



①



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 694 165 A5

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>: C 12 M 003/06

## Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

## ⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳ Gesuchsnummer: 01988/00

㉗ Inhaber:  
Sefar AG, Moosstrasse 2  
8803 Rüschlikon (CH)

㉔ Anmeldungsdatum: 09.10.2000

㉘ Erfinder:  
Dr. Jörg Mayer, Lerchenweg 6  
5702 Niederlenz (CH)  
Rainer Fuchs, Knüslistrasse 12  
8004 Zürich (CH)  
Erdal Karamuk, Badenerstrasse 4  
8004 Zürich (CH)

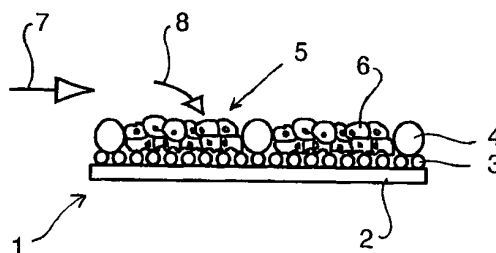
㉚ Patent erteilt: 13.08.2004

㉜ Patentschrift  
veröffentlicht: 13.08.2004

㉝ Vertreter:  
Isler & Pedrazzini AG  
8023 Zürich (CH)

## ⑤④ Stützstruktur für einen Bioreaktor und Bioreaktor.

⑤⑦ Eine Stützstruktur für einen Bioreaktor verfügt über eine poröse Membran (2) und eine in unmittelbarer Nähe zu dieser angeordnete erste textile Struktur (4). Dabei ist auf der Membran (2) ein zweites Gewebe (3) direkt angeordnet, welches somit zwischen der Membran (2) und der besagten ersten textile Struktur (4) liegt. Dieses zweite Gewebe (3) weist eine gegenüber der ersten textilen Struktur (4) erheblich feinere Struktur auf. Durch das Vorsehen dieses weiteren Gewebes (3) wird die Anlagerung von Zellen (6) von der Membran (2) losgelöst und somit besteht für diese Zellen (6) kein Diffusionswiderstand an der Textiloberfläche. Dies ermöglicht eine verbesserte Nährstoffversorgung lokal, wobei die Anhaftung der Zellen (6) im jeweiligen, grobmaschigen Zwischenraum (5) optimiert ist.



## Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Stützstruktur für einen Bioreaktor mit einer porösen Membrane und einer in unmittelbarer Nähe angeordneten textilen Struktur sowie einem aus dieser Stützstruktur aufgebauten Bioreaktor.

Eine solche Stützstruktur ist aus der Zeitschrift «Tissue Engineering for Therapeutic Use 3» aus den «Proceedings of the Third International Symposium of Tissue Engineering for Therapeutic Use, Tokyo, 4-5 September 1998» aus dem Artikel «Scaffold structure for a bioartificial liver support system» von J. Mayer, E. Karamuk, K. Interevic, T. Akaike und E. Wintermantel auf den Seiten 87 bis 97 bekannt. Dort ist insbesondere in der Fig. 1B eine Struktur erläutert, die für das gemeinsame Kultivieren von Hepatozyten und nicht-parenchymalen Zellen geeignet ist. Der Ansatz liegt in der Notwendigkeit der möglichst dichten Anordnung der Hepatozyten zu den nicht-parenchymalen Zellen über eine poröse Polymermembran. Diese poröse Polymermembran ist teilweise biologisch abbaubar, sodass die einzelnen Zellen in dichten Kontakt zueinander treten können. Zwischen dem verwebten Polymergewebe sind Hohlräume, die zur Aufnahme der Hepatozyten dienen. Das Gewebe ist aus Monofilamenten aufgebaut.

Es werden jeweils zwei poröse Polymermembranen bzw. zwei textile Materialien gegenüber angeordnet, um Zwischenräume für den Plasma-/Mediumfluss zu erhalten. Die Stützstruktur verfügt in der Membran über eine flache, filmartige Seite und eine strukturierte Gewebeseite mit Poren zwischen 800 und 50 µm entsprechend dort vorgeschlagenen Geweben. Der Film der Membran wird in mechanischer Weise an und zwischen den Fasern angelagert.

Für den geplanten Einsatzzweck solcher Stützstrukturen bei stoffwechselaktiven Zellen ist ein intensiver Stoffaustausch notwendig. Dies kann in der Abgabe und Aufnahme von Stoffen bestehen, z.B. dem Toxinmetabolismus in der Leber, dem Insulinstoffwechsel der Bauchspeicheldrüse oder dem Harnstoffwechsel der Niere. Der Stand der Technik nutzt die Membran sowohl als stoffliche Barriere mit einem Diffusionswiderstand als auch als die Oberfläche, an der die Zellen angelagert werden. Dabei wird insbesondere bei dem Einsatz von zumindest teilweise biologisch abbaubaren Membranen auf den möglichst engen räumlichen Kontakt zwischen auf gegenüberliegenden Seiten der Membran liegenden Zellen hingearbeitet.

Die bei dieser Stützstruktur erreichbaren Versorgungs- und Zellwachstumswerte bilden einen ersten Schritt zu einem künstlichen Organsystem zum Beispiel zu einem Leberunterstützungssystem. Sie reichen aber noch nicht aus.

Aus der GB 2 297 980 ist ein plattenförmiger Bioreaktor bekannt, der im Wesentlichen flächig aufgebaut ist. Er wird in der Fläche in zwei senkrecht zueinander stehenden Richtungen mit Plasma und Sauerstoff sowie in einer Querrichtung dazu mit Nährstoffen versorgt. Hier werden für die Versorgung insbesondere Hohlfasern eingesetzt. Der Nachteil dieses Aufbaus liegt in der begrenzten Dicke, da sämtliche Versorgungswege in der Längsrichtung

aufgebaut sind und keine Möglichkeit der Variation der Stützstrukturen in vertikaler Richtung gestatten.

Ausgehend von diesem Stand der Technik liegt der Erfindung die Aufgabe zu Grunde, eine Stützstruktur für einen Bioreaktor und einen Bioreaktor anzugeben, der günstigeren Bedingungen für Differenzierung und metabolische Leistung sowie bessere Transporteigenschaften ermöglicht.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäss für eine Stützstruktur für einen Bioreaktor mit den Merkmalen des Oberbegriffs des Anspruchs 1 dadurch gelöst, dass auf der Membran ein weiteres Gewebe direkt angeordnet ist, welches zwischen der Membran und dem besagten ersten Gewebe liegt. Dieses weist eine erheblich feinere Struktur auf.

Durch das Vorsehen dieses weiteren Gewebes wird die Anlagerung von Zellen von der Membran losgelöst und somit besteht für diese Zellen kein Diffusionswiderstand an der Textilloberfläche. Dies ermöglicht eine verbesserte Nährstoffversorgung lokal, wobei die Anhaftung der Zellen im jeweiligen, grobmaschigen Zwischenraum optimiert ist.

Bei einem Ausführungsbeispiel der Erfindung ist auf der gegenüberliegenden Seite des ersten Gewebes eine weitere mit dem zweiten Gewebe im Wesentlichen identische feine Gewebestruktur aufgebracht, sodass sich ein Zellwachstumshohlraum zwischen den groben Maschen des ersten Gewebes ausbildet. Auf diesem dritten Gewebe wird ein zweites grossmaschiges Gewebe aufgebracht, welches beispielsweise eine halbe Maschenweite aufweist und einen Fließkanal für die Blutversorgung bildet.

Damit ist ein Bioreaktor herstellbar, der beliebige Dicken erreichen kann und sich somit von den nachteiligen länglichen Rohrreaktoren abhebt.

Weitere vorteilhafte Ausführungsbeispiele sind in den abhängigen Patentansprüchen gekennzeichnet.

Nachstehend wird nun die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen in den Zeichnungen beispielhaft beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1 eine Stützstruktur für einen Bioreaktor gemäss einem ersten Ausführungsbeispiel,

Fig. 2 eine Stützstruktur für einen Bioreaktor gemäss einem zweiten Ausführungsbeispiel,

Fig. 3 eine Darstellung eines Bioreaktors gemäss der Erfindung und

Fig. 4 eine vergrösserte Ausschnittdarstellung zur Verteilung von Nährstoffen in einem Bioreaktor nach Fig. 3.

Die Fig. 1 zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel einer Stützstruktur 1 für einen Bioreaktor gemäss der Erfindung. Ein anderer Begriff für das Element 1 ist auch Zellträger. Die schematische Darstellung basiert auf einer porösen Membran, insbesondere einer Polymermembran, welche das Entweichen von Zellen verhindert, aber den Durchtritt von Nährstoffen und Gasen durch Diffusion gestattet. Eine solche Polymermembran 2 kann z.B. aus expandiertem Teflon, PEEK oder anderen Polymermaterialien bestehen. Auf dieser in einem Bioreaktor beispielsweise eingespannten Membran 2 ist ein engmaschiges Sieb 3 und auf diesem ein weitmaschiges Gewebe 4 aufgelegt. Dabei handelt es sich jeweils um flächige Gebil-

de mit definierter Porosität, die eine periodische Struktur aufweisen. Dabei kann es sich auch um extrudiertes Gewebe aus Polymermaterial handeln. Ferner sind Metallnetze, z.B. aus Titan, möglich. Alle diese Ausführungsformen sind unter dem Begriff «textiles Gebilde» zusammengefasst, welches synonym zu «Gewebe» oder «textiles Gewebe» verwendet wird.

Unter dem Begriff engmaschiges Sieb 3 ist eine als Diaphragma wirkende feine Struktur mit Porengrößen zwischen 3 und 50 µm zu verstehen, wohingegen ein weitmaschiges Netz 4 mit Porengrößen zwischen 50 und 800 µm aufweist. Diese textilen Gebilde können aus Monofilamenten bestehen, die eine Größe zwischen 10 und 100 µm aufweisen.

In dem Bereich 5 zwischen zwei Maschen des weitmaschigen Netzes 4 lagern sich insbesondere Zellen 6 ab, von denen schematisch der Umriss und der Zellkern dargestellt ist. Mithilfe einer solchen Stützstruktur wird ein Hohlraum erzeugt, durch welchen in Pfeilrichtung 7 ein Nährstoffmittelfluid durchgeleitet wird, welches durch noch im Zusammenhang mit der Fig. 4 zu beschreibende Mittel auf die Zellen 6 ausgerichtet wird (Pfeil 8) und diese durchdringt.

Die Fig. 2 zeigt ein zweites Ausführungsbeispiel der Erfindung, welches in der Basis gleich aufgebaut ist, d.h. die Stützstruktur 11 verfügt über eine Membran 2, ein feinmaschiges Netz 3 und ein grobmaschiges Netz 4. Die Stützstruktur 11 ist dann aber auf der feinen Struktur 3 gegenüberliegenden Seite der groben Struktur 4 mit einem weiteren feinmaschigen Netz 13 belegt, welches zu der Hohlraumbildung 15 zwischen den beiden Netzen 13 und 3 führt. Weiterhin ist ein zweites grobmaschiges Netz auf dem zweiten feinmaschigen Netz 13 aufgelegt, welches in dem dargestellten Ausführungsbeispiel die halbe Maschenweite aufweist. Die halbe Maschenweite gestattet eine grössere Verwirbelung von in Pfeilrichtung 17 einfließenden Fluiden in Richtung auf das zweite feinmaschige Netz 13. Mit dem Bezugszeichen 16 sind paraenchymale Zellen bezeichnet, die sich auf dem zweiten feinmaschigen Gewebe 13 ablagern. Hiermit wird ein direkter Kontakt zwischen den Zellen 15 und den weiteren Zellen 16 über die Poren des zweiten feinmaschigen Gewebes 13 ermöglicht.

Die Fig. 3 zeigt einen Bioreaktor mit Stützstruktur gemäss den Fig. 1 und 2. In allen Zeichnungen werden für gleiche Merkmale gleiche Bezugszeichen verwendet. Der Ausschnitt aus dem Bioreaktor zeigt mehrere, hier 4, übereinander angeordnete Stützstrukturen 11, die jeweils kopfüber angeordnet sind. Zwischen zwei Membranen besteht ein Hohlraum 25 in der Grösse von beispielsweise 30 Mikrometer, sodass entsprechende Nährlösungen oder Sauerstoff hindurchgeführt werden können. Zwischen den beiden feinmaschigen Netzen 13 ist nur ein zweites grobmaschiges Netz 14 angeordnet, sodass sich hier jeweils ein Hohlraum 35 ausbildet, durch den ein Fluidfluss 17 hindurchgeführt wird. Alternativ wäre dieser Hohlraum auch durch den Einsatz röhrenförmiger Strukturen (z.B. so genannte «micro tubes») zu erzeugen.

In der Fig. 4 ist hier zu sehen, dass durch die symmetrisch angeordneten Monofilamente des zwei-

ten grobmaschigen Gewebes 14 eine Verwirbelung des Nährstoffflusses 17 gemäss den Pfeilen 27 erreicht wird, sodass die Flüssigkeit durch die zweite Gewebeschicht 13 zu den Zellen gelangt, welche die in der Flüssigkeit enthaltenen Substanzen metabolisieren können.

Die erste feine Gewebeschicht 3 kann mit der Membran 2 beispielsweise aufgelegt, verschweisst oder verklebt sein. Die einzelnen Filamente der grobmaschigen Gewebe 4 und 14 können hohl ausgestaltet sein, um eine Flüssigkeitsentnahme zu gestatten. Sie können einzeln, in periodischen Abständen oder als Netz als sensorielle Fasern ausgestaltet sein, um beispielsweise den Sauerstoffpartialdruck zu messen oder pH-Messungen durchzuführen und diese Parameter durch externe Steuerungsmöglichkeiten in der Peripherie regeln zu können. Ferner können sie als aktuatorische Elemente dienen, z.B. zur Einleitung von Wärme, zur Katalyse durch Elektrochemie oder zur Schalleinleitung als dispergierendes Medium von Zellen 5 in den Hohlräumen 15 und 25. Die die grobmaschigen Netze 4 und 14 aufbauenden Fasern oder die einen kleinen Durchmesser aufweisenden Filamente der feinmaschigen Netze 3 und 13 können auch als Lichtwellenleiter für entsprechende bekannte Anwendungen ausgestaltet sein.

Es ist ferner möglich, das feinmaschige Gewebe 3 und das grobmaschige Gewebe 4 oder das feinmaschige Gewebe 13 und das grobmaschige Gewebe 14 als ein doppelagiges oder allgemein mehrlagiges Gewebe auszugestalten, um einen grösseren Abstand zwischen einzelnen Strukturen zu erzeugen, ohne dickere Filamente einzusetzen.

Oberflächenbehandelte «textile Gewebe» oder Stützstrukturen, die z.B. mittels Plasmatechnologie, chemischer und/oder physikalischer Verfahren behandelt wurden, können das Zellwachstum, Zellorientierung und Zellpositionierung steuern und/oder beeinflussen.

Es ist auch möglich, die in den Zeichnungen jeweils als eben dargestellten Stützstrukturen zu falten oder zu rollen, um damit eine Oberflächenvergrößerung zu erreichen, was zu einer verbesserten Nährstoffaufnahme in den Mittelbereichen führen kann.

Wesentlich ist die Möglichkeit, über kurze Strecken einen intensiven Nährmittelaustausch zu erhalten, da das in üblichen Rohrreaktoren oder Plattenreaktoren in der Länge erhaltene Volumen hier in der Dicke ausgestaltet wird. Damit können die unzureichenden Gradienten der Versorgung bei Rohr- oder langen Plattenreaktoren vermieden werden respektive Gradienten gezielt zu gestalten.

Es ist ebenfalls möglich, eine Struktur nach der Fig. 1 zuerst mit ersten Zellen 6 anzureichern und eine Struktur entsprechend dem oberen Teil der Fig. 2 (zweite feinmaschige Struktur 13 und zweite grobmaschige Struktur 14) zur Anreicherung von Blutzellen getrennt zu kultivieren und diese erst anschliessend zusammenzuschliessen. Somit kann durch Entkopplung der beiden Wachstumsprozesse diese jeweils einzeln optimiert werden, bevor ein Zusammensetzen im Bioreaktor geschieht. Somit können hochkomplexe künstliche Organsysteme erfolgreich aufgebaut werden.

## Patentansprüche

1. Stützstruktur für einen Bioreaktor mit einer porösen Membrane (2) und einer in unmittelbarer Nähe angeordneten ersten textilen Struktur (4), dadurch gekennzeichnet, dass auf der Membran (2) ein zweites Gewebe (3) direkt angeordnet ist, welches zwischen der Membran (2) und der besagten ersten textilen Struktur (4) liegt, und dass das zweite Gewebe (3) eine gegenüber der ersten textilen Struktur (4) erheblich feinere Struktur aufweist. 5
2. Stützstruktur nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass auf der ersten textilen Struktur (4) ein drittes Gewebe (13) angeordnet ist, welches eine dem zweiten Gewebe (3) in der Grössenordnung entsprechende Feinmaschigkeit aufweist. 10
3. Stützstruktur nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass auf dem dritten Gewebe (13) ein viertes Gewebe (14) angeordnet ist, welches eine der ersten textilen Strukturen (4) in der Grössenordnung ungefähr entsprechende Feinmaschigkeit aufweist. 15
4. Stützstruktur nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das vierte Gewebe (14) gegenüber der ersten textilen Struktur die halbe Maschenweite aufweist. 20
5. Stützstruktur nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die zweiten und/oder dritten Gewebe gegenüber der ersten textilen Struktur und/oder dem vierten Gewebe eine um einen Faktor 3 bis 10 kleinere Maschenweite aufweisen. 25
6. Bioreaktor mit einer Stützstruktur gemäss einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass zwei identische Stützstrukturen mit den Membranen (2) einander gegenüber in einem Abstand angeordnet sind, der in der Grössenordnung der Dicke des zweiten Gewebes (3) liegt. 30
7. Bioreaktor nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass er in der Dicke aus einer Abfolge von sich wiederholenden Stützstrukturen besteht, die aus einer Abfolge Membran (2), zweites Gewebe (3), erste textile Struktur (4), drittes Gewebe (13), viertes Gewebe (14), drittes Gewebe (13), erste textile Struktur (4), zweites Gewebe (3) und Membran (2) besteht. 35
8. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass eine Steuereinrichtung vorgesehen ist, durch welche eine Strömungserzeugungseinrichtung, eine Temperatureinstelleinheit, eine Begasungseinheit, eine Entgasungseinheit und/oder weitere Versorgungseinheiten steuerbar und/oder regelbar sind. 40
9. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Bioreaktor rohrförmig ist und dass die im Wesentlichen flächige Stützstruktur in einer gerollten Form in dem rohrförmigen Bioreaktor angeordnet ist. 45
10. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass eines oder mehrere der Gewebe oder der textilen Struktur (3, 4, 13, 14) oberflächenbehandelt sind und dass dabei jeweils eine bioverträgliche Oberfläche für die Adhäsion des organischen Materials ausgebildet ist. 50

65

4

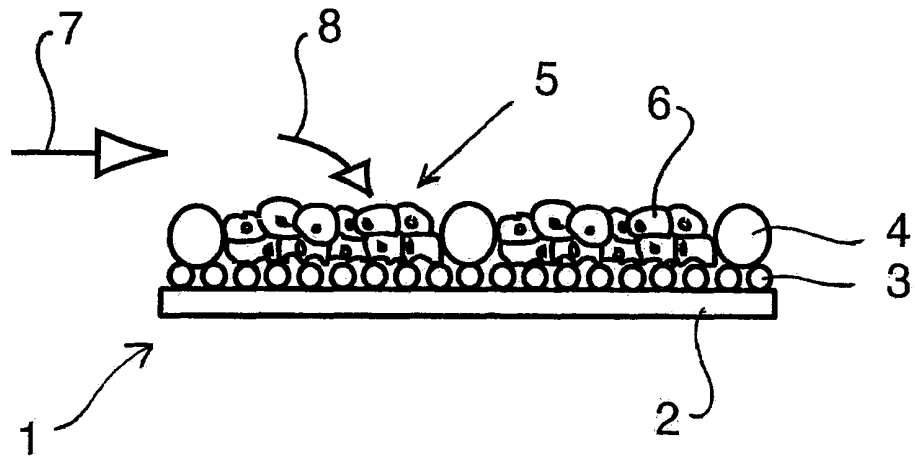


Fig. 1

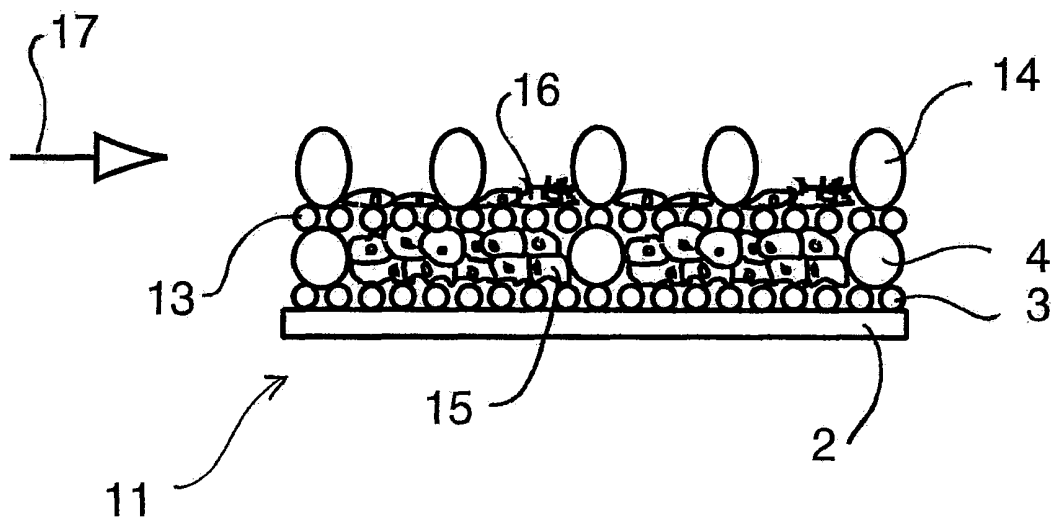


Fig. 2

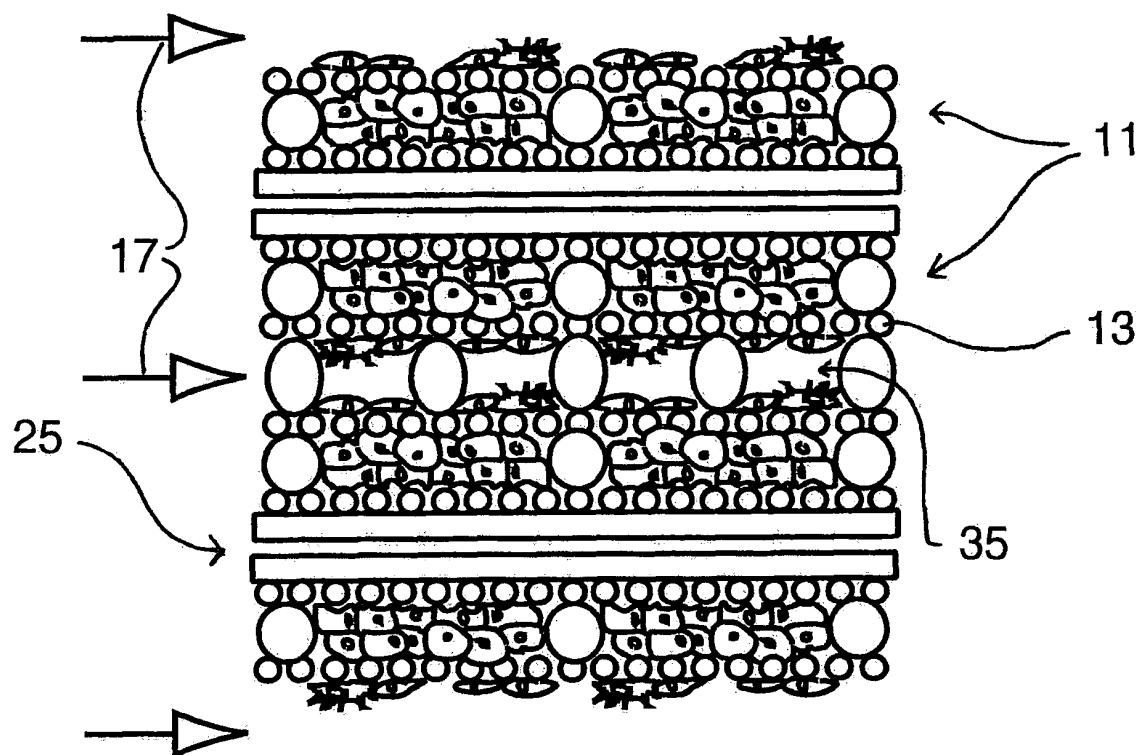


Fig. 3

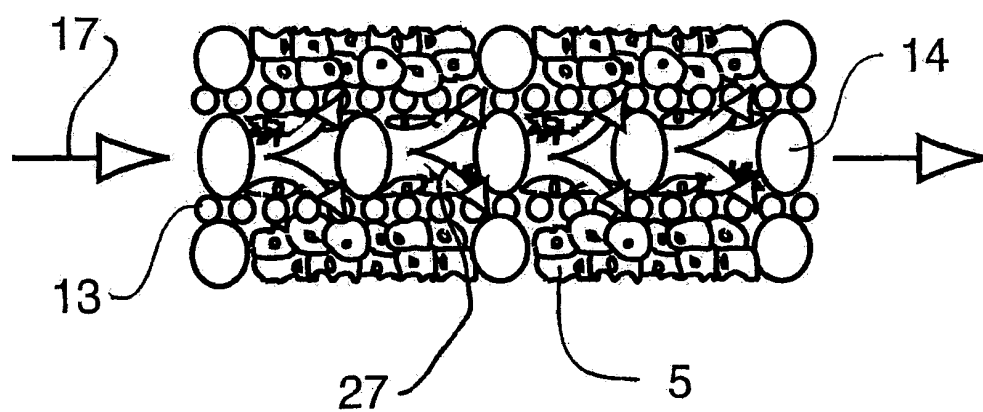


Fig. 4