero inoxidable y aluminio.

Durante un proceso para vitrificar la muestra 1901 dentro del recipiente de muestras 1900, se retira el cierre proximal del tubo alargado 1902 y se utiliza un dispositivo de suministro (por ejemplo, tal como el dispositivo de suministro 103) para suministrar la muestra 1901, suspendida dentro de una pequeña cantidad de medio de cultivo a la solución de equilibrado 1920 a través de una abertura proximal del tubo alargado 1902. Luego se vuelve a instalar el cierre proximal en el tubo alargado 1902 para volver a sellar la abertura proximal para un procesamiento posterior de la muestra 1901 dentro de una consola del sistema.

Una consola del sistema en la que se dispone el recipiente de muestras 1900 se puede controlar para empujar los clips 1915 a una configuración abierta (consulte la Figura 39) al mismo tiempo o en una secuencia temporizada. La configuración abierta de un clip 1915 abre un lumen del tubo alargado 1902 para permitir el movimiento distal de las soluciones 1920, 1921, 1922 y la muestra 1901 (por ejemplo, con una fricción mínima a lo largo de una superficie interior del tubo alargado 1902) de acuerdo con un protocolo de procesamiento de la muestra en el que se aplican fuerzas g al recipiente de muestras 1901. En algunas realizaciones, los clips 1915 pueden estar diseñados para poder volver a cerrarse para restringir un volumen de fluido dentro del tubo alargado 1902 durante o después del procesamiento de la muestra 1901 dentro del recipiente de muestras 1900.

Si bien el recipiente de muestras 1900 se ha descrito e ilustrado como que incluye los clips orientados transversalmente 1915, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras, que es de otro modo sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 1900, incluye clips que están orientados en paralelo a un tubo alargado del recipiente de muestras. Por ejemplo, la Figura 40 ilustra un recipiente de muestras 2000 que incluye el tubo alargado 1902 y clips 2015 que están orientados en paralelo al eje 1909 del tubo alargado 1902. El recipiente de muestras 2000 es, por lo demás, sustancialmente similar en construcción, función y forma de uso al recipiente de muestras 1900, y los clips 2015 tienen la misma formulación de material que los clips 1915.

Si bien el recipiente de muestras 100 se ha descrito e ilustrado como que incluye la barrera de separación de fluidos 124 para separar la solución de equilibrado 120 de la solución de vitrificación 122, en algunas realizaciones, un recipiente de muestras puede incluir una barrera de separación de solución sólida que puede sufrir un cambio de fase de sólido a líquido dentro de un lumen del recipiente de muestras. Por ejemplo, las Figuras 41 y 42 ilustran un recipiente de muestras 2100 que incluye una barrera de separación 2124 de este tipo.

El recipiente de muestras 2100 es, por lo demás, sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 100. Por ejemplo, como se analizó anteriormente con respecto al recipiente de muestras 100, el recipiente de muestras 2100 se puede utilizar para preparar una muestra 2101 de acuerdo con un protocolo biológico u otro y para almacenar posteriormente la muestra 2101 en una sustancia a baja temperatura en un estado viable y vitrificado. Además, el recipiente de muestras 2100 es un dispositivo estéril de un solo uso que no es tóxico para las muestras contenidas en el mismo. El recipiente de muestras 2100 puede envasarse como una sola unidad, y tanto el recipiente de muestras 2100 como el envase permanecerán estériles durante una vida útil garantizada del recipiente de muestras 2100. Una longitud total del recipiente de muestras 2100 habitualmente permite que el recipiente de muestras 2100 encaje dentro de recipientes de almacenamiento estándar y otros equipos estándar utilizados en protocolos de TRA.

El recipiente de muestras 2100 incluye el tubo alargado 102, la etiqueta de identificación 134 (consulte la Figura 3), el cierre proximal 104, el cierre distal 108, la solución de equilibrado 120 y la solución de vitrificación 122 del recipiente de muestras 100. La barrera de separación 2124 entre las soluciones 120, 122 es una sustancia inerte en una fase sólida por debajo de una temperatura umbral y experimenta un cambio de fase de sólido a líquido cuando se calienta al menos hasta la temperatura umbral. En algunas realizaciones, la temperatura umbral es de aproximadamente 10 °C. El recipiente de muestras 2100 se almacena a una temperatura de refrigeración de aproximadamente 4 °C de modo que la barrera de separación esté en estado sólido. Cuando se calienta a una temperatura ambiente de aproximadamente 20 °C, la barrera de separación 2124 está en una fase líquida. Las soluciones 120, 122 son inmiscibles con la barrera de separación 2124 en una fase líquida de modo que las soluciones 120, 122 y la barrera de separación 2124 no se mezclarán para formar una solución homogénea.

Las sustancias de ejemplo de la barrera de separación 2124 incluyen alcanos, tales como hexadecano (por ejemplo, aceite mineral o aceite de parafina) y otros alcanos (por ejemplo, tetradecano a isocano) que se funden de un sólido a un líquido en un intervalo de temperatura de aproximadamente 0 °C (por ejemplo, congelación) a aproximadamente 37 °C (por ejemplo, temperatura corporal). En algunas realizaciones, la barrera de separación 2124 puede proporcionarse alternativamente mediante otros polímeros de cadena no lineal, tales como ácido decanoico y ácido caprílico. La Figura 43 ilustra la barrera de separación 2124 en una fase sólida, y la Figura 42 ilustra la barrera de separación 2124 en una fase líquida después de calentar el recipiente de muestras 2100 hasta o por encima de la temperatura umbral (por ejemplo, aproximadamente 18 °C para hexadecano). La densidad de la barrera de separación 2124 en la fase líquida (por ejemplo, aproximadamente 75 g/mL a aproximadamente 79 g/mL para hexadecano) es menor que la de ambas soluciones 120, 122.

En algunos casos, incluir una barrera de solución gaseosa (por ejemplo, aire) dentro de un recipiente de muestras introduce una posibilidad de formación de burbujas de gas no deseadas dentro del recipiente de muestras. Proporcionar la barrera de separación 2124 como una sustancia sólida (por ejemplo, en oposición a una sustancia gaseosa o líquida) dentro del recipiente de muestras 2100 permite ventajosamente el envasado de las soluciones 120, 122 en un estado separado en un entorno libre de gases. El envasado de las soluciones 120, 122 en un entorno libre de gases puede evitar la formación de burbujas de aire dentro del recipiente de muestras 2100. De lo contrario, dichas burbujas de aire pueden causar problemas con el procesamiento de la muestra 2100 dentro del recipiente de muestras 2100, como por ejemplo dificultar la visualización de la muestra 2100.

El recipiente de muestras 2100 se puede utilizar para procesar la muestra 2101 en la consola del sistema 200 como se describió sustancialmente anteriormente con respecto a la muestra 101 dentro del recipiente de muestras 100. Durante el procesamiento de la muestra 2100, con la barrera de separación 2124 en estado líquido, las fuerzas g ejercidas sobre el recipiente de muestras 2100 pueden hacer que las soluciones 120, 122 y la barrera de separación 2124 se muevan una más allá de la otra hasta las posiciones deseadas a lo largo del tubo alargado 102 en función de las diferencias de densidad entre las soluciones 120, 122 y la barrera de separación 2124. El movimiento (por ejemplo, flotación) de la barrera de separación 2124 alejándose de su posición inicial en la que la barrera de separación 2124 humedece continuamente una superficie interior del tubo alargado 102 (por ejemplo, sustancialmente alrededor de una circunferencia completa de la superficie interior) abre el lumen para permitir el movimiento de las soluciones 120, 122 y la muestra 2101 distalmente dentro del tubo alargado 102 de acuerdo con el protocolo de procesamiento de la muestra llevado a cabo por la consola del sistema 200. Dicho comportamiento se explicará con más detalle a continuación con respecto a un recipiente de muestras 2200.

Con referencia a la Figura 43, el recipiente de muestras 2200 es similar en función al recipiente de muestras 2200 y, en consecuencia, se puede utilizar para preparar una muestra 2201 de acuerdo con un protocolo biológico u otro protocolo y para almacenar posteriormente la muestra 2201 en una sustancia a baja temperatura en un estado viable y vitrificado. Además, el recipiente de muestras 2200 es un dispositivo estéril de un solo uso que no es tóxico para las muestras contenidas en el mismo. El recipiente de muestras 2200 puede envasarse como una sola unidad, y tanto el

recipiente de muestras 2200 como el envase permanecerán estériles durante una vida útil garantizada del recipiente de muestras 2200. Una longitud total del recipiente de muestras 2200 habitualmente permite que el recipiente de muestras 2200 encaje dentro de recipientes de almacenamiento estándar y otros equipos estándar utilizados en protocolos de TRA. El recipiente de muestras 2200 incluye un tubo alargado 2202, la etiqueta de identificación 134 (consulte la Figura 3), un cierre proximal que sella herméticamente un extremo proximal del tubo alargado 2202 y un cierre distal 2208 que sella herméticamente un extremo distal 2210 del tubo alargado 2202, como se explicó anteriormente con respecto a componentes similares del recipiente de muestras 100.

El tubo alargado 2202 es un tubo capilar delgado que tiene un diámetro variable muy pequeño que cambia de manera escalonada a lo largo de un eje 2209 del tubo alargado 2202. El tubo alargado 2202 está precargado internamente con un medio de cultivo 2226 en una porción principal 2214, la solución de equilibrado 120 en una porción intermedia 2215 y la solución de vitrificación 122 en una porción distal 2216. Las barreras de separación 2224, 2225 separan los medios de cultivo 2226 y las soluciones 120, 122 entre sí. La porción principal 2214 y la porción intermedia 2215 definen respectivamente secciones de pared biseladas 2217, 2219 que proporcionan un diámetro de transición entre las partes adyacentes del recipiente de muestras 2200 para facilitar el flujo distal de fluido en el recipiente de muestras 2200 dentro de una consola del sistema. En un intervalo de temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 40 °C, los medios de cultivo 2226, las soluciones 120, 122 y las barreras de separación 2224, 2225 están todos en una fase líquida. El medio de cultivo 2226 contiene diversos nutrientes y moléculas en concentraciones que mantienen la viabilidad de la muestra 2201.

El tubo alargado 2202 está dimensionado y se selecciona un volumen de la barrera de separación 2224 de manera que la barrera de separación 2224 pueda humedecer continuamente una superficie interna de la porción intermedia 2215, pero no pueda humedecer continuamente una superficie interna de la porción principal 2214. De manera similar, la barrera de separación 2225 puede humedecer continuamente una superficie interna de la porción distal 2216, pero no puede humedecer continuamente las superficies internas de la porción intermedia 2215 o la porción principal 2214. Las formulaciones de sustancias de las barreras de separación 2224, 2225 son las mismas que las de la barrera de separación 2124. En consecuencia, las barreras de separación 2224, 2225 son sustancias inertes en una fase sólida por debajo de la temperatura umbral y experimentan un cambio de fase de sólido a líquido cuando se calientan al menos hasta la temperatura umbral.

El volumen de la solución de equilibrado 120 dentro del tubo alargado 2202 es habitualmente de aproximadamente 2 µL a aproximadamente 20 µL, y el volumen de la solución de vitrificación 122 dentro del tubo alargado 2202 es habitualmente de aproximadamente 2 µL a aproximadamente 20 µL. El volumen del medio de cultivo 2226 dentro del tubo alargado 2202 es habitualmente de aproximadamente 2 µL a aproximadamente 80 µL. Dentro del recipiente de muestras 2200, una densidad de la muestra 2201 es mayor que las densidades de las soluciones 122, 222, que son mayores que una densidad del medio de cultivo 2226, que es mayor que la densidad de las barreras de separación 2224, 2225 en una fase líquida.

La porción principal 2214 del tubo alargado 2202 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 10 mm a aproximadamente 100 mm (por ejemplo, aproximadamente 50 mm) y un diámetro interno de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 6 mm (por ejemplo, aproximadamente 3 mm). La porción intermedia 2215 del tubo alargado 2202 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 15 mm (por ejemplo, aproximadamente 10 mm) y un diámetro interno de aproximadamente 0,4 mm a aproximadamente 2,5 mm (por ejemplo, aproximadamente 2 mm). La porción distal 2216 del tubo alargado 2202 tiene habitualmente una longitud de aproximadamente 5 mm a aproximadamente 25 mm (por ejemplo, aproximadamente 15 mm) y un diámetro interno de aproximadamente 0,1 mm a aproximadamente 1,0 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,3 mm). El tubo alargado 2202 tiene habitualmente un espesor de pared de aproximadamente 0,03 mm a aproximadamente 1 mm (por ejemplo, aproximadamente 0,08 mm). El tubo alargado 2202 se fabrica mediante las técnicas descritas anteriormente con respecto al tubo alargado 102. El tubo alargado 102 es habitualmente transparente o translúcido y habitualmente está hecho de los mismos materiales que aquellos de los que está hecho el tubo alargado 102.

Durante un proceso para vitrificar la muestra 2201 dentro del recipiente de muestras 2200, se retira el cierre proximal del tubo alargado 2202, y se utiliza un dispositivo de suministro (por ejemplo, tal como el dispositivo de suministro 103) para suministrar la muestra 2201, suspendida dentro de una pequeña cantidad de medio de cultivo 2226 al medio de cultivo 2226 dentro de la porción principal 2214 del tubo alargado 2202 a través de una abertura proximal. Luego se reinstala el cierre proximal en el tubo alargado 2202 para volver a sellar la abertura proximal para un procesamiento adicional de la muestra 2201.

Figura 43 ilustra una serie de pasos mediante los cuales se procesa la muestra 2201 dentro del recipiente de muestras 2200. El paso 1 ilustra un estado inicial del recipiente de muestras 2200 tras la entrega de la muestra 2201 al medio de cultivo 2226, en cuyo estado el recipiente de muestras 2200 se ha precalentado al menos a temperatura ambiente de modo que las barreras 2224 y 2225 están en una fase líquida. El recipiente de muestras 2200 se carga posteriormente en un receptáculo giratorio dentro de una consola del sistema para su exposición a las fuerzas g aplicadas. El paso 2 ilustra un siguiente estado del recipiente de muestras 2200 tras la exposición a las fuerzas g aplicadas dentro de la consola del sistema. Las fuerzas g empujan la muestra relativamente densa 2201 y los fluidos (por ejemplo, los medios de cultivo 2226 y las soluciones 2220, 2222) distalmente (por ejemplo, hacia la derecha en

la Figura 43) hacia porciones adyacentes del recipiente de muestras 2200 y empujan el fluido relativamente menos denso (por ejemplo, las barreras de separación 2224, 2225) proximalmente (por ejemplo, hacia la izquierda en la Figura 43). En consecuencia, las barreras de separación de líquidos 2224, 2225 se separan de las superficies internas de las porciones intermedia y distal 2215, 2216 y migran (por ejemplo, flotan) proximalmente como gotitas dentro del recipiente de muestras 2200.

El paso 3 de la Figura 43 ilustra que con la exposición continua a las fuerzas g aplicadas, los fluidos dentro del recipiente de muestras 2200 se han organizado en orden de densidad, con el fluido menos denso (por ejemplo, las barreras de separación de líquidos 2224, 2225) estando posicionado en una zona proximal del recipiente de muestras 2200 y el fluido más denso (por ejemplo, la solución de vitrificación 2222) permaneciendo en el cierre distal 2208 del recipiente de muestras. El paso 4 ilustra que con una mayor exposición a las fuerzas g aplicadas, la muestra 2201 (por ejemplo, la sustancia más densa dentro del recipiente de muestras 2200) ha sido impulsada hacia la solución de vitrificación 2222 cerca del cierre distal 2208. El recipiente de muestras 2200, con la muestra 2201 contenida en el mismo, puede sumergirse posteriormente en una sustancia de baja temperatura para la vitrificación y el almacenamiento de la muestra 2201.

En algunas realizaciones, se puede utilizar un cierre proximal de un recipiente de muestras para entregar una muestra al recipiente de muestras. Por ejemplo, haciendo referencia a la Figura 44, un recipiente de muestras 2300 incluye dicho cierre proximal 2304. El recipiente de muestras 2300 es, por lo demás, sustancialmente similar en construcción y función al recipiente de muestras 300 descrito anteriormente. Por ejemplo, el recipiente de muestras 2300 incluye, además, el tubo alargado 102. El cierre proximal 2304 del recipiente de muestras 2300 incluye el tapón 340 y la brida superior 342 del recipiente de muestras 300, así como el portador de muestras 450 del recipiente de muestras 400.

La Figura 45 ilustra una serie de pasos mediante los cuales se carga una muestra 2301 en el tubo alargado 102 utilizando el cierre proximal 2304. En un primer paso, se utiliza el dispositivo de suministro 103 para aspirar (por ejemplo, extraer) la muestra 2301 y una pequeña cantidad de medio de cultivo 2326 de una placa de Petri 111. En un segundo paso, la muestra 2301 y el medio de cultivo 2326 se suministran al portador de muestras 450 del cierre proximal 2304. En un paso posterior, el cierre proximal 2304, que lleva la muestra 2301 encima del portador de muestras 450, se introduce dentro del tubo alargado 102 para cerrar el tubo alargado 102. El recipiente de muestras 2300, que lleva la muestra 2301, se coloca posteriormente dentro de una consola de sistema 2325 para procesar la muestra 2301 dentro del recipiente de muestras, como se describió sustancialmente anteriormente con respecto al procesamiento de la muestra 101 dentro del recipiente de muestras 100.

También son posibles otras realizaciones de consolas de sistema para procesar una muestra dentro de un recipiente de muestras. Por ejemplo, la Figura 46 ilustra una consola de sistema 2400 de este tipo para procesar una muestra dentro de un recipiente de muestras 2401 que puede representar cualquiera de los recipientes de muestras analizados anteriormente. La consola del sistema 2400 incluye múltiples estaciones de procesamiento 2402 para soportar los respectivos recipientes de muestras 2401 para llevar a cabo un protocolo de procesamiento de muestras, una plataforma 2404 a la que se fijan las estaciones de procesamiento 2402, una carcasa 2406 que soporta esa plataforma 2404, asas 2408 para levantar o mover de otro modo la consola del sistema 2400 y una tapa 2408 que se puede abrir para permitir el acceso a las estaciones de procesamiento 2402. La consola del sistema 2400 incluye, además, una pantalla de interfaz de usuario 2412, múltiples selectores 2414 (por ejemplo, botones) para configurar varios parámetros de la consola del sistema 2400 y un interruptor de encendido 2416 que se colocan a lo largo de un lado frontal de la carcasa 2406. La carcasa 2406 está configurada para descansar sobre un piso u otra superficie plana. La tapa 3410 se puede mover manualmente (por ejemplo, pivotar, deslizar o quitar) con respecto a la carcasa 2406.

Además, la consola del sistema 2400 incluye un temporizador 2418 (ilustrado esquemáticamente), un componente lector 2420 (por ejemplo, una antena RFID u otro tipo de componente lector, ilustrado esquemáticamente) que está programado para leer la etiqueta de identificación 134 de un recipiente de muestras, y un módulo de control 2422 (por ejemplo, un microcontrolador, ilustrado esquemáticamente) que está programado para controlar varias características y funcionalidades de la consola del sistema 2400. El componente lector 2420, el temporizador 2418 y el módulo de control 2422 pueden colocarse en ubicaciones respectivas dentro de la consola del sistema 2400 que sean adecuadas para sus respectivas funciones. La pantalla de interfaz de usuario 2412 permite que un usuario introduzca varios parámetros que rigen el funcionamiento de la consola del sistema 2400 para vitrificar la muestra, tal como una etapa de la muestra (por ejemplo, una selección de protocolo de ovocito o blastocisto). La pantalla de interfaz de usuario 2412 puede ser una pantalla táctil integrada o una pantalla sin contacto asociada con elementos de control táctiles, tales como botones, perillas, diales o similares. El módulo de control 2422 incluye uno o más procesadores que están en comunicación con y/o están programados para controlar varios actuadores y sensores de la consola del sistema 2400 relacionados con varias funciones automatizadas, tales como recibir e instanciar selecciones de usuario introducidas en la pantalla de interfaz de usuario 2412, leer la etiqueta de identificación 134 del recipiente de muestras 2401, ejecutar el temporizador 2418, hacer girar la plataforma 2404 a una velocidad de giro especificada durante una duración especificada, detectar un estado abierto/cerrado de la tapa 2410 y proporcionar retroalimentación audible y/o visual con respecto a una progresión del proceso.

La plataforma 2404 define múltiples pistas 2426 en las que se puede asegurar una estación de procesamiento 2402 en una posición fija con respecto a la plataforma 2404. Cada estación de procesamiento 2402 incluye un soporte de

apoyo inferior 2428 y un soporte de apoyo superior 2430 que juntos definen un receptáculo 2432 para sostener el recipiente de muestras 2401. Cada estación de procesamiento 2404 incluye, además, un sistema de obtención de imágenes 2434 mediante el cual se puede observar el movimiento de la muestra dentro del recipiente de muestras 2401. El componente lector 2420 puede detectar la presencia del recipiente de muestras 2401 dentro del receptáculo 2432 leyendo la etiqueta de identificación 134 (por ejemplo, la etiqueta RFID) y puede comunicar dicha detección al módulo de control 2422, lo que puede hacer que se active el temporizador 2418.

Según una o más señales recibidas desde el módulo de control 2422, la plataforma 2404 puede girar alrededor de un eje central 2436 para ejercer suficiente fuerza centrípeta sobre la muestra para hacer que la muestra se mueva a lo largo de un eje 2403 del recipiente de muestras 2401 hacia un extremo distal 2405 según un protocolo especificado. Durante el giro de la plataforma 2404, la muestra y varios medios de procesamiento (por ejemplo, soluciones de equilibrado y vitrificación y otros medios) dentro del recipiente de muestras 2401 pueden ser visualizados por el sistema de obtención de imágenes 2434. El módulo de control 2422 puede ajustar una velocidad angular de la plataforma 2404 y/o una duración de una o más fases del protocolo en función de la retroalimentación del sistema de imágenes 2434 con respecto a una posición de la muestra. Estos ajustes de protocolo pueden optimizar los períodos de tiempo de exposición de la muestra a los medios de procesamiento dentro del recipiente de muestras 2401. Una vez completado el protocolo de procesamiento, el recipiente de muestras 2401 se retira de la estación de procesamiento 2402 y se coloca dentro de una sustancia de baja temperatura para la vitrificación y criopreservación de la muestra contenida dentro del recipiente de muestras 2401.

En algunas realizaciones, la consola del sistema 2400 tiene una longitud total de aproximadamente 0,2 m a aproximadamente 1,0 m, un ancho total de aproximadamente 0,2 m a aproximadamente 1,0 m y una altura total de aproximadamente 0,2 m a aproximadamente 1,0 m. En algunas realizaciones, la consola del sistema 2400 tiene un peso en un intervalo de aproximadamente 5 kg a aproximadamente 50 kg y normalmente se almacena en el piso de un laboratorio, el piso de una instalación de almacenamiento, una mesa o una encimera, que tiene una temperatura ambiente de aproximadamente 18 °C a aproximadamente 28 °C. En algunas realizaciones, el receptáculo 2432 de la estación de procesamiento 2402 tiene una longitud de aproximadamente 5 cm a aproximadamente 15 cm y un ancho de aproximadamente 1 cm a aproximadamente 5 cm. Los soportes 2428, 2430 de la estación de procesamiento 2402 y la plataforma 2404 están hechos habitualmente de metal. La carcasa 2406 y la tapa 2410 están hechas habitualmente de materiales que proporcionan un grado de aislamiento térmico, tales como polímeros.

Si bien los recipientes de muestras, las asas y las consolas del sistema analizados anteriormente se han descrito como que incluyen componentes con ciertas dimensiones, tamaños, formas, materiales y configuraciones, en algunas realizaciones, los recipientes de muestras, las asas y las consolas del sistema que son sustancialmente similares en estructura y función a las realizaciones analizadas anteriormente pueden incluir uno o más componentes con diferentes dimensiones, tamaños, formas, materiales y configuraciones.

REIVINDICACIONES

1. Recipiente de muestras (100; 300; 400; 500; 600; 700; 800; 900; 1000; 1100; 1200; 1300; 1400; 1500; 1700; 1900; 2000; 2100; 2200; 2300) configurado para el procesamiento criogénico de una muestra, comprendiendo el recipiente de muestras:
5
un elemento alargado (102; 1102; 1202; 1302; 1402; 1502; 1702; 1902; 2202);
una solución de equilibrado (120; 720) precargada dentro de un lumen del elemento alargado en una primera posición;
10 una solución de vitrificación (122; 652, 654, 656) precargada dentro del lumen del elemento alargado en una segunda posición ubicada distal a la primera posición; y
una barrera desplazable (124; 524; 1915; 2015; 2124; 2224, 2225) posicionada entre la solución de equilibrado y la solución de vitrificación de tal manera que la solución de equilibrado y la solución de vitrificación están inicialmente espaciadas entre sí dentro del lumen del elemento alargado.
15
2. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que el elemento alargado comprende un tubo capilar.
3. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que el elemento alargado comprende una primera porción (114; 1514; 1714; 1914) que tiene un ancho constante y una segunda porción que tiene un ancho variable, en el que la segunda porción es opcionalmente una porción cónica (116; 1516; 1716).
20
4. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que la solución de vitrificación es más densa que la solución de equilibrado.
25
5. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que la solución de equilibrado tiene un volumen de aproximadamente 1 µL a aproximadamente 50 µL, y en el que la solución de vitrificación tiene opcionalmente un volumen de aproximadamente 1 µL a aproximadamente 50 µL.
- 30 6. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, que comprende, además, uno o más medios de procesamiento de muestras (652, 654, 656) adicionales.
7. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que la barrera comprende:
35
 - un fluido (124), opcionalmente un fluido que comprende aire; o
 - una válvula (524); o
 - un sólido inerte (2124; 2224, 2225) que experimenta un cambio de fase de sólido a líquido a una temperatura de aproximadamente 10 °C, opcionalmente en el que la barrera, en una fase líquida, es menos densa que la solución de equilibrado y la vitrificación; o
 - 40 - un mecanismo de sujeción (1915; 2015) dispuesto en el exterior del elemento alargado, en el que el elemento alargado comprende opcionalmente un tubo flexible.
8. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que un diámetro del elemento alargado (2202) varía de manera escalonada a lo largo de un eje del elemento alargado, o en el que un extremo proximal (1106) del tubo alargado (1102) es más ancho que una porción central del tubo alargado.
45
9. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, que comprende, además, una etiqueta de identificación electrónica (134; 834; 934; 1034) o un tapón (440; 340) configurado para encajar dentro del lumen del tubo alargado y un portador de muestras (450) que se extiende desde el tapón.
50
10. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que el tubo alargado define una abertura de pared lateral (1562; 1762) ubicada proximal a la solución de equilibrado.
11. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que una o ambas de la solución de equilibrado (720) y la solución de vitrificación comprenden nanopartículas magnéticas.
55
12. Recipiente de muestras, según la reivindicación 1, en el que el recipiente de muestras está formado por un material que puede soportar mecánicamente una temperatura de aproximadamente -196 °C o menos durante al menos aproximadamente 15 años.
60
13. Dispositivo criogénico que comprende el recipiente de muestras, según la reivindicación 1 y un mango (1600; 1800) configurado para alojar el recipiente de muestras de la reivindicación 1.
- 65 14. Sistema de vitrificación, que comprende:
una estación de procesamiento (2402), que comprende:

un receptáculo (2432) configurado para sujetar de forma segura el recipiente de muestras, según la reivindicación 1, y
un sistema de obtención de imágenes (2434) dispuesto por encima del receptáculo para visualizar la muestra dentro del recipiente de muestra;

una plataforma giratoria (2404) a la que se fija la estación de procesamiento, en el que la plataforma puede girar alrededor de un eje central y el sistema de vitrificación está configurado para hacer girar el recipiente de muestras a una velocidad baja seleccionada, habitualmente a una velocidad angular de 50 rpm a 1200 rpm, para aplicar una fuerza centrípeta a la muestra dentro del recipiente de muestras para hacer que la muestra se mueva a lo largo de un eje del recipiente de muestras hacia un extremo distal de acuerdo con un protocolo especificado de manera oportuna y sin causar daño mecánico a la muestra.

15. Procedimiento para procesar criogénicamente una muestra dentro de un recipiente de muestras, comprendiendo el procedimiento:

depositar la muestra dentro de un lumen del recipiente de muestras;
exponer la muestra a una solución de equilibrado precargada dentro del lumen durante un período de tiempo predeterminado;
forzar la muestra distalmente a través de la solución de equilibrado y hacia una solución de vitrificación separada de la solución de equilibrado y precargada dentro del lumen forzando la solución de equilibrado a través de una barrera que separa inicialmente la solución de equilibrado de la solución de vitrificación, o desplazando la barrera;
exponer la muestra a la solución de vitrificación; y
forzar la muestra distalmente a través de la solución de vitrificación.

16. Procedimiento, según la reivindicación 15, que comprende, además, pasar la muestra a través de una abertura proximal en el recipiente de muestras, en el que la abertura proximal está ubicada opcionalmente en un extremo del recipiente de muestras o a lo largo de una pared lateral del recipiente de muestras, comprendiendo, además, opcionalmente el procedimiento sellar la abertura proximal del recipiente de muestras después de depositar la muestra dentro del lumen del recipiente de muestras.

17. Procedimiento, según la reivindicación 15, que comprende, además, la fusión de la solución de equilibrado y la solución de vitrificación para formar una solución de vitrificación combinada dentro del lumen del elemento alargado, opcionalmente en el que el período de tiempo predeterminado es un primer período de tiempo predeterminado, comprendiendo, además, el procedimiento la exposición de la muestra a la solución de vitrificación combinada durante un segundo período de tiempo predeterminado.

18. Procedimiento, según la reivindicación 15, que comprende, además, hacer girar el recipiente de muestras alrededor de un eje del recipiente de muestras mientras la muestra está contenida dentro del recipiente de muestras, o que comprende, además, hacer girar el recipiente de muestras alrededor de un eje de revolución mientras la muestra está contenida dentro del recipiente de muestras.

19. Procedimiento, según la reivindicación 15, en el que la solución de equilibrado comprende nanopartículas magnéticas, comprendiendo, además, opcionalmente el procedimiento la aplicación de una fuerza magnética a las nanopartículas magnéticas.

20. Procedimiento, según la reivindicación 15, que comprende, además:

- sumergir el recipiente de muestras dentro de nitrógeno líquido; o
- exponer la muestra a una temperatura de aproximadamente -196 °C o menos mientras la muestra está dispuesta dentro del recipiente de muestra; o
- vitrificar la muestra dentro del recipiente de muestras; o
- descongelar la muestra dentro del recipiente de muestras y, opcionalmente, extraer la muestra del recipiente de muestras.

21. Procedimiento, según la reivindicación 15, que comprende, además, leer una etiqueta de identificación electrónica del recipiente de muestras.

22. Procedimiento, según la reivindicación 15, en el que la muestra comprende una o más células reproductivas.

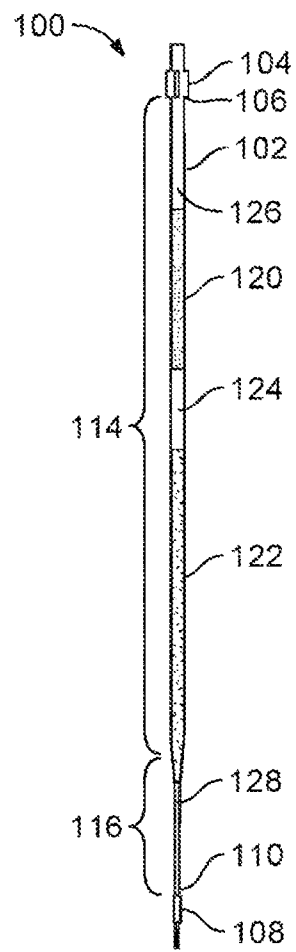


FIG. 1

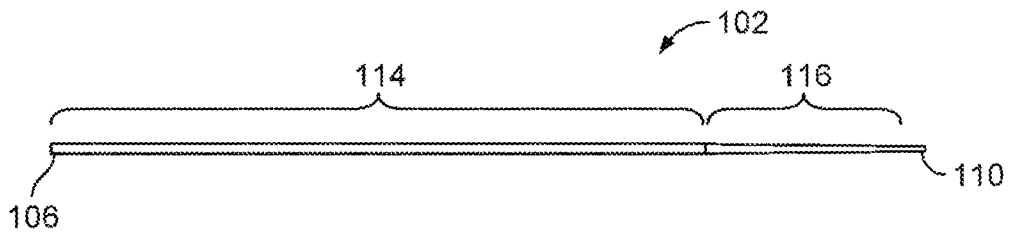


FIG. 2

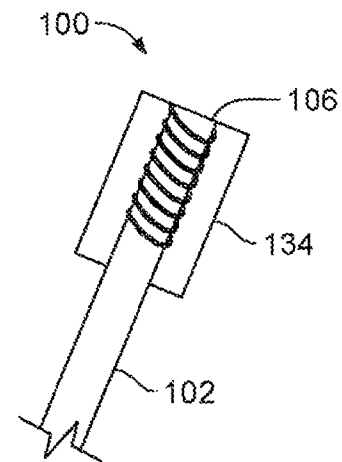


FIG. 3

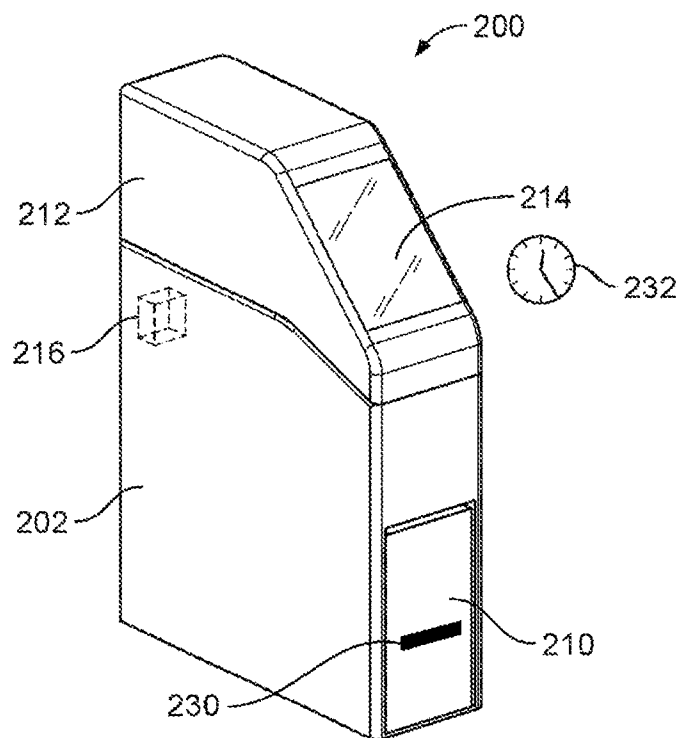


FIG. 4

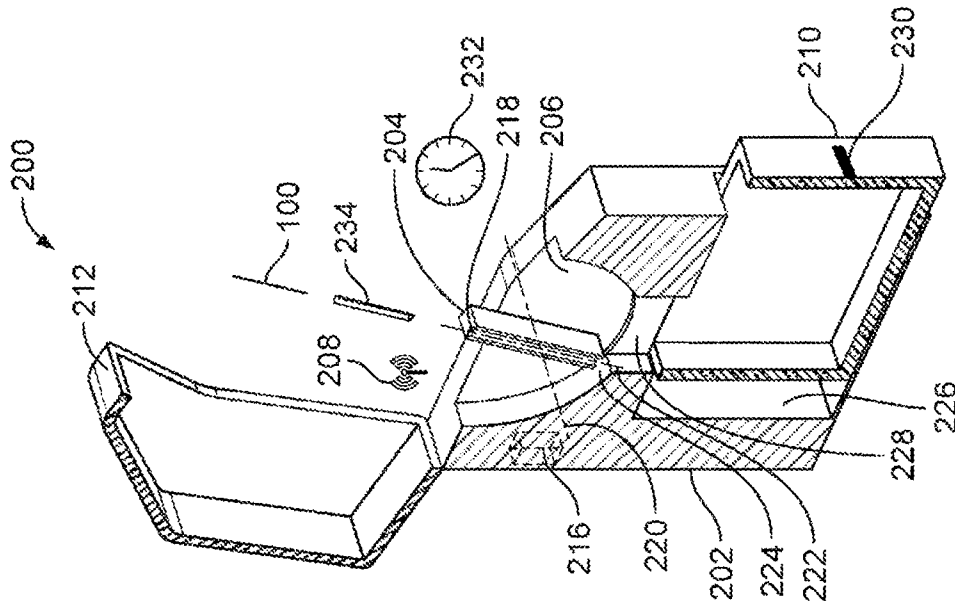


FIG. 6

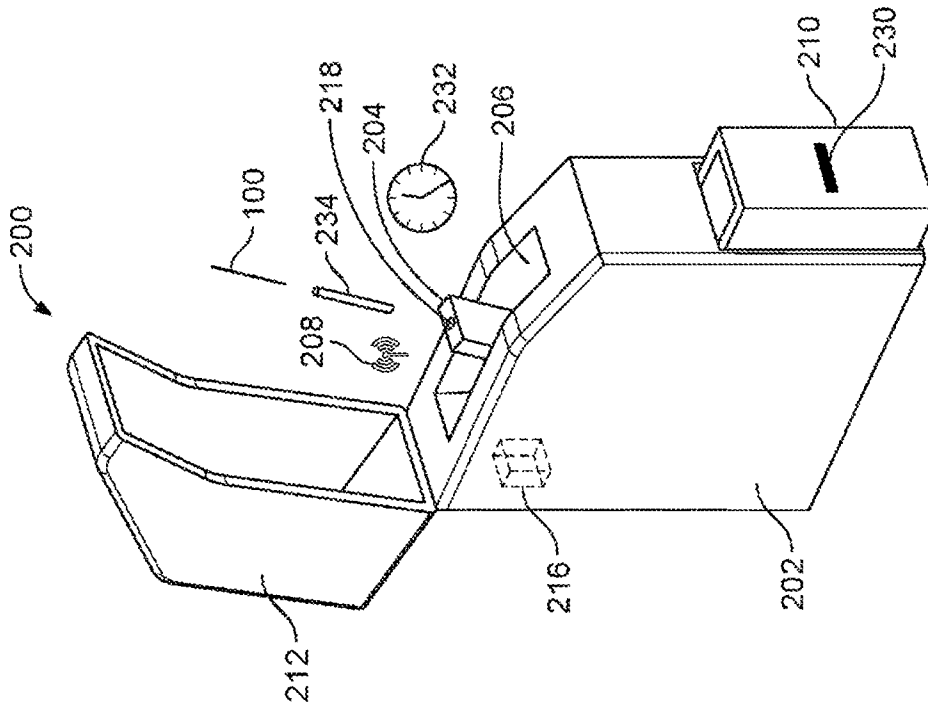
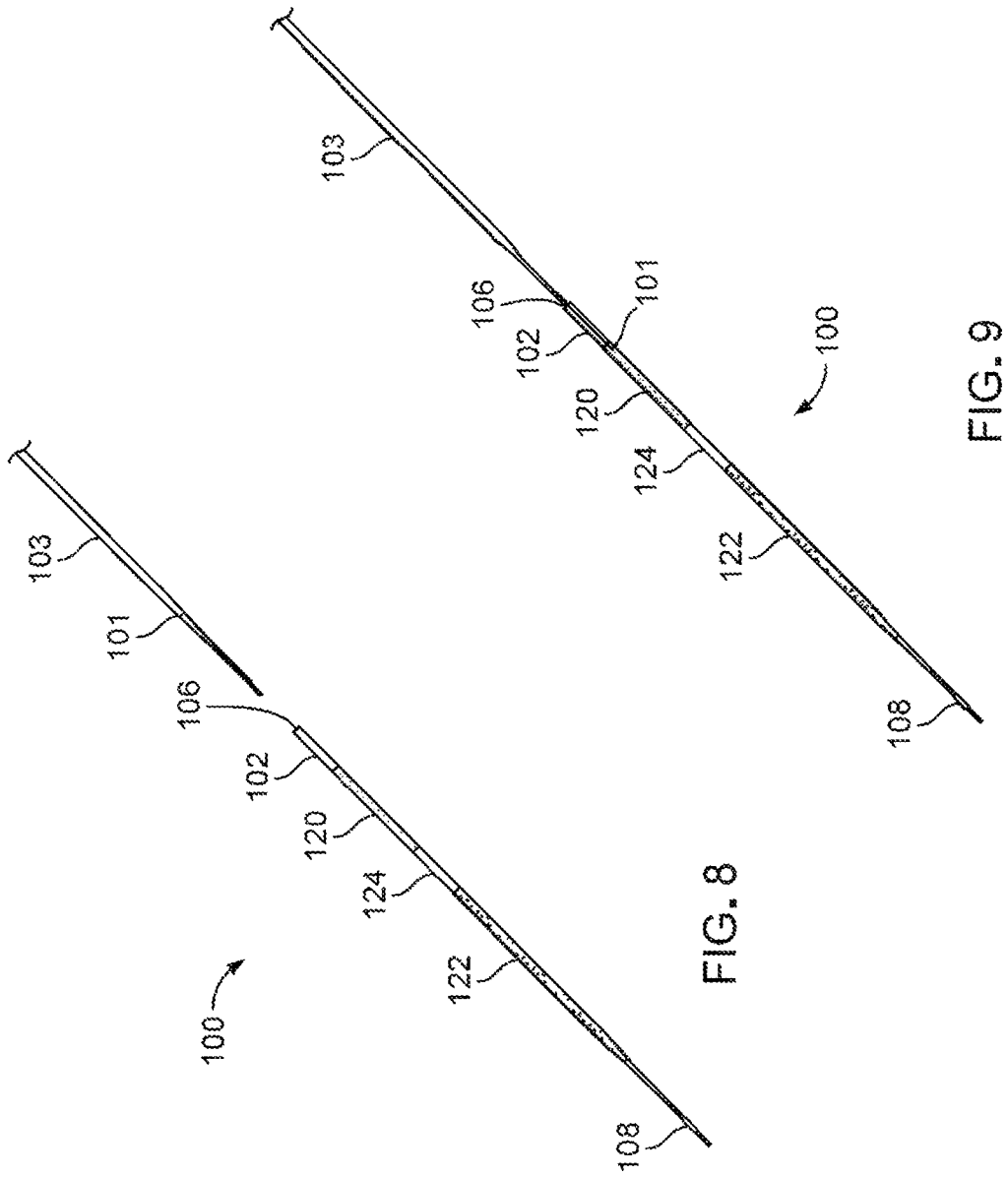
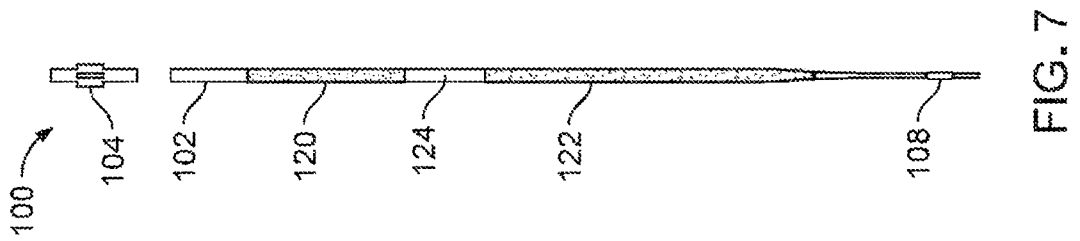


FIG. 5



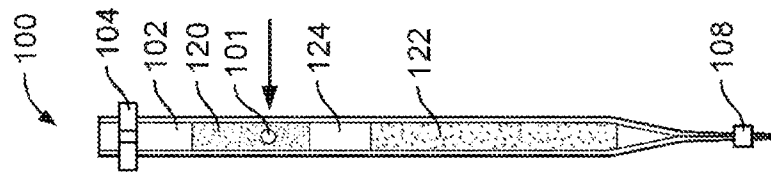


FIG. 10

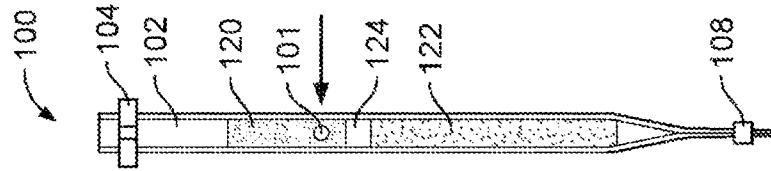


FIG. 11

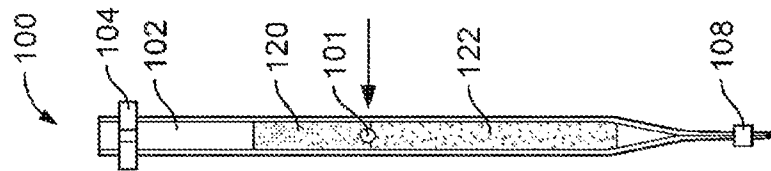


FIG. 12

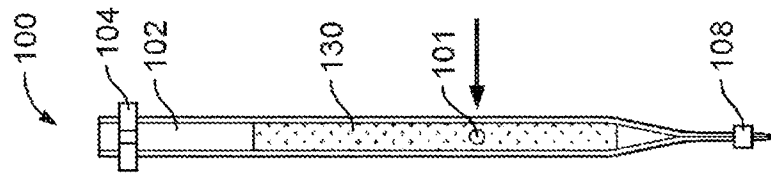


FIG. 13

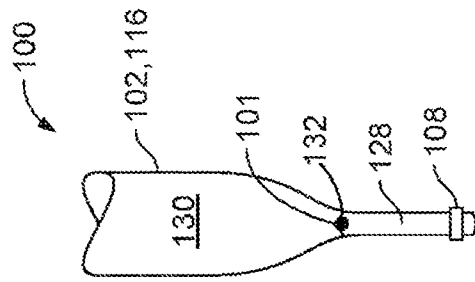


FIG. 14

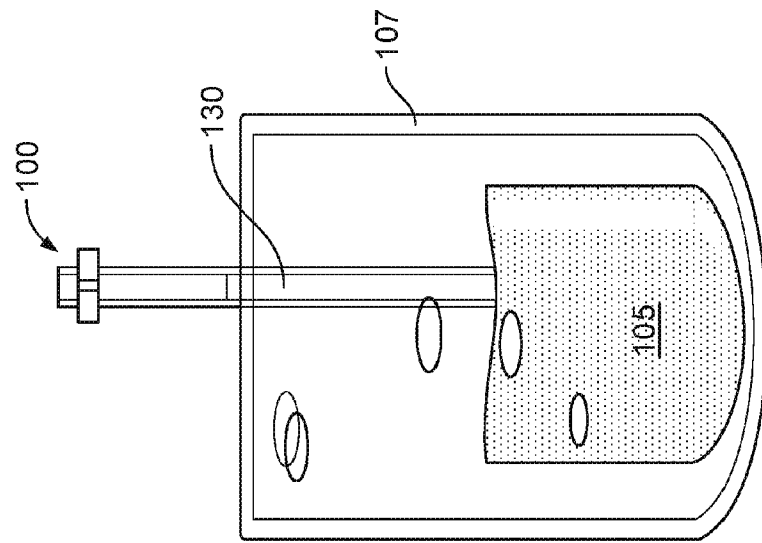


FIG. 15

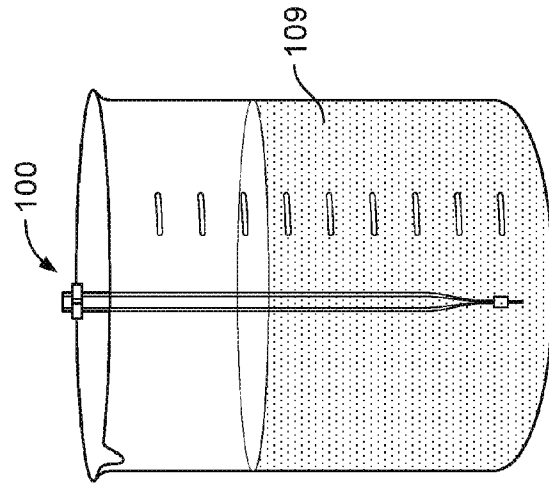


FIG. 16

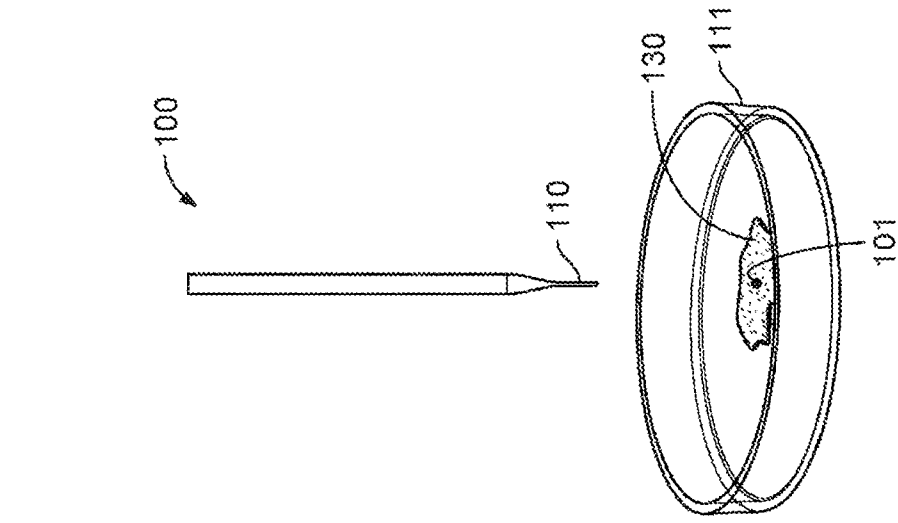


FIG. 17A

FIG. 17B

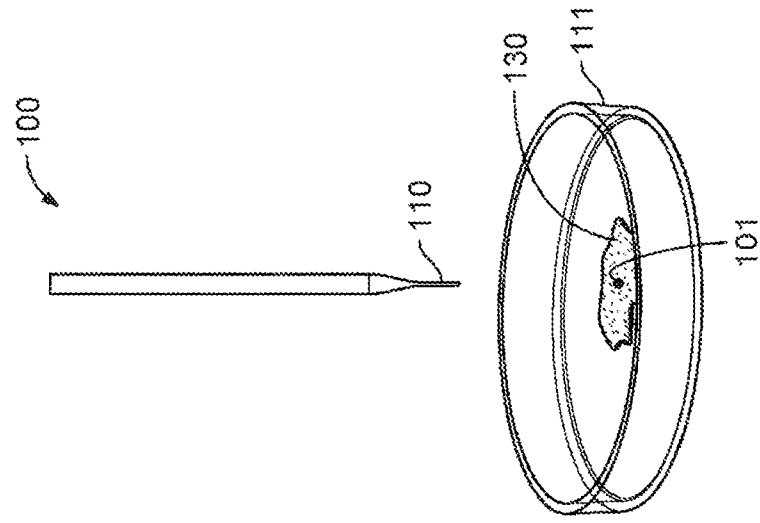


FIG. 18

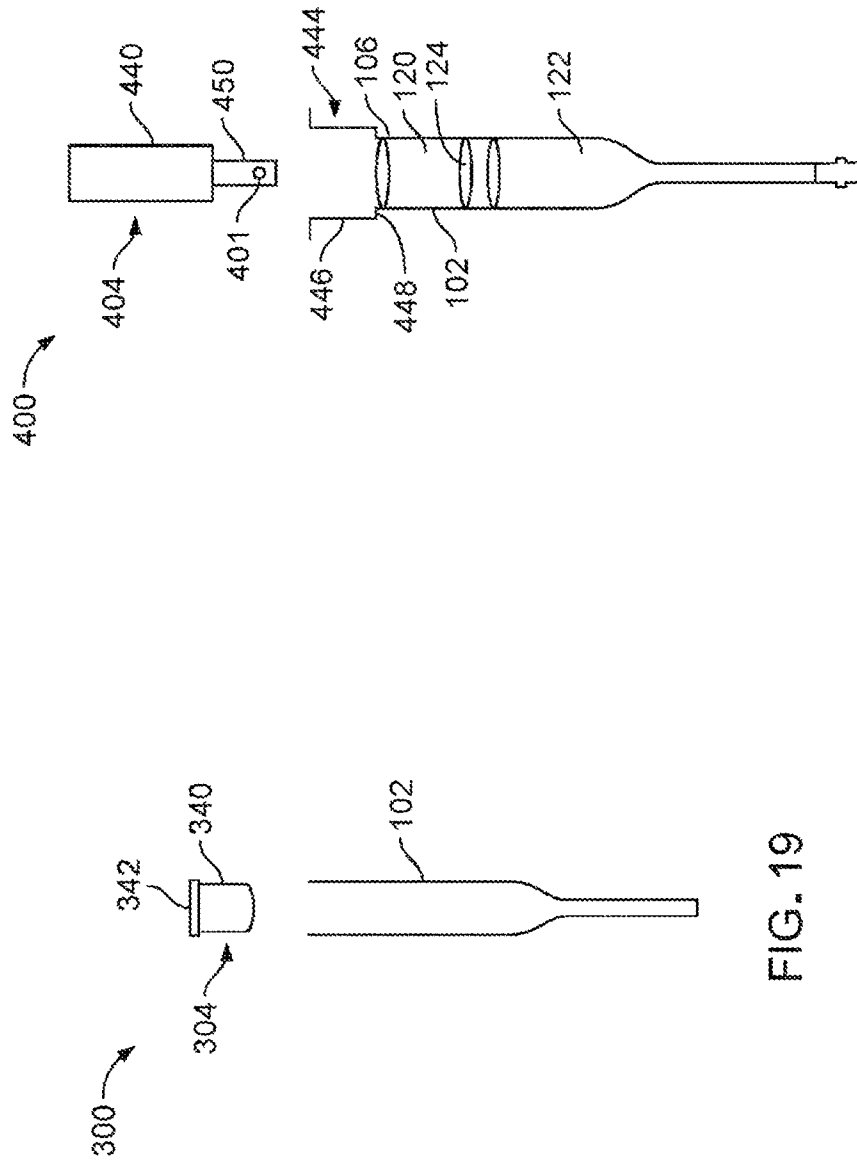


FIG. 19

FIG. 20

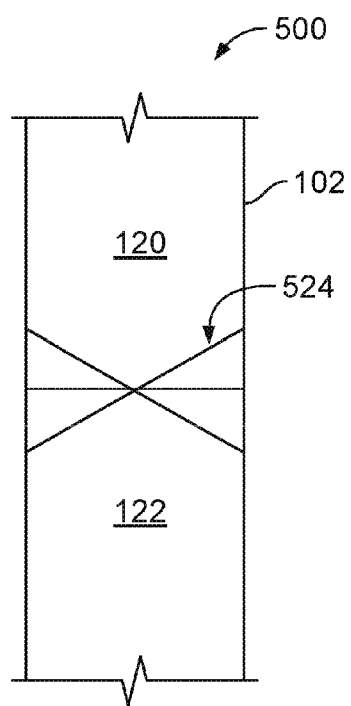


FIG. 21

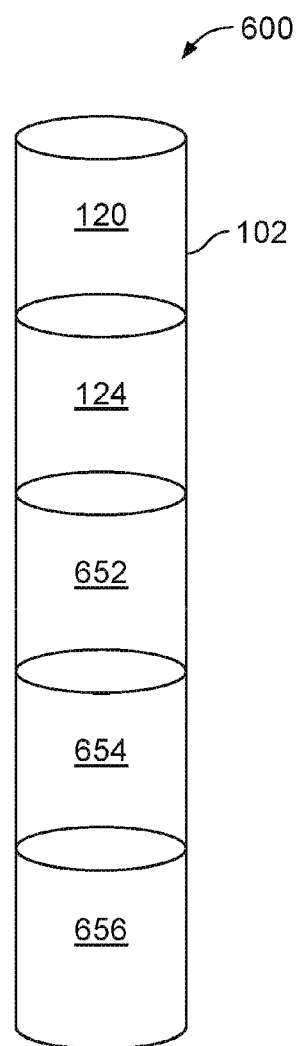


FIG. 22

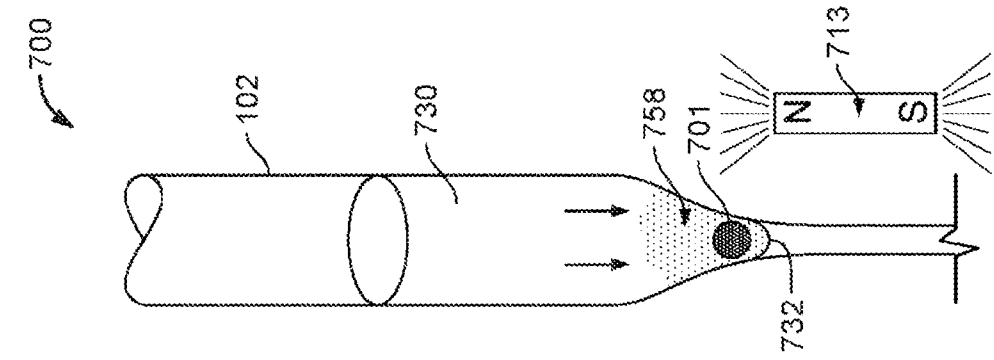


FIG. 24

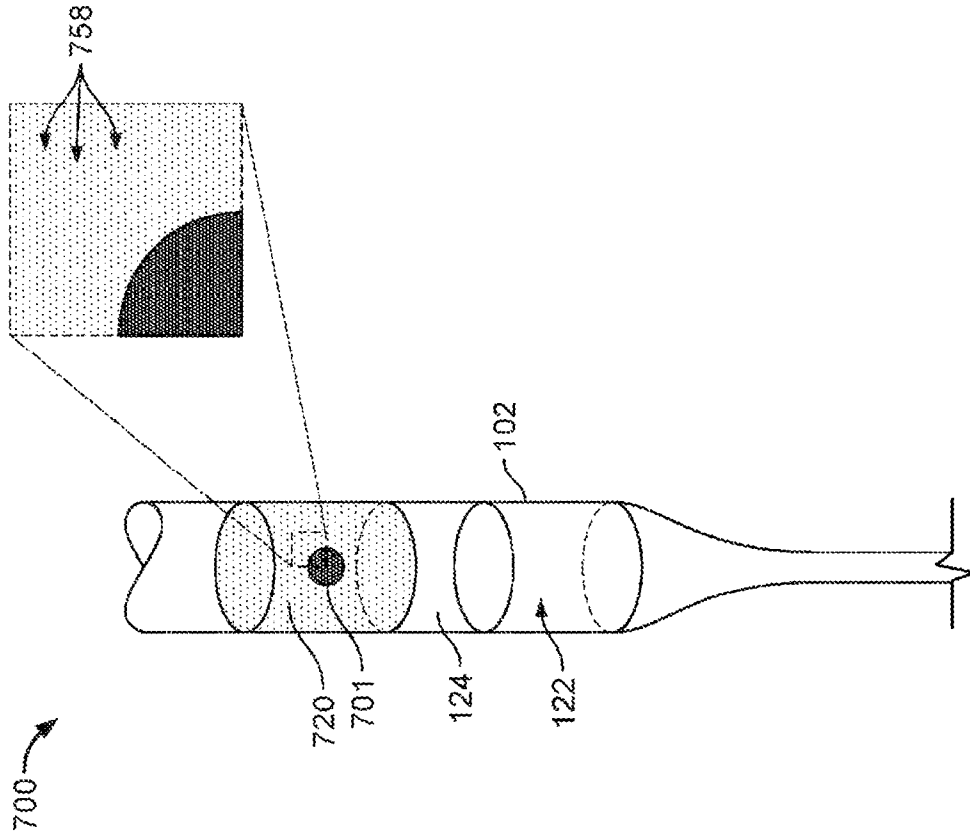


FIG. 23

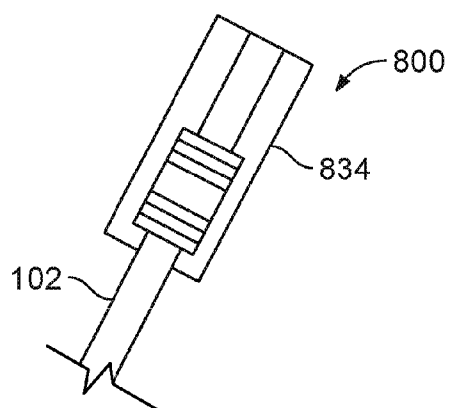


FIG. 25

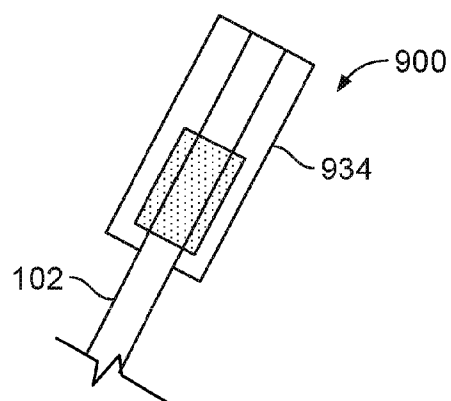


FIG. 26

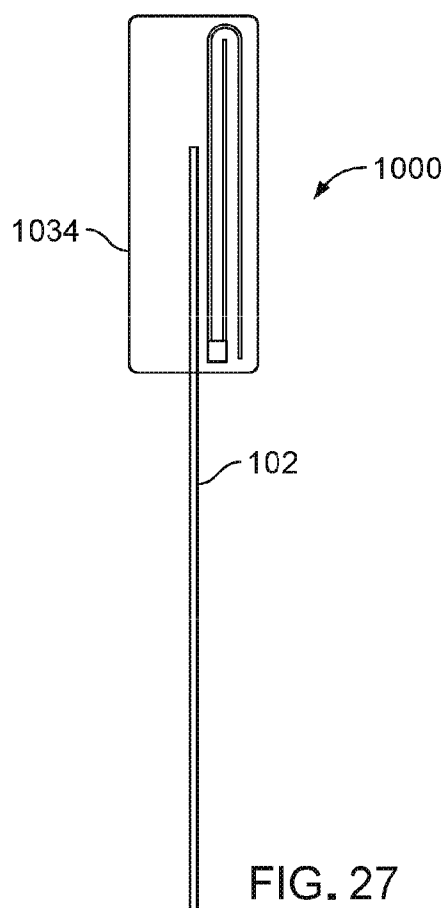


FIG. 27

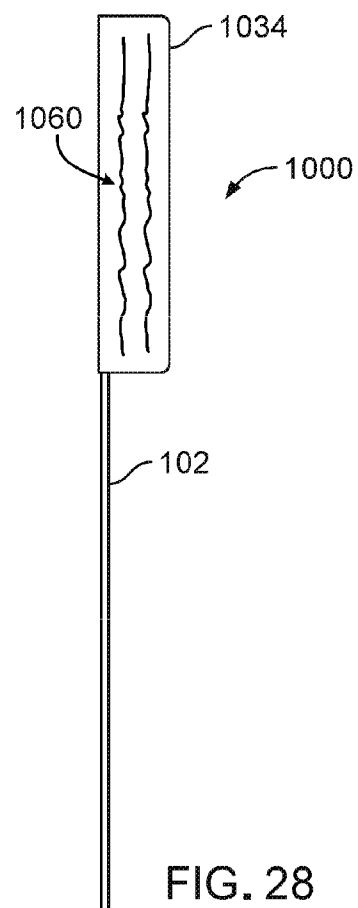


FIG. 28

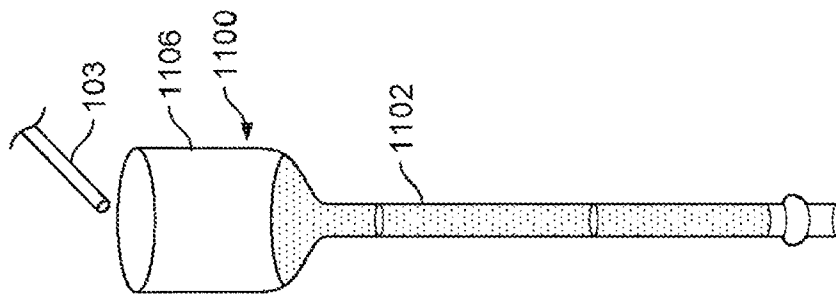


FIG. 29

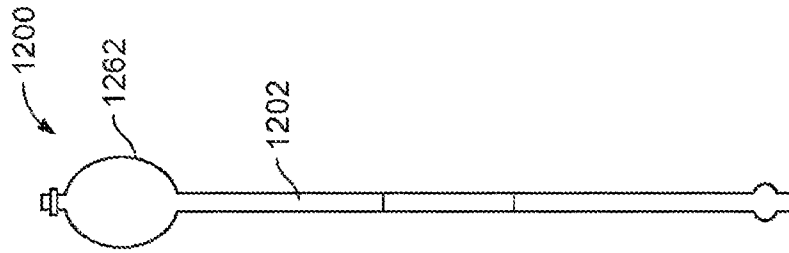


FIG. 30

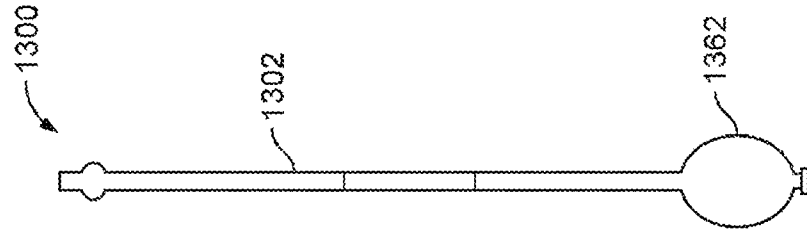


FIG. 31

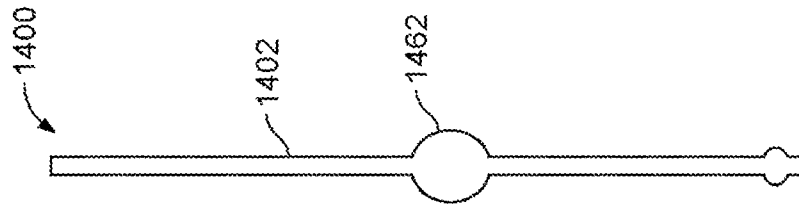


FIG. 32

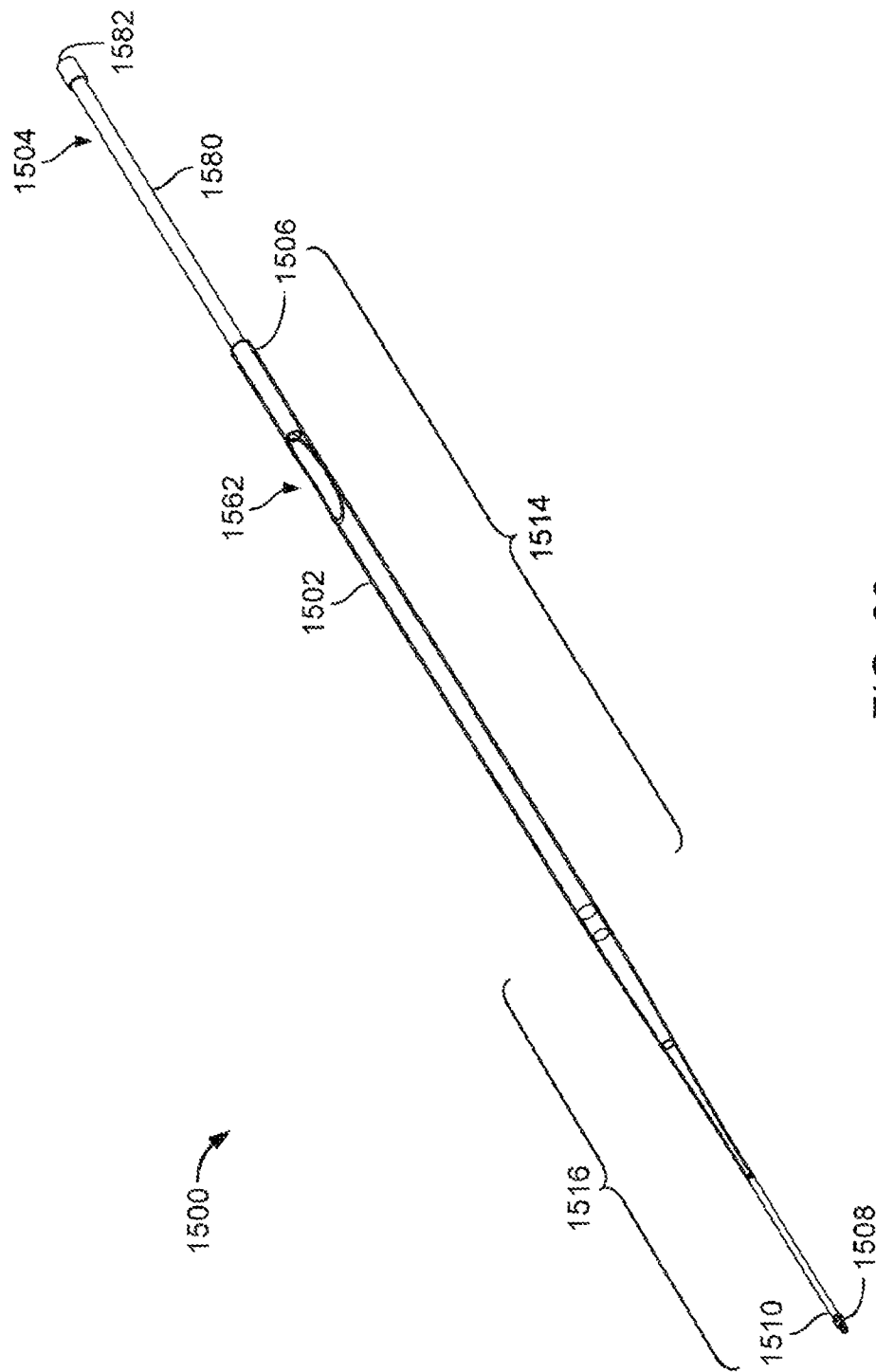
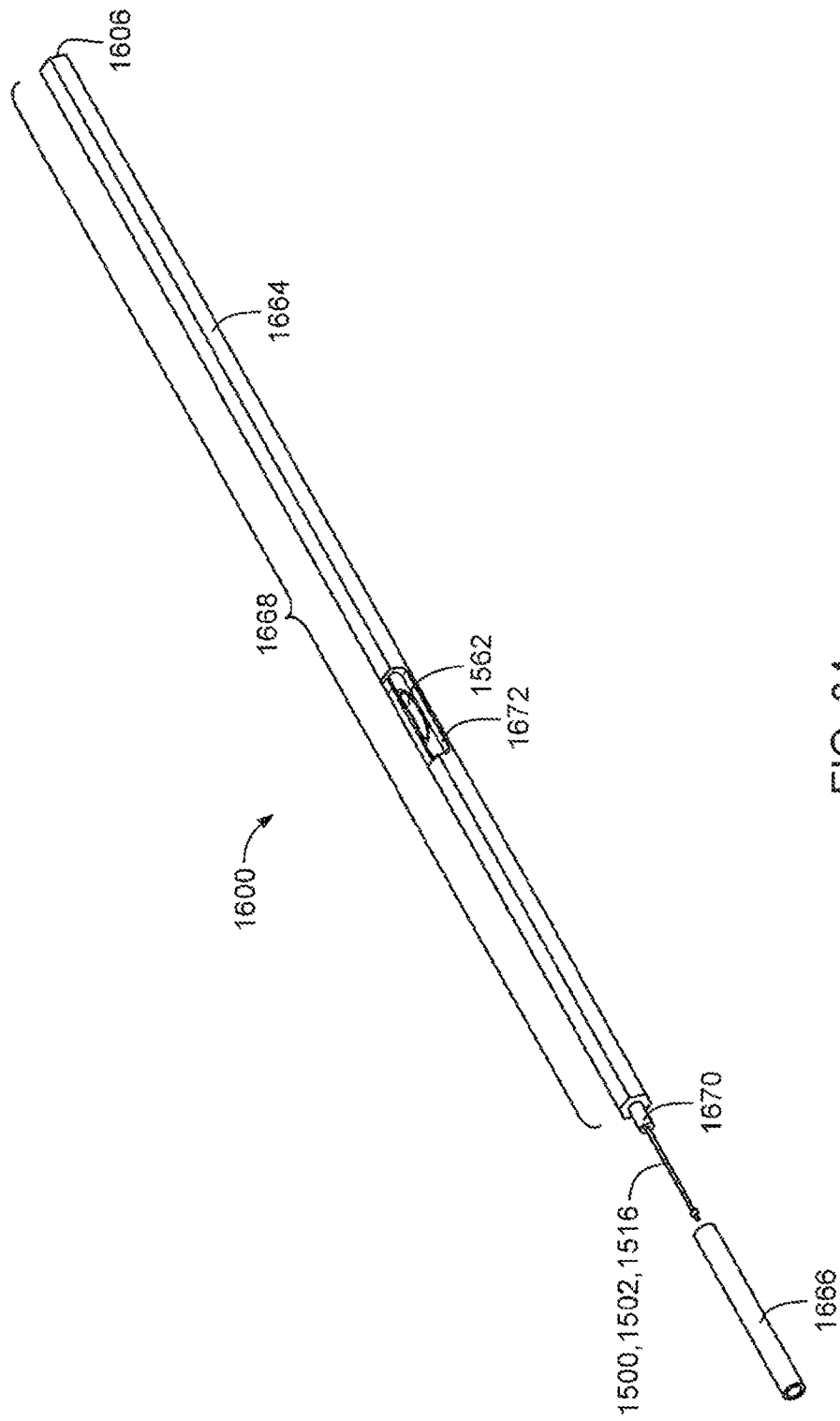
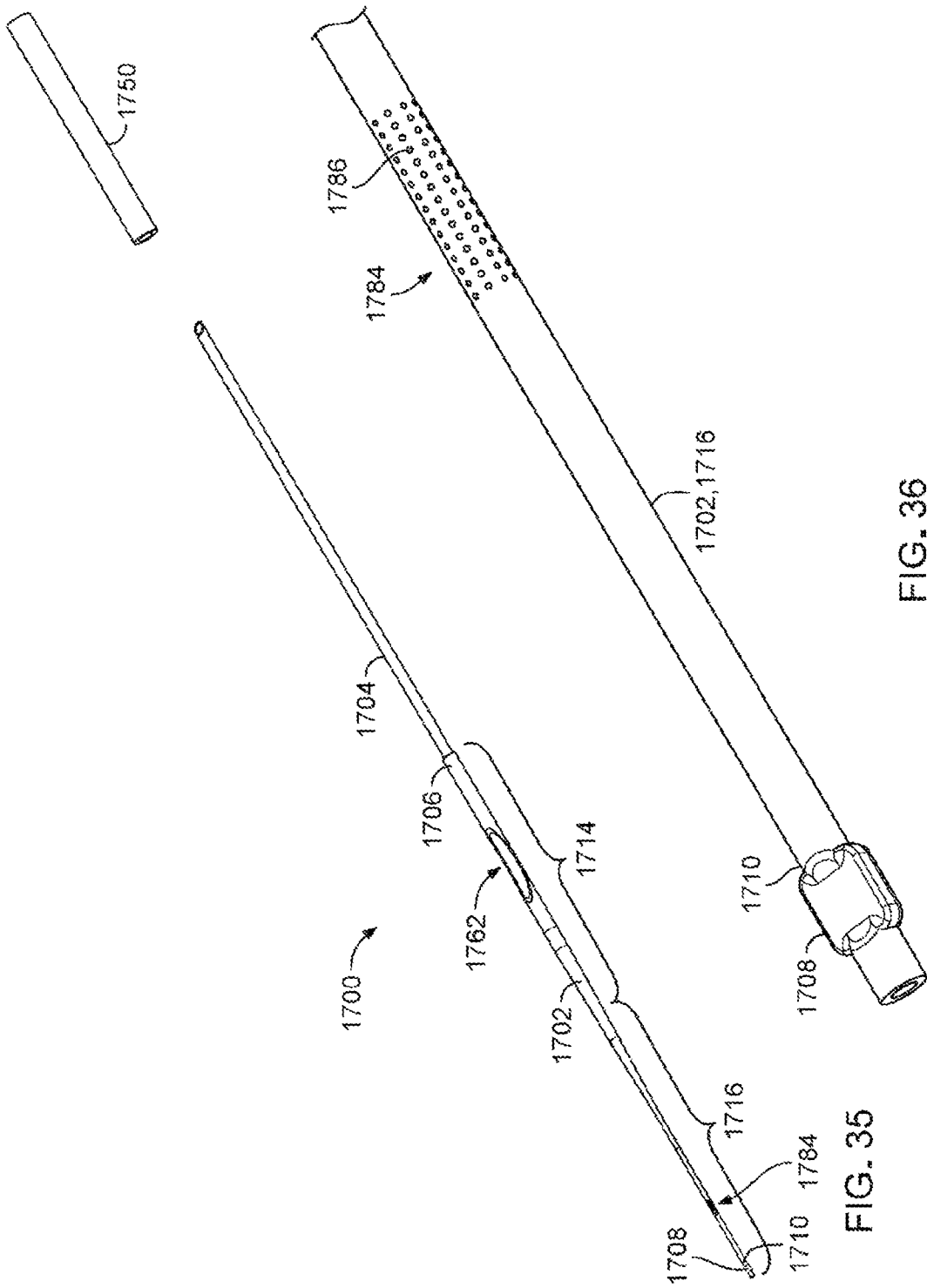


FIG. 33





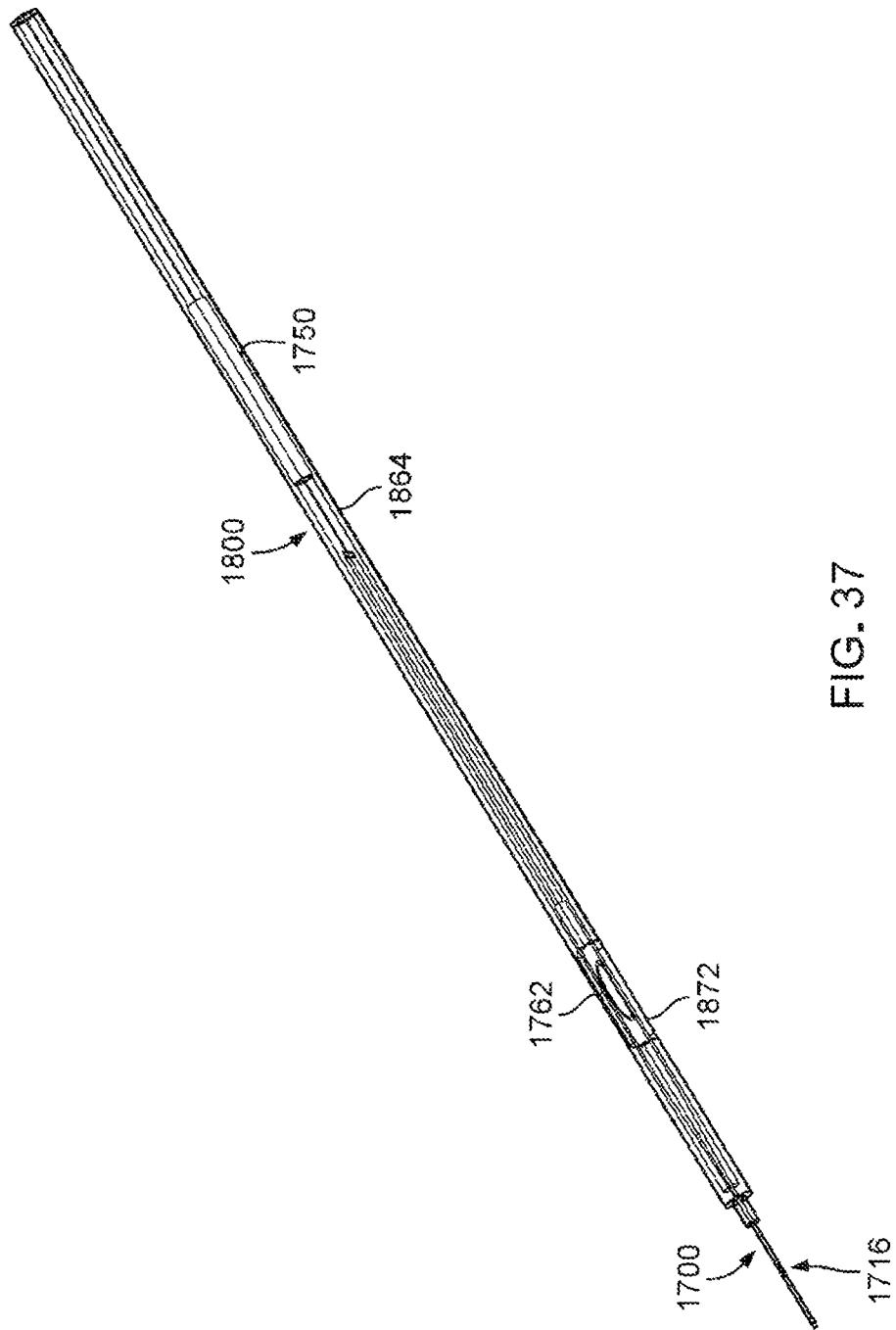


FIG. 37

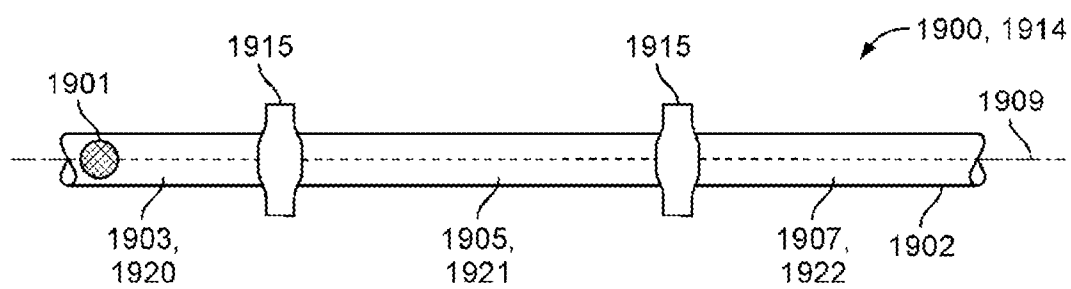


FIG. 38

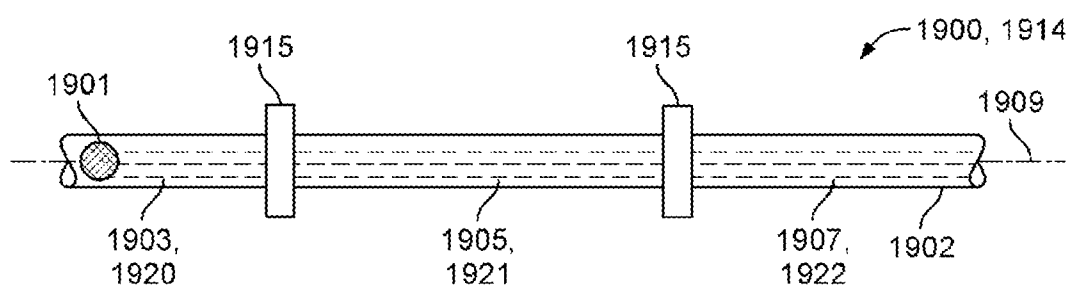


FIG. 39

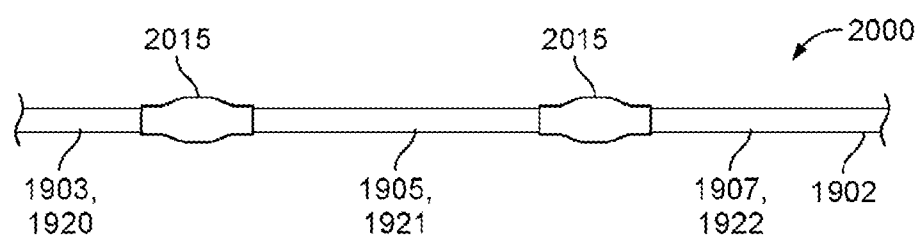


FIG. 40

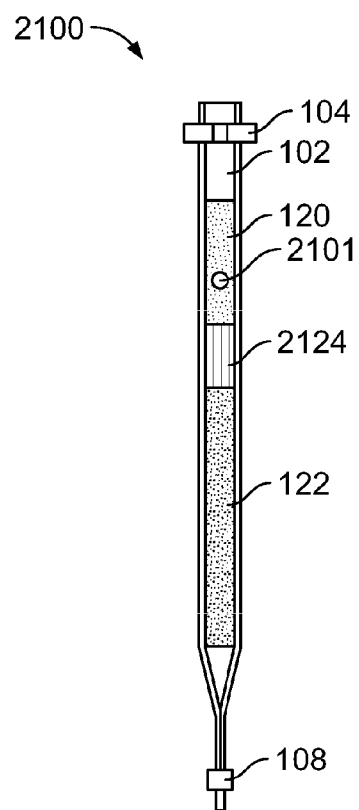


FIG. 41

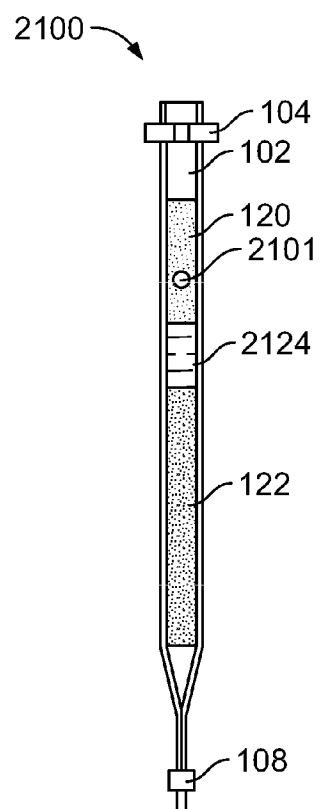


FIG. 42

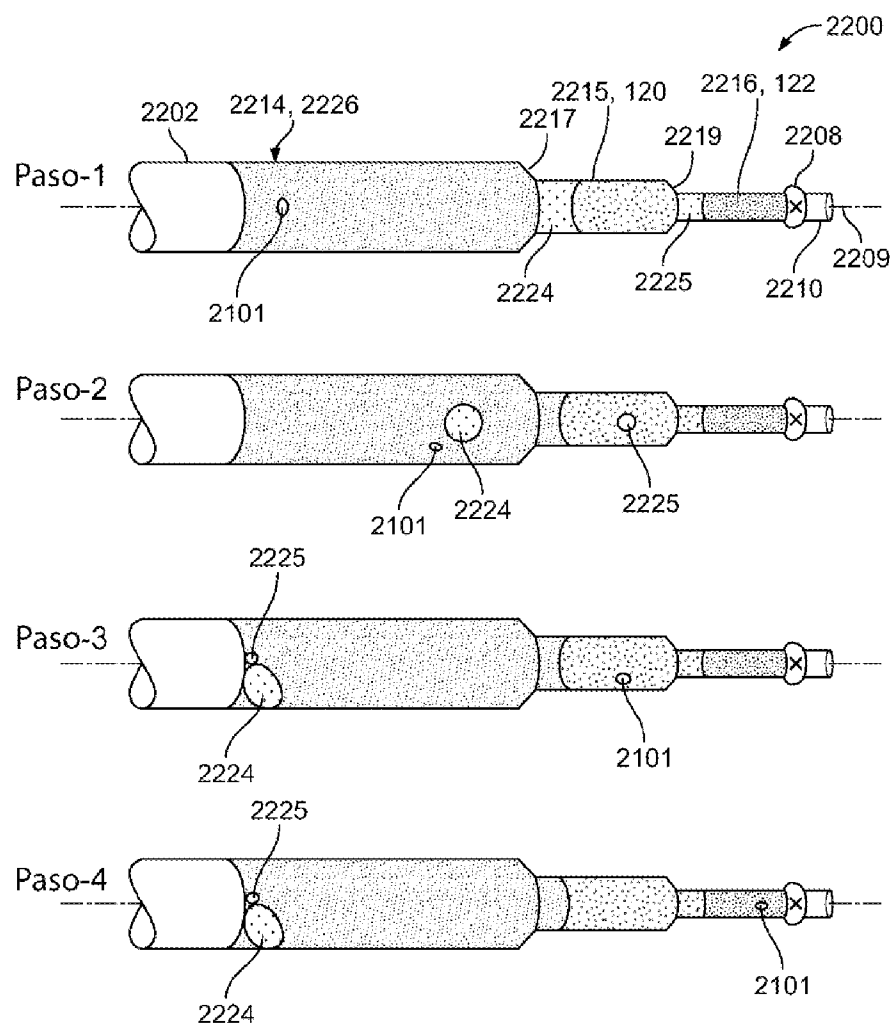


FIG. 43

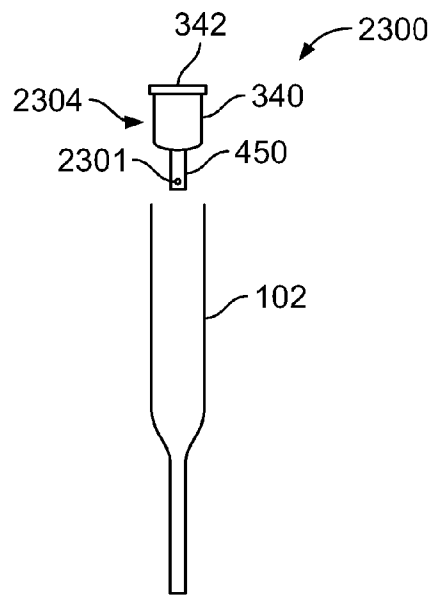


FIG. 44

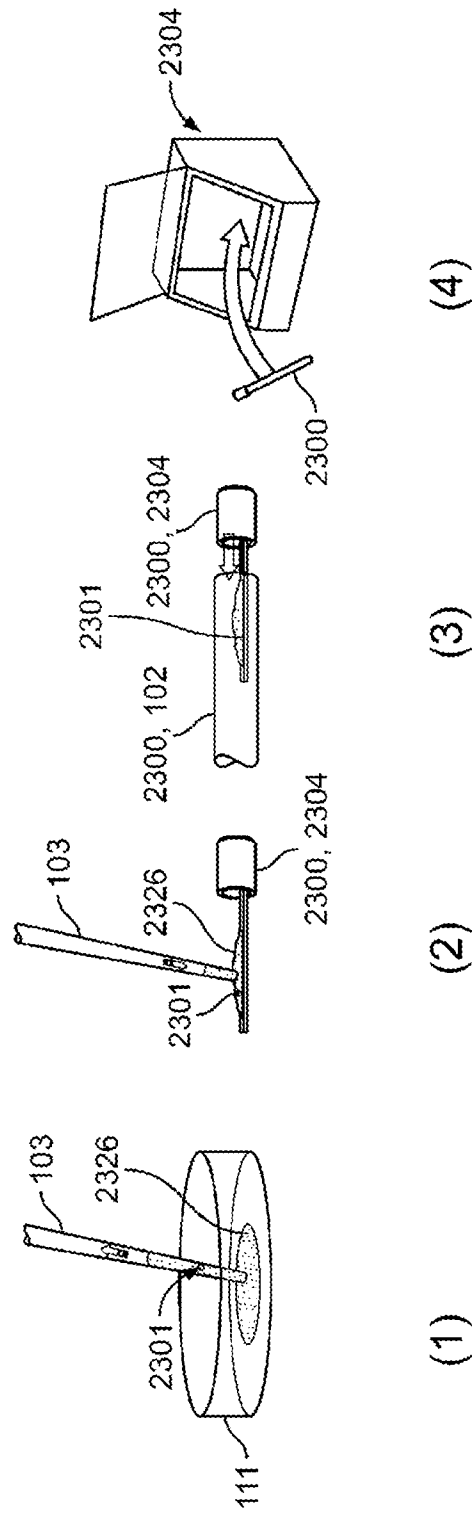


FIG. 45

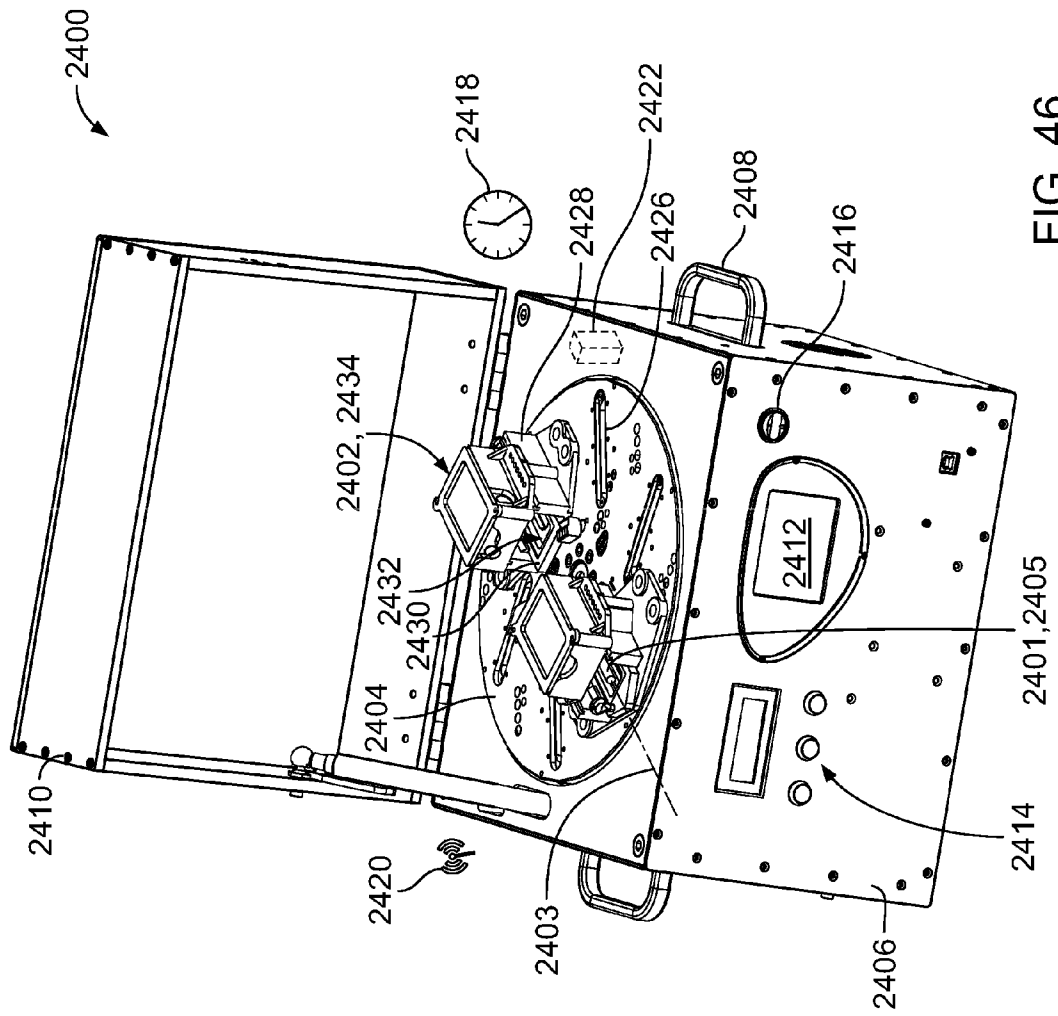


FIG. 46