



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 268 300**

(51) Int. Cl.:

B32B 37/00 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **03293061 .2**

(86) Fecha de presentación : **08.12.2003**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1431030**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **23.06.2004**

(54) Título: **Recipiente termoformado para el cultivo de células.**

(30) Prioridad: **20.12.2002 FR 02 16439**

(73) Titular/es: **MACO PHARMA
rue Lorthiois
59420 Mouvaux, FR**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2007

(72) Inventor/es: **Heron, Antoine**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2007

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Recipiente termoformado para el cultivo de células.

El invento se refiere a un recipiente destinado al cultivo de células, a un sistema que comprende al menos dos elementos unidos entre sí en circuito cerrado por medio de una conducción, del que tal recipiente, así como la utilización de tal recipiente, o de tal sistema es para el cultivo de células.

El recipiente según el invento está particularmente destinado al cultivo de células por adherencia a la superficie interior del recipiente. Bien entendido, el recipiente puede igualmente servir para el cultivo de células en suspensión en un medio contenido en el recipiente.

La llegada de los cultivos *in vitro* de células directamente trasplantables en el hombre está en el origen del desarrollo de diferentes tipos de recipientes para el acondicionamiento de dichos cultivos. Utilizados en un marco médico para la preparación de productos de terapia celular y génica, estos recipientes deben tener garantías en materia de confinamiento de las células y de prevención de los riesgos de contaminación y de los errores técnicos de manipulación. Dichos recipientes deben, por lo tanto, respetar las reglas estrictas de buena práctica de los productos transfundibles para el acondicionamiento cerrado y la transferencia de las células.

De hecho, ha aumentado la utilización de bolsas flexibles para cultivar células utilizadas en terapia humana, especialmente en el marco del desarrollo de los protocolos clínicos de expansión *ex vivo* de las células cepa hematopoyéticas salidas de toma de muestras de médula ósea, de sangre periférica y de sangre de cordón.

Las bolsas flexibles respetan las reglas de buena práctica antes citadas, sin embargo tienen inconvenientes para el cultivo de células.

Primeramente, la flexibilidad de estas bolsas no permite apilarlas convenientemente dentro de un incubador.

A continuación, la flexibilidad de una bolsa define una superficie de cultivo flexible y, por tanto, deformable en función del llenado y de las manipulaciones. Esta deformabilidad crea zonas de sedimentación y una repartición heterogénea de las células en la superficie de cultivo disponible.

Además, la superficie de cultivo disponible está limitada por el tamaño de la bolsa. Para satisfacer ciertas aplicaciones que necesitan grandes superficies de cultivo, el aumento del tamaño de una bolsa o la multiplicidad de bolsas de pequeño tamaño aumentan considerablemente las dificultades de manipulación.

En fin, los materiales permeables a los gases convencionalmente utilizados para las bolsas flexibles de cultivo celular, de tipo polietileno, polipropileno, polímeros fluorados y etileno-acetato de vinilo (EVA) no permiten el cultivo de células adherentes, sino únicamente el cultivo de células adherentes en suspensión en el medio, lo que limita considerablemente las aplicaciones posibles. En efecto, la mayoría de las células de interés son células cuyo cultivo se realiza por adherencia.

Por otra parte, del documento US 6.297.046 se conoce una bolsa flexible destinada al cultivo de células, especialmente por adherencia. De forma esencial, la bolsa está formada por la asociación de dos hojas que

están compuestas por una combinación de dos películas, una de las cuales define una superficie interna de naturaleza adherente para las células. La menor flexibilidad de las películas de polímeros de naturaleza adherente impone la utilización de películas muy delgadas para la confección de una bolsa flexible, de ahí la necesidad de combinarlas. Además, la utilización de hojas complejas limita la transparencia de la bolsa y por tanto la posibilidad de observar al microscopio el desarrollo celular. Además de las dificultades de realización de la bolsa descrita en este documento, esta bolsa no pretende satisfacer más que el problema de adherencia de las células, mientras que el usuario espera una respuesta global al conjunto de los problemas mencionados anteriormente.

El invento tiene especialmente como fin resolver el conjunto de los inconvenientes citados suministrando un recipiente que respeta las reglas de buena práctica mencionadas anteriormente permitiendo el cultivo de células por adherencia, siendo dicho recipiente apilable, y proponiendo superficies de cultivo homogéneas y aumentadas para unas dimensiones pequeñas del recipiente.

Para esto, y según un primer aspecto, el invento se refiere a un recipiente destinado al cultivo de células que comprende unas hojas primera y segunda permeables al gas solidarizadas entre sí en la proximidad de su periferia, de modo que se forme un volumen interior destinado a recibir las células, y al menos una vía de acceso dispuesta para permitir la introducción y/o la recuperación de las células.

Según el invento, cada una de dichas hojas comprende al menos una capa realizada de un material polimérico que es apto para permitir la adherencia de las células, y al menos una de las dos hojas está termoformada.

El hecho de realizar un recipiente a partir de al menos una hoja de material polimérico adherente por la técnica de termoformación confiere al recipiente características particularmente interesantes, entre las cuales:

- el recipiente tiene unas características geométricas definidas, lo que permite apilar convenientemente varios recipientes dentro de un incubador;
- el recipiente tiene una cierta rigidez, lo que permite evitar crear zonas de sedimentación preferencial y una heterogeneidad de repartición de células en la superficie de cultivo disponible.

En una realización particular cada hoja está formada esencialmente de material polimérico apto para permitir la adherencia de las células. La técnica de termoformación permite en efecto liberarse del empleo de hojas combinadas.

Según una variante del invento, al menos una de las hojas termoformadas tiene relieves que están dispuestos en el volumen interior del recipiente.

La técnica de termoformación permite en efecto la realización de relieves dispuestos en el volumen interior del recipiente. Así, se puede aumentar considerablemente la superficie de cultivo disponible sin aumentar las dimensiones del recipiente y sin aumentar el volumen del medio de cultivo consumido.

Estos relieves pueden formar motivos repetidos o irregulares, continuos o discretos.

Según una realización posible, las hojas están solidarizadas entre sí por soldadura en la proximidad de su periferia.

Por ejemplo, al menos una primera hoja está termoformada de forma que se presente, en sección transversal, la forma general de un rectángulo con esquinas redondeadas que comprenden un fondo sensiblemente plano, una pared lateral y una pared periférica que forma un reborde.

La segunda hoja, que forma la pared superior del recipiente, puede estar:

- solidarizada al reborde de la primera hoja, de forma que sea sensiblemente plana;
- termoformada, de forma que tenga unas características geométricas análogas a las de la primera hoja, estando dichas hojas solidarizadas una enfrente de la otra por sus rebordes.

El recipiente puede comprender al menos una vía de acceso que comunica con el volumen interior del recipiente desde una hoja termoformada, por ejemplo una pared lateral periférica o superior.

Según un segundo aspecto, el invento se refiere a un sistema que comprende al menos dos elementos unidos entre sí en circuito cerrado por medio de una conducción, siendo al menos uno de dichos elementos un recipiente como el anteriormente descrito, estando la conducción conectada en un primer extremo a la vía de acceso del recipiente y en un segundo extremo a una vía de acceso de otro elemento del sistema, de forma que se permita el paso de células o de fluidos entre los elementos del sistema.

Finalmente, según un tercer aspecto, el invento se refiere a la utilización de un recipiente de un sistema para el cultivo de células adherentes o en suspensión en el medio.

Las otras características del invento resultan de la descripción que sigue de modos de realización, efectuada haciendo referencia a las figuras anexas, en las que:

- la figura 1 es una representación esquemática en sección transversal de un recipiente formado por una hoja termoformada y por una hoja, estando el recipiente provisto de dos vías de acceso;

- las figuras 2a a 2c son representaciones esquemáticas en sección transversal de recipientes formados por una hoja termoformada que tiene relieves en su cara interior, y de una hoja, estando los recipientes provistos de una o de dos vías de acceso;

- las figuras 3a a 3f son representaciones esquemáticas en sección transversal de recipientes formados por dos hojas termoformadas, que tienen relieves o no, estando los recipientes provistos de una o de dos vías de acceso;

- la figura 4a es una representación esquemática en sección transversal de un recipiente de una hoja termoformada y de una hoja, estando el recipiente provisto, en la pared periférica de la hoja termoformada, de una vía de acceso orientada verticalmente hacia abajo;

- la figura 4b es una representación esquemática en sección transversal de un recipiente formado por dos hojas termoformadas, estando el recipiente provisto, en la pared periférica de una de las hojas termoformadas, de una vía de acceso orientada verticalmente hacia arriba;

5 - la figura 4c representa de forma esquemática la estructura de una vía de acceso;

- la figura 4d representa de forma esquemática la estructura de una vía de acceso asociada a un refuerzo interno;

10 - las figuras 5a a 5d representan diferentes estructuras que pueden adoptar los relieves de la o de las hojas termoformadas.

Un recipiente 1 según el invento comprende dos hojas 2, 3 respectivamente inferior y superior, solidarizadas entre sí en la proximidad de su periferia.

15 Según una realización posible, las hojas 2, 3 están soldadas. No obstante, las hojas 2, 3 pueden también estar solidarizadas por un método diferente, especialmente por pegado.

El recipiente 1 define así un volumen interior destinado a recibir células y un medio de cultivo.

20 Las dos hojas 2, 3, son permeables a los gases, sobre todo al oxígeno, y están hechas de un material polimérico biocompatible, transparente, y sobre el que las células pueden adherirse. De este modo, el recipiente 1 permite un desarrollo muy bueno de las células, y su transparencia ofrece la posibilidad de seguir la producción celular en microscopía óptica.

25 A título de ejemplo de material polimérico utilizado por las hojas 2, 3, se puede citar el poliéster especialmente en forma APET o PETG, el policarbonato o el poliestireno.

30 Por otra parte, el potencial de adherencia celular de los polímeros utilizados por las hojas 2, 3 puede aumentarse fácilmente mediante diferentes tratamientos superficiales conocidos, sobre todo el injerto químico, o un tratamiento por gases activadores. Preferentemente, un tratamiento superficial de tipo plasma (plasma/oxígeno o plasma/aire) se realiza específicamente en la superficie destinada al cultivo antes del cierre del recipiente 1.

35 Según el invento, al menos la hoja inferior 2 está termoformada. El recipiente 1 tiene, en sección transversal, la forma general de un rectángulo con esquinas redondeadas, que comprende una pared que forma el fondo 4 del recipiente 1 rodeado por una pared lateral 5, prolongado lateralmente por una pared periférica 6 que forma un reborde destinado a ser solidarizado con la hoja superior 3. La presencia de estos ángulos redondeados garantiza una recuperación óptima de los productos celulares después del cultivo.

40 Las hojas 2, 3 pueden tener espesores variables y niveles variables de permeabilidad a los gases. Por ejemplo, el espesor de una hoja está comprendido entre 100 y 150 μm . Este pequeño espesor permite obtener una permeabilidad satisfactoria a los gases, sobre todo al oxígeno.

45 La termoformación lleva a una reducción del peso de la hoja. Entonces es posible jugar con este fenómeno para hacer variar la permeabilidad del recipiente 1 a los gases.

50 Además, la realización de recipientes de profundidades diferentes permite también jugar con la oxigenación del medio. En efecto, ciertas células, sobre todo las células ceña hematopoyéticas se desarrollan preferiblemente en un medio pobre en oxígeno: en este caso, es prudente utilizar un recipiente poco profundo lleno exclusivamente con el medio de cultivo, de forma que se limiten los intercambios de gas. Por el contrario, otros tipos de células como los hepatocitos, son muy consumidores de oxígeno: un recipien-

te más profundo parcialmente lleno con el medio de cultivo permite por tanto obtener un interfaz con un volumen de aire contenido en el recipiente, y por consiguiente favorecer los intercambios gaseosos y sobre todo el aporte de oxígeno. En estas circunstancias, la utilización de la técnica de termoformación permite realizar muy fácilmente recipientes de profundidades diferentes, sin que sea necesario crear un molde para cada tipo de recipiente que hay que hacer. Una modificación del calado del molde basta para modificar el volumen interior del recipiente.

Según un segundo aspecto, el invento se refiere a un sistema que comprende varios elementos, de los cuales al menos un recipiente es según el invento, asociados entre sí de forma que se forme un circuito cerrado. Tal sistema puede sobre todo tener elementos aptos para tomar muestras, transferir, alimentar, concentrar, filtrar, dejar inactivos o lavar los productos celulares. Por ejemplo, estos elementos pueden estar compuestos por bolsas flexibles de acondicionamiento de los medios y reactivos de cultivo celular y por bolsas flexibles de transferencia y centrifugación de los productos celulares. En este marco, la noción de sistema cerrado que integra al menos un recipiente según el invento, tiene como objeto asegurar el conjunto de las manipulaciones efectuadas para la producción de células para cultivo.

Puede ser prudente limitar la permeabilidad a los gases del recipiente 1 cuando éste se integra en un sistema capaz de dirigir los aportes de gas a las células. Se puede fácilmente limitar esta permeabilidad, sobre todo utilizando hojas de más espesor.

Una dirección de los fluidos en el seno del sistema define un reactor biológico de cultivo celular. En este marco, el sistema está en situación de alimentar de forma continua o de forma secuencial las células en cultivo para la puesta en circulación de medios y reactivos. El sistema puede también estar dotado de un conjunto de medios de control y de regulación. Estos medios permiten sobre todo aplicar los valores de tiempo, de temperatura, de pH del medio y del contenido de gas, seleccionados para una aplicación dada. Un sistema dirigible o reactor biológico tiene interés particularmente en la aplicación de cultivo celular a largo plazo; se puede citar, por ejemplo, la producción de células cepa mesenquimatosas extraídas de la médula ósea o la producción de células cepa hematopoyéticas en cultivo conjunto en células estromales adherentes.

Según un primer modo de realización del invento, representado en las figuras 1 y 2a a 2c, la hoja superior 3 no está termoformada.

Las hojas 2, 3 están solidarizadas entre sí al nivel de una zona de soldadura 7 situada, por ejemplo, en la pared periférica 6 de la hoja inferior 2, en la proximidad de la pared lateral 5. La hoja superior 3 está dispuesta de forma que sea sensiblemente plana.

En la figura 1, la hoja inferior 2 no tiene relieves. En especial, el fondo 4, al ser completamente plano y liso, tiene una superficie homogénea para la repartición y el cultivo de las células.

Por otra parte, el recipiente 1 tiene dos orificios dispuestos para permitir la introducción y/o la recuperación de las células por medio de vías de acceso que cooperan con dichos orificios. Una primera vía de acceso 8 comunica con el interior del recipiente 1 desde la pared superior del recipiente 1 formada por la hoja superior 3, y una segunda vía de acceso 9 co-

munica con el interior del recipiente 1 desde la pared lateral 5 de la hoja inferior 2 termoformada.

En las figuras 2a a 2c la hoja inferior 2 tiene relieves 10 en su cara interior en el recipiente 1, esencialmente en el fondo 4, conservando el fondo una forma globalmente plana y homogénea.

Los relieves 10 permiten resolver el problema de las grandes superficies necesarias para el cultivo de ciertas células en sistema cerrado. En efecto, la producción de células humanas adherentes (células mesenquimatosas, musculares, neuronales...) se encuentra limitada por la densidad máxima de las células por unidad de superficie más allá de la cual cesa la proliferación celular. El número mínimo de células necesario para un injerto exige pues una superficie mínima de cultivo celular, debiendo ser éste a menudo superior al metro cuadrado.

La utilización de la técnica de termoformación permite estructurar la superficie de cultivo celular y aumentar considerablemente la superficie de cultivo disponible para un recipiente 1 que tiene las mismas dimensiones.

Así se comprende el interés en formar relieves 10 en el fondo 4 y en el interior del recipiente 1, mientras que no es indispensable la realización de tales relieves 10 en las paredes laterales 5, en la medida en que las células van a depositarse por gravedad en el fondo 4.

En un ejemplo de realización particular las hojas 2, 3 termoformadas y estructuradas en relieve están provistas de zonas planas para facilitar la observación de las células al microscopio, y, dado el caso, la inserción de vías de acceso.

Los relieves 10 pueden adoptar formas diferentes, como se describirá más adelante haciendo referencia a las figuras 5a a 5d.

El recipiente 1 representado en las figuras 3a a 3f está formado por una hoja inferior 2 termoformada y por una hoja superior 3 también termoformada, por ejemplo de características geométricas análogas o sensiblemente idénticas a las de la hoja inferior 2. Las hojas 2, 3 están solidarizadas una enfrente de la otra.

La hoja inferior 2 tiene relieves 10 en la cara interior del recipiente 1, pudiendo la hoja superior 3 tener también tales relieves 11 en la cara interior del recipiente 1 (figuras 3d, 3e, 3f) o, al contrario, tener una superficie sensiblemente plana y lisa (figuras 3a, 3b, 3c). Cuando las dos hojas 2, 3 tienen relieves 10, 11, el recipiente 1 puede estar colocado bien sobre la hoja inferior 2, bien sobre la hoja superior 3 para el cultivo de las células por adherencia, pudiendo entonces preverse simultáneamente el cultivo de células adherentes en el contacto de las dos hojas 2, 3, lo que dobla la capacidad de producción celular ya optimizada de dicho recipiente 1.

La figura 4a tiene un recipiente 1 formado por una hoja inferior 2 termoformada que no tiene relieves, y por una hoja superior 3, solidarizadas entre sí al nivel de una zona de soldadura 7. La hoja superior 3 está dispuesta de forma que sea sensiblemente plana.

La figura 4b es similar a la figura 4a, estando la hoja superior 3, sin embargo, termoformada, y no teniendo relieves.

Se pueden prever diferentes realizaciones en lo relativo a las vías de acceso. El recipiente 1 puede así tener, bien una vía de acceso 8 que comunica con el interior del recipiente 1 desde la pared superior del recipiente 1 formada por la hoja superior 3 (figuras 2a,

3a, 3d), bien una vía de acceso 9 que comunica con el interior del recipiente 1 desde la pared lateral 5 de la hoja inferior 2 (figuras 2b, 3b, 3e), bien las dos vías de acceso 8, 9 (figuras 1, 2c, 3c, 3f).

El recipiente 1 tiene también una vía de acceso 12 asociada a la pared periférica 6 de la hoja inferior 2 (figura 4a) o a la pared periférica de la hoja superior 3 (figura 4b).

Las vías de acceso 8, 9 están soldadas a las hojas 2, 3, pero pueden también estar solidarizadas a dichas hojas 2, 3 especialmente por pegado.

Sin embargo, estas vías de acceso periféricas 8, 9, 12 pueden estar realizadas simplemente por la técnica de la termoformación. En un primer momento se crea una protuberancia en la pared de la hoja 2, 3. En un segundo momento se perforan las protuberancias para crear las vías de acceso 8, 9, 12 y permitir especialmente unir una conducción.

Según una realización posible, representada en las figuras 1, 2b, 2c, 3b, 3c, 3e y 3f, la protuberancia se crea en la pared lateral definida por la termoformación de la hoja inferior 2. La utilización de moldes de termoformación provistos de partes móviles permite retirar la pieza así formada.

Según otra realización posible, representada en las figuras 4a y 4b, la protuberancia se crea en la hoja de forma que esté orientada perpendicularmente a la zona periférica de la hoja, permitiendo esta orientación facilitar la producción puesto que ya no es necesaria la utilización de moldes provistos de partes móviles.

La realización del recipiente según el invento y de sus vías de acceso 8, 9, 12 permite liberarse de la inserción de dichas vías de acceso entre las dos hojas que constituyen dicho recipiente, como es el caso de la fabricación de una bolsa flexible. La zona de solidarización de las dos hojas sigue, por tanto, siendo plana, lo que constituye un elemento importante para soldar materiales de naturaleza adherente para las células, en especial hojas no combinadas a base de películas de poliéster, de policarbonato o de poliestireno.

Además, la integración de las vías de acceso 8, 9, 12 en al menos una hoja termoformada permite eliminar los riesgos de fuga que pueden existir al nivel de la zona de inserción de dichas vías entre las hojas de los recipientes de la técnica anterior.

La realización del recipiente 1 no excluye la posibilidad de insertar las vías de acceso, especialmente en forma de tubos, entre las dos hojas 2 y 3 (no representadas). Teniendo en cuenta el empleo preferencial de películas de polímeros de menor flexibilidad, vendrá preformar ahí las zonas de emplazamiento de estos tubos, una condición igualmente satisfecha por la termoformación de las hojas 2 y 3.

Como se ha representado en la figura 4c, es factible añadir en las vías de acceso 8, 9, 12 acanaladuras 13 con el fin de mejorar la estanquidad con una conducción. Así se obtienen conteras acanaladas (tam-

bién es factible estructurar conteras cónicas en oliveta con el fin de conseguir el mismo resultado).

Como se ha representado en la figura 4d, es también factible añadir en el interior de las vías de acceso 8, 9, 12 un refuerzo 14 interior que permita igualmente obtener un empalme perfectamente estanco con una conducción.

En efecto, las hojas utilizadas son igualmente de poco espesor para asegurar un nivel mínimo de permeabilidad a los gases, sobre todo al oxígeno, y el proceso de termoformación reduce aún más este espesor. Conviene, por tanto, reforzar las vías de acceso 8, 9, 12 para garantizar su solidez así como su estanquidad una vez empalmadas a una conducción.

Ahora se hace referencia a las figuras 5a a 5d, que ilustran diferentes formas posibles de los relieves 10, 11.

Los relieves 10, 11 pueden adoptar la forma de pliegues, de ondulaciones, de dentados, de picos, representados respectivamente en las figuras 5a, b, c, d. Los relieves 10, 11 pueden formar motivos repetidos o ser irregulares. Los relieves 10, 11 pueden extenderse en una parte o en la totalidad del fondo 4 del recipiente 1.

Con el fin de obtener aumentos de superficie de cultivo suficientes, estos relieves 10, 11 no se realizan a escala micrométrica o nanométrica, sino al menos a escala milimétrica.

Como se ha indicado precedentemente, la realización de relieves 10, 11 en la cara de las hojas 2, 3 interior del recipiente 1 por termoformación permite aumentar la superficie de cultivo para las células adherentes.

Estos relieves pueden también ser un medio para retener las células no adherentes en la hoja 2, 3 durante la aplicación de una circulación de medio, en el marco de un cultivo celular con perfusión continua de medio en el seno del recipiente 1.

En este punto, un relieve, que tiene una forma de dentado, representada en la figura 5c, dispuesto en el volumen interior del recipiente 1 estaría especialmente adaptado al cultivo de células no adherentes con perfusión de medio.

La parte solicitante ha desarrollado la técnica de termoformación para la realización del recipiente según el invento. El recipiente según el invento es innovador debido al aporte de una respuesta global al conjunto de criterios limitativos en el empleo de una bolsa flexible de cultivo celular. Además, esta tecnología de transformación de los materiales plásticos está particularmente bien adaptada a la realización de una gama de recipientes de cultivo celular cuyas características dimensionales y estructurales pueden ser fácilmente adaptadas en función de los tipos celulares y de sus aplicaciones. Aunque particularmente adaptado a la preparación de células con fines terapéuticos, el recipiente según el invento podrá encontrar otras aplicaciones biotecnológicas que realizan los cultivos de células tanto procariotas como eucariotas.

REIVINDICACIONES

1. Recipiente (1) destinado al cultivo de células, que comprende unas hojas primera (2) y segunda (3) permeables a los gases, solidarizadas entre sí en la proximidad de su periferia (6) con el fin de formar un volumen interior destinado a recibir las células, y al menos una vía de acceso dispuesta para permitir la introducción y/o la recuperación de las células, comprendiendo cada una de dichas hojas (2, 3) al menos una capa realizada de un material polimérico que es apto para permitir la adherencia de las células, **caracterizado** porque al menos una de dichas hojas (2, 3) está termoformada.

2. Recipiente según la reivindicación 1, **caracterizado** porque cada hoja (2, 3) está formada esencialmente de material polimérico apto para permitir la adherencia de las células.

3. Recipiente según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque las hojas (2, 3) están solidarizadas entre sí por soldadura en la proximidad de su periferia.

4. Recipiente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque al menos una primera hoja (2) está termoformada, de forma que tiene en sección transversal la forma general de un rectángulo que comprende un fondo (4) sensiblemente plano, una pared lateral (5) y una pared periférica (6) que forma un reborde.

5. Recipiente según la reivindicación 4, **caracterizado** porque la segunda hoja (3) está solidarizada al reborde de la primera hoja (2), de forma que sea sensiblemente plana, formando dicha hoja (3) la pared superior del recipiente (1).

5

6. Recipiente según la reivindicación 4, **caracterizado** porque la segunda hoja (3), que forma la pared superior del recipiente (1), está termoformada, de forma que tiene unas características geométricas análogas a las de la primera hoja (2), estando dichas hojas (2, 3) solidarizadas una enfrente de otra por sus bordes.

10

7. Recipiente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado** porque al menos una vía de acceso (9) comunica con el volumen interior del recipiente (1) desde una pared de una hoja termoformada (2, 3).

15

8. Recipiente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado** porque al menos una de las hojas termoformadas (2, 3) tiene relieves (10, 11) que están dispuestos en el volumen interior del recipiente (1).

20

9. Recipiente según la reivindicación 8, **caracterizado** porque los relieves (10, 11) forman motivos repetidos o irregulares, continuos o discretos.

25

10. Sistema que comprende al menos dos elementos unidos entre sí en circuito cerrado por medio de al menos una conducción, siendo al menos uno de dichos elementos un recipiente (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, estando la conducción conectada en un primer extremo a la vía de acceso del recipiente (1), y en un segundo extremo a otro elemento del sistema, de forma que permita el paso de las células y/o de los fluidos entre los elementos del sistema.

30

11. Utilización de un recipiente (1) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o de un sistema según la reivindicación 10 para el cultivo de células adherentes y/o en suspensión en el medio.

35

40

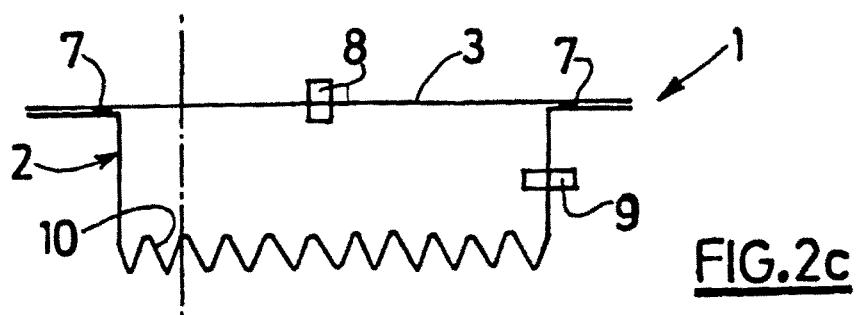
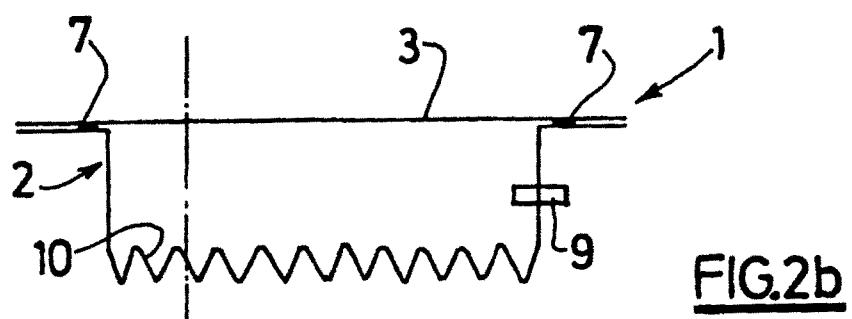
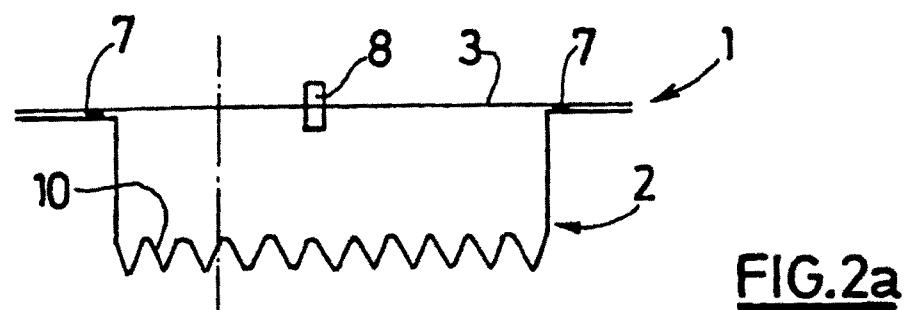
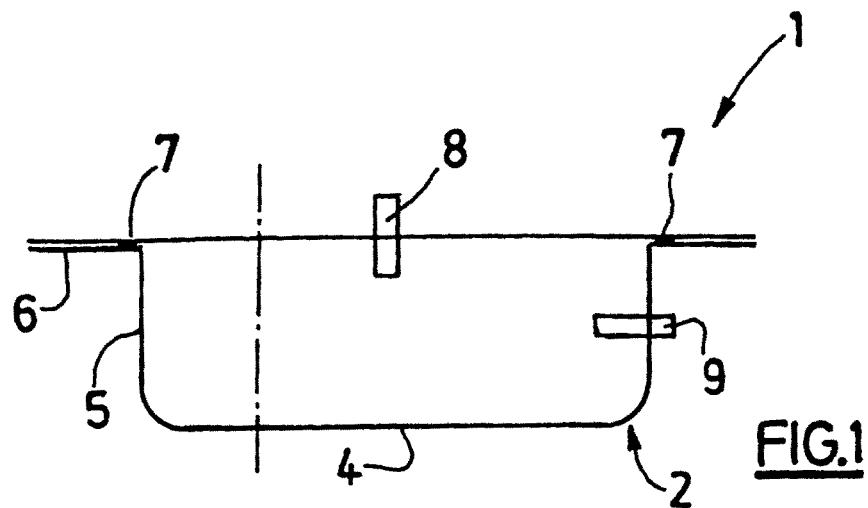
45

50

55

60

65



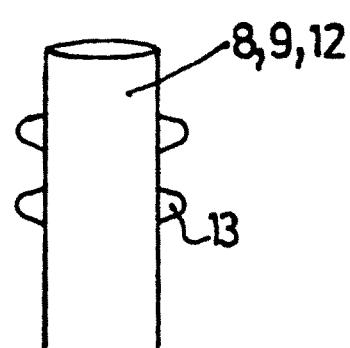
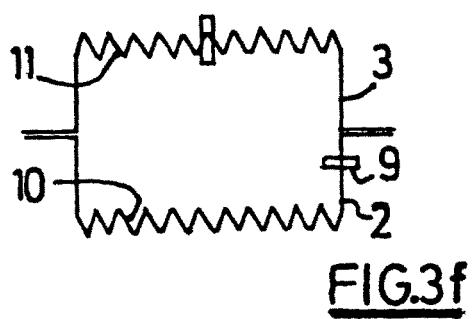
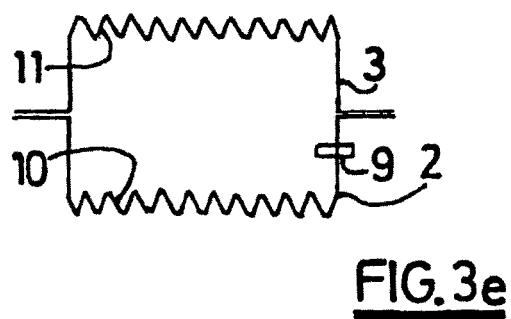
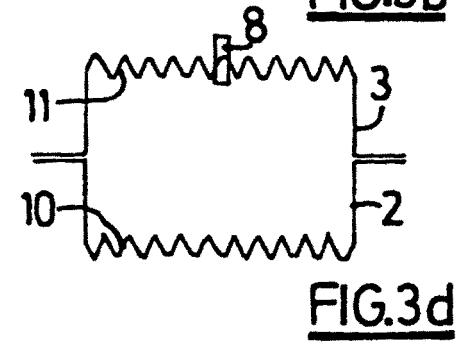
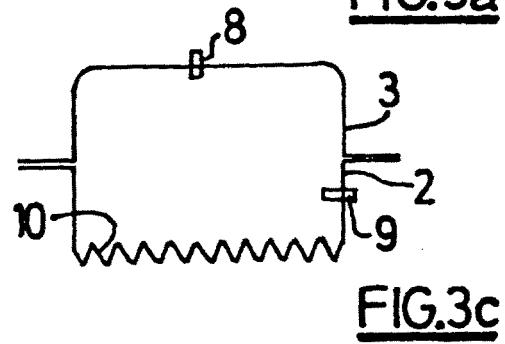
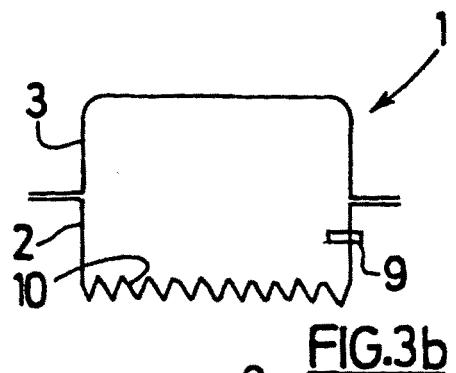
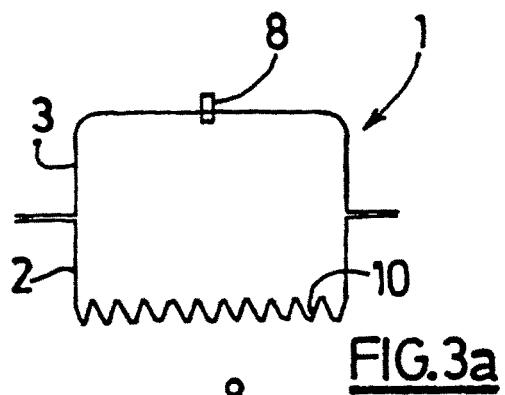


FIG. 4c

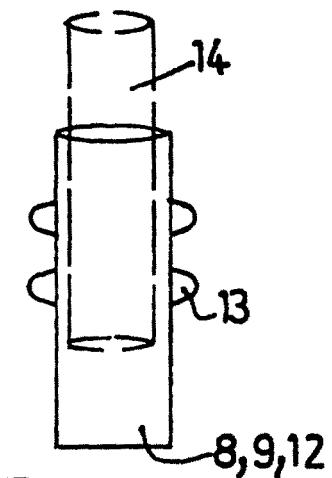


FIG. 4d

