

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 981 070**

51 Int. Cl.:

C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.01.2021 PCT/EP2021/051538**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.07.2021 WO21148663**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2021 E 21701966 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2024 EP 4093844**

54 Título: **Biorreactor para cultivo de células**

30 Prioridad:

23.01.2020 EP 20153266

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.10.2024

73 Titular/es:

**FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG
E.V. (100.0%)
Hansastraße 27c
80686 München, DE**

72 Inventor/es:

**VOGEL, SIMON y
SCHILLBERG, STEFAN**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 981 070 T3

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

DESCRIPCIÓN

Biorreactor para cultivo de células

5 Campo de la invención

La invención se refiere a un biorreactor para el cultivo de células. El biorreactor descrito presenta al menos un recipiente en el que están dispuestas las células a cultivar y al menos un medio nutritivo y un dispositivo de movimiento que se puede conectar una unidad de accionamiento que mueve al menos temporalmente las células a cultivar o les aplica una fuerza.

Antecedentes de la invención

15 El cultivo celular se refiere al cultivo de células animales o vegetales en un medio nutritivo fuera del organismo. Tales cultivos celulares pueden reproducir células de un tipo de tejido de forma indefinida, mediante el cual se cultivan tanto líneas celulares inmortalizadas como células primarias. En el cultivo de células de origen procariota o eucariota, la creación de parámetros fisiológicos adaptados al tipo celular respectivo, que debe corresponder al menos en gran medida a los respectivos procesos vitales normales, es de crucial importancia. La determinación de parámetros fisiológicos adecuados es importante para lograr un comportamiento de crecimiento óptimo, por ejemplo, la formación de una estructura celular o la forma celular deseada para lograr una alta tasa de crecimiento o la producción de ingredientes seleccionados. Por ejemplo, en la producción de antibióticos se utilizan a menudo biopelículas, es decir, asociaciones de células que se adhieren a la superficie de los recipientes de cultivo para modular la ruta metabólica de las células y estimular la producción de antibióticos.

25 Además, en el cultivo de células, especialmente células de mamíferos, se sabe que para tipos de células especializadas se necesitan estímulos eléctricos o mecánicos o estructuras específicas del tipo celular para inducir el crecimiento deseado. Por ejemplo, se requieren estímulos eléctricos o físicos para formar miocardioblastos o células musculares, que luego forman células fusiformes que se ensamblan en fibras musculares.

30 Hasta la fecha se han utilizado diferentes recipientes de cultivo para cultivar células de origen procariota o eucariota, se utilizan también llamados biorreactores, en los que las células se cultivan en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. Los sistemas de biorreactores más conocidos son cultivos en agitación o fermentadores, en los que las células reciben oxígeno y nutrientes en una solución nutritiva mientras se gasean y se agitan o se agitan. Las células generalmente se cultivan en suspensión.

35 Añadiendo materiales de soporte se pueden formar grandes superficies para formar una película.

Otra forma de cultivo celular comúnmente utilizada utiliza reactores de lecho fijo, en el que una suspensión celular fluye a través de un lecho sólido o empaquetamiento. Este proceso se utiliza principalmente a nivel industrial, para multiplicar células en una matriz superficial y estimularlas para que excreten productos metabólicos.

40 Por el documento WO 03/012027 A1 se conoce un biorreactor que se utiliza para el cultivo de microorganismos, células o sistemas de expresión libres de células. En el biorreactor descrito se llevan a cabo reacciones biológicas o bioquímicas que se utilizan en los campos de la biotecnología, la tecnología alimentaria y la protección del medio ambiente. El biorreactor descrito en esta publicación tiene varias aberturas, que se utilizan principalmente para suministrar gases o líquidos, para tomar muestras y suministrar microorganismos o células, por lo que las aberturas correspondientes pueden cerrarse utilizando medios de cierre adecuados. Además, el biorreactor descrito presenta un inserto plegable o inflable, que debe permitir una mezcla eficaz y turbulenta de los líquidos de reacción. Se proporcionan deflectores especiales para garantizar una gasificación eficaz durante un movimiento circular del inserto y el movimiento resultante de los líquidos de reacción. Además, el documento US 2015/252317 A1 describe un biorreactor para cultivar células.

Breve descripción de la invención

55 La invención se basa en los biorreactores conocidos en el estado de la técnica y tiene como objetivo desarrollar un recipiente de cultivo de tal manera que se puede lograr un alto rendimiento en el cultivo de células mediante una iniciación adecuada de los estímulos. En particular, debería ser posible crear asociaciones celulares especiales, como fibras musculares, que requieran la aplicación de estímulos externos a una escala comparativamente grande y de esta manera también permiten la producción de asociaciones de tejidos tridimensionales. Un biorreactor correspondiente también debería ser adecuado para utilizar fibras musculares como material de partida para la producción de carne cultivada artificial. Además, el dispositivo a especificar, es decir, el biorreactor, debería satisfacer la necesidad de dispositivos comparativamente simples que puedan escalarse o paralelizarse en términos del rendimiento celular que se puede lograr, en el que se pueden cultivar células y se pueden aplicar los parámetros físicos requeridos de acuerdo con sea necesario. Sobre todo, el biorreactor a especificar debería poder realizarse con medios constructivos relativamente sencillos y utilizando componentes conocidos de modo que es posible el cultivo de grupos celulares comparativamente grandes, incluso teniendo en cuenta las limitaciones económicas.

La tarea anteriormente mencionada se logra con un biorreactor de acuerdo con la reivindicación 1. Configuraciones ventajosas de la invención son objeto de las reivindicaciones dependientes y se explican con más detalle en la siguiente descripción con referencia parcial a las figuras.

5 Un recipiente adecuado para recibir las células a cultivar y al menos un medio nutritivo, y mediante un dispositivo de movimiento, que se puede conectar con una unidad de accionamiento y a través de la cual las células a cultivar se pueden mover al menos temporalmente o se pueden someter a una fuerza. De acuerdo con la invención, el biorreactor se caracteriza porque en un interior del recipiente, que está al menos parcialmente cerrado al entorno por las paredes del recipiente, está dispuesto un elemento elástico que está diseñado de tal manera que puede absorber medio nutritivo al menos parcialmente y al menos durante un cierto período de tiempo y que las células a cultivar se adhieren al menos parcialmente en y/o al elemento elástico al menos temporalmente y que el movimiento el dispositivo está configurado, para deformar el elemento elástico al menos temporalmente, en particular para comprimirlo al menos en algunas zonas.

15 Por lo tanto, es esencial para la invención un elemento elástico que pueda acoger al menos temporalmente un medio nutritivo y poder deformarse, en particular comprimirse, mediante al menos un dispositivo de movimiento específicamente accionable. El elemento elástico al que se adhieren las células a cultivar está preferiblemente deformado de tal manera que cuando se comprime el elemento, que va acompañado de una reducción de volumen, el medio nutritivo es expulsado del elemento, mientras que el elemento absorbe el medio nutritivo en un estado al menos parcialmente relajado, en particular, las células que se adhieren al elemento elástico o en él pueden recibir de forma fiable y uniforme los nutrientes contenidos en el medio nutritivo mediante tal absorción y expulsión alternadas del medio nutritivo, sin que esto obstaculice el suministro de gas, por ejemplo oxígeno.

25 Sobre o dentro del elemento elástico están dispuestas células a cultivar al menos en zonas que son estimuladas de forma adecuada mediante estímulos de movimiento debido a la deformación del elemento elástico, favoreciendo así el cultivo de estas células. La deformación, en particular la compresión, del elemento elástico puede ocurrir de forma continua en intervalos sucesivos o en intervalos de tiempo variables. También es posible aplicar una fuerza uniforme o variable al elemento elástico, de modo que la deformación del elemento elástico varía en tipo y/o resistencia entre al menos dos procesos de deformación sucesivos. En general, es adecuado un dispositivo diseñado de acuerdo con la invención para cultivar células tanto procariotas como eucariotas. También es posible que un dispositivo de este tipo se utilice para la producción de antibióticos y/o en el ámbito de los ensayos farmacológicos de principios activos. Además, un dispositivo que utiliza la invención es preferiblemente adecuado para implementar la fermentación de biopelículas. Por lo tanto, existe una variedad de usos posibles diferentes, así como la modalidad de diversos procesos biológicos bioquímicos o moleculares basados en el uso de la idea inventiva abstracta.

35 En la configuración de la invención está previsto que el elemento elástico presente al menos parcialmente un material esponjoso. Dependiendo de las células a cultivar, esto puede resultar ventajoso, si el material esponjoso es una esponja producida sintéticamente, en cuya superficie y/o en cuyos poros se adhieren, al menos en algunas zonas, las células a cultivar. El material esponjoso presenta preferentemente al menos una espuma, por lo que generalmente es concebible que la superficie del material similar a una esponja, en particular la espuma se trata al menos parcialmente en la superficie, por ejemplo, recubierta.

45 Es concebible que el material elástico sea al menos parcialmente carne *in vitro*, bacterias, células procariotas, al menos un polímero, una estructura proteica, tal como una estructura proteica de seda, glucomanano, zeína, colágeno, alginato, quitosano y/o pulpa. Lo que siempre es esencial para la invención es que el elemento elástico se deforme mediante un dispositivo de movimiento específicamente móvil, en particular se comprime, de modo que las células a cultivar son estimuladas de manera adecuada mediante estímulos de movimiento y así estimuladas para crecer y/o se garantiza un suministro eficaz de nutrientes a las células a cultivar.

50 De acuerdo con una configuración especial de la invención, el dispositivo de movimiento cierra al menos en algunas zonas el interior del biorreactor al exterior. En este contexto es imaginable que el dispositivo de movimiento presente al menos un pistón que esté dispuesto de manera móvil en algunas zonas a lo largo de una pared interior del recipiente. En este caso, entre el émbolo móvil y la pared interior de la carcasa está previsto preferentemente al menos un elemento de obturación, por ejemplo, en forma de una junta anular. En este contexto es imaginable que un componente del dispositivo de movimiento unido con el elemento elástico presente una superficie de sellado, que incluye un elemento de sellado junto con la pared de la carcasa, o que un elemento de accionamiento especial del dispositivo de movimiento, que tiene una superficie de sellado comparativamente pequeña, tal como un vástago de pistón conectado a un pistón, e incluye un elemento de sellado entre él mismo y la pared del recipiente.

60 Lo que también es esencial para la invención es que el dispositivo de movimiento, por ejemplo, el pistón, esté acoplado al elemento elástico de tal manera que el elemento elástico se deforma debido al movimiento del dispositivo de movimiento, en el que el elemento elástico se comprime y luego se relaja alternativamente. Mediante estos movimientos se estimulan las células a cultivar, que al menos en algunas zonas están dispuestas sobre o dentro del elemento elástico, con un estímulo de movimiento que favorece el crecimiento de las células. Asimismo, el medio nutritivo contenido en el elemento elástico es expulsado del mismo debido a la compresión y luego el medio nutritivo

es absorbido desde el interior del recipiente por el elemento elástico relajado.

Además, es ventajoso que el interior del recipiente presente una entrada y/o una salida, de modo que se crea al menos un canal de flujo estanco a los fluidos entre el interior del recipiente y una descarga y/o suministro de fluido o el entorno. Preferiblemente, a través de tales entradas y/o salidas se pueden suministrar gases y/o líquidos, que son necesarios para producir los parámetros fisiológicos necesarios para el cultivo de las células en el interior del recipiente, se introducen específicamente en el interior del recipiente y se retiran de nuevo. Preferiblemente, en la entrada y/o en la salida está prevista una válvula que se puede abrir y cerrar en función de una señal de control. Es especialmente ventajoso que una válvula dispuesta en la entrada y/o en la salida dependa de la presión que reina en el interior del recipiente, que puede ser una sobrepresión o una presión negativa en relación con un entorno y/o un sistema de suministro de fluido, se abre y se cierra.

De acuerdo con una configuración especialmente adecuada de la invención, un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención presenta tanto una entrada con una válvula de entrada como una salida con una válvula de salida, por lo que tanto la válvula en la entrada como la válvula en la salida dependen de la presión que prevalece en el interior del recipiente que se puede abrir y cerrar en comparación con un sistema de suministro de fluido que se puede conectar al interior del recipiente y a una sobrepresión o una presión negativa.

Además, es posible que mediante un movimiento intencionado o una modificación del movimiento específicamente inducida del dispositivo de movimiento se modifique la presión en el interior de tal manera que el elemento elástico se deforme al menos localmente, en particular se comprima y luego se relaje. Dependiendo de la presión que se desarrolla en el interior del recipiente, se abren y cierran las válvulas de entrada y/o salida, de modo que pueda tener lugar un cultivo adecuado de las células situadas sobre o dentro del elemento elástico. Por supuesto, también es posible, en caso necesario, suministrar o extraer medio nutritivo del interior del recipiente a través de las aberturas de válvula en la entrada y/o en la salida. De este modo se puede ajustar tanto la cantidad como la composición del medio nutritivo situado en el interior del recipiente en función de los parámetros fisiológicos necesarios para el cultivo de las respectivas células dispuestas en el interior del recipiente.

Al proporcionar una entrada y/o salida, es por lo tanto posible, al menos temporalmente, tener un canal de flujo para un flujo de aire, gas y/o líquido entre el interior del recipiente y un suministro de fluido dispuesto fuera del interior del recipiente o del entorno.

En otra modalidad especial, un biorreactor de acuerdo con la invención tiene al menos un acceso que se puede cerrar, a través del cual se puede establecer al menos temporalmente una conexión con el interior del recipiente. En este contexto es imaginable que a través de un acceso de este tipo se abra al menos temporalmente un canal de flujo que atraviese la pared del vaso, a través del cual se introduce o se retira del interior del recipiente al menos un medio, que contiene al menos un nutriente, una bacteria y/o un fluido.

De acuerdo con un desarrollo especial de la invención, un acceso diseñado especialmente es un acceso de muestreo, a través del cual se puede retirar del interior del recipiente al menos una parte de las células y/o del medio nutritivo que se encuentra en ellas. En este caso es imaginable tomar y examinar al menos temporalmente, preferiblemente de forma automática, una muestra del medio nutritivo y/o de las células dispuestas en el interior del recipiente. Dependiendo de los resultados de la prueba, preferiblemente se varía de acuerdo con sea necesario al menos un parámetro que influye en el cultivo de las células. En este caso es posible que en función del resultado del examen cambie la cantidad o la composición del medio nutritivo que se encuentra en el interior del recipiente o el proceso de movimiento del dispositivo de movimiento y así se cambia específicamente el elemento elástico móvil.

Además, como alternativa o adicionalmente al acceso de muestreo puede estar previsto al menos un acceso que esté destinado a la disposición al menos regional de un elemento sensor, como por ejemplo una sonda para detectar un valor de pH o una concentración de O₂, en el área del interior del recipiente. Para lograr un movimiento adecuado del dispositivo de movimiento y con ello una deformación del elemento elástico, el dispositivo de movimiento puede estar acoplado a al menos una unidad de accionamiento adecuada, que a su vez se controla mediante una unidad de control central. Es imaginable que la unidad de accionamiento presente al menos un elemento de accionamiento accionado mecánica, neumática, hidráulica, eléctrica o electroneumáticamente, que actúa sobre el dispositivo de movimiento para generar un movimiento.

De acuerdo con una modalidad particular de la invención, el dispositivo de movimiento presenta al menos un pistón, que mediante una unidad de accionamiento eléctrica, neumática o electroneumática realiza el movimiento necesario para la deformación temporal del elemento elástico. El pistón se mueve de tal manera que el elemento elástico dispuesto en el interior del recipiente se comprime y se relaja alternativamente, de modo que las células dispuestas sobre o dentro del elemento elástico son estimuladas por el movimiento y estimuladas a crecer de una manera específica. Esta introducción de estímulos de movimiento favorece el cultivo de las células, por ejemplo, la creación de una red celular, de una manera comparativamente sencilla y propensa a errores.

De acuerdo con la configuración del biorreactor de acuerdo con la invención, el dispositivo de movimiento presenta al menos una membrana que cierra al menos parcialmente el interior del recipiente del medio ambiente que se deforma

al menos temporalmente durante el funcionamiento mediante un elemento de pistón conectado directa o indirectamente a la unidad de accionamiento. La unidad de accionamiento presenta preferentemente un cilindro neumático, cuyo vástago de émbolo alojado de forma móvil está unido con el elemento de émbolo, por ejemplo, atornillado.

5 En general, es concebible que la membrana toque el elemento elástico al menos temporalmente durante el funcionamiento. Ventajosamente, la membrana se deforma debido a un movimiento del elemento de émbolo, por ejemplo, curvado al menos temporalmente, de manera que el elemento elástico también se deforme, en particular se presione o se comprima, de manera adecuada.

10 En una configuración especial, el elemento de émbolo está configurado para realizar durante el funcionamiento una carrera de 90 a 110 mm, en particular aproximadamente 100 mm. En este contexto también es imaginable que el elemento de émbolo realice al menos temporalmente durante el funcionamiento un movimiento lineal o circular.

15 Un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención presenta preferentemente al menos un elemento sensor que presenta al menos un parámetro, en particular un parámetro fisiológico, registrado en el interior del recipiente, éste puede ser la concentración del medio nutritivo, una composición del medio nutritivo, una temperatura, una presión, una concentración de gas y/u otro parámetro fisiológico. La influencia sobre el cultivo de las células dispuestas en el interior del recipiente sobre o dentro del elemento elástico es imaginable en función de un valor medido registrado y de un valor objetivo relevante porque una unidad de control central genera una señal de control que se utiliza para controlar una unidad de accionamiento para iniciar el movimiento del dispositivo de movimiento, un suministro y extracción de fluido y/o una unidad de dosificación. De esta manera, es posible modificar específicamente una cantidad, una composición y/o una concentración del medio nutritivo situado en el interior del recipiente, sus componentes y/u otra sustancia. La unidad de control genera señales de control adecuadas, preferentemente en función de una comparación entre el valor medido registrado por al menos un elemento sensor y un valor nominal, que, por ejemplo, se almacena en una base de datos.

20 De acuerdo con una configuración muy especial está previsto que la unidad de accionamiento presente al menos una leva que durante su movimiento esté en unión operativa con el dispositivo de movimiento e inicie un movimiento, lo que conduce a una compresión y relajación alternas del elemento elástico. Al menos una leva, que puede formar parte de un árbol, realiza preferiblemente un movimiento giratorio y por tanto indica un movimiento del dispositivo de movimiento, como por ejemplo un pistón, que está dispuesto al menos parcialmente en el interior del recipiente, en diferentes direcciones. De acuerdo con un perfeccionamiento especial de la invención es concebible a este respecto que estén dispuestos de manera adecuada varios biorreactores uno al lado del otro y que los dispositivos de movimiento de los distintos biorreactores sean accionados mediante un árbol de levas que presenta varias levas.

30 Ventajosamente, entre un dispositivo de movimiento, que provoca una deformación al menos temporal del elemento elástico, y una pared interior del recipiente está previsto al menos un elemento de sellado a través del cual se sella el interior del recipiente de forma estanca a los fluidos, es decir, a los líquidos y/o a los gases, frente al entorno. Un elemento de obturación de este tipo puede estar configurado, por ejemplo, como una junta anular que rodea el dispositivo de movimiento, tal como un pistón del dispositivo de movimiento. En general es imaginable que el al menos un elemento de obturación se mueva junto con el dispositivo de movimiento o que se produzca un movimiento relativo entre el elemento de obturación y el dispositivo de movimiento. En la última modalidad mencionada, el al menos un elemento de sellado se fija preferiblemente al menos por secciones a una zona de la pared interior del recipiente con ayuda de elementos de fijación adecuados.

40 De acuerdo con otra configuración especial de la invención es concebible que el propio dispositivo de movimiento tiene una entrada y/o una salida que forma al menos parte de un canal de flujo entre el interior del recipiente y un suministro de fluido o el entorno. En este caso, la entrada y/o la salida no están situadas en una pared del recipiente en cuyo interior se cultivan las células, sino dentro del dispositivo de movimiento. Por ejemplo, es concebible que un pistón montado de forma móvil con respecto a la pared del recipiente presente al menos una entrada y/o una salida de este tipo, en el que a su vez está dispuesta de manera ventajosa una válvula para abrir y cerrar selectivamente la entrada y/o la salida.

55 Otro perfeccionamiento especial de la invención prevé que esté previsto al menos un medio de fijación que fije el elemento elástico al menos en algunas zonas dentro del recipiente. Un medio de fijación de este tipo puede presentar, por ejemplo, al menos un elemento de gancho que encaje en el elemento elástico de tal manera que se limite o incluso se impida un movimiento del elemento elástico con respecto al espacio interior y/o al dispositivo de movimiento al menos en una dirección. En general es imaginable que al menos un medio de fijación esté dispuesto en una pared interior del recipiente y/o en un lado orientado hacia el interior del recipiente en la dirección del movimiento. Con ayuda de un medio de fijación de este tipo o de varios medios de fijación, por ejemplo, en forma de ganchos, espinas o topes, se puede garantizar que el elemento elástico se mueva específicamente en al menos una dirección específica debido a un movimiento del dispositivo de movimiento y/o que se impidan movimientos en al menos una dirección seleccionada. La selección y disposición adecuadas de los medios de fijación adecuados garantiza que dentro del vaso se generen movimientos específicos de un elemento elástico que se mueve mediante un dispositivo de movimiento y que las células a cultivar se estimulen de manera adecuada, especialmente para crear mejores

condiciones de crecimiento.

Breve descripción de las figuras

5 La invención se explica a continuación con más detalle, sin limitar el concepto general de la invención, mediante ejemplos de modalidad con ayuda de las figuras.

Se muestra:

10 Figura 1: Biorreactor diseñado de acuerdo con la invención en situación operativa con un elemento elástico relajado,
Figura 2: Biorreactor diseñado de acuerdo con la invención en situación operativa con un elemento elástico comprimido y

15 Figura 3: Representación esquemática de un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención, cuyo dispositivo de movimiento tiene un pistón y un vástago de pistón.

Figura 4: Ilustración de una modalidad especial de un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención.

20 Figura 5: Representación de una modalidad del recipiente abierto de un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención con el elemento elástico dispuesto en el interior del recipiente, que se encuentra en una elevación del fondo del recipiente.

Descripción detallada la invención

25 La figura 1 muestra un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención con un recipiente 2 esterilizable en el interior del recipiente 3 están dispuestos un elemento elástico 7 en forma de esponja y un dispositivo de movimiento 4 montado de forma móvil con respecto a la pared del recipiente 6. El elemento elástico 7 se fija en el interior del recipiente mediante ganchos que sirven como elementos de fijación 16. Las células están dispuestas en la superficie y en los
30 poros del elemento elástico 7 y se cultivan de manera adecuada, de modo que se puedan crear estructuras celulares a gran escala o incluso tridimensionales, como fibras musculares o carne artificial.

Es esencial que el biorreactor 1 mostrado en la figura 1 esté temporalmente deformado, en el que el elemento elástico se comprime y relaja alternativamente, dando como resultado un cambio de volumen correspondiente. Para ello, el
35 pistón del dispositivo de movimiento 4 se mueve alternativamente en la dirección opuesta, ya sea dentro del recipiente 2 o fuera del recipiente, de modo que el elemento elástico 7 se comprime y relaja alternativamente de manera adecuada y así se estimulan las células adheridas al elemento elástico, por lo que se puede lograr un crecimiento celular mejorado. Otra ventaja es que el elemento elástico 7, que en este caso tiene un material similar a una esponja, absorbe y libera alternativamente el medio nutritivo 18, de modo que las células reciban de manera uniforme los
40 nutrientes contenidos en el medio nutritivo 18 y aún en cantidad suficiente la atmósfera de gas contenida en el interior del recipiente, especialmente entren en contacto con el oxígeno y/o el CO₂ contenidos en ellos.

Entre el pistón del dispositivo de movimiento 4 y el lado interior de las paredes laterales 6 del recipiente está previsto además un elemento de obturación 15, que garantiza un sellado seguro del interior del recipiente 3 frente al entorno.
45 De acuerdo con la modalidad ejemplar representado aquí, el elemento de obturación 15 está configurado en forma de anillo de obturación y está fijado al émbolo del dispositivo de movimiento 4 de manera que se mueve junto con él.

El dispositivo de movimiento 4 está en conexión operativa en el lado opuesto al interior del recipiente 3 con una unidad de accionamiento 5, que como elemento de accionamiento 14 presenta una leva montada de forma giratoria y accionada por un motor eléctrico. Al girar la leva, el pistón del dispositivo de movimiento 4 se mueve alternativamente
50 en dirección al interior del recipiente o en dirección a la leva, en el que durante el movimiento hacia el interior del vaso 3, se comprime el elemento elástico 7 con las células adheridas al mismo. Este estado de funcionamiento, en el que se comprime el elemento elástico 7 se muestra en la figura 2.

55 No solo en la pared del recipiente 6 que forma el fondo del recipiente 2, sino también en el lado del émbolo del dispositivo de movimiento 4 orientado hacia el interior del recipiente 3 y con ello en el elemento elástico 7, 16 están dispuestos ganchos como elementos de fijación. Con estos elementos de fijación 16 en forma de gancho se fija el elemento elástico en su posición en el interior del recipiente 3 y se evita, por ejemplo, de forma segura un deslizamiento no deseado.

60 Además, en la zona del émbolo del dispositivo de movimiento 4 están previstas una entrada 8 con una válvula de entrada 11 y una salida 9 con una válvula de salida 12. A través de la entrada se puede introducir gas y/o medio nutritivo 18 en el interior del recipiente 3 desde un suministro de fluido 10 correspondiente y descargarse correspondientemente a través de la salida 9. Las válvulas 11, 12 dispuestas en la entrada 8 y en la salida 9 se abren y cierran en función de la presión que reina en el interior del recipiente 3. Un control de este tipo de las válvulas 11,
65 12 tiene la gran ventaja de que la apertura y el cierre de las válvulas 11, 12 se pueden realizar de forma

comparativamente sencilla y segura. Como alternativa o adicionalmente, es imaginable prever una unidad de control central 17, que genera señales de control adecuadas para realizar un proceso de cultivo eficaz y envía señales unidireccional o bidireccionalmente con las válvulas de entrada y salida 11, 12, pero también con una unidad de accionamiento 5, al menos un elemento sensor, un suministro de fluido 10 y/o un dispositivo para controlar selectivamente la temperatura del interior del recipiente 3. La correspondiente transmisión de señales y/o datos puede realizarse por cable o de forma inalámbrica.

La figura 1 muestra un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención en un estado operativo en el que el pistón del dispositivo de movimiento 4 está en un estado sacado del interior del recipiente 3, de modo que el elemento elástico 7 está relajado y puede al menos parcialmente absorber el medio nutritivo 18.

La figura 2 muestra un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención en un estado de funcionamiento en el que el pistón del dispositivo de movimiento 4 se encuentra en un estado retraído al máximo en el interior del recipiente 3, de modo que el elemento elástico 7 se comprima a un volumen mínimo. La leva utilizada como elemento de accionamiento 14 de la unidad de accionamiento 5 está girada en sentido contrario a las agujas del reloj aproximadamente 260° hacia la izquierda en comparación con el estado de funcionamiento mostrado en la figura 1, con lo que se inicia un movimiento correspondiente del pistón.

Variando específicamente la forma de una leva y/o cambiando la velocidad de rotación, se puede cambiar tanto el grado de deformación como la velocidad a la que se deforma el elemento elástico 7 dispuesto en el interior 3 del recipiente. Tanto la velocidad de un cambio de forma como el grado de cambio de forma del elemento elástico 7 dependen de los parámetros, que son necesarios para el cultivo óptimo de las células dispuestas en el interior del recipiente 3 y en o sobre el elemento elástico 7.

Con la ayuda del biorreactor 1 mostrado en las figuras 1 y 2, es posible de una manera comparativamente sencilla ajustar parámetros de crecimiento fisiológicos adaptados al tipo de célula respectivo cuando se cultivan células de origen procarionota o eucariota. En particular, se puede variar el tipo y tamaño de los estímulos que están destinados a estimular el crecimiento de las células. Un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención permite el cultivo de grupos celulares especiales a mayor escala mediante la aplicación de estímulos externos. Además, incluso se pueden producir asociaciones de tejidos tridimensionales para medicamentos o fibras musculares como material de partida para carne cultivada. Un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención tiene los tres componentes principales mostrados en las figuras 1 y 2, a saber, un recipiente esterilizable 2, un dispositivo de movimiento 4 con un pistón, un elemento elástico 7 alternativamente comprimido y relajado y un suministro de fluido con una entrada 8 y una salida 9 para el intercambio de gases requerido.

Además, está previsto un acceso 13, previsto de acuerdo con el ejemplo de modalidad mostrado, para tomar muestras del medio nutritivo 18 y/o de las células dispuestas en el interior del recipiente 3, de acuerdo con sea necesario.

De acuerdo con la modalidad específica de la invención aquí descrita, el elemento elástico 7 está configurado como una esponja de glucomanano, pero dependiendo de las células a cultivar, el elemento elástico también puede presentar otros materiales que sean adecuados para servir como material soporte para las células a cultivar, y que puede alojar al menos parcialmente el medio nutritivo 18. Con ayuda de al menos un elemento de fijación adecuado se puede fijar de forma ventajosa el elemento elástico 7 en el interior del recipiente 3. Para este propósito, las realizaciones mostradas en las figuras 1 y 2 prevén que se dispongan ganchos para el anclaje en el fondo del biorreactor 1 y en la parte inferior del pistón del dispositivo de movimiento 4. El elemento elástico 7 sirve como matriz estructural para la fijación de las células a cultivar.

Además, la figura 3 muestra una representación esquemática de un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención, cuyo dispositivo de movimiento 1 y suministro de fluido, sin embargo, está diseñado de manera diferente al biorreactor 1 mostrado en las figuras 1 y 2. El principio de funcionamiento esencial de la invención, a saber, la compresión de un elemento elástico 7 dispuesto en el interior del recipiente 3 junto con las células a cultivar adheridas al mismo, se realiza mediante un dispositivo de movimiento 4. También se realiza con el dispositivo mostrado en la figura 3. La principal diferencia con el biorreactor 1 mostrado en las figuras 1 y 2 es que el dispositivo de movimiento 4 tiene un pistón y un vástago de pistón, que establece la conexión entre el pistón que actúa sobre el elemento elástico 7 en el interior del recipiente 3 y una unidad de accionamiento 5 dispuesta fuera del recipiente 2. De acuerdo con esta modalidad, el vástago del pistón sobresale a través de la pared de la carcasa 6, de modo que entre las superficies de sellado de la pared del recipiente 15 y el vástago del pistón esté dispuesto un elemento de sellado 15 comparativamente pequeño. En este caso, el suministro y la salida de al menos un fluido hacia y/o desde el interior del recipiente 3 se realiza a través de una entrada 8 y una salida 9, que están dispuestas dentro de la pared del recipiente 6 y establecen así una conexión entre el interior del recipiente 3 o un sistema de suministro de fluido (no se muestra en esta vista). Los componentes restantes, como diferentes accesos o una unidad de control, como se muestra en las figuras 1 y 2, no se pueden ver en la representación esquemática de acuerdo con la figura 3, pero también se pueden usar en esta modalidad específica sin restringir el concepto inventivo general.

El movimiento del dispositivo de movimiento 4 y, por tanto, del elemento elástico 7 en el interior del recipiente 3 se genera mediante una unidad de accionamiento 5 adecuada. En las figuras, la unidad de accionamiento 5 tiene como

elemento de accionamiento 14 una leva, que puede formar parte de un árbol de levas y, debido a su movimiento, inicia un movimiento hacia arriba y hacia abajo del pistón. Naturalmente, es posible implementar la invención con ayuda de unidades de accionamiento, elementos de accionamiento y/o dispositivos de movimiento distintos de los representados en las figuras. Para la invención siempre es esencial que en el interior del recipiente del biorreactor esté dispuesto un elemento elástico con células adheridas, que se deforma alternativamente, en particular se comprime y se relaja, con ayuda de un dispositivo de movimiento. Ventajosamente, para dicho elemento elástico se utiliza un material similar a una esponja, que puede ser de origen sintético o natural. La irritación físicamente inducida de las células a cultivar se produce mediante la compresión y relajación mecánica del elemento elástico que forma la matriz que contiene las células. De esta manera no solo se consigue el suministro de gas necesario, en particular el intercambio de aire a través de las válvulas dispuestas en la entrada y la salida, sino al mismo tiempo un suministro constante y homogéneo de nutrientes a través del medio nutritivo, que es absorbido y liberado alternativamente por el elemento elástico.

Por tanto, un biorreactor diseñado de acuerdo con la invención representa una solución técnica sencilla y eficaz para estimular células y biopelículas para la transformación fenotípica deseada, por ejemplo, para la diferenciación de mioblastos en microtúbulos. Además, un biorreactor de este tipo es fácilmente escalable, tiene componentes relativamente poco desgastados y permite un cultivo celular especialmente cuidadoso.

La figura 4 muestra una realización especial de un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención. Con la ayuda de un prototipo ya se ha demostrado la funcionalidad general de un biorreactor 1 de este tipo que utiliza un elemento elástico en el que no se proporcionan células y agua como medio nutritivo 18.

El biorreactor 1 mostrado en la figura 4 tiene una unidad de accionamiento 5 con un cilindro neumático 21 presurizado con aire comprimido, en el que está guiado un vástago de pistón 19, cuyo extremo orientado hacia el recipiente 2 está conectado con un elemento de pistón 20 de movimiento de dispositivo 4. Las pruebas se realizaron con un cilindro neumático de doble efecto 21 ZDM 25/100 de acuerdo con ISO 6432, cuyo vástago 19 tiene un diámetro exterior de 25 mm y que realiza una carrera máxima de 100 mm. El cilindro neumático 21 está montado sobre un bastidor 23 de acero inoxidable, que tiene como base una placa base 24. El dispositivo de movimiento 4 presenta además una membrana 22, en este caso una membrana de silicona, que cierra desde arriba el interior 3 del recipiente 2 del entorno y que se deforma durante el funcionamiento al mover el vástago de émbolo 19 mediante el elemento de émbolo 20. y se mueve al menos temporalmente hacia abajo en la dirección sobre el elemento elástico 7 dispuesto en el interior del recipiente 3, que de este modo se comprime.

Además, el biorreactor 1 mostrado en la figura 4 tiene un recipiente 2 con una conexión inferior con un pico como acceso 13 para muestreo y una conexión con un pico que combina una entrada 8 y una salida 9 para el intercambio de gases. En la boquilla inferior se fija una manguera de silicona con una abrazadera para cierre, mientras que en la parte superior se conecta una manguera de silicona con un filtro de aire hidrofóbico de PTFE (PTFE = politetrafluoroetileno). En el fondo plano del recipiente se encuentra una elevación de acero inoxidable, redonda e interiormente hueca, llena de agujeros, para alojar un elemento elástico 7.

Para una prueba específica, el movimiento del elemento del pistón se configuró en 4-5 ciclos por minuto, correspondiendo un ciclo a un movimiento hacia arriba y hacia abajo. Como elemento elástico 7 se utilizó una esponja Konjac disponible comercialmente a partir de glucomanano de la empresa BlueFox, que durante el funcionamiento forma una estructura tridimensional, por ejemplo, para la producción de carne artificial o para la formación de biopelículas bacterianas. Antes de su uso en el biorreactor 1, esta esponja que forma el elemento elástico 7 se sumergió en 100 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) con una composición de 8,0 g de cloruro sódico (NaCl), 0,2 g de cloruro potásico (KCl), 1,42 g fosfato disódico de hidrógeno (Na_2HPO_4), 1,78 g de hidrogenofosfato disódico dihidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y 0,27 g de dihidrogenofosfato de potasio (KH_2PO_4), pH 7,4, se esterilizaron en autoclave y se colocaron en 100 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) fresca durante la noche a temperatura ambiente.

Para realizar el experimento se colocó el elemento elástico 7, en este caso la esponja Konjac, en la elevación y se llenaron el interior del recipiente 3 con unos 350 ml de líquido para que la esponja se absorbiera bien y la mitad quedara en el líquido

El interior del recipiente 3 está delimitado del entorno por una membrana 22, en este caso una tapa de silicona redonda, disponible en el comercio, con un diámetro de al menos 15 cm, donde la membrana 22 forma parte del dispositivo de movimiento 4 para la deformación selectiva del elemento elástico 7. La membrana 22 se fija a un anillo metálico 26 en la parte superior de la pared del recipiente 6 mediante tornillos.

Durante el funcionamiento, el cilindro neumático de la unidad de accionamiento 5 se presurizó con aire comprimido a una presión de 4-5 bar (0,4-0,5 MPa) y el vástago del pistón 19 se movió en el ciclo de bomba deseado de 4-5 ciclos por minuto. El vástago de pistón 19 y el elemento de pistón 20 acoplado a él están dispuestos centralmente directamente encima de la membrana 22 de tal manera que el elemento de pistón 20 presiona la membrana 22 durante el funcionamiento durante un movimiento descendente y la superficie de la membrana se hincha al menos 5 cm hacia abajo, al menos en una zona central, de esta manera, el elemento elástico 7 se deforma de la forma de una esponja Konjac, el medio nutritivo 18 se extrae del elemento elástico 7 y el aire se desplaza del interior del recipiente 3. Cuando

el elemento de pistón 20 se mueve hacia arriba, el aire fluye nuevamente hacia el interior del recipiente 3 y el elemento elástico 7 absorbe el medio nutritivo 18. Se utilizó una incubadora disponible comercialmente como recipiente 2 para el experimento, realizándose el experimento a una temperatura ambiente de 27 °C durante al menos 24 horas. Resultó que el prototipo era completamente funcional y tenía un comportamiento de funcionamiento estable durante un largo período de tiempo.

Además, la figura 5 muestra el recipiente abierto 2 con el elemento elástico 7 dispuesto en el interior del recipiente 3, que se encuentra en una elevación 25 del fondo del recipiente en el elemento elástico 7 aquí mostrado que forma una estructura tridimensional durante el funcionamiento, por ejemplo, para la producción de carne artificial o para la formación de biopelículas bacterianas, es una esponja Konjac disponible comercialmente a partir de glucomanano de la empresa BlueFox. Antes de ser colocada en el interior del recipiente 3 del biorreactor 1, esta esponja que forma el elemento elástico 7 se sumergió en 100 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) con una composición de 8,0 g de cloruro sódico (NaCl), 0,2 g de cloruro potásico (KCl), 1,42 g de hidrogenofosfato disódico (Na_2HPO_4), 1,78 g de hidrogenofosfato disódico dihidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y 0,27 g de dihidrogenofosfato de potasio (KH_2PO_4), pH 7,4, se esterilizaron en autoclave y se colocaron en 100 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) fresca durante la noche a temperatura ambiente.

El siguiente es un ejemplo del cultivo de la cepa bacteriana *Streptomyces* spec. descrito con la ayuda de un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención, donde *Streptomyces* sp. DSM n.º 40434 (DSMZ, Alemania) se utilizó para el experimento de crecimiento inicial en el nuevo biorreactor 1. La cepa de *Streptomyces* se cultivó en 50 ml de medio completo 2YTPG (16 g/l de triptonas, 10 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de cloruro de sodio (NaCl), 5 g/l de glucosa, 3 g/l de dihidrogenofosfato de potasio (KH_2PO_4), 9 g/L de hidrogenofosfato dipotásico ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) cultivado en un matraz Erlenmeyer de 250 ml con deflector e incubado a 180 rpm y 28 °C durante 24 horas. Luego, las células se sedimentaron en un recipiente de reacción de 50 ml a 4700 rpm durante 10 min y luego se sumergieron en 25 ml de medio mínimo R2 (Hopwood D. A., Bibb M. J., Chater K. F., Kieder T., Bruton C. J., Kieser H. M., Lydiate D. J., Smith C. P., Ward J. M., Schrepf H. 1985. Manipulación genética de Streptomycetes: manual de laboratorio. John Innes Foundation, Norwich) se resuspendieron para la formación de pigmento. Las células se añadieron a 325 ml de medio mínimo en un biorreactor 1 diseñado como se muestra en la figura 4 y se incubaron a 28 °C durante >72 horas. 7 se utilizó como elemento elástico a base de glucomanano, una espuma de poliuretano disponible en el comercio. Para esta prueba, el movimiento del pistón se ajustó a 4-5 ciclos por minuto. Las células se pudieron desprender del elemento elástico 7 después del final de la prueba de fermentación, lo que fue visible cuando el medio se volvió turbio. Las estructuras exageradas típicas de los estreptomicetos eran claramente visibles bajo un microscopio (Olympus BX41). El antibiótico y el pigmento actinorrodina producidos por las bacterias se pudieron extraer con metanol y garantizaron el color rojo específico de la solución. La formación de pigmentos demostró que un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención puede usarse para la producción de sustancias industrialmente relevantes, como por ejemplo antibióticos.

En otro experimento se produjo la proteína fluorescente roja tdTomato en *E. coli* usando un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención, que a su vez se diseñó de acuerdo con la realización especial mostrada en la figura 4. Como otro objeto de prueba para el biorreactor 1 se examinó la producción de una proteína recombinante.

El objetivo era producir la proteína tdTomato fluorescente roja, que ya es ópticamente visible a la luz del día y funciona como pigmento. El plásmido pUC57_T7_td-tomato se transformó en células BL21-AI One Shot químicamente competentes de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Thermo Fisher Scientific) y colocados en placas de agar LB, que consisten en extracto de levadura (5 g/l), triptonas (10 g/l), cloruro de sodio (0,5-10 g/l) y agar (15 g/l) (pH ajustado a 7 con NaOH), se sembraron en placas con 100 mg/ml de ampicilina y se incubaron a 37 °C durante la noche. Se inoculó una colonia al día siguiente en un tubo de ensayo con 5 ml de medio LB fresco y se incubó durante la noche a 37 °C y 160 rpm. Al día siguiente, se creó una solución madre de glicerol con un 25 % (p/v) de glicerol estéril a partir de este cultivo y se utilizó como punto de partida para todos los experimentos adicionales. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml con un deflector, la solución madre se cultivó como precultivo en 50 ml de medio sin inducción y se mantuvo durante la noche cultivado a 37 °C y 200 rpm. A continuación, se preparó un biorreactor 1, diseñado de acuerdo con el ejemplo de realización mostrado en la figura 4, y se llenó con 300 ml de medio. Luego se sedimentaron las células a partir de 50 ml del precultivo en un recipiente de reacción de 50 ml y se resuspendieron en 50 ml de medio fresco. Luego se agregaron las células disueltas al medio en el biorreactor 1, el biorreactor 1 se cerró y se incubó durante la noche a 37 °C y 2-3 ciclos de bombeo por minuto. Para el funcionamiento del biorreactor, el movimiento del pistón se ajustó a 4-5 ciclos por minuto. Al día siguiente, del material esponjoso del elemento elástico se extrajeron 7 células, que producen claramente el pigmento rojo y, con ello, la proteína recombinante tdTomato. Esto dejó claro que un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención puede usarse para la producción de proteínas recombinantes.

En otro experimento especial debería demostrarse la funcionalidad de un biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención para el cultivo de células de mamíferos. El objetivo era cultivar la línea celular de mamífero C2C12, que es una línea celular de mioblastos inmortalizados de *Mus musculus* (véase Yaffe, D., Saxel, O. Serial Passage and Differentiation of Myogenic Cells Insulated from Dystrophic Mouse Muscle. Nature 270, 725-727 (1977) <https://doi.org/10.1038/270725a0>) y es adecuado para demostrar el crecimiento de las células musculares y sus precursores debido a su crecimiento estable. La línea celular C2C12 muestra una rápida diferenciación y forma

miotubos contráctiles y produce proteínas musculares características. Antes de comenzar el experimento se desmontó en sus partes un biorreactor 1 diseñado como se muestra en la figura 4, se envolvió en papel de aluminio, se esterilizó en autoclave y se montó bajo una mesa estéril. Como elemento elástico 7 se utilizó una esponja Konjac (de la empresa Bluefox, blanca), que se colocó en 100 ml de PBS (solución salina tamponada con fosfato) y se esterilizó en autoclave después del proceso de hinchamiento. Luego, el elemento elástico 7 se colocó en 100 ml de PBS fresco y estéril y se incubó con poli-L-lisina al 0,001 % para recubrirlo y lograr una mejor adhesión. A continuación, se lavó el elemento elástico 7 tres veces con 100 ml de PBS estéril cada vez. El medio utilizado fue 350 ml de Medio Eagle Modificado por Dulbecco con glucosa, pero sin piruvato (DMEM). Para la inoculación se utilizaron 2×10^7 células, las cuales se agregaron al medio además del elemento elástico 7 hecho de glucomanano. El biorreactor 1 se cerró con una membrana 22 de silicona y se colocó debajo de la unidad de accionamiento 5. A esto le siguió una incubación durante al menos 72 horas con dos o tres movimientos del pistón por minuto a una temperatura ambiente de 37 °C con un 5 % de CO₂ en la atmósfera de la incubadora. Después de al menos 72 horas se abrió el reactor bajo una mesa estéril, se lavó el elemento elástico 7 en forma de esponja de glucomanano con PBS y luego se examinó al microscopio. El control microscópico se realizó mediante el microscopio de laboratorio invertido Leica DM IL LED. La contaminación con bacterias no fue detectable. Después de la tripsinización del material de glucomanano, se usó el tinte fluorescente SYTO9 (Thermo Fisher Scientific) con una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 498 nm para teñir las células desprendidas y determinar las células vivas. El análisis microscópico reveló una clara fluorescencia de las células C2C12 de la fracción de glucomanano. De este modo se demostró el crecimiento celular sobre el material de glucomanano en el biorreactor 1 diseñado de acuerdo con la invención y se demostró su idoneidad para el cultivo de células animales.

Lista de símbolos de referencia

- 1 biorreactor
- 2 recipiente
- 3 interior del recipiente
- 4 dispositivo de movimiento
- 5 unidades de accionamiento
- 6 pared de recipiente
- 7 elemento elástico
- 8 entrada
- 9 salida
- 10 suministro de fluido
- 11 válvula de entrada
- 12 válvula de escape
- 13 acceso
- 14 elemento de accionamiento
- 15 elemento de sellado
- 16 elemento de fijación
- 17 unidad de control
- 18 medio de cultivo
- 19 vástago del pistón
- 20 elementos de pistón
- 21 cilindros neumáticos
- 22 membrana
- 23 bastidor
- 24 placa base
- 25 aumento
- 26 anillo de metal

REIVINDICACIONES

1. Biorreactor (1) para el cultivo de células con al menos un recipiente (2) diseñado para contener las células a cultivar y al menos un interior del recipiente (3) que está al menos parcialmente cerrado al entorno mediante paredes (6) del recipiente (2) para absorber medio nutritivo, y con un dispositivo de movimiento (4) que se puede conectar a una unidad de accionamiento (5) y que mueve al menos temporalmente las células a cultivar o les aplica una fuerza, caracterizado por que en el interior del recipiente (3) está dispuesto un elemento elástico (7), que presenta un material similar a una esponja y está diseñado de tal manera, que al menos una parte del medio nutritivo pueda absorberse en al menos una zona del elemento elástico y que las células a cultivar se adhieran al menos en algunas zonas en y/o al elemento elástico al menos temporalmente y que el movimiento el dispositivo (4) está configurado para mover el elemento elástico (7) para deformarlo al menos temporalmente, en el que el dispositivo de movimiento (4) tiene al menos una membrana (22) que cierra al menos parcialmente el interior del recipiente (3) del entorno, que se deforma al menos temporalmente durante el funcionamiento mediante un elemento de pistón (20) conectado directa o indirectamente a la unidad de accionamiento (5) y que cuando la membrana (22) se mueve, el elemento elástico (7) se comprime y relaja alternativamente al menos en algunas áreas en intervalos de tiempo sucesivos, en el que el elemento elástico (7) absorbe el medio nutritivo cuando se expande y expulsa el medio nutritivo cuando se comprime.
2. Biorreactor de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el material esponjoso es espuma, carne *in vitro*, bacterias, al menos un polímero, una estructura proteica, glucomanano, zeína, colágeno, alginato, quitosano y/o pulpa.
3. Biorreactor de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que están previstas al menos una entrada (8) y una salida (9) que se pueden cerrar, a través del cual se puede crear al menos temporalmente un canal de flujo para un flujo de aire y/o gas entre el interior del recipiente (3) y un suministro de fluido (10) o el entorno.
4. Biorreactor de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por que en la entrada (8) está dispuesta una válvula de entrada (11) y en la salida (9) está dispuesta una válvula de salida (12) y está diseñada de tal manera, que una apertura y cierre de la entrada (11) y/o de la válvula de salida (12) se produce por un cambio de presión en el interior del recipiente (3).
5. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el recipiente (2) presenta al menos un acceso (13) que se puede cerrar, a través del cual se puede establecer al menos temporalmente una conexión desde el exterior del recipiente (2) con el interior del recipiente (3).
6. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la unidad de accionamiento (5) presenta al menos un elemento de accionamiento (14) accionado mecánica, neumática, hidráulica, eléctrica o electroneumáticamente, que actúa sobre el dispositivo de movimiento (4) para generar un movimiento.
7. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el dispositivo de movimiento (4) tiene al menos un pistón montado de forma móvil en o sobre el recipiente (2), durante cuyo movimiento el elemento elástico (7) se comprime y relaja al menos parcialmente en intervalos de tiempo sucesivos.
8. Biorreactor de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado por que la unidad de accionamiento (5) presenta como elemento de accionamiento (14) al menos una leva montada de forma giratoria, que inicia el movimiento del pistón.
9. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la membrana toca el elemento elástico (7) al menos temporalmente durante el funcionamiento.
10. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el elemento de pistón está configurado para realizar una carrera de 90 a 110 mm, en particular aproximadamente 100 mm, durante el funcionamiento.
11. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el elemento de pistón realiza un movimiento lineal o circular al menos temporalmente durante el funcionamiento.
12. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que entre el dispositivo de movimiento (4) y el recipiente (2) está dispuesto al menos en algunas zonas un elemento de obturación (15), que sella el interior del recipiente (3) de forma estanca a líquidos y/o gases del ambiente.
13. Biorreactor de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el elemento elástico (7) está tratado superficialmente al menos parcialmente.
14. Biorreactor de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que está previsto al menos un elemento de fijación (16) para fijar el elemento elástico (7) al menos en zonas en un lado interior de al menos una pared del recipiente (6) orientada hacia el interior del recipiente y/o en el dispositivo de movimiento (4).

15. Uso de un biorreactor de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores para la producción de carne artificial para la formación de biopelículas bacterianas y/o para el cultivo de células de mamíferos.

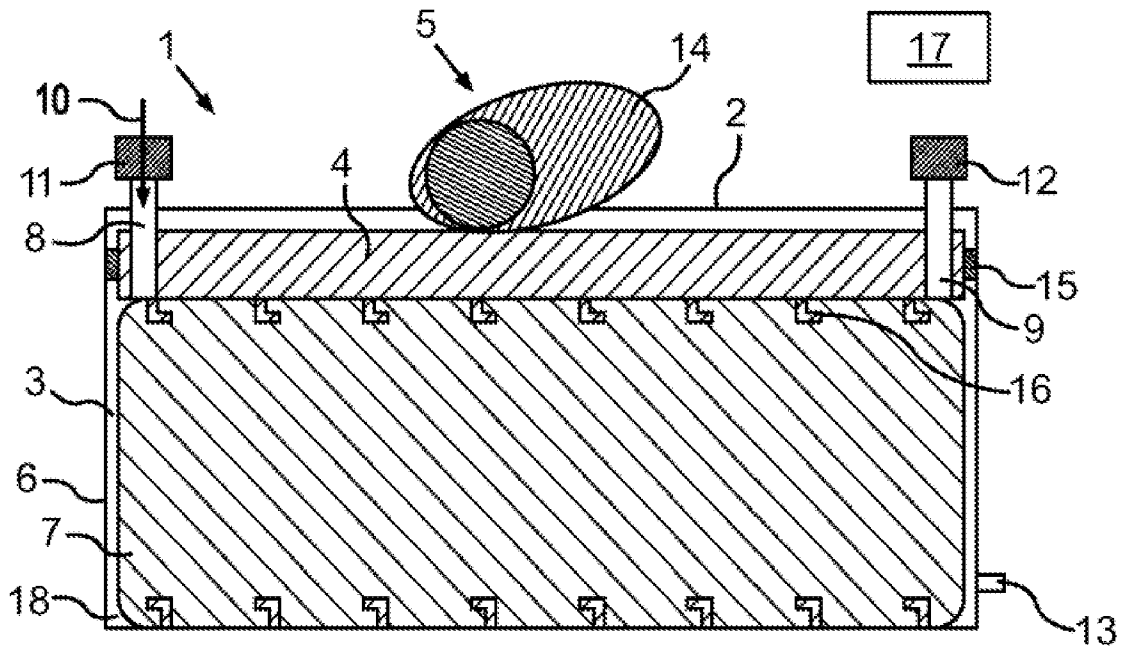


Fig. 1

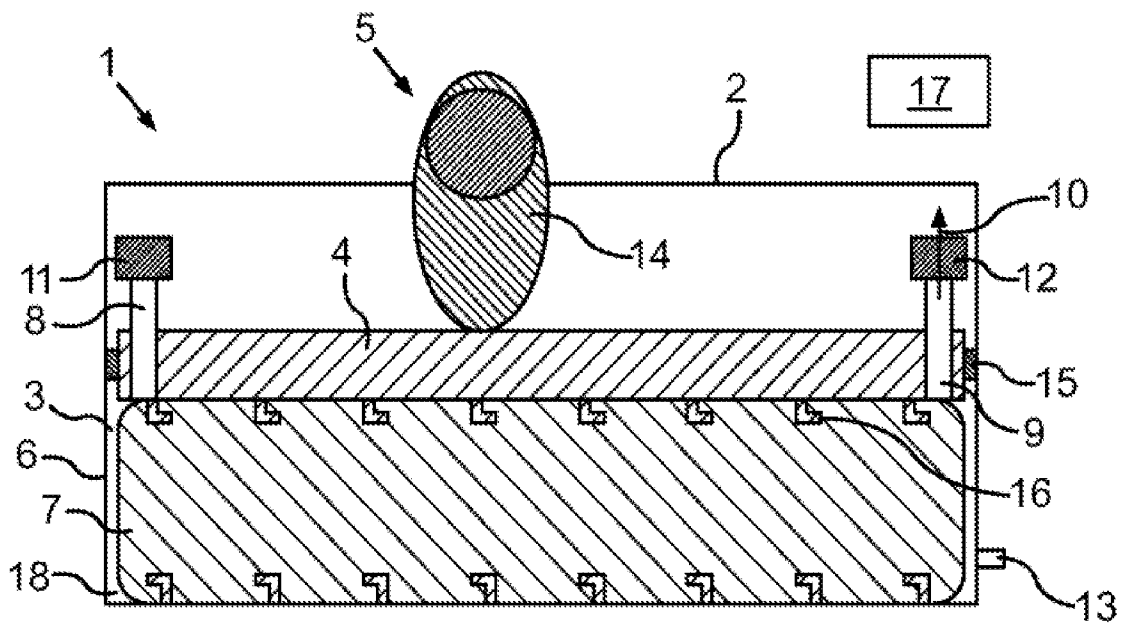


Fig. 2

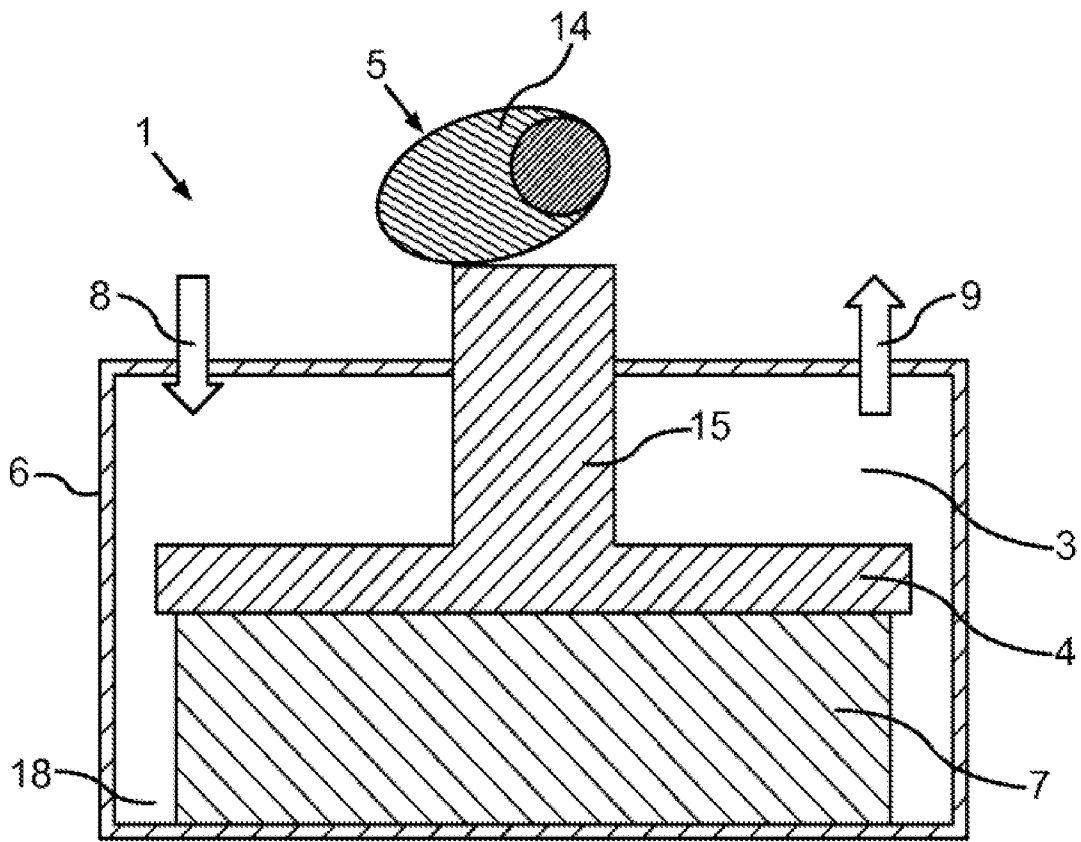


Fig. 3

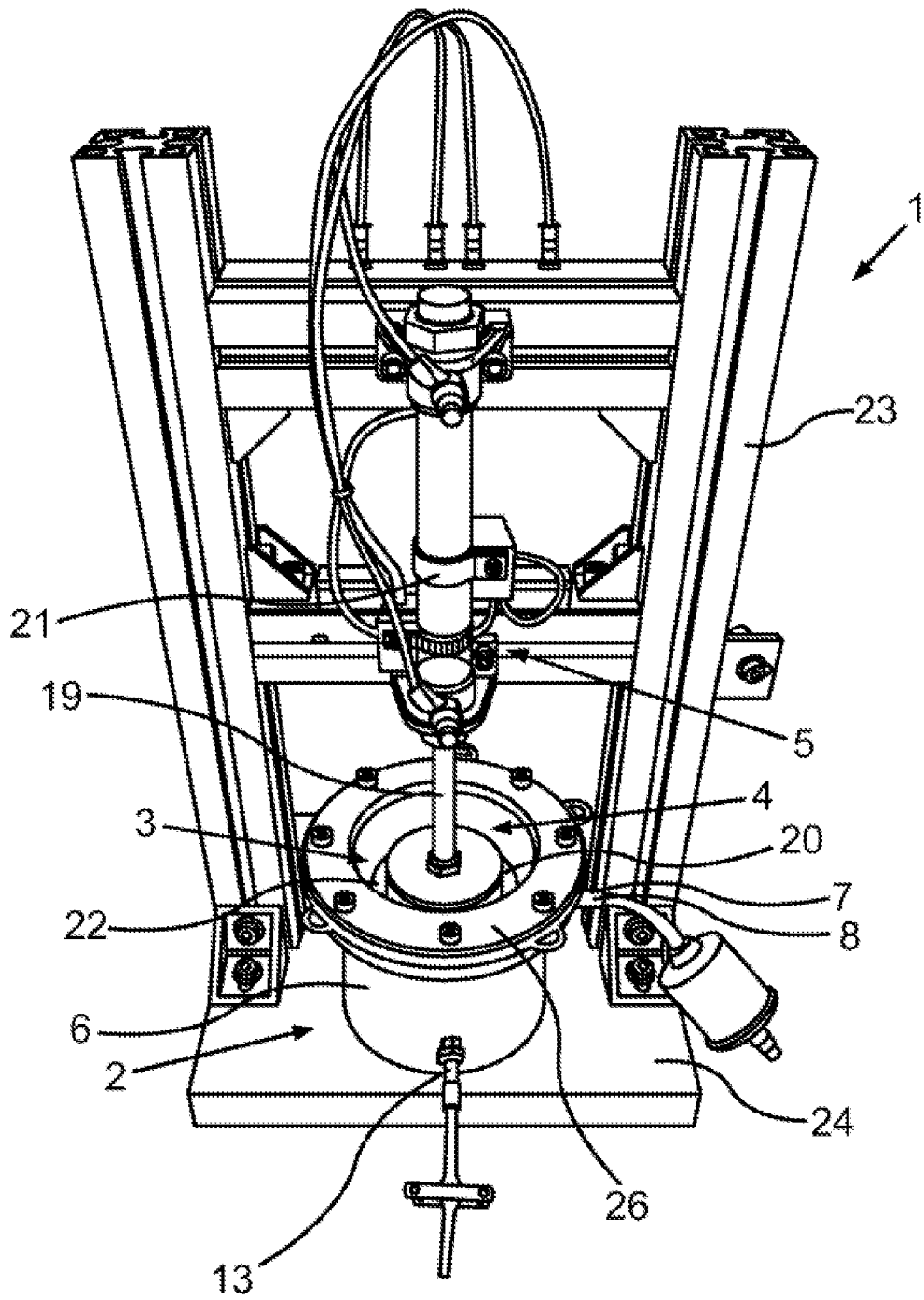


Fig. 4

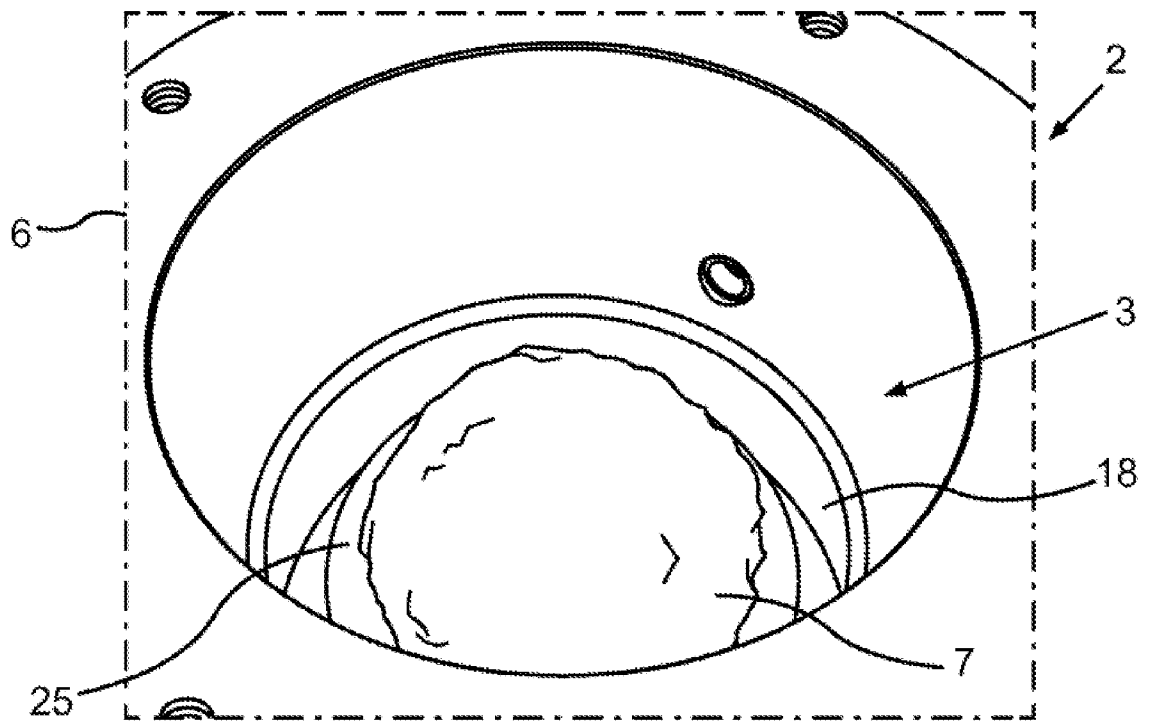


Fig. 5