

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 914 362**

51 Int. Cl.:

G01N 15/14 (2006.01)

C12Q 1/04 (2006.01)

G01N 15/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.11.2018** **PCT/IB2018/059284**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2019** **WO19102422**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2018** **E 18839702 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2022** **EP 3717889**

54 Título: **Dispositivo para clasificar entidades biológicas**

30 Prioridad:

27.11.2017 WO PCT/IB2017/057415

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.06.2022

73 Titular/es:

**ECOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE
LAUSANNE (EPFL) (100.0%)
EPFL-TTO EPFL, Innovation Park J
1015 Lausanne, CH**

72 Inventor/es:

**BONNET, FRANK;
CROT, NORBERT y
MONDADA, FRANCESCO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 914 362 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

Dispositivo para clasificar entidades biológicas

Campo técnico

- 5 La presente invención pertenece al campo de la mecánica y los dispositivos de laboratorio. En particular, la presente invención se refiere a un aparato para su uso como clasificador de entidades biológicas tales como embriones u óvulos.

Antecedentes

- 10 Durante los últimos 30 años, varios animales vertebrados e invertebrados han sido identificados y estudiados extensamente como modelos fundamentales para abordar cuestiones importantes en genética, biología del desarrollo, descubrimiento de fármacos, toxicología e investigación biomédica. Entre esos animales modelo, algunas especies han sido seleccionadas y resultan preferidas debido a ciertas ventajas experimentales particulares, por ejemplo, en biología del desarrollo: la similitud genética entre estas especies y los mamíferos, el pequeño tamaño, el crecimiento rápido, el desarrollo barato y su relevancia para reemplazar a los mamíferos en las pruebas con animales hacen de estos modelos una excelente opción en una amplia gama de escenarios de investigación. A modo de ejemplo, el nematodo *C. elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, el pez cebra *Danio rerio* y la rana de uñas africana *Xenopus laevis* son de especial interés.

- 20 El *Xenopus laevis* es un poderoso organismo modelo ampliamente utilizado para estudiar biología del desarrollo. Las razones de su uso mundial en investigación radican en el alto grado de conservación de la mayoría de los mecanismos celulares y moleculares esenciales, es económico, fácil de manipular y se pueden obtener fácilmente grandes cantidades de material para una variedad de procedimientos experimentales. Además, los huevos de *Xenopus* son abundantes e inusualmente grandes en comparación con los de sus homólogos mamíferos, con un diámetro de aproximadamente 1,2-1,4 mm.

- 25 El pez cebra se ha convertido en otro de los organismos modelo más importantes para estudios *in vivo* de vertebrados en biología, tanto en investigación fundamental como para aplicaciones biomédicas. Fundamentalmente, la transparencia de los embriones los hace susceptibles a una profunda visualización *in vivo*. Otras razones del atractivo del modelo incluyen la secuencia de genoma completa y un número cada vez mayor de líneas de pez transgénicas y mutantes, lo que permite estudios *in vivo* detallados de regulación y función génica. En particular, existen modelos de pez cebra para una amplia gama de enfermedades humanas, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares, cáncer o trastornos del movimiento.

- 30 Debido al tamaño pequeño del huevo y al mantenimiento relativamente fácil de las granjas de pez cebra, los huevos también ofrecen posibilidades de cribado de alto rendimiento. El pez cebra puede poner muchos huevos, una hembra, por ejemplo, puede poner hasta 200 huevos durante el apareamiento. Partes de estos huevos no producirán larvas. El hecho de que el huevo produzca o no una larva es visible a simple vista, ya que los que no producirán larvas son opacos y los que producirán larvas son transparentes.

- 35 Sin embargo, el cuello de botella actual para el cribado de alto rendimiento es un proceso eficiente de clasificación y dispensación de organismos individuales en depósitos individuales, tal como los pocillos de una placa de múltiples pocillos. Una de las principales tareas de las personas que trabajan con pez cebra en los laboratorios es cuidar su reproducción y la clasificación de huevos, ya que los huevos que no producirán larvas podrían contaminar los fertilizados. Esta tarea monótona hoy en día se realiza manualmente y requiere mucho tiempo, es propensa a errores y es complicada debido a las pequeñas dimensiones de los huevos (~1 mm de diámetro).

- 45 Se han realizado varios intentos para automatizar la singularización de huevos o larvas de pez cebra en placas de múltiples pocillos. Una posibilidad es utilizar un enfoque robótico de recoger y colocar para clasificar los huevos de una placa de Petri en placas de pocillos. Uno de estos sistemas es el CellBot (Fully Automated Single Cell Handling Platform), en donde un robot delta, capaz de realizar varios ciclos por segundo, se combina con un microscopio de luz invertido totalmente motorizado (iMic, de Till Photonics, Alemania). El robot y el microscopio se mueven por encima y por debajo de la plataforma de muestras, que es estacionaria. Dado que la placa de Petri y la placa de pocillos nunca se mueven durante el proceso de clasificación, esta disposición evita que el líquido de la muestra se derrame. El microscopio de luz invertido escanea la placa de Petri y verifica si hay huevos, si se encuentra uno, este huevo se retira con una herramienta de pipeta conectada al robot delta y se coloca en la placa de pocillos. Desafortunadamente, un sistema de recogida y colocación de este tipo es costoso, bastante lento y utiliza una gran parte del espacio del laboratorio.

- 55 Otras opciones son los instrumentos COPAS y BioSorter (ambos de Union Biometrica, Holliston, MA), que están especialmente diseñados para clasificar entidades biológicas grandes (hasta 1500 µm). Estos sistemas son capaces de singularizar huevos de pez cebra en placas de 96 pocillos en aproximadamente 2 min. Sin embargo, estos sistemas se diseñaron para citometría de flujo de alto rendimiento y, por lo tanto, están equipados con ópticas costosas, que en realidad no son necesarias para singularizar simplemente entidades grandes en placas de pocillos. Además, ambos sistemas no son capaces de comprobar la calidad de las

entidades clasificadas, tal como la forma, las características específicas o los daños.

Graff y col. (J Lab Autom. abril 2011; 16(2):105-11) informaron sobre la creación de un sistema de clasificación
 5 flúidico basado en imágenes para la clasificación automática de huevos de pez cebra en placas de múltiples
 pocillos. El sistema es un dispositivo de clasificación para grandes entidades biológicas, tal como huevos y
 larvas de pez cebra u ovocitos de *Xenopus*, y consta de dos unidades principales denominadas CellSorter y
 WellPlateFeeder. El CellSorter se utiliza para clasificar entidades individuales tales como huevos o larvas de
 pez cebra de una suspensión, mientras que el WellPlateFeeder, realizado como un robot de pórtico, coloca las
 10 entidades individuales en un pocillo de una placa de múltiples pocillos. Las acciones del CellSorter y del
 WellPlateFeeder están sincronizadas para garantizar el correcto suministro de las entidades en la placa de
 pocillos.

Después de introducir la suspensión de huevos en el CellSorter, la suspensión se mueve continuamente
 mediante un anillo deslizante y estático. Los dos anillos definen un canal flúidico circular para la suspensión de
 huevos. El anillo deslizante gira mediante un motor eléctrico y arrastra con el mismo la suspensión
 15 amortiguadora debido a las fuerzas de resistencia viscosas. Además, una pequeña fuerza de fricción actúa
 sobre el corion del huevo. La suma de las fuerzas de arrastre y fricción da como resultado que el huevo gire a
 lo largo del canal flúidico y pase por las cámaras colocadas para visualizar una parte del canal.

Para retirar un solo huevo del CellSorter, el amortiguador se redirige dentro del canal y, con un suave empujón,
 mueve el huevo al WellPlateFeeder o cualquier otro sistema posterior, tal como un módulo de microinyección.
 20 Un sistema de visión instalado a lo largo de la trayectoria flúidica consta de una o dos cámaras y una matriz de
 diodos emisores de luz para iluminación. Además, se pueden introducir filtros de excitación y emisión para usar
 señales de fluorescencia para la identificación de entidades marcadas con fluorescencia. A pesar de su
 eficiencia, este sistema es bastante complicado en términos de fabricación, comprende una pluralidad de
 medios de tubería difíciles de limpiar después de su uso, y las válvulas de manguito ubicadas en la interfaz
 25 entre el CellSorter y el WellPlateFeeder pueden provocar un mal funcionamiento del CellSorter debido a una
 onda de presión de desplazamiento.

A pesar de los avances en este campo, todavía existe la necesidad de un sistema fácil de usar, fiable,
 automatizado y de bajo coste para clasificar y/o dispensar entidades biológicas grandes tales como óvulos,
 cigotos o larvas de pez cebra o *Xenopus*.

El documento EP 0700434 A1 describe el preámbulo de la reivindicación 1.

30 Resumen de la invención

Teniendo en cuenta los inconvenientes de las soluciones de la técnica anterior con respecto a las manipulaciones
 de entidades biológicas, los inventores concibieron y crearon un nuevo tipo de dispositivo y sistema para la
 clasificación mecánica de entidades biológicas, tales como óvulos o larvas. En particular, al conectar medios para
 35 detectar y analizar un parámetro óptico de la entidad biológica con un selector de cambio, dichas entidades pueden
 clasificarse con facilidad y precisión sin necesidad de configuraciones de dispositivo complicadas.

En consecuencia, un objeto de la presente invención es dar a conocer un dispositivo para clasificar
 mecánicamente una entidad biológica sólida, en donde la clasificación se basa en un parámetro óptico de dicha
 entidad biológica, comprendiendo dicho dispositivo:

- 40 - un canal que tiene un extremo proximal, un extremo distal y un cuerpo alargado entre los mismos,
 pudiendo conectarse operativamente dicho extremo proximal con un depósito que comprende dicha
 entidad biológica;
- medios para detectar y analizar un parámetro óptico de dicha entidad biológica; y
- 45 - un selector conectado operativamente con el extremo distal de dicho canal y con dichos medios para
 detectar y analizar un parámetro óptico, teniendo dicho selector forma de rueda dentada que comprende
 una pluralidad de ranuras conformadas para acomodar la entidad biológica, en donde el selector puede
 cambiar de una posición de reposo a una posición de clasificación, y preferiblemente al menos dos
 posiciones de clasificación, en base a la detección y análisis de dicho parámetro óptico de la entidad
 biológica;

50 en donde dichos medios están adaptados para realizar detección y análisis cuando dicha entidad biológica está
 dispuesta dentro de una ranura.

En una realización, el dispositivo está adaptado para clasificar una entidad biológica sólida dispersa en un
 medio fluido.

En una realización, dicha entidad biológica es un óvulo, un cigoto, un embrión, un grano, un polen, un tejido
 animal o una parte del mismo o una larva.

En una realización, el canal tiene un diámetro comprendido entre 0,5 y 20 mm, tal como, por ejemplo, entre 0,5 y 10 mm o entre 0,5 y 5 mm.

En una realización, el óvulo, el cigoto, el embrión o la larva deriva de un insecto, un anfibio o un pez.

5 En una realización, los medios para detectar y analizar un parámetro óptico de dicha entidad biológica comprenden un sensor óptico y una fuente de luz.

En una realización, el parámetro óptico de dicha entidad biológica comprende transparencia, reflectancia, contorno, morfología, fluorescencia o cualquier combinación de los anteriores.

En una realización, el dispositivo comprende además un depósito receptor en correspondencia con cada posición de clasificación del selector.

10 En una realización, los medios para detectar y analizar un parámetro óptico comprenden además un dispositivo informático conectado operativamente al selector, comprendiendo dicho dispositivo informático un programa informático que comprende instrucciones para:

- analizar el parámetro óptico detectado, comparando opcionalmente dicho parámetro óptico con datos de referencia; y

15 - cambiar el selector de una posición de reposo a una de al menos dos posiciones de clasificación en base al análisis de dicho parámetro óptico de la entidad biológica.

Otro objeto de la presente invención se refiere a un sistema robótico que comprende el dispositivo anteriormente descrito, comprendiendo dicho sistema un elemento robótico adaptado para permitir la distribución de la entidad biológica en un depósito después de un proceso de clasificación, tal como un análisis de un parámetro óptico de una entidad biológica, y antes del cambio del selector de una posición de reposo a una posición de clasificación.

20

Breve descripción de los dibujos

En las figuras:

25 La figura 1 muestra una realización del dispositivo de la presente invención en funcionamiento, teniendo el dispositivo un selector realizado como una cámara conectada operativamente con un accionador de motor, estando dicho selector en una posición (1A) de reposo para acomodar una entidad biológica que proviene de un canal superior, y en una posición (1B) de clasificación con la detección y análisis de un parámetro óptico de la entidad biológica;

30 La figura 2 muestra otra realización del dispositivo de la presente invención en funcionamiento, en una posición (2A) de reposo o una posición (2B) de clasificación, en donde el selector está realizado como una rueda dentada que tiene una pluralidad de ranuras para acomodar una entidad biológica;

la figura 3A muestra una vista isométrica de una realización implementada de la parte de selección del dispositivo según la invención; la figura 3B muestra una vista en sección de la misma realización;

35 la figura 4 muestra una vista en despiece de la parte de selección del dispositivo según la misma realización que se muestra en la figura 3;

la figura 5 muestra una vista lateral en sección de todo el dispositivo según una realización de la invención;

La Figura 6 muestra una vista superior de todo el dispositivo según la misma realización que se muestra en la figura 5.

Descripción de realizaciones

40 La presente invención se aclarará a continuación por medio de la siguiente descripción de las realizaciones de la presente invención que se representan en los dibujos. Sin embargo, debe entenderse que la presente invención no se limita a las realizaciones descritas a continuación y representadas en los dibujos; por el contrario, el alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones. Además, debe entenderse que la presente invención no se limita a las condiciones o parámetros específicos descritos y/o mostrados a continuación, y que la terminología utilizada aquí tiene el propósito de describir realizaciones particulares solo a modo de ejemplo y no pretende ser limitativa de la invención reivindicada.

45

Tal como se usa en este documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Además, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. De manera similar, "comprenden", "comprende", "que comprende/n", "incluyen", "incluye" y "que incluye/n" son intercambiables y no pretenden ser limitativos. Debe

50

entenderse además que cuando las descripciones de varias realizaciones usan el término "que comprende", los expertos en la técnica entenderán que, en algunos casos específicos, una realización puede describirse alternativamente usando el lenguaje "que consiste/n esencialmente en" o "que consiste/n en".

Con referencia a la figura 1, se muestra un ejemplo de un dispositivo que no está dentro del alcance de las reivindicaciones. El dispositivo comprende un canal 100 que comprende un extremo proximal 101, un extremo distal 103 y un cuerpo alargado 102 entre los mismos, que está ventajosamente conectado operativamente o que es conectable operativamente con un depósito 104, adaptado para contener una o preferiblemente una pluralidad de entidades biológicas sólidas 1000, a través de dicho extremo proximal 101. El ejemplo que se muestra en la figura 1 representa esquemáticamente una configuración del dispositivo de la invención; sin embargo, se entenderá que se pueden contemplar desviaciones de este diseño, en las que, por ejemplo, más de un canal 100 o elementos del mismo (extremo proximal 101, extremo distal 103 y/o cuerpo alargado 102) pueden estar presentes, para permitir, por ejemplo, ejecutar análisis multiplexados en paralelo. Además, el depósito 104 no forma parte del dispositivo descrito, y se muestra en el presente ejemplo solo con fines de claridad.

A efectos de claridad, en el contexto de la presente descripción, la expresión "conectado operativamente", así como "conectable operativamente", refleja una relación funcional entre los diversos componentes del dispositivo de la invención, es decir, el término significa que los componentes están correlacionados de manera que realizan una función designada. La "función designada" puede cambiar dependiendo de los diferentes componentes involucrados en la conexión; por ejemplo, la función designada de un depósito 104 conectado o conectable operativamente con un canal 100 es la de permitir la carga de una entidad biológica desde el depósito 104 al canal 100. Un experto en la técnica entendería y derivaría fácilmente cuáles son las funciones designadas de todos y cada uno de los componentes del sistema de la invención, así como sus correlaciones, en base a la presente descripción.

En un ejemplo, una fuente de presión está conectada operativamente con el canal 100, el depósito 104 o ambos de manera que genera una presión impulsora sobre los mismos para permitir que la entidad biológica 1000 fluya por todo el canal 100. La presión aplicada puede ser una presión positiva, es decir, cuando la presión aplicada aumenta la presión de fluido en el depósito interno 104 y/o el canal 100, o una presión negativa, es decir, cuando la presión aplicada disminuye la presión de fluido en el depósito interno 104 y/o el canal 100, como en el caso de una succión. Medios adecuados para alterar la presión dentro del dispositivo son bombas o microbombas externas o integradas, combinaciones de fuerzas capilares y mecanismos electrocinéticos, una jeringa o simplemente presión hidrostática. En este último caso, no se necesitan fuentes de presión si todo el dispositivo se encuentra bajo el agua, como se detallará más adelante en una realización de la invención.

Una vez cargada en el canal 100 a través de su extremo proximal 101, una entidad biológica 1000 puede fluir por todo el cuerpo 102 hasta el extremo distal 103 del canal, en donde está dispuesto un selector 200. En cualquier punto a lo largo del cuerpo 102 del canal 100, y preferiblemente en su extremo distal 103, están dispuestos medios 300 para detectar y analizar un parámetro óptico de dicha entidad biológica 1000. En particular, dichos medios 300 comprenden un sensor óptico y una fuente de luz adaptada para revelar un parámetro óptico de la entidad biológica 1000, tal como transparencia u opacidad, reflectancia, contorno, morfología, fluorescencia o cualquier combinación de los anteriores. Por ejemplo, se puede disponer una fuente de luz para iluminar una parte del canal 100, tal como su cuerpo 102 o su extremo distal 103, por donde se hace fluir una entidad biológica 1000, y se pueden disponer medios de detección de luz para capturar la luz dispersada, absorbida o reflejada por dicha entidad biológica 1000. En este ejemplo, se puede utilizar cualquier fuente de luz para iluminar el canal 100 del dispositivo; la misma incluye, aunque no de manera limitativa, luz blanca, luz fluorescente, luz infrarroja, luz ultravioleta, luz láser, luz LED e incluso luz solar. Un ejemplo simple se basa en el dispositivo descrito conectado con una cámara como medios de detección para, p. ej., evaluar la morfología o el contorno de la entidad biológica 1000: en esta alternativa, incluso la luz solar puede constituir unos medios de iluminación adecuados. Otra alternativa sencilla es la conexión de una fuente de luz LED con un sensor de fotodiodo para, p. ej., evaluar la transparencia/opacidad de la entidad biológica 1000. Como resultará evidente, en el ejemplo descrito, al menos la parte del canal 100 en donde la entidad biológica 1000 se ilumina mediante los medios 300 está hecha sustancialmente de un material transparente, tal como plástico polimérico transparente o vidrio. Sin embargo, como se describirá con más detalle más adelante, los medios 300 para detectar y analizar un parámetro óptico de una entidad biológica 1000 se pueden ubicar en otro lugar, tal como, por ejemplo, en correspondencia con el selector 200.

Como se ha mencionado, un selector 200 está conectado operativamente con el extremo distal 103 del canal 100 y con dichos medios 300 para detectar y analizar un parámetro óptico. El selector 200 está diseñado para acomodar una entidad biológica 1000, preferiblemente una cada vez, y funciona de modo que puede pasar de una posición de reposo a una posición de clasificación, preferiblemente, al menos dos posiciones de clasificación, en base a la detección y análisis de dicho parámetro óptico de la entidad biológica 1000. En algunos ejemplos, el selector 200 está conectado operativamente con un accionador de motor 400, tal como un accionador giratorio o un accionador lineal, que permite el desplazamiento del selector 200 desde una primera posición de reposo A hasta al menos una segunda y tercera posiciones de cambio A' y A". La posición de reposo A corresponde a la posición en donde el selector 200 se encuentra en correspondencia con el punto de salida del extremo distal 103 del canal 100, para acomodar una entidad biológica 1000 que fluye desde el mismo. En ese

momento, los medios 300 para detectar y analizar un parámetro óptico de dicha entidad biológica 1000 detectan y elaboran uno o una pluralidad de parámetros ópticos para asignarle (o asignarles) un valor, y, por lo tanto, para operar el accionador de motor 400 para desplazar dicho selector 200 a una segunda o tercera posición de cambio A' o A". A modo de ejemplo, la transparencia/opacidad de una entidad biológica 1000 se detecta primero y luego se elabora mediante los medios 300 para asignar un valor de transparencia a la entidad biológica bajo examen. Se establece un "umbral de transparencia" para las entidades biológicas 1000, de manera que, si no se alcanza dicho umbral, los medios 300 operarán el accionador de motor 400 para desplazar el selector 200 a una segunda posición A', mientras que, si se alcanza o supera el umbral, los medios 300 operarán el accionador de motor 400 para desplazar el selector 200 a una tercera posición A".

En algunos ejemplos, los medios 300 para detectar y analizar un parámetro óptico comprenden además un dispositivo informático conectado operativamente al selector 200, comprendiendo dicho dispositivo informático un programa informático que comprende instrucciones para:

- analizar el parámetro óptico detectado, comparando opcionalmente dicho parámetro óptico con datos de referencia; y

- cambiar el selector 200 desde una posición de reposo hasta una posición de clasificación, o una de al menos dos posiciones de clasificación A' o A", en base al análisis de dicho parámetro óptico de la entidad biológica 1000.

En el ejemplo que se muestra en la figura 1, el dispositivo comprende además un soporte 600 adaptado para alojar el accionador de motor 400 y/o para actuar como el piso del selector 200, que se fabrica en esta realización como un pequeño recipiente formado por una pared continua y con aberturas superior e inferior. El accionador de motor 400 está conectado a un soporte de selector de dos brazos 401 que permite al selector 200 deslizarse a lo largo de una dirección longitudinal en dos posiciones de clasificación A' o A", en el dibujo ubicadas a la izquierda y a la derecha con respecto a la posición de reposo A. En un ejemplo alternativo, las posiciones de clasificación A' o A" pueden ubicarse en dirección no opuesta, aunque en dos ubicaciones diferentes a lo largo de la misma dirección de clasificación. En este ejemplo, sería suficiente un soporte de selector de un brazo individual que tiene dos posiciones de clasificación. Sin embargo, también podría usarse un brazo móvil individual en el contexto de posiciones de clasificación opuestas (p. ej., izquierda y derecha). Además, se entenderá que son contemplables más de dos posiciones de clasificación del selector 200 en el contexto de la invención, por ejemplo, cuando se evalúan una pluralidad de parámetros ópticos o umbrales de los mismos.

En una realización de la presente invención que se muestra en la figura 2, el selector 200 está realizado como una rueda dentada que comprende una pluralidad de ranuras adaptadas para alojar la entidad biológica 1000. En este caso, el accionador de motor 400 es preferiblemente un accionador giratorio que puede operar un giro en el sentido de las agujas del reloj o en el sentido contrario a las agujas del reloj del selector 200 para permitir la dispensación de la entidad biológica 1000. En las realizaciones representadas, la entidad biológica 1000 se libera tras la clasificación en depósitos de recepción 500 o 501, que en una realización pueden estar incluidos en el dispositivo, ubicados ventajosamente en correspondencia con cada una de las posiciones de clasificación del selector 200, tal como una segunda y tercera posiciones de clasificación A' o A".

El dispositivo de la invención ha sido especialmente concebido y creado para clasificar entidades biológicas de interés para fines de investigación. En este contexto, las entidades biológicas preferidas según las necesidades y objetivos del dispositivo de la invención son óvulos, cigotos, embriones, tejidos animales o una parte de los mismos o larvas. Sin embargo, el dispositivo es adecuadamente adaptable para funcionar con granos, semilla o pólenes. En particular, los óvulos, cigotos, embriones o larvas preferidos son los derivados de un insecto, un anfibio o un pez tal como el pez cebra *Danio rerio*, *C. elegans*, *Drosophila melanogaster*, o *Xenopus laevis*. No obstante, es posible clasificar óvulos, cigotos o embriones de mamíferos, tales como ratones, ratas o primates, según la necesidad o las circunstancias.

Dado que las entidades biológicas suelen estar típicamente dispersas en un medio fluido, tal como medio de cultivo o fluidos fisiológicos, en algunas realizaciones, el dispositivo está adaptado para clasificar una entidad biológica sólida dispersa en un medio fluido. Para ello, los elementos del dispositivo están conformados y fabricados de tal manera que las entidades biológicas puedan fluir junto con el medio dispersante, y los materiales utilizados deberán permitir el fácil flujo de las entidades suspendidas sin mayor restricción fluidica. En particular, el canal 100 en el que se cargan y hacen fluir las entidades biológicas debe tener un tamaño y una forma personalizados para operar en un régimen fluídico normal clásico; dicho canal tiene un diámetro comprendido típicamente entre 0,5 y 20 mm, tal como entre 0,5 y 10 mm o entre 0,5 y 5 mm, que es un intervalo que típicamente se adapta al tamaño de las entidades biológicas de interés.

Además, en algunas realizaciones, el dispositivo está adaptado para funcionar bajo el agua, es decir, está hecho sustancialmente de materiales compatibles con operaciones bajo el agua y/o está fabricado para facilitar operaciones bajo el agua. Por ejemplo, los medios 300 o partes de los mismos, el selector 200 y/o el accionador 400, así como cualesquiera piezas conectadas o conectables, están concebidos y fabricados para

funcionar en ambientes o condiciones bajo el agua; a modo de ejemplo, las estructuras de soporte pueden estar hechas de materiales sólidos, tales como plástico sólido, vidrio o metales, para permitir la colocación del dispositivo, p. ej., en el fondo de un tanque para peces, y/o los medios 300, así como el accionador 400, se pueden encapsular para evitar daños funcionales relacionados con el agua. Estos aspectos del dispositivo de la invención facilitan las operaciones de clasificación de entidades biológicas tales como huevos o larvas de pez cebra, que normalmente se liberan y crecen en el agua y al mismo tiempo se hunden.

En una realización, el dispositivo según la invención se puede conectar con un elemento robótico adaptado para permitir la distribución de las entidades biológicas en un depósito después del proceso de clasificación para formar un sistema robótico. Con este fin, un elemento robótico puede ser, por ejemplo, una plataforma móvil adaptada para acomodar una placa de múltiples pocillos, moviéndose dicha plataforma según el proceso de clasificación para tener, p. ej., una entidad biológica dispensada para cada pocillo de una placa de múltiples pocillos. En el contexto de un sistema robótico, un dispositivo que tiene una sola posición de clasificación del selector 200 podría ser suficiente para un proceso de clasificación eficiente: el selector puede cambiar de una posición de reposo a la posición de clasificación al detectar un parámetro óptico de la entidad biológica, y las muestras pueden disponerse o elegirse gracias al movimiento de la plataforma móvil, seleccionando racionalmente el depósito receptor para cualquier entidad biológica analizada.

La figura 3A muestra una vista isométrica de una realización implementada de la parte de selección del dispositivo según la invención. Como se muestra en la figura, el dispositivo comprende un canal 100 que tiene un extremo proximal en forma de embudo 101 diseñado para facilitar la canalización de una pluralidad de entidades biológicas 1000 en el cuerpo de canal 102. El cuerpo de canal 102 tiene un aspecto cuasi cilíndrico con un diámetro medio de 2 mm y una sección transversal redonda del extremo distal 103 de 1,2 mm, con un diseño para alojar y canalizar fácilmente huevos o larvas de pez cebra dispersos en un medio líquido sin sufrir mayores inconvenientes de presión o capilaridad. El selector 200 está realizado como una rueda dentada que comprende una pluralidad de ranuras 201, en esta realización, conectadas fluidicamente entre las mismas a través de canales posteriores 202 ubicados hacia dentro en el interior del selector 200 para facilitar flujos fluidicos durante operaciones de clasificación. Un accionador giratorio 400 está conectado operativamente al selector de rueda dentada 200 a través de una caja de engranajes 402 que actúa sobre un eje principal 403 para operar el giro de las ranuras 201, tal como se muestra en una vista en sección en la figura 3B. La figura 4 muestra una vista en explosión de la parte de selección del dispositivo según la misma realización.

La figura 5 representa una vista lateral en sección según una realización de la invención. En la realización mostrada, la parte de selección descrita anteriormente está ubicada dentro de un bastidor principal 700 que comprende dos depósitos 500 y 501 divididos por un separador 701, tal como se muestra mejor en una vista superior de esta realización del dispositivo (Figura 6). Una cámara 301 está ubicada dentro del dispositivo, de modo que su eje óptico es paralelo al eje de giro del accionador 400 y perpendicular al eje longitudinal del canal 100. La cámara 301 está conectada con un dispositivo informático (no se muestra) para formar un sistema 300 para detectar y analizar un parámetro óptico de una entidad biológica 1000, actuando dicho sistema sobre el selector 200 para clasificar dichas entidades 1000. En una realización particular, el sistema de detección y análisis 300 que comprende una cámara 301 está adaptado para operar el selector 200 en base a la transparencia de las larvas de pez cebra, para clasificar óvulos fertilizados y no fertilizados. De esta manera, los óvulos fertilizados se pueden dispensar en un depósito dedicado 500, mientras que los óvulos no fertilizados podrían eliminarse de un análisis adicional tras su disposición en un depósito de eliminación 501.

A modo de ejemplo, después de disponer un óvulo de pez cebra 1000 dentro de una ranura 201 del selector 200, la detección y el análisis de la transparencia de los óvulos de pez cebra 1000 se lleva a cabo mediante un sistema 300 que comprende una cámara y un dispositivo informático. En este punto, el selector 200 está en una posición de reposo A. En base al examen de un umbral de transparencia, el sistema de detección y análisis 300 acciona el accionador 400 induciendo un giro en el sentido de las agujas del reloj o en el sentido contrario a las agujas del reloj del selector 200, para que este último pueda cambiar de la posición de reposo A a las posiciones de clasificación A' en el sentido de las agujas del reloj o a una posición de clasificación A'' en el sentido contrario a las agujas del reloj, permitiendo la primera la clasificación de los óvulos de pez cebra transparentes (fertilizados) en el depósito de recogida 500, y permitiendo la segunda la clasificación de los óvulos de pez cebra opacos (no fertilizados) en un depósito de eliminación 501.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para clasificar mecánicamente una entidad biológica sólida, en donde la clasificación se basa en un parámetro óptico de dicha entidad biológica, comprendiendo dicho dispositivo:
 - 5 - un canal (100) que tiene un extremo proximal (101), un extremo distal (103) y un cuerpo alargado (102) entre los mismos, pudiendo conectarse operativamente dicho extremo proximal (101) con un depósito (104) que comprende dicha entidad biológica;
 - medios (300) para detectar y analizar un parámetro óptico de dicha entidad biológica; y
 - 10 - un selector (200) conectado operativamente con el extremo distal (103) de dicho canal (100) y con dichos medios (300) para detectar y analizar un parámetro óptico, teniendo dicho selector (200) forma de rueda dentada que comprende una pluralidad de ranuras (201) conformadas para acomodar la entidad biológica, en donde el selector (200) puede cambiar de una posición de reposo a una posición de clasificación, preferiblemente al menos dos posiciones de clasificación, en base a la detección y análisis de dicho parámetro óptico de la entidad biológica;caracterizado por que dichos medios (300) están adaptados para realizar detección y análisis cuando dicha entidad biológica está dispuesta dentro de una ranura (201).
- 15 2. Dispositivo según la reivindicación 1, en donde el mismo está adaptado para clasificar una entidad biológica sólida dispersa en un medio fluido.
3. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, en donde dicha entidad biológica es un óvulo, un cigoto, un embrión, un grano, un polen, un tejido animal o una parte del mismo o una larva.
- 20 4. Dispositivo según cualquier reivindicación anterior, en donde el canal (100) tiene un diámetro comprendido entre 0,5 y 20 mm.
5. Dispositivo según la reivindicación 3, en donde el óvulo, el cigoto, el embrión o la larva deriva de un insecto, un anfibio o un pez.
- 25 6. Dispositivo según cualquier reivindicación anterior, en donde los medios (300) para detectar y analizar un parámetro óptico de dicha entidad biológica comprenden un sensor óptico y una fuente de luz.
7. Dispositivo según cualquier reivindicación anterior, en donde el parámetro óptico de dicha entidad biológica comprende transparencia, reflectancia, contorno, morfología, fluorescencia o cualquier combinación de los anteriores.
- 30 8. Dispositivo según cualquier reivindicación anterior, que comprende además un depósito receptor en correspondencia con cada posición de clasificación del selector.
9. Dispositivo según cualquier reivindicación anterior, en donde los medios (300) para detectar y analizar un parámetro óptico comprenden además un dispositivo informático conectado operativamente al selector (200), comprendiendo dicho dispositivo informático un programa informático que comprende instrucciones para:
 - 35 - analizar el parámetro óptico detectado, comparando opcionalmente dicho parámetro óptico con datos de referencia; y
 - cambiar el selector (200) de una posición de reposo a una posición de clasificación o una de al menos dos posiciones de clasificación en base al análisis de dicho parámetro óptico de la entidad biológica.
- 40 10. Dispositivo según cualquier reivindicación anterior, en donde dichas ranuras (201) están conectadas entre sí fluidicamente a través de canales posteriores (202) dispuestos hacia dentro en el interior del selector (200) para facilitar flujos fluidicos durante operaciones de clasificación.
11. Sistema robótico que comprende el dispositivo de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende un elemento robótico adaptado para permitir la distribución de la entidad biológica en un depósito después de un proceso de clasificación.

Figura 1

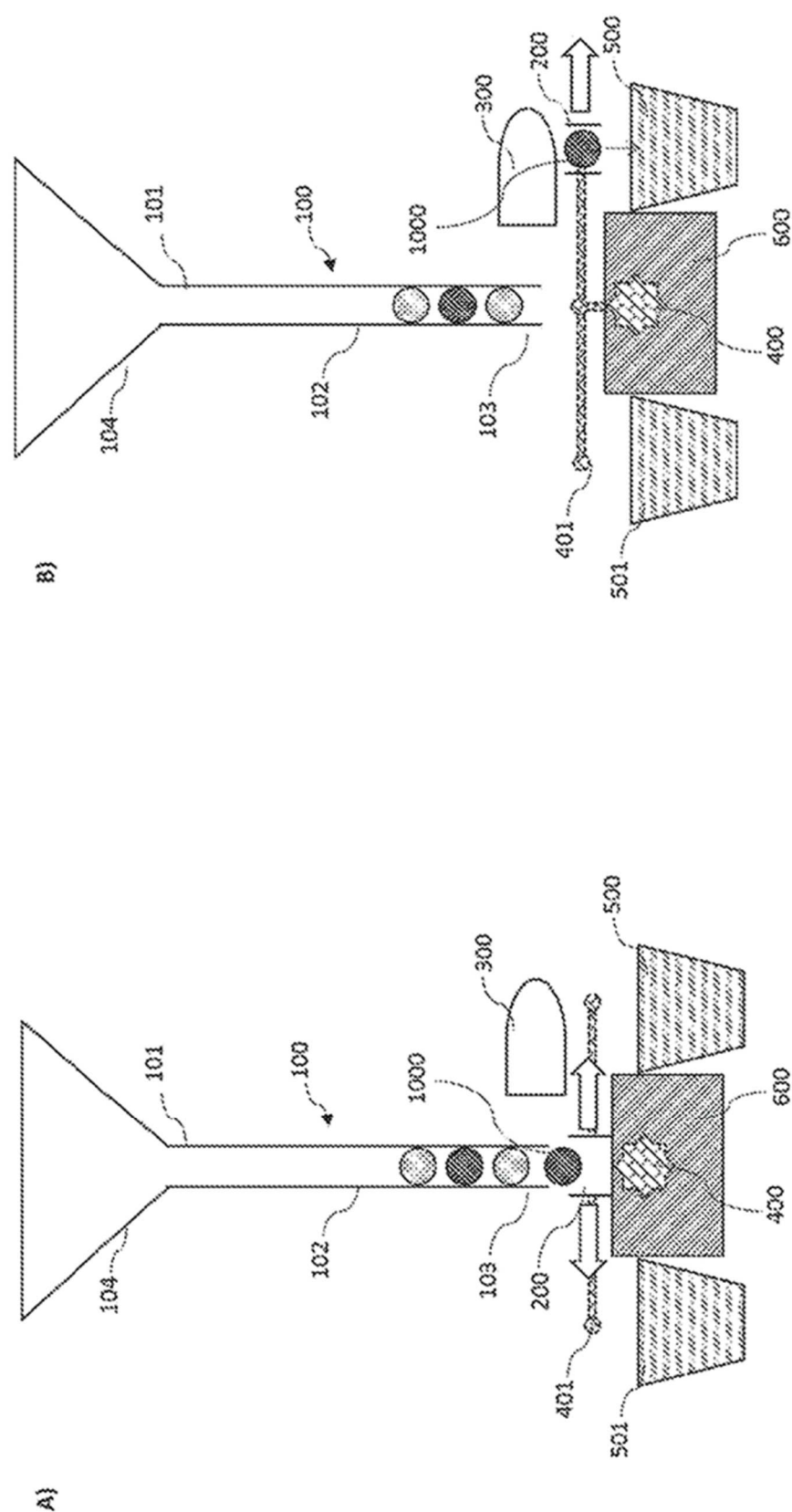


Figura 2

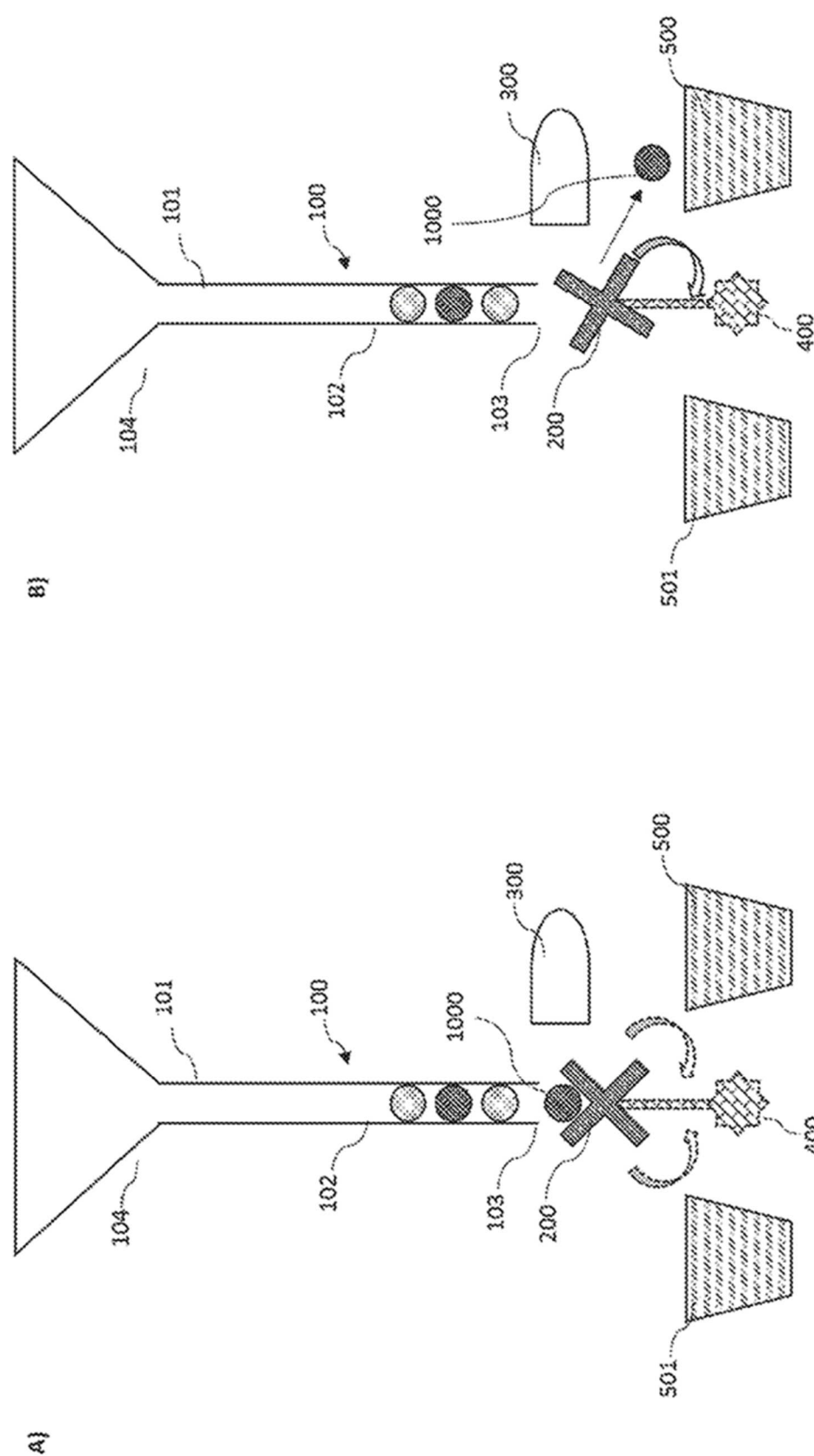


Figura 3

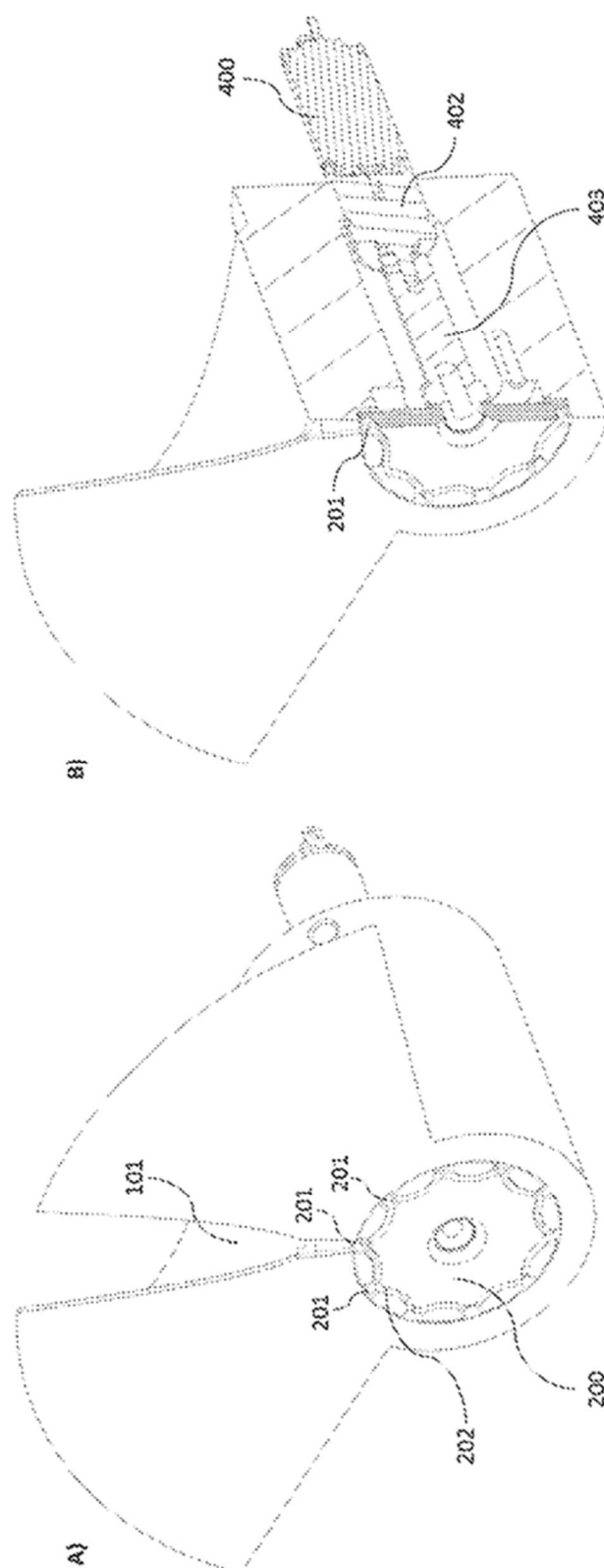


Figura 3

Figura 4

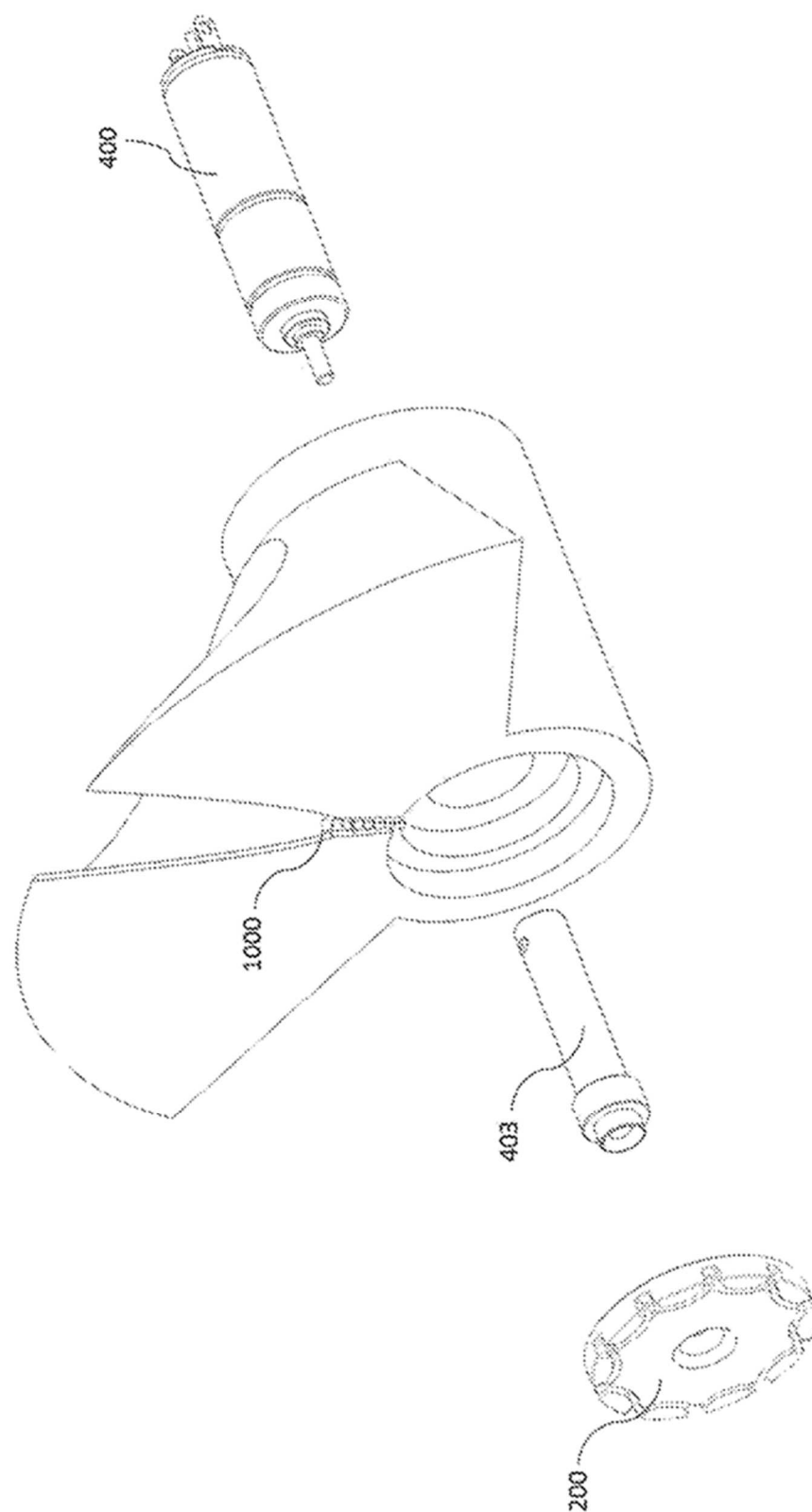
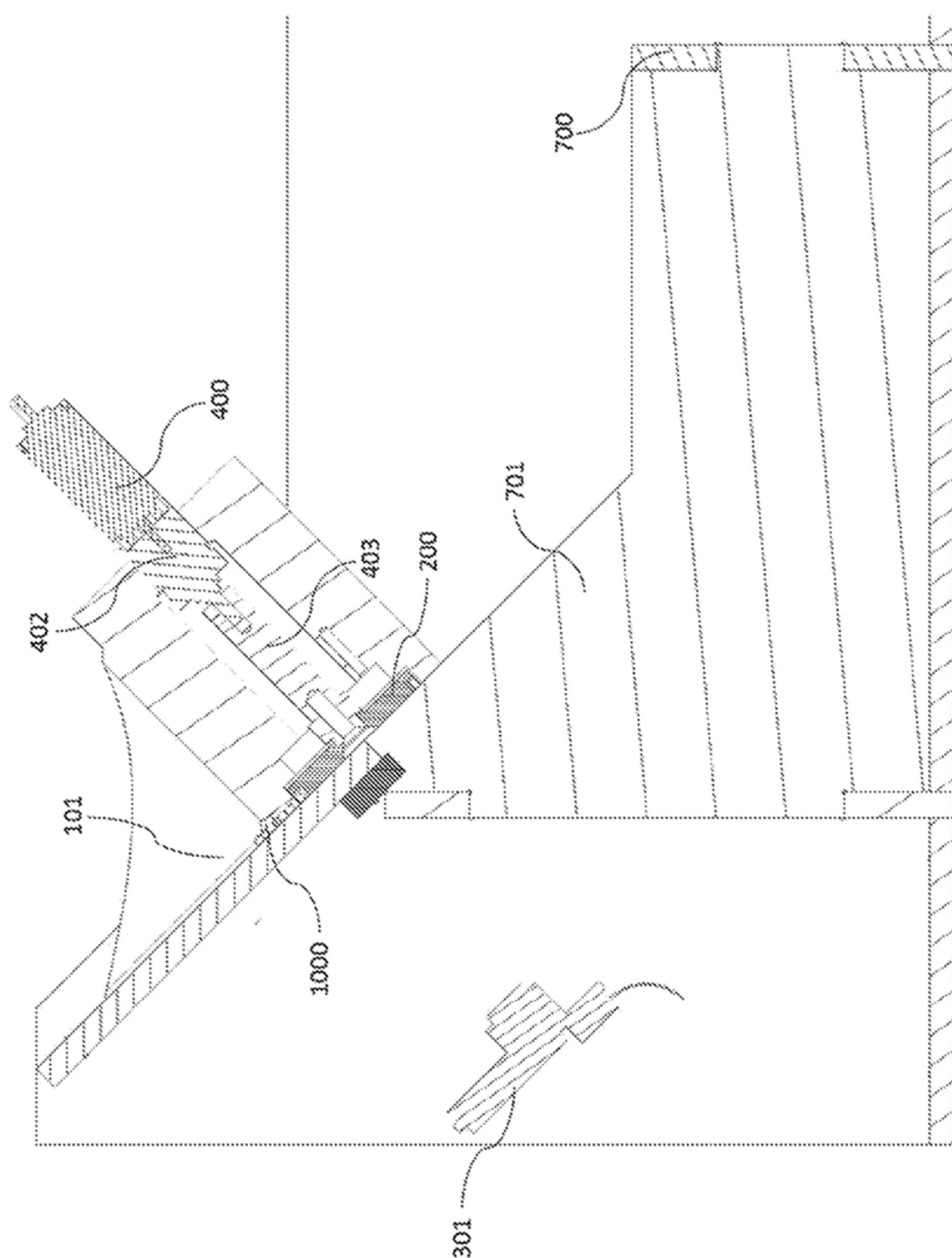


Figura 5



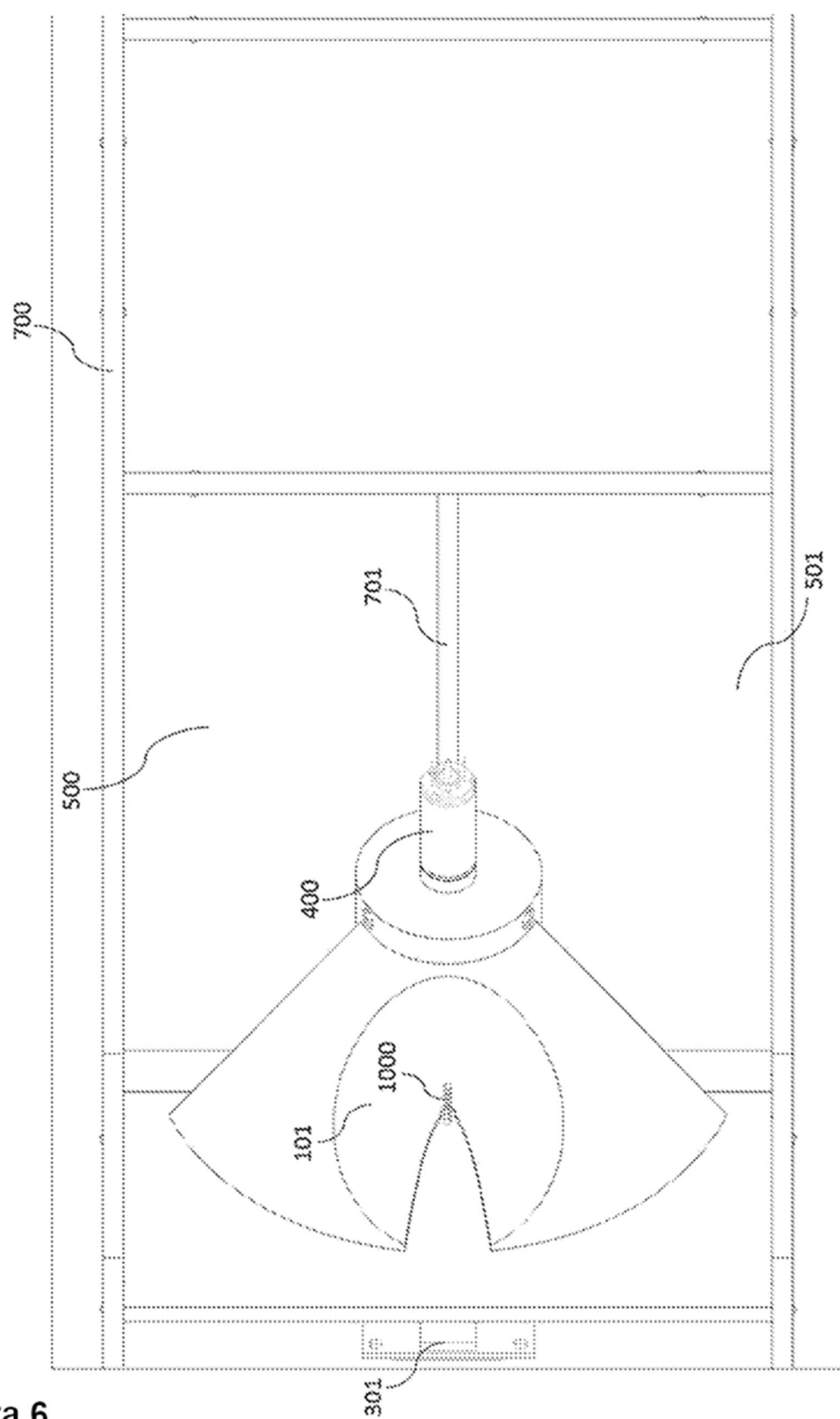


Figura 6