

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la  
Propiedad Intelectual  
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional  
18 de agosto de 2016 (18.08.2016) WIPO | PCT

(10) Número de Publicación Internacional  
WO 2016/128604 A1

- (51) Clasificación Internacional de Patentes:  
G01N 1/06 (2006.01) B25J 7/00 (2006.01)
- (21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/ES2016/070078
- (22) Fecha de presentación internacional:  
10 de febrero de 2016 (10.02.2016)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:  
P201530181  
13 de febrero de 2015 (13.02.2015) ES
- (71) Solicitantes: UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA [ES/ES]; Centro de Transferencia de Tecnología, Camino de Vera, s/n, 46022 València (ES). CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) [ES/ES]; C/ Serrano 117, 28006 Madrid (ES).
- (72) Inventores: MORATAL PÉREZ, David; Centro de Transferencia de Tecnología, Camino de Vera s/n, 46022 València (ES). QUIÑONES COLOMER, Darío Rubén; Centro de Transferencia de Tecnología, Camino de Vera s/n, 46022 València (ES). PÉREZ FEITO, Ricardo; Centro de Transferencia de Tecnología, Camino de Vera s/n, 46022 València (ES). GARCÍA MANRIQUE, Juan Antonio; Centro de Transferencia de Tecnología, Camino de Vera s/n, 46022 València (ES). CANALS GAMONEDA, Santiago; Instituto de Neurociencias, Avenida Santiago Ramón y Cajal S/N, 03550 San Juan de Alicante (Alicante) (ES).
- (74) Mandatario: CUETO PRIEDE, Sénida; C/ Los Madroños 23, 28891 Velilla de San Antonio (ES).
- (81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: AUTOMATIC POSITIONING DEVICE FOR THREE-DIMENSIONAL TISSUE CUTTING IN A SAMPLE, VIBRATOME COMPRISING SAME AND USE THEREOF

(54) Título : DISPOSITIVO AUTOMÁTICO DE POSICIONAMIENTO PARA CORTE DE TEJIDO TRIDIMENSIONAL EN UNA MUESTRA, VIBRÁTOMO QUE LO COMPRENDE Y SU USO

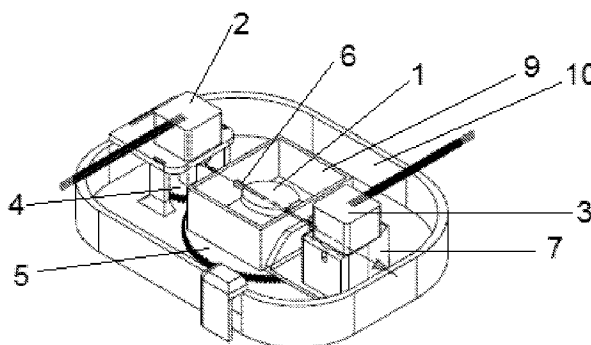


FIG. 1

(57) Abstract: The invention relates to an automatic positioning device for three-dimensional tissue cutting, in a live or fixed tissue sample, characterised in that it comprises at least: a platform (1) for depositing the tissue samples; an electromechanical subsystem comprising at least a first motor (2) and first mechanical means that move the platform (1) in an angular manner; and a second motor (3) and second mechanical means that incline the platform (1). The invention also relates to a vibratome comprising said positioning device, and to the use thereof in histology, anatomy, neuroscience, biochemistry or pharmacology.

(57) Resumen: Dispositivo automático de posicionamiento para corte de tejido tridimensional en una muestra, vibrátomo que lo comprende y su uso La presente invención se refiere a un dispositivo automático de posicionamiento para corte de tejido tridimensional, en una muestra de tejido viva o fijada caracterizado porque al menos comprende: - una plataforma (1) para depositar las muestras

[Continúa en la página siguiente]



WO 2016/128604 A1



CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publicada:**

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

---

de tejido - un subsistema electromecánico que al menos comprende - un primer motor (2) y primeros medios mecánicos que imprimen un movimiento angular a la plataforma(1) - un segundo motor (3) y segundos medios mecánicos que imprimen un movimiento de inclinación de la plataforma (1) a un vibrátomo que comprende este dispositivo de posicionamiento, y a su uso en histología, anatomía, neurociencia, bioquímica o farmacología.

**Dispositivo automático de posicionamiento para corte de tejido tridimensional  
en una muestra, vibrátomo que lo comprende y su uso**

**DESCRIPCIÓN**

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un dispositivo automático de posicionamiento para  
corte de tejido tridimensional en muestras vivas o fijadas, que tiene aplicación,  
10 principalmente, en histología y neurociencia, también en anatomía, bioquímica o  
farmacología.

**Estado de la técnica anterior a la invención**

15 En las últimas dos décadas se ha incrementado el uso de vibrátomos (micrótomos de  
vibración) en los laboratorios de neurociencias con el fin de simplificar la complejidad  
tridimensional del sistema objeto de estudio e investigar la conectividad anatomo-  
funcional de grupos neuronales seleccionados. Estos equipos permiten obtener cortes  
relativamente gruesos (cientos de  $\mu\text{m}$  de espesor) sin tener que procesar el tejido en  
20 medios de inclusión; por lo tanto, permiten realizar estudios electrofisiológicos in vitro  
en los que investigar las propiedades eléctricas y el acoplamiento funcional entre las  
poblaciones neuronales, así como los detalles finos de la conectividad estructural.  
El problema de los vibrátomos comerciales existentes es que permiten realizar cortes  
en un único plano definido por el usuario, no pudiendo variar el plano una vez iniciado  
25 el corte. Además, estos planos están sujetos a las direcciones axiales y longitudinales.  
Esto se traduce en la imposibilidad física de estudiar la mayor parte de las vías de  
procesamiento de información, por ejemplo, en el cerebro, por su anatomía curva. Es  
decir, un vibrátomo convencional en la mayoría de los casos secciona los tractos  
axonales entre las poblaciones neuronales que se pretendía estudiar. Por este motivo,  
30 los vibrátomos convencionales reducen su campo de utilidad a estudios fisiológicos  
entre poblaciones neuronales locales, en marcada contradicción con los  
requerimientos de una estructura tridimensional como el cerebro, constituido por  
circuitos neuronales altamente distribuidos por territorios físicamente distantes y que  
se comunican por conexiones de largo recorrido.

35

La solicitud de patente WO2013095972 A2 (SAKURA FINETEK USA INC) divulga un aparato que tiene un dispositivo para seccionar muestras, el cual tiene un mecanismo accionable para el corte de secciones de una muestra y un soporte de muestra que es accionable para sujetar dicha muestra. Además tiene un sistema de accionamiento  
5 acoplado con el soporte de la muestra para accionar el propio soporte; y un elemento de vaivén acoplado al sistema de accionamiento para proveer de movimiento vertical al soporte de la muestra. El elemento de vaivén se mueve alternativamente en un ángulo de rotación de menos de 180°. Este es uno de los sistemas según el cual, y a diferencia del sistema propuesto en la presente invención, no se puede cambiar la  
10 orientación de la muestra una vez iniciado el proceso de corte, y tampoco se pueden realizar cortes siguiendo tractos. Otras diferencias con la presente invención y que hacen que ésta sea especialmente ventajosa son, entre otras, que según WO2013095972:

- la muestra tiene que estar fijada en resina, parafina o materiales similares por  
15 lo que no puede cortar tejidos vivos como en el caso de la presente invención,
- la muestra no puede estar sumergida en líquido tamponado,
- el dispositivo no permite mantener una muestra a temperatura inferior a la temperatura ambiente,

y no puede realizar cortes siguiendo tractos, al menos de tejido vivo.

20

El documento EP0386840 A (LAB ELECTRONIQUE PHILIPS) divulga un dispositivo micromanipulador para desplazar un soporte de muestra con varios grados de libertad con la ayuda de elementos de desplazamiento fijados a fuelles elásticos que participan en la transmisión del movimiento a través de una pared. El soporte de la muestra  
25 puede realizar al menos un movimiento de traslación y al menos un movimiento de rotación mediante varillas que transmiten el movimiento. El soporte puede también rotar no sólo en el plano en el que se encuentra, sino también en un plano inclinado respecto al primero. Sin embargo, a pesar de estos grados de libertad, este sistema solo permite la rotación de la muestra como se indica en la figura 3 del documento. Y  
30 además tampoco permite realizar cortes siguiendo tractos. Por lo tanto mantiene también diferencias con el sistema de la presente invención que hacen que ésta sea claramente ventajosa respecto al dispositivo descrito en EP0386840.

US5461953 A (MCCORMICK J B) divulga un método y un aparato para cortar  
35 secciones de tejido para generar tiras con cualquier secuencia de sección deseada. Es un micrótopo tridimensional que permite el movimiento relativo de la muestra de

tejido y la cuchilla en tres dimensiones. También puede incluir una cuchilla con capacidad de avanzar en dirección longitudinal y proporcionar un borde de corte fresco a la zona de corte del micrótopo. Además de que el aparato divulgado en US5461953 no es un dispositivo de posicionamiento que se puede incluir en un vibrátomo como se describe en la presente invención, el microtomo divulgado en US5461953 genera movimiento relativo únicamente si la muestra esta endurecida, en caso contrario no puede cortarla.

Otras ventajas del dispositivo de la presente invención son: que según US5461953

- la muestra tiene que estar fijada en resina, parafina o materiales similares por lo que no puede cortar tejidos vivos.
- la muestra no puede estar sumergida en líquido tamponado.
- no permite mantener una muestra a temperatura inferior a la temperatura ambiente.

Mientras que en el caso de la presente invención la muestra puede estar viva, se puede sumergir en líquido tamponado y puede estar a temperatura inferior a la temperatura ambiente.

DE10258555 A1 (LEICA Mikrosysteme GMBH) divulga un método de preparación en un micrótopo o ultra-micrótopo en el que antes de la inserción de la muestra en el micrótopo se determina la distancia entre la superficie cortada de la muestra y el soporte de la muestra y se transmite al micrótopo. También se divulga un método para medir la trayectoria que permite detectar cambios en la distancia mencionada, y un sistema de posicionamiento automático de una muestra en un micrótopo.

Otros documentos relacionados con dispositivos para seccionar muestras son DE 202004007658 que divulga un micrótopo de vibración para preparar muestras blandas, y tiene elementos de alineación circulares o prismáticos para la plataforma de soporte del contenedor de vibración y el porta-cuchilla, dispuestos en paralelo y perpendiculares a la dirección de vibración. O el documento US 7954406 B2, que se refiere a un dispositivo para medir la desviación vertical de la cuchilla vibrante durante la operación de corte en un micrótopo de vibración.

Los vibrátomos convencionales presentan marcadas limitaciones que ralentizan el avance de la neurociencia. La estructura tridimensional del cerebro está constituida por circuitos neuronales altamente distribuidos por territorios físicamente distantes y que se comunican por conexiones de largo recorrido. Los estudios dirigidos a entender

la función de los circuitos cerebrales conducirán a un mejor entendimiento del cerebro como sistema y con ello de sus patologías, y necesitan información electrofisiológica de dichas poblaciones neuronales distribuidas. Estos estudios no se pueden realizar hoy en día con los vibrátomos existentes por lo que todas las posibilidades  
5 experimentales se reducen a estudios *in vivo*, con un rendimiento menor por su complejidad, y en los que tanto los registros múltiples, como las manipulaciones causales (farmacológicas y/o genéticas) necesarias para una comprensión profunda del cerebro son limitados.

10 No existe en la actualidad un sistema de posicionamiento tridimensional de muestras, y de modo preferente, para vibrátomo, que permita presentar la muestra al micrótopo de vibración (vibrátomo) para que éste la corte en un plano cualquiera de forma automática. No existe tampoco, por tanto, ningún sistema automático que permita  
15 variar el plano en el que la muestra es presentada al micrótopo para que éste realice un corte siguiendo una trayectoria cualquiera en el espacio.

A la vista de lo anterior, es necesario encontrar una solución al problema de la limitación de los planos de corte de los vibrátomos conocidos.

Con el sistema de posicionamiento de la presente invención se puede elegir cualquier  
20 plano de orientación para presentar una muestra a un vibrátomo con una orientación cualquiera previamente establecida atendiendo a un plano seleccionado en un entorno tridimensional virtual. También es posible variar la posición y orientación de la muestra a medida que el vibrátomo está seccionándola, de forma que es posible realizar un corte tomográfico de un plano cualquiera que siga una trayectoria tridimensional curva.  
25 Gracias a ello, los circuitos de largo recorrido podrán ser diseccionados y estudiados en experimentos electrofisiológicos *in vitro*.

### Descripción detallada de la invención

30 La presente invención se refiere a un dispositivo automático de posicionamiento para corte de tejido tridimensional en una muestra de tejido vivo o fijado, caracterizado porque al menos comprende:

- una plataforma (1) para depositar las muestras de tejido
- un subsistema electromecánico que al menos comprende
  - 35 ○ un primer motor (2) y primeros medios mecánicos que imprimen un movimiento angular a la plataforma (1)

- o un segundo motor (3) y segundos medios mecánicos que imprimen un movimiento de inclinación de la plataforma (1).

El dispositivo automático de posicionamiento de la invención comprende además medios electrónicos de control del movimiento del subsistema electromecánico.

5

Según realizaciones preferentes los primeros medios mecánicos son dos engranajes dentados, concretamente un primer engranaje (4) y un segundo engranaje (5).

Según realizaciones preferentes adicionales los segundos medios mecánicos son un tercer engranaje de tipo tornillo sinfín y un cuarto engranaje dentado. El tercer engranaje de tipo tornillo sinfín está implementado en el extremo del eje de plataforma (6), en el lado cercano al segundo motor (3) y el cuarto engranaje dentado está fijado al eje del segundo motor (3). El engrane de los segundos medios mecánicos se produce en el interior de la base del segundo motor (7).

15

En una realización especialmente preferida del dispositivo, el subsistema electromecánico comprende un primer motor y primeros medios mecánicos que son dos engranajes dentados que transmiten el movimiento angular a la plataforma (1) en la que se depositan las muestras de tejido, un segundo motor (3) y segundos medios mecánicos que comprenden un tercer engranaje de tipo tornillo sinfín (11) y un cuarto engranaje dentado (12) que dota a la plataforma (1) anteriormente mencionada de la posibilidad de modificar la inclinación con la que la cuchilla del vibrátomo (8) penetra en el tejido, consiguiendo con estos dos grados de libertad la posibilidad de realizar cortes histológicos multidireccionales. El cuarto engranaje o rueda dentada (12) y el tornillo sinfín (11) son los elementos que proporcionan la unión de engranajes y que a su vez produce el movimiento angular del soporte de la muestra.

25

El dispositivo de la invención comprende dos recipientes (9, 10) con unas dimensiones aproximadamente iguales a la de los recipientes que se emplean habitualmente en los micrótomos de vibración, pero modificados para disponer del subsistema electromecánico descrito.

30

De acuerdo con la invención, de los dos recipientes mencionados uno de ellos, recipiente interior (9), es una cubeta contenida en el interior del segundo recipiente, recipiente exterior (10), que es por lo tanto de mayor tamaño que la cubeta. Esta cubeta se fabrica de un material que tenga unas buenas propiedades de transmisión

35

térmica. La cubeta se puede fabricar de cualquier material metálico o aleación, que no se oxide con facilidad, tal como Ti, Cr, Va, Mo, Mn, Ni, Al, acero inoxidable. De modo preferente la cubeta es de acero inoxidable, aluminio, alumide (nylon relleno con polvo de aluminio) para conseguir la máxima transmisión térmica entre el hielo que hay que disponer (si la muestra no está fijada) en el recipiente exterior (10) de mayor tamaño, y la solución que mantiene el tejido. Además dicha cubeta es la misma tanto para cortar tejido vivo, como muestras fijadas.

El recipiente exterior (10) debe ser de tales dimensiones y características que permita contener hielo y mantener así una temperatura inferior a la temperatura ambiente. Según realizaciones particulares, el recipiente exterior (10), de mayor tamaño que la cubeta, y la plataforma (1) de la cubeta están compuestos por un material plástico para reducir el peso del dispositivo y que también resista el agua. Un material adecuado puede ser el metacrilato, PLA (ácido poliláctico) o ABS (acrilonitrilo- butadieno- estireno); preferentemente están compuestos por plástico de nylon blanco con un acabado mate.

El dispositivo automático de posicionamiento comprende además preferentemente dos finales de carrera que permiten posicionar la plataforma (1) en el punto de origen cada vez que se realiza un corte, de modo que se optimiza dicho corte y se pueda obtener la trayectoria deseada.

Los engranajes y eje se pueden fabricar de diversos materiales, que pueden ser metales que no se oxiden o cualquier tipo de polímero resistente a la humedad. Según realizaciones particulares están realizados en plástico, siendo recomendable también su fabricación en aluminio. También pueden ser engranajes disponibles en el mercado.

Los engranajes se pueden fabricar de distintos modos, ya sea por corte láser, mediante sinterizado láser selectivo o mediante cualquier sistema de fabricación que permita un alto detalle. Según realizaciones particulares los engranajes son fabricados por sinterizado mediante laser (SLS).

Según una realización particular adicional, los engranajes están cortados mediante un cortador láser en metacrilato.

El dispositivo automático de posicionamiento según la invención también puede comprender medios para el control del subsistema electromecánico:



- medios para crear prototipos electrónicos de código abierto,
- medios de control de dos motores paso a paso que accionan los engranajes del dispositivo.

5 Estos medios de control del sistema electromecánico están compuestos según una realización particular por:

- Arduino Mega (plataforma de creación de prototipos electrónicos de código abierto)
- Ramps 1.4
- un conjunto de *drivers* para controlar motores A4988

10 - dos motores paso a paso (*steppers*) que accionan los engranajes anteriormente descritos, por ejemplo 2 motores paso a paso nema 14 de la marca Pololu.

El firmware de Arduino se limita a recibir órdenes recibidas por puerto USB enviadas desde MATLAB.

15 La secuencia de control se produce de la siguiente forma:

- En MATLAB se selecciona la trayectoria o posición deseada. MATLAB, a través del puerto USB del PC, le transmite a Arduino la secuencia de comandos a ejecutar.

20 - Arduino, a través de la shield RAMPS 1.4, le manda la cantidad de pulsos y dirección necesarios a los drivers A4988. Éstos últimos son los encargados de traducir estos pulsos a polarizaciones de las bobinas de los motores paso a paso.

Mediante la combinación de estos motores, el sistema de control empleado y los  
25 engranajes utilizados, se consiguen resoluciones angulares y de inclinación de milésimas de grado. La velocidad del sistema de control va configurada en función de la velocidad de avance a la que se configure el dispositivo.

Todo el dispositivo puede ser alimentado mediante un transformador universal de 12V  
30 y 2A, tal que dicha fuente de alimentación de 12 V proporciona el intervalo de tensión necesaria para el sistema Arduino y los *steppers*.

Además, la presente invención se refiere también a un aparato, preferentemente un  
vibrátomo (8) que comprende un dispositivo de posicionamiento tal como se ha  
35 definido.

La presente invención se refiere también al uso del dispositivo automático de posicionamiento definido, o de un aparato que comprenda el dispositivo de posicionamiento, tal como un vibrátomo (8), en histología, neurociencia, anatomía o bioquímica. Las muestras para el corte con el dispositivo de la invención pueden ser muestras vivas o fijadas.

Según realizaciones particulares, el uso del dispositivo automático de posicionamiento o del vibrátomo (8) que comprenda este dispositivo, comprende:

- disponer un líquido tamponado en la cubeta
- disponer hielo en el recipiente exterior de mayor tamaño
- sumergir una muestra de tejido viva en el líquido tamponado contenido en la cubeta,
- posicionar dicha muestra para ser seccionada,
- iniciar el proceso de corte y realizar cambios de orientación mientras el corte se está efectuando según la necesidades del usuario.

Según realizaciones particulares el uso del dispositivo automático de posicionamiento, o del vibrátomo (8), tal como han sido definidos, comprende realizar cortes de la corteza cerebral paralelos a capas definidas de la misma, en cerebros extraídos de animales pequeños de laboratorio

Según realizaciones particulares adicionales las muestras de tejido vivo son muestras conectadas funcionalmente y localizadas en distintas regiones cerebrales.

El dispositivo automático de posicionamiento de la invención, o el aparato que incluya dicho dispositivo, preferentemente un vibrátomo (8), según la invención permite realizar cortes de la corteza cerebral paralelos a capas definidas de la misma.

La mayor ventaja del sistema es que permite cortes en tejido vivo con cambios de orientación mientras el corte se está efectuando.

Las ventajas de la presente invención son entre otras:

- Posicionamiento automático de una muestra viva o fijada en cualquier orientación del espacio para su corte en vibrátomo. Dicho posicionamiento se realiza gracias a un entorno virtual informatizado que facilita dicha operación al usuario,

- ajuste dinámico y sincronizado de la orientación 3D de la muestra gracias al dispositivo de la presente invención, para posibilitar el corte tomográfico de un plano cualquiera, incluidos aquellos que sigan una trayectoria tridimensional curva.
- permite mediante la combinación de dos motores seguir trayectorias de corte multidimensionales predefinidas (a través de una imagen de resonancia magnética, por ejemplo),
- gracias a su capacidad para cortar muestras de tejido vivo siguiendo trayectorias curvas, esta invención permite la preparación de rodajas de tejido para estudios electrofisiológicos en poblaciones neuronales conectadas funcionalmente y localizadas en distintas regiones cerebrales. Dicha aplicación es inédita a día de hoy y se le ha llamado “electrofisiología de circuitos”,
- gracias a su capacidad para cortar muestras en cualquier plano del espacio tiene aplicación en cualquier campo de la histología con muestras fijadas de todo tipo. En el ámbito de la neurociencia y para muestras fijadas esta capacidad permite: seccionar complejos tractos de fibras nerviosas para estudiar su densidad, localización de sus proyecciones, estructura 3D. Además, permitirá realizar cortes de tejido seleccionando un plano por su interés anatómico y no por limitaciones o restricciones impuestas por el sistema de corte, por ejemplo, cortes de la corteza cerebral paralelos a capas definidas de la misma serían fáciles de realizar, algo imposible en la actualidad,
- accesibilidad para que el usuario capture los cortes histológicos con facilidad,
- permite que la muestra esté sumergida en líquido tamponado para mantenerla viva,
- el dispositivo permite que la muestra esté a una temperatura baja gracias a que soporta que la muestra esté rodeada de hielo,
- funciona tanto con muestras fijadas como con tejido vivo,
- ofrece la posibilidad de anclaje a un vibrátomo comercial, como por ejemplo el de Leica Biosystems, Modelo VT 1200S.

### Breve descripción de las figuras.

30

Figura 1. Detalle del dispositivo de posicionamiento 3D desarrollado.

Sistema de posicionamiento 3D compuesto por los siguientes elementos:

1. Base para la muestra que se pretende cortar.
2. Motor paso a paso para movimiento de rotación.
3. Motor paso a paso para movimiento de inclinación.
4. Rueda dentada motriz para rotación.

35

5. Rueda dentada secundaria para rotación.
6. Eje trasmisor de inclinación.
7. Caja de engranajes para inclinación.
9. Recipiente interior en el cual se deposita el líquido tamponado.
- 5 10. Recipiente exterior en el cual se contiene el hielo.

Figura 2. Representación en 3D del vibrátomo comercial VT 1200S de Leica Biosystems.

Figura 3. Muestra una vista superior del dispositivo de posicionamiento 3D.

- 10 La Figura 3a muestra una vista a través del corte por la línea H-H de la figura 3  
Se ilustra en la figura la unión del sinfín (11) y la rueda dentada (12) para conformar el engranaje que proporciona inclinación a la muestra.

La Figura 3b muestra una vista a través del corte por la línea F-F de la figura 3.

Se representa cómo está unida la rueda dentada (12) al eje de transmisión (6).

- 15 La Figura 3c muestra una vista a través del corte por la línea G-G de la figura 3.  
En la parte derecha del sistema se encuentra la unión de engranajes que proporciona movimiento angular al soporte para la muestra. Esta unión está compuesta por un sinfín (11) y una rueda dentada (12). El movimiento es transmitido gracias al motor paso a paso (3) el cual es solidario al sinfín (11).  
20 Esta transmisión se puede ver más claramente en la figura 3a.

Figura 4. Muestra una vista frontal del dispositivo, una vista desde el elemento 5 de la figura 1.

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo automático de posicionamiento para corte de tejido tridimensional, en una muestra de tejido viva o fijada caracterizado por que al menos comprende:
- 5
- una plataforma (1) para depositar las muestras de tejido
  - un subsistema electromecánico que al menos comprende
    - un primer motor (2) y primeros medios mecánicos que imprimen un movimiento angular a la plataforma (1)
    - un segundo motor (3) y segundos medios mecánicos que imprimen un
- 10 movimiento de inclinación de la plataforma (1).
2. Dispositivo automático de posicionamiento según la reivindicación 1, caracterizado por que comprende además medios electrónicos de control del movimiento del subsistema electromecánico.
- 15
3. Dispositivo automático de posicionamiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que los primeros medios mecánicos son dos engranajes dentados (4, 5).
- 20
4. Dispositivo automático de posicionamiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que los segundos medios mecánicos son un tercer engranaje tipo tornillo sinfín y un cuarto engranaje dentado.
5. Dispositivo automático de posicionamiento según la reivindicación 1, caracterizado
- 25 por que comprende dos finales de carrera que permiten posicionar la plataforma (1) en el punto de origen cada vez que se realiza un corte.
6. Dispositivo automático de posicionamiento según una de las reivindicaciones anteriores caracterizado por que comprende además dos recipientes (9, 10), de los
- 30 cuales uno es un recipiente interior que es una cubeta y un recipiente exterior de mayor tamaño que la cubeta, estando ésta contenida en él.
7. Dispositivo automático de posicionamiento según la reivindicación 6, caracterizado por que la cubeta está fabricada en aluminio o alumide.

8. Dispositivo automático de posicionamiento según la reivindicación 6, caracterizado por que dicho recipiente de mayor tamaño que la cubeta y la plataforma (1) de la cubeta están fabricados con plástico de nylon blanco con un acabado mate.
- 5 9. Dispositivo automático de posicionamiento según una de las reivindicaciones anteriores caracterizado por que comprende además medios electrónicos de control del subsistema mecánico que son:
- medios para crear prototipos electrónicos de código abierto,
  - medios de control de dos motores paso a paso que accionan los engranajes.
- 10 10. Un dispositivo automático de posicionamiento según la reivindicación 9 caracterizado por que dichos medios para crear prototipos electrónicos de código abierto son un Arduino, y los medios de control de los dos motores paso a paso que accionan los engranajes son *drivers*.
- 15 11. Un vibrátomo que comprende un dispositivo de posicionamiento como el definido en una de las reivindicaciones 1 a 10.
- 20 12. Uso del dispositivo automático de posicionamiento definido en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 10, o del vibrátomo definido en la reivindicación 11, en histología, anatomía, bioquímica, farmacología o neurociencia.
- 25 13. Uso según la reivindicación 12, caracterizado por que comprende:
- disponer un líquido tamponado en la cubeta
  - disponer hielo en el recipiente de mayor tamaño
  - sumergir una muestra de tejido viva en el líquido tamponado contenido en la cubeta y
  - posicionar dicha muestra para ser seccionada,
  - iniciar el proceso de corte y realizar cambios de orientación mientras el corte
- 30 se está efectuando el corte según la necesidades del usuario.
14. Uso según la reivindicación 13, caracterizado por que comprende seccionar una muestra fijada.

15. Uso según la reivindicación 13, caracterizado por que comprende seccionar muestras de tejido vivo conectadas funcionalmente y localizadas en distintas regiones cerebrales.
- 5 16. Uso del dispositivo automático de posicionamiento o del vibrátomo (8), según la reivindicación 13, caracterizado por que comprende realizar cortes de la corteza cerebral paralelos a capas definidas de la misma, en cerebros extraídos de animales pequeños de laboratorio.

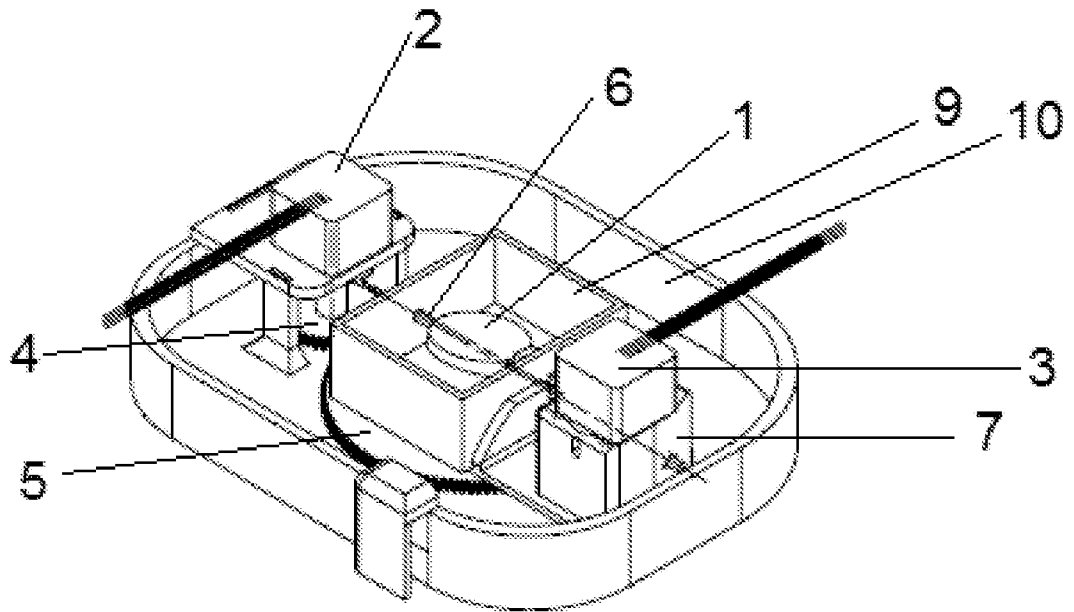


FIG. 1

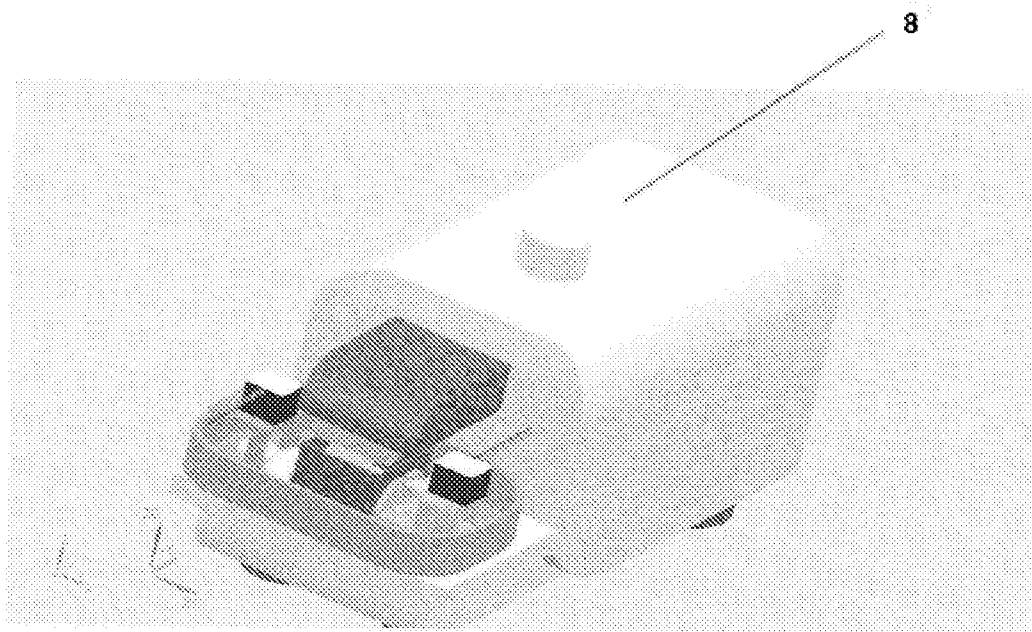


FIG 2



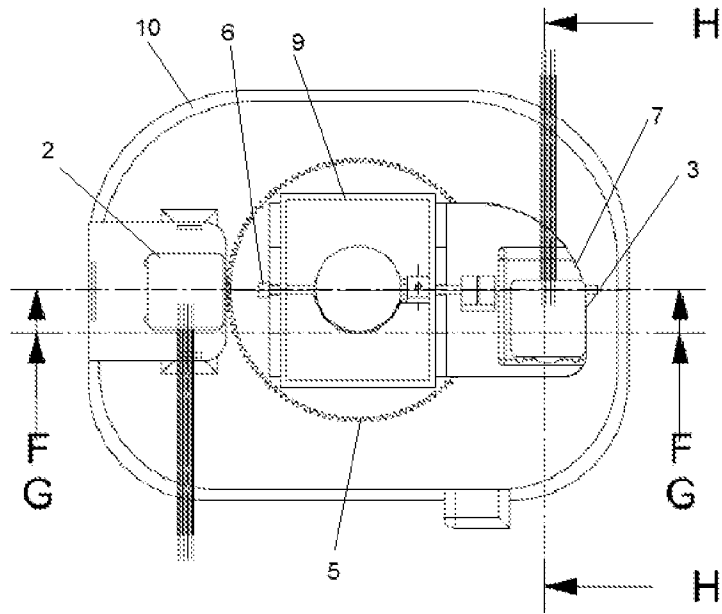


FIG. 3

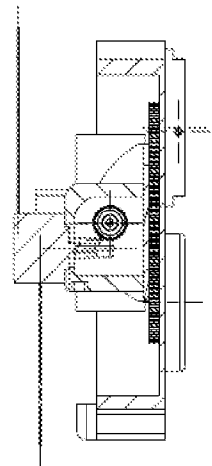


FIG. 3a

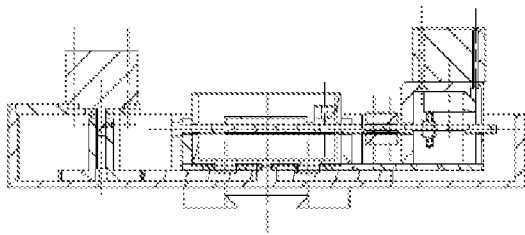


FIG. 3b

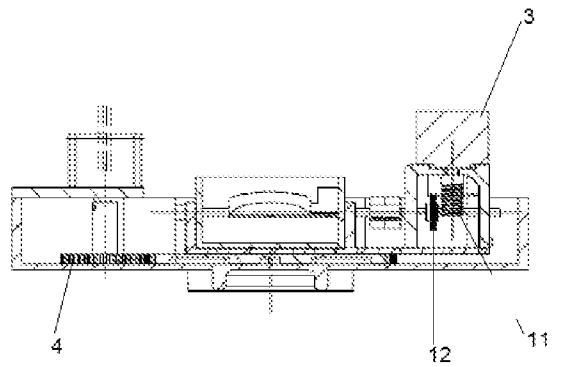


FIG. 3c

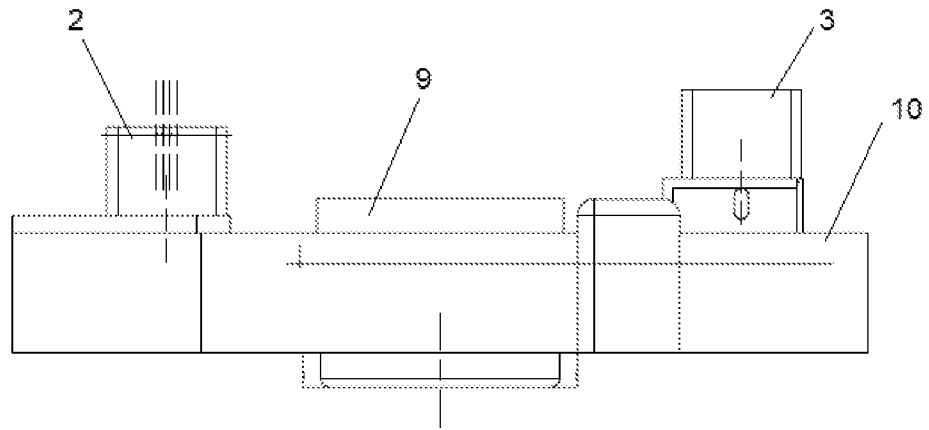


FIG. 4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/ES2016/070078

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**G01N1/06** (2006.01)

**B25J7/00** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N, B25J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2008072722 A1 (TANKI SIEGFRIED ET AL.) 27/03/2008, Abstract from DataBase WPI. Retrieved from EPOQUE; figure 1.	1-4,11
Y	US 3700228 A (PEALE ROBERT E) 24/10/1972, column 2, lines 14 - 26; column 4, lines 22 - 38; column 3, lines 52 - 65; claim 1; figure 2,	1-4,11
A	WO 2012172024 A1 (VIB VZW ET AL.) 20/12/2012, Abstract from DataBase WPI. Retrieved of EPOQUE; claim 1; figures 3 - 4.	1-4
A	CN 102632436 A (YUMIN HAO HAO YUMIN) 15/08/2012, Abstract from DataBase WPI. Retrieved of EPOQUE; figure 3,	1-4

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search  
29/04/2016

Date of mailing of the international search report  
**(03/05/2016)**

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer  
J. Sánchez de Pablos

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS  
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)  
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3498458

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/ES2016/070078

C (continuation).		DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 2732001 A1 (DITTES GUENTER) 01/02/1979, Abstract from DataBase WPI. Retrieved of EPOQUE	5
A	RU 2435152 C1 (FEDERAL NOE G OBRAZOVATEL NOE UCHREZHDENIE VYSSHEGO PROFESSIONAL NOGO OBRAZOVANIJA SARATOVSKIJ G AGR) 27/11/2011, Abstract from DataBase WPI. Retrieved from EPOQUE	5

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2016/070078

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.: **x n°: 12-16**  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
**The only solution to the problem of allowing the cutting plane to be varied once cutting has begun (description, lines 21-23) is the automatic positioning device. The description does not indicate any USE-based solution that solves the stated problem.**
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2016/070078

## Information on patent family members

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO2012172024 A1	20.12.2012	US2014137715 A1 EP2721390 A1	22.05.2014 23.04.2014
----- US2008072722 A1	----- 27.03.2008	US2011197731 A1 US8104389 B2 US7954406 B2 JP2008058316 A JP5022832B B2 GB2441426 A GB2441426 B DE102006041208 A1 DE102006041208 B4	18.08.2011 31.01.2012 07.06.2011 13.03.2008 12.09.2012 05.03.2008 06.08.2008 06.03.2008 07.08.2014
----- US3700228 A	----- 24.10.1972		
----- CN102632436 A	----- 15.08.2012	NONE	11.06.2014
----- RU2435152 C1	----- 27.11.2011	CN102632436B B	
----- DE2732001 A1	----- 01.02.1979	NONE	
		----- NONE -----	

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº  
PCT/ES2016/070078

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**G01N1/06** (2006.01)

**B25J7/00** (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

**G01N, B25J**

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

**EPODOC, INVENES**

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
Y	US 2008072722 A1 (TANKI SIEGFRIED ET AL.) 27/03/2008, Resumen de la base de datos WPI. Recuperado de EPOQUE; figura 1.	1-4,11
Y	US 3700228 A (PEALE ROBERT E) 24/10/1972, columna 2, líneas 14 - 26; columna 4, líneas 22 - 38; columna 3, líneas 52 - 65; reivindicación 1; figura 2,	1-4,11
A	WO 2012172024 A1 (VIB VZW ET AL.) 20/12/2012, Resumen de la base de datos WPI. Recuperado de EPOQUE; reivindicación 1; figuras 3 - 4.	1-4
A	CN 102632436 A (YUMIN HAO HAO YUMIN) 15/08/2012, Resumen de la base de datos WPI. Recuperado de EPOQUE; figura 3,	1-4

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&amp;" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.  
**29/04/2016**

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.  
**03 de mayo de 2016 (03/05/2016)**

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional  
**OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS**  
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)  
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado  
J. Sánchez de Pablos  
Nº de teléfono 91 3498458

**INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud internacional nº

PCT/ES2016/070078

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	DE 2732001 A1 (DITTES GUENTER) 01/02/1979, Resumen de la base de datos WPI. Recuperado de EPOQUE	5
A	RU 2435152 C1 (FEDERAL NOE G OBRAZOVATEL NOE UCHREZH DENIE VYSSHEGO PROFESSIONAL NOGO OBRAZOVANIJA SARATOVSKIJ G AGR) 27/11/2011, Resumen de la base de datos WPI. Recuperado de EPOQUE	5



**Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (continuación del punto 2 de la primera hoja)**

Este informe de búsqueda internacional no se ha realizado en relación a ciertas reivindicaciones según el artículo 17.2.a) por los siguientes motivos:

1.  Las reivindicaciones n<sup>os</sup>:  
se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:
  
2.  Las reivindicaciones n<sup>os</sup>: **12-16**  
se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:

**La solución al problema de poder variar el plano de corte una vez iniciado el corte (descripción, líneas 21-23) es únicamente el dispositivo automático de posicionamiento. En la descripción no se indica ninguna solución basada en el USO que resuelva el problema planteado.**

3.  Las reivindicaciones n<sup>os</sup>:  
son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4(a).

**Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (continuación del punto 3 de la primera hoja)**

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1.  Dado que todas las tasas adicionales requeridas han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.
2.  Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda podrían serlo sin realizar un esfuerzo que justifique tasas adicionales, esta Administración no requirió el pago de tasas adicionales.
3.  Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones n<sup>os</sup>:
4.  Ninguna de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda de tipo internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones n<sup>os</sup>:

**Indicación en cuanto a la protesta**

- Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante y, en su caso, el pago de una tasa de protesta.
- Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante, pero la tasa de protesta aplicable no se pagó en el plazo establecido para ello.
- El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta.

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/ES2016/070078

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO2012172024 A1	20.12.2012	US2014137715 A1 EP2721390 A1	22.05.2014 23.04.2014
-----	-----	-----	-----
US2008072722 A1	27.03.2008	US2011197731 A1 US8104389 B2 US7954406 B2 JP2008058316 A JP5022832B B2 GB2441426 A GB2441426 B DE102006041208 A1	18.08.2011 31.01.2012 07.06.2011 13.03.2008 12.09.2012 05.03.2008 06.08.2008 06.03.2008 07.08.2014
-----	-----	DE102006041208 B4	-----
US3700228 A	24.10.1972		
-----	-----	-----	-----
CN102632436 A	15.08.2012	NINGUNO	11.06.2014
-----	-----	-----	-----
RU2435152 C1	27.11.2011	CN102632436B B	
-----	-----	-----	-----
DE2732001 A1	01.02.1979	NINGUNO	
-----	-----	NINGUNO	-----