

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 473**

51 Int. Cl.:
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07841969 .4**
96 Fecha de presentación: **06.09.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2059341**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.05.2009**

54 Título: **CAJA DE CULTIVO CON TAPA.**

30 Prioridad:
07.09.2006 US 842733 P
28.08.2007 US 846193

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.02.2012

73 Titular/es:
NALGE NUNC INTERNATIONAL CORPORATION
75 PANORAMA CREEK DRIVE
ROCHESTER, NY 14625, US

72 Inventor/es:
WHITTLINGER, Keith, Owen

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 374 473 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

Caja de cultivo con tapa

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad a la solicitud provisional de los Estados Unidos US serie nº 60/842,733 presentada el 7 de septiembre de 2006 (pendiente), la revelación de la cual se incorpora como referencia en su integridad en este documento.

10 Campo técnico

Dispositivos de cultivo de células y tejidos.

15 Antecedentes

20 La ingeniería de los tejidos es útil de forma creciente como una herramienta terapéutica, particularmente para el tratamiento de heridas de la piel o enfermedades vasculares y también como una herramienta para la verificación de ciertos productos farmacéuticos y cosméticos. Por ejemplo, están comercialmente disponibles numerosos productos sustitutivos de la piel. La mayor parte de estos productos comprenden una matriz porosa de algún tipo, a menudo infiltrada con fibroblastos en el momento de la utilización, para que funcione como una capa dérmica y provista de queratinocitos o una autoplastia epidérmica delgada como una capa epidérmica.

25 Uno de tales productos es OrCel® (Ortec International, Inc.), sustitución de la piel de dos capas provisto de una esponja de colágeno que, en el momento de la utilización, contiene fibroblastos dérmicos alogénicos cultivados en y en el interior de la misma como una capa dérmica y queratinocitos alogénicos cultivados en un lado no poroso de la esponja de colágeno como una capa epidérmica. Otro producto de sustitución de la piel de dos capas, PermaDerm® (Cutanogen Corporation/Lonza, Walkersville, Inc.; Walkersville MD), utiliza células epidérmicas y dérmicas, preferiblemente de una fuente antológica, cultivadas en y en el interior de una matriz de colágeno. Estos productos ejemplares ilustran el papel vital del cultivo de células en la preparación de productos de sustitución de la piel de este tipo para utilización terapéutica o de investigación.

35 Los insertos de cultivo de células que comprenden membranas porosas, tales como aquellos vendidos por Nunc A/S (Roskilde, Dinamarca), son útiles para estudios de polarización epitelial, quimiotaxia, transporte de macromoléculas y otras aplicaciones. Generalmente, una membrana porosa tanto de material inorgánico, tal como Anopoie® (Anotec Separations Ltd.), como de material orgánico, tal como policarbonato, sirve como la superficie de crecimiento o de fijación para células cultivadas, mientras la membrana se fija a un bastidor rígido de material compatible con el cultivo, tal como poliestireno, que sostiene la membrana alejándola del fondo de la caja de cultivo para permitir que el medio de cultivo llegue a ambos lados de las células fijadas o que crecen en la membrana.

40 Hasta la fecha, esponjas, tejidos, membranas y otros tipos de matrices porosas para contener y sostener las células vivas, típicamente han sido cultivados en cajas de cultivo normales, que incluyen aquellas comúnmente referidas como cajas bioensayo. Ejemplos de cajas de bioensayo incluyen las cajas de bioensayo Nun®, tales como los números de producto 240835 y 240845, y las cajas de bioensayo Corning®, tales como los números de producto 431111 y 431301 (Corning Life Sciences, Acton MA). Las cajas de bioensayo inicialmente fueron diseñadas para utilizarlas con microbios, tales como bacterias y levaduras, o células eucarióticas dependientes de no anclaje y son generalmente cajas de plástico transparentes rígidas con un área superficial grande pero provistas de una altura baja de modo que múltiples cajas se pueden apilar en una incubadora.

50 Las cajas de bioensayo normales tienen diversas desventajas. Debido a que los productos de sustitución de la piel requieren cantidades relativamente grandes de medio nutritivo para alimentar progresivamente la estructura de crecimiento, es típicamente necesaria la adición de medio. Sin embargo, es difícil añadir medio de cultivo a una caja de bioensayo normal sin alterar, desplazar o dañar de otro modo las células en la caja. Además, los grandes volúmenes de medio que deben ser contenidos en las cajas de este tipo conduce a un movimiento o chapoteo excesivo del medio cuando una caja de bioensayo debe ser movida o manejada de otro modo; esto es indeseable debido al bajo perfil o altura de las cajas de bioensayo.

60 El documento GB2262538 (Corning Inc) describe vasijas de cultivo de células en las que por lo menos una parte del interior tiene una pluralidad de ranuras o valles configurados y dimensionados para que puedan ser abarcados por las células del cultivo del tejido. Los valles o ranuras pueden ser paralelos entre sí o bien concéntricos entre sí. La vasija puede comprender un frasco en el que una parte de la pared del fondo esté inclinada para formar una rampa próxima a la pared extrema provista de un cuello de extremo abierto. La superficie interior de la pared del fondo puede tener un área de ventana plana. Estas vasijas proveen producciones de células mejoradas para líneas de células como las epiteliales y un entorno de crecimiento de las células más como en vivo para las líneas de células como los fibroblastos.

65

El documento W09736992 (Corning Costar Corp) describe una caja de cultivo para el crecimiento de cultivos tales como células de tejidos, bacterias y similares. La caja de cultivo incluye un asa que se extiende desde la misma que puede ser fácilmente agarrada por un usuario cuando eleve o maneje la caja de cultivo. La caja de cultivo también puede incluir una tapa que se puede colocar sobre una base de la caja para evitar la contaminación de los cultivos y controlar la evaporación o el líquido desde las cajas. El asa se puede extender desde la base, la tapa o desde ambas. Si las asas están provistas tanto en la base como en la tapa, pueden estar configuradas de forma diferente de modo que un usuario pueda distinguir fácilmente entre ellas.

Existe por lo tanto la necesidad de cajas de cultivo alternativas.

Resumen

Según un primer aspecto de la presente invención, se provee un dispositivo para el cultivo de un biótico en un medio de cultivo como se reivindica en la reivindicación 1.

Una caja de cultivo capaz de contener uno o más bióticos (por ejemplo, matrices) para sostener la infiltración de células vivas, provista de un canal en el que medio de cultivo o bien otros componentes se pueden añadir al mismo sin alterar o dañar las células y el contenido líquido de la caja tiene una reducida susceptibilidad a un movimiento excesivo o chapoteo durante la manipulación y el manejo de la caja. Una persona experta en la técnica apreciará que el cultivo de células incluye el cultivo de tejidos porque los tejidos son una organización más elevada de células. Una caja de cultivo, también referida como una caja de bioensayo, incluye una pared del fondo y por lo menos una pared lateral que se prolonga hacia arriba desde la pared del fondo para definir una cavidad interior. En una forma de realización, la caja de cultivo adicionalmente incluye por lo menos una pared de barrera para dividir la cavidad interior en una pluralidad de compartimientos, en el que la pared de barrera está configurada para mantener un primer biótico en un primer compartimiento físicamente separado de un segundo biótico en un segundo compartimiento. La pared de barrera puede incluir por lo menos un orificio para proveer comunicación fluida entre los compartimientos primero y segundo. En una forma de realización, la pared de barrera incluye una pluralidad de bloques de barrera discretos que definen orificios entre bloques de barrera adyacentes para la comunicación fluida.

En una forma de realización, una tapa puede estar acoplada de forma que se puede quitar a la caja de cultivo para cubrir por lo menos parcialmente el interior de la cavidad de la caja. La tapa puede incluir una pared superior y por lo menos una pared lateral que se prolonga hacia abajo desde la pared superior. La caja de cultivo o la tapa puede incluir por lo menos un separador para proveer por lo menos una parte de una trayectoria de flujo desde el exterior de la caja de cultivo hacia el interior de la cavidad de la caja de cultivo cuando la tapa está colocada sobre la misma. Por ejemplo, en una forma de realización, los separadores pueden incluir prolongaciones (por ejemplo, lengüetas de ventilación) que separan la pared superior de la tapa de la caja de cultivo. En otra forma de realización, los separadores pueden ser prolongaciones (por ejemplo, nervios) que separan las paredes laterales de la tapa de la caja de cultivo.

En otras formas de realización, la caja de cultivo o la tapa puede incluir características adicionales. Por ejemplo, la caja de cultivo y la tapa puede incluir prolongaciones que limiten el deslizamiento lateral de un dispositivo con relación a un dispositivo adyacente cuando los dispositivos estén en una configuración apilada. El dispositivo puede incluir un indicador de orientación para orientar la tapa con relación a la caja de cultivo. Adicionalmente, la caja de cultivo puede incluir señales para la identificación de los diferentes compartimientos.

En otra forma de realización, un dispositivo para el cultivo de células o tejido incluye una caja de cultivo provista de una pared del fondo y por lo menos una pared lateral que se prolonga hacia arriba desde la misma para definir una cavidad interior y por lo menos un canal en la pared del fondo para añadir a o quitar fluido de la caja de cultivo de una manera que minimice los efectos en un biótico colocado en la caja de cultivo. En una forma de realización, el canal puede estar formado a partir de un par de aristas separadas globalmente paralelas y se extienden, por ejemplo, a través de la dimensión entera de la caja de cultivo. La caja adicionalmente puede incluir por lo menos una pared de barrera para la división de la cavidad interior de la caja de cultivo en una pluralidad de compartimientos. En una forma de realización, la pared de barrera puede incluir una pluralidad de bloques de barrera en los que por lo menos uno de los bloques de barrera incluye una parte que forma parte del canal. El canal puede estar configurado para estar en comunicación fluida con cada uno de los compartimientos de la caja de cultivo.

Los objetos y ventajas anteriores y otros de la invención se pondrán de manifiesto a partir de los dibujos adjuntos y la descripción de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos, los cuales incorporan y constituyen una parte de esta memoria, ilustran formas de realización junto con la descripción general anterior y la descripción detallada de las formas de realización más adelante en este documento.

La figura 1 es una vista en perspectiva del conjunto de caja de cultivo desmontado según una forma de realización;

La figura 2 es una vista en planta desde arriba de la caja de cultivo representada en la figura 1;

5 La figura 3 es una vista parcial en sección transversal de la caja de cultivo tomada a lo largo de la línea 3 - 3 de la figura 2;

La figura 4 es una vista en planta desde arriba de la tapa representada en la figura 1;

10 La figura 5 es una vista parcial en sección transversal del conjunto de caja de cultivo tomada globalmente a lo largo de la línea 5 - 5 de la figura 4;

La figura 5A es una vista a mayor escala de la parte rodeada con un círculo de la figura 5; y

15 La figura 6 es una vista en alzado lateral de múltiples conjuntos de cajas de cultivo en una configuración apilada.

Descripción detallada

20 Con referencia a los dibujos, la figura 1 ilustra una forma de realización de un dispositivo referido en este documento como conjunto de caja de cultivo 10. El conjunto de caja de cultivo 10 incluye una caja de cultivo 12 y una tapa 14 adaptada para ser utilizada con la misma para el cultivo de bióticos (por ejemplo, células, tejidos, etc.) para la utilización en una amplia gama de aplicaciones médicas. Como se representa en las figuras 1 - 3, la caja de cultivo 12 incluye una pared del fondo sustancialmente plana 16 y una o más paredes laterales 18 que se prolongan hacia arriba desde un borde de la misma para definir una cavidad interior 20. Como se ilustra en las figuras, en una forma de realización, la caja de cultivo 12 puede ser globalmente cuadrada provista de paredes laterales 18a - 18d que, en combinación con la pared del fondo 16, forman la cavidad interior 20. Las formas de realización no están limitadas a la configuración cuadrada representada, sino que pueden estar configuradas en una amplia gama de formas y tamaños. Por ejemplo, la caja de cultivo 12 puede ser globalmente rectangular, circular, ovalada, triangular, pentagonal, etc.

30 En una forma de realización, la cavidad interior 20 de la caja de cultivo 12 puede estar dividida para el mantenimiento de múltiples bióticos (por ejemplo, matrices o insertos) físicamente separados unos de otros de modo que no estén en contacto unos con otros, se solapen unos a otros o de otro modo afecte al cultivo de un biótico debido a la presencia de otro biótico. En una forma de realización, la cavidad interior 20 de la caja de cultivo 12 puede definir una pluralidad de compartimientos (por ejemplo, compartimientos 22a - 22d) en su interior, cada compartimiento estando adaptado para recibir un biótico de este tipo (no representado) en su interior. A título de ejemplo, como se muestra en la figura 2, la caja de cultivo 12 puede incluir cuatro de tales compartimientos 22a - 22d, pero el número de compartimientos puede variar dependiendo de la aplicación específica, la preferencia del usuario y otros factores. Por ejemplo, el ancho y la longitud de la caja de cultivo 12 o las dimensiones de los compartimientos pueden variar para acomodar un número deseado de compartimientos o el tamaño de los bióticos que se utilizan con los mismos.

45 En una forma de realización, los compartimientos 22a - 22d pueden estar limitados por una pared de barrera 24 que se prolonga desde una superficie interior 25 de la pared del fondo 16 que define un espacio interior para la recepción de los bióticos. La pared de barrera 24 limita por lo menos una parte del espacio interior para evitar el movimiento indeseado del biótico en su interior. Como se ha observado antes, una disposición de este tipo mantiene múltiples bióticos en la caja de cultivo 12 físicamente separados unos de otros. Además de mantener múltiples bióticos separados unos de otros, también puede ser deseable proveer comunicación fluida entre los compartimientos 22a - 22d en la caja de cultivo 12. Una comunicación fluida de este tipo puede proveer la circulación y la exposición uniforme del medio de cultivo en la caja de cultivo 12. Por lo tanto, en una forma de realización, la pared de barrera 24 puede incluir una pluralidad de bloques de barrera elevados 28 a lo largo de la periferia de cada uno de los compartimientos 22a - 22d. Los bloques de barrera elevados 28 son suficientes para mantener los bióticos físicamente separados unos de otros en la caja de cultivo 12 y adicionalmente definen orificios o espacios 30 entre bloques de barrera adyacentes 28 para proveer comunicación fluida entre un primer compartimiento (por ejemplo, 22a) y un segundo compartimiento (por ejemplo, 22b). En una forma de realización, cada compartimiento 22a - 22d puede estar en comunicación fluida con cada uno de los otros compartimientos.

60 Mientras que la pared de barrera 24 está representada en una forma de realización como bloques de barrera discretos 28 separados por orificios 30, la pared de barrera 24 alternativamente puede incluir paredes sustancialmente continuas con uno o más orificios para proveer comunicación fluida entre compartimientos (no representado). Por ejemplo, la pared de barrera 24 puede ser una pared sustancialmente maciza con una o más aberturas, rendijas, ventanajes, etc., que se extienden a través de la misma para proveer comunicación fluida entre compartimientos adyacentes. Mientras la pared de barrera 24 para la definición del espacio interior de los compartimientos 22a - 22d está representada como globalmente cuadrada, también son posibles otras formas que incluyen, sin limitación, globalmente rectangular, circular, ovalada, triangular, pentagonal, o bien otras formas deseables.

Además de la división de la cavidad interior 20, la caja de cultivo 12 adicionalmente puede incluir un canal 32 para añadir o quitar medio o bien otros fluidos (por ejemplo, fluidos de lavado) hacia o desde la caja de cultivo 12 de una manera que reduzca efectos indeseables en los bióticos colocados en su interior. En esta forma de realización, el canal 32 puede estar definido por un par de aristas separadas globalmente paralelas 34 que se prolongan desde la superficie interior 25 de la pared del fondo 16 y que se extienden a lo largo de la misma. Por ejemplo, las aristas 34 se pueden extender en la dimensión entera (por ejemplo, longitud, ancho, diámetro, etc.) de la caja de cultivo 12, aunque no está limitado a ello. En una forma de realización, la caja de cultivo 12 puede incluir un canal individual 32 colocado sustancialmente en el centro de la caja de cultivo 12. También están dentro del ámbito de la caja de cultivo 12 otras configuraciones. A título de ejemplo, la caja de cultivo 12 puede incluir múltiples canales 32 (no representado), o un canal individual 32 puede estar colocado descentrado y ubicado más cerca de un borde de la caja de cultivo 12 (no representado). Como reconocerán aquellos expertos normales en la técnica, el número y la ubicación de los canales 32 se puede variar como sea necesario en la aplicación específica.

En una forma de realización, el canal 32 puede estar formado entre pares adyacentes de compartimientos (figura 2). En una forma de realización de este tipo, la pared de barrera 24 que define por lo menos una parte de los compartimientos puede estar formada integralmente con las aristas 34 que forman el canal 32 de modo que una parte de la pared de barrera 24 de este tipo forma una parte del canal 32. Por ejemplo, como se representa en la figura 3, por lo menos una parte de uno o más bloques de barrera 28 forma una parte del canal 32. Alternativamente, la pared de barrera 24 puede estar formada separada de las aristas 34 (no representado).

Las dimensiones físicas de las partes de la caja de cultivo 12 pueden variar dependiendo de, por ejemplo, la aplicación específica, los deseos del usuario, los tipos de bióticos y otros factores. Sin embargo, en una forma de realización, tal como la que se ilustra en las figuras 1, 2 y 4, la caja de cultivo 12 puede estar configurada como cuadrada provista de lados de aproximadamente 22,2 cm (8,75 pulgadas). La altura de las aristas 34 puede ser de aproximadamente 1,78 mm (0,070 pulgadas), la altura de la pared de barrera 24 (por ejemplo, los bloques de barrera 28) puede ser de aproximadamente 11 mm (0,430 pulgadas) y la altura de las paredes laterales 18 puede ser de aproximadamente 31,8 mm (1,25 pulgadas). Las dimensiones provistas antes se pueden ajustar para acomodar diferentes aplicaciones. Generalmente, sin embargo, la altura de las aristas 34 será adecuada para reducir el riesgo de dañado a las células causado por turbulencia o bien otras perturbaciones cuando el medio se añade a o se quita de la caja de cultivo 12. A este respecto, el canal 32 eficazmente canaliza el medio de cultivo para reducir cualquier perturbación del fluido de este tipo. La altura de las aristas 34 debe ser también adecuada para proveer una función de amortiguamiento que amortigüe eficazmente cualquier perturbación (por ejemplo, chapoteo) durante, por ejemplo, la manipulación y el movimiento de la caja de cultivo 12. La altura de la pared de barrera 24 para marcar los límites de los compartimientos 22a – 22d debe ser adecuada para evitar que los bióticos se muevan por encima de la parte superior de la pared de barrera 24, tal como, por ejemplo, durante la manipulación y el movimiento de la caja de cultivo 12. Aquellos expertos normales en la técnica reconocerán cómo variar las dimensiones de la caja de cultivo 12, las aristas 34, la pared de barrera 24 o bien otros aspectos de la caja de cultivo 12 para conseguir tales resultados.

La pared del fondo 16 de la caja de cultivo 12 debe poseer una resistencia suficiente para sostener el peso combinado del medio de cultivo y uno o más bióticos sin doblarse, alabearse o flexar excesivamente de otro modo, por ejemplo, aproximadamente 250 g o más en una caja cuadrada de 22,2 cm (8,75 pulgadas) con una profundidad de aproximadamente 31,8 mm (1,250 pulgadas) como se representa en las figuras 1 y 2. Los factores para la determinación de la resistencia de la pared del fondo 16 incluyen el tipo y el grosor de los materiales utilizados para formar la pared del fondo 16 de la caja de cultivo 12. Por ejemplo, cuando se utiliza poliestireno, un plástico normal para la formación de cajas de cultivo de células, un grosor de la pared del fondo de aproximadamente 19,1 mm (0,750 pulgadas) puede proveer suficiente resistencia para que sirva como la pared del fondo 16 de una caja de cultivo 12 de 22,2 x 22,2 cm (8,75 x 8,75 pulgadas). Aquellos normalmente expertos en la técnica reconocerán como seleccionar materiales o grosores adecuados para proveer suficiente resistencia y rigidez a la pared del fondo 16.

En una forma de realización, el conjunto de caja de cultivo 10 adicionalmente incluye una tapa 14 adaptada para ser utilizada con una caja de cultivo 12 para hacer mínima la contaminación y la vaporización mientras también provee intercambio de aire/gas para mantener, por ejemplo, el pH del medio de cultivo o los reactivos líquidos contenidos en la caja de cultivo 12. Como se representa en las figuras 1, 4 y 5, la tapa 14 puede incluir una pared superior sustancialmente plana 36 y una o más paredes laterales 38 que se prolongan hacia abajo desde un borde de la misma. La tapa 14 está dimensionada y conformada para ajustarse sobre el extremo superior de la caja de cultivo 12. En una forma de realización, ajusta con un ajuste sustancialmente forzado, como es normal en la industria para las cajas de bioensayo. Por lo tanto, en una forma de realización, la tapa 14 puede ser generalmente cuadrada provista de paredes laterales 38a – 38d que en combinación con la pared superior 36 forman la tapa 14. Como se ha indicado antes con respecto a la forma de la caja de cultivo 12, también son posibles otras formas, la forma de la tapa 14 generalmente correspondiendo a la forma de la caja de cultivo 12.

Como se representa en las figuras 5 y 5A, para facilitar el intercambio de gas con la cavidad interior 20 de la caja de cultivo 12, la tapa 14 puede incluir una pluralidad de prolongaciones, tales como lengüetas de ventilación 40 que se prolongan desde la superficie interior 42 de la pared superior 36 (figura 5A). Las lengüetas de ventilación 40 están

colocadas adyacentes a las paredes laterales 38 de modo que cuando la tapa 14 se coloca en la caja de cultivo 12, las lengüetas de ventilación 40 acoplan un borde superior 44 de las paredes laterales 18. De este modo, la superficie interior 42 de la pared superior 36 de la tapa 14 está separada del borde superior 44 de las paredes laterales 18 para definir una pluralidad de ventilaciones o espacios 46 entre lengüetas de ventilación adyacentes 40 que permiten la comunicación fluida entre o alrededor de las lengüetas 40.

Adicionalmente, la tapa 14 puede incluir una pluralidad de prolongaciones, tales como nervios de separación 48 que se prolongan desde la superficie interior 50 de las paredes laterales 38 de la tapa. Los nervios de separación 48 están adaptados para facilitar el intercambio uniforme o equilibrado de gas manteniendo una separación uniforme entre la caja de cultivo 12 y la tapa 14 alrededor sustancialmente de la periferia entera. Cuando la tapa 14 se acopla con la caja de cultivo 12, los nervios de separación 48 pueden acoplar una superficie exterior 52 de las paredes laterales 18. Alternativamente, la tapa 14 puede estar dimensionada de modo que exista un ligero juego entre la tapa 14 y la caja de cultivo 12 cuando se acopla en la misma. En ambas formas de realización, las paredes laterales 38 de la tapa 14 están separadas de las paredes laterales 18 de la caja de cultivo 12 para definir una pluralidad de ventilaciones o espacios 54 entre nervios de separación adyacentes 48. Colectivamente, los espacios 54 y 46 definen una trayectoria del flujo de fluido desde el exterior del conjunto de cultivo 10 hacia la cavidad interior 20 de la caja de cultivo 12, como se ilustra en la figura 5A.

Mientras la forma de realización anterior está representada y descrita con las lengüetas de ventilación 40 dispuestas en la tapa 14, las lengüetas de ventilación 40 alternativamente pueden estar dispuestas a lo largo del borde superior 44 de las paredes laterales 18, o bien en otras ubicaciones que resulten en una separación entre la pared superior 36 de la tapa 14 y el borde superior 44 de las paredes laterales 18 de la caja de cultivo. De una manera similar, mientras los nervios de separación 48 están representados y descritos estando dispuestos en la superficie interior 50 de las paredes laterales 38 de la tapa 14, alternativamente, los nervios de separación 48 pueden estar dispuestos en la superficie exterior 52 de las paredes laterales 18 de la caja de cultivo 12, o en otras ubicaciones que resulten en un espacio entre las paredes laterales 18 de la caja de cultivo 12 y las paredes laterales 38 de la tapa 14. Cuando los nervios de separación 48 están dispuestos en la tapa 14, por ejemplo, los nervios 48 pueden incluir un extremo cónico 58 para facilitar la alineación de la tapa 14 con la caja de cultivo 12 cuando se coloca la tapa 14 en la misma. En una forma de realización, las lengüetas de ventilación 40 pueden estar alineadas con un nervio de separación correspondiente 48 para definir globalmente un elemento en forma de L que se prolonga desde la superficie interior (pared superior y pared lateral) de la tapa 14.

El conjunto de caja de cultivo 10 puede incluir características adicionales según formas de realización alternativas. Por ejemplo, el conjunto de caja de cultivo 10 puede incluir características de apilamiento que permitan que múltiples conjuntos de cajas sean dispuestos en una configuración apilada. Por ejemplo, en una forma de realización, desde dos hasta aproximadamente diez o más conjuntos de cajas de cultivo se pueden apilar de una manera estable. A este respecto, la superficie exterior 62 de la pared del fondo 16 puede incluir una primera característica de apilamiento y la superficie exterior 64 de la pared superior 36 puede incluir una segunda característica de apilamiento que coopera para evitar o limitar el movimiento lateral (por ejemplo, deslizamiento) de un conjunto de caja de cultivo 10 con relación a un conjunto de caja de cultivo adyacente 10' cuando estén en una configuración apilada (figura 6). Por ejemplo, en una forma de realización, la superficie exterior 62 de la pared del fondo 16 puede incluir una pluralidad de prolongaciones, tales como aristas 66 adyacentes a uno o más de los bordes de la misma para definir un espacio 68 entre aristas adyacentes 66. En una forma de realización, la por lo menos una aristas 66 está ubicada a cada lado de la pared del fondo 16.

En esta forma de realización, la superficie exterior 64 de la pared superior 36 también puede incluir una pluralidad de prolongaciones, tales como aristas 70 adyacentes a uno o más de los bordes de la misma para definir un espacio 72 entre aristas adyacentes 70. En una forma de realización, la por lo menos una arista 70 está ubicada a cada lado de la pared superior 36. Las aristas 66 en la pared del fondo 16 están configuradas para encajar con relación a las aristas 70 en la pared superior 36 cuando dos o más (representados dos) conjuntos de caja de cultivo 10, 10' están apilados. Por ejemplo, las aristas 66 en la pared del fondo 16 de la caja de cultivo 12 pueden estar dispuestas adyacentes pero interiores a las aristas 70 en la pared superior 36 de la tapa 14. Alternativamente, las aristas 66 en la pared del fondo 16 pueden estar dispuestas adyacentes pero exteriores a las aristas 70 en la pared superior 36. En ambas formas de realización, el encaje de las aristas 66, 70, evita o limita el movimiento lateral (tal como por deslizamiento) de un conjunto de caja de cultivo 10 con relación a su conjunto de caja de cultivo adyacente 10'.

Además de evitar o limitar el movimiento de conjuntos de cajas de cultivo adyacentes 10, 10', por ejemplo, las aristas 66, 70 pueden proveer un espacio eficaz 73 y una trayectoria del flujo de fluido entre conjuntos de cajas de cultivo adyacentes 10, 10' como se representa en la figura 6. Un espacio de este tipo 73 entre conjuntos de cajas de cultivo adyacentes permite un intercambio más uniforme de gas y temperatura entre los bióticos en las cajas de cultivo 12 y el medio ambiente. Adicionalmente, las aristas 66 en la superficie exterior 62 de la pared del fondo 16 resultan en una superficie de contacto no plana eficaz. Por lo tanto, cuando la caja de cultivo 12 se coloca en una superficie de soporte húmeda (por ejemplo, mesas, bancos, mostradores, etc.) las cuales pueden no ser extrañas en un entorno de laboratorio, el aspecto no plano de la superficie de contacto puede evitar o reducir la probabilidad de la necesidad de aplicar fuerzas bruscas excesivas a la caja de cultivo 12 para desalojar la caja de cultivo 12 de la

superficie (por ejemplo, debido a los efectos de la tensión superficial). Tales fuerzas típicamente resultan en un movimiento indeseado (por ejemplo, chapoteo, salpicadura, etc.) del contenido de la caja de cultivo.

5 En una forma de realización, el conjunto de caja de cultivo 10 tiene un indicador de la orientación para indicar una orientación preferida de la tapa 14 con relación a la caja de cultivo 12. En algunas aplicaciones, la tapa 14 puede ser quitada o separada de otro modo de la caja de cultivo 12 una o más veces durante la utilización. Por ejemplo, cuando el medio de cultivo se quita o se añade a la caja de cultivo 12, la tapa 14 típicamente se quita de la caja de cultivo 12 y después a continuación se coloca devuelta sobre la caja de cultivo 12. En tales aplicaciones, puede ser deseable ubicar la tapa 14 con relación a la caja de cultivo 12 en la misma orientación antes y después de quitarla. 10 Con este propósito, la caja de cultivo 12 puede incluir una primera señal de orientación y la tapa 14 puede incluir una segunda señal de orientación de tal modo que cuando la primera señal de orientación se ubica con relación a la segunda señal de orientación, la tapa 14 se puede colocar en la caja de cultivo 12 en una orientación previamente determinada fija. A título de ejemplo, en una forma de realización como se representa en las figuras 1 y 4, la caja de cultivo 12 puede incluir dos nervios separados relativamente próximos 76 y la tapa 14 puede incluir dos nervios correspondientes separados relativamente próximos 78 de tal modo que los nervios 76, 78 se puedan alinear para orientar la tapa 14 con relación a la caja de cultivo 12 (figura 1). En una forma de realización, los dos nervios 76 pueden estar formados en una pared lateral 18 de la caja de cultivo 12 y los dos nervios 71 ocho pueden estar formados en la superficie exterior 64 de la pared superior 36. La alineación de los nervios 78 con los nervios 76 asegura que la tapa 14 pueda ser devuelta a su correspondiente caja de cultivo 12 en su posición original en cada extracción de la misma. 20

Se debe reconocer que las señales en la caja de cultivo 12 pueden estar colocadas en otras ubicaciones en la caja de cultivo 12. De forma similar, las señales en la tapa 14 pueden estar colocadas en otras ubicaciones en la tapa 14. Las ubicaciones, sin embargo, se deben seleccionar de modo que sean rápidamente visibles para facilitar la orientación de la tapa 14 con relación a la caja de cultivo 12. Adicionalmente se debe reconocer que las señales en la caja de cultivo 12 y la tapa 14 pueden incluir uno o más de letras, números, símbolos o bien otras combinaciones de los mismos (por lo tanto, la utilización de (múltiples) nervios 76,78 anterior es a título de ejemplo y no limitativa). En una forma de realización, el conjunto de caja de cultivo 10 puede incluir múltiples señales de acoplamiento. Por ejemplo, además de los nervios 76,78, la caja de cultivo 12 puede incluir un nervio individual 80 que esté separado con relación a (por ejemplo, alineado con) un nervio individual 82 en la tapa 14 para proveer una indicación adicional de la orientación entre ellas. 25 30

En una forma de realización, el conjunto de caja de cultivo 10 tiene una señal 84 para la identificación de los compartimientos 22a – 22d en el interior de la caja de cultivo 12 (figuras 1 y 2). En una forma de realización, la señal 84 puede estar ubicada en la superficie interior 25 de la pared del fondo 16 y puede incluir uno o más de letras, números, símbolos o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, como se ilustra en la figura 2, los compartimientos 22a – 22d pueden estar identificados con señales A, B, C, D. Se debe reconocer que son posibles otras señales y que las señales pueden estar colocadas en otras ubicaciones que permitan a un usuario identificar un compartimiento particular. 35 40

La caja de cultivo 12 y la tapa 14 descritas pueden estar fabricadas mediante diversos procesos de moldeo, tales como procesos de moldeo por inyección, como es generalmente conocido en la técnica. Materiales adecuados para la caja de cultivo 12 incluyen, pero no están limitados a ellos, poliestireno, estireno acrilonitrilo (SAN), estireno-anhídrido maleico (SMA), copolímeros de olefinas cíclicas (COC), policarbonato, acrílico, aleaciones de cloruro de polivinilo acrílico, polipropileno, copolímeros de polipropileno, polisulfona, polimetilpentano, celulósicos y otros materiales compatibles con el cultivo de células. En una forma de realización, la caja de cultivo 12 y la tapa 14 pueden ser desechables después de la utilización, por lo tanto el coste del material puede ser un factor en la determinación de un material adecuado. La caja de cultivo 12 y la tapa 14 no tienen que estar fabricadas del mismo material. La caja de cultivo 12 y la tapa 14 pueden ser enteramente transparentes o partes de las mismas pueden ser traslúcidas u opacas. En una forma de realización, por ejemplo, por lo menos una parte principal de la pared del fondo 16 de la caja de cultivo 12 puede ser transparente. 45 50

La pared de barrera 24, tal como por ejemplo los bloques de barrera 28, puede estar moldeada como una característica maciza o moldeada para que tenga aproximadamente el mismo grosor que la pared del fondo 16 de la caja de cultivo 12 a fin de proveer un calentamiento y enfriamiento más uniforme del material de la caja, manteniendo de ese modo temperaturas más uniformes a través de la caja de cultivo 12. Alternativamente, la pared de barrera 24 puede estar moldeada como características macizas y después perforadas o bien vaciadas físicamente o mecánicamente para que tenga aproximadamente el mismo grosor que la pared del fondo 16 de la caja de cultivo 12. Aquellos normalmente expertos en la técnica reconocerán otros procedimientos de procesamiento, tanto durante la formación de la caja de cultivo 12 como a través de procedimientos de procesamiento posteriores, para proveer un grosor relativamente uniforme a la pared del fondo 16 y la pared de barrera 24. 55 60

Después de que se forma la caja de cultivo 12, se puede procesar adicionalmente para mejorar la fijación o el crecimiento de las células, como es generalmente conocido en la técnica. Por ejemplo, descarga de corona atmosférica, descarga luminiscentia de corriente continua o tratamiento de plasma de radiofrecuencia se pueden 65

- 5 utilizar para cambiar las propiedades superficiales de las superficies interiores, o se pueden aplicar recubrimientos especializados a una o más superficies o zonas, como es generalmente conocido en la técnica. Ejemplos de tratamientos o procesos de este tipo incluyen, pero no están limitados a ellos, aquellos que enseñan las patentes americanas U.S. No. 4,452,679 de Dunn y otros, U.S. No. 4,919,659 de Horbett y otros, U.S. No. 4,927,676 de Williams y otros, U.S. No. 5,051,312 de Allmer, U.S. No. 5,308,704 de Suzuki y otros, U.S. No. 5,449,383 de Chatelier y otros, y U.S. No. 6,617,152 de Bryhan y otros, todas las cuales se incorporan como referencia a este documento en su integridad. Alternativamente, sin embargo, la caja de cultivo 12 puede estar provista sin alteración adicional de la superficie interior.
- 10 El conjunto de caja de cultivo 10 puede ser utilizado para el cultivo de células en gran medida del mismo modo que las cajas de bioensayo normales excepto en que el medio de cultivo o bien otros reactivos líquidos pueden ser introducidos con la pipeta, vertidos o añadidos de otro modo o extraídos del uno o más canales 32 provistos en la caja de cultivo 12 como se ha descrito antes en este documento. También, se pueden cultivar múltiples bióticos en el interior de un conjunto de caja de cultivo individual 10, como está provisto mediante las formas de realización con compartimientos separados (por ejemplo, 22a – 22d). Múltiples conjuntos de cajas de cultivo con tapas (por ejemplo, 10, 10') se pueden apilar, como se representa en la figura 6 para contenerlas en el interior de una incubadora, una cámara de cultivo o bien otra cámara de procesamiento, conjunto de transporte, etcétera.
- 15

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (10, 10') para el cultivo de un biótico en un medio de cultivo, el dispositivo comprendiendo:
- 5 una caja de cultivo (12) que incluye una pared del fondo (16) y por lo menos una para el lateral (18a – 18d) que se prolonga desde la misma para definir una cavidad interior (20) la pared del fondo siendo globalmente plana y estando configurada para sostener el biótico en su interior;
- 10 por lo menos una pared de barrera (24) para la división de la cavidad interior en una pluralidad de compartimientos (22a – 22d), la por lo menos una pared de barrera estando provista de una altura configurada para mantener un primer biótico en un primer compartimiento separado de un segundo biótico en un segundo compartimiento; y
- 15 un par de aristas separadas (34) formadas una al lado de la otra en la pared del fondo y que se extienden en una dirección común para definir un canal alargado (32) entre los compartimientos primero y segundo, las aristas estando provistas de una altura suficiente para amortiguar el movimiento de un medio de cultivo de modo que se reduzcan las perturbaciones del fluido de los bióticos durante la utilización, la altura de las aristas siendo menor que la altura de la por lo menos una pared de barrera.
2. El dispositivo de la reivindicación 1 en el que la por lo menos una pared de barrera incluye un orificio (30) para proveer comunicación fluida entre el primer compartimiento y el segundo compartimiento.
3. El dispositivo de la reivindicación 1 en el que la por lo menos una pared de barrera incluye una pluralidad de bloques de barrera discretos (28) que incluyen un espacio (30) entre bloques adyacentes para proveer comunicación fluida.
- 25 4. El dispositivo de la reivindicación 1 en el que el por lo menos un canal está en comunicación fluida con cada uno de la pluralidad de compartimientos.
5. El dispositivo de la reivindicación 1 adicionalmente comprendiendo una pluralidad de señales (84) para la identificación de un compartimiento respectivo en la caja de cultivo.
- 30 6. El dispositivo de la reivindicación 1 adicionalmente comprendiendo una tapa (14) adaptada para ser acoplada de forma que se pueda quitar a la caja de cultivo para cubrir por lo menos parcialmente la cavidad interior, la tapa incluyendo una pared superior (36) y por lo menos una pared el lateral (38a – 38d) que se prolonga desde la misma.
- 35 7. El dispositivo de la reivindicación 6 adicionalmente comprendiendo una primera prolongación (66) en la caja de cultivo y una segunda prolongación (70) en la tapa de tal modo que cuando múltiples dispositivos están en una configuración apilada, la primera prolongación en un dispositivo coopera con la segunda prolongación en un dispositivo adyacente para limitar el movimiento de un dispositivo con relación al dispositivo adyacente.
- 40 8. El dispositivo de la reivindicación 6 adicionalmente comprendiendo un primer indicador de orientación (76, 78, 80, 82) para indicar una orientación específica de la tapa con relación a la caja de cultivo.
- 45 9. El dispositivo de la reivindicación 8 en el que el primer indicador de orientación adicionalmente comprende: una primera señal de orientación (76, 80) en una de ambas, la caja de cultivo o la tapa; y una segunda señal de orientación (78,82) en la otra de ambas, la caja de cultivo o la tapa, en el que en la alineación de la primera señal de orientación con la segunda señal de orientación provee la orientación específica de la tapa con relación a la caja de cultivo.
- 50 10. El dispositivo de la reivindicación 1 en el que el por lo menos un canal se extiende a través sustancialmente de la dimensión entera de la pared del fondo.
- 55 11. El dispositivo de la reivindicación 1 comprendiendo múltiples canales en la pared del fondo.
12. El dispositivo de la reivindicación 1 en el que el por lo menos un canal incluye un par de aristas separadas globalmente paralelas.
- 60

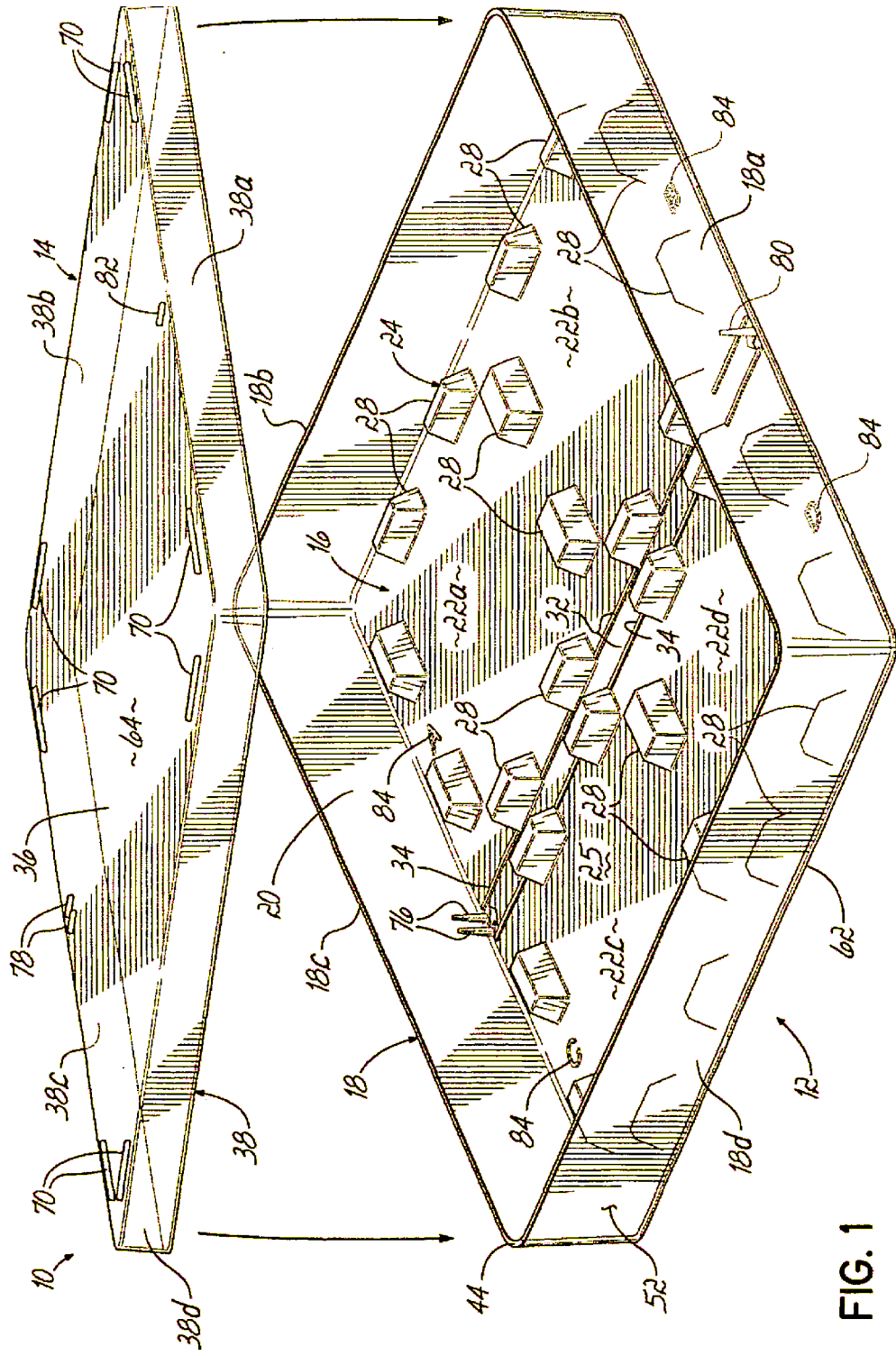
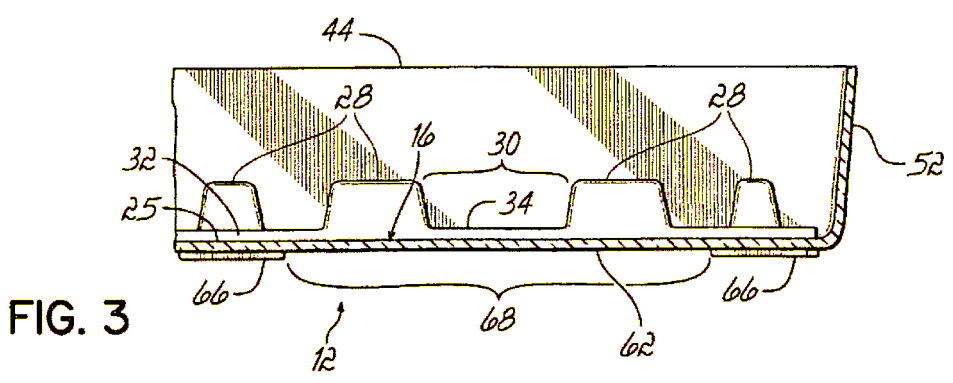
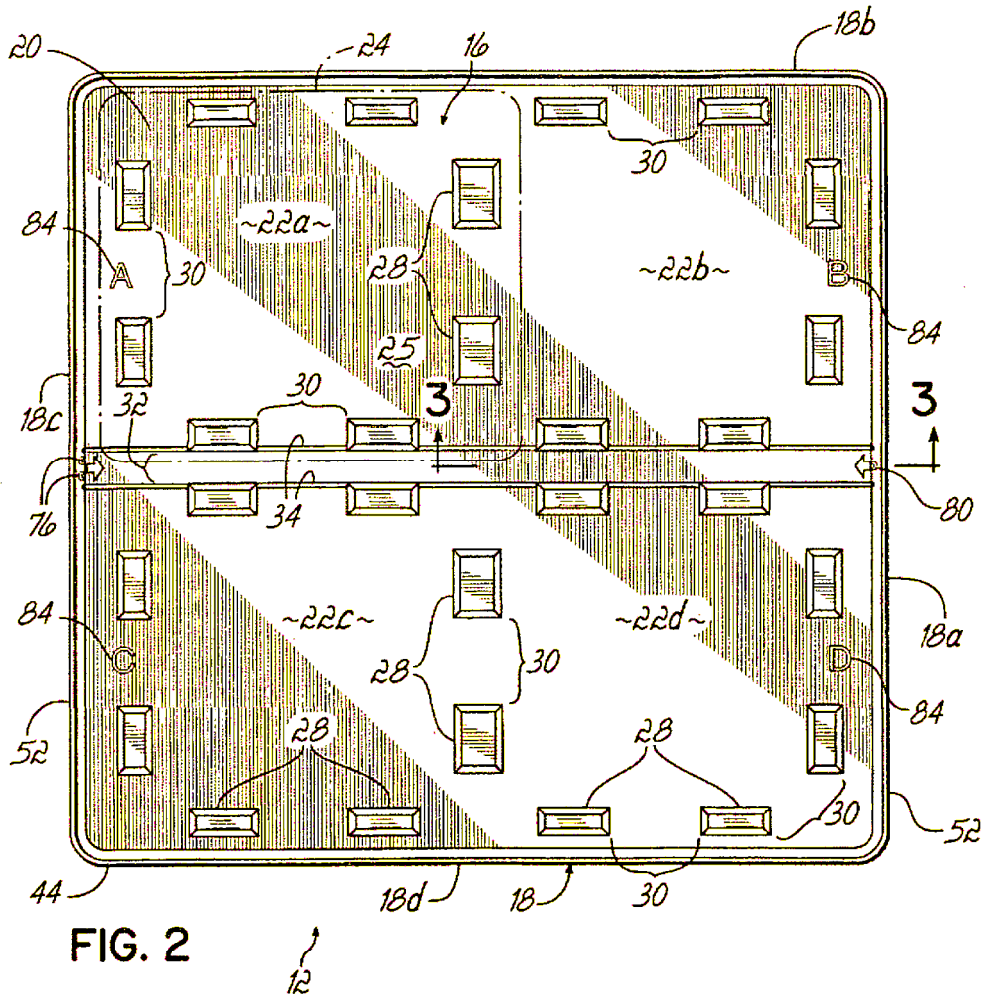
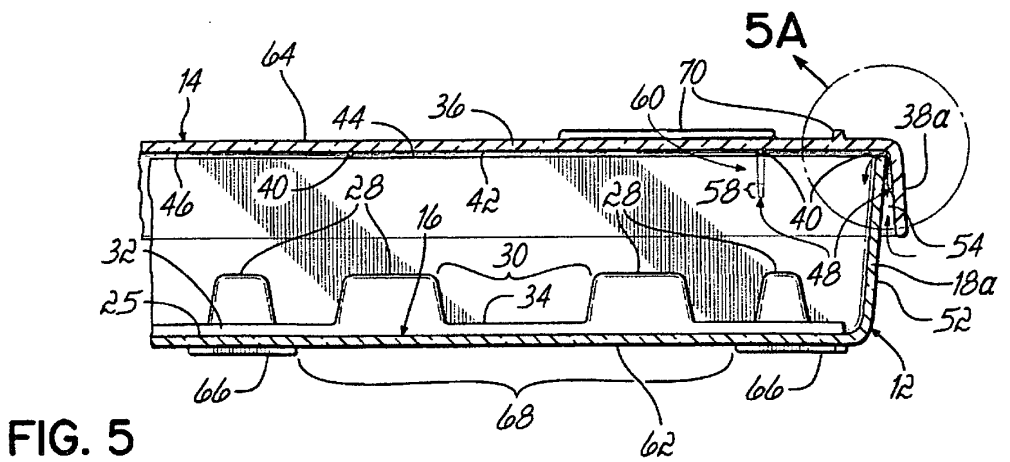
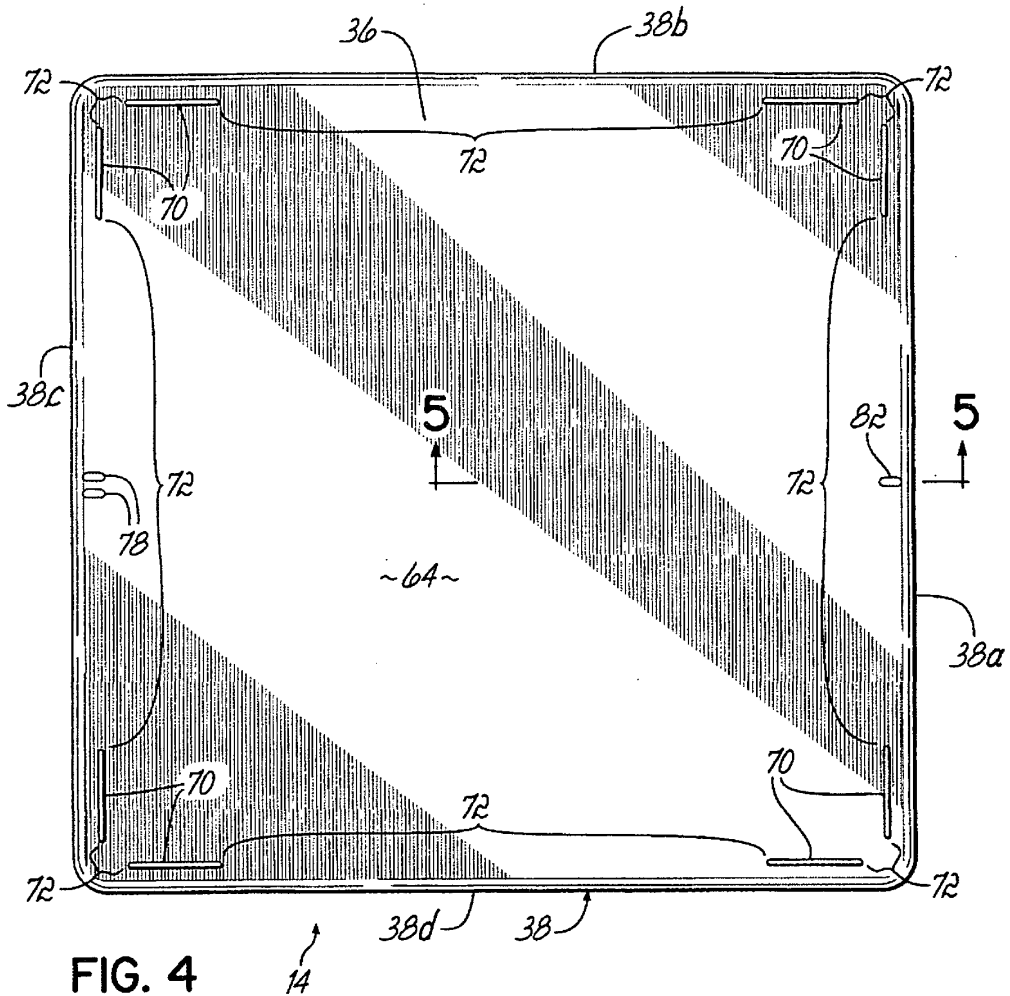


FIG. 1





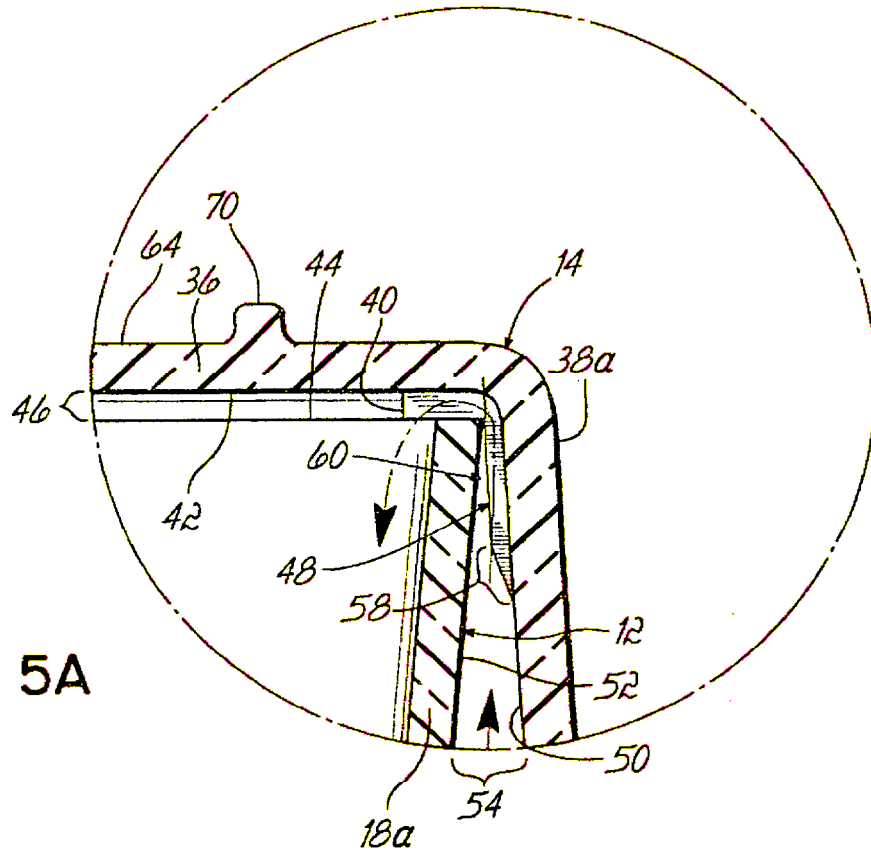


FIG. 5A

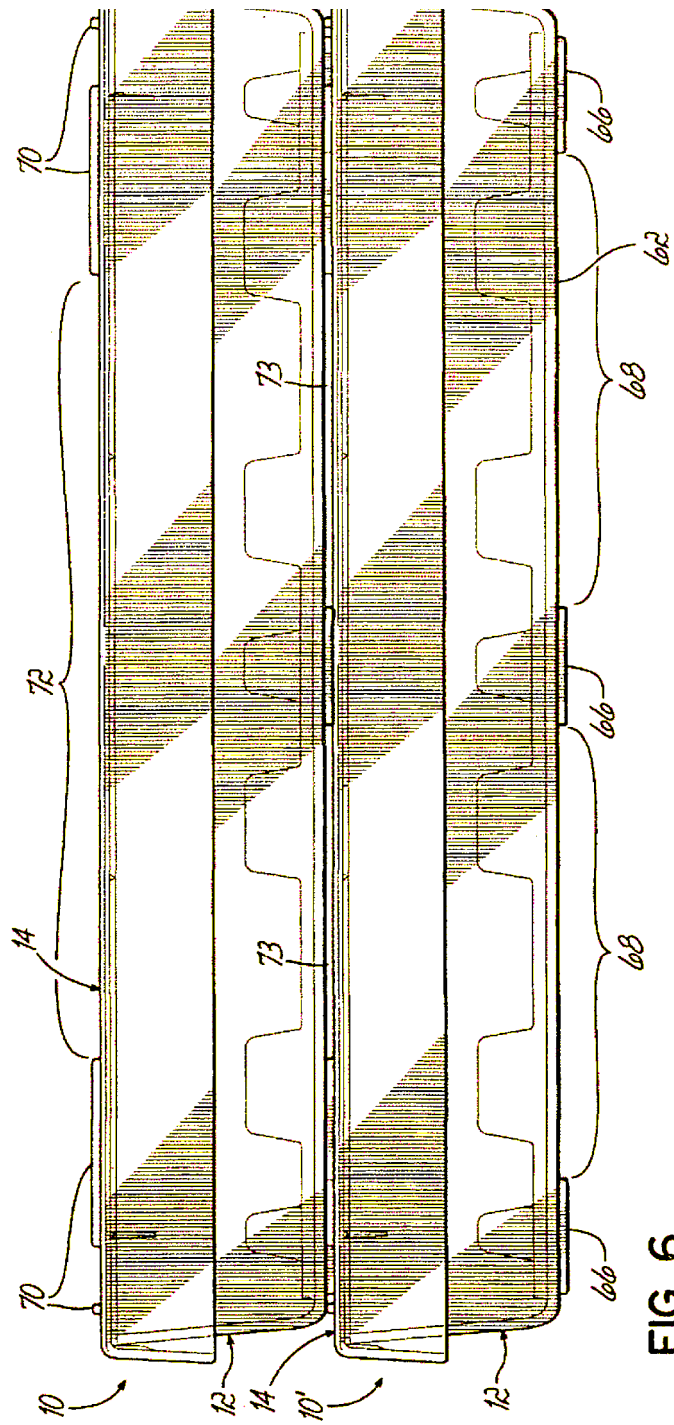


FIG. 6