



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 292 933**

51 Int. Cl.:  
**C12M 1/22** (2006.01)  
**C12M 3/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03704378 .3**  
86 Fecha de presentación : **11.01.2003**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1465977**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **13.10.2004**

54 Título: **Dispositivo para la siembra o cultivo de células en un depósito tipo bote.**

30 Prioridad: **15.01.2002 DE 102 01 259**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.03.2008**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.03.2008**

73 Titular/es: **Augustinus Bader**  
**Krankenhausstrasse 7**  
**04668 Parthenstein/OT Klinga, DE**

72 Inventor/es: **Bader, Augustinus**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 292 933 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Dispositivo para la siembra o cultivo de células en un depósito tipo bote.

La invención se refiere a un dispositivo para la siembra o cultivo de células en un depósito tipo bote, que presenta un fondo, y al menos una tapa.

Para la demanda de laboratorio es conocido sembrar o cultivar cultivos celulares en un depósito plano, o bien una cubeta, colocándose las células simplemente en el depósito, y añadiéndose medio nutriente. A continuación se coloca una etapa sobre el depósito.

En este caso es desfavorable que este procedimiento se pueda aplicar sólo para cantidades reducidas. En especial para un cultivo en serie o siembra en serie de células no es apropiado el sistema conocido. Además, no se pueden alcanzar condiciones "in-vivo", y no se asegura una esterilidad.

Una alternativa consistía en trabajar con un sistema cerrado que presentara un depósito con una tapa o cierre, siendo posible una esterilidad. No obstante, en este caso era desfavorable que la extracción del cultivo celular era muy compleja y costosa.

Por lo tanto, la presente invención toma como base la tarea de mejorar un dispositivo del tipo mencionado al inicio de tal manera que se pueda emplear de los más múltiples modos para la siembra o cultivo de células, en especial en operación en masa, debiéndose alcanzar condiciones "in-vivo" en la medida de lo posible, y una esterilidad. Además, los cultivos celulares tras su siembra se deberán poder extraer del depósito también sin su deterioro sin gran gasto.

Según la invención, este problema se soluciona mediante las características citadas en la parte significativa de la reivindicación 1.

Correspondientemente al dispositivo según la invención, ahora las células "ya no se abandonan" en el depósito, sino que tiene lugar un proceso activo. Por una parte se puede alimentar medio nutriente continua o discontinuamente, y por otra parte es posible cargar compresión los cultivos celulares que se forman. En este caso, la carga de presión se puede efectuar incluso con presión variable, para reproducir condiciones naturales en la medida de lo posible.

En este caso, las células se pueden sembrar o cultivar como cultivos celulares separados. Del mismo modo, también se pueden formar sobre estructuras para generar implantes.

En el depósito según la invención, las células se pueden exponer de este modo también a fuerzas de cizallamiento o presión mediante una carga de presión correspondiente. Con el dispositivo según la invención se pueden sembrar o cultivar los más diversos cultivos celulares de modo muy universal.

El propio depósito está provisto de dos tapas para este fin. Del mismo modo está previsto un orificio de conexión para la alimentación de medio nutriente, y un orificio de conexión para su reflujo.

Mediante el acondicionamiento según la invención con dos tapas, o tapa y fondo, además de depósitos intercalado, que puede ser sencillamente un cilindro abierto sólo por el lado inferior y el lado superior, los cultivos celulares se pueden extraer del depósito tras su tratamiento, o bien siembra, sin gran esfuerzo, y sin su deterioro de manera sencilla.

Ya que la siembra o cultivo de células según la invención, se efectúa sobre la tapa inferior o fondo, o también sobre la tapa superior, por ejemplo sobre un

armazón unido a la tapa superior, los cultivos celulares se pueden extraer del depósito de manera sencilla tras su elaboración. En cualquier caso, mediante la tapa o fondo extraíble se da una accesibilidad elevada.

Para una carga de presión, el depósito, por ejemplo la pared de depósito cilíndrica, puede presentar también configuración elástica.

Los orificios de conexión pueden estar dispuestos en ambas tapas en este caso. Del mismo modo, también es posible introducir los orificios de conexión en la parte central cilíndrica. El número y disposición de orificios de conexión se ajusta respectivamente al caso de empleo, y a las células a sembrar o cultivar.

Para una unión compacta entre la tapa y el depósito, según la invención están previstas uniones a rosca con roscas internas y externas.

Se dan muy buenas condiciones de hermeticidad, y por consiguiente presión, si la tapa o las tapas están provistas de anillos de prolongación, que rodean herméticamente la parte central cilíndrica del depósito por el lado externo.

Si el dispositivo según la invención se sometiera a un movimiento de rotación o giro, lateralmente al dispositivo se pueden aplicar anillos tensores que rodean la tapa o las tapas, y el depósito, en los que se pueden aplicar entonces instalaciones de giro o rotación.

Para una exposición a vacío del interior del depósito que forma un espacio de cultivo celular, son posibles las más diversas instalaciones de carga de presión. A tal efecto son apropiadas, por ejemplo, unidades de cilindro/émbolo, que pueden operar correspondientemente por pulsos también para una carga de presión variable.

En caso necesario, también se puede configurar el depósito como sistema de dos cámaras, para poder cultivar o sembrar por separado dos células diferentes, o también dos células iguales.

En este caso es ventajoso dotar la tapa del depósito de un dispositivo de suspensión en el que está dispuesta una plataforma para la recepción de células. El cultivo de una célula se efectúa con ello sobre la plataforma, mientras que otro cultivo de células se puede efectuar sobre el fondo del depósito.

El depósito, o bien la pared periférica cilíndrica del depósito, pueden presentar igualmente configuración porosa, o bien permeable a gases en caso necesario, de modo que se pueda así alimentar igualmente medio nutriente y/o un medio gaseoso, como por ejemplo aire u oxígeno, desde este lado.

De las reivindicaciones restantes resultan perfeccionamiento y acondicionamiento ventajosos.

Muestran:

la figura 1 un corte a través de un dispositivo con una parte central cilíndrica y una tapa superior e inferior;

la figura 2 un acondicionamiento similar al representado en la figura 2, estando dispuestas una conexión de alimentación y una conexión de reflujo en la tapa superior;

la figura 3 otra forma de ejecución de la forma del dispositivo;

la figura 4 un dispositivo con una tapa superior y una tapa inferior, respectivamente con rosca externa, y una parte central en forma de anillo cilíndrico con rosca interna;

la figura 5 una forma de ejecución con anillos de prolongación en una tapa superior y una tapa inferior;

la figura 6 un acondicionamiento similar al de la figura 5 con uniones a rosca;

la figura 7 una forma de ejecución con dos anillos tensores laterales;

la figura 8 un dispositivo según la invención similar a la forma de ejecución según la figura 7 con una instalación de carga de presión;

la figura 9 una forma de ejecución con una instalación de suspensión en la tapa superior, con una parte media cilíndrica y una tapa inferior;

la figura 10 un acondicionamiento similar al de la figura 9 en forma algo más sencilla con sólo una etapa superior.

La figura 1 muestra un acondicionamiento, formando el depósito una parte media cilíndrica (1), que se puede cerrar con la tapa superior 3. Sobre el lado inferior está prevista otra tapa inferior 12, que forma el fondo del depósito, y presenta igualmente una rosca interna 4, que coopera con la rosca externa 2 de la parte media, estando provista la parte media de dos roscas externas 2 en este caso, en tanto no esté prevista una rosca continua. Como se desprende además de la figura 1, en este caso están previstos orificios de conexión de alimentación y reflujo 8 y 9 en ambas tapas 3 y 12.

La figura 2 muestra un acondicionamiento similar al de la figura 1, estando dispuestos un orificio de conexión de alimentación 8 y un orificio de conexión de reflujo 9 sólo en la tapa superior 3. Al igual que en el ejemplo de ejecución según la figura 2, en ambos lados centrales de la parte media cilíndrica (1) del depósito están previstos anillos de obturación 5.

La figura 3 muestra una forma de ejecución, estando provista la parte media cilíndrica como depósito 1 con una rosca interna 2', que coopera respectivamente con una rosca externa 4' de la tapa superior 3 y de la tapa inferior 12. También en este caso están previstos anillos de obturación 5 a su vez en ambos lados frontales del depósito. En este caso se encuentra un orificio de conexión de alimentación 8 en la tapa superior 3, y un orificio de alimentación de reflujo 9 en la tapa inferior 12.

La figura 4 muestra un acondicionamiento similar al de la figura 3. La diferencia esencial consiste únicamente en que el orificio de conexión de alimentación 8 y el orificio de conexión de reflujo 9 están dispuestos en oposición en la parte media cilíndrica (1) del depósito.

La figura 5 muestra una forma de ejecución con una parte media cilíndrica (1) como depósito, una tapa superior 3 y una tapa inferior 12. En este caso, ambas tapas 3 y 12 presentan respectivamente una rosca externa 4', que coopera con roscas internas 2' del depósito. Adicionalmente, ambas tapas 3 y 12 están provistas de ensanchamientos radiales 13, de cuyos extremos exteriores se extienden anillos de prolongación 14 orientados paralelamente al eje longitudinal del depósito respecto al depósito, o bien orientados axialmente. Los anillos de prolongación 14 rodean la pared externa del depósito y representan un cierre a presión para el espacio de cultivo celular 6, junto con anillos de obturación adicionales 5'. La tapa superior 3 está provista de un orificio de conexión común 8, 9 para la alimentación y el reflujo de medio nutriente.

La figura 6 muestra una forma de ejecución similar a la de la figura 5. La diferencia esencial en este caso consiste en que la unión a rosca entre el depósito y las tapas 3 y 12 está formada mediante roscas inter-

nas 4' en los anillos de prolongación 14, que cooperan con roscas externas 2' en el depósito.

La figura 7 muestra una forma de ejecución con un depósito y una tapa superior 3, similar a la forma de ejecución según la figura 6, estando dispuestos un orificio de conexión de alimentación 8 y un orificio de conexión de reflujo 9 en lugar de un orificio de conexión común 8, 9 para la alimentación y la descarga de medio nutriente en la pared periférica del depósito. Adicionalmente, la figura 7 muestra dos anillos tensores laterales 15, que se deslizan en el sentido de la flecha alrededor del depósito en forma de bote y la tapa 3, para poder girar o hacer rodar la unidad de depósito 1 y tapa 3 alrededor del eje transversal en el sentido de la flecha 16 mediante una instalación de giro o rotación no representada.

La figura 8 muestra una forma de ejecución según la invención. En este caso, en el interior del depósito está formado un espacio de cultivo celular propio 6. En lugar de un espacio de cultivo celular 6, también puede estar prevista una estructura sobre la que se cultiva la célula 7. El espacio de cultivo celular separado 6 o la estructura se carga con presión en este caso a través de una instalación de carga de presión 17 en forma de una unidad de cilindro/émbolo.

En un espacio de émbolo 18 de la unidad de cilindro/émbolo 17 desemboca el orificio de conexión de alimentación 8, que se puede bloquear en la zona de entrada mediante una válvula de retención 19. A través de un matraz 20 de la unidad de cilindro/émbolo 17, el medio nutriente introducido a través del orificio de conexión de alimentación 8 se expone a presión, continuándose esta presión hasta el interior del depósito 1. A través de un orificio de conexión de retorno 9 en el lado del depósito opuesto a la alimentación se efectúa una descarga de medio nutriente. Si el espacio interior del depósito se desea exponer correspondientemente a una sobrepresión, que puede ser variable, en caso dado, en este caso el reflujo de medio nutriente se estrangula, o el orificio de conexión de retorno 9 se bloquea correspondientemente.

En lugar de una alimentación de medio nutriente a través del orificio de conexión de alimentación 8, a tal efecto puede estar previsto también un orificio aislado en una de ambas tapas 3 o 12, o en la pared periférica del depósito 1. En este caso, también mediante gas, por ejemplo aire, se puede exponer a presión el espacio interno del depósito 1, y con ello el espacio de cultivo celular 6.

La figura 9 muestra una forma de ejecución con una tapa superior 3 y una tapa inferior 12, y una parte media cilíndrica de un depósito. En este caso, la tapa superior 3 está provista de una instalación de suspensión en forma de varias varas 21 distribuidas a lo largo del volumen, que se extienden paralelamente al eje longitudinal del depósito 1 en el interior del depósito. En el extremo inferior de las varas 21 está fijada una plataforma 22, sobre la que se disponen las células a cultivar o a sembrar 7. El orificio de conexión de alimentación 8 y el orificio de conexión de reflujo 9 pueden estar dispuestos respectivamente en la pared periférica del depósito. No obstante, naturalmente también es posible una disposición en una de ambas tapas 3 o 12, como se indica en trazos. También en este caso son posibles naturalmente orificios de conexión separados para alimentación y descarga.

La ventaja de la forma de ejecución con la instalación de suspensión a través de las varas 21 consiste

en que, de este modo, las células se pueden introducir más fácilmente en el depósito 1, y extraer del mismo.

La unión de las varas 21 con la plataforma 22 puede ser también desconectable en caso necesario. Se puede efectuar una desconexión, por ejemplo, mediante una unión por clip, mediante lo cual se consigue igualmente un manejo más sencillo para el dispositivo.

La figura 10 muestra una forma de ejecución que es similar a la forma de ejecución representada en la figura 9. Como es visible, esta presenta sólo una tapa superior 3 y un depósito con un fondo 23, como está presente también en las demás formas de ejecución con sólo una tapa 3. La plataforma 22 está unida a la tapa superior 3 igualmente a través de varas 21 en este caso.

Otra ventaja de las formas de ejecución según las figuras 9 y 10 consiste en que sobre el fondo del depósito 23, o bien el lado interno de la tapa 12, se da

adicionalmente otra posibilidad para una siembra o cultivo de células 7. De este modo se crea un sistema de dos cámaras para el cultivo de dos cultivos celulares.

En lugar de orificios de conexión de alimentación 8 y orificios de conexión de reflujo 9 para medio nutriente, naturalmente también se puede introducir permanentemente medio nutriente en el depósito, y los orificios de conexión de alimentación y los orificios de conexión de reflujo pueden servir entonces sólo para el abastecimiento de oxígeno.

Alternativamente, también es posible prever en cada caso orificios de conexión para oxígeno y medio nutriente.

La plataforma 22 puede estar configurada como unidad sólida. Alternativamente, también es posible prever a tal efecto una membrana, por ejemplo una membrana porosa, que permite la circulación de oxígeno.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para la siembra o cultivo de células constituido por un depósito tipo bote, que se forma por una tapa superior (3) y una tapa inferior que sirve como fondo (12), así como una parte media cilíndrica (1), que se une herméticamente con dichas tapas en ambos lados frontales estando provisto el depósito de un orificio de conexión (8) para la alimentación y un orificio de conexión (9) para la descarga de medio nutriente,

**caracterizado** porque dichas tapas (3, 12) y la parte media cilíndrica (1) están unidas entre sí mediante una unión a rosca (2, 4), estando provistas ambas tapas (3, 12) de un anillo de prolongación (14), que envuelve herméticamente al menos parcialmente la parte media cilíndrica (1) por el lado externo, y porque además, al orificio de alimentación (8) está conectada una instalación de carga de presión prevista para carga de presión variable de las células (7), que está configurada como unidad de cilindro/émbolo (17), y el depósito está provisto en ambos lados de un

anillo tensor (15) para la introducción de movimiento de rotación o giro para el depósito.

2. Dispositivo según la reivindicación 1, **caracterizado** porque las tapas (3, 12) poseen una rosca interna, y la parte media cilíndrica (1) posee una rosca externa.

3. Dispositivo según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado** porque la unión a rosca está provista al menos de un anillo de obturación (5).

4. Dispositivo según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la tapa (3) está provista de una instalación de suspensión (21), en la que está dispuesta a una plataforma (22) para la recepción de células (7).

5. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque las células (7) están dispuestas en un gel (32).

6. Empleo de un dispositivo según las reivindicaciones 1 a 5 para la siembra y cultivo de células bajo condiciones *in vivo* y esterilidad en operación a gran escala en un proceso activo con alimentación continua o discontinua de medio nutriente, y exposición a presión de los cultivos celulares que se forman.





