

RIASSUNTO

Una forma di attuazione della presente invenzione rende disponibile una testina di perfusione per un sistema di microapplicazione, la quale comprende una pluralità di
5 raccordi cilindrici ricavati in corpo monolitico e singolarmente atti ad accoppiarsi con un rispettivo tubo di convogliamento di un fluido da applicare, ed altrettanti condotti di erogazione ricavati all'interno di detto corpo monolitico e singolarmente atti a porre in comunicazione un
10 rispettivo raccordo cilindrico con una rispettiva luce di uscita.

[fig. 3]

DESCRIZIONE

del Brevetto Italiano per Invenzione Industriale dal titolo:

"TESTINA DI PERFUSIONE PER UN SISTEMA DI MICROAPPLICAZIONE"

a nome

- 5
- **LEALI Francesco** residente a **Modena (MO)**
 - **PINI Fabio** residente a **Scandiano (RE)**
 - **VELLANI Vittorio** residente a **Carpi (MO)**

* * * * *

10 La presente invenzione riguarda in generale un sistema di microperfusione e, più specificatamente, una testina di perfusione per le sostanze che vengono erogate attraverso il suddetto sistema di microapplicazione/microperfusione.

Come è noto, il termine microperfusione indica generalmente
15 l'applicazione ad un tessuto organico di una determinata sostanza in un veicolo liquido, tipicamente nell'ambito di una attività sperimentale. Una delle attività sperimentali nelle quali si utilizza un sistema di microperfusione è ad esempio il cosiddetto *Calcium Imaging*, che consiste nel
20 misurare la variazione della concentrazione di calcio in una coltura di cellule neuronali a seguito della loro perfusione con specifiche sostanze, ad esempio farmaci, al fine di valutare se queste sostanze inducano risposte fisiologiche. Il calcio è infatti un messaggero cellulare universale,
25 coinvolto nella regolazione specifica e selettiva di molti

processi cellulari, come la contrazione muscolare, la fecondazione, la trasmissione sinaptica, la divisione e la differenziazione cellulare. Il livello di calcio aumenta durante la stimolazione, torna al valore di riposo una volta
5 che viene eliminato lo stimolo. Lo studio delle variazioni di calcio è dunque importante perché esso dà un segnale biologico.

Durante questi esperimenti di *Calcium Imaging*, le cellule vengono poste su un vetrino e visualizzate mediante un
10 microscopio a fluorescenza, il quale è collegato ad una telecamera che rileva le immagini dal microscopio e le trasferisce ad un computer. Una volta completato il set-up dell'esperimento, le cellule vengono esposte alle soluzioni delle sostanze da testare. Durante gli esperimenti si
15 studiano soluzioni diverse con diversi programmi di stimolazione. È opportuno sottolineare che ad ogni sostanza è normalmente associato un tempo di perfusione diverso.

Per eseguire queste attività, il sistema di microperfusione comprende di norma una pluralità di serbatoi, ciascuno dei
20 quali contiene una delle sostanze da applicare alle cellule. Ad ogni serbatoio è associata una valvola, tipicamente una elettrovalvola, atta a consentire o impedire la fuoriuscita della relativa soluzione. Dalla mandata di ciascuna valvola diparte un tubo di convogliamento,
25 tipicamente un tubo flessibile di dimensioni capillari,

dalla cui estremità libera la soluzione viene erogata sulle cellule. Lungo ciascun capillare possono essere eventualmente previsti dei mezzi meccanici in grado di regolare la portata della soluzione in uscita. Normalmente, 5 le estremità libere di tutti questi capillari vengono disposti complanari e paralleli l'uno a fianco dell'altro, e vengono resi solidali tra loro in modo da definire sostanzialmente un unico dispositivo di applicazione. Questo dispositivo di applicazione viene associato ad un 10 micromanipolatore, ossia ad uno strumento meccanico, che può essere ad azionamento manuale, idraulico o elettrico, il quale permette di posizionare il dispositivo di applicazione in modo estremamente preciso nello spazio. In questo modo, durante il set-up del sistema, il dispositivo di 15 applicazione viene posizionato in corrispondenza delle cellule, facendo in modo che le estremità libere dei capillari arrivino parallelamente in prossimità del vetrino ma senza toccarlo. Questo movimento può essere controllato con il microscopio e regolato in modo manuale, ad esempio 20 mediante manopole che attuano lo spostamento del dispositivo di applicazione rispettivamente lungo due assi orizzontali e lungo l'asse verticale. Una volta completato il set-up, le soluzioni vengono applicate alle cellule una alla volta, mediante l'apertura delle rispettive elettrovalvole. Poiché 25 le estremità dei capillari sono tra loro affiancate, dopo

ogni fase di perfusione, il dispositivo di applicazione deve essere leggermente spostato in modo da allinearlo correttamente con le cellule sul vetrino. Questo micro-spostamento è generalmente attuato da un sistema di
5 movimentazione automatico, il quale può essere asservito ad un piccolo motore elettrico collegato ad un controller del sistema.

In alcuni esperimenti, può essere necessario che una delle soluzioni da testare venga applicata sulla coltura cellulare
10 ad una determinata temperatura, ad esempio per verificare la diversa reazione delle cellule al caldo e al freddo. Questa necessità richiede che il sistema di microperfusione sia equipaggiato con almeno un dispositivo di termoregolazione, il quale sia in grado di raffreddare o riscaldare detta
15 soluzione a seconda delle necessità. Comunemente, questo dispositivo termoregolatore comprende una serpentina che viene collegata in serie con il capillare associato alla soluzione da termoregolare. La serpentina è posta in relazione di scambio termico con un elemento Peltier, ad
20 esempio a diretto contatto con quest'ultima, la quale è in grado di agire come una pompa di calore che riscalda la serpentina o alternativamente la raffredda, condizionando di conseguenza la temperatura della soluzione che fluisce al suo interno. L'elemento Peltier è normalmente gestito dal
25 controller del sistema, sulla base dei segnali provenienti

da uno o più sensori di temperatura, ad esempio termocoppie, che vengono posizionati in corrispondenza del dispositivo iniettore e/o in corrispondenza della serpentina, al fine di monitorare costantemente la temperatura della soluzione. In questo modo, ad esempio mediante un opportuno sistema di controllo in retroazione, il controller è vantaggiosamente in grado di regolare l'alimentazione elettrica dell'elemento Peltier in modo da ottenere una prefissata temperatura di target per la soluzione. Allo stesso modo, il controller è anche in grado di modificare la temperatura della soluzione seguendo precise funzioni di variazione (rampe) preimpostate.

Un inconveniente di questo sistema di microperfusione consiste nel fatto che l'assemblaggio del dispositivo di applicazione, attraverso il raggruppamento ed il fissaggio di tutti i capillari, risulta generalmente un'operazione molto lenta e laboriosa che deve essere ripetuta ogni volta che vengono cambiate le sostanze nell'ambito di un nuovo esperimento.

Un altro inconveniente consiste nel fatto che il dispositivo di applicazione così assemblato risulta talvolta non perfettamente solido e instabile, rischiando di compromettere l'efficienza di tutto il sistema di microperfusione.

Alla luce di queste considerazioni, uno scopo della presente

invenzione è perciò quello di risolvere o quantomeno ridurre significativamente i menzionati inconvenienti dei dispositivi attualmente noti. Un altro scopo è quello di raggiungere il menzionato obiettivo nell'ambito di una
5 soluzione semplice, razionale e dal costo il più possibile contenuto.

Tali ed altri scopi sono raggiunti dalle caratteristiche dell'invenzione come riportate nelle rivendicazioni indipendenti. Le rivendicazioni dipendenti delineano aspetti
10 preferiti e/o particolarmente vantaggiosi dell'invenzione.

Entrando nel dettaglio, una forma di attuazione della presente invenzione rende disponibile una testina di perfusione comprendente una pluralità di raccordi cilindrici ricavati in corpo monolitico e singolarmente atti ad
15 accoppiarsi con un rispettivo tubo di convogliamento di un fluido da iniettare, ed altrettanti condotti di erogazione ricavati all'interno di detto corpo monolitico e singolarmente atti a porre in comunicazione un rispettivo raccordo cilindrico con una rispettiva luce di uscita.

20 Grazie a questa soluzione, la testina di perfusione svolge vantaggiosamente la stessa funzione che nella tecnica nota veniva svolta dall'assiemaggio dei capillari, ma in modo più efficiente ed affidabile, in quanto la testina di perfusione risulta molto più semplice da movimentare, ed in quanto
25 permette di ridurre significativamente i tempi di

attrezzaggio del sistema di microperfusionione durante il set-up degli esperimenti.

Secondo un aspetto dell'invenzione, le luci di uscita possono essere disposte tra loro adiacenti e allineate lungo
5 uno stesso bordo frontale del corpo monolitico della testina.

Questo aspetto ha il vantaggio di richiedere spostamenti minimi della testina di perfusione per poter allineare ciascuna luce di uscita con la coltura di cellule da
10 trattare. In particolare, esso ha il vantaggio che detto spostamento deve avvenire solo in direzione orizzontale, senza richiedere nessun ulteriore spostamento in senso verticale.

Un altro aspetto dell'invenzione prevede che detto bordo
15 frontale può essere inclinato in modo da definire uno spigolo ad angolo acuto con una superficie inferiore del corpo monolitico.

Questa conformazione a becco migliora l'erogazione delle sostanze da ciascuna luce di uscita.

20 Secondo un altro aspetto dell'invenzione, detto spigolo può essere solcato da una pluralità di intagli posizionati in modo alternato rispetto alle luci di uscita.

Questa soluzione fa sì che il flusso efferente da ciascuna luce di uscita rimanga confinato precisamente in
25 corrispondenza di detta luce, senza allargarsi lungo lo

spigolo della testina di perfusione, e quindi che venga erogato con precisione sulle cellule da testare.

Secondo un altro aspetto dell'invenzione, i condotti di erogazione ricavati nella testina di perfusione possono
5 essere tra loro complanari. Inoltre, i condotti di erogazione possono essere conformati e disposti simmetricamente rispetto ad un piano di simmetria.

Questi aspetti dell'invenzione hanno il vantaggio di semplificare la costruzione della testina di perfusione.

10 Un altro aspetto dell'invenzione prevede che la sezione trasversale dei condotti di erogazione in corrispondenza delle luci di uscita possa essere rettangolare, ad esempio quadrata.

In questo modo viene vantaggiosamente migliorato l'efflusso
15 laminare delle sostanze da ciascuna luce di uscita.

Secondo un altro aspetto dell'invenzione, la testina di perfusione può comprendere mezzi di fissaggio ad un supporto associabile ad un micromanipolatore, ad esempio mezzi atti a creare un collegamento filettato o mezzi di fissaggio a
20 scatto.

Grazie a questa soluzione, la testina di perfusione può essere facilmente sostituita.

Un altro aspetto dell'invenzione prevede che il corpo monolitico della testina possa essere realizzato mediante un
25 procedimento di prototipazione rapida.

In questo modo è vantaggiosamente possibile realizzare testine di perfusione di molteplici forme alternative ed in pochi esemplari, modificandone le caratteristiche in base alle necessità dell'esperimento da eseguire.

5 Ulteriori caratteristiche e vantaggi dell'invenzione risulteranno evidenti dalla lettura della descrizione seguente fornita a titolo esemplificativo e non limitativo, con l'ausilio delle figure illustrate nelle tavole allegate. La figura 1 è una vista isometrica di un sistema di
10 microperfusione secondo una forma di attuazione della presente invenzione.

La figura 2 è una vista isometrica ed ingrandita del gruppo operativo appartenente al sistema di microperfusione di figura 1.

15 La figura 3 è una vista isometrica della testina di perfusione appartenente al gruppo operativo di figura 2.

La figura 4 è una vista dall'alto della testina di figura 3.

Le figure 5 e 6 sono le due viste laterali della testina di figura 3.

20 La figura 7 è una vista dal basso della testina di figura 3.

Le figure 8 e 9 sono rispettivamente una vista frontale e posteriore della testina di figura 3.

La figura 10 è la sezione X-X di figura 9.

La figura 11 è una vista dall'alto di un dispositivo
25 termoregolatore appartenente al gruppo operativo di figura 2.

La figura 12 è la sezione XII-XII di figura 11.

La figura 13 è una vista isometrica ed esplosa del dispositivo termoregolatore di figura 11.

La figura 14 è una vista isometrica di una piastra di
5 supporto appartenente al dispositivo termoregolatore di figura 11.

La figura 15 è una vista dall'alto della piastra di supporto di figura 14.

In figura 1 si rileva un sistema di microperfusione
10 100, il quale comprende un microscopio a fluorescenza 105 di tipo commerciale atto a visualizzare un vetrino 110 su cui è posta una coltura di cellule, ad esempio una coltura di cellule neuronali. Il microscopio a fluorescenza 105 può essere equipaggiato con una telecamera che rileva le
15 immagini dal microscopio e le trasferisce ad un computer di elaborazione (non illustrato).

Il sistema di microperfusione 100 comprende inoltre un gruppo operativo 115, il quale è portato da un micromanipolatore 120 di tipo commerciale. Il
20 micromanipolatore 120 è atto consentire spostamenti calibrati del gruppo operativo 115 in direzione verticale ed almeno in due direzioni nel piano orizzontale. Nell'esempio illustrato, il micromanipolatore 120 è di tipo manuale e gli spostamenti del gruppo operativo 115 sono azionati mediante
25 altrettante manopole 125.

Come illustrato in figura 2, il gruppo operativo 115 comprende un involucro esterno 130, il quale è provvisto di un'asola lineare 135 da cui fuoriesce a sbalzo un albero di supporto 140. Il gruppo operativo 115 è montato sul
5 micromanipolatore 120 in modo che l'asola lineare 135 risulti sostanzialmente orizzontale, con l'albero di supporto 140 inclinato dall'alto verso il basso. All'interno dell'involucro 130, l'albero di supporto 140 è fissato ad un carrello scorrevole che, azionato da un motore elettrico
10 tramite un opportuno sistema di trasmissione, si muove in direzione parallela all'asola lineare 135. In questo modo, l'albero di supporto 140 è in grado di scorrere avanti e indietro all'interno dell'asola lineare 135, muovendosi in
15 direzione orizzontale e mantenendosi sempre parallelo a se stesso. Il motore elettrico di azionamento è comandato da un sistema elettronico 145 (v. figura 1), il quale controlla e gestisce la posizione dell'albero di supporto 140 sulla base dei segnali elettrici provenienti da uno o più encoder associati ad sistema di trasmissione. La connessione di
20 questi encoder e del motore elettrico con il sistema elettronico 145 avviene attraverso un apposito connettore elettrico 150 associato al gruppo operativo 115.

Il gruppo operativo 115 comprende inoltre una testina di perfusione 155, la quale è fissata all'estremità libera
25 dell'albero di supporto 140 per essere portata in prossimità

della coltura cellulare che si trova sul vetrino 110. In particolare, la testina di perfusione 155 è fissata all'albero di supporto 140 tramite un braccetto intermedio 160. Il braccetto intermedio 160 presenta una prima porzione 5 165 di forma cilindrica atta ad infilarsi sull'albero di supporto 140, dove viene fissata ad esempio mediante un grano filettato, ed una seconda porzione 170 sagomata a forcella che termina con una griffa 175 definente una slot a sezione sostanzialmente rettangolare atta a sostenere la 10 testina di perfusione 155. Come illustrato nelle figure da 3 a 10, la testina di perfusione 155 è realizzata da un corpo monolitico di forma complessa, il quale può essere ottenuto ad esempio mediante un procedimento di prototipazione rapida (*rapid prototyping*). In particolare, la testina di 15 perfusione 155 comprende una porzione anteriore 180 di forma sostanzialmente piatta che sporge a sbalzo da una flangia intermedia 185 sostanzialmente rettangolare. In posizione contrapposta alla flangia intermedia 185, la porzione anteriore 180 presenta un bordo frontale 190, il quale 20 definisce un piano inclinato che forma uno spigolo ad angolo acuto con le superficie inferiore della testina di perfusione 155. La larghezza del bordo frontale 190 può essere di circa 7 mm, mentre il suo spessore può essere di circa 2 mm. L'inclinazione del bordo frontale 190 può essere 25 nell'intorno di 45°. In corrispondenza di un suo tratto

intermedio, la porzione anteriore 180 presenta due raccordi cilindrici 195 che sporgono a sbalzo da parti opposte della testina di perfusione 155, i quali hanno assi complanari e reciprocamente convergenti verso il bordo frontale 190.

5 Ciascuno di questi raccordi cilindrici 195 è sostanzialmente allineato con un rispettivo foro 200, il quale è ricavato in modo passante nella retrostante flangia intermedia 185. Questi due fori passanti 200 sono lateralmente contenuti tra due alette di collegamento 205, parallele e reciprocamente

10 distanziate, le quali sporgono a sbalzo dalla flangia intermedia 185, sviluppandosi sostanzialmente complanari alla porzione anteriore 180 ma dalla parte opposta. Queste due alette di collegamento 205 sono atte ad infilarsi a misura nella slot definita dalla griffa 175 del supporto

15 intermedio 160, dove possono essere fissate mediante rispettivi pernetti ad interferenza. In alternativa ai pernetti, le alette di collegamento 205 potrebbero essere flessibili e presentare un dentello atto a realizzare un accoppiamento di aggancio a scatto con la griffa 175. Nello

20 spazio compreso tra i fori passanti 200, la testina di perfusione 155 comprende infine una schiera di ulteriori raccordi cilindrici 195 che sporgono a sbalzo dalla flangia intermedia 185, dalla stessa parte delle alette di collegamento 205, reciprocamente paralleli, complanari ed

25 equidistanti. Nell'esempio illustrato, i raccordi cilindrici

195 della schiera sono quattro, ma il loro numero potrebbe variare in base alle necessità.

Come illustrato in figura 10, all'interno della testina di perfusione 155 sono ricavati molteplici condotti di erogazione 210, reciprocamente indipendenti e separati, ciascuno dei quali è atto a porre in comunicazione un rispettivo raccordo cilindrico 195 con una rispettiva luce di uscita 215. Le luci di uscita 215 sono tutte disposte tra loro complanari, adiacenti e allineate lungo il bordo frontale inclinato 190 della testina di perfusione 155. Come visibile in figura 8, la sezione trasversale dei condotti di erogazione 215 in corrispondenza delle luci di uscita 215 è rettangolare, nella fattispecie quadrata. Tra ciascuna coppia di luci di uscita 215 adiacenti, la testina di perfusione 155 presenta inoltre un intaglio 220 ricavato in corrispondenza dello spigolo formato tra il bordo frontale 190 e la superficie inferiore. Questi intagli 220 permettono di mantenere il flusso efferente da ciascuna luce di uscita 215 confinato in una zona precisa e laminare.

Come si può apprezzare nelle figure 4, 7 e 10, la testina di perfusione 155 descritta in questo esempio presenta globalmente una forma simmetrica rispetto ad un piano di simmetria ortogonale alla superficie del bordo frontale 190 e passante per la mezzeria dello stesso. Anche i condotti di erogazione 210, i raccordi cilindrici 195, le luci di uscita

215 e gli intagli 220 risultano conformati e disposti simmetricamente rispetto detto piano di simmetria.

Ciascun raccordo cilindrico 195 della testina di perfusione 155 è atto ad essere innestato all'estremità di un tubo di
5 convogliamento (non illustrato), tipicamente un tubo flessibile di dimensioni millimetriche realizzato ad esempio in silicone. Mediante il rispettivo tubo di convogliamento, ogni raccordo cilindrico 195 può essere collegato con un
rispettivo serbatoio (non illustrato) contenente una
10 specifica sostanza da irrorare sulle cellule, tipicamente una soluzione contenente un farmaco o semplice acqua per il lavaggio. Questi serbatoi sono generalmente collocati più in alto rispetto alla testina di erogazione 155, in modo tale che le sostanze possano defluire per semplice forza di
15 gravità. Ad ogni serbatoio può essere associata una valvola, tipicamente una elettrovalvola, atta a consentire o impedire la fuoriuscita della relativa sostanza. Quando l'elettrovalvola è aperta, la portata della sostanza in uscita può essere regolata mediante opportuni mezzi
20 meccanici posti in posizione intermedia lungo il condotto di convogliamento. Ad esempio, ciascun tubo di convogliamento può essere fatto passare all'interno di un anello al quale è avvitato un grano filettato ad asse trasversale. Avvitando il grano filettato, il tubo di convogliamento viene stretto
25 e compresso all'interno dell'anello, riducendo la sezione di

passaggio e quindi la portata. Allentando il grano filettato, il tubo di convogliamento viene progressivamente liberato, aumentando il flusso della sostanza in uscita.

Come illustrato in figura 2, uno dei condotti di convogliamento, ad esempio quello indicato con 265, è destinato ad innestarsi ad uno dei raccordi cilindrici 195 posti nella porzione anteriore 180 della testina di erogazione 155, passando attraverso il relativo foro 200. Questo condotto di convogliamento 265 può essere associato ad un dispositivo termoregolatore 225 che è direttamente associato al gruppo operativo 115. In particolare, il dispositivo termoregolatore 225 è fissato al gruppo operativo 115 mediante una staffa di supporto 227 che lo pone a fianco ed in posizione leggermente arretrata rispetto alla testina di perfusione 155. Questo dispositivo termoregolatore 225 è in grado di raffreddare e riscaldare la sostanza che fluisce nel condotto di convogliamento 265, in modo tale che essa venga aspersa sulle cellule ad una temperatura prefissata, ad esempio per verificare la diversa reazione delle cellule al caldo e/o al freddo.

Come illustrato in figura 13, il dispositivo termoregolatore 225 comprende un involucro esterno 230 di tipo apribile, il quale può essere formato da due semigusci atti ad essere reciprocamente fissati mediante viti, di cui un semiguscio inferiore ed un semiguscio superiore. L'involucro esterno

230 può essere realizzato in materiale plastico sostanzialmente termoisolante. All'interno dell'involucro 230 è alloggiato un elemento Peltier 235, ovvero un dispositivo a semiconduttori che agisce fundamentalmente
5 come una pompa di calore allo stato solido. L'elemento Peltier 235 ha l'aspetto di una piastra relativamente sottile, provvista di una faccia superiore 240 e di una faccia inferiore 245. In base al verso della corrente applicata ai terminali elettrici 250 dell'elemento Peltier
10 235, la faccia superiore 240 assorbe calore e lo cede alla faccia inferiore 245 o, viceversa, la faccia inferiore 245 assorbe calore e lo cede alla faccia superiore 240. All'interno dell'involucro 230 è accolta anche una piastra di supporto 255 in materiale termicamente conduttore, ad
15 esempio di metallo, la quale è posta in relazione di scambio termico con l'elemento Peltier 235. Nell'esempio illustrato, la superficie inferiore della piastra di supporto 255 è posta a diretto contatto con la faccia superiore 240 dell'elemento di Peltier 235.

20 Come illustrato nelle figure 14 e 15, sulla faccia superiore della piastra di supporto 255 è realizzata una incavatura che definisce un alloggiamento per il summenzionato tubo di convogliamento 265 della sostanza da termoregolare. Detta incavatura comprende cinque solchi longitudinali tra loro
25 paralleli e distanziati, di cui un primo solco laterale 270,

un secondo solco laterale 275 e tre solchi intermedi 280 interposti tra i primi due. Il primo solco laterale 270 si sviluppa tra una prima asola 285, ricavata su un bordo posteriore della piastra di supporto 255, ed una quarta
5 asola 290, ricavata sull'opposto bordo anteriore. Similmente, il secondo solco laterale 275 si sviluppa tra una terza asola 295, ricavata sul bordo posteriore, ed una seconda asola 300, ricavata sul bordo anteriore. L'incavatura 265 comprende inoltre due solchi trasversali
10 305 atti a collegare tra loro tutti i solchi longitudinali 270, 275 e 280, in corrispondenza delle loro estremità. In questo modo, il tubo di convogliamento 265 può essere ripiegato e accolto all'interno dell'incavatura 265 seguendo un primo percorso (ovvero un canale) che si sviluppa a
15 serpentina dalla prima asola 285 alla seconda asola 300 (come illustrato nelle figure), oppure seguendo un percorso alternativo che si sviluppa a serpentina dalla terza asola 295 alla quarta asola 290. Questa possibilità è utile perché consente di posizionare il dispositivo termoregolatore 225
20 sia a destra sia a sinistra della testina di perfusione 155. Sul bordo posteriore della piastra di supporto 255 sono ricavate due ulteriori asole 310, ciascuna delle quali è allineata con un ulteriore solco rettilineo 315. Questi ulteriori solchi rettilinei 315 sono paralleli e
25 singolarmente interposti tra due dei suddetti solchi

longitudinali intermedi 280. A seconda del percorso seguito dal condotto di convogliamento 265, una delle asole 310 risulta chiusa, mentre l'altra rimane aperta e può accogliere un cavo di connessione elettrica 320 per un
5 sensore di temperatura 325, tipicamente una termocoppia, che viene applicato all'interno del solco rettilineo 315 ad essa allineato. In questo modo, il sensore di temperatura 325 è in grado di misurare la temperatura della piastra di supporto 255 in prossimità del condotto di convogliamento
10 265, con ciò fornendo una misura della temperatura della sostanza che fluisce al suo interno.

Il dispositivo termoregolatore 225 può comprendere anche un secondo sensore di temperatura 330 (illustrato solo schematicamente in figura 3), tipicamente una seconda
15 termocoppia, il quale può essere applicato al tubo di convogliamento 265 o alla testina di perfusione 155, in corrispondenza del raccordo cilindrico 195 in cui il tubo di convogliamento 265 viene innestato alla testina di perfusione 155. In questo modo, il secondo sensore di
20 temperatura 330 è atto a fornire una misura della temperatura effettiva della sostanza che viene aspersa sulla coltura di cellule.

Il cavo di connessione elettrica (non mostrato) di questo secondo sensore di temperatura 330 può essere fatto
25 rientrare nell'involucro 230 del dispositivo termoregolatore

255, per essere connesso con una morsettiera 335 installata al suo interno (v. figura 13). A questa morsettiera 335 può essere collegato anche il cavo di connessione 320 del primo sensore di temperatura 325, nonché i terminali elettrici 250
5 dell'elemento Peltier 235. La morsettiera 335 è poi provvista di un connettore elettrico 340, il quale sporge all'esterno dell'involucro 230, ed al quale può essere collegato un cavo 345 di connessione ad una centralina elettronica di controllo 350 (v. figura 1). La centralina
10 350 è generalmente configurata per ricevere i segnali provenienti dai sensori di temperatura 325 e 330, e per alimentare l'elemento Peltier 235 in base a tali segnali. Ad esempio, la centralina 350 può implementare un controllo in retroazione che regola la corrente di alimentazione
15 dell'elemento Peltier 235 in modo da inseguire un valore di target della temperatura della sostanza in corrispondenza della piastra di supporto 255, misurata dal primo sensore di temperatura 325, e/o un valore di target della temperatura della sostanza in corrispondenza della testina di perfusione
20 155, misurata dal secondo sensore di temperatura 330. Mediante la centralina 350 è inoltre possibile impostare predeterminate funzioni (rampe) di variazione della temperatura nel tempo di perfusione, e regolare l'alimentazione dell'elemento Peltier 235 in modo da seguire
25 tali funzioni di variazione. Naturalmente, per ottenere

questi scopi, l'elemento Peltier 235 può essere utilizzato sia per riscaldare sia anche per raffreddare la piastra di supporto 255.

Al fine di migliorare l'efficienza dell'elemento Peltier 235 e la regolazione di temperatura della sostanza che scorre nel condotto di convogliamento 265, il dispositivo termoregolatore 225 può ulteriormente comprendere un dissipatore di calore 355 posto all'interno dell'involucro esterno 230, in relazione di scambio termico con l'elemento Peltier 235 (v. figura 13). Nell'esempio illustrato, il dissipatore di calore 355 è conformato come una piastra di materiale termicamente conduttore, ad esempio di metallo, la quale viene applicata a diretto contatto con la faccia inferiore 245 dell'elemento Peltier 235. All'interno di questa piastra è ricavato un circuito idraulico facente capo ad un connettore idraulico di ingresso 360 e ad un connettore idraulico di uscita 365, entrambi i quali sporgono all'esterno dell'involucro 230, dalla stessa parte del connettore elettrico 340. Il connettore di ingresso 360 è atto ad essere collegato ad un tubo di alimentazione di un liquido refrigerante (ad esempio acqua), il quale circola all'interno del dissipatore di calore 355 sottraendo calore dalla faccia inferiore 245 dell'elemento Peltier 235, e quindi viene recuperato attraverso un condotto di scarico collegato al connettore di uscita 360. La circolazione del

liquido refrigerante può essere azionata mediante una pompa (non illustrata), il cui funzionamento può essere controllato manualmente o mediante un controllore elettronico.

5 L'utilizzo del sistema di microperfusione 100 sopra descritto può essere il seguente. Durante una fase di set-up, la coltura di cellule da testare viene posizionata sul vetrino 110 e posta nel campo visivo del microscopio 105. Le sostanze da applicare sulla coltura di cellule vengono
10 predisposte nei serbatoi collegati alla testina di perfusione 155. La testina di perfusione 155 viene quindi posizionata in corrispondenza del vetrino 110, facendo in modo che il bordo frontale 190 sia disposto in orizzontale senza toccare le cellule. Questo movimento può essere
15 controllato con il microscopio 105 e regolato in modo manuale mediante le manopole 125 del micromanipolatore 120. Una volta completato il set-up, le soluzioni vengono iniettate sulle cellule una alla volta, mediante l'apertura delle rispettive elettrovalvole ed attraverso la relativa
20 luce di uscita 215 della testina di perfusione 155. Poiché le luci di uscita 215 sono tra loro affiancate, dopo ogni fase di perfusione, la testina di perfusione 155 viene leggermente spostata mediante il movimento dell'albero di supporto 140 nell'asola 135, in modo da allineare ogni volta
25 la luce di uscita 215 in uso con le cellule sul vetrino 110.

In particolare, le luci di uscita 215 poste nella porzione anteriore 180 della testina di perfusione 155 possono essere utilizzate per trattare le cellule con una sostanza avente una temperatura regolata. Tale regolazione è ottenuta
5 mediante il dispositivo termoregolatore 255 secondo le modalità descritte in precedenza.

Ovviamente al sistema di microperfusione 100 sopra descritto, un tecnico del settore potrà apportare numerose modifiche di natura tecnico-applicativa, senza per questo
10 uscire dall'ambito dell'invenzione come sotto rivendicata.

RIVENDICAZIONI

1. Una testina di perfusione (155) per un sistema di microperfusione (100), comprendente una pluralità di raccordi cilindrici (195) ricavati in corpo monolitico e
5 singolarmente atti ad accoppiarsi con un rispettivo tubo di convogliamento di un fluido da iniettare, ed altrettanti condotti di erogazione (210) ricavati all'interno di detto corpo monolitico e singolarmente atti a porre in comunicazione un rispettivo raccordo cilindrico (195) con
10 una rispettiva luce di uscita (215).
2. Una testina (155) secondo la rivendicazione 1, in cui dette luci di uscita (215) sono disposte tra loro adiacenti e allineate lungo uno stesso bordo frontale (190) del corpo monolitico.
- 15 3. Una testina (155) secondo la rivendicazione 2, in cui detto bordo frontale (190) è inclinato in modo da definire uno spigolo ad angolo acuto con una superficie inferiore del corpo monolitico.
4. Una testina (155) secondo la rivendicazione 3, in cui
20 detto spigolo è solcato da una pluralità di intagli (220) posizionati in modo alternato rispetto alle luci di uscita (215).
5. Una testina (155) secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti, in cui i condotti di erogazione
25 (210) sono tra loro complanari.

6. Una testina (155) secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti, in cui i condotti di erogazione (210) sono conformati e disposti simmetricamente rispetto ad un piano di simmetria.

5 **7.** Una testina (155) secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti, in cui la sezione trasversale dei condotti di erogazione (210) in corrispondenza delle luci di uscita (215) è rettangolare.

8. Una testina (155) secondo una qualunque delle
10 rivendicazioni precedenti, comprendente mezzi di fissaggio (205) ad un supporto (160) associabile ad un micromanipolatore (120).

9. Una testina (155) secondo la rivendicazione 8, in cui
15 detti mezzi di fissaggio comprendono mezzi di aggancio a scatto.

10. Una testina (155) secondo una qualunque delle rivendicazioni precedenti, in cui detto corpo monolitico è realizzato mediante un procedimento di prototipazione rapida.