

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号  
特表2004-534544  
(P2004-534544A)

(43) 公表日 平成16年11月18日(2004.11.18)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I		テーマコード (参考)
C 1 2 M 1/00	C 1 2 M 1/00	D	4 B O 2 9
C 1 2 N 1/00	C 1 2 N 1/00	A	4 B O 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 35 頁)

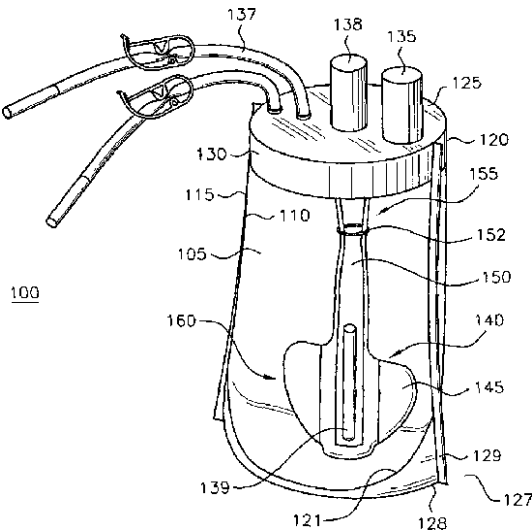
(21) 出願番号 特願2003-512391 (P2003-512391)	(71) 出願人 504012860 アルキャン・パッケージング・ファーマシ ューティカル・アンド・パーソナル・ケア ・インコーポレイテッド ALCAN PACKAGING PHA RMACEUTICAL AND PER SONAL CARE INC. アメリカ合衆国08332-2047ニュ ージャージー州ミルビル、ウィートン・ア ベニュー1101番
(86) (22) 出願日 平成14年7月9日 (2002.7.9)	(74) 代理人 100086405 弁理士 河宮 治
(85) 翻訳文提出日 平成16年1月9日 (2004.1.9)	(74) 代理人 100091465 弁理士 石井 久夫
(86) 国際出願番号 PCT/US2002/021541	
(87) 国際公開番号 W02003/006633	
(87) 国際公開日 平成15年1月23日 (2003.1.23)	
(31) 優先権主張番号 09/901,767	
(32) 優先日 平成13年7月9日 (2001.7.9)	
(33) 優先権主張国 米国 (US)	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 使い捨て容器

(57) 【要約】

本発明は、改良された混合用容器（100）及びそれを使用するための方法に関する。本発明に係る容器（100）は、内部表面部（110）、外部表面部（115）及び上部周辺部とを有する折りたたみ可能なバッグ（105）と、外周端部（130）を有する頭部プレート（125）とを備え、このバッグ（120）の上部周辺部は、前記頭部プレート（125）の外周端部に対して密閉されていることを特徴とする。また、本発明は、この容器と共に使用するための羽根車（140）及び混合方法に関する。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(補正)細胞培養のための容器であって、  
外周端部を有する頭部プレートと、  
内部表面部、外部表面部及び上部周辺部を有する折りたたみ可能バッグであって、前記バッグの上部周辺部が、前記頭部プレートの外周端部に対して密閉されているバッグと、  
柔軟性ブレード及び中央軸を有し、羽根車が中心軸に関して回転しないように前記頭部プレートに取り付けられている羽根車とを備える容器。

## 【請求項 2】

前記バッグが、ポリエチレンからなることを特徴とする請求項 1 記載の容器。

10

## 【請求項 3】

予め殺菌されていることを特徴とする請求項 1 記載の容器。

## 【請求項 4】

前記頭部プレートが、少なくとも一つのポートを有することを特徴とする請求項 1 記載の容器。

## 【請求項 5】

(削除)

## 【請求項 6】

(補正)前記羽根車が、ポリエチレンからなることを特徴とする請求項 1 記載の容器。

## 【請求項 7】

20

(補正)前記羽根車が、上部領域と底部領域とを有する中空状柔軟性シャフトからなり、前記上部領域が前記頭部プレートに接続されていることを特徴とする請求項 1 記載の容器。

## 【請求項 8】

前記柔軟性ブレードが、前記シャフトの底部領域に接続されていることを特徴とする請求項 7 記載の容器。

## 【請求項 9】

前記柔軟性ブレードが、前記シャフトに隣接することを特徴とする請求項 8 記載の容器。

## 【請求項 10】

前記シャフトが、磁石を含むことを特徴とする請求項 7 記載の容器。

30

## 【請求項 11】

前記シャフトの上部領域が、前記シャフトの動きを周期的な振り子状の回転に制限するための手段を有することを特徴とする請求項 7 記載の容器。

## 【請求項 12】

前記手段が、オーリングを含むことを特徴とする請求項 11 記載の容器。

## 【請求項 13】

細胞を培養するための容器であって、  
頭部プレートと、  
前記頭部プレートに対して密閉されたバッグであって、予め殺菌された折りたたみ可能バッグと、  
前記頭部プレートと接続された中空状柔軟性シャフトを有する羽根車と、  
前記羽根車に取り付けられた 2 つの柔軟性ブレードと、  
前記柔軟性シャフト上に配された締付け具オーリングとを備えることを特徴とする容器。

40

## 【請求項 14】

前記頭部プレートが、前記羽根車の中空状柔軟性シャフトにアクセスするためのポートを有することを特徴とする請求項 13 記載の方法。

## 【請求項 15】

(補正)上部領域と底部領域とを有しさらに磁石を含む中空状柔軟性シャフトを備える羽根車であって、前記底部領域が柔軟性ブレードを含み、前記磁石を前記中空状柔軟性シャフトの上部から取り出すことができることを特徴とする羽根車。

50

## 【請求項 16】

前記底部領域が、2つの柔軟性ブレードを有することを特徴とする請求項15記載の羽根車。

## 【請求項 17】

(削除)

## 【請求項 18】

ポリエチレンからなることを特徴とする請求項15記載の羽根車。

## 【請求項 19】

(削除)

## 【請求項 20】

10

(補正)液体を混合するための方法であって、  
中空状柔軟性シャフトからなる羽根車を含む容器であって、折りたたみ可能バッグを有する容器を準備する工程と、  
前記羽根車の中空状シャフトに磁石を挿入する工程と、  
外部磁力を加えることにより、前記磁石と相互作用させ、前記磁石と前記中空状シャフトに動作を与える工程と、  
前記羽根車の中空状シャフトの上部から前記磁石を取り出す工程とを備えることを特徴とする方法。

## 【請求項 21】

さらに、前記容器を処分する工程を含むことを特徴とする請求項20記載の方法。

20

## 【請求項 22】

前記容器が、さらに頭部プレートを含み、前記羽根車の中空状柔軟性シャフトが、上部領域と底部領域を有し、前記上部領域が前記頭部プレートに接続されていることを特徴とする請求項20記載の方法。

## 【請求項 23】

(補正)予め殺菌された容器内で細胞を培養する方法であって、  
前記容器は、頭部プレートと、上部領域及び底部領域を有する中空状柔軟性シャフトと共に、折りたたみ可能バッグを備え、  
前記上部領域が前記頭部プレートに接続され、前記底部領域が柔軟性ブレードを含み、さらに、  
前記羽根車の中空状シャフトに磁石を挿入する工程と、  
前記細胞系を増殖させる工程と、  
前記細胞系と媒体を前記容器から取り出す工程と、  
前記磁石を、前記羽根車の中空状シャフトから取り出す工程と、  
前記容器を処分する工程とを備えることを特徴とする方法。

30

## 【請求項 24】

(補正)折りたたみ可能容器の中で細胞を培養する方法であって、  
前記容器は、中空状シャフトを有する羽根車を含み、さらに、  
前記中空状シャフト内に磁石を挿入する工程と、  
外部磁力を加えることにより、前記磁石と相互作用させ、前記磁石と前記中空状シャフト  
とに動作を与える工程と、  
前記中空状シャフトの上部から前記磁石を取り出す工程とを備えることを特徴とする方法。

40

## 【請求項 25】

さらに、前記容器を処分する工程を備えることを特徴とする請求項24記載の方法。

## 【請求項 26】

(補正)外周端部を有する頭部プレートと、  
内部表面部、外部表面部及び上部周辺部を有する折りたたみ可能バッグであって、前記バッグの上部周辺部が前記頭部プレートの外周端部に対して密閉されているバッグと、  
前記折りたたみ可能バッグ内に、中央軸及びブレードを有する柔軟性羽根車であって、軸

50

に関して回転しないように前記頭部プレートに取り付けられている羽根車とを備える容器。

【請求項 27】

前記バッグが、ポリエチレンからなることを特徴とする請求項 26 記載の容器。

【請求項 28】

予め殺菌されていることを特徴とする請求項 26 記載の容器。

【請求項 29】

前記頭部プレートが、少なくとも 1 つのポートを有することを特徴とする請求項 26 記載の容器。

【請求項 30】

前記羽根車が、ポリエチレンからなることを特徴とする請求項 26 記載の容器。

【請求項 31】

(補正) 前記羽根車が、中空状柔軟性シャフト及び柔軟性ブレードからなることを特徴とする請求項 26 記載の容器。

【請求項 32】

前記柔軟性ブレードが、前記シャフトの底部領域に接続されていることを特徴とする請求項 31 記載の容器。

【請求項 33】

前記柔軟性ブレードが、前記シャフトに隣接することを特徴とする請求項 32 記載の容器。

【請求項 34】

前記シャフトが、磁石を包含することを特徴とする請求項 31 記載の容器。

【請求項 35】

前記シャフトの上部領域が、前記シャフトの動きを、周期的な振り子状の回転に限定するための手段を含んでいることを特徴とする請求項 31 記載の容器。

【請求項 36】

前記手段が、オーリングを含むことを特徴とする請求項 35 記載の容器。

【請求項 37】

頭部プレートと、

前記頭部プレートに対して密閉されたバッグであって、予め殺菌された折りたたみ可能バッグと、

前記頭部プレートに接続された中空状柔軟性シャフトを有する羽根車と、

前記羽根車に取り付けられた 2 つの柔軟性ブレードと、

前記柔軟性シャフト上に配されたオーリングと、

前記羽根車の中空状柔軟性シャフトにアクセスするためのポートであって、前記頭部プレート内に配されたポートとを備えることを特徴とする容器。

【請求項 38】

(補正) 容器の内容物を混合するための方法であって、

前記容器が中空状シャフトを有する羽根車を含み、

前記中空状シャフトの上部から磁石を挿入する工程と、

外部磁力を加えることにより、前記磁石と相互作用させ、前記磁石と前記中空状シャフトとに動作を与える工程とを備える方法。

【請求項 39】

さらに、前記容器を処分する工程を備えることを特徴とする請求項 38 記載の方法。

【請求項 40】

(補正) 予め殺菌された容器内の内容物を混合する方法であって、

前記容器が、

頭部プレートと、

内部、上部領域及び底部領域を有する中空状柔軟性シャフトからなる羽根車と、

を備える折りたたみ可能バッグを有し、

10

20

30

40

50

前記シャフトの内側が前記頭部プレートのホールに通じるように、前記上部領域が前記頭部プレートに接続され、前記底部領域が柔軟性ブレードを含み、さらに、前記羽根車の中空状シャフトに、前記頭部プレートのホールを介して磁石を挿入する工程と、  
前記容器に内容物を導入する工程と、  
外部磁力を加えることにより、前記磁石と相互作用させ、前記磁石と前記中空状シャフトに動作を与える工程と、  
前記内容物を混合する工程と、  
前記容器から前記内容物を取り出す工程と、  
前記容器を処分する工程とを備えることを特徴とする方法。

10

**【請求項 4 1】**

(新たに追加) 中央軸、上端部および下端部を有するシャフトと、前記シャフトから突出した 1 以上のブレードとを備え、  
前記シャフトの上端部が、中央軸に関して回転しないように制限されていることを特徴とする羽根車。

**【請求項 4 2】**

(新たに追加) 前記ブレードが、柔軟性であることを特徴とする請求項 4 1 記載の羽根車。

**【請求項 4 3】**

(新たに追加) 前記柔軟性ブレードが、第一の角度で前記シャフトから突出しており、使用中において、シャフトから突出する複数のブレードのなす角度が前記第一の角度より小さくなり、その後前記第一の角度より大きくなるように交互に曲がることを特徴とする請求項 4 1 記載の羽根車。

20

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(技術分野)**

本発明は、実験用容器に関する。より詳細には細胞培養のための改良された容器およびその使用方法に関する。

**【0002】****(背景技術)**

試験管内で培養される細胞には 2 つのタイプがある。即ち、浮遊性細胞(支えに依存しない細胞)及び付着性細胞(支えに依存する細胞)である。支えに依存する浮遊性細胞は、表面に固定されることなく試験管内で増殖する。対照的に、支えに依存する付着性細胞は、試験管内で成長するためには表面に取り付いている必要がある。

30

**【0003】**

支えに依存しない浮遊性細胞は、一般的に、ガラス製、金属製、若しくは硬いプラスチック製の容器の中で成長する。しかし、これらの細胞培養容器を使用することに対して不都合が生じていた。ガラス製及び金属製の細胞培養容器は高価である。さらにこれらの容器はメンテナンスを必要とする。これは、これらの容器が使い捨て可能でなく、滅菌されていないからである。細胞の培養のために、殺菌された環境若しくは無菌の環境に保つために、通常滅菌器を使用することによって容器を殺菌する必要がある。それゆえ、この細胞培養容器は、これらを使用する前及び/又は使用した後に洗浄し殺菌しなければならない。さらに、ガラス製及び金属製の細胞培養容器は使い捨てではないので、ガラス製及び金属製の容器を保管するため十分なスペースが必要になる。このように、ガラス製、金属製及び硬いプラスチック製の細胞培養容器は高価であり、使い捨て可能ではなく、大掛かりなメンテナンスが必要であるので、高価でなく、使い捨て可能で、折りたたみ可能で、さらに予め殺菌された細胞培養容器が必要とされている。

40

**【0004】**

さらに、支えに依存しない生物細胞が成長するために、その細胞は絶えず浮遊している必要がある。細胞を浮遊した状態に保つため、細胞培養容器は、その細胞を浮遊した状態に

50

保つ手段を備えていなければならない。多くの細胞培養容器は、細胞を浮遊した状態に保つために回転する羽根車であって、ブレードを有する羽根車を備えている。もし、その羽根車の回転及び動きが強すぎるか、ブレードが硬すぎるか若しくは長すぎると、羽根車若しくはブレードの力により細胞を破碎してしまう。同様に、もし羽根車の回転若しくはその動きがあまりにも弱すぎるか若しくはブレードが短すぎると、細胞を浮遊させた状態に保つことができない。そのため、細胞の破碎を抑え、さらに細胞を浮遊した状態に保つために緩やかな攪拌を行う改良細胞培養容器が必要とされている。

#### 【0005】

(発明の開示)

本発明は、内部表面部、外部表面部、及び上部周辺部を備えるバッグと、外周端部を有する頭部プレートとを備え、バッグの上部周辺部が、頭部プレートの外周端部に対して密閉されていることを特徴とする折りたたみ可能な細胞培養用容器を提供するものである。また、本発明は、上部領域及び底部領域を有する中空状柔軟性シャフトを備え、上記底部領域が柔軟性ブレードを有することを特徴とする羽根車を提供するものである。さらに、本発明は、液体を混合する方法であって、中空状柔軟性シャフトを有する羽根車を備える折りたたみ可能なバッグを有する容器を準備する工程と、磁石を上記羽根車の中空状シャフトに挿入する工程と、調整可能な外的磁力を加えることにより、上記磁石と相互作用させ、その磁石と中空状シャフトに動作を与える工程を備える混合方法を提供するものである。

#### 【0006】

新規であると考えられる本発明の特徴及び本発明の特性を示している構成要素は、特に添付の特許請求の範囲の詳細と共に述べられている。図面は、例示のためだけのものであり、また一定の比率で描いていない。しかし、オペレーションに関する物及び方法の両方の発明は、添付の図面と共に、次の詳細な説明を参照することによりよく理解されるだろう。

#### 【0007】

(発明の詳細な説明)

本発明は、内部表面部、外部表面部及び上部周辺部を有する折りたたみ可能なバッグと、頭部プレートとを有する細胞培養用容器を提供するものである。このバッグは、その上部周辺部を頭部プレートの外周端部に密閉するように外周端部を保持する。また、本発明は、上部領域と底部領域を有する中空状柔軟性シャフトを備え、この底部領域が柔軟性ブレードを有することを特徴とする羽根車を提供するものである。さらに、本発明は、液体を混合するための方法であって、中空状柔軟性シャフトからなる羽根車を有する容器であって、折りたたみ可能なバッグを備える容器を準備する工程と、羽根車の中空状シャフトに磁石を挿入する工程と、調整可能な外的磁力を加えて、上記磁石と相互作用させ、この磁石と中空状シャフトに動作を与える工程を備える方法を提供するものである。また、この方法は、容器を処分する前に、この羽根車の中空状シャフトから磁石を取り外す工程を含んでいてもよい。

#### 【0008】

本発明に係る具体的な実施の形態の容器は、薄い柔軟性ブレードと、再使用可能な磁石を設置することができる中空状シャフトとを有する羽根車を備える。この羽根車のシャフト内に磁石があることにより、また、この羽根車のシャフト上に制限手段(オーリング等)を配することにより、調節可能な磁力(磁気攪拌プレート等)をこの容器に加えたとき、羽根車を緩やかに回転させ、柔軟性ブレードの連続的なうねり動作を引き起こす。これにより、細胞を緩やかに攪拌することができ、このことによって細胞を浮遊した状態に保つことができ、さらに細胞の破碎を防ぐことができる。

#### 【0009】

図1は、内部表面部110、外部表面部115、及び上部周辺部120を有する折りたたみ可能なバッグ105と、頭部プレート125とを備える細胞培養用容器100を示している。頭部プレート125は、外周端部130を有する。この外周端部130は、バッグ105の上部周辺部120に対して密閉されている。ある密閉方法では、単に端部130

を頭部プレート 125 に溶接することが含まれる。しかし、接着剤、ホットメルト接着剤、若しくは当業者により理解することができる他の密閉方法を含む方法を使用してもよい。さらに、折りたたみ可能バッグ 105 は、外部端部 128 を含む底部 127 を有する。この底部 127 により、バッグ 105 はその構造自体で立っていることができる。この具体的実施の形態では一般的であるが、バッグ 105 が形成されるとき、外部端部 128 が形成される。バッグ 105 は、折りたたみ可能なプラスチックから形成され、継ぎ目 129 に沿って密閉される。これらの継ぎ目の下部は、バッグ 105 を安定させ、プラットフォームを形成する。バッグ 105 を真直ぐ立った状態に安定させることを保証する他の方法であって、本発明と矛盾がなく、頭部プレート 125 と同様のベースを使用することを含む他の方法を考え出すこともできる。

10

#### 【0010】

しかし、この容器内において良好な混合を保証するため、流れの遅い領域若しくは小さな渦のポケット (eddy pocket) を防止することが重要である。例えば、図 1 ではバッグ 105 が外部端部 128 まで延びていないことが示されている。内部表面部 110 の底部 121 は、良好な混合を達成するため丸みを帯びている。

#### 【0011】

本発明のある実施の形態では、容器 100 はポリエチレンから形成されている。さらに、容器 100 は、予め殺菌されている。たいていの細胞培養は、いわゆる滅菌技術を用いることにより無菌の状態下で行われるので、容器 100 を予め殺菌することにより、培養チャンバー及び液体経路を閉じられた無菌の環境に保つ。最良の目的が、培養プロセスを、培養チャンバー及び液体経路が機能的に外部環境に対して閉じられているシステムにおいて実行することであるため、予備殺菌のためには、容器 100 が折りたたみ可能であり、また使い捨て可能であることが理想的である。これは、その装置が製造されたときからその器具が配置されたときまで無菌の完全性を維持するためである。当業者により知られた他の方法を使用してもよい。

20

#### 【0012】

他の実施の形態では、頭部プレート 125 は、少なくとも 1 つのポート 135 を有する。容器 100 に充填するためのポート 135 を、本発明に従って使用してもよい。ポート 137 は、ガス供給のためのポートであってもよい。この具体的実施の形態では、ポート 138 により、磁石 139 を挿入することができる。これらは、頭部プレート 125 に備えられた様々な多くのポートの単なる具体例である。当業者であれば、特定の細胞培養のために必要とされるものを知ることができ、特定の応用のために必要なポートを容易に与えることができる。

30

#### 【0013】

ある具体的実施の形態では、容器 100 は羽根車 140 を有し、この羽根車 140 は柔軟性ブレード 145 を備える。柔軟性ブレード 145 は、ポリエチレンから形成されていてもよい。柔軟性ブレード 145 は、単一のブレード、一対のブレード、若しくは複数のブレードであってもよい。羽根車 140 は、中空状柔軟性シャフト 150 からなる。この中空状柔軟性シャフト 150 は、上部領域 155 及び底部領域 160 を有し、この上部領域 155 は頭部プレート 125 に接続され、さらにこの柔軟性ブレード 145 はシャフト 150 の底部領域 160 に接続されている。本発明の具体的実施の形態では、柔軟性ブレード 145 がシャフト 150 と接触している。羽根車 140 のシャフト 150 は、磁石 139 を含んでいてもよい。本発明の具体的実施の形態では、シャフト 150 の上部領域 155 は、シャフト 150 の動作を略一定周期の楕円形振り子状の回転に制限する手段を備える。本発明では、シャフト 150 の動作を制限する手段は、オーリング 152、ノッチ、若しくは羽根車 140 のシャフト 150 の上部領域 155 において比較的弱いポイントを作り出して羽根車 140 のツイスト運動を防止する他の手段であってもよい。

40

#### 【0014】

図 2 は容器 100 の構成要素を示している。上記のように、容器 100 の構成要素は、折りたたみ可能バッグ 105、頭部プレート 125、及び羽根車 140 である。バッグ 10

50

5 は、内部表面部 1 1 0、外部表面部 1 1 5、及び上部周辺部 1 2 0 を有する。上記のように、バッグ 1 0 5 の上部 1 2 0 を熱密閉してもよいし、若しくは頭部プレート 1 2 5 の端部 1 3 0 に取り付けてもよい。バッグ 1 0 5 の底部 1 2 7 は、バッグ 1 0 5 を支えるため外部端部 1 2 8 を有していてもよい。外部端部 1 2 8 は、バッグ 1 0 5 の外部表面部 1 1 5 の角部において三角形状を形成する。ここで、この外部端部は、バッグ 1 0 5 の内部表面部 1 1 0 から分離している。羽根車 1 4 0 は、中空状柔軟性シャフト 1 5 0 からなり、このシャフトは上部領域 1 5 5 と底部領域 1 6 0 を有し、この上部領域 1 5 5 は、例えば熱密閉により、頭部プレート 1 2 5 のポート 1 3 8 の底部 2 0 0 と接続され、シャフト 1 5 0 の底部領域 1 6 0 は柔軟性ブレード 1 4 5 に接続される。

【0015】

10

図 3 は、液体 3 0 0 及び粒子 3 0 5 が充填された容器 1 0 0 であって、調整可能磁気攪拌プレート 3 1 0 上に置かれた容器を示している。この実施の形態では、液体 3 0 0 は細胞培養のための媒体であり、粒子 3 0 5 は生物細胞である。

【0016】

図 4 A ~ 4 D は、調整可能な磁気攪拌プレート 3 1 0 を用いて磁力を容器 1 0 0 に加えたときの、容器 1 0 0 内の羽根車 1 4 0 のシャフト 1 5 0 の柔軟性ブレード 1 4 5 及び粒子 3 0 5 の連続的な動きを示している。調整可能磁気攪拌プレート 3 1 0 は、シャフト上に備えられた棒状磁石であって、モータにより駆動される磁石を含む。当業者であれば、そのような攪拌プレートに精通している。モータの速度は、一般的に加減抵抗器により制御される。本発明によれば、図 4 A に示しているように、調整可能磁気攪拌プレート 3 1 0 20 のような磁力が容器 1 0 0 に加えられたとき、磁気攪拌プレート 3 1 0 内の棒状磁石（図示せず）の回転により、容器 1 0 0 内の磁石 1 3 9 の楕円状回転運動を引き起こす。攪拌プレート 3 1 0 内の磁石の回転に対応した磁石 1 3 9 の動きにより、楕円形振り子状の回転運動を始める。羽根車 1 4 0 が矢印 4 0 0 の方向に移動するとき、柔軟性ブレード 1 4 5 に対する液体の抵抗により、柔軟性ブレード 1 4 5 を矢印 4 0 0 の逆方向に押しやり、その結果粒子 3 0 5 を攪拌する。図 4 B は、羽根車 1 4 0 が矢印 4 0 5 の方向に移動し始めたとき、柔軟性ブレード 1 4 5 及び粒子 3 0 5 が矢印 4 0 5 の逆方向に押しやられることを示している。図 4 C は、楕円形の振り子状の回転により運動を続けている羽根車 1 4 0 を示している。羽根車 1 4 0 は、矢印 4 1 0 の方向に移動し続けるので、柔軟性ブレード 1 4 5 及び粒子 3 0 5 は、矢印 4 1 0 の逆方向に押しやられる。図 4 D は、楕円形振り 30 子状の回転が続けて行われている羽根車であって、矢印 4 1 5 の方向に移動し始めた羽根車 1 4 0 を示している。柔軟性ブレード 1 4 5 及び粒子 3 0 5 は、同じように、矢印 4 1 5 と逆方向に押しやられる。羽根車 1 4 0 及び柔軟性ブレード 1 4 5 が、楕円形振り子状の回転により連続して運動することにより、粒子 3 0 5 は連続して浮遊することとなる。

【0017】

図 4 A ~ 4 D に示すように、締付け具 1 5 2 が存在することにより、シャフト上に " 旋回点 " 若しくは " 弱部ポイント " を作り出す。磁石 1 3 9 及び調整可能外部磁力（攪拌プレート 3 1 0 等）が相互作用するとき、この装置は、羽根車 1 4 0 の動きに影響を与える。その結果、羽根車 1 4 0 は楕円形振り子状に回転することとなる。締付け具 1 5 2 は、リング若しくは結んだ状態の材料を含む多くの形態を取ることができる。具体的な締付け具 40 は、シャフトの周りに配された一般的なオーリングである。別の実施の形態では、そのシャフト自身の中のノッチにより、望ましい楕円形振り子状回転を起こす " 旋回ポイント " を作り出すことができる。羽根車 1 4 0 が楕円形振り子状に回転する結果、柔軟性ブレード 1 4 5 は緩やかに回転し、液体 3 0 0 及び粒子 3 0 5 を緩やかに攪拌する。液体 3 0 0 が細胞培養のための媒体であり、粒子 3 0 5 が生物細胞である場合、一般的に、柔軟性ブレード 1 4 5 を緩やかに動かし、液体 3 0 0 及び粒子 3 0 5 を緩やかに攪拌する。

【0018】

図 5 A 及び 5 B は、磁力を容器 1 0 0 に加えたときの羽根車 1 4 0 の楕円形振り子状の回転と、攪拌プレート内の磁石の回転の柔軟性ブレード 1 4 5 及び粒子 3 0 5 に与える影響とを示している。

50



## 【 0 0 1 9 】

また、本発明は上部領域 1 5 5 及び底部領域 1 6 0 を有する中空状柔軟性シャフト 1 5 0 を備え、底部領域 1 6 0 が柔軟性ブレード 1 4 5 を有することを特徴とする羽根車 1 4 0 に関する。羽根車 1 4 0 は、ポリエチレンから形成されていても良い。具体的実施の形態では、羽根車 1 4 0 の底部領域 1 6 0 は、2 つの柔軟性ブレード 1 4 5 を備える。羽根車 1 4 0 の中空状柔軟性シャフト 1 5 0 は磁石 1 3 9 を有していてもよく、磁石 1 3 9 を取り外し可能であってもよい。磁石 1 3 9 を羽根車 1 4 0 から取り外すことが可能であるため、羽根車 1 4 0 は使い捨て可能であり、追加された羽根車若しくは容器に磁石 1 3 9 を再利用することができる。磁石 1 3 9 を再利用することができることにより有利な効果を奏することができる。これは、それぞれの使用毎に磁石を取り替えなければならない場合、磁石 1 3 9 を使い捨てることによりコストがかかるためである。

## 【 0 0 2 0 】

また、本発明は液体を混合する方法に関する。最初に、中空状柔軟性シャフトからなる羽根車を有する容器であって、折りたたみ可能バッグを含む容器を準備する。その後、磁石をこの羽根車の中空状シャフトに挿入する。調整可能な外部磁力（磁気攪拌プレート等）を加えることにより、上記磁石と相互作用させ、この中空状シャフトに動作を与える。その後、この磁石を羽根車の中空状シャフトから取り外す。さらにこの方法は、頭部プレートと、上部領域及び底部領域を有する、羽根車の中空状柔軟性シャフトとを備え、この上部領域が頭部プレートと接続されていることを特徴とする容器を含んでいてもよい。

## 【 0 0 2 1 】

また、本発明は、本発明に係る容器を使用する最も好ましい方法であって、細胞を培養する方法に関する。最初に、予め殺菌された容器であって、頭部プレートと、上部領域及び底部領域を有する中空状柔軟性シャフトからなる羽根車とを有する折りたたみ可能バッグを含み、この上部領域が上記頭部プレートと接続され、前記底部領域が柔軟性ブレードを備えることを特徴とする容器を準備する。その後、羽根車の中空状シャフトに磁石を挿入し、細胞系（cell line）と媒体とを充填ポートを介して容器に導入する。その後、この細胞系を増殖させ、この細胞系及び媒体を容器から取り除く。最終的に、この磁石を羽根車の磁石用ポートを介して羽根車の中空状シャフトから取り除き、その容器を処分する。

## 【 0 0 2 2 】

特に、本発明は、詳細な好ましい実施の形態と共に記載されているけれども、当業者が多くの変更、修正、及びバリエーションに至ることは明白である。それゆえ、添付のクレームが、例えば、本発明の技術的範囲及びその精神内にあるような変更、修正、及びバリエーションを包含することは予期されることである。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 3 】

【 図 1 】 図 1 は、本発明のある実施の形態を示している。

【 図 2 】 図 2 は、本発明に係る容器の構成要素を示している。

【 図 3 】 図 3 は、液体で満たされ、さらに粒子を有する本発明に係る容器を、調整可能な磁気攪拌プレート上に置いた状態を示している。

【 図 4 】 図 4 A は、本発明に係る容器の部分側面図であって、磁力をこの容器に加えたときの、羽根車、柔軟性ブレード及び粒子の最初の回転動作を描いている。図 4 B は、本発明に係る容器の部分側面図であって、磁力をこの容器に加えたときの、羽根車、柔軟性ブレード及び粒子のその続きの回転動作を描いている。図 4 C は、本発明に係る容器の部分側面図であって、磁力によりこの羽根車を、図 4 B に描いた回転の方向と逆に移動させたときの、羽根車、柔軟性ブレード及び粒子の続きの回転動作を描いている。図 4 D は、本発明に係る容器の部分側面図であって、磁力を容器に加えたときの、図 4 C に描いたような羽根車、柔軟性ブレード及び粒子のその続きの回転動作を描いている。

【 図 5 】 図 5 A は、本発明に係る容器の上面図であって、磁力を容器に加えたときの最初の回転動作による羽根車、柔軟性ブレード及び粒子の動きを示している。図 5 B は、本発明に係る容器の上面図であって、図 5 A に描かれた容器に磁力を加えたときの、反対方向

の回転による、羽根車、柔軟性ブレード及び粒子の動きを描いている。

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
23 January 2003 (23.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 03/006633 A1

- (51) International Patent Classification: C12N 5/02, C12M 1/02  
(21) International Application Number: PCT/US02/21541  
(22) International Filing Date: 9 July 2002 (09.07.2002)  
(25) Filing Language: English  
(26) Publication Language: English  
(30) Priority Data: 09/901,767 9 July 2001 (09.07.2001) US  
(71) Applicant: WHEATON USA, INC. [US/US]; 1101 Wheaton Avenue, Millville, NJ 08332-2047 (US).
- (81) Designated States (*national*): AB, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KR, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IL, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BI, BJ, CI, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

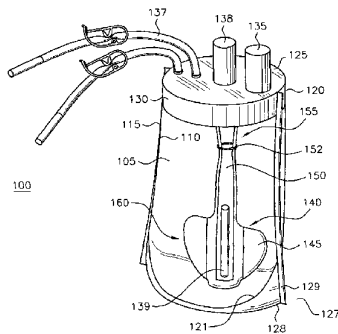
Published:  
with international search report  
— with amended claims

(72) Inventor: CARLL, Kenneth, B.; 26 North West Drive, Bridgeton, NJ 08302 (US).

(74) Agents: SPADT, Jonathan, H. et al.; RatnerProstia, 301 One Westlakes (Herwyn), P.O. Box 980, Valley Forge, PA 19482-0980 (US).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: DISPOSABLE VESSEL.



(57) Abstract: The present invention relates to an improved vessel (100) for mixing and methods for its use. The vessel (100) of the present invention comprises a collapsible bag (105) with an inner surface (110), an outer surface (115) and a top periphery (120) and a headplate (125) having a circumferential edge (130) wherein the top periphery of the bag (120) is sealed to the edge of the headplate (125). The present invention also relates to an impeller (140) for use with the vessel and a method for mixing.

WO 03/006633 A1

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 1 -

## DISPOSABLE VESSEL

## FIELD OF INVENTION

The present invention relates to laboratory vessels. More specifically, the present invention relates to an improved vessel for cell culture and methods for its use.

## 5 BACKGROUND OF THE INVENTION

There are two major types of cells grown *in vitro*: suspension cells (anchorage-independent cells); and adherent cells (anchorage-dependent cells). Suspension or anchorage-independent cells can proliferate, *in vitro*, without being attached to a surface. In contrast, adherent or anchorage-dependent cells require  
10 attachment to a surface in order to grow *in vitro*.

Suspension or anchorage-independent cells have typically been grown *in vitro* in glass, metal, or hard plastic vessels. There have been disadvantages, however, to using these cell culture vessels. Glass and metal cell culture vessels are expensive and require maintenance, as they are not disposable or sterile. In order to maintain a sterile  
15 or aseptic environment for cell culture, the vessels require sterilization, usually by autoclave. Therefore, the cell culture vessels must be washed and sterilized prior to and/or subsequent to their use. In addition, because glass and metal cell culture vessels are not disposable, it is necessary to have adequate space for storage of the glass and metal vessels. Thus, as glass, metal, and hard plastic cell culture vessels are expensive,  
20 not disposable, and require extensive maintenance, there has been a need for a cell culture vessel that is inexpensive, disposable, collapsible, and pre-sterilized.

Further, for anchorage-independent biological cells to grow, the cells require constant suspension. In order for the cells to remain suspended, a cell culture vessel must have means for keeping the cells suspended. Many cell culture vessels have  
25 an impeller with blades that rotate to keep cells suspended. If the impeller rotation or movement is too strong or the blades are too rigid or too long, the cells may be sheared by the force of the impeller or blades. Likewise, if the impeller rotation or movement is too weak or the blades are too short, the cells may not remain suspended. Therefore, there is a need for an improved cell culture vessel which provides gentle stirring to  
30 prevent shearing and keep cells suspended.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 2 -

## SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides a vessel for cell culture comprising a collapsible bag with an inner surface, an outer surface, a top periphery and a headplate having a circumferential edge wherein the top periphery of the bag is sealed to the edge of the headplate. The present invention also provides an impeller comprising a hollow flexible shaft having a top region and a bottom region, wherein the bottom region comprises a flexible blade. The present invention further provides a method of mixing a fluid comprising the steps of providing a vessel having a collapsible bag containing an impeller comprised of a hollow flexible shaft, inserting a magnet into the hollow shaft of the impeller, introducing an external, adjustable magnetic source to interact with the magnet and cause the magnet and the hollow shaft to move.

## BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The features of the invention believed to be novel and the elements characteristic of the invention are set forth with particularity in the appended claims. The figures are for illustration purposes only and are not drawn to scale. The invention itself, however, both as to organization and method of operation, may best be understood by reference to the detailed description which follows taken in conjunction with the accompanying drawing in which:

FIG. 1 illustrates one embodiment of the present invention;

FIG. 2 illustrates the components of the vessel of the present invention;

FIG. 3 shows the vessel of the present invention filled with a fluid and containing particles on an adjustable magnetic stir plate;

FIG. 4A is a partial side view of a vessel according to the present invention depicting a first movement of the rotation of the impeller, flexible blades and particles as a magnetic force is applied to the vessel;

FIG. 4B is a partial side view of a vessel according to the present invention depicting the continued movement of the rotation of the impeller, flexible blades and particles as a magnetic force is applied to the vessel;

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 3 -

FIG. 4C is a partial side view of a vessel according to the present invention depicting the continued movement of the rotation of the impeller, flexible blades and particles as the magnetic force causes the impeller to move in the opposite direction of the rotation depicted in FIG. 4B.

5        FIG. 4D is a partial side view of a vessel according to the present invention depicting the continued movement of the rotation of the impeller, flexible blades and particles as depicted in FIG. 4C as a magnetic force is applied to the vessel;

FIG. 5A is a top view of a vessel according to the present invention depicting the movement of the impeller, flexible blades and particles through a first rotation as a magnetic force is applied to the vessel; and

10

FIG. 5B is a top view of a vessel according to the present invention depicting the movement of the impeller, flexible blades and particles through an opposite rotation as a magnetic force is applied to the vessel as depicted in FIG. 5A.

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

15        The present invention provides a vessel for cell culture comprising a collapsible bag with an inner surface, an outer surface, a top periphery and a headplate. The bag has a circumferential edge wherein the top periphery of the bag is sealed to the edge of the headplate. The present invention also provides an impeller comprising a hollow flexible shaft having a top region and a bottom region, wherein the bottom region

20        comprises a flexible blade. The present invention further provides a method of mixing a fluid comprising the steps of providing a vessel having a collapsible bag containing an impeller comprised of a hollow flexible shaft, inserting a magnet into the hollow shaft of the impeller, introducing an external, adjustable magnetic source to interact with the magnet and cause the magnet and the hollow shaft to move. The method may also

25        include the removal of the magnet from the hollow shaft of the impeller prior to disposal of the vessel.

The vessel according to an exemplary embodiment of the present invention has an impeller with thin, flexible blades and a hollow shaft in which a reusable magnet can be placed. The presence of a magnet within the shaft of the impeller and the presence

30        of a restricting means disposed on the shaft of the impeller, such as an o-ring, allows the

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 4 -

gentle rotation of the impeller and the subsequent undulation of the flexible blades when an adjustable magnetic force, such as a magnetic stir plate, is applied to the vessel. This creates a gentle stirring of the cells, which keeps the cells in suspension and prevents the cells from shearing.

5           FIG. 1 shows a vessel 100 for cell culture comprising a collapsible bag 105 with an inner surface 110, an outer surface 115, a top periphery 120 and a headplate 125. Headplate 125 has a circumferential edge 130 to which top periphery 120 of bag 105 is sealed. One method of sealing includes simply melting edge 130 to headplate 125. Other  
10       methods could be used, however, including glue, hot-melt adhesives, or other sealing methods as understood by those skilled in the art. Collapsible bag 105 further comprises a bottom 127 with outer edges 128 which allow bag 105 to be free standing. Typical to the exemplary embodiment, outer edges 128 are formed when bag 105 is constructed. Bag 105 is formed from a collapsible plastic and sealed along its seams 129. The lower  
15       part of those seams forms the stabilization, or platform, for bag 105. Other methods of insuring the upright stabilization of bag 105 could be envisioned, which are consistent with this invention, include the use of a base similar to headplate 125.

          It is important, however, that low flow regions or eddy pockets are avoided to insure good mixing within the vessel. FIG. 1, for example, shows that the bag 105  
20       does not extend into outer edges 128. Moreover, bottom 121 of inner surface 110 is rounded to achieve good mixing.

          In one embodiment of the present invention, vessel 100 is comprised of polyethylene. In addition, vessel 100 can be pre-sterilized. As most cell culture  
25       procedures are carried out under aseptic conditions by practicing the so-called sterile technique, the pre-sterilization of vessel 100 provides the culture chamber and the fluid pathway to be maintained in a sterile, closed environment. Because the most optimal  
30       objective is to have the culture process carried out in a system where the culture chamber and fluid path is functionally closed to the external environment, with the sterile integrity maintained from the time the device is manufactured until it has been disposed of, the collapsibility and disposability of vessel 100 is ideal for pre-sterilization. One method of pre-sterilizing includes gamma irradiation. Other methods known to those skilled in the art could also be used.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 5 -

In another embodiment, headplate 125 comprises at least one port 135. Port 135 can be used in accordance with the present invention for filling vessel 100. Port 137 can be a port for gas supply. In this exemplary embodiment, port 138 also allows the insertion of magnet 139. These are just an example of the many different ports which can be provided in headplate 125. One skilled in the art would know the requirements for a particular cell culture and could easily provide the necessary ports for a particular application.

In the exemplary embodiment, vessel 100 contains impeller 140 having a flexible blade 145. Flexible blade 145 can be comprised of polyethylene. Flexible blade 145 can be a single blade, a pair of blades, or multiple blades. Impeller 140 is comprised of a hollow flexible shaft 150 having a top region 155 and a bottom region 160, with top region 155 connected to headplate 125 and flexible blade 145 connected to bottom region 160 of shaft 150. In an exemplary embodiment of the present invention, flexible blade 145 is contiguous with shaft 150. Shaft 150 of impeller 140 can contain magnet 139. In the exemplary embodiment of the present invention, top region 155 of shaft 150 comprises means for restricting movement of shaft 150 to a generally periodic pendulum-like, but elliptical rotation. According to the present invention, means for restricting movement of shaft 150 can be an o-ring 152, a notch, or other means which create a relative weak point in top region 155 of shaft 150 of impeller 140 to prevent twisting of impeller 140.

FIG. 2 shows the components of vessel 100. The components of vessel 100, as discussed above, are collapsible bag 105, headplate 125, and impeller 140. Bag 105 comprises an inner surface 110, an outer surface 115, and a top periphery 120. As discussed above, top 120 of bag 105 can be heat sealed or otherwise attached to edge 130 of headplate 125. Bottom 127 of bag 105 can have outer edges 128 to support bag 105. Outer edges 128 form a triangular-like shape at the corners of outer surface 115 of bag 105, which are separate from inner surface 110 of bag 105. Impeller 140 is comprised of a hollow flexible shaft 150 having a top region 155 and a bottom region 160, wherein top region 155 is connected to the bottom 200 of port 138 of headplate 125, for example by heat sealing, and bottom region 160 of shaft 150 is connected to flexible blade 145.



WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 6 -

FIG. 3 shows vessel 100 filled with a fluid 300 and particles 305 on an adjustable magnetic stir plate 310. In this embodiment, fluid 300 is a cell culture medium and particles 305 are biological cells.

FIGS. 4A-4D show the sequential movements of flexible blade 145 of shaft 150 of impeller 140 in vessel 100 and of particles 305 when a magnetic force is applied to vessel 100 with an adjustable magnetic stir plate 310. Adjustable magnetic stir plate 310 includes a bar magnet mounted on a shaft, which is driven by a motor. Those skilled in the art are familiar with such stir plates. The speed of the motor is generally controlled by a rheostat. According to the present invention, and as demonstrated in FIG. 4A, when a magnetic force, such as adjustable magnetic stir plate 310, is applied to vessel 100, the rotation of the bar magnet (not shown) within magnetic stir plate 310 causes rotational, elliptical movement of magnet 139 within vessel 100. The movement of magnet 139 in response to rotation of the magnet in stir plate 310 causes impeller 140 to begin to move in an elliptical pendulum-like rotation. When impeller 140 moves in the direction of arrow 400, fluid resistance against flexible blades 145 forces flexible blades 145 to move in the opposite direction of arrow 400, causing the stirring of particles 305. FIG. 4B shows that when impeller 140 begins to move in the direction of arrow 405, flexible blades 145 and particles 305 are forced in the opposite direction of arrow 405. FIG. 4C shows impeller 140 continuing to move through the elliptical pendulum-like rotation. As impeller 140 continues to move in the direction of arrow 410, flexible blades 145 and particles 305 are forced in the opposite direction of arrow 410. FIG. 4D shows impeller 140 continuing through the elliptical pendulum-like rotation and beginning to move in the direction of arrow 415. Likewise, flexible blades 145 and particles 305 are forced in the opposite direction of arrow 415. The continuous movement of impeller 140 and flexible blades 145 throughout the elliptical pendulum-like rotation results in the continuous suspension of particles 305.

As shown in FIGS. 4A - 4D, the presence of a constricting device 152 creates a sort of "pivot point" or "weak point" along the shaft. This device affects the movement of impeller 140 when magnet 139 and an adjustable external magnetic force, such as stir plate 310, interact. The result is an elliptical pendulum-like rotation of impeller 140. Constricting device 152 could take many forms, including a ring or knotted

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 7 -

piece of material. An exemplary constricting device would be a typical o-ring, placed around the shaft. Alternatively, a notch in the shaft itself could create the "pivot point" which allows the elliptical, pendulum-like rotation desired. The result of the elliptical pendulum-like rotation of impeller 140 is the gentle motion of flexible blades 145 and the gentle stirring of fluid 300 and particles 305. The gentle motion of flexible blades 145 and the gentle stirring of fluid 300 and particles 305 is essential when fluid 300 is a cell culture medium and particles 305 are biological cells.

FIGS. 5A and 5B show a top view of vessel 100 demonstrating the elliptical pendulum-like rotation of impeller 140 and the effect of the rotation of the magnet in the stir plate on flexible blades 145 and particles 305 when a magnetic force is applied to vessel 100.

The present invention also relates to an impeller 140 comprising a hollow flexible shaft 150 having a top region 155 and a bottom region 160, wherein bottom region 160 comprises a flexible blade 145. Impeller 140 may be comprised of polyethylene. In an exemplary embodiment, bottom region 160 of impeller 140 comprises two flexible blades 145. Hollow flexible shaft 150 of impeller 140 may also contain magnet 139 and magnet 139 may be removable. The ability to remove magnet 139 from impeller 140 allows for the disposal of impeller 140 and the ability to reuse magnet 139 with additional impellers or vessels. The ability to reuse magnet 139 is also advantageous, as the disposal of magnet 139 adds additional cost if it has to be replaced with each use.

The present invention also relates to a method of mixing a fluid. First a vessel is provided which comprises a collapsible bag containing an impeller comprised of a hollow flexible shaft. A magnet is then inserted into the hollow shaft of the impeller. An external adjustable magnetic source, such as a magnetic stir plate, is introduced to interact with the magnet and cause the hollow shaft to move. The magnet is then removed from the hollow shaft of the impeller. The method may further comprise a vessel with a headplate and a hollow flexible shaft of an impeller with a top region and a bottom region, wherein the top region is connected to the headplate.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 8 -

The present invention also relates to the preferred method of use of the vessel of the present invention, which is a method of culturing cells. First a pre-sterilized vessel is provided which comprises a collapsible bag with a headplate and an impeller comprised of a hollow flexible shaft having a top region and a bottom region, wherein the top region is connected to the headplate and wherein the bottom region comprises a flexible blade. A magnet is then inserted into the hollow shaft of the impeller and a cell line and media is introduced into the vessel through a fill port. The cell line is then allowed to proliferate. The cell line and media are removed from the vessel. Finally, the magnet is removed from the hollow shaft of the impeller through the impeller magnet port and the vessel is disposed.

Although the present invention has been particularly described in conjunction with specific preferred embodiments, it is evident that many alternatives, modifications, and variations will be apparent to those skilled in the art. It is therefore contemplated that the appended claims will embrace any such alternatives, modifications, and variations as falling within the true scope and spirit of the present invention.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 9 -

What is claimed is:

- 1           1.     A vessel for cell culture comprising:
  - 2           a headplate having a circumferential edge; and
  - 3           a collapsible bag with an inner surface, an outer surface and a top
  - 4           periphery,
  - 5           with said top periphery of said bag sealed to said edge of said headplate.
- 1           2.     The vessel of claim 1 wherein said bag is comprised of
- 2           polyethylene.
- 1           3.     The vessel of claim 1 wherein said vessel is pre-sterilized.
- 1           4.     The vessel of claim 1 wherein said headplate comprises at least one
- 2           port.
- 1           5.     The vessel of claim 1 further comprising an impeller having a
- 2           flexible blade.
- 1           6.     The vessel of claim 5 wherein said impeller is comprised of
- 2           polyethylene.
- 1           7.     The vessel of claim 5 wherein said impeller is comprised of a
- 2           hollow flexible shaft having a top region and a bottom region, with said top region
- 3           connected to said headplate.
- 1           8.     The vessel of claim 7 wherein said flexible blade is connected to
- 2           said bottom region of said shaft.
- 1           9.     The vessel of claim 8 wherein said flexible blade is contiguous with
- 2           said shaft.
- 1           10.    The vessel of claim 7 wherein said shaft contains a magnet.
- 1           11.    The vessel of claim 7 wherein said top region of said shaft
- 2           comprises means for restricting movement of said shaft to a periodic pendulum-like
- 3           rotation.
- 1           12.    The vessel of claim 11 wherein said means comprises an o-ring.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 10 -

- 1           13.    A vessel for cell culture comprising:  
2           a headplate;  
3           a pre-sterilized collapsible bag sealed to said headplate;  
4           an impeller comprising a hollow flexible shaft connected to said headplate;  
5           two flexible blades attached to said impeller; and  
6           a constriction device o-ring disposed on said flexible shaft.
- 1           14.    The vessel of claim 13 wherein said headplate has a port for  
2    accessing said hollow flexible shaft of said impeller.
- 3           15.    An impeller comprising a hollow flexible shaft having a top region  
4    and a bottom region, said bottom region having a flexible blade.
- 1           16.    The impeller of claim 15 wherein said bottom region comprises two  
2    flexible blades.
- 1           17.    The impeller of claim 15 wherein said hollow flexible shaft contains  
2    a magnet.
- 1           18.    The impeller of claim 15 wherein said impeller is comprised of  
2    polyethylene.
- 1           19.    The impeller of claim 17 wherein said magnet is removable.
- 1           20.    A method of mixing a fluid comprising the steps of:  
2           providing a vessel comprising a collapsible bag containing an impeller  
3    comprised of a hollow flexible shaft;  
4           inserting a magnet into said hollow shaft of said impeller;  
5           introducing an external magnetic source to interact with said magnet and  
6    cause said magnet and said hollow shaft to move; and  
7           removing said magnet from said hollow shaft of said impeller.
- 1           21.    The method of claim 20 further comprising disposing of said vessel.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 11 -

1           22.   The method of claim 20 wherein said vessel further comprises a  
2 headplate and said hollow flexible shaft of said impeller further comprises a top region  
3 and a bottom region, wherein said top region is connected to said headplate.

1           23.   The method of culturing cells in a pre-sterilized vessel comprising a  
2 collapsible bag with a headplate and an impeller comprised of a hollow flexible shaft  
3 having a top region and a bottom region, wherein said top region is connected to said  
4 headplate and wherein said bottom region comprises a flexible blade comprising the steps  
5 of the method of:

6           inserting a magnet into said hollow shaft of said impeller;  
7           introducing a cell line and media into said vessel;  
8           allowing said cell line to proliferate;  
9           removing said cell line and media from said vessel;  
10          removing said magnet from said hollow shaft of said impeller; and  
11          disposing of said vessel.

1           24.   A method of culturing cells in a collapsible vessel containing an  
2 impeller having a hollow shaft, the method comprising the steps of:

3           inserting a magnet into said hollow shaft;  
4           introducing an external magnetic source to interact with said magnet and  
5 cause said magnet and said hollow shaft to move; and  
6           removing said magnet from said hollow shaft.

1           25.   The method of claim 24 further comprising the step of disposing of  
2 said vessel.

1           26.   A vessel comprising:

2           a headplate having a circumferential edge;  
3           a collapsible bag with an inner surface, an outer surface, and a top  
4 periphery, with said top periphery of said bag sealed to said edge of said headplate; and  
5           an impeller having a flexible blade within said collapsible bag.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 12 -

- 1                   27.    The vessel of claim 26 wherein said bag is comprised of  
2 polyethylene.
- 1                   28.    The vessel of claim 26 wherein said vessel is pre-sterilized.
- 1                   29.    The vessel of claim 26 wherein said headplate comprises at least  
2 one port.
- 1                   30.    The vessel of claim 26 wherein said impeller is comprised of  
2 polyethylene.
- 1                   31.    The vessel of claim 26 wherein said impeller is comprised of a  
2 hollow flexible shaft having a top region and a bottom region, with said top region  
3 connected to said headplate.
- 1                   32.    The vessel of claim 31 wherein said flexible blade is connected to  
2 said bottom region of said shaft.
- 1                   33.    The vessel of claim 32 wherein said flexible blade is contiguous  
2 with said shaft.
- 1                   34.    The vessel of claim 31 wherein said shaft contains a magnet.
- 1                   35.    The vessel of claim 31 wherein said top region of said shaft  
2 comprises means for restricting movement of said shaft to a periodic pendulum-like  
3 rotation.
- 1                   36.    The vessel of claim 35 wherein said means comprises an o-ring.
- 1                   37.    A vessel comprising:  
2 a headplate;  
3 a pre-sterilized collapsible bag sealed to said headplate;  
4 an impeller comprising a hollow flexible shaft connected to said headplate;  
5 two flexible blades attached to said impeller;  
6 an o-ring disposed on said flexible shaft; and  
7 a port disposed within said headplate for accessing said hollow flexible  
8 shaft of said impeller.

WO 03/006633

PCT/US02/21541

- 13 -

1           38. A method of mixing the contents of a vessel containing an impeller  
2 having a hollow shaft, the method comprising the steps of:

3           inserting a magnet into said hollow shaft; and

4           introducing an external magnetic source to interact with said magnet and  
5 cause said magnet and said hollow shaft to move.

1           39. The method of claim 38 further comprising the step of disposing of  
2 said vessel.

1           40. A method of mixing the contents of a pre-sterilized vessel  
2 comprising a collapsible bag with a headplate and an impeller comprised of a hollow  
3 flexible shaft having a top region and a bottom region, wherein said top region is  
4 connected to said headplate and wherein said bottom region comprises a flexible blade  
5 comprising the steps of:

6           inserting a magnet into said hollow shaft of said impeller;

7           introducing contents into said vessel;

8           introducing an external magnetic source to interact with said magnet and  
9 cause said magnet and said hollow shaft to move;

10          allowing said contents to mix;

11          removing said contents from said vessel; and

12          disposing of said vessel.



1/8

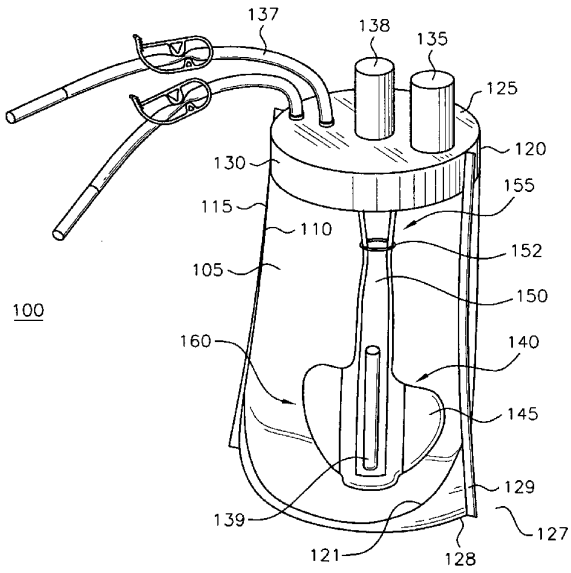
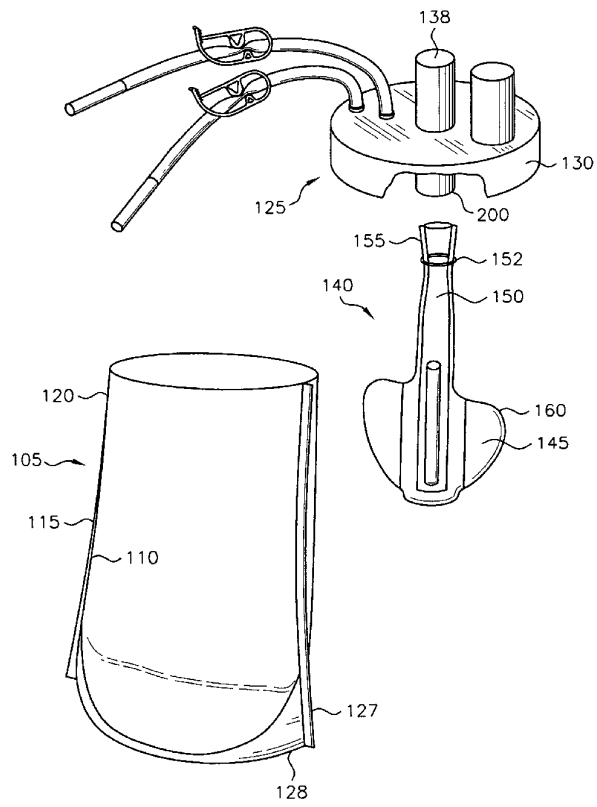


FIG. 1

WO 03/006633

PCT/US02/21541

2/8

**FIG. 2**

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 03/006633

PCT/US02/21541

3/8

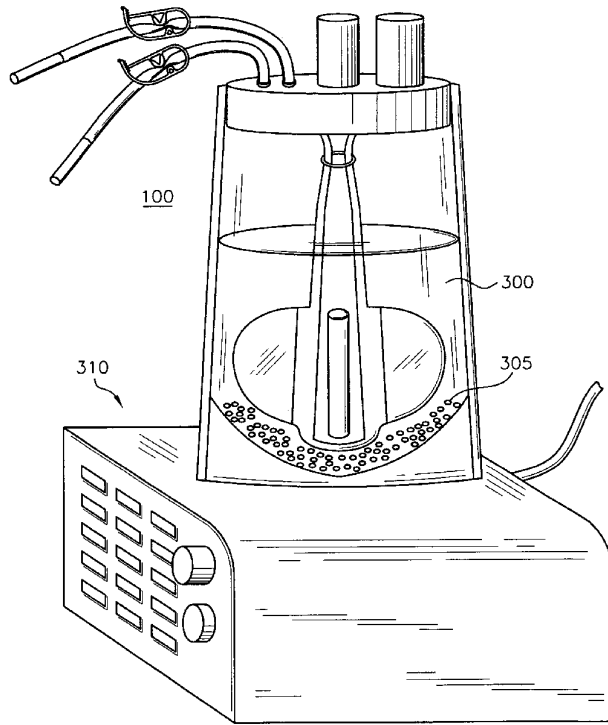


FIG. 3

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 03/006633

PCT/US02/21541

4/8

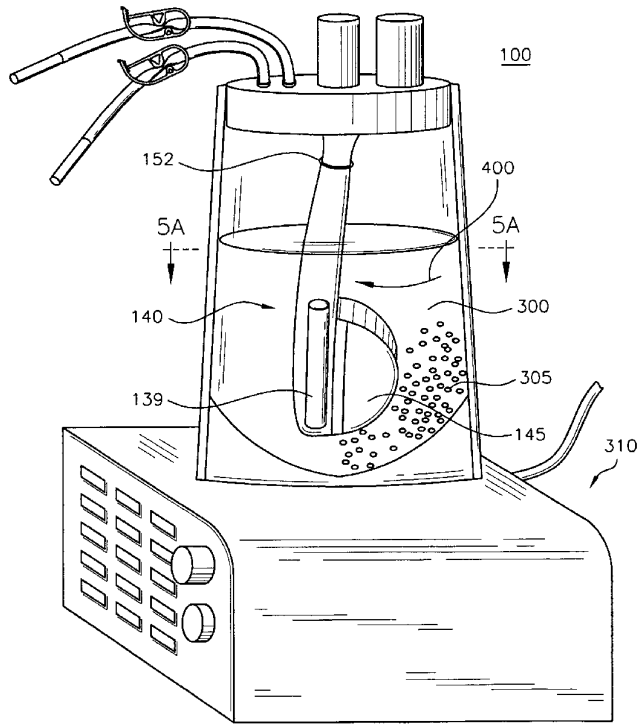


FIG. 4A

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 03/006633

PCT/US02/21541

5/8

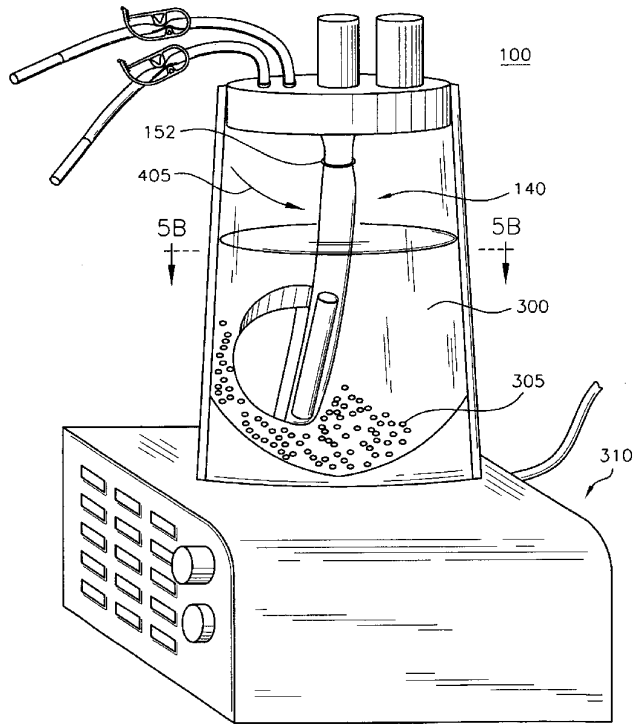


FIG. 4B

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 03/006633

PCT/US02/21541

6/8

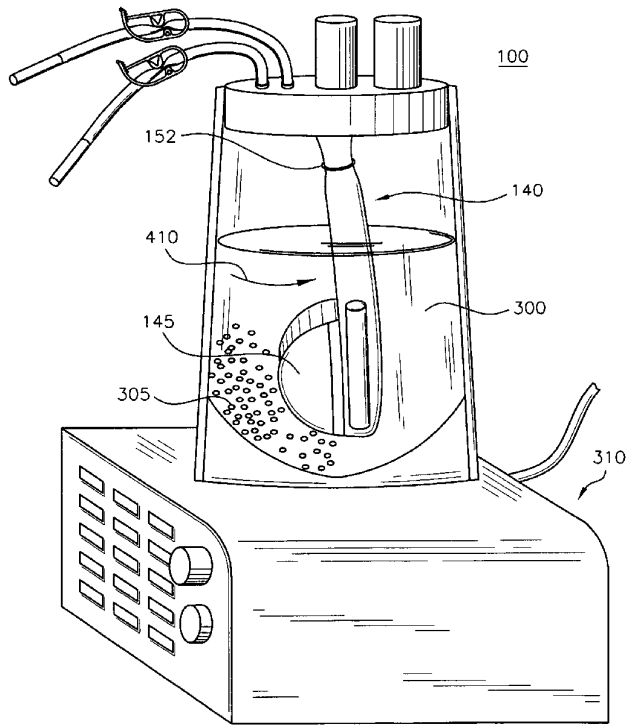


FIG. 4C

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 03/006633

PCT/US02/21541

7/8

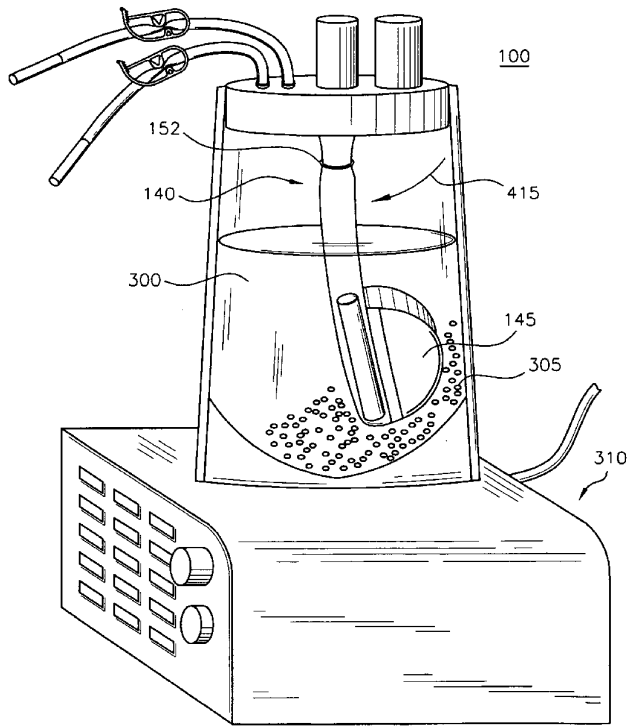
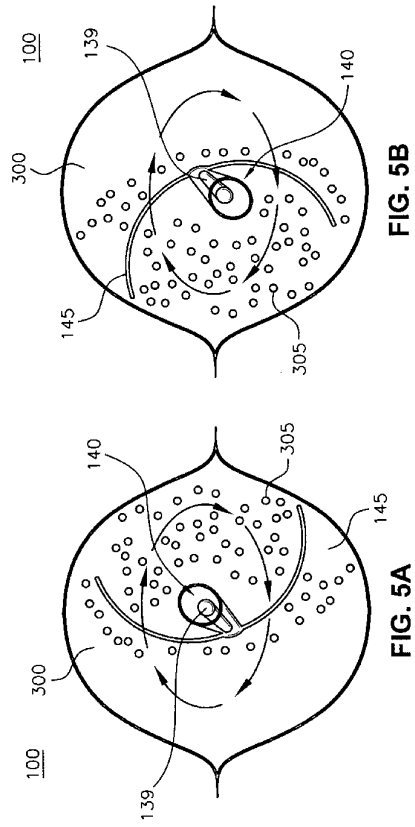


FIG. 4D

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)





## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. PCT/US02/21541																																				
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(7) : C12N 5/02; C12M 1/02 US CL : 435/394, 302.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																																						
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/394, 302.1, 403, 289.1, 292.1, 304.1; 422/102, 104; 366/273, 274, 275, 276, 308, 326.1, 343 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)																																						
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>GB 2 202 549 A (WHITNEY) 28 September 1988, see entire document.</td> <td>1,3-4</td> </tr> <tr> <td>---</td> <td></td> <td>-----</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>2, 5-10, 15-34, 38-40</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 3,514,080 A (PRICE et al.) 26 May 1970, see entire document.</td> <td>15-16</td> </tr> <tr> <td>---</td> <td></td> <td>-----</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>5-10, 17-34, 38-40</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 3,854,704 A (BALAS) 17 December 1974, see entire document.</td> <td>17-34, 38-40</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 4,649,118 A (ANDERSON) 10 March 1987, see entire document.</td> <td>17-34, 38-40</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 3,572,651 A (HARKER) 30 March 1971, see entire document.</td> <td>1-40</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 4,289,854 A (TOLBERT et al.) 15 September 1981, see entire document.</td> <td>1-40</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 5,008,197 A (WERGELAND et al.) 16 April 1991, see entire document.</td> <td>1-40</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	GB 2 202 549 A (WHITNEY) 28 September 1988, see entire document.	1,3-4	---		-----	Y		2, 5-10, 15-34, 38-40	X	US 3,514,080 A (PRICE et al.) 26 May 1970, see entire document.	15-16	---		-----	Y		5-10, 17-34, 38-40	Y	US 3,854,704 A (BALAS) 17 December 1974, see entire document.	17-34, 38-40	Y	US 4,649,118 A (ANDERSON) 10 March 1987, see entire document.	17-34, 38-40	A	US 3,572,651 A (HARKER) 30 March 1971, see entire document.	1-40	A	US 4,289,854 A (TOLBERT et al.) 15 September 1981, see entire document.	1-40	A	US 5,008,197 A (WERGELAND et al.) 16 April 1991, see entire document.	1-40
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																																				
X	GB 2 202 549 A (WHITNEY) 28 September 1988, see entire document.	1,3-4																																				
---		-----																																				
Y		2, 5-10, 15-34, 38-40																																				
X	US 3,514,080 A (PRICE et al.) 26 May 1970, see entire document.	15-16																																				
---		-----																																				
Y		5-10, 17-34, 38-40																																				
Y	US 3,854,704 A (BALAS) 17 December 1974, see entire document.	17-34, 38-40																																				
Y	US 4,649,118 A (ANDERSON) 10 March 1987, see entire document.	17-34, 38-40																																				
A	US 3,572,651 A (HARKER) 30 March 1971, see entire document.	1-40																																				
A	US 4,289,854 A (TOLBERT et al.) 15 September 1981, see entire document.	1-40																																				
A	US 5,008,197 A (WERGELAND et al.) 16 April 1991, see entire document.	1-40																																				
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.																																						
<table border="1"> <tr> <td>           * Special categories of cited documents:            "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance            "E" earlier application or patent published on or after the international filing date            "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 reasons (as specified)            "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means            "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claim(s)         </td> <td>           "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.            "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            "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 such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art            "&amp;" document member of the same patent family         </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "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 reasons (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claim(s)	"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. "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 "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 such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																																		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "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 reasons (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claim(s)	"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. "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 "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 such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																																					
Date of the actual completion of the international search 09 September 2002 (09.09.2002)		Date of mailing of the international search report 01 OCT 2002																																				
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer William H. Beisner Telephone No. 703-308-0661																																				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/US02/21541
C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 053 869 A2 (COOKE et al) 16 June 1982, see entire document.	1-40
A	US 6,146,875 A (WARD) 14 November 2000, see entire document.	1-40

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ケネス・ビー・カール

アメリカ合衆国 0 8 3 0 2 ニュージャージー州ブリッジトン、ノース・ウエスト・ドライブ 2 6 番

Fターム(参考) 4B029 AA02 BB01 CC01 DB02 DB08

4B065 BC01 BC08 BC50