

ITALIAN PATENT OFFICE

Document No.

102008901687852A1

Publication Date

20100617

Applicant

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Title

DISPOSITIVO DI MISCELAZIONE MECCANICA PER PIASTRE DI COLTURA

TITOLARE: UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DESCRIZIONE

Campo di applicazione

5 Forma oggetto della presente invenzione un dispositivo di miscelazione meccanica per piastre di coltura. Vantaggiosamente, il dispositivo secondo l'invenzione può essere utilizzato in tutti i settori che prevedano l'utilizzo di piastre coltura, in particolare per
10 colture cellulari o microbiologiche in sospensione, quali il settore biotecnologico, alimentare, farmaceutico e biomedico.

Stato della tecnica

Come è noto, alcuni tipi di cellule coltivate *in vitro*
15 non aderiscono ad un supporto (es. fondo di una piastra di coltura), ma crescono in sospensione.

Comunemente questi tipi di cellule si coltivano in *medium* liquido non mescolato contenuto in piastre di coltura, come ad esempio piastre Petri a singolo
20 pozzetto o piastre a pozzetti multipli o multiwell (come illustrato nella Figura A allegata), oppure in fiasche che garantiscono volumi maggiori rispetto alle piastre. In questi sistemi di coltura "statici" le cellule sono portate ad accumularsi sul fondo a causa
25 del proprio peso con distribuzioni non ripetibili da

esperimento a esperimento. Nel volume di coltura vengono inoltre a formarsi gradienti di concentrazione di nutrienti, gas e fattori di crescita. Ciò rende sostanzialmente impossibile ottenere condizioni
5 ambientali omogenee in tutto l'ambiente di coltura.

Si stanno quindi sempre più diffondendo sistemi di coltura in sospensione di tipo mescolato, allo scopo di ottenere colture più ripetibili e condizioni ambientali omogenee in termini, ad esempio, di concentrazioni di
10 metaboliti e principi attivi. Sistemi mescolati permettono inoltre di migliorare lo scambio di gas con l'ambiente esterno.

La necessità di colture in condizioni dinamiche ha quindi portato allo sviluppo di diversi sistemi di
15 mescolamento.

In generale i sistemi di mescolamento attualmente utilizzati possono essere ricondotti a tre tipologie principali: agitatori magnetici; agitatori a scuotimento (scuotitori); agitatori meccanici o a
20 giranti.

Per applicazioni specifiche su piastre di coltura, Petri o multipozzetto, si adottano solo agitatori magnetici o a scuotimento. Tipicamente le piastre multipozzetto possono avere 6 pozzetti (come illustrato
25 in Figura A), oppure 12, 24, 48 o 96 pozzetti. Queste

piastre sono utilizzate in particolare per colture cellulari molto costose (come possono essere quelle di cellule staminali). I pozzetti hanno volumi da 200 microlitri a 10 millilitri (e comunque mai superiori a 5 20 ml).

Per applicazioni su piastre di coltura ed in generale su volumi di pochi millilitri non si utilizzano, invece, agitatori meccanici.

Com'è noto, infatti, aspetti critici di un sistema di 10 coltura mescolato sono il controllo contemporaneo di temperatura e pH e il mantenimento di condizioni di sterilità. Per "mantenimento della sterilità" si intende impedire o sostanzialmente schermare l'ingresso di solidi sospesi nell'aria, veicolo di contaminazione 15 biologica.

Sono queste esigenze che hanno reso fino ad oggi praticamente inutilizzabili per volumi di pochi millilitri i miscelatori meccanici a girante, che pur garantirebbero ottime prestazioni di mescolamento. La 20 presenza dell'albero di rotazione della girante e il suo collegamento con i relativi mezzi motori impongono, infatti, tutta una serie di complicazioni costruttive per garantire la sterilità del sistema ed il controllo di temperatura e pH, giustificabili solo per 25 contenitori aventi volumi non inferiori a 100 ml.

Per questi motivi i miscelatori meccanici si adottano principalmente in bioreattori, ossia in sistemi costruttivamente complessi e destinati al trattamento di volumi rilevanti, tali da giustificare anche
5 l'utilizzo di sonde per la misura di temperatura e pH, e il controllo della temperatura in genere tramite camicie d'acqua termostata.

Gli agitatori magnetici - che operano trascinando in rotazione tramite un campo magnetico un'ancoretta
10 magnetica (opportunamente sagomata) posta sul fondo di ciascun singolo pozzetto - ben si adattano invece a sistemi di coltura semplici e con volumi ridotti. Questo tipo di agitatori permette infatti di ottenere una miscelazione efficace e facilmente regolabile in
15 intensità senza imporre complicazioni costruttive particolari per garantire il controllo di pH e della temperatura ed il mantenimento della sterilità. Il limite principale di questi sistemi è legato al fatto che il trascinamento dell'ancoretta magnetica posta sul
20 fondo del pozzetto produce sforzi di taglio, meccanici e di pressione, che possono danneggiare le colture.

Anche gli agitatori a scuotimento, in quanto sistemi "non invasivi", ben si adattano all'impiego per volumi di coltura ridotti e quindi in sistemi semplici da un
25 punto di vista costruttivo ed impiantistico. Il limite

principale è dato dal fatto che il livello di
miselazione che garantiscono è molto blando e quindi
sostanzialmente inefficace per colture cellulari in
sospensione soprattutto per volumi ridotti in cui, ad
5 esempio, le forze di superficie sono paragonabili alle
forze di inerzia.

Presentazione dell'invenzione

Pertanto, scopo della presente invenzione è quello di
eliminare gli inconvenienti della tecnica nota sopra
10 descritta, mettendo a disposizione un dispositivo di
miselazione meccanica per piastre di coltura, che non
richieda complicazioni impiantistiche per il controllo
della temperatura e pH e per il mantenimento della
sterilità.

15 Un ulteriore scopo della presente invenzione è quello
di mettere a disposizione un dispositivo di
miselazione meccanica per piastre di coltura, che sia
di semplice ed economica realizzazione.

Un ulteriore scopo della presente invenzione è quello
20 di mettere a disposizione un dispositivo di
miselazione meccanica per piastre di coltura, che sia
utilizzabile in modo semplice e pratico.

Breve descrizione dei disegni

Le caratteristiche tecniche dell'invenzione, secondo i
25 suddetti scopi, sono chiaramente riscontrabili dal

contenuto delle rivendicazioni sotto riportate ed i vantaggi della stessa risulteranno maggiormente evidenti nella descrizione dettagliata che segue, fatta con riferimento ai disegni allegati, che ne

5 rappresentano una o più forme di realizzazione puramente esemplificative e non limitative, in cui:

- la Figura 1 mostra un vista prospettica di una prima forma realizzativa del dispositivo di miscelazione secondo l'invenzione associato ad una piastra di
- 10 coltura;
- la Figura 2 mostra in modo schematico una modalità di utilizzo del dispositivo di miscelazione illustrato nella Figura 1;
- le Figure 3 e 4 mostrano una vista prospettica del
- 15 dispositivo illustrato nella Figura 1, presa rispettivamente dall'alto e dal basso;
- la Figura 5 mostra una vista prospettica in trasparenza di un dettaglio del dispositivo di miscelazione illustrato nella Figura 1 relativo ad un
- 20 coperchio;
- la figura 6 mostra il dispositivo illustrato nella Figura 1 parzialmente sezionato, associato ad una piastra di coltura;
- la Figura 7 mostra una vista in esploso del
- 25 dispositivo di miscelazione illustrato nella Figura 1;

- la Figura 8 mostra una vista in sezione di un dettaglio del dispositivo di miscelazione secondo l'invenzione relativo a mezzi di miscelazione;
- la Figura 9 mostra una vista prospettica di un
5 dettaglio del dispositivo di miscelazione secondo l'invenzione relativo ad una girante;
- la Figura 10 mostra una vista in esploso del dispositivo di miscelazione realizzato in accordo ad una seconda forma realizzativa dell'invenzione;
- 10 - le Figure 11 e 12 mostrano una vista prospettica, presa rispettivamente dall'alto e dal basso, di un dettaglio del dispositivo illustrato nella Figura 10 relativo a mezzi di protezione;
- la Figura 13 mostra una vista laterale dei mezzi di
15 protezione illustrati nelle Figure 11 e 12;
- la Figura 14 mostra una vista prospettica del dispositivo illustrato nella Figura 10, in configurazione assemblata, associato ad una piastra di coltura; e
- 20 - la Figura 15 mostra uno schema cinematico di un sistema di trasmissione del moto di un dispositivo realizzato in accordo ad una soluzione realizzativa particolare dell'invenzione.

Descrizione dettagliata

25 Il dispositivo di miscelazione meccanica per piastre di

coltura secondo l'invenzione verrà indicato nel suo complesso con 1 nella descrizione e nei disegni allegati.

Vantaggiosamente, il dispositivo secondo l'invenzione
5 può essere utilizzato in tutti i settori che prevedono l'utilizzo di piastre di coltura, in particolare per colture cellulari o microbiologiche in sospensione, quali il settore biotecnologico, alimentare, farmaceutico e biomedico.

10 Il dispositivo di miscelazione secondo la presente invenzione può essere utilizzato - nelle sue diverse varianti - sia con piastre di coltura Petri a singolo pozzetto, sia con piastre di coltura multipozzetto, simili a quella illustrata nella Figura A allegata
15 (dove i pozzetti sono indicati con W e la piastra multipozzetto nel suo complesso con P).

Come già accennato, i pozzetti di piastre di coltura standard definiscono volumi di coltura che variano da un massimo di 10 ml (nel caso di piastra Petri a
20 singolo pozzetto) ad un minimo di 200 μ l (nel caso di piastre con 96 pozzetti).

Il dispositivo secondo l'invenzione consente di operare una miscelazione di tipo meccanico tramite giranti sul contenuto dei pozzetti (ad esempio, colture cellulari
25 in sospensione), permettendo il controllo della

temperatura e pH ed il mantenimento della sterilità senza le complicazioni impiantistiche tipiche dei sistemi di miscelazione meccanica di tipo noto. In tal senso - come sarà ripreso nel seguito - il dispositivo
5 1 secondo l'invenzione è stato ideato e strutturato per poter essere utilizzato all'interno di incubatori biologici (come illustrato nella Figura 2, dove l'incubatore biologico è schematizzato da un riquadro in linea tratteggiata ed indicato con I).

10 Secondo l'invenzione, il dispositivo di miscelazione meccanica 1 comprende innanzitutto un coperchio 10 destinato ad essere amovibilmente associato ad una piastra di coltura P per schermarne il pozzetto o i pozzetti W limitando così l'ingresso di solidi sospesi
15 nell'aria ambiente A (veicolo di contaminazione biologica), e al contempo permettendo l'ingresso di gas e umidità esterni.

Più in dettaglio, ai fini del mantenimento della sterilità all'interno dei pozzetti W della piastra di
20 coltura P è sufficiente che il coperchio 10 crei un percorso tortuoso per l'ingresso dell'aria esterna. Tale percorso tortuoso impedisce o quantomeno limita l'ingresso di corpi solidi sospesi nell'aria A.

In tal modo il coperchio 10 e la piastra di coltura P
25 viene quindi a crearsi una camera di coltura mantenuta

sterile.

Per ciascun singolo pozzetto W di una piastra di coltura P il dispositivo 1 comprende inoltre almeno una girante di miscelazione 20 rotazionalmente associata al suddetto coperchio 10 in corrispondenza della faccia di quest'ultimo destinata ad essere rivolta verso la piastra di coltura P.

Il numero di giranti 20 varia in funzione del numero di pozzetti W della piastra di coltura P.

10 Il dispositivo 1 comprende inoltre mezzi motori 30 collegabili cinematicamente a ciascuna girante di miscelazione 20.

Secondo l'invenzione, almeno il coperchio 10 e ciascuna girante 20 sono realizzati con materiali biocompatibili che possono essere sottoposti a trattamenti di sterilizzazione e che sono in grado di resistere alle condizioni di umidità, temperatura e pH che si creano in un incubatore biologico.

Per "biocompatibilità" di un materiale si intende la proprietà di un materiale di non interferire con l'attività di organismi, e quindi in particolare la sua inerzia chimica.

Per "trattamento di sterilizzazione" si intende un trattamento di tipo chimico e/o fisico atto ad eliminare da un substrato eventuali organismi o

microrganismi, come ad esempio il trattamento termico in autoclave (con temperature non inferiori a 120°C e tempi di trattamento non inferiori a 30 minuti).

Le condizioni di temperatura, umidità e pH che si
5 creano in un incubatore biologico variano in funzione delle esigenze specifiche della coltura biologica. Mediamente, tuttavia, le temperature sono comprese tra 35°C e 38°C, pH tra 4 e 8 e umidità tra 80% e 100%.

Vantaggiosamente, il dispositivo 1 secondo l'invenzione
10 può comunque essere impiegato in un più ampio spettro di condizioni, con temperature tra 0 e 100°C, pH tra 1 e 13 e umidità tra 0 e 100%.

Preferibilmente, vengono usati materiali come il policarbonato (in particolare per realizzare il
15 coperchio 10) o il teflon (in particolare per realizzare le giranti di miscelazione 20).

Possono tuttavia essere usati in alternativa anche altri materiali, come ad esempio polistirene e altri polimeri plastici, vetro, metalli, ceramiche e
20 siliconi, con proprietà tali da risultare biocompatibili e resistere - senza subire deterioramenti - a trattamenti di sterilizzazione e alle condizioni di pH, temperatura e umidità che si vengono a creare in un incubatore biologico.

25 Il dispositivo di miscelazione 1 secondo l'invenzione

può pertanto essere utilizzato direttamente all'interno di un incubatore biologico. In questo modo, pur operando una miscelazione meccanica mediante giranti, è possibile controllare le condizioni di temperatura, umidità e pH (regolando la concentrazione di CO₂ nell'aria) della coltura biologica presente nella piastra di coltura senza dover prevedere soluzioni impiantistiche ad hoc.

Preferibilmente i mezzi motori 30 sono associati meccanicamente al coperchio 10 e sono quindi destinati ad operare all'interno di un incubatore biologico. Ciò rende più semplice e pratico l'utilizzo del dispositivo 1.

In questo caso, vantaggiosamente, i mezzi motori 30 sono provvisti di mezzi di schermatura 32 atti a proteggere le parti elettriche dei mezzi motori 30 sensibili all'umidità.

In alternativa, è possibile prevedere un dispositivo 1 in cui i mezzi motori non sono meccanicamente associati al coperchio 10 per poter operare dall'esterno di un incubatore biologico. Questa soluzione impone tuttavia complicazioni costruttive ed operative in quanto si deve prevedere un collegamento cinematico tra le giranti disposte all'interno dell'incubatore e i mezzi motori disposti all'esterno dello stesso.

Preferibilmente i mezzi motori 30 comprendono almeno un motore elettrico 31 cinematicamente collegabile a ciascuna girante 20.

Preferibilmente, come previsto nelle soluzioni realizzative illustrate rispettivamente nelle Figure 1 e 14, il motore elettrico 31 è destinato ad essere amovibilmente associato sulla parte sommitale del coperchio 10.

Vantaggiosamente, il motore elettrico 31 è provvisto di un contenitore ermetico 32 atto a proteggerlo dall'umidità in modo da consentirne un uso sicuro all'interno di un incubatore biologico I. Come si può osservare in particolare nelle Figure 1 e 12, il contenitore ermetico 32 è provvisto di un'apposita apertura attraverso la quale passa l'albero 35 del motore 31.

In accordo ad una soluzione realizzativa preferita, i mezzi motori 30 comprendono almeno un alimentatore elettrico 33 collegabile elettricamente al motore elettrico 31.

Operativamente, il motore elettrico 31 è destinato ad operare - associato al coperchio 10 - all'interno di un incubatore biologico I, mentre l'alimentatore 33 è destinato ad operare all'esterno dell'incubatore I (come illustrato schematicamente nella Figura 2).

Funzionalmente, l'alimentatore 33 e il motore 31 vengono collegati tra loro tramite cavi di connessione elettrica 80 che possono essere fatti passare semplicemente attraverso aperture normalmente previste
5 in tutti gli incubatori biologici.

Preferibilmente, l'alimentatore elettrico 33 è atto a fornire corrente elettrica stabilizzata, dalla cui intensità dipende la velocità di rotazione trasmessa dal motore 31 a ciascuna girante 20.

10 Vantaggiosamente, l'alimentatore elettrico 33 può essere provvisto di un sistema di regolazione dell'intensità della corrente elettrica stabilizzata in modo che sia possibile adattare l'intensità di miscelazione alle specifiche esigenze della coltura
15 biologica.

In accordo ad una soluzione realizzativa alternativa (non illustrata nelle Figure allegate), il motore elettrico 31 può essere alimentato da batterie elettriche alloggiare internamente al contenitore
20 ermetico. In tal modo il motore elettrico 31 può operare autonomamente, senza che sia necessaria alcuna connessione elettrica esternamente all'incubatore biologico. Il dispositivo 1 risulta essere inoltre complessivamente più compatto.

25 Come già accennato in precedenza, il dispositivo 1

comprende almeno una girante di miscelazione 20 per ogni pozzetto W di una piastra di coltura P.

Vantaggiosamente, la morfologia delle giranti 20 può essere adattata alle particolari esigenze del ambiente di coltura, in funzione di considerazioni fluidodinamiche.

Ciascuna girante di miscelazione 20 è rotazionalmente collegata al coperchio 10 ed è cinematicamente collegabile ai mezzi motori 30.

10 Preferibilmente, il collegamento cinematico tra ciascuna girante 20 e i mezzi motori 30 può essere di tipo meccanico.

Più in dettaglio, la girante 20 è rotazionalmente associata al coperchio 10 in modo tale che l'albero della girante sia accessibile dall'esterno del coperchio 10. La girante 20 è collegata al coperchio in modo tale che tra l'albero di rotazione 22 della girante 20 e lo spessore del coperchio 10 sia realizzata un'intercapedine 21 (che mette in comunicazione la camera di coltura sottostante il coperchio e l'ambiente esterno) avente un andamento tortuoso (come illustrato ad esempio nella Figura 8). L'intercapedine permette l'ingresso di aria e gas dall'esterno per diffusione, ma il suo andamento tortuoso impedisce la penetrazione di eventuali corpi

solidi sospesi salvaguardando il grado di sterilità interno della piastra di coltura. Tra il coperchio 10 e la piastra di coltura P si riesce quindi a mantenere una camera di coltura sterile.

5 In accordo ad una soluzione realizzativa preferita dell'invenzione, illustrata in particolare nelle Figure 8 e 9, ciascuna girante 20 è provvista di un mozzo 20' atto ad inserirsi rotazionalmente con una prima estremità in un'apposita apertura di innesto 13
10 ricavata sul coperchio 10 e di una o più pale 23, associate all'altra estremità del mozzo 20'.

Funzionalmente, il mozzo 20' viene associato tramite un elemento assiale di fissaggio 24 (ad esempio, una vite) ad un ingranaggio 36 (ad esempio, una ruotata dentata o
15 una puleggia), che viene disposto sulla faccia esterna del coperchio ed è a sua volta cinematicamente collegabile ai mezzi motori 30 per ricevere un moto rotativo. L'elemento di fissaggio 24 funge così da albero di rotazione della girante 20.

20 Più in dettaglio, sempre in accordo alla suddetta soluzione realizzativa preferita illustrata nella Figura 8, in corrispondenza della faccia esterna del coperchio l'apertura di innesto 13 presenta una sezione allargata definente una sede 14. Tale sede 14 è
25 destinata ad alloggiare una boccola 25, che va ad

interporsi assialmente tra il mozzo 20' e l'ingranaggio 36 ricevendo internamente l'elemento assiale di fissaggio 22.

La boccola 25 funge da cuscinetto e da elemento
5 distanziatore tra l'ingranaggio 36 e la superficie del coperchio 10. La boccola è realizzata in teflon, così da facilitare il moto rotativo sfruttando le proprietà autolubrificanti di questo materiale.

Questa soluzione costruttiva rende sostanzialmente
10 superfluo l'inserimento di elementi di tenuta ad O-ring. Infatti, grazie alla variazione di sezione lungo l'apertura 13 e alla presenza della boccola 25 viene a crearsi un percorso tortuoso che impedisce l'ingresso di corpi solidi sospesi nell'aria esterna.

15 Preferibilmente, come si può osservare nella Figura 8, la porzione 20'' con la quale il mozzo 20' si inserisce nell'apertura 13 ha una sezione ridotta. In corrispondenza dello scalino formato dalla porzione 20'' viene così a crearsi tra la faccia interna del
20 coperchio 10 ed il mozzo 20' una zona di battuta che aumenta ulteriormente la tortuosità del percorso che l'aria deve percorrere per passare dall'esterno all'interno della camera di coltura.

In alternativa al collegamento di tipo meccanico, il
25 collegamento cinematico tra ciascuna girante 20 e i

mezzi motori 30 può essere di tipo a trascinamento magnetico.

Più in dettaglio, la girante 20 è ancora rotazionalmente associata al coperchio 10 (in modo tale
5 che le sollecitazioni meccaniche che si generano durante la rotazione possano scaricarsi principalmente sul coperchio 10), ma è portata in rotazione per trascinamento magnetico dall'esterno del coperchio 10. In tal modo si evita di dover realizzare sul coperchio
10 aperture che (pur schermate e protette) sono comunque zone potenziali di ingresso di elementi di contaminazione.

In accordo ad una soluzione realizzativa alternativa (non illustrata nella Figure allegate) ciascuna girante
15 20 è provvista di un mozzo atto ad inserirsi rotazionalmente con una prima estremità in un'apposita sede cieca ricavata sulla faccia interna del coperchio e di una o più pale, associate all'altra estremità del mozzo. La girante è provvista di un elemento sensibile
20 al campo magnetico. Sulla faccia esterna del coperchio 10 viene rotazionalmente collegato un ingranaggio (ad esempio, una ruotata dentata o una puleggia) provvisto a sua volta di un elemento magnetico. Grazie a tale
25 elemento magnetico l'ingranaggio riesce a trascinare la girante nel movimento di rotazione che a sua volta

riceve dai mezzi motori.

Vantaggiosamente, i mezzi motori 30 comprendono un sistema di trasmissione del moto 36, 37 dall'albero motore 35 del motore elettrico 31 all'albero 22 di
5 ciascuna girante 20 (tramite collegamento meccanico o magnetico)

Come già accennato in precedenza il dispositivo di miscelazione 1 secondo l'invenzione può essere utilizzato con piastre di coltura, del tipo Petri a
10 singolo pozzetto o del tipo multipozzetto. Il numero e la disposizione delle giranti 20 varia dunque in funzione del numero di pozzetti W della piastra di coltura P.

Nel caso di utilizzo con piastre Petri a singolo
15 pozzetto, il dispositivo 1 è provvisto di un'unica girante 20. In questo caso l'ingranaggio 36 cinematicamente collegato al mozzo 20' della girante può essere collegato direttamente all'albero motore 35 del motore 31. Il sistema di trasmissione del moto è
20 quindi molto semplice e può essere realizzato da due ruote dentate oppure da due pulegge collegate da una cinghia o una catena.

Nel caso di utilizzo con piastre di coltura multipozzetto, come illustrato nelle Figure allegate,
25 il sistema di trasmissione del moto 36, 37 deve essere

più articolato dovendo essere asservito ad una pluralità di giranti. In funzione della disposizione e del numero delle giranti il sistema di trasmissione comprende una o più catene cinematiche 36, ciascuna
5 delle quali asservita ad una o più giranti 20.

In accordo ad una soluzione realizzativa preferita illustrata nella Figura 1, le catene cinematiche sono costituite da una pluralità di ingranaggi 36 (ruote dentate).

10 Nel caso di una piastra di coltura a 6 pozzetti (disposte in due file da tre), una soluzione preferita prevede due cascate di ruote dentate 36 in parallelo, ciascuna delle quali asservita a tre giranti.

Più in dettaglio, lo schema cinematico prevede una
15 ruota dentata motrice 35' (associata all'albero motore 35) e due cascate di ruote dentate ciascuna della quali composta da 3 ruote dentate principali 36 cinematicamente collegate alla rispettiva girante 20 e 2 ruote dentate di collegamento 37. Lo schema
20 cinematico di questa soluzione è illustrato nella Figura 15.

La struttura e la disposizione delle catene cinematiche 36 varia in funzione del numero e della disposizione delle giranti 20 e quindi della struttura della piastra
25 di coltura P.

In accordo a soluzioni realizzative alternative le catene cinematiche possono essere realizzate anche con pluralità di pulegge e cinghie o catene.

Vantaggiosamente, gli ingranaggi vengono realizzati con
5 materiali, aventi proprietà tali da risultare biocompatibili e resistere - senza subire deterioramenti - a trattamenti di sterilizzazione e alle condizioni di pH, temperatura e umidità che si vengono a creare in un incubatore biologico. In
10 particolare le ruote dentate possono essere realizzate in materiale polimerico.

Riprendendo quanto già accennato in precedenza, il coperchio 10 del dispositivo di miscelazione 1 è destinato ad essere amovibilmente associato ad una
15 piastra di coltura P allo scopo di schermarne i pozzetti W impedendo così l'ingresso di solidi sospesi nell'aria ambiente, e al contempo permettendo l'ingresso di gas e umidità esterni.

Preferibilmente, come si può osservare nelle Figure 4 e
20 5, il coperchio 10 comprende:

- una porzione principale 11, destinata a sovrapporsi alla piastra di coltura P con funzione di schermo e a supportare le catene cinematiche 36 del sistema di trasmissione del moto; ed
- 25 - una porzione secondaria 12, destinata a supportare

meccanicamente ed amovibilmente i mezzi motori 30 (nello specifico il motore elettrico 31) in posizione scostata rispetto alla piastra di coltura P; in tal modo si riduce l'interferenza che il motore 31 può eventualmente esercitare sulla coltura, in particolare
5 tramite vibrazioni, campi magnetici/elettrici e/o scambi di calore.

Come si può osservare in particolare nella Figura 5, nella porzione principale 11 del coperchio 10 vengono
10 realizzate sulla superficie sommitale le aperture di innesto 13 o sedi cieche (non illustrate) per le giranti, nonché le sedi di rotazione 18 per le ruote dentate di collegamento 37 (nel caso in cui siano previste catene cinematiche con ruote dentate).

15 Nella porzione secondaria 12, sempre sulla superficie sommitale del coperchio 10, vengono invece realizzate apposite aperture 19 per il fissaggio di mezzi di supporto 90 del motore 31.

Più in dettaglio, i suddetti mezzi di supporto 90
20 possono consistere semplicemente in una staffa che con un primo braccio viene collegata amovibilmente al coperchio 10 e con un secondo braccio viene associata stabilmente al motore 31 o eventualmente al contenitore ermetico 32.

25 Vantaggiosamente, le aperture 19 possono essere

realizzate in forma di feritoie o serie di fori allineati così da permettere una regolazione nel posizionamento del motore 31 rispetto alle catene cinematiche 36 e alle giranti 20.

5 Preferibilmente, il coperchio 10 presenta una struttura scatolare aperta avente base sostanzialmente rettangolare. Il volume interno del coperchio 10 è diviso in due camere 16 e 17 tramite una parete divisoria interna 15, che corrispondono rispettivamente
10 alla porzione principale 11 e alla porzione secondaria 12.

La forma e le dimensioni del coperchio possono tuttavia variare per adattarsi alle piastre di coltura P disponibili in commercio.

15 Vantaggiosamente, il coperchio 10 può essere sagomato opportunamente per facilitarne la presa e la manipolazione.

In accordo alla soluzione realizzativa illustrata in particolare nelle Figure da 3 a 7, il coperchio 10 è
20 realizzato in modo da racchiudere perimetralmente al suo interno la piastra di coltura P appoggiandosi direttamente sullo stesso piano di appoggio della piastra.

In accordo ad una soluzione realizzativa alternativa,
25 il coperchio 10 può essere realizzato per andare invece

in appoggio sul bordo perimetrale della piastra di coltura P, almeno limitatamente alla porzione principale 11. Questa soluzione richiede, però, che il coperchio abbia sostanzialmente le stesse dimensioni della piastra di coltura.

In accordo ad una soluzione realizzativa particolare illustrata nelle Figure da 10 a 14, il dispositivo 1 comprende:

- una base di appoggio 40 atta a supportare la piastra di coltura P e almeno la porzione principale 11 del coperchio 10;

- un corpo di protezione 50 destinato ad essere disposto almeno sopra la porzione principale 11 del coperchio 10.

Più in dettaglio vengono inoltre previsti:

- primi mezzi di tenuta 61 (ad esempio in materiale elastomerico) destinati ad essere interposti nella zona di battuta tra la base di appoggio 40 e il coperchio 10;

- secondi mezzi di tenuta 62 destinati ad essere interposti nella zona di battuta tra il corpo di protezione 50 e il coperchio 10;

- terzi mezzi di tenuta 63 destinati ad essere inseriti nella zona di innesto dell'albero 35 del motore 31 nel corpo di protezione 50.

Il dispositivo comprende inoltre mezzi di assiemaggio
70 suscettibili di agire in corrispondenza del
coperchio 10, della base di appoggio 40 e/o del corpo
di protezione 50 per trattenere insieme la varie parti
5 e comprimere i mezzi di tenuta 61, 62 e 63.

Più in dettaglio, i suddetti mezzi di assiemaggio
possono essere realizzati da una pluralità di staffe
90, come illustrato nella Figura 14.

Questa forma realizzativa particolare del dispositivo 1
10 secondo l'invenzione è destinata ad essere utilizzata
nel caso in cui ci sia la necessità di garantire
all'interno dell'ambiente di coltura un grado di
sterilità superiore rispetto a quello ottenibile con il
dispositivo 1 realizzato in accordo alla soluzione
15 realizzativa illustrata nelle figure da 1 a 7.

In questo caso specifico, il dispositivo 1 viene
provvisto di mezzi di controllo e regolazione
dell'atmosfera gassosa (O_2 , umidità, CO_2) interna della
camera di coltura. Tali mezzi (non illustrati nelle
20 figure allegate) possono consistere semplicemente in
una serie di condotti di ingresso e uscita comunicanti
con la camera di coltura e con apposita strumentazione
di controllo. Tali condotti vengono inseriti
all'interno della camera di coltura tramite apposite
25 aperture ricavate sul coperchio 10 e sul corpo di

protezione 50.

Il dispositivo di miscelazione 1 secondo l'invenzione -
nelle sue diverse varianti - offre una serie di
vantaggi, in parte già esplicitati nel corso della
5 descrizione.

Un primo importante vantaggio del dispositivo 1 è dato
dalla sua praticità d'uso e la sua integrabilità con
comuni attrezzature presenti in un laboratorio
biologico.

10 L'impiego del dispositivo 1 non va infatti ad influire
in maniera rilevante sulla procedura normalmente
seguita per una normale coltura biologica.

Una volta preparata la coltura nella piastra P si
procede ad associare alla stessa il coperchio 10: è poi
15 sufficiente disporre con poche e semplici operazioni il
motore 31 sul coperchio e impostare l'intensità di
miscelazione. L'utilizzo del dispositivo 1 non richiede
pertanto particolari abilità o conoscenze tecniche.

Il fatto che il dispositivo 1 possa essere usato
20 direttamente su piastre di coltura, Petri o multiwell,
di tipo standard permette all'utilizzatore di seguire
senza alcuna modifica i protocolli di coltura biologici
specificamente studiati per tali piastre. È noto
infatti che molte colture cellulari, ad esempio colture
25 di cellule staminali, sono estremamente sensibili alle

condizioni ambientali, potendo essere influenzate, ad esempio, anche da semplici variazioni dei volumi e delle proprietà chimiche e meccaniche delle superfici di coltura.

5 Un altro importante vantaggio dato dal dispositivo 1 secondo l'invenzione è legato alla possibilità di utilizzo in un normale incubatore biologico. Come già ampiamente descritto in dettaglio, ciò semplifica il controllo della temperatura, pH e della composizione
10 dell'atmosfera gassosa.

Il dispositivo 1 può quindi essere utilizzato senza richiedere servizi esterni (come ad esempio acqua o CO₂) ad esso specificamente dedicati.

Il dispositivo 1 non necessita di nessun accorgimento
15 particolare per il mantenimento della sterilità, essendo strutturato per limitare l'ingresso di corpi solidi sospesi nell'aria esterna.

Il dispositivo è infine di semplice ed economica
20 realizzazione non richiedendo componenti sofisticati o complessi.

L'invenzione così concepita raggiunge pertanto gli scopi prefissi.

Ovviamente, essa potrà assumere, nella sua
realizzazione pratica anche forme e configurazioni
25 diverse da quella sopra illustrata, senza che, per

questo, si esca dal presente ambito di protezione.

Inoltre tutti i particolari potranno essere sostituiti da elementi tecnicamente equivalenti e le dimensioni, le forme ed i materiali impiegati potranno essere
5 qualsiasi a seconda delle necessità.

TITOLARE: UNIVERSITA' DEGLI STUDI PADOVA

RIVENDICAZIONI

1. Dispositivo di miscelazione meccanica per piastra di
5 coltura, comprendente:
- un coperchio (10) destinato ad essere amovibilmente
associato ad una piastra di coltura (P) per schermare
il pozzetto o i pozzetti (W) di quest'ultima limitando
l'ingresso di solidi sospesi nell'aria ambiente, e al
10 contempo permettendo l'ingresso di gas e umidità
esterni;
- almeno una girante di miscelazione (20) per ciascun
pozzetto (W) di detta piastra di coltura (P), detta
girante (20) essendo rotazionalmente associata a detto
15 coperchio (10) in corrispondenza della faccia di
quest'ultimo destinata ad essere rivolta verso detta
piastra di coltura (P);
- mezzi motori (30) collegabili cinematicamente a detta
almeno una girante (20);
20 detto coperchio (10) e detta almeno una girante (20)
essendo realizzati con materiali che possono essere
sottoposti a trattamenti di sterilizzazione e sono in
grado di resistere alle condizioni di umidità,
temperatura e pH che si creano in un incubatore
25 biologico.

2. Dispositivo secondo la rivendicazione 1, in cui il collegamento cinematico tra detta almeno una girante (20) e detti mezzi motori (30) è di tipo meccanico.

3. Dispositivo secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui
5 detta girante (20) è rotazionalmente associata a detto coperchio (10) in modo tale che tra l'albero (22) di detta girante (20) e detto coperchio (10) sia realizzata un'intercapedine (21) avente un andamento tortuoso per limitare l'ingresso di corpi solidi
10 sospesi.

4. Dispositivo secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui il collegamento cinematico tra detta almeno una girante (20) e detti mezzi motori (30) è di tipo a trascinamento magnetico.

15 5. Dispositivo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui detti mezzi motori (30) sono associabili meccanicamente a detto coperchio (10).

6. Dispositivo secondo una qualsiasi delle
20 rivendicazioni precedenti, in cui detti mezzi motori (30) sono provvisti di mezzi di schermatura (32) atti a proteggere le parti di detti mezzi motori (30) sensibili all'umidità.

7. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni
25 precedenti, in cui detti mezzi motori (30) comprendono

almeno un motore elettrico (31) cinematicamente collegabile a detta almeno una girante (20).

8. Dispositivo secondo la rivendicazione 7, in cui detto motore elettrico (31) è atto ad essere
5 amovibilmente associato a detto coperchio (10).

9. Dispositivo secondo la rivendicazione 7 o 8, in cui detto motore elettrico (31) è provvisto di un contenitore ermetico (32) atto a proteggerlo dall'umidità.

10 10. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni da 4 a 6, in cui detti mezzi motori (30) comprendono almeno un alimentatore elettrico (33) collegabile elettricamente a detto motore elettrico.

11. Dispositivo secondo la rivendicazione precedente,
15 in cui detto alimentatore elettrico (33) è atto a fornire una corrente elettrica stabilizzata, dalla cui intensità dipende la velocità di rotazione trasmessa da detto motore (31) a detta almeno una girante (20).

12. Dispositivo secondo la rivendicazione precedente,
20 in cui detto alimentatore elettrico (33) è provvisto di un sistema di regolazione dell'intensità della corrente elettrica stabilizzata.

13. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazione da 7 a 12, in cui detti mezzi motori (30) comprendono
25 un sistema di trasmissione del moto (36, 37)

dall'albero motore (35) di detto motore elettrico (31)
all'albero (22) di detta almeno una girante (20).

14. Dispositivo secondo la rivendicazione precedente,
in cui detto sistema di trasmissione del moto (36, 37)
5 comprende una o più catene cinematiche (36), ciascuna
delle quali asservita ad una o più giranti (20).

15. Dispositivo secondo la rivendicazione 14, in cui
dette una o più catene cinematiche comprendono una
pluralità di ingranaggi (36).

10 16. Dispositivo secondo la rivendicazione precedente,
in cui detti ingranaggi (36) sono cinematicamente
collegati a dette giranti (20).

17. Dispositivo secondo la rivendicazione 14, in cui
dette una o più catene cinematiche comprendono una
15 pluralità di pulegge e cinghie o catene.

18. Dispositivo secondo la rivendicazione precedente,
in cui dette pulegge sono cinematicamente collegate a
dette giranti.

19. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni
20 da 14 a 18, in cui dette catene cinematiche (36) sono
supportate da detto coperchio (10).

20. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni
precedenti, in cui detto coperchio (10) comprende una
porzione principale (11), destinata a sovrapporsi a
25 detta piastra di coltura (P) con funzione di schermo,

ed una porzione secondaria (12), destinata a supportare meccanicamente ed amovibilmente detti mezzi motori (30) in posizione scostata rispetto a detta piastra di coltura (P).

5 21. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, in cui detto coperchio (10) è atto a racchiudere perimetralmente al suo interno detta piastra di coltura (P) appoggiandosi direttamente sullo stesso piano di appoggio di detta piastra di coltura
10 (P).

22. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni da 1 a 20, comprendente una base di appoggio (40) atta a supportare detta piastra di coltura (P) e almeno la porzione principale (11) di detto coperchio (10).

15 23. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, comprendente un corpo di protezione (50) destinato ad essere disposto sopra detta almeno porzione principale (11) di detto coperchio (10).

20 24. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, comprendente primi mezzi di tenuta (61) destinati ad essere interposti nella zona di battuta tra detta base di appoggio (40) e detto coperchio (10).

25 25. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, comprendente secondi mezzi di tenuta (62) destinati ad essere interposti nella zona di battuta

tra detto corpo di protezione (50) e detto coperchio (10).

26. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, comprendente terzi mezzi di tenuta (63)
5 destinati ad essere inseriti nella zona di innesto dell'albero motore (35) di detto motore (31) in detto corpo di protezione (50).

27. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, comprendente mezzi di assiemaggio (70)
10 suscettibili di agire su detto coperchio (10) e/o su detta base di appoggio (40) e/o su detto corpo di protezione (50) per comprimere detti mezzi di tenuta (61, 62, 63).

28. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni
15 da 22 a 27, comprendente mezzi di controllo e regolazione dell'atmosfera gassosa interna alla camera di coltura delimitata da detto coperchio (10), detta base di appoggio (40) e detto corpo di protezione (50).

29. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni
20 precedenti, in cui detto coperchio (10) è realizzato in policarbonato.

30. Dispositivo secondo una o più delle rivendicazioni precedenti, in cui detta almeno una girante (20) è realizzata in teflon.

APPLICANT: UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

CLAIMS

1. Mechanical mixing device for culture plate
5 comprising:

- a lid (10) intended to be associated in a detachable
manner to a culture plate (P) in order to screen the
well or wells (W) of the latter limiting the entrance
of solids suspended in the ambient air, and at the same
10 time allowing the entrance of external gas and
humidity;

- at least one mixer impeller (20) for each well (W) of
said culture plate (P), said impeller (20) being
rotationally associated to said lid (10) on the side of
15 the latter intended to face said culture plate (P);

- drive means (30) kinematically connectable to said at
least one impeller (20);

said lid (10) and said at least one impeller(20) being
made in materials which can be sterilised and can
20 withstand the conditions of humidity, temperature and
pH which are created in a biological incubator.

2. Device according to claim 1, wherein the kinematic
connection between said at least one impeller (20) and
said drive means (30) is of the mechanical type.

25 3. Device according to claim 1 or 2, wherein said

impeller (20) is rotationally associated to said lid (10) so that between the shaft (22) of said impeller (20) and said lid (10) an interspace (21) is created having a tortuous shape so as to limit the entrance of
5 suspended solid bodies.

4. Device according to claim 1 or 2, wherein the kinematic connection between said at least one impeller (20) and said drive means (30) is of the magnetic drive type.

10 5. Device according to any of the previous claims, wherein said drive means (30) can be associated mechanically to said lid (10).

6. Device according to any of the previous claims, wherein said drive means (30) are provided with
15 screening means (32) able to protect the parts of said drive means (30) sensitive to humidity.

7. Device according to one or more of the previous claims, wherein said drive means (30) comprise at least one electric motor (31) kinematically connectable to
20 said at least one impeller (20).

8. Device according to claim 7, wherein said electric motor (31) is suitable to be associated to said lid (10) in a detachable manner.

9. Device according to claim 7 or 8, wherein said
25 electric motor (31) is provided with an hermetic

container (32) able to protect it from humidity.

10. Device according to one or more of claims from 4 to 6, wherein said drive means (30) comprise at least one electric power supply unit (33) electrically
5 connectable to said electric motor.

11. Device according to the previous claim, wherein said electric power supply unit (33) is able to provide a stabilized electric current, the intensity of which affects the speed of rotation transmitted by said motor
10 (31) to said at least one impeller (20).

12. Device according to the previous claim, wherein said electric power supply unit (33) is provided with a system for adjusting the intensity of the stabilized electric current.

15 13. Device according to one or more of the previous claims from 7 to 12, wherein said drive means (30) comprise a motor transmission system (36, 37) from the driving shaft (35) of said electric motor (31) to the shaft (22) of said at least one impeller (20).

20 14. Device according to the previous claim, wherein said motor transmission system (36, 37) comprises one or more kinematic chains (36), each of which slaved to one or more impellers (20).

15. Device according to claim 14, wherein said one or
25 more kinematic chains comprise a number of gears (36).

16. Device according to the previous claim, wherein said gears (36) are kinematically connected to said impellers (20).

17. Device according to claim 14, wherein said one or
5 more kinematic chains comprise a number of pulleys and belts or chains.

18. Device according to the previous claim, wherein said pulleys are kinematically connected to said impellers.

10 19. Device according to one or more of the claims from 14 to 18, wherein said kinematic chains (36) are supported by said lid (10).

20. Device according to one or more of the previous claims, wherein said lid (10) comprises a main portion
15 (11), intended to overlap said culture plate (P) having a screening function, and a secondary portion (12), intended to support mechanically and detachably said drive means (30) in a distanced position in relation to said culture plate (P).

20 21. Device according to one or more of the previous claims, wherein said lid (10) is able to enclose perimetrally within it said culture plate (P) resting directly on the same support plane as said culture plate (P).

25 22. Device according to one or more of the claims from

1 to 20, comprising a support base (40) able to support said culture plate (P) and at least the main portion (11) of said lid (10).

23. Device according to one or more of the previous
5 claims, comprising a protective body (50) intended to be positioned over said at least main portion (11) of said lid (10).

24. Device according to one or more of the previous
10 claims, comprising first sealing means (61) intended to be interposed in the abutment zone between said support base (40) and said lid (10).

25. Device according to one or more of the previous
15 claims, comprising second sealing means (62) intended to be interposed in the abutment zone between said protective body (50) and said lid (10).

26. Device according to one or more of the previous
claims, comprising third sealing means (63) intended to be inserted in the coupling zone of the driving shaft (35) of said motor (31) in said protective body (50).

20 27. Device according to one or more of the previous claims, comprising means of assembling (70) susceptible to acting on said lid (10) and/or on said support base (40) and/or on said protective body (50) to compress said sealing means (61, 62, 63).

25 28. Device according to one or more of the claims from

22 to 27, comprising means of control and adjustment of the gaseous atmosphere inside the culture chamber defined by said lid (10), said support base (40) and said protective body (50).

5 29. Device according to one or more of the previous claims, wherein said lid (10) is made from polycarbonate.

30. Device according to one or more of the previous claims, wherein said at least one impeller (20) is made
10 from Teflon.

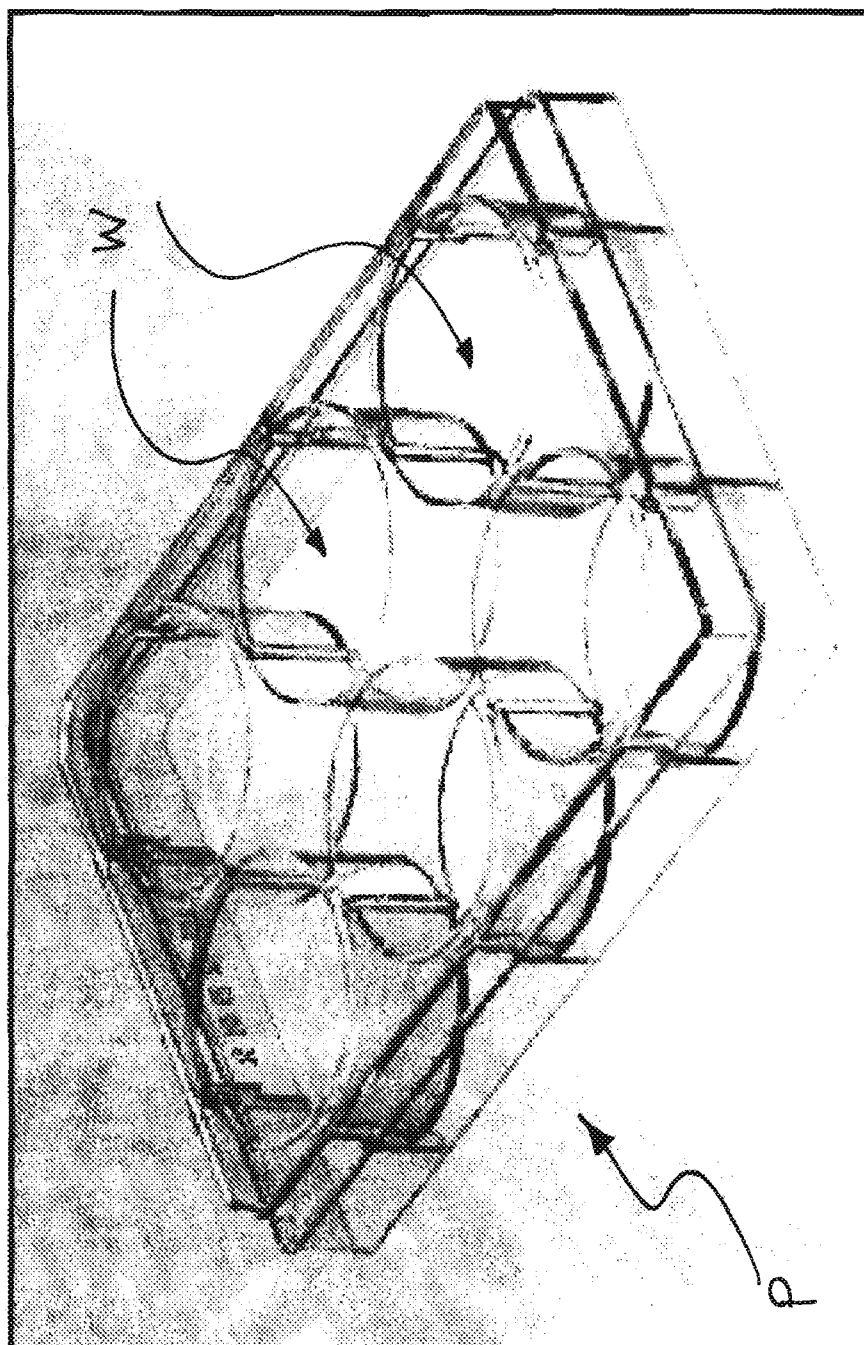


Fig. A

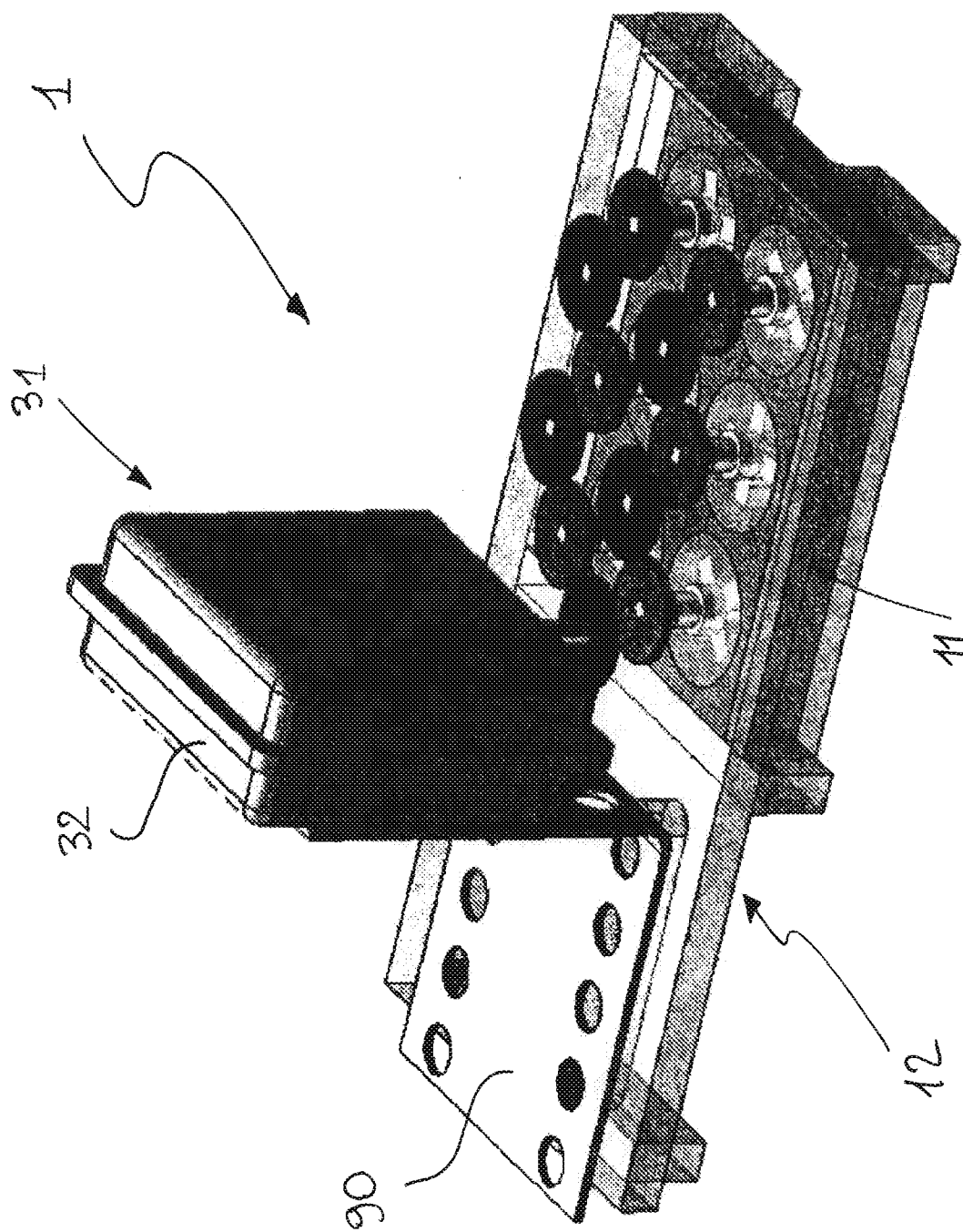


Fig. 1

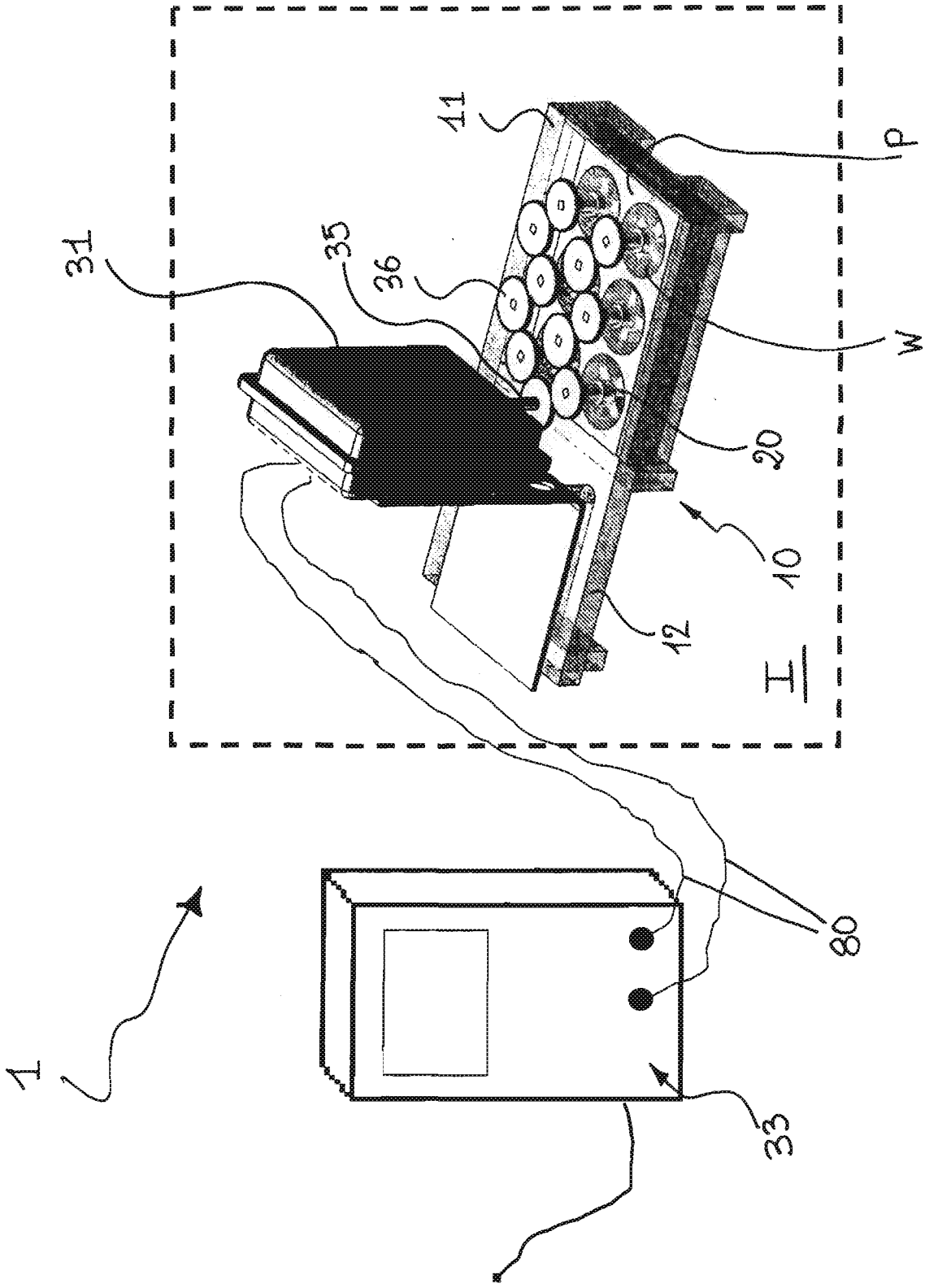


Fig. 2

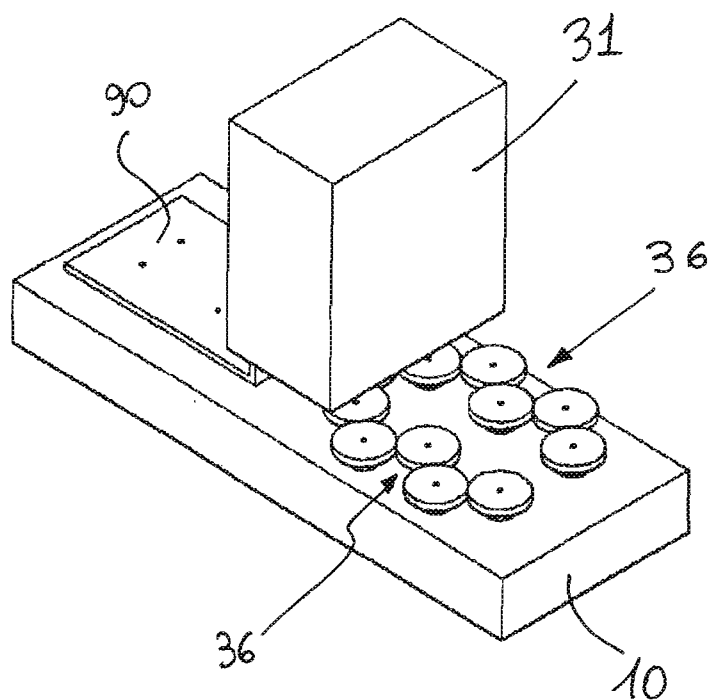


Fig. 3

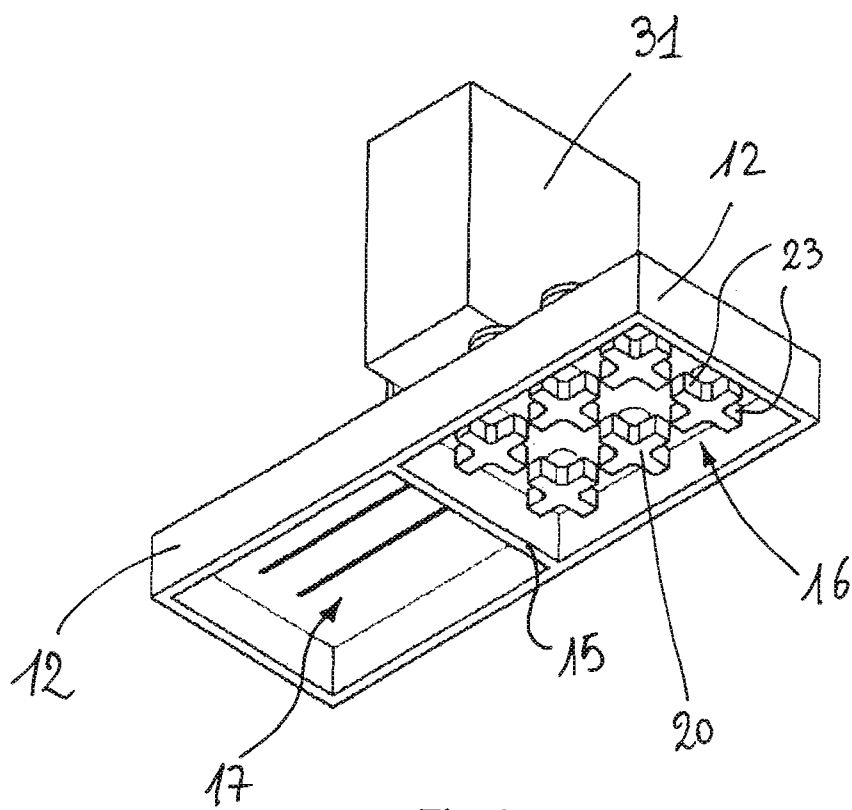


Fig. 4

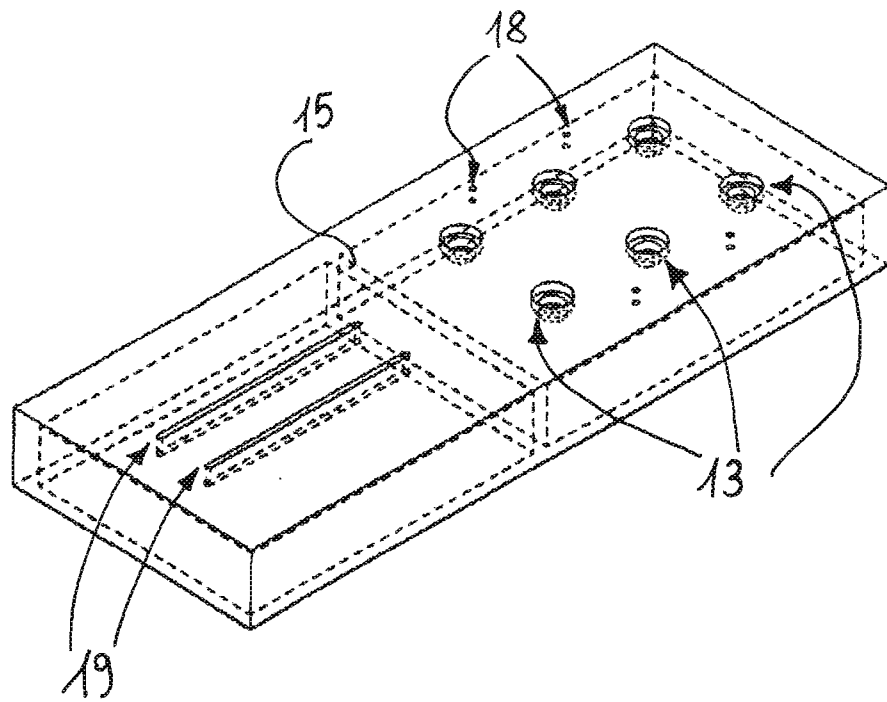


Fig. 5

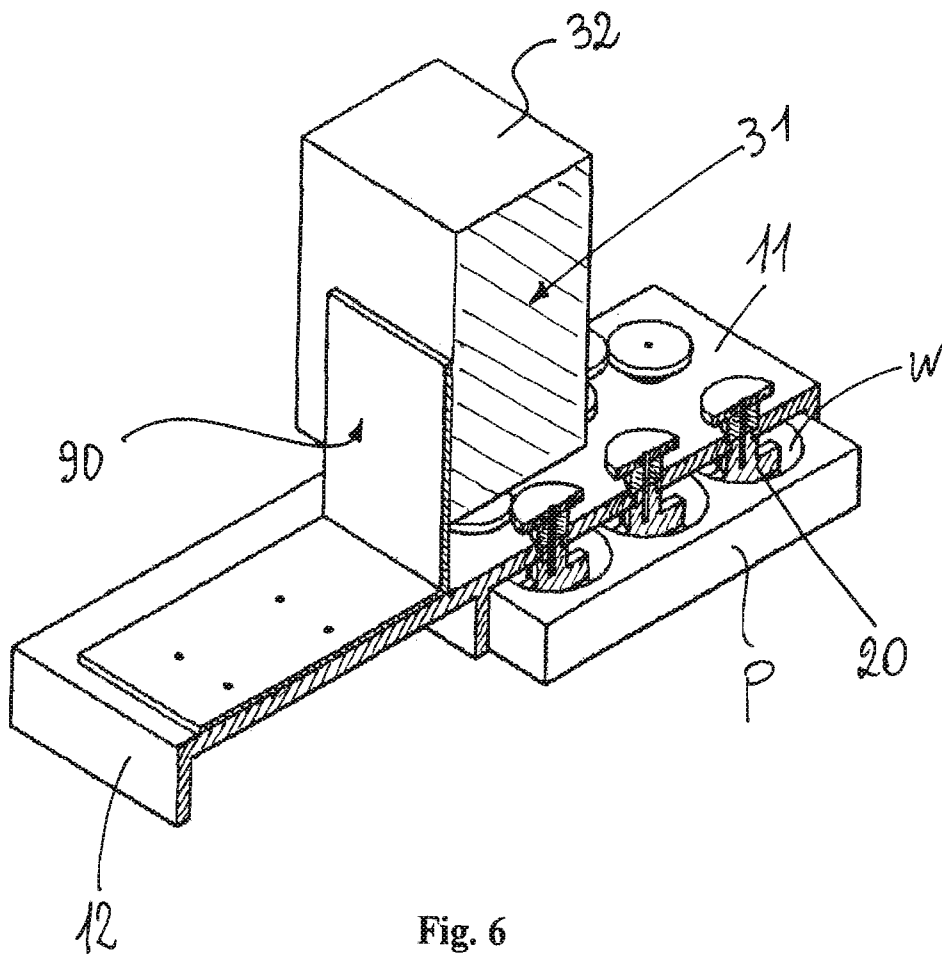


Fig. 6

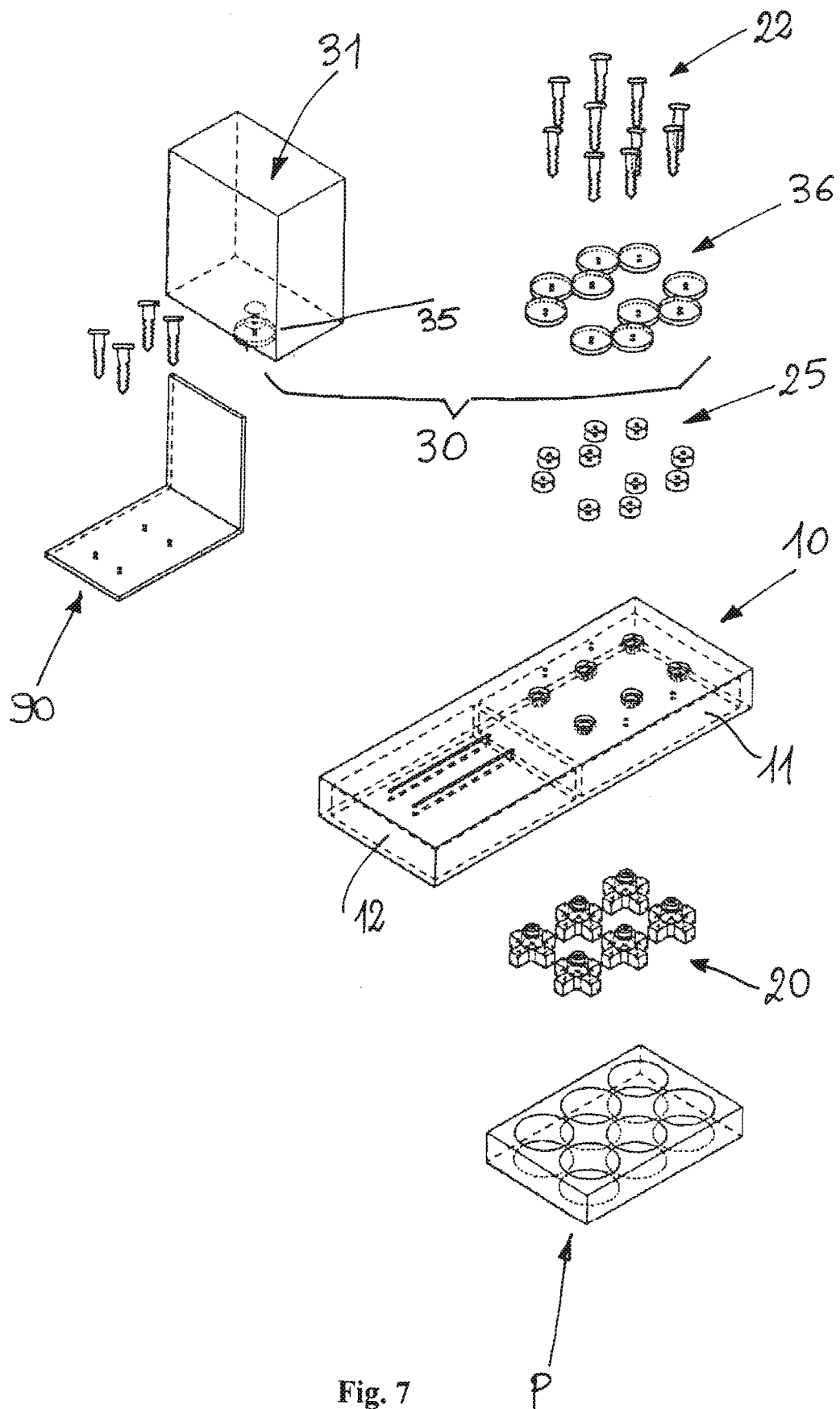


Fig. 7

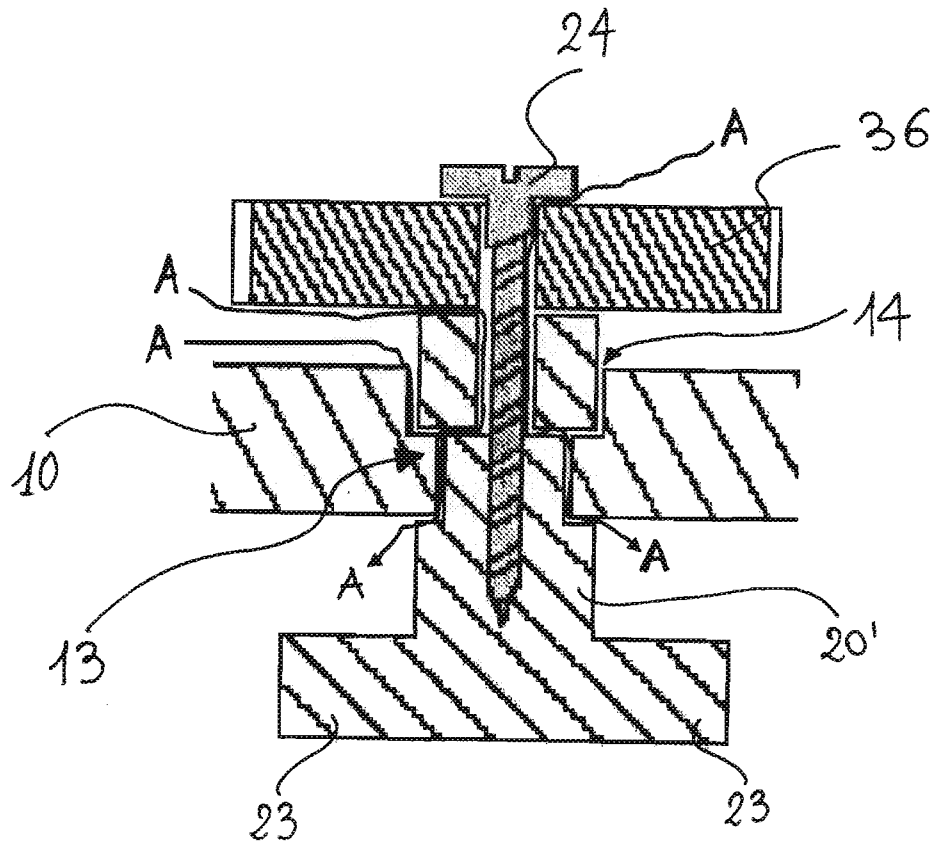


Fig. 8

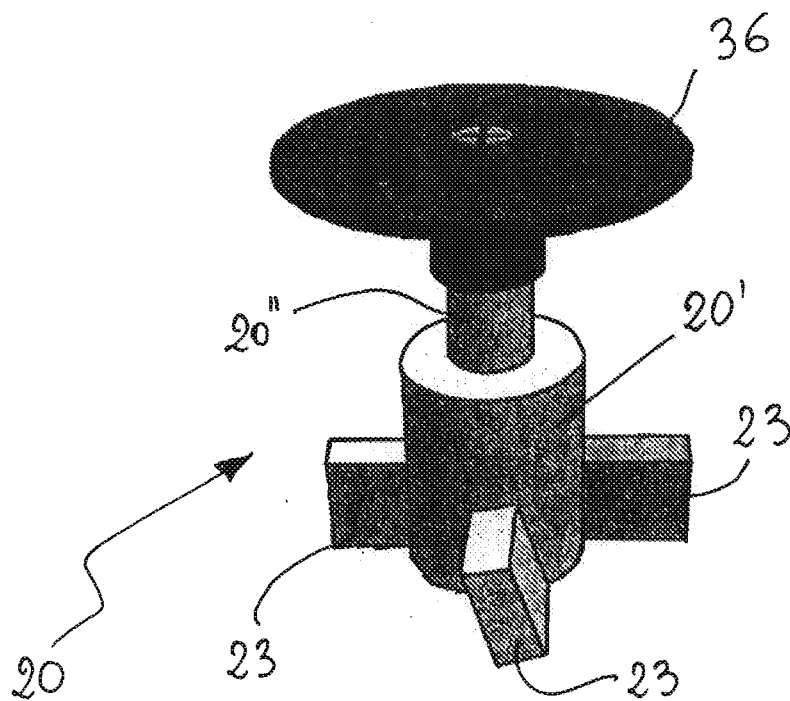


Fig. 9

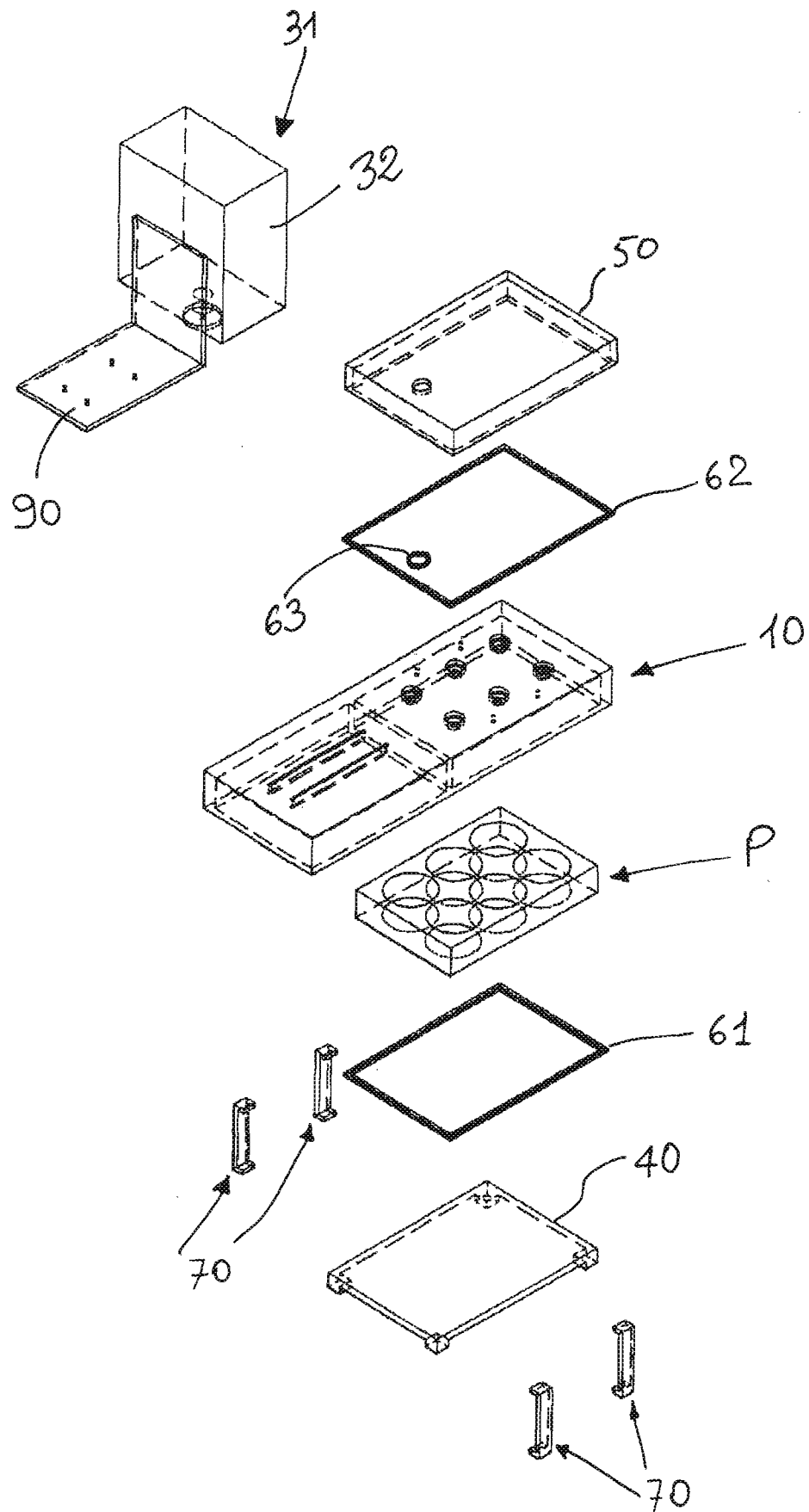


Fig. 10

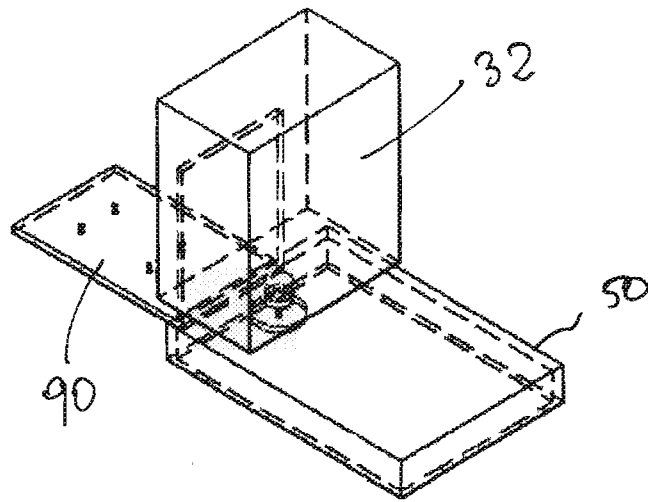


Fig. 11

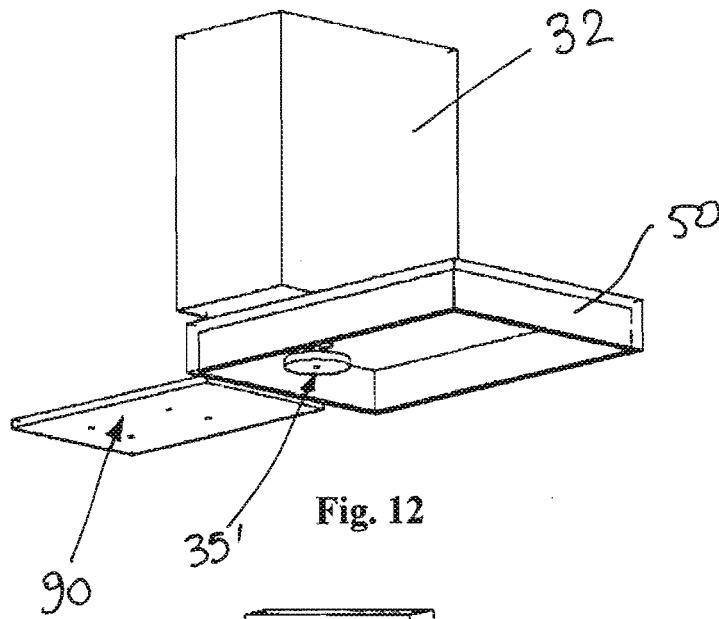


Fig. 12

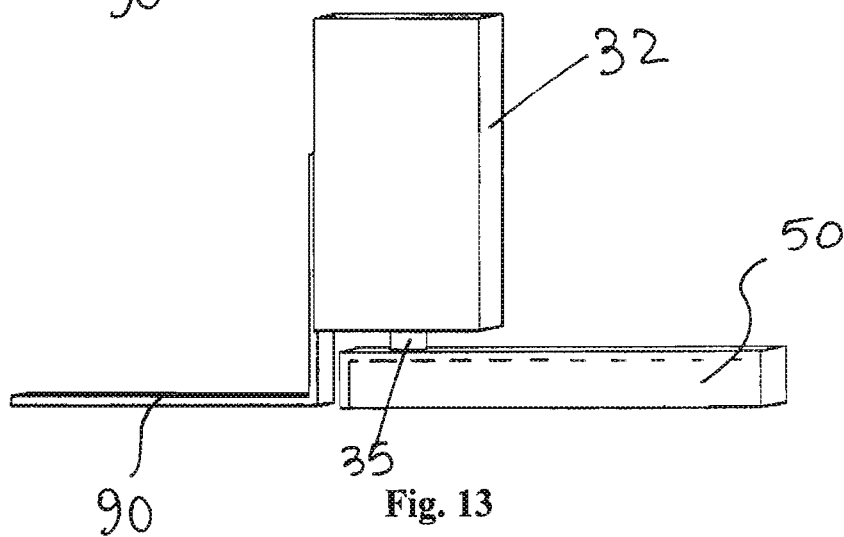


Fig. 13

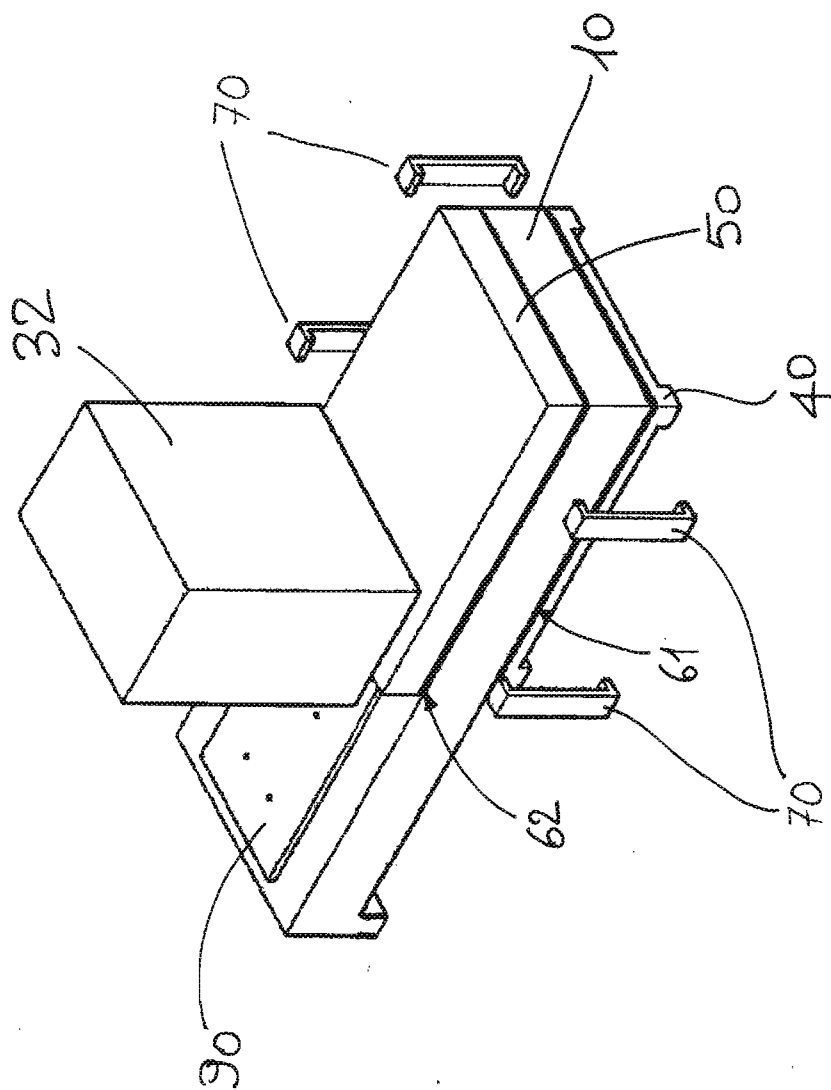


Fig. 14

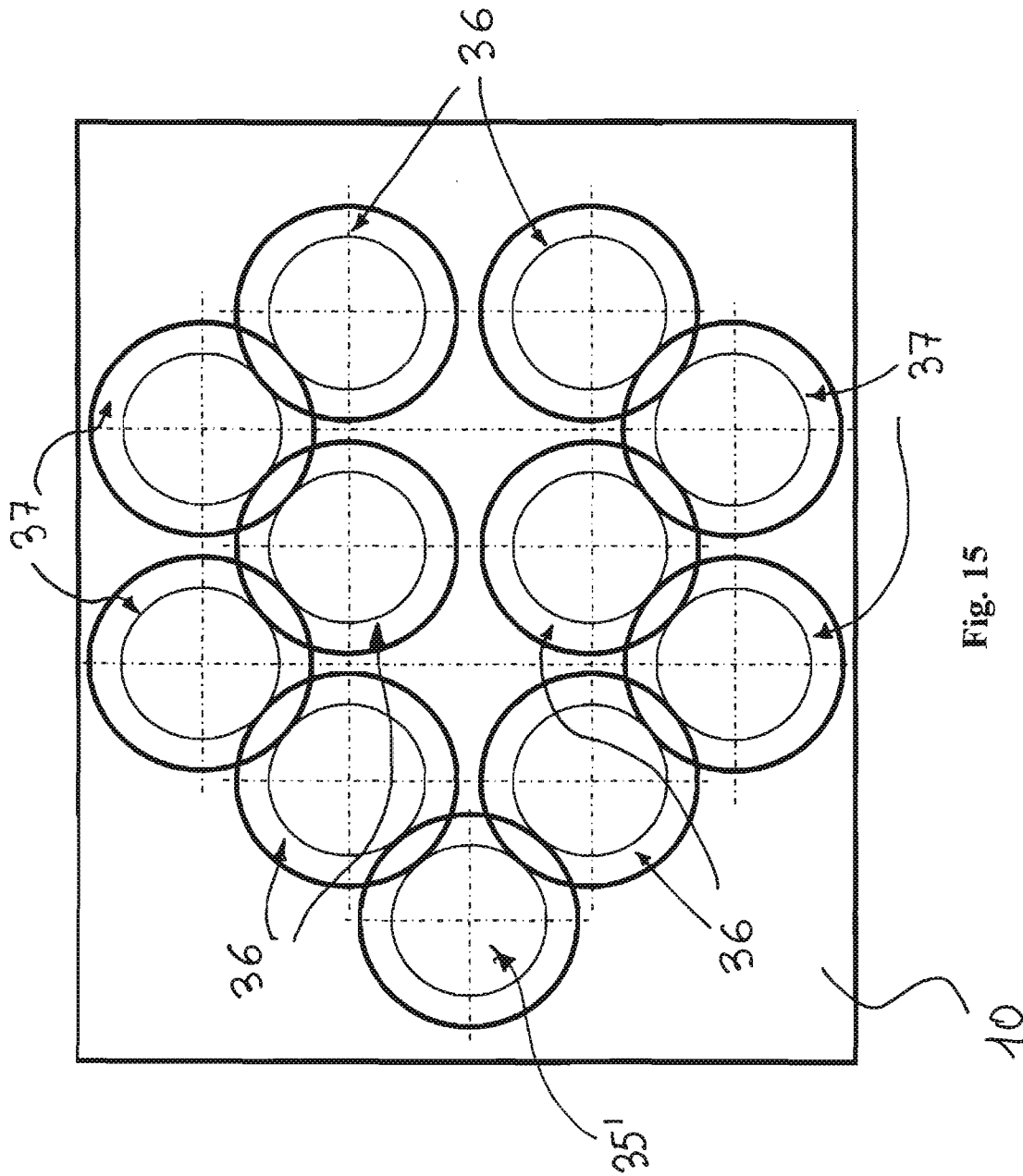


Fig. 15