

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 064**

51 Int. Cl.:

C12M 3/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2009 E 09745233 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2012 EP 2352813**

54 Título: **Aparato y métodos para procesar tejidos con el fin de liberar células**

30 Prioridad:

03.11.2008 US 263984
20.03.2009 US 407946

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.03.2013

73 Titular/es:

BAXTER INTERNATIONAL INC. (50.0%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015-4633, US y
BAXTER HEALTHCARE SA (50.0%)

72 Inventor/es:

MIN, KYUNGYOON

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 397 064 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

Aparato y métodos para procesar tejidos con el fin de liberar células.

Campo técnico

La presente invención se refiere en general a un aparato y a métodos para procesar tejidos con el fin de obtener células.

5 Antecedentes de la invención

Con frecuencia en aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico o de investigación se utiliza material biológico. Sin embargo, puede ser preferible que dicho material esté separado del tejido del que procede antes de su uso en estas aplicaciones. Por ejemplo, las células madre pueden proceder de diversos tipos de tejido, incluyendo tejido adiposo, músculo y sangre. Puede ser deseable separar las células madre del o de los tejidos antes de someterlas a un posterior procesamiento para su introducción en pacientes o para su uso en otras aplicaciones.

10

Para separar el material biológico del tejido, es frecuente someter el tejido a un proceso de disgregación o disociación. El proceso de disgregación tisular puede implicar medios mecánicos, tales como homogeneización y sonicación. En muchos casos, puede implicar también el uso de reactivos tales como enzimas que digieran, disuelvan o alteren la estructura del tejido para lograr la liberación del material deseado. Por ejemplo, para obtener células madre de tejido adiposo puede añadirse una solución enzimática, como de colagenasa, para digerir el componente tisular conjuntivo del tejido adiposo, liberando así las células madre deseadas. El uso de enzimas tales como la colagenasa puede requerir el control de la temperatura, del pH y de otras variables durante el proceso de disgregación del tejido.

15

Después o incluso durante la disgregación del tejido, el material deseado puede someterse a diversas etapas de purificación, que pueden incluir métodos de filtración, centrifugación y afinidad. Los documentos EP 0984060 A2 y EP 0512769 A2 describen dispositivos y métodos para la disgregación de tejidos y el aislamiento de células grasas o endoteliales. Sigue existiendo la necesidad de aparatos y métodos para procesar tejidos, incluyendo las etapas de disgregación y purificación, para obtener materiales biológicos que incluyan células.

20

Sumario de la invención

En un aspecto, la presente invención está dirigida a un aparato para procesar tejidos con el fin de liberar células del mismo. El aparato incluye una primera carcasa, que presenta una pared exterior de una forma determinada. La primera carcasa está adaptada para recibir una muestra de tejido. La pared exterior de la primera carcasa es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente del tejido. El aparato incluye también una segunda carcasa, que encierra, al menos en esencia, la primera carcasa y presenta una pared exterior de una forma seleccionada y que está separada de la pared exterior de la primera carcasa, definiendo así un hueco entre ambas, donde el hueco entre la pared exterior de la primera carcasa y la pared exterior de la segunda carcasa tiene o bien una anchura uniforme o bien una anchura que varía de forma continua. Al menos una de las carcasas primera y segunda puede moverse en relación con la otra de las carcasas primera y segunda para ayudar al procesamiento del tejido en la primera carcasa y al paso a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa del material, incluyendo células, procedente del tejido.

25

30

En una realización, la pared exterior tiene una forma seleccionada que, en esencia, es igual a la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa o que varía de manera continua en relación con la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa. Además, las carcasas primera y segunda están dispuestas forman un ángulo inferior a 90° con relación a un plano horizontal y la primera carcasa puede moverse en relación con la segunda carcasa para ayudar a mover un fluido sobre el tejido en la primera carcasa.

35

La invención está dirigida también a métodos para procesar tejidos. En un ejemplo, el procesamiento del tejido puede incluir la liberación de células del mismo. En este ejemplo, una muestra de tejido que contiene células se introduce en una primera carcasa. La primera carcasa presenta una pared exterior, que tiene una forma seleccionada y es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido. La primera carcasa está encerrada, al menos en esencia, en una segunda carcasa que presenta una pared exterior de una forma seleccionada que es esencialmente similar a la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa o que varía de manera continua en relación con la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa. El procesamiento incluye además la introducción de agentes de liberación de tejido en al menos una de las carcasas. El procesamiento incluye también mover al menos una de las carcasas primera y segunda en relación con la otra de las carcasas primera y segunda para procesar la muestra de tejido y para hacer pasar, a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa, el material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido.

40

45

50

Breve descripción de las figuras

Fig. 1: vista esquemática en sección transversal de un ejemplo de aparato para procesar tejido;

Fig. 2a: vista en perspectiva de un ejemplo de aparato para procesar tejido;

Fig. 2b: vista en perspectiva con un corte transversal parcial del ejemplo mostrado en la Fig. 2a;

Fig. 2c: despiece del aparato de la Fig. 2a;

Fig. 3a: vista en perspectiva de otro ejemplo de aparato para procesar tejido;

Fig. 3b: vista en perspectiva con un corte transversal parcial del ejemplo mostrado en la Fig. 3a;

5 Fig. 3c: despiece del aparato mostrado en la Fig. 3a;

Fig. 4a: vista en perspectiva de otro ejemplo de un aparato para procesar tejido;

Fig. 4b: despiece del aparato mostrado en la Fig. 4a;

Fig. 5: vista en sección transversal parcial del aparato para procesar tejido de la Fig. 4a;

Fig. 6: diagrama de flujo esquemático de ejemplos de etapas para procesar tejido;

10 Fig. 7: vista esquemática en sección transversal de otro ejemplo de un aparato para procesar tejido que emplea un agitador.

Descripción detallada de la invención

15 Aunque aquí se describen ejemplos detallados, debe entenderse que estos ejemplos tienen sólo fines ilustrativos y que diversos aspectos y características aquí descritos pueden tener utilidad solos o en combinación con otras características o aspectos de una manera distinta a la mostrada explícitamente, que será evidente para el técnico medio en la materia.

El objeto de la presente solicitud está dirigido, en general, a un aparato y a un método para procesar tejido con el fin de obtener material biológico. En un ejemplo preferente, el aparato se usa para procesar tejido adiposo con el fin de liberar células, en particular células madre.

20 En la figura 1 se muestra, en una vista esquemática en sección transversal, con la referencia global 10, un aparato para procesar tejidos conforme a la presente descripción. El aparato incluye una primera carcasa 12 con una pared exterior 22. La pared exterior tiene una superficie interior 22a y una superficie exterior 22b. La primera carcasa 12 está adaptada para recibir una muestra de tejido 16. El aparato 10 incluye también una segunda carcasa 18, con un tamaño tal que la primera carcasa 12 queda en esencia situada dentro de o encerrada por la segunda carcasa 18. La segunda carcasa 18 incluye una pared exterior 19 con una superficie interior 19a y una superficie exterior 19b.

25 Al menos una parte de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 es porosa. La parte porosa de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 permite que el material deseado pase a su través, mientras que otros materiales no deseado quedan retenidos en la primera carcasa. Por ejemplo, durante un proceso de disgregación, pueden liberarse células 20 de la muestra de tejido 16 y éstas pueden pasar desde el interior de la primera carcasa 12 a través de los poros de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12, mientras que los fragmentos de tejido de mayor tamaño 24 pueden quedar retenidos en la primera carcasa 12. Las células 20 que pasan a través de la parte porosa de la pared exterior de la primera carcasa 12 pueden entrar en un espacio o hueco 26 entre las carcasas primera y segunda 12, 18.

30 En un ejemplo, las paredes exteriores 22, 19 de las carcasas primera y segunda 12, 18 tienen en esencia la misma forma. Más en concreto, la superficie interior 19a de la pared exterior 19 de la segunda carcasa 18 (en la realización mostrada) es en esencia cilíndrica y la superficie exterior 22b de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 es también en esencia cilíndrica, definiendo un hueco 26 entre ellas. Las carcasas primera y segunda pueden ser coaxiales, definiendo así un hueco con una anchura 26a en esencia uniforme entre ellas. Como alternativa, si se desea, los ejes respectivos pueden estar desplazados para definir un hueco de anchura variable. Asimismo, aunque el conjunto mostrado emplea carcasas que son cilíndricas, no es forzosamente necesario que una de ellas o ambas tengan esta forma cilíndrica.

35 Los diámetros exterior e interior, respectivamente, de las paredes 22, 19 de las carcasas primera y segunda 12, 18 se eligen de manera que la superficie interior 19a de la segunda carcasa 18 circunscriba la superficie exterior 22b de la primera carcasa 12. En otras palabras, las superficies interior y exterior 19a y 22b están dispuestas una frente a la otra y definen el hueco 26 entre ellas, es decir entre las paredes exteriores de las carcasas primera y segunda. La anchura del hueco puede elegirse adecuada a la separación deseada o a la cantidad de fluido de disociación a utilizar y para crear o limitar, según se desee, fuerzas de cizallamiento o turbulencias en el interior del hueco. Por ejemplo, en un ejemplo en la Fig. 1, aunque no esté dibujado a escala, la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 puede ser cilíndrica, como se muestra, y tener un diámetro exterior entre aproximadamente 10 cm y aproximadamente 12 cm. A su vez, la pared exterior 19 de la segunda carcasa 18 puede ser cilíndrica y tener un diámetro interior entre aproximadamente 12 cm y aproximadamente 15 cm. También a modo de ejemplo, el hueco 26 entre la superficie exterior 22b de la pared 22 de la primera carcasa 12 y la superficie interior 19a de la pared 19 de la segunda carcasa 18 puede tener una anchura 26a dentro de un margen entre aproximadamente 1 cm y aproximadamente 2,5 cm. Esto puede corresponder a un ejemplo

de aparato con capacidad para recibir aproximadamente 500 ml de tejido dentro de la primera carcasa 12 y una capacidad total de aproximadamente 700 ml dentro de la segunda carcasa 18.

Como se ha indicado anteriormente, preferentemente las carcasas primera y segunda 12, 18 comparten un eje longitudinal común y con unas formas correspondientes adecuadas, en esencia similares, puede crearse un hueco 26 básicamente uniforme entre la superficie exterior 22b de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 y la superficie interior 19a de la pared exterior 19 de la segunda carcasa 18. Sin embargo, como puede entenderse, existe la alternativa de que las carcasas no compartan un eje común, en cuyo caso la anchura 26a del hueco no sería uniforme, sino que variaría de manera continua alrededor del dispositivo. Además, para longitudes preseleccionadas de las carcasas, un hueco 26 más pequeño resultará en una separación menor con un volumen relativo menor. Por consiguiente, una menor anchura 26a del hueco entre la superficie exterior 22b de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 y la superficie interior 19a de la pared exterior 19 de la segunda carcasa 18 requerirá un menor volumen de las soluciones utilizadas para procesar el tejido, potencialmente caras, con el fin de sumergir la muestra de tejido completamente, incluso para la disgregación del mismo. Así pues, pueden requerirse menores cantidades de reactivos de disgregación, tales como enzimas, lo que puede suponer una ventaja en cuanto al coste.

Además, la anchura del hueco y la velocidad de rotación relativa de la o las carcasas pueden elegirse por razones de dinámica/procesamiento de fluidos. Por ejemplo, una menor anchura 26a del hueco puede, para un cierto diámetro o una cierta velocidad de rotación relativa entre las carcasas 12 y 18, aumentar las fuerzas de cizallamiento o inducir una turbulencia, por ejemplo vórtices, dentro del hueco, que afectan al fluido. Esto puede ayudar a asegurar la mezcla más completa de reactivos y tejido durante el procesamiento o mejorar el paso de las células a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa. También pueden lograrse mayores fuerzas de cizallamiento con una mayor velocidad de rotación relativa, por ejemplo si la primera carcasa gira a una mayor velocidad mientras la segunda carcasa no gira, o viceversa, o si ambas carcasas giran en direcciones opuestas, produciendo una mayor diferencia de velocidad de rotación relativa entre las dos carcasas. Igualmente, si se desea someter el tejido o las células más frágiles a fuerzas de cizallamiento de fluido menores, puede elegirse una mayor anchura 26a del hueco determinando los diámetros relativos de las paredes exteriores 22, 19 de las carcasas primera y segunda 12, 18 y/o utilizando una menor velocidad de rotación relativa.

Además, la anchura del hueco entre las carcasas primera y segunda puede variar en dirección axial. Así, por ejemplo, si se trabaja con un tejido más ligero, por ejemplo tejido adiposo, la anchura del hueco puede ser mayor o menor en un extremo del aparato. Más en concreto, la primera carcasa puede tener una pared exterior con un diámetro exterior mayor en la parte superior de la primera carcasa que en su parte inferior, adoptando así la forma de un cono truncado. El diámetro exterior de la primera carcasa puede ser, por ejemplo, entre 0,5 cm y 1,25 cm mayor en la parte superior que en la parte inferior, variando su forma de manera continua, mientras que la segunda carcasa puede tener una pared exterior con un diámetro constante, presentando así una forma interior cilíndrica. Esto crearía un hueco más pequeño más cerca de la parte superior del aparato y, en potencia, crearía mayores fuerzas de cizallamiento en dicho lugar para ayudar al procesamiento de las células adiposas, más ligeras, que tienden a flotar o a acumularse de otra manera en la zona superior. Tal hueco más pequeño más cerca de la parte superior del aparato puede lograrse también con una primera carcasa con una pared exterior cilíndrica y una segunda carcasa con una pared exterior con forma de cono truncado, siendo el diámetro más pequeño en la parte superior de la segunda carcasa que en su parte inferior.

Para procesar ciertos tejidos puede ser deseable, a una velocidad de rotación dada, generar fuerzas de cizallamiento mayores más cerca de la parte inferior del aparato. En tales casos, esto puede lograrse si, por ejemplo, la primera carcasa presenta una pared exterior con forma de cono truncado, con un diámetro exterior más pequeño en la parte superior de la primera carcasa que en su parte inferior, mientras que la segunda carcasa presenta una pared exterior con una forma interior cilíndrica, de diámetro constante. El hueco más grande más cerca de la parte superior del aparato produciría potencialmente menores fuerzas de cizallamiento en dicho lugar con relación a las mayores fuerzas de cizallamiento generadas más cerca de la parte inferior del aparato. Tal hueco más pequeño más cerca de la parte inferior del aparato puede lograrse también con una primera carcasa que presente una pared exterior cilíndrica y una segunda carcasa que presente una pared exterior con un diámetro variable, por ejemplo una forma de cono truncado con un diámetro mayor en la parte superior de la segunda carcasa que en su parte inferior.

Como puede apreciarse, en el diseño del aparato pueden seleccionarse tanto la velocidad de rotación como el hueco entre las carcasas para procedimientos de procesamiento concretos, con el fin de lograr las fuerzas de cizallamiento deseadas que impidan el taponamiento de los poros de la pared exterior de la primera carcasa y ayuden a producir la disociación del tejido.

A la hora de construir el aparato, las carcasas primera y segunda 12, 18 pueden fabricarse en uno o más de diversos materiales, incluyendo materiales desechables. En un ejemplo preferente, las carcasas están fabricadas también en materiales que las hagan sustancialmente rígidas. Entre estos materiales se incluyen vidrio, plástico y metal y/o combinaciones de los mismos. En un ejemplo, la segunda carcasa puede estar compuesta, al menos en parte, por un material relativamente transparente, que permita ver el espacio encerrado por la segunda carcasa, incluyendo la primera carcasa.

En un ejemplo de aparato, la parte porosa de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 puede estar formada por un panel de malla. El panel de malla puede incluir una lámina moldeada con aberturas, una membrana no tejida o una

estructura en tela de araña o en red con hilos de uno o más materiales tejidos entre sí formando una estructura porosa. Materiales útiles para este aparato pueden ser aquellos del tipo descrito en las patentes US nº 6.491.819, 5.194.145, 6.497.821 o en la solicitud US publicada nº 20050263452. Los materiales del panel de malla pueden estar revestidos con materiales que impidan al tejido, a las células, a las moléculas o a los reactivos adherirse a o reaccionar químicamente con la pared exterior 22. La parte porosa, por ejemplo, puede incluir hilo metálico tejido y revestido con teflón. Independientemente de su o sus formas respectivas, los poros de la pared exterior 22 pueden tener un tamaño tal que sea equivalente a estar entre aproximadamente 5 µm y aproximadamente 3.000 µm de diámetro. En un ejemplo preferente, el tamaño de los poros es el equivalente a tener aproximadamente 200 µm o más de diámetro. Adicionalmente, la superficie interior 22a y la superficie exterior 22b de la pared exterior 22 de la primera carcasa 12 pueden estar modificadas de manera que los agentes de procesamiento o purificación tisular estén unidos o incorporados a los materiales de la pared exterior 22.

En varios ejemplos, al menos una de las carcasas primera y segunda 12, 18 puede ser móvil para ayudar al procesamiento del tejido y al paso de material, por ejemplo células, a través de la pared exterior porosa 22 de la primera carcasa 12. Las carcasas pueden sacudirse, girarse, agitarse o moverse de otro modo, según se desee. El movimiento de una o de ambas carcasas puede impedir, por ejemplo, que se adhieran fragmentos de tejido 24 a la primera carcasa 12 y puede también facilitar la distribución uniforme del o de los agentes de liberación tisulares por toda la muestra de tejido.

En un ejemplo, la primera carcasa se hace girar con relación a la segunda carcasa. La velocidad de rotación puede ser, por ejemplo, de aproximadamente una revolución por segundo. Sin embargo, se entiende que pueden elegirse otras velocidades según se desee. Tal acción de rotación puede utilizarse para aumentar la velocidad de cizallamiento entre la pared exterior porosa 22 de la primera carcasa 12 y el líquido en el interior del espacio 26, con el fin de impedir el taponamiento de la pared exterior porosa 22 con la parte sólida del tejido o de otros materiales utilizados en el procesamiento. Así, la velocidad de rotación puede variar para lograr la velocidad de cizallamiento deseada en la superficie de la pared exterior porosa 22 de la primera carcasa 12. Aunque puede ser preferible una rotación continua de una carcasa en relación con la otra, también puede utilizarse una oscilación rotacional o una variación de la velocidad y/o de la dirección de rotación de una carcasa en relación con la otra para aumentar la velocidad o el grado de disociación.

En algunos ejemplos, el movimiento de las carcasas puede realizarse instalando las carcasas en un dispositivo no perecedero o reutilizable, con una base subyacente que puede incluir dispositivos, por ejemplo uno o más motores, adaptados para interactuar con y mover las carcasas. La base puede incluir también dispositivos para controlar y vigilar la temperatura, el pH y otras variables.

Con referencia ahora a las Fig. 2a-2c, donde se muestra un ejemplo de un aparato para procesar tejido en tres vistas, el aparato 28 incluye una primera carcasa 30, que incorpora una pared exterior porosa 32 con una superficie interior 32a y una superficie exterior 32b. Aunque la pared exterior 32 de la primera carcasa 30 se muestra como si fuera casi enteramente porosa en este ejemplo, la pared puede ser porosa sólo en parte, según se desee. También en este ejemplo, la pared exterior 32 de la primera carcasa 30 es esencialmente cilíndrica. El tamaño de los poros de la pared 32 se elige, por ejemplo, dentro de los márgenes arriba indicados, para permitir el paso de un material biológico deseado, por ejemplo células procedentes del tejido que se ha colocado en la primera carcasa 30. Como se muestra en este ejemplo, la primera carcasa 30 está encerrada por una segunda carcasa 36. La segunda carcasa 36 incluye una pared exterior 37 con una superficie interior 37a y una superficie exterior 37b. La pared exterior 37 también es esencialmente cilíndrica y, por tanto, tiene la misma forma que la pared exterior 32 de la primera carcasa 30. Puede existir un espacio o hueco 38 definido entre la superficie exterior 32b de la pared 32 de la primera carcasa y la superficie interior 37a de la pared 37 de la segunda carcasa, que miran en direcciones opuestas. Los diámetros respectivos de las paredes exteriores 32, 37 de las carcasas 30, 36 y la anchura relativa 38a del hueco entre la superficie exterior 32b de la pared exterior 32 de la primera carcasa 30 y la superficie interior 37a de la pared exterior 37 de la segunda carcasa 36 están preferentemente dentro de los márgenes indicados más arriba con respecto al ejemplo de la Fig. 1, pero pueden variarse como se desee para el proceso previsto. Además, las carcasas primera y segunda 30, 36 pueden ser desmontables para facilitar el procesamiento, la limpieza o con otros fines. En el ejemplo mostrado en las Fig. 2a-2c, las carcasas primera y segunda 30, 36 pueden tener unas tapas o cubiertas 39, 40 que se ajusten a la abertura superior de las carcasas respectivas. Las tapas pueden sellar el contenido del aparato 28 en relación al entorno exterior. Las tapas o cubiertas 39, 40 pueden ser de quita y pon para facilitar la colocación o la retirada de tejido o para permitir de otro modo el acceso al contenido de las carcasas cuando se desee. La parte inferior de cada carcasa puede incluir también una tapa o cubierta (no mostrada), o la pared exterior de cada carcasa puede prolongarse para formar una pared o superficie inferior.

Como se ha indicado anteriormente, las carcasas primera y segunda pueden adaptarse para que encajen en una estructura base 42. La base 42 puede incluir un motor para sacudir, girar o mover de otro modo la primera carcasa 30 en relación con la segunda carcasa 36, con el fin de agitar como mínimo una de las carcasas y facilitar la disgregación del tejido y la liberación de células de una muestra tisular. La estructura base puede incluir también dispositivos para controlar y vigilar la temperatura, el pH u otras variables adecuadas. Las carcasas y la base asociada pueden emplear los principios y las estructuras ilustrados en la patente US nº 5.194.145, donde una rotación relativa entre las carcasas

interiores y exteriores crea una fuerza de cizalladura para aliviar el taponamiento dentro del dispositivo con el fin de mejorar la filtración.

5 Las Fig. 3a-3c ilustran otro ejemplo de un aparato 44 según la invención. Igual que en los ejemplos anteriores, una primera carcasa 46 presenta una pared exterior 48 adaptada para recibir una muestra de tejido. La pared exterior 48 incluye una superficie interior 48a y una superficie exterior 48b y, de acuerdo con los ejemplos anteriores, es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido y preferentemente retener al mismo tiempo el material no deseado. La primera carcasa 46 está encerrada por una segunda carcasa 50, que presenta una pared exterior 51 incluyendo una superficie interior 51a y una superficie exterior 51b.

10 Las carcasas primera y segunda pueden tener tapas o cubiertas 52, 54, respectivamente, y paredes exteriores de forma similar, en este ejemplo de cono truncado, o, como se indica más arriba, tener formas diferentes que permitan como consecuencia una variación del hueco entre las carcasas. Así, la primera carcasa 46 y la segunda carcasa 50 pueden configurarse de modo que formen un hueco 55 con una anchura 55a relativamente uniforme entre la superficie exterior 48b de la pared exterior 48 de la primera carcasa 46 y la superficie interior 51a de la pared exterior 51 de la segunda carcasa 50, si las paredes exteriores 48, 51 de las carcasas se corresponden en tamaño y tienen en esencia la misma forma. Esta anchura 55a del hueco puede tener un tamaño preseleccionado que resulte en un espacio determinado entre estas superficies, como se indica más arriba en los ejemplos anteriores. La anchura 55a del hueco entre las superficies respectivas puede elegirse en función de factores tales como los arriba indicados con respecto a las fuerzas de cizallamiento, los volúmenes de reactivo necesarios u otros factores, y de nuevo puede variarse en función de la forma de las carcasas respectivas.

25 Una estructura base 56 puede incluir dispositivos para hacer girar la primera y/o la segunda carcasa o agitar como mínimo una de las carcasas en relación con la otra y puede incluir también monitores y sistemas relacionados para detectar y controlar la temperatura, el pH y otras variables según se desee. En este ejemplo, la base 56 incluye un motor, por ejemplo accionado por engranajes o magnético (no mostrado), adaptado para accionar un acoplamiento cooperativo por engranajes o magnético 57 en una cubierta base 58, con el fin de producir una rotación de la primera carcasa 46 dentro de la segunda carcasa 50 a una velocidad fija o variable. De nuevo, aunque las carcasas primera y segunda se muestran concéntricas, los ejes pueden desplazarse para obtener un hueco 55 con una variación de la anchura 55a en distintos puntos periféricos alrededor del hueco y la anchura del hueco puede variar axialmente si las carcasas no tienen la misma forma.

30 Las figuras 4a y 4b muestran otro ejemplo de un aparato 60 según la invención. En este ejemplo, una primera carcasa 62 incluye una pared exterior 64 y está adaptada para recibir una muestra de tejido. La pared exterior 64 es suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente del tejido y tiene una superficie interior 64a y una superficie exterior 64b. La primera carcasa 62 está encerrada por una segunda carcasa 68 con una tapa 69. La segunda carcasa 68 incluye una pared exterior 71 con una superficie interior 71a y una superficie exterior 71b. Está previsto que el tamaño de las carcasas y el hueco entre las mismas estén dentro de los márgenes arriba indicados y puede verse que, en este ejemplo, las paredes exteriores 64, 71 respectivas de las carcasas tienen esencialmente la misma forma cilíndrica. En este ejemplo, las carcasas primera y segunda 62, 68 están colocadas en una base 70 formando un ángulo inferior a 90° con respecto a la superficie sobre la que descansa el aparato 60. Esta posición inclinada o recostada aumenta el área superficial del tejido expuesto, dentro de la primera carcasa, a un fluido o una solución dispuestos en el aparato 60, si el fluido no llena por completo la segunda carcasa 68. De este modo puede utilizarse menos solución, entrando en contacto con una mayor cantidad de tejido en la primera carcasa. Igual que ocurre con la selección del hueco y el espacio entre la superficie exterior 64b de la pared exterior 64 de la primera carcasa 62 y la superficie interior 71a de la pared exterior 71 de la segunda carcasa 68, esto puede proporcionar una manera adicional de limitar los fluidos requeridos para lograr el procesamiento deseado.

45 La base 70 puede incluir un motor que pueda utilizarse para hacer girar la primera carcasa 62 en relación con la segunda carcasa 68, con el fin de mejorar el procesamiento de la muestra de tejido y el paso de material, incluyendo células, a través de la pared exterior porosa 64. La base 70 puede incluir también dispositivos para controlar y vigilar la temperatura, el pH y otras variables, según se desee. Además, en la parte inferior de la segunda carcasa 68 puede disponerse un orificio 72 para permitir el flujo de fluidos, incluyendo fluidos que contengan material biológico, por ejemplo células, desde el aparato.

50 La Fig. 5 muestra otro ejemplo de un aparato 74 para procesar tejidos. La vista en sección transversal incluye células liberadas 90 y una solución 92, por ejemplo una solución de un agente de disgregación. Como en los ejemplos anteriores, una primera carcasa 76 incluye una pared exterior porosa 78 y está adaptada para recibir una muestra de tejido. Aunque esta vista tampoco está a escala, la primera carcasa 76 se muestra adicionalmente con un diámetro considerablemente reducido sólo con fines descriptivos. La pared exterior 78 de la primera carcasa 76 incluye una superficie interior 78a y una superficie exterior 78b. La primera carcasa 76 está encerrada por una segunda carcasa 82, que incluye una pared exterior 85 con una superficie interior 85a y una superficie exterior 85b. Las carcasas primera y segunda 76, 82 pueden tener tapas o cubiertas 83, 84, respectivamente, y estar colocadas en una base 96. Las carcasas 76, 82 de este ejemplo pueden tener un tamaño dentro de los márgenes antes indicados y las paredes exteriores 78, 85 tienen preferentemente tamaños correspondientes que les permitan tener esencialmente la misma

forma, que en este ejemplo es cilíndrica, aunque, como se ha indicado antes, puede haber situaciones en las que resulte ventajoso que las formas en sección transversal sean diferentes y los huecos entre las carcavas varíen.

5 Como en los ejemplos anteriores, la base 96 puede incluir uno o más motores o unidades motrices, tales como accionamientos acoplados magnéticamente o por engranajes, que puedan utilizarse para mover como mínimo una de las carcavas, por ejemplo girar la primera carcava en relación con la segunda carcava, con el fin de mejorar el procesamiento de tejido en la primera carcava y el paso a su través de material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido. La base 96 puede incluir también dispositivos para controlar y vigilar la temperatura, el pH y otras variables, según se desee. Además, pueden estar previstos una salida 86 y un tubo 88 para que el material biológico, por ejemplo células 90, liberado durante la disgregación del tejido, pueda vaciarse de la segunda carcava 82 del procesador de tejido 74.

10 De acuerdo con la descripción y en referencia general a la Fig. 5, un método para utilizar un aparato 74 incluye en general la introducción de una muestra de tejido que contiene células (por ejemplo tejido adiposo que contiene células madre) en la primera carcava 76. La muestra de tejido se somete a un proceso de disgregación mientras se halla en la primera carcava. El proceso de disgregación puede incluir la adición de una solución 92 para facilitar la liberación del material biológico. Durante la disgregación puede liberarse material biológico, por ejemplo células 90, y las células 90 pueden fluir fuera de la primera carcava 76 a través de la pared exterior porosa 78 de la primera carcava 76. En este ejemplo, las células se muestran agrupándose inicialmente en el espacio que está formado principalmente por el hueco 94, con una anchura 94a, entre la superficie exterior 78b de la pared exterior 78 de la primera carcava 76 y la superficie interior 85a de la pared exterior 85 de la segunda carcava 82. Durante el procedimiento de disgregación, al menos una de las carcavas primera y segunda puede girar o agitarse de otro modo en relación con la otra, facilitando la liberación de células de la muestra de tejido y el flujo de las células a través de la pared exterior porosa 78 de la primera carcava 76.

15 Según esta descripción, el aparato puede utilizarse con numerosas fuentes de tejido donde se desee una disgregación. Por ejemplo, el aparato puede utilizarse con tejido adiposo o músculo, que están entre las fuentes preferidas de células madre adultas. En el material procedente del tejido que puede ser liberado se incluyen células, incluyendo células individuales, agregados multicelulares y células asociadas a material no celular. Las células liberadas pueden incluir más de un tipo de célula. En algunos ejemplos, el material biológico puede ser también esencialmente no celular. En un ejemplo preferente, el procesador de tejido puede utilizarse para procesar tejido adiposo con el fin de liberar células madre.

20 En el ejemplo del tejido adiposo, el tejido puede obtenerse de un paciente utilizando procedimientos convencionales, entre los que se incluyen lipoaspiración o liposucción. El tejido adiposo obtenido del paciente puede entonces colocarse directamente en la primera carcava o puede lavarse inicialmente o tratarse de otro modo antes de disponerlo en la primera carcava.

25 En un ejemplo, el proceso de disgregación tisular puede implicar el tratamiento enzimático de la muestra de tejido. Por ejemplo, puede utilizarse una digestión con colagenasa de tejido conjuntivo para lograr la liberación de células madre del tejido adiposo. Si se utiliza un tratamiento enzimático, puede añadirse una solución de la enzima bien directamente a la primera carcava 76 en la que se halla el tejido o bien al espacio del hueco 94 entre las paredes de las carcavas primera y segunda 76, 82, de manera que la enzima se difunda a la primera carcava 76 desde el espacio que queda entre ambas carcavas.

30 Después de o durante el proceso de disgregación, el flujo de células 90 desde la primera carcava 76 a través de la pared exterior porosa 78 de la primera carcava 76 puede facilitarse introduciendo o bombeando fluidos compatibles con las células a través de la primera carcava 76, de modo que las células sean transportadas fuera de la primera carcava a través de la pared exterior porosa 78 por la corriente fluida. En un ejemplo puede haber una corriente continua de fluido a través de la primera carcava 76 para transportar las células fuera de la primera carcava, a través de la pared exterior porosa 78, a una salida 86 situada, por ejemplo, en la parte inferior de la segunda carcava 82, como se muestra por ejemplo en la Fig. 5.

35 En un ejemplo, el aparato puede conectarse directamente a uno o más sistemas o aparatos de procesamiento posterior de los materiales. El material procedente del tejido, incluyendo células, puede vaciarse del aparato para procesar tejido a través de una salida y a continuación fluir a sistemas, tales como los que emplean separadores, por ejemplo membranas rotatorias o centrifugadoras, para lavar, reducir en volumen, tratar o procesar ulteriormente las células, por ejemplo para purificarlas mediante inmunoselección u otros procesos adecuados. La Fig. 6 es un diagrama de flujo esquemático que muestra cómo el aparato para procesar tejido puede formar parte de sistemas más grandes para el tratamiento multietapa y la purificación celular. Puede incluirse una bomba (no mostrada), por ejemplo una bomba peristáltica u otra adecuada, para facilitar el flujo de material, por ejemplo de las células, desde el aparato para procesar tejido a los sistemas de procesamiento.

40 En la Fig. 7 se muestra otro ejemplo de un aparato para procesar tejido 98 según la invención. Como en los ejemplos anteriores, el aparato 98 incluye una primera carcava 100 con una pared exterior porosa 102 que tiene una superficie interior 102a y una superficie exterior 102b. La primera carcava 102 está adaptada para recibir una muestra de tejido y está encerrada dentro de una segunda carcava 104, que incluye una pared exterior 105 con una superficie interior 105a

y una superficie exterior 105b. Los tamaños relativos de las carcacas 100, 104 y la distancia entre las paredes exteriores 102, 105 respectivas de este ejemplo están de acuerdo con los márgenes antes indicados. Además, las paredes exteriores 102, 105 de las carcacas tienen en esencia la misma forma cilíndrica.

5 En este ejemplo, el aparato incluye también un agitador 106, que se halla dentro de la primera carcaca 100, para mejorar el procesamiento del tejido. El agitador 106 puede mejorar la disgregación del tejido entrando en contacto directo con el tejido 108 para disociarlo o romperlo, creando efectos de cizallamiento dentro de la primera carcaca 100, mejorando la mezcla de reactivo y tejido o mediante una combinación de estos efectos.

10 En el ejemplo mostrado en la Fig. 7, el agitador 106 está configurado como un tornillo sinfín, aunque puede utilizarse cualquier otra configuración adecuada, como una rueda de paletas, una batidora u otro instrumento. El diámetro y la longitud del tornillo sinfín, así como el paso de las aspas, pueden elegirse según los requisitos particulares. Un agitador 106, por ejemplo un tornillo sinfín, como el aquí descrito puede utilizarse con cualquiera de los ejemplos de aparatos para procesar tejido antes descritos.

15 Preferentemente, el aparato 98 incluye también un mecanismo de accionamiento para mover el agitador 106, por ejemplo para hacer girar el tornillo sinfín citado. En el ejemplo mostrado en la Fig. 7, el tornillo sinfín es accionado por un motor 114 mediante un eje motor 112 montado en un cojinete 116. Como puede comprenderse, en otras realizaciones puede ser deseable utilizar un mecanismo de accionamiento magnético para hacer girar el tornillo sinfín, de modo que el contenido de las carcacas primera y segunda 100, 104 esté completamente aislado del entorno exterior.

20 Según este ejemplo, igual que en los ejemplos anteriores, se coloca una muestra de tejido dentro de la primera carcaca 100, que contiene un agitador o tornillo sinfín 106. También puede colocarse dentro de la primera o la segunda carcaca 100, 104 una solución que contenga un agente de disgregación de tejido, por ejemplo colagenasa. Durante el procesamiento de la muestra de tejido, el agitador 106 y la primera carcaca 100 pueden girar ambos en relación con la segunda carcaca 104. El agitador y la primera carcaca 100 pueden girar en el mismo sentido o en sentidos diferentes, de manera continua o intermitente, y a la misma velocidad o a velocidades diferentes uno con relación al otro. En un ejemplo preferente, el agitador 106 y la primera carcaca 100 giran en sentidos diferentes.

25 El contacto directo del agitador 106 con el tejido 108 puede producir una disociación o una rotura del tejido 108 en fragmentos más pequeños, aumentando su disgregación. Además, la rotación del tornillo sinfín puede mejorar la disgregación del tejido debido a efectos de cizallamiento y a la mezcla mejorada entre el tejido y los reactivos disgregantes. Como en los ejemplos anteriores, la disgregación del tejido tiene como resultado la retención de los fragmentos de tejido 108 más grandes en la primera carcaca 100, mientras que las células 110 pasan a través de la
30 pared exterior porosa 102 de la primera carcaca 100.

Los aspectos de la presente invención arriba descritos pueden ser beneficiosos solos o en combinación con otro u otros aspectos. Sin limitar la descripción anterior, de acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un aparato para procesar tejido con el fin de liberar células del mismo, comprendiendo el aparato una primera carcaca que presenta una pared exterior con una forma seleccionada. La primera carcaca está adaptada para recibir una muestra de
35 tejido y la pared exterior tiene una superficie exterior y es suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente del tejido. El aparato comprende también una segunda carcaca que encierra, al menos en esencia, la primera carcaca y que presenta una pared exterior de una forma seleccionada y una superficie interior. La superficie interior de la pared exterior de la segunda carcaca está separada de la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcaca, definiendo así un hueco entre ellas. El hueco entre la superficie exterior de la
40 pared exterior de la primera carcaca y la superficie interior de la pared exterior de la segunda carcaca o bien tiene una anchura uniforme o bien varía de manera continua en anchura. Además, como mínimo una de las carcacas primera y segunda puede moverse en relación con la otra de las carcacas primera y segunda para ayudar al procesamiento del tejido en la primera carcaca y al paso a través de la pared exterior porosa de la primera carcaca de material, incluyendo células, procedente del tejido.

45 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto anterior, las carcacas están adaptadas para encajar en una base.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, la base está adaptada para mover la primera carcaca en relación con la segunda carcaca.

50 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la base está adaptada para girar la primera carcaca en relación con la segunda carcaca.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los tres aspectos precedentes, la base está adaptada para sostener las carcacas primera y segunda formando un ángulo inferior a 90° en relación con la superficie sobre la que descansa la base durante el procesamiento.

55 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la pared exterior de la segunda carcaca es esencialmente rígida.

- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, las paredes exteriores respectivas de dichas carcasa primera y segunda tienen una forma esencialmente cilíndrica.
- 5 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la pared exterior de la primera carcasa es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, con un diámetro entre aproximadamente 5 y aproximadamente 3.000 μm .
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la pared de la primera carcasa es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, con un diámetro de aproximadamente 200 μm .
- 10 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la pared exterior de la primera carcasa comprende además un panel de malla.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la primera carcasa puede desmontarse de la segunda carcasa.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, el aparato está adaptado para ser conectado a un sistema de procesamiento celular.
- 15 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, las carcasa están adaptadas para recibir un agente de liberación de tejido en contacto con la muestra de tejido.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, el agente de liberación de tejido es una enzima.
- 20 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, la muestra de tejido es tejido adiposo.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, el material que incluye células comprende células madre.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, dentro de la primera carcasa está dispuesto un agitador con posibilidad de movimiento.
- 25 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los aspectos precedentes, el agitador comprende un tornillo sin fin giratorio en relación con la primera carcasa.
- De acuerdo con otro aspecto se proporciona un aparato para procesar tejido con el fin de liberar células del tejido, que comprende una primera carcasa que presenta una pared exterior de una forma seleccionada. Además, la primera carcasa está adaptada para recibir una muestra de tejido y la pared exterior es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente del tejido. El aparato incluye además una segunda carcasa, que encierra al menos esencialmente la primera carcasa y presenta una pared exterior con una forma seleccionada que es básicamente igual a la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa o varía de manera continua en relación con la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa. Las carcasa primera y segunda están dispuestas en un ángulo inferior a 90° con relación a un plano horizontal. La primera carcasa puede moverse en relación con la segunda carcasa para ayudar a mover un fluido sobre el tejido en la primera carcasa y al paso a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa de material, incluyendo células, procedente del tejido.
- 30 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, las carcasa están adaptadas para encajar en una base.
- 35 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, la base está adaptada para mover la primera carcasa en relación con la segunda carcasa.
- 40 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los dos aspectos precedentes, la base está adaptada para hacer girar la primera carcasa en relación con la segunda carcasa.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los cuatro aspectos precedentes, la pared exterior de la segunda carcasa es esencialmente rígida.
- 45 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los cinco aspectos precedentes, las paredes exteriores respectivas de las carcasa primera y segunda tienen una forma esencialmente cilíndrica.
- De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los seis aspectos precedentes, la pared exterior de la primera carcasa incluye un panel de malla.
- 50 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los siete aspectos precedentes, la primera carcasa puede desmontarse de la segunda carcasa.

ES 2 397 064 T3

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los ocho aspectos precedentes, el aparato está adaptado para ser conectado a un sistema de procesamiento celular.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los nueve aspectos precedentes, el fluido incluye un agente de liberación de tejido.

- 5 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, el agente de liberación de tejido es una enzima.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los once aspectos precedentes, la muestra de tejido es tejido adiposo.

- 10 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los doce aspectos precedentes, el material que incluye células comprende células.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los trece aspectos precedentes, dentro de la primera carcasa está dispuesto un agitador con posibilidad de movimiento.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, el agitador comprende un tornillo sinfín giratorio en relación con la primera carcasa.

- 15 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los quince aspectos precedentes, la pared exterior de la primera carcasa tiene una superficie exterior y la pared exterior de la segunda carcasa tiene una superficie interior y la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcasa está separada de la superficie interior de la pared exterior de la segunda carcasa definiendo un hueco.

- 20 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los dieciséis aspectos precedentes, el hueco entre la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcasa y la superficie interior de la pared exterior de la segunda carcasa tiene una anchura uniforme o varía de manera continua.

- 25 De acuerdo con otro aspecto se proporciona un método para procesar tejido con el fin de liberar células del tejido, que comprende la introducción de una muestra de tejido que contiene células en una primera carcasa, presentando la primera carcasa una pared exterior que tiene una forma seleccionada y es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido. Además, la primera carcasa está encerrada al menos en esencia en una segunda carcasa, que presenta una pared exterior con una forma seleccionada esencialmente similar a la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa o varía de manera continua en relación con la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa. Además pueden introducirse agentes de liberación de tejido en al menos una de las carcasas. Como mínimo una de las carcasas primera y segunda puede moverse en relación con la otra de las carcasas primera y segunda para procesar la muestra de tejido y hacer pasar, a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa, material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido.

- 30 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, el agente de liberación de tejido se añade a la primera carcasa.

- 35 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los dos aspectos precedentes, el agente de liberación de tejido se añade a la segunda carcasa.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los tres aspectos precedentes, el agente de liberación de tejido es colagenasa.

- 40 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los cuatro aspectos precedentes, la muestra de tejido es tejido adiposo.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los cinco aspectos precedentes, las células procedentes de la muestra de tejido comprenden células madre.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los seis aspectos precedentes, las células procedentes de la muestra de tejido se vacían desde la segunda carcasa a un dispositivo de recogida.

- 45 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los siete aspectos precedentes, se utiliza una bomba para vaciar desde la segunda carcasa a un dispositivo de recogida las células procedentes de la muestra de tejido.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los ocho aspectos precedentes, las células procedentes de la muestra de tejido se vacían a un dispositivo para su procesamiento posterior.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los nueve aspectos precedentes, el movimiento de como mínimo una de las carcasas primera y segunda incluye el movimiento de la primera carcasa en relación con la segunda carcasa.

5 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, el movimiento de la primera carcasa en relación con la segunda carcasa incluye el giro de la primera carcasa en relación con la segunda carcasa.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los dos aspectos precedentes, el movimiento de la primera carcasa en relación con la segunda carcasa incluye sacudir la primera carcasa en relación con la segunda carcasa.

10 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los doce aspectos precedentes, dentro de la primera carcasa está dispuesto un agitador.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con el aspecto precedente, el agitador gira en un sentido y la primera carcasa gira en un sentido opuesto.

De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los catorce aspectos precedentes, las paredes exteriores respectivas de dichas carcasas primera y segunda tienen una forma esencialmente cilíndrica.

15 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los quince aspectos precedentes, la pared exterior de la primera carcasa tiene una superficie exterior y la pared exterior de la segunda carcasa tiene una superficie interior y la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcasa está separada de la superficie interior de la pared exterior de la segunda carcasa definiendo un hueco.

20 De acuerdo con otro aspecto, que puede utilizarse o combinarse con cualquiera de los dieciséis aspectos precedentes, el hueco entre la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcasa y la superficie interior de la pared exterior de la segunda carcasa tiene una anchura uniforme o varía de manera continua.

Se entiende que los ejemplos de la presente invención son ilustrativos de algunas de las aplicaciones de los principios de la misma.

REIVINDICACIONES

1. Aparato (10, 28, 44, 60, 98) para procesar tejido con el fin de liberar células del tejido, que comprende:
 - una primera carcasa (12, 30, 46, 62, 100) que presenta una pared exterior (22, 32, 48, 64, 102) que tiene una forma seleccionada, estando esta primera carcasa adaptada para recibir una muestra de tejido y teniendo la pared exterior una superficie exterior (22b, 32b, 48b, 64b, 102b) y siendo lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente del tejido;
 - una segunda carcasa (18, 36, 50, 68, 104) que encierra al menos en esencia la primera carcasa y presenta una pared exterior (19, 37, 51, 71, 105) que tiene una forma seleccionada y una superficie interior (19a, 37a, 51a, 71a, 105a) separada de la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcasa y define un hueco (26, 38, 55) entre ellas, teniendo el hueco entre la superficie exterior de la pared exterior de la primera carcasa y la superficie interior de la pared exterior de la segunda carcasa una anchura uniforme o bien variando de manera continua en anchura; y
 - pudiendo moverse al menos una de las carcasas primera y segunda en relación con la otra de las carcasas primera y segunda para ayudar a procesar tejido en la primera carcasa y al paso, a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa, de material, incluyendo células, procedente del tejido.
2. Aparato según la reivindicación 1, caracterizado porque las carcasas (30, 36, 46, 50, 62, 68) están adaptadas para encajar en una base (42, 56, 70).
3. Aparato según la reivindicación 2, caracterizado porque la base (42, 56, 70) está adaptada para mover la primera carcasa (30, 46, 62) en relación con la segunda carcasa (36, 50, 68).
4. Aparato según la reivindicación 3, caracterizado porque la base (42, 56, 70) está adaptada para hacer girar la primera carcasa (30, 46, 62) en relación con la segunda carcasa (36, 50, 68).
5. Aparato según la reivindicación 2, caracterizado porque la base (70) está adaptada para sostener las carcasas primera y segunda (62, 68) en un ángulo inferior a 90° en relación con la superficie sobre la que descansa la base durante el procesamiento.
6. Aparato según la reivindicación 1, caracterizado porque la pared exterior (19, 37, 51, 71) de la segunda carcasa es esencialmente rígida.
7. Aparato según la reivindicación 1, caracterizado porque la pared exterior (22, 32, 48, 64) de la primera carcasa (12, 30, 46, 62) es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, con un diámetro de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 3.000 µm.
8. Aparato según la reivindicación 1, caracterizado porque la pared exterior (22, 32, 48, 64) de la primera carcasa comprende además un panel de malla.
9. Aparato según la reivindicación 1, caracterizado porque las carcasas (12, 30, 46, 62, 18, 36, 50, 68) están adaptadas para recibir un agente de liberación de tejido en contacto con la muestra de tejido.
10. Aparato según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además un agitador (106) dispuesto con posibilidad de movimiento dentro de la primera carcasa (100).
11. Método para procesar tejido con el fin de liberar células del tejido, que comprende:
 - a. introducir una muestra de tejido que contiene células en una primera carcasa (12, 30, 46, 62, 100), presentando la primera carcasa una pared exterior (22, 32, 48, 64, 102) que tiene una forma seleccionada y es lo suficientemente porosa para permitir el paso a su través de material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido y estando la primera carcasa encerrada al menos en esencia en una segunda carcasa (18, 36, 50, 68, 104), que presenta una pared exterior (19, 37, 51, 71, 105) con una forma seleccionada que esencialmente es similar a la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa o varía de manera continua en relación con la forma seleccionada de la pared exterior de la primera carcasa;
 - b. introducir agentes de liberación de tejido en al menos una de las carcasas; y
 - c. mover al menos una de las carcasas primera y segunda en relación con la otra de las carcasas primera y segunda para procesar la muestra de tejido y hacer pasar, a través de la pared exterior porosa de la primera carcasa, el material, incluyendo células, procedente de la muestra de tejido.
12. Método según la reivindicación 11, caracterizado porque el agente de liberación de tejido se añade a la primera carcasa (12, 30, 46, 62, 100).

- 13.** Método según la reivindicación 11, caracterizado porque el agente de liberación de tejido se añade a la segunda carcasa (18, 36, 50, 68, 104).
- 14.** Método según la reivindicación 11, caracterizado porque además comprende el vaciado de las células procedentes de la muestra de tejido a un aparato para su procesamiento posterior.
- 5 **15.** Método según la reivindicación 11, caracterizado porque el movimiento de al menos una de las carcassas primera y segunda comprende además el movimiento de la primera carcasa (12, 30, 46, 62) en relación con la segunda carcasa (18, 36, 50, 68).
- 16.** Método según la reivindicación 11, caracterizado porque la muestra de tejido es tejido adiposo.
- 10 **17.** Método según la reivindicación 11, caracterizado porque el material que incluye células comprende células madre.
- 18.** Método según la reivindicación 11, caracterizado porque el agente de liberación de tejido es colagenasa.

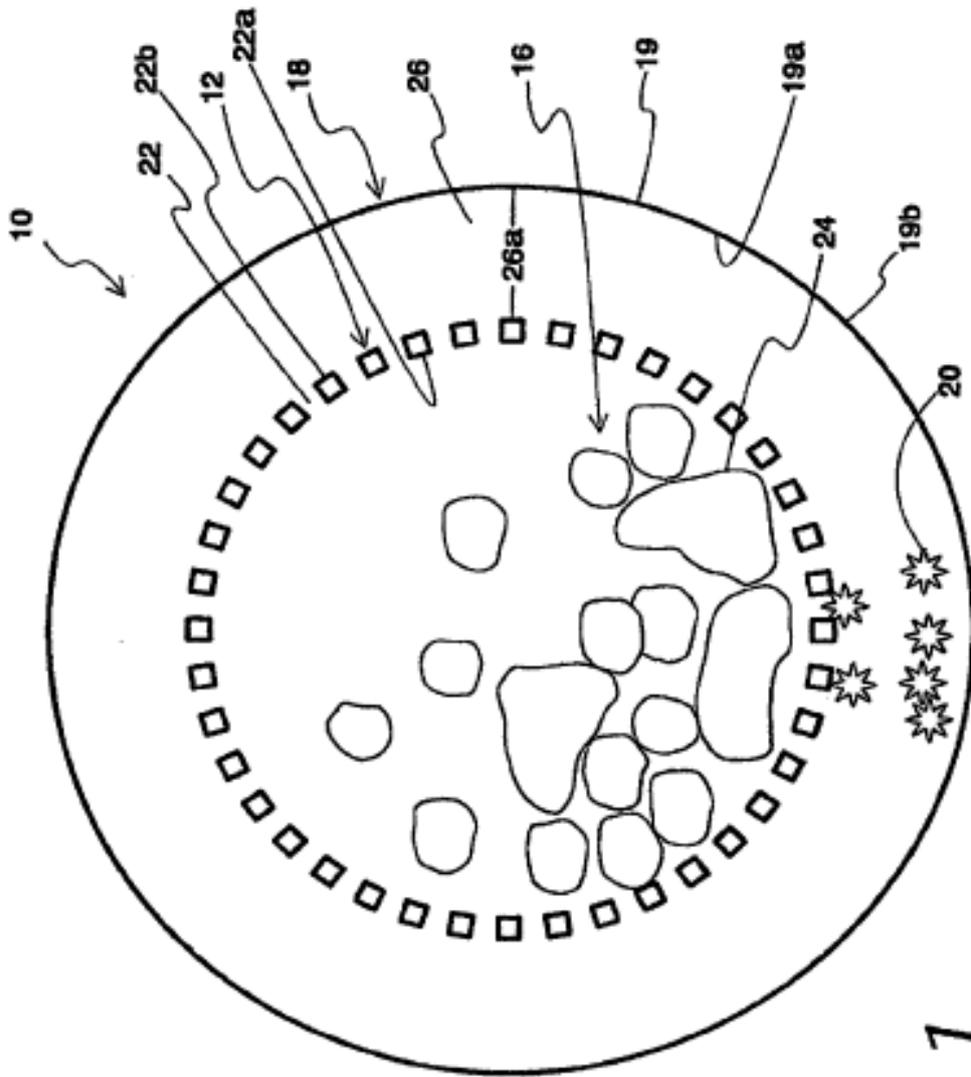


Fig. 1

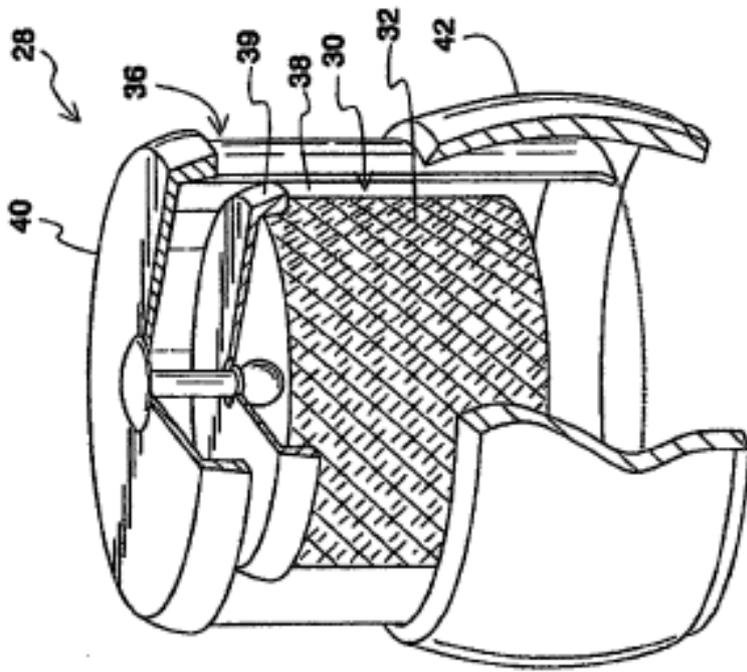


Fig. 2b

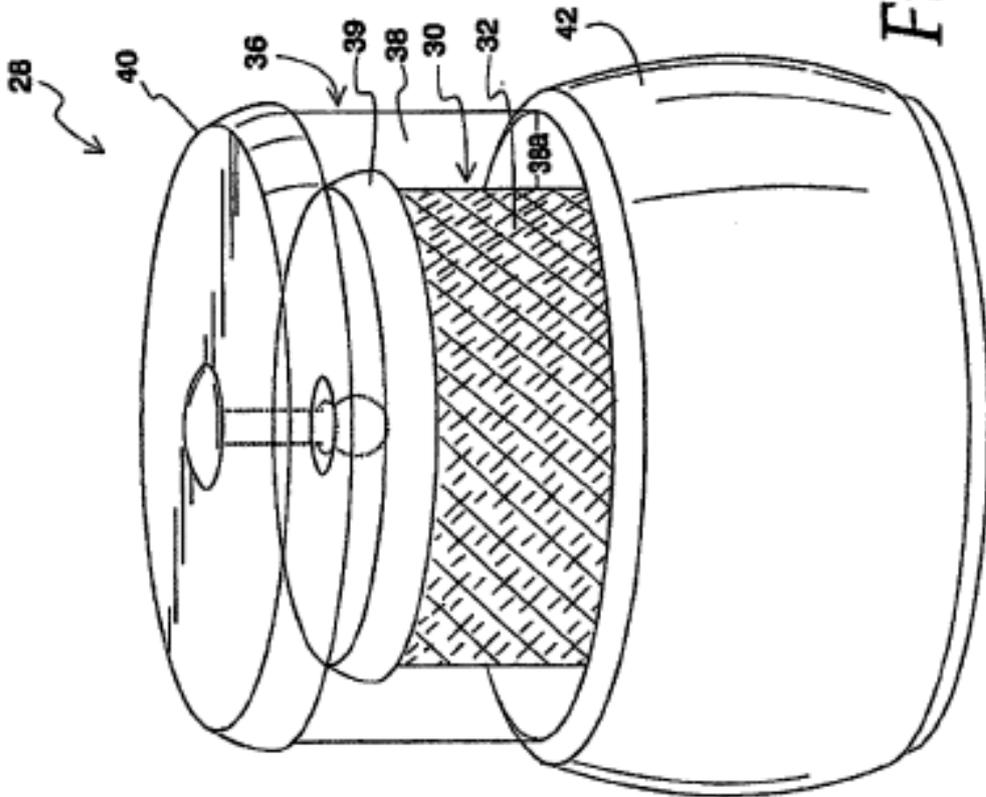
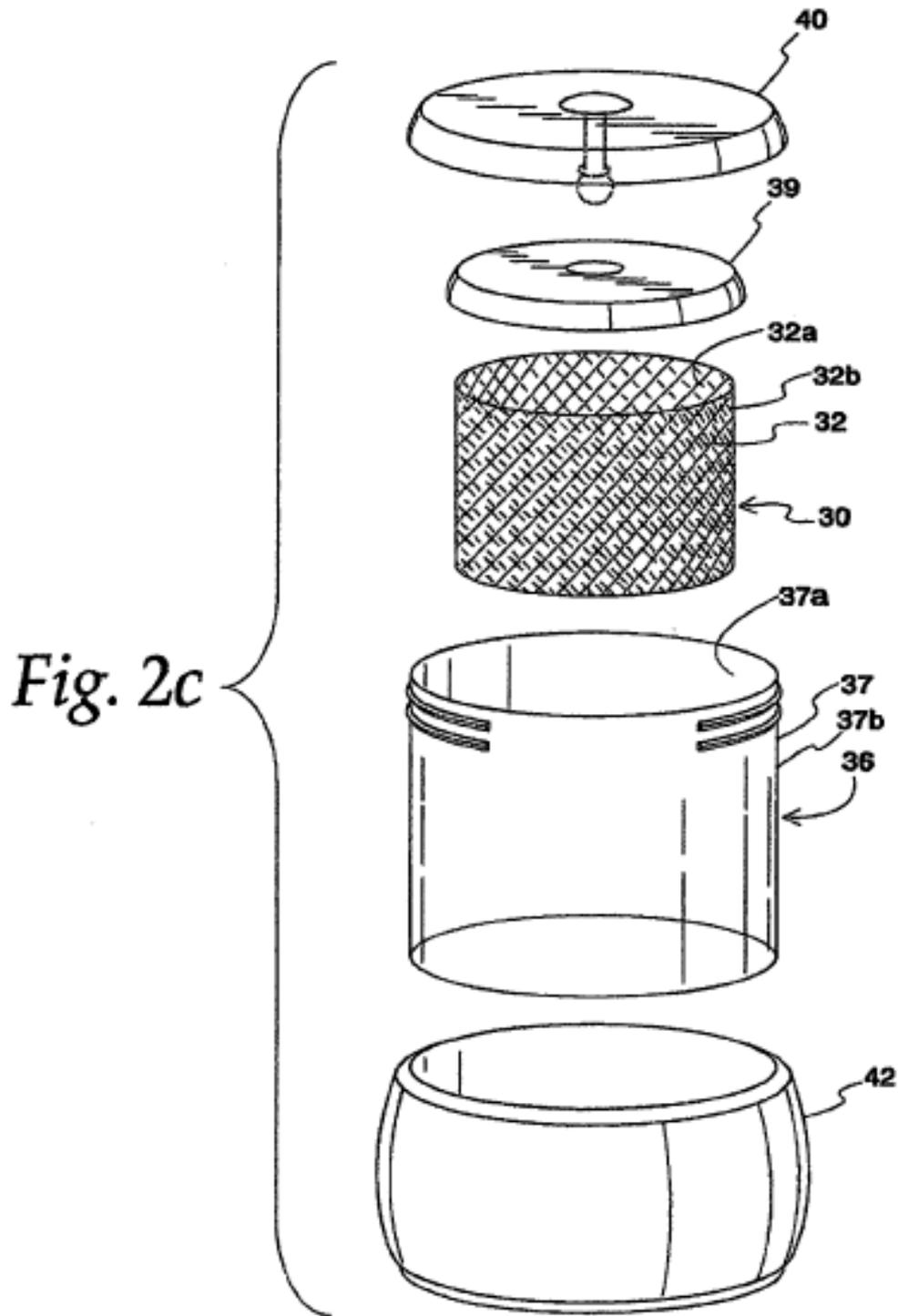
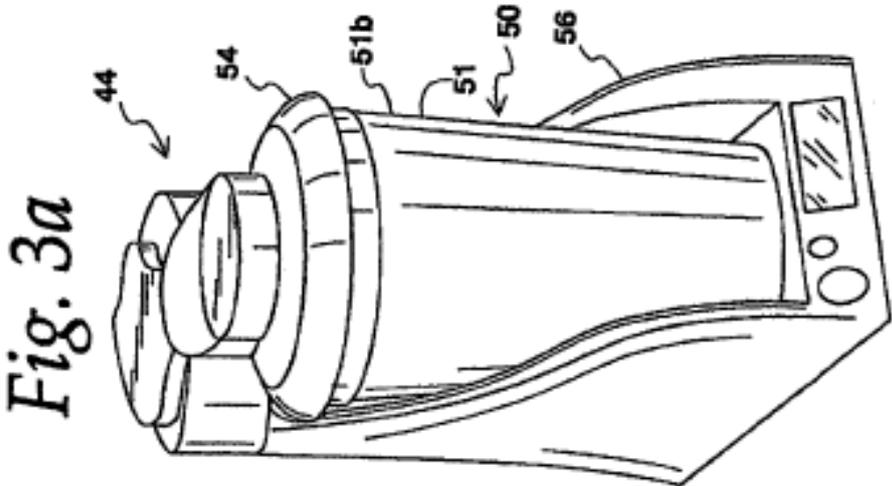
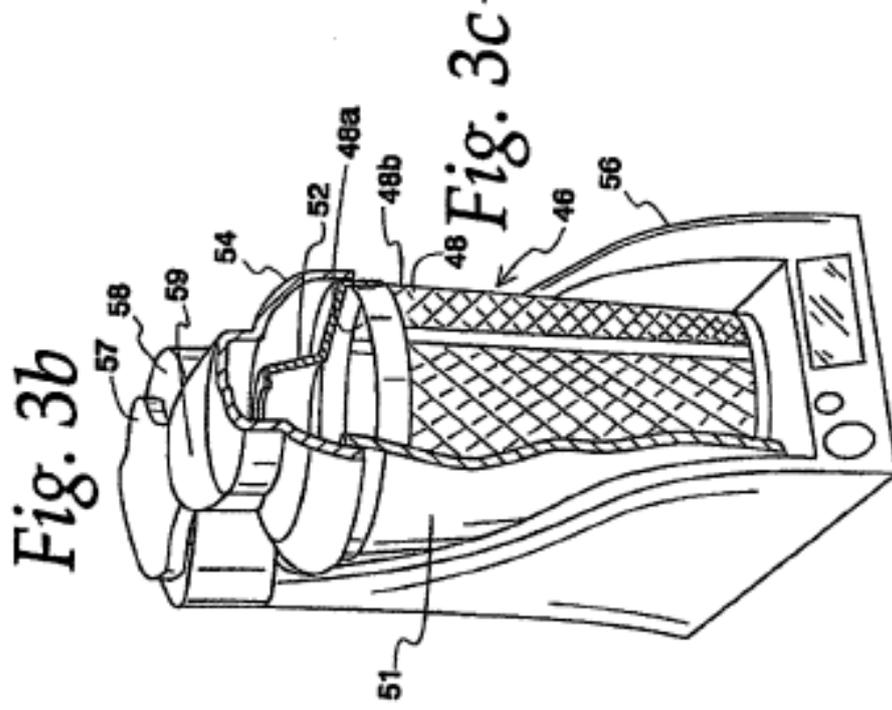
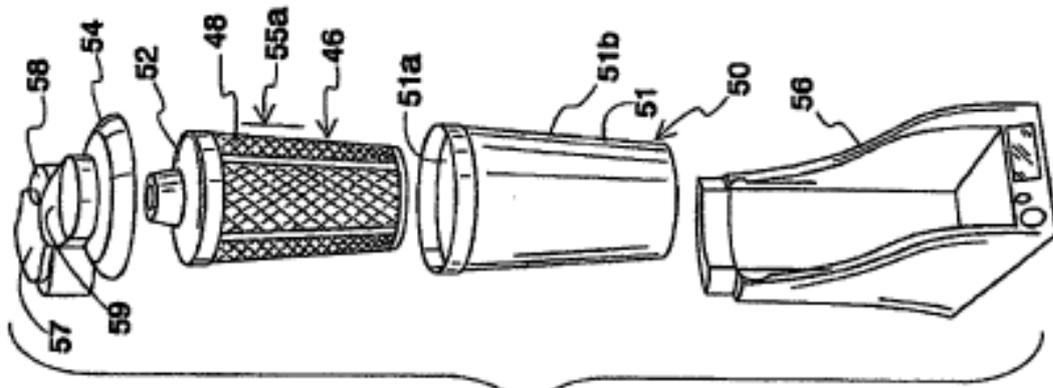


Fig. 2a





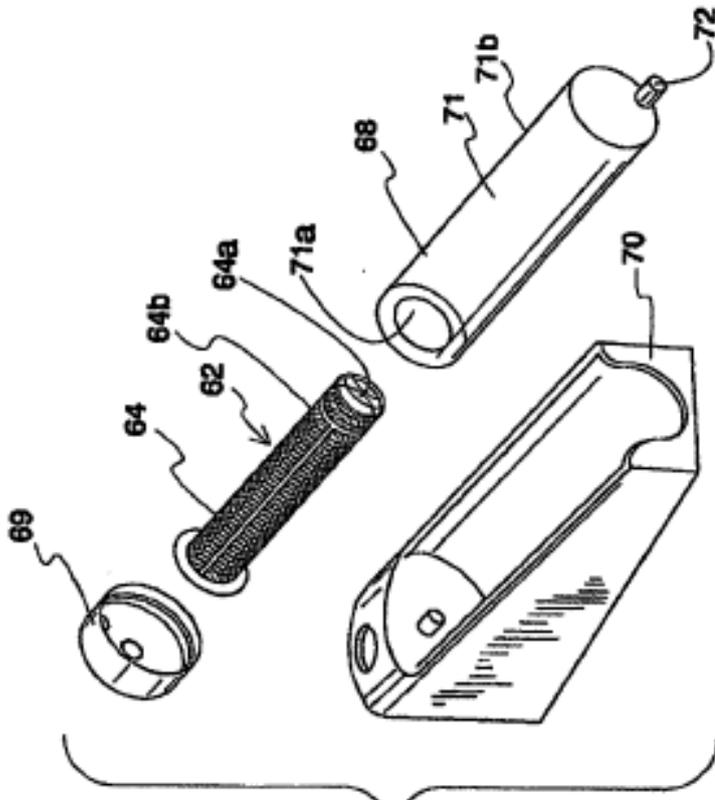


Fig. 4b

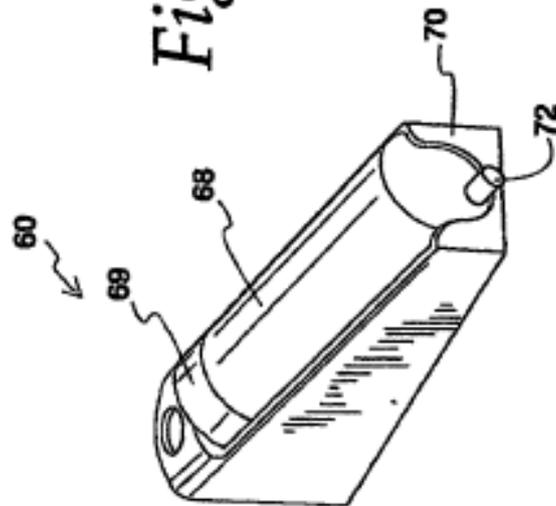
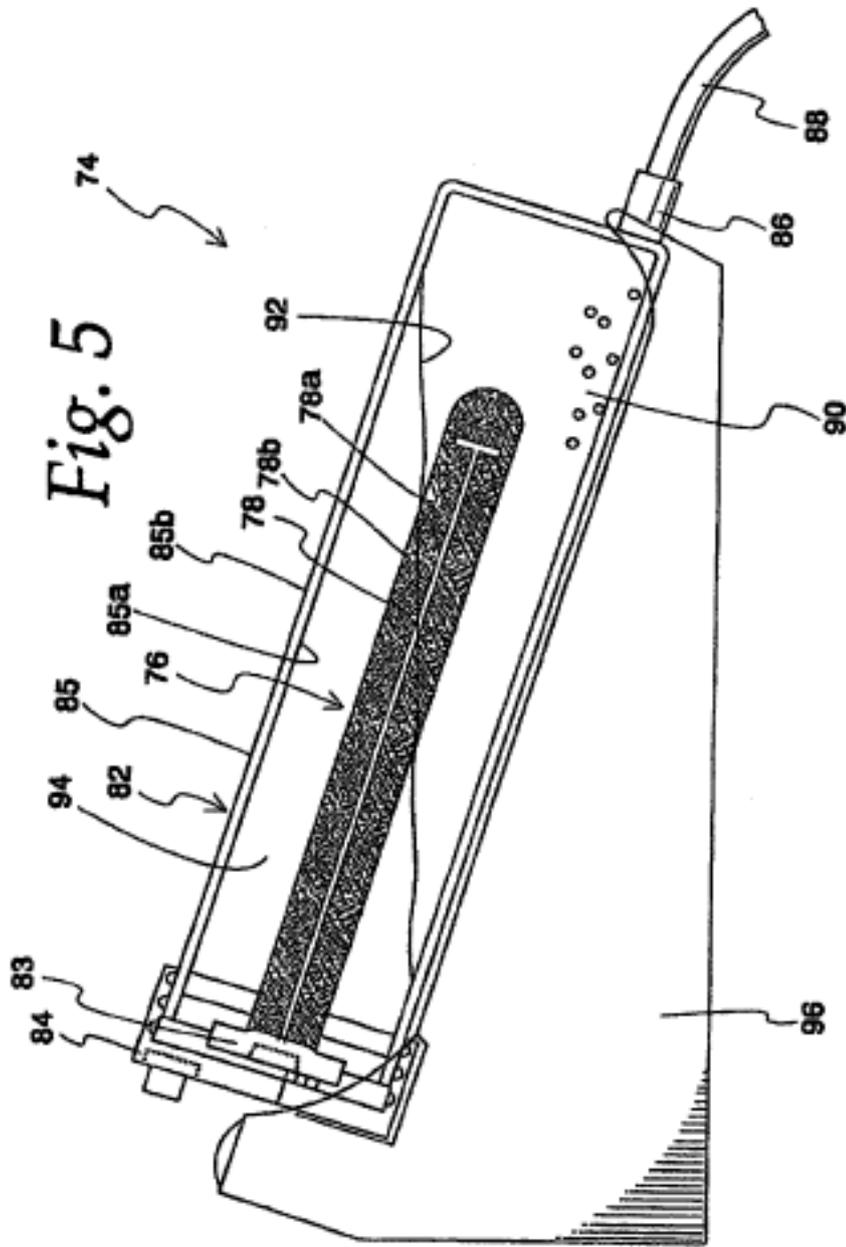


Fig. 4a



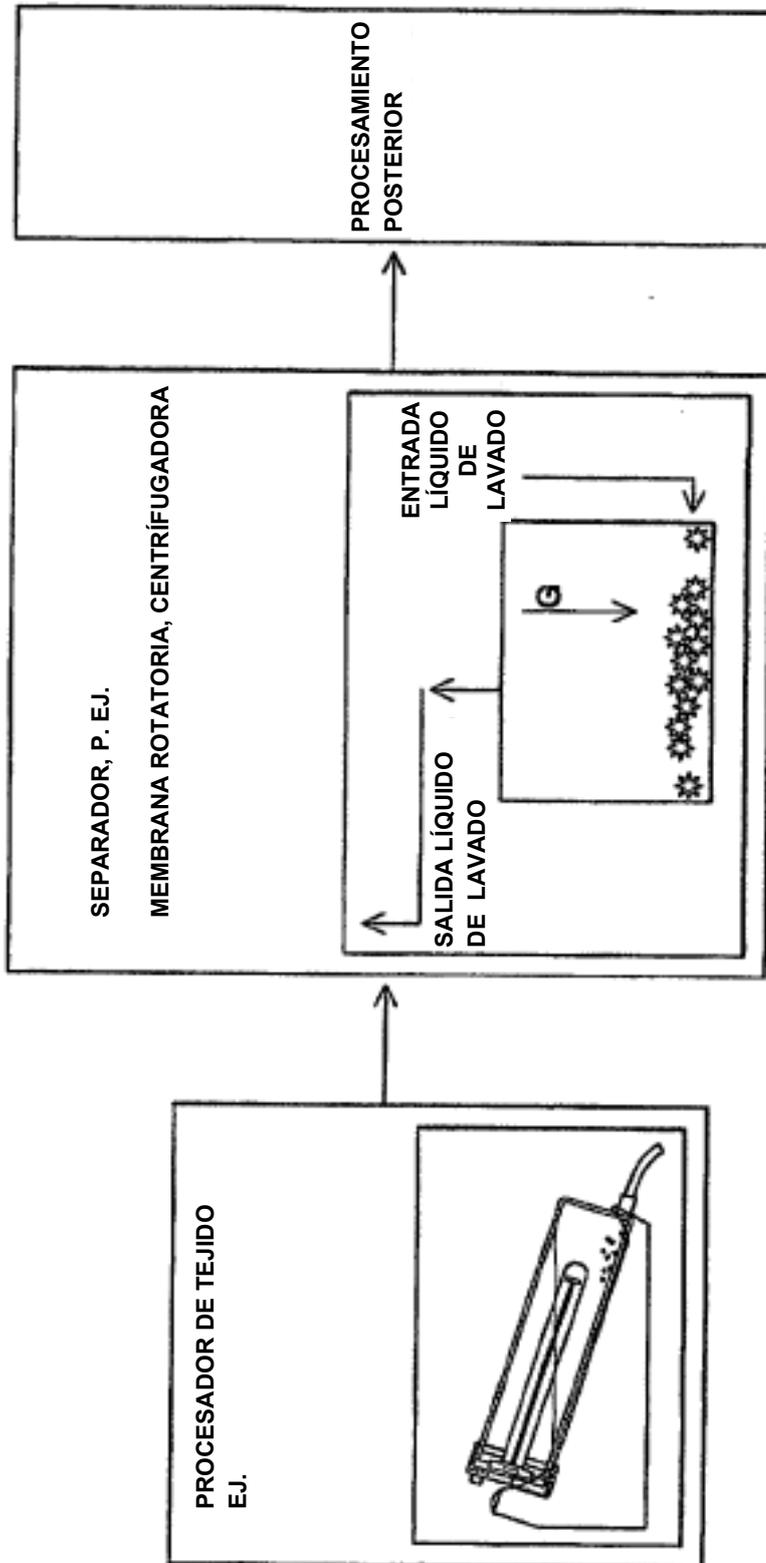
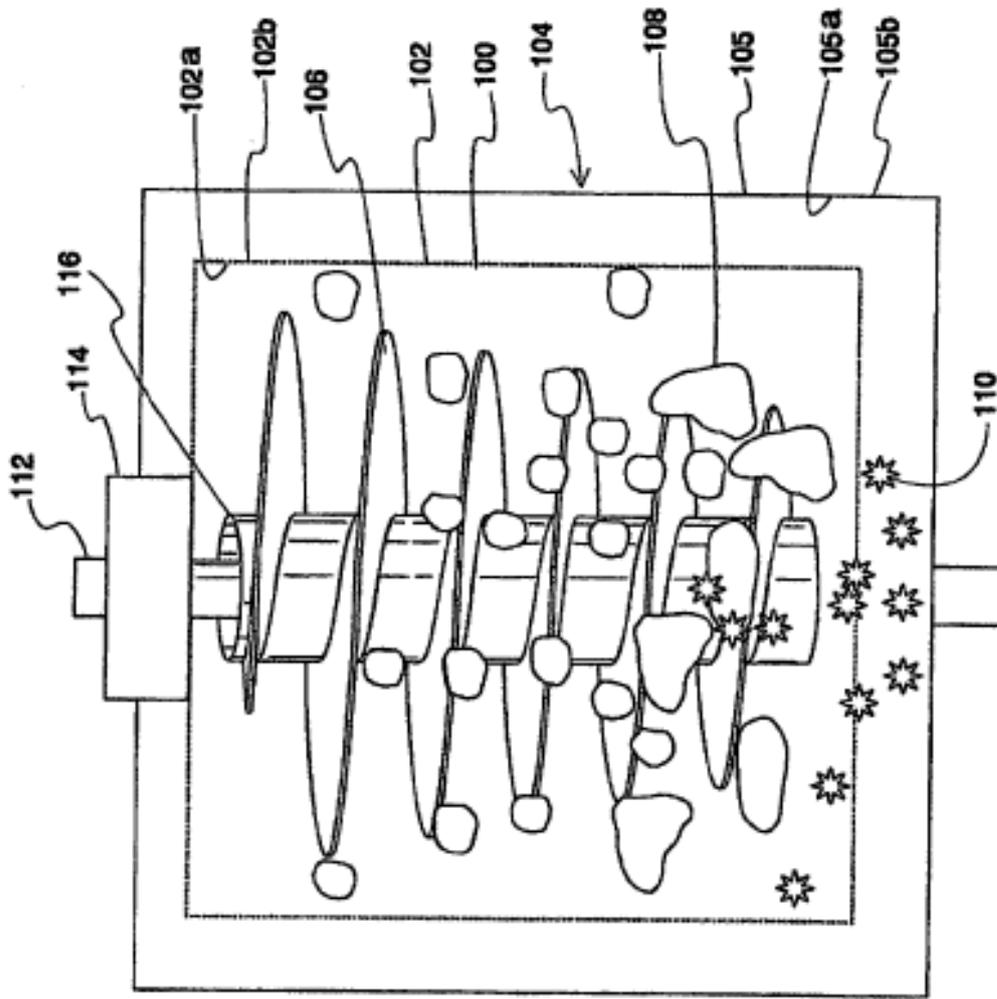


Fig. 6



98

Fig. 7