

SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

① CH 692 583 A5

⑤ Int. Cl.<sup>7</sup>: C 12 M 003/04

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑰ Gesuchsnummer: 00506/98

⑳ Anmeldungsdatum: 03.03.1998

㉔ Patent erteilt: 15.08.2002

④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 15.08.2002

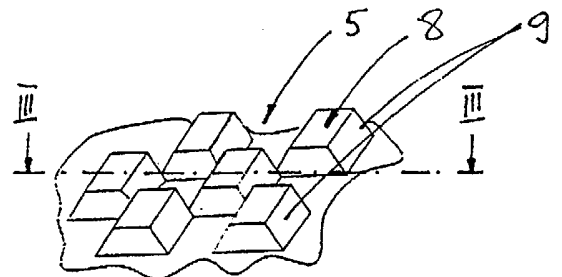
⑦③ Inhaber:  
H. Weidmann AG, Neue Jonastrasse 60,  
8640 Rapperswil SG (CH)

⑦② Erfinder:  
Bashar Saad, Meierwies 6,  
8606 Greifensee (CH)  
Tilo Callenbach, Bollwiesstrasse 24,  
8645 Jona (CH)

⑦④ Vertreter:  
Isler & Pedrazzini AG,  
8023 Zürich (CH)

⑤④ Kulturgefäss.

⑤⑦ Das Kulturgefäss besteht aus Kunststoff und ist für das Züchten von Zell- und Gewebekulturen (6) vorgesehen. Die Wachstumsfläche (5) ist mikrostrukturiert und besitzt Erhebungen (9), deren Höhe (A) kleiner als 110 Mikrometer, vorzugsweise kleiner als etwa 100 Mikrometer, ist. Die Mikrostruktur (8) der Wachstumsfläche erhöht die Zellausbeute, wobei die adhärennten Zellen optisch gut zugänglich sind und einfach abgeerntet werden können.



## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Kulturgefäss aus Kunststoff für das Züchten von Zell- und Gewebekulturen nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1. Solche Gefässe sind für die Zellzüchtung von pflanzlichen und tierischen Zellen seit langem bekannt. Früher wurden vor allem Glasflaschen und -schalen verwendet. Für den einmaligen Gebrauch haben sich Kulturgefässe vor allem aus thermoplastischen Kunststoffen, beispielsweise Polystyrol, bewährt. Auf Grund der normalerweise hydrophoben Oberfläche werden solche Polystyrolgefässe durch Bestrahlung beispielsweise mit Gamma-Strahlen behandelt. Das Kulturgefäss kann beispielsweise eine Petrischale, eine Multischale oder beispielsweise auch eine Mikrotiter- oder Mikrotestplatte sein. Solche Kulturgefässe sind beispielsweise in der Veröffentlichung von Lindl und J. Bauer, «Zell- und Gewebekultur», 3. Auflage, Gustav, Fischer Verlag (1994), beschrieben.

Bekannt sind auch Kulturgefässe, deren Wachstumsfläche durch Erhebungen vergrössert ist. Dadurch lässt sich die Zellausbeute um das 1,7- bis 2fache erhöhen. Beispiele solcher Kulturgefässe sind in der Veröffentlichung der Firma Sigma, Nr. C 5934, aus dem Jahr 1998 zu entnehmen. Bei diesen Gefässen besteht jedoch die Schwierigkeit, dass sie die mikroskopische Untersuchung wesentlich erschweren. Sie erschweren zudem das Ernten der adhärennten Zellen.

Die EPO 552 412 A und die EPO 614 967 A zeigen Kulturgefässe, die als Flaschen ausgebildet sind und die jeweils eine Wachstumsfläche besitzen, die Rillen als Vertiefungen und Rippen als Erhöhungen aufweisen. Die Verteilung von Zell- und Gewebekulturen auf den Rippen ist hier so, dass eine mikroskopische Beobachtung nicht optimal ist. Zudem isolieren die Rillen Kulturen voneinander, was für das Wachstum ungünstig ist.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, ein Kulturgefäss der genannten Art zu schaffen, bei welchem die Zellen optisch besser zugänglich sind, einfacher geerntet werden können und das bei kostengünstiger Herstellung zugleich eine bessere Zellausbeute ermöglicht.

Die Aufgabe ist bei einem gattungsgemässen Kulturgefäss gemäss Anspruch 1 gelöst. Durch die Mikrostruktur der Wachstumsfläche wird die Wachstumsfläche, nicht aber das Volumen des Kulturmediums vergrössert. Eine solche Mikrostruktur erschwert das Ernten der adhärennten Zellen nicht und da die Oberfläche des Zellgefässes im Wesentlichen eben ist, ist auch die mikroskopische Untersuchung nicht erschwert. Wesentlich ist auch, dass die Mikrostrukturen es den adhärennten Zellen erlauben, in einer «in-vivo-ähnlichen» Mikroumgebung zu wachsen. Dies dürfte erheblich zur Erhaltung des Differenzierungszustandes und zur erhöhten Zellausbeute beitragen.

Gemäss einer Weiterbildung der Erfindung weist die Wachstumsfläche Erhebungen und Vertiefungen auf, deren Höhe kleiner ist als etwa 100 Mikrometer. Diese Erhebungen und Vertiefungen werden vorzugsweise im Spritzgussverfahren hergestellt.

Mit einem solchen Verfahren lassen sich solche Erhebungen mit einer Höhe von lediglich etwa 5 Nanometern herstellen. Vorzugsweise sind diese Erhebungen regelmässig angeordnet und gleich ausgebildet. Sind die Erhebungen gemäss der Erfindung Pyramidenstümpfe, so werden regelmässige ebene obere und untere Flächen sowie geneigte Flächen geschaffen, auf welchen die Zellen wachsen können. Da diese Erhebungen sehr klein sind, liegen diese Zellen für die optische Untersuchungen dennoch im Wesentlichen in der gleichen optischen Ebene. Die Erhebungen beziehungsweise Vertiefungen sind darum somit bei einem erfindungsgemässen Kulturgefäss vorzugsweise nicht statistisch und zufällig verteilt, sondern regelmässig angeordnet. Damit können auch für unterschiedliche Zellkulturen unterschiedliche Mikrostrukturen geschaffen und untersucht werden.

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird nachfolgend anhand der Zeichnung näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 schematisch ein Schnitt durch ein erfindungsgemässes Kulturgefäss mit einem Zellrasen in einer Nährlösung,

Fig. 2 eine stark vergrösserte Ansicht eines Bereichs der Wachstumsfläche, und

Fig. 3 einen Schnitt entlang der Linie III-III der Fig. 2.

Die Fig. 1 zeigt ein Kulturgefäss 1, das hier eine Petrischale ist, wobei der Deckel weggelassen ist. Das Gefäss 1 besitzt eine Gefässwandung 3 sowie einen Boden 4 und bildet einen Innenraum 2 zur Aufnahme einer Nährlösung 7 sowie einer Zellkultur 6. Die Oberseite des Bodens 4 bildet eine Wachstumsfläche 5, die wie ersichtlich im Wesentlichen eben ist und auf welcher die Zellkultur 6 sich in der Nährlösung 7 befindet. Die Zellkultur 6 kann eine pflanzliche oder tierische Kultur sein. Das Gefäss 1 besteht aus einem Thermoplast, vorzugsweise aus Polystyrol und ist im Spritzgussverfahren hergestellt.

Die Wachstumsfläche 5 weist eine Mikrostruktur 8 auf, wie die Fig. 2 abschnittsweise zeigt. Vorzugsweise erstreckt sich die Mikrostruktur 8 über die gesamte Wachstumsfläche 5. Denkbar ist jedoch auch eine Ausführung, bei welcher nur ein Teilbereich der Wachstumsfläche 5 eine solche Mikrostruktur 8 aufweist. Die Mikrostruktur 8 besteht ersichtlich aus einer Mehrzahl von Erhebungen 9, die vorzugsweise regelmässig angeordnet sind. Diese Erhebungen sind gemäss Fig. 2 Pyramidenstümpfe. Denkbar sind aber auch Erhebungen mit anderen Formen, beispielsweise können diese Erhebungen 9 auch als Kegelstümpfe ausgebildet sein. Die Erhebungen 9 weisen obere ebene Flächen 10, vorzugsweise geneigte Seitenflächen 11, sowie untere Flächen 12 auf. Diese Flächen sind wie ersichtlich geometrisch regelmässige Flächen, vorzugsweise rechteckige Flächen.

Die in Fig. 3 gezeigte Höhe A der Erhebungen 9 ist vorzugsweise gleich oder kleiner als 100 Mikrometer. Die bevorzugte Höhe A liegt im Bereich von 10 bis 60 Mikrometern. In diesem Bereich kann mit

dem Mikroskop scharf gestellt werden und es bestehen vorteilhafte Wachstumsbedingungen. Die Höhe A kann aber auch wesentlich kleiner, beispielsweise 5 Nanometer, sein. Die Breite B der Flächen 10 ist vorzugsweise kleiner als 300 Mikrometer. Ebenfalls ist die Breite der Seitenflächen 11 kleiner als 300 Mikrometer. Diese Flächen 10 und 11 können sehr klein sein und beispielsweise eine Breite von etwa 5 Nanometern aufweisen. Solche Mikrostrukturen werden vorzugsweise im Spritzgussverfahren hergestellt. Die Form der Spritzgussvorrichtung besitzt dann entsprechende Bereiche mit einer solchen Mikrostruktur.

Die zu züchtenden Zellen besitzen eine sehr unterschiedliche Grösse. In der Regel ist die Mikrostruktur 8 so ausgebildet, dass die Zellen auf den Flächen 10, 11 und 12 wachsen. Die Zellen können somit in der Regel auch zwischen den Erhebungen 8 wachsen. Die Zellen können jedoch auch eine Grösse aufweisen, die mit den Erhebungen 9 vergleichbar ist. Die Zellen können auch wesentlich grösser sein als die Erhebungen 8. Für eine optimale Zelladhäsion und Zellwachstum ist das Kulturgefäss beispielsweise im Mikrowellenplasma oberflächenbehandelt.

#### Patentansprüche

1. Kulturgefäss aus Kunststoff für das Züchten von Zell- und Gewebekulturen (6), mit einer mikrostrukturierten Wachstumsfläche (5), die Erhebungen (9) und Vertiefungen aufweist, deren Höhe (A) kleiner ist als 110 Mikrometer, dadurch gekennzeichnet, dass die Erhebungen (9) jeweils eine obere ebene Fläche (10) aufweisen, dass zwischen den Erhebungen (9) ebene Flächen (12) angeordnet sind und dass benachbarte Vertiefungen miteinander verbunden sind, wobei die Erhebungen (9) Pyramiden- oder Kegelstümpfe sind.

2. Kulturgefäss nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Höhe (A) kleiner als 100 Mikrometer ist und vorzugsweise 10 bis 60 Mikrometer beträgt.

3. Kulturgefäss nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die ebene Fläche (10) eine Breite (B) aufweist, die kleiner als 300 Mikrometer ist.

4. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 2 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die ebenen Flächen (10) zwischen den Erhebungen (9) jeweils eine Breite (C) oder Länge aufweisen, die kleiner als 300 Mikrometer ist.

5. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Erhebungen (9) jeweils mehrere Seitenflächen aufweisen (11), die zur Ebene der Wachstumsfläche (5) geneigt sind oder zu dieser rechtwinklig verlaufen.

6. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass es im Spritzgussverfahren aus einem Thermoplast hergestellt ist.

7. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass es aus einem amorphen Thermoplast hergestellt ist.

8. Kulturgefäss nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass der Thermoplast Polystyrol ist.

9. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass es für eine optimale Zelladhäsion und Zellwachstum beispielsweise im Mikrowellenplasma oberflächenbehandelt ist.

10. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass lediglich die Wachstumsfläche (5) eine Mikrostruktur aufweist.

11. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Wachstumsfläche (5) in regelmässiger Anordnung Erhebungen (9) aufweist und diese Erhebungen (9) geometrische und definierte Flächen (10, 11, 12) aufweisen.

12. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass alle oder ein wesentlicher Teil der Erhebungen (9) gleich ausgebildet sind.

13. Kulturgefäss nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Wachstumsfläche (5) zwischen Erhebungen (9) gleiche und regelmässig angeordnete Flächen (12) aufweist.

14. Kulturgefäss nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Flächen (12) zwischen den Erhebungen (9) eben und rechteckig sind.

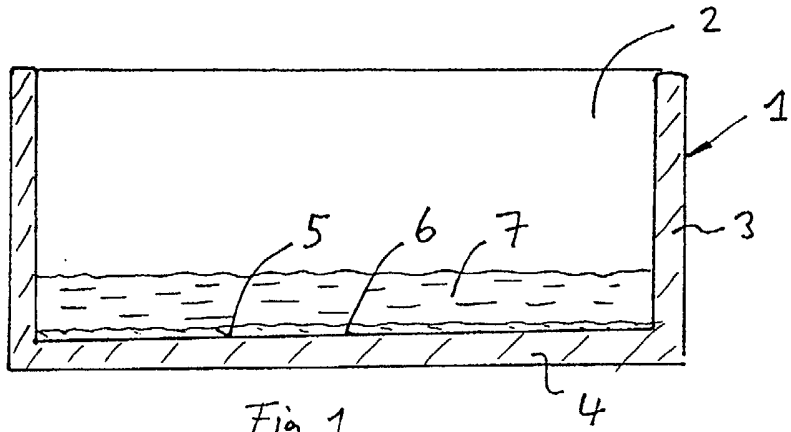


Fig. 1

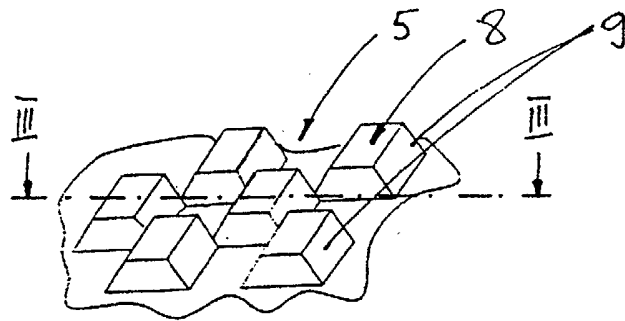


Fig. 2

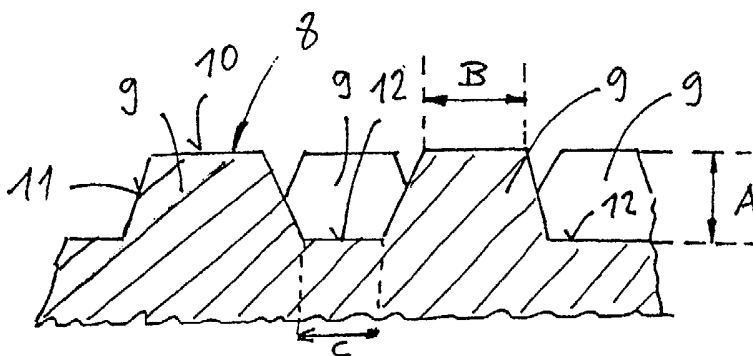


Fig. 3