



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61M 1/00 (2019.05); C12M 3/00 (2019.05)

(21)(22) Заявка: 2019104311, 15.02.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.02.2019

Дата регистрации:
15.07.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 15.02.2019

(45) Опубликовано: 15.07.2019 Бюл. № 20

Адрес для переписки:

195427, Санкт-Петербург, ул. Академика
Байкова, 8, ФГБУ "РНИИТО им. Р.Р. Вредена"
Минздрава России, патентный отдел, для
Божокина М.С.

(72) Автор(ы):

Божокин Михаил Сергеевич (RU),
Божкова Светлана Анатольевна (RU),
Литвинов Егор Михайлович (RU),
Косьмин Владимир Леонидович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Российский ордена Трудового
Красного Знамени
научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии имени Р.Р.
Вредена" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (ФГБУ "РНИИТО
им. Р.Р. Вредена" Минздрава России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2249039 C2, 27.93.2005. RU
2370534 C2, 20.10.2009. RU 2482180 C2,
20.05.2013. US7678579 B2, 16.03.2010. US
2012122220 A1, 17.05.2012.

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ СОВМЕЩЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ И БИОДЕГРАДИРУЕМОГО НОСИТЕЛЯ

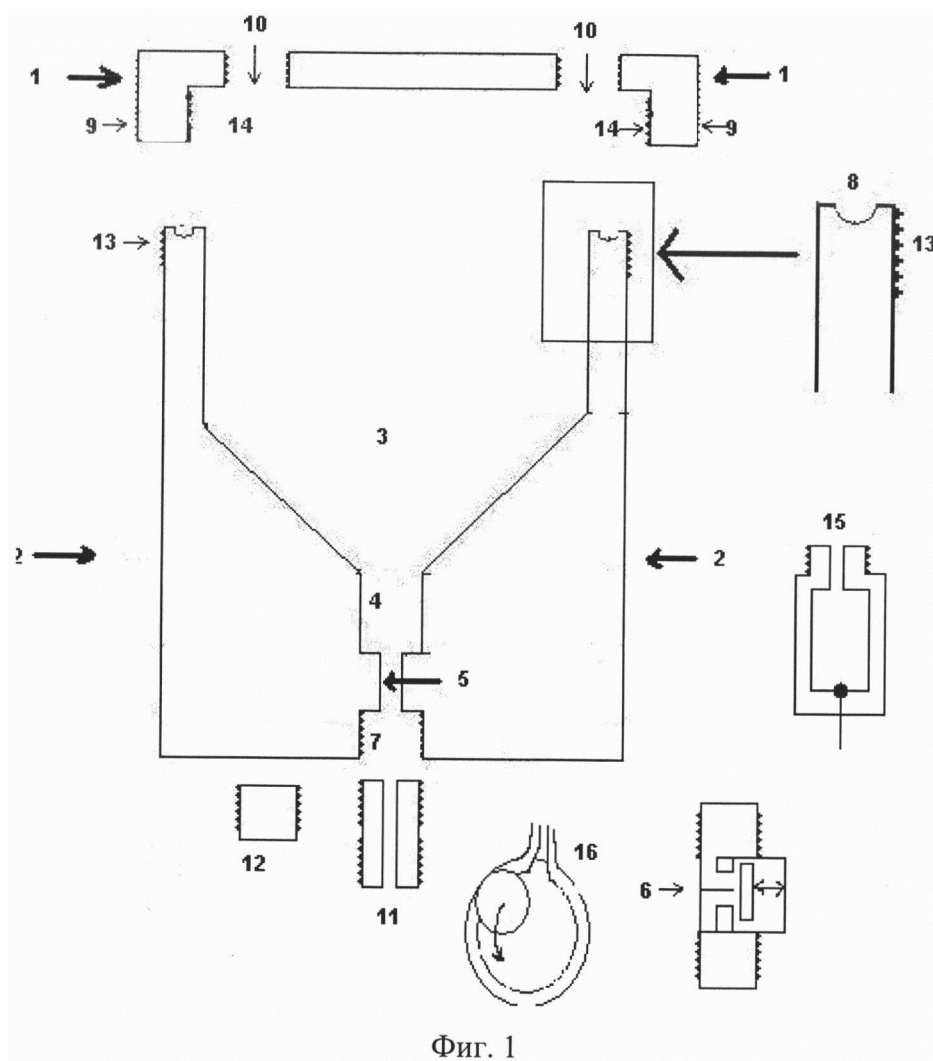
(57) Реферат:

Полезная модель относится к области экспериментальной биологии и медицины и может быть использована для создания клеточно-инженерных конструкций, а именно для совмещения клеточной культуры и биodeградируемого носителя.

Технический результат полезной модели состоит в обеспечении проникновения культуры клеток внутрь плотного биodeградируемого матрикса с заданной плотностью распределения

внутри него и последующей пролиферации клеток с формированием КИК.

Результат достигается за счет того, что внутри корпуса выполнено конусообразное углубление для лучшего примыкания КИК к стенкам реактора с центральным полым каналом для отвода питательной среды, в крышке выполнены четыре соединения для подключения датчиков и перистальтического насоса.



Полезная модель относится к области экспериментальной биологии и медицины и может быть использована для совмещения клеточной культуры и биodeградируемого носителя при разработке клеточно-инженерных конструкций (далее КИК).

Известно устройство для создания клеточно-инженерных конструкций с использованием напыляемого метода культивирования в герметично закрываемом пространстве (RU 2482180). Несмотря на маленький объем, контроль газовой среды, герметичность, способность поместить в большую культуральную установку - данная модель имеет множественные недостатки. Отсутствие механического воздействия, и перфузии не позволяет данной конструкции эффективно населять и культивировать плотные КИК.

Известно устройство для культивирования клеток в жидкой и газообразной средах (RU 2340662), в котором клеточная культура находится в полволоконных мембранных трубках с диаметром не более 5 мм. Несмотря на циклическое экспонирование газовой и жидкостной среды, контроль газообразной среды, управление скоростью перфузии и небольшой размер, данное устройство также не предполагает расположение биodeградируемого матрикса внутри полой трубки, механического воздействия на культуру клеток, а также имеет большой объем, что накладывает ограничения на объем культуры клеток.

Известно устройство для культивирования и стимуляции трехмерных, жизнеспособных и устойчивых к механическим нагрузкам клеточных трансплантатов в соответствующем биореакторе (RU 2370534). Несмотря на небольшой размер, наличие механического воздействия, герметичного корпуса и контроля газовой смеси, негерметичное соединение поршня со стенками реактора не позволяет осуществить принудительное заселение плотного биodeградируемого матрикса. Отсутствие перфузии и воздействия газа снижает эффективность заселения КИК и делает процесс заселения трудноуправляемым.

Наиболее близким к заявленному является техническое решение, представленное в патенте RU 2249039. Данный комплекс имеет герметичный поршень и позволяет контролировать газовую смесь (состав и концентрацию газовой смеси CO_2 , O_2 , давление), а также регулировать механическое воздействие. Однако отсутствие принудительного газового воздействия и большой объем установки делает невозможным ее использование для создания КИК с большой плотностью и (или) малой пористостью носителя.

Техническая проблема состоит в создании устройства для совмещения культуры клеток и плотного биodeградируемого носителя при создании КИК, лишенного вышеперечисленных недостатков.

Технический результат полезной модели состоит в обеспечении проникновения культуры клеток внутрь плотного биodeградируемого матрикса с заданной плотностью распределения и последующей пролиферацией клеток с формированием КИК.

Результат достигается за счет того, что внутри корпуса выполнено конусообразное углубление для лучшего примыкания КИК к стенкам реактора с центральным полым каналом для отвода питательной среды, в крышке выполнены четыре соединения для подключения датчиков и перистальтического насоса.

На фигурах изображены:

Фиг. 1 - вид в разрезе, где 1 - крышка, 2 - корпус, 3 - заужение, 4 - полость, 5 - канал, 6 - электромагнитный клапан, 7 - нижнее резьбовое соединение, 8 - выемка под уплотнитель, 9 - насечка, 10 - верхнее резьбовое соединение, 11 - полое соединение, 12 - заглушка, 13 - резьбовое соединение, 14 - внутреннее резьбовое соединение, 15 - датчик газовой смеси, 16 - перистальтический насос.

Фиг. 2 - вид сверху на устройство

Фиг. 3 - общий вид устройства

Фиг. 4 - гистологический препарат мембраны с клетками, окраска гемотоксилин и эозин Фиг. 5 - фото СЭМ образца мембраны с клетками Фиг. 6 - фото СЭМ образца мембраны с клетками

5 Устройство (Фиг. 1) выполнено из нержавеющей стали и представляет собой цилиндрический корпус, предназначенный для заселения биodeградируемого носителя клеточной культурой. Корпус 2 устройства представляет цельный воронкообразный предмет с заужением внутрь. Внутри корпуса 2 выполнена полость 3 с цилиндрическим пространством 4 для помещения биodeградируемого носителя. На дне цилиндрического
10 пространства 4 существует перпендикулярно уходящий вниз канал 5 для отвода питательной среды, который заканчивается резьбовым соединением для подключения соединителя 11 или заглушки 12. В месте соединения крышки и корпуса 2 представлено резьбовое соединение 13 с полутороидальным углублением 8 для герметизирующего уплотнения в виде тороидальной резиновой манжеты. Крышка 1 имеет соответствующее
15 резьбовое соединение 14 для адаптации с соответствующим резьбовым соединением 13 корпуса 2. Это соединение 13 и 14 служит для герметизации устройства через зажатие резинового уплотнения путем закручивания. На наружной поверхности 1 выполнена насечка 9 для удобства закручивания, а на горизонтальной поверхности 2 расположены четыре резьбовых отверстия 10 для подключения соединителей 11 или заглушек 12. К
20 устройству через соединители 11 подключаются, в зависимости от целей и задач, необходимые аксессуары -

перистальтический насос 16, электромагнитный клапан 6 и датчик газа 15. Соединители 11 и заглушки 12 для удобства закручивания выполнены в виде
шестигранного сечения с обязательным резиновым уплотнением. Через данные
25 соединители 11 устройство можно модифицировать, подключая различные датчики, электромагнитные клапаны, перистальтические насосы или наоборот, заглушить неиспользованные выводы.

Устройство работает следующим образом. В герметичный корпус устройства 2 помещают заготовку из биodeградируемого носителя под заселение клеточной
30 культурой. После этого корпус устройства 2 герметизируется крышкой 1 с насечкой 9. Резиновым уплотнением на крышке в выемке 8 путем соединения резьбовых частей 13 и 14 прижимается и устройство герметизируется. Далее открывают клапан подачи 6, и перистальтический насос 16 перекачивает в полость 3 питательную среду с клеточной культурой через соединительное резьбовое отверстие 10 и полый соединитель 11, после
35 чего клапан закрывают. Следующим этапом прокачивают устройство газом (например, азотом) через электромагнитный клапан 6 и датчик газа 15. Воздействие газа на питательную среду заставляет ее фильтроваться через биodeградируемый носитель, что в свою очередь приводит к оседанию клеточной культуры внутри соответствующего носителя одновременно с отводом питательной среды без клеточной культуры через
40 канал 5 и нижнее резьбовое соединение 7. Время фильтрации, избыточное давление газа и объем питательной среды являются исходными переменными для получения КИК с заданной плотностью распределения клеточной культуры внутри последнего. Окончание цикла происходит за счет открытия клапана и включения перистальтического насоса с перекачиванием смеси в полость 3 корпуса 1. Цикличность обеспечивается в
45 ручном режиме или под действием соответствующей программы на управляемом и программируемом контроллере. Общий вид устройства и вид сверху показан на (Фиг. 2, Фиг. 3).

По результатам эксперимента было обнаружено равномерное заселение клеточной

культуры внутри полилактидной матрицы, чего не было обнаружено при статическом способе заселения клеточной культуры (Фиг. 4, Фиг. 5, Фиг. 6).

Устройство позволяет:

- 5 - помещать клеточную культуру внутрь биodeградируемого носителя большой плотности, с получением КИК с заданными характеристиками
- осуществлять культивирование КИК с пролиферацией клеток в динамике, под воздействием перфузии
- использовать штатные газовые инкубаторы для экспериментальной работы
- используя модульность конструкции подключать дополнительные датчики или
- 10 клапаны

(57) Формула полезной модели

Устройство для совмещения клеточной культуры и биodeградируемого носителя, включающее герметичный корпус и крышку, подключаемые через соединители датчик

15 газа, электромагнитный клапан подачи и перистальтический насос, отличающееся тем, что внутри корпуса выполнено конусообразное углубление с цилиндрическим пространством для размещения биodeградируемого носителя, с дном которого соединен канал для отвода питательной среды, при этом корпус и крышка герметично соединены при помощи резьбового соединения с торроидальным углублением для резинового

20 уплотнения, а в крышке выполнены резьбовые отверстия, к которым подсоединены соединители датчика газа, электромагнитного клапана подачи и перистальтического насоса, имеющего возможность подачи в полость корпуса питательной среды с культурой клеток в то время, когда электромагнитный клапан открыт, а также прокачивания через электромагнитный клапан подачи газа для фильтрации питательной

25 среды через биodeградируемый носитель с осаждением внутри биodeградируемого носителя культуры клеток.

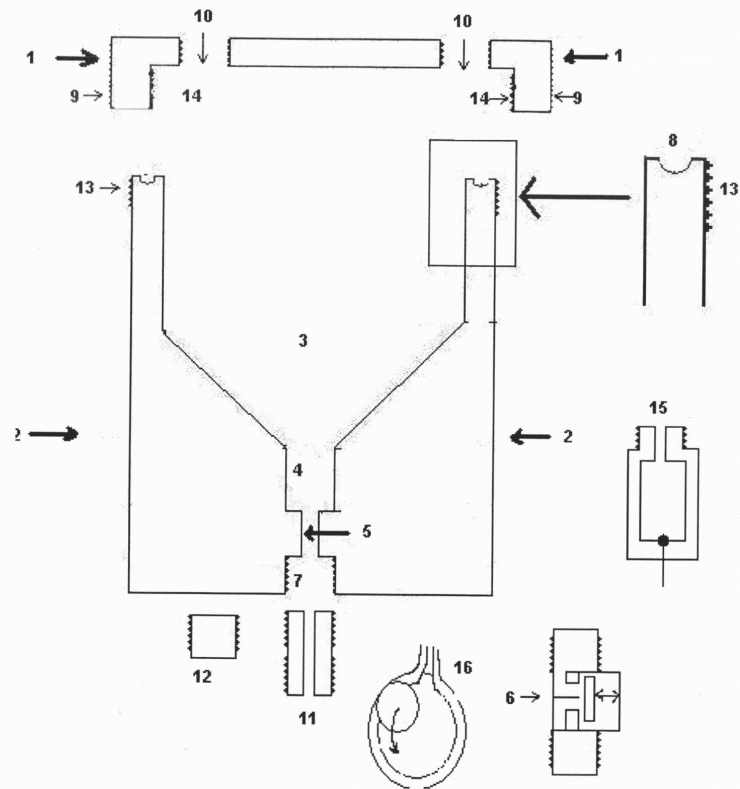
30

35

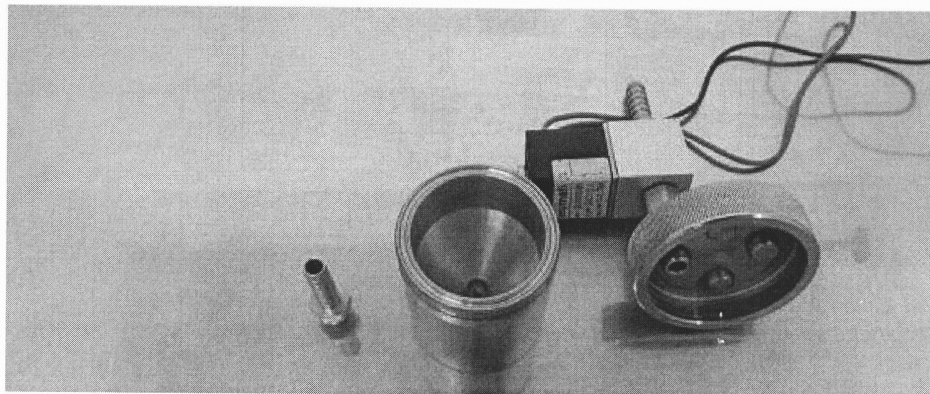
40

45

1

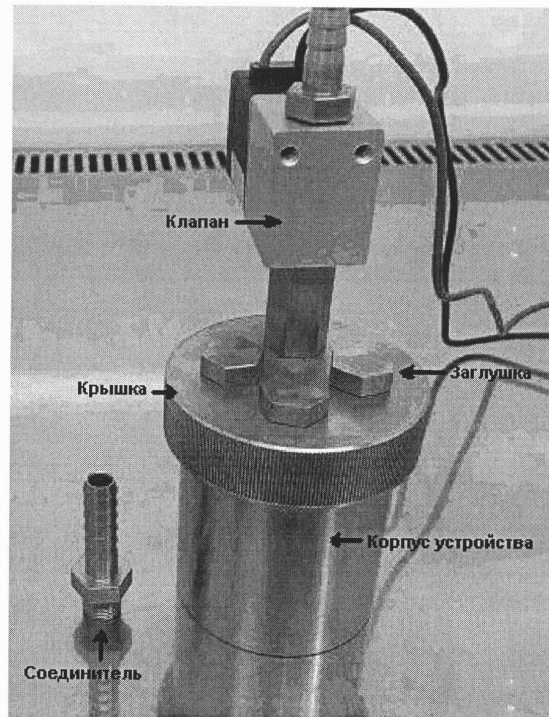


Фиг. 1

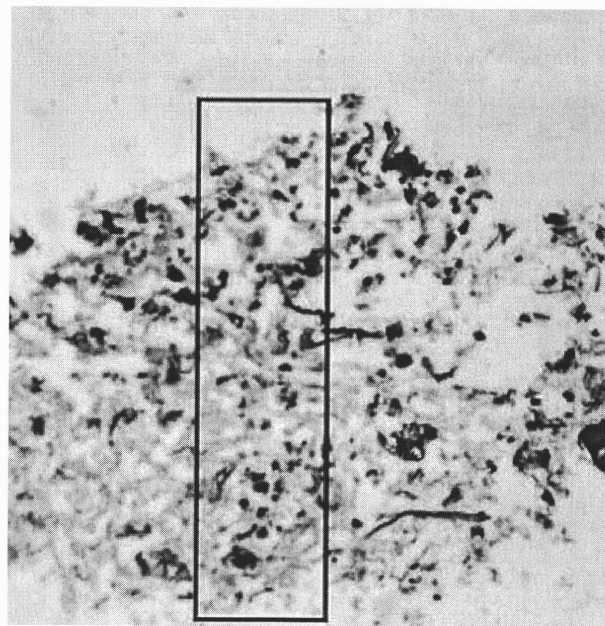


Фиг. 2

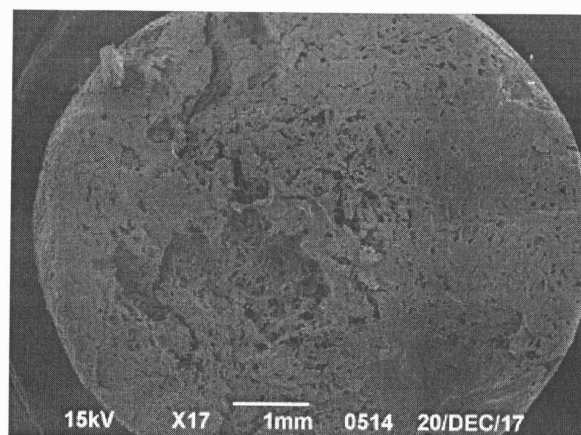
2



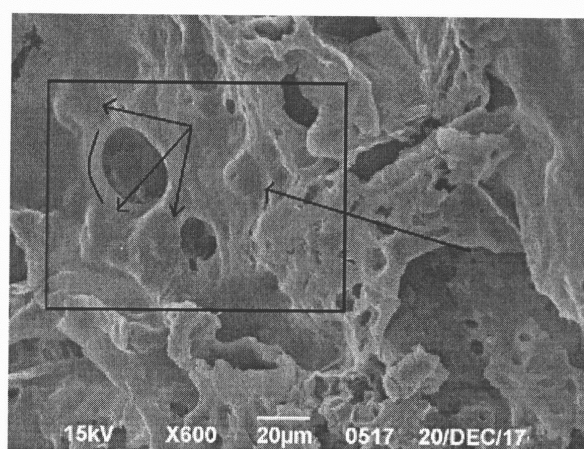
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6