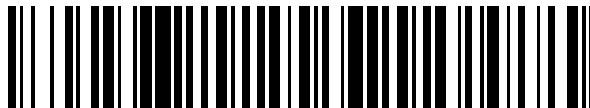


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 421 546**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2008 E 08161344 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2013 EP 2020433**

54 Título: **Sistema de biorreactor de perfusión continua**

30 Prioridad:

**30.07.2007 US 962671 P**  
**20.05.2008 US 124039**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.09.2013**

73 Titular/es:

**XCELLEREX, INC. (100.0%)**  
**170 LOCKE DRIVE**  
**MARLBOROUGH, MA 01752, US**

72 Inventor/es:

**GALLIHER, PARRISH;**  
**HODGE, GEOFFREY;**  
**FISHER, MICHAEL;**  
**GUERTIN, PATRICK y**  
**MARDIROSIAN, DAN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 421 546 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**

Sistema de biorreactor de perfusión continua

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere, en ciertos aspectos, a sistemas y procedimientos para contener y manipular líquidos, y en algunas realizaciones, a recipientes y operaciones unitarias o componentes de cultivo celular, contención celular, biorreactor, y/o sistemas de fabricación farmacéuticos. En ciertas realizaciones, tales sistemas y procedimientos implican biorreactores de perfusión continua.

**Antecedentes**

10 Está disponible una variedad de recipientes, dispositivos, componentes y operaciones unitarias para manipular líquidos y/o para realizar procedimientos químicos, bioquímicos y/o biológicos. Por ejemplo, los materiales biológicos (por ejemplo, células animales y vegetales) que incluyen, por ejemplo, células y cultivos microbianos de mamíferos, plantas o insectos que pueden procesarse usando biorreactores. La fabricación de productos biológicos complejos tales como proteínas (por ejemplo, incluyendo anticuerpos monoclonales, péptidos, y hormonas) requiere múltiples etapas que varían de fermentación o cultivo celular (bacterias, levaduras, insectos u hongos), a recuperación primaria, y finalmente, purificación. La fabricación convencional de productos biotecnológicos generalmente se consigue usando procesamiento discontinuo, o con alimentación discontinua, a través de una serie de operaciones unitarias con análisis de laboratorio fuera de línea posteriores realizados sobre muestras representativas recogidas de diversos puntos del procedimiento para asegurar la calidad.

20 En algunos casos, puede conseguirse un aumento de la eficacia usando un bioprocesamiento continuo en comparación con las operaciones discontinuas o con alimentación discontinua. La mayor eficacia puede ser el resultado de una pérdida reducida en el tiempo de producción para el reacondicionamiento de los equipos y una maquinaria más pequeña y más productiva. En operaciones tales como ciertas biorreacciones, un medio de cultivo celular reciente puede bombearse hacia y desde el biorreactor continuamente, manteniendo un volumen constante de cultivo en el reactor. Adicionalmente, la retención celular en el biorreactor o reciclado celular desde la corriente de recogida fuera del biorreactor puede realizarse de manera que no se pierden células por retirada del producto desde el biorreactor. Este mantenimiento de una alta densidad celular en el biorreactor puede mejorar las tasas de producción de la biorreacción en comparación con los sistemas discontinuos.

25 Aunque los sistemas de fabricación, tales como sistemas de fabricación químicos, sistemas de fabricación farmacéuticos, y sistemas de biorreactor son conocidos, las mejoras de tales sistemas serían útiles en una diversidad de campos. En particular, como reconocen los presentes inventores en el contexto de la presente invención, los sistemas que incluyen componentes desechables especialmente configurados para realizar perfusión continua serían beneficiosos.

**Sumario de la invención**

35 La presente invención se refiere, en ciertos aspectos, a sistemas y procedimientos para contener y manipular fluidos. Los sistemas y procedimientos pueden implicar, en algunas realizaciones, recipientes y operaciones unitarias o componentes de cultivo celular, contención celular, biorreactor, y/o sistemas de fabricación farmacéuticos. En ciertas realizaciones, tales recipientes y operaciones unitarias se refieren a sistemas de mezcla continua con perfusión, reactor químico o biorreactor. La materia objeto de la presente invención implica, en algunos casos, productos interrelacionados, soluciones alternativas a un problema particular, y/o una pluralidad de usos diferentes de uno o más sistemas y/o artículos.

40 La presente invención proporciona un sistema como se define en las reivindicaciones 1 a 12.

La invención proporciona también procedimientos como se definen en las reivindicaciones 13 a 15.

Los ejemplos de fluidos incluyen, sin limitación, materiales en forma de partículas, polvos, semi-sólidos, sólidos, lechadas, emulsiones, suspensiones, solutos, líquidos o gases.

45 En un aspecto, se proporciona una serie de sistemas. En una realización, un sistema comprende un primer aparato. El primer aparato comprende una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la primera bolsa plegable al menos una entrada, al menos una salida, y una placa base que está fijada a la bolsa plegable y configurada para soportar un rodete. El primer aparato incluye también una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa plegable. El sistema puede incluir también un segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, incluyendo el segundo aparato al menos una entrada y al menos una salida, en el que una salida de la primera bolsa plegable está en comunicación de fluido con una entrada del segundo aparato, y una salida del segundo aparato está en comunicación de fluido con una entrada de la primera bolsa plegable.

50 En otra realización un sistema comprende un primer aparato en forma de un módulo portátil. El módulo comprende

una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido y una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable. El sistema puede comprender también un segundo aparato en forma de un módulo portátil, estando el segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, en el que el segundo aparato comprende un dispositivo de separación líquido-sólidos. Tras la comunicación de fluido entre el primer y segundo aparatos, cada aparato puede moverse respecto al otro sin romper la conexión. La primera bolsa plegable puede incluir adicionalmente una placa base que está fijada a la bolsa plegable y configurada para soportar un rodete. Opcionalmente, un árbol puede estar asociado con la placa base. En algunos casos, un rodete puede estar asociado con la placa base. El rodete puede estar accionado magnéticamente o puede ser un rodete accionado mediante un árbol directamente, por ejemplo.

En otra realización, un sistema comprende un primer aparato que comprende una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la primera bolsa plegable al menos una entrada y al menos una salida. El primer aparato incluye también una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa plegable. Un segundo aparato puede estar en comunicación de fluido con el primer aparato. El segundo aparato puede comprender una segunda bolsa plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la segunda bolsa plegable al menos una entrada y al menos una salida. El segundo aparato puede incluir también una segunda estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la segunda bolsa plegable, en el que una salida de la primera bolsa plegable está en comunicación de fluido con una entrada de la segunda bolsa plegable, y una salida de la segunda bolsa plegable está en comunicación de fluido con una entrada de la primera bolsa plegable. La primera bolsa plegable puede incluir adicionalmente una placa base que está fijada a la bolsa plegable y configurada para soportar un rodete. Opcionalmente, un árbol puede estar asociado con la placa base. En algunos casos, un rodete puede estar asociado con la placa base. El rodete puede estar accionado magnéticamente o puede ser un rodete accionado mediante un árbol directamente.

En otra realización, un sistema comprende un primer aparato que incluye una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido y una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable. El sistema incluye también un segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, comprendiendo el segundo aparato una centrífuga adaptada para separar una pluralidad de materiales en forma de partículas u objetos sólidos a partir de una mezcla de líquido-sólidos.

La invención incluye un sistema, que comprende:

un primer aparato, que comprende:

una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la primera bolsa plegable al menos una entrada, al menos una salida, y una placa base que está fijada a la bolsa plegable y configurada para soportar un rodete;  
una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa plegable; y

un segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, incluyendo el segundo aparato al menos una entrada y al menos una salida,

en el que una salida de la primera bolsa plegable está en comunicación de fluido con una entrada del segundo aparato, y una salida del segundo aparato está en comunicación de fluido con una entrada de la primera bolsa plegable.

El segundo aparato puede estar configurado para recibir un primer fluido que comprende una primera concentración de un componente desde el primer aparato y para suministrar un segundo fluido que comprende una segunda concentración del componente al primer aparato, en el que la primera y segunda concentraciones son diferentes.

El componente puede ser un objeto sólido, un organismo viable, o un organismo no viable.

El objeto sólido puede comprender un precipitado, una célula o al menos una célula que crece sobre una esfera sólida, una fibra o una partícula gelatinosa.

El segundo aparato puede comprender una segunda bolsa plegable.

El segundo aparato puede comprender una segunda estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la segunda bolsa plegable.

El segundo aparato puede estar en comunicación de fluido continua con el primer aparato durante el uso; como alternativa, el segundo aparato puede estar en comunicación de fluido periódica con el primer aparato durante el uso.

El sistema de la invención puede comprender adicionalmente un rodete asociado con la placa base. Un árbol puede estar asociado con la placa base, que está fijada irreversiblemente a la bolsa plegable. El rodete puede estar accionado magnéticamente, o puede ser un rodete accionado mediante un árbol directamente.

El primer aparato puede formar al menos parte de un sistema de biorreactor o al menos parte de un sistema de

fabricación farmacéutico.

La primera bolsa plegable puede tener un volumen de al menos 1 l o un volumen de al menos 40 l.

El segundo aparato puede formar al menos parte de un dispositivo de separación, dispositivo de separación en el que opcionalmente

- 5 (a) es un dispositivo de separación líquido-sólidos, o  
(b) comprende una centrifuga, o  
(c) comprende un dispositivo de sedimentación.

El dispositivo de separación preferentemente está adaptado para separar las células de un líquido. Más particularmente, el dispositivo de separación puede comprender un filtro de fibra hueca.

- 10 En otras realizaciones, el dispositivo de separación puede comprender un dispositivo de filtración con placa y marco.  
El sistema de la invención puede comprender adicionalmente un dispositivo de separación líquido-sólidos situado sobre una superficie de o en una parte interna de la primera bolsa plegable.

Como alternativa, el dispositivo de separación líquido-sólidos puede estar fijado irreversiblemente a la primera bolsa plegable. En tales realizaciones, el dispositivo de separación puede comprender

- 15 (a) un filtro rotatorio, una centrifuga, o un dispositivo de sedimentación; o  
(b) una frita microporosa o una membrana de ultrafiltración.

El segundo aparato puede formar

- 20 (a) al menos parte de un tanque de almacenamiento de medio o tampón, o  
(b) al menos parte de un sistema de mezcla, o  
(c) al menos parte de un tanque de recolección por lotes.

En ciertas realizaciones, el sistema puede comprender adicionalmente un dispositivo de separación líquido-sólidos dentro de la primera bolsa plegable.

En otras realizaciones, la primera estructura de soporte puede comprender uno o más deflectores, o la primera bolsa plegable puede comprender uno o más deflectores.

- 25 En otras realizaciones más, la primera bolsa plegable puede comprender una o más divisiones internas.

La invención proporciona adicionalmente un sistema, que comprende:

un primer aparato en forma de un módulo portátil, que comprende:

una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido;  
una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable; y

- 30 un segundo aparato en forma de un módulo portátil, estando el segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, en el que el segundo aparato comprende un dispositivo de separación líquido-sólidos,

en el que tras la comunicación de fluido entre el primer y segundo aparatos, cada aparato puede moverse respecto al otro sin romper la conexión.

La invención proporciona también un sistema, que comprende:

- 35 un primer aparato que comprende:

una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la primera bolsa plegable al menos una entrada y al menos una salida;  
una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa plegable; y

un segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, comprendiendo el segundo aparato:

- 40 una segunda bolsa plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la segunda bolsa plegable al menos una entrada y al menos una salida; y  
una segunda estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la segunda bolsa plegable,

en el que una salida de la primera bolsa plegable está en comunicación de fluido con una entrada de la segunda bolsa plegable, y una salida de la segunda bolsa plegable está en comunicación de fluido con una entrada de la

- 45 primera bolsa plegable.

La primera bolsa plegable de las realizaciones mencionadas anteriormente puede comprender una placa base que está fijada a la bolsa plegable y configurada para soportar un rodete. El sistema puede comprender adicionalmente un rodete asociado con la placa base. El rodete puede estar accionado magnéticamente. Como alternativa, el rodete es un rodete accionado mediante un árbol directamente.

5 La invención proporciona adicionalmente un sistema, que comprende:

un primer aparato que comprende:

una primera bolsa plegable adaptada para contener un fluido;  
una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable; y

10 un segundo aparato en comunicación de fluido con el primer aparato, comprendiendo el segundo aparato una centrifuga adaptada para separar una pluralidad de materiales en forma de partículas u objetos sólidos a partir de una mezcla de líquido-sólidos.

En todos los sistemas y procedimientos de la invención mencionados anteriormente el fluido puede ser un líquido.

15 En un aspecto, se proporciona una serie de procedimientos. En una realización, un procedimiento comprende transferir un primer líquido que comprende una pluralidad de materiales en forma de partículas u objetos sólidos desde una primera bolsa plegable hasta un aparato que incluye un dispositivo de separación líquido-sólidos. La primera bolsa plegable puede estar soportada por una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa plegable. El procedimiento incluye también separar al menos una parte de la pluralidad de materiales en forma de partículas u objetos sólidos del primer líquido en el aparato, y transferir un  
20 segundo líquido desde el aparato hasta la primera bolsa plegable, en el que el primer y segundo líquidos tienen diferentes concentraciones de los materiales en forma de partículas u objetos sólidos. El aparato puede ser externo o interno respecto a la bolsa plegable.

25 En otra realización, un procedimiento comprende introducir continuamente un primer líquido en una bolsa plegable que comprende un rodete, teniendo el primer líquido una primera concentración de un material en forma de partículas u objetos sólidos. La bolsa plegable puede estar soportada por una estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable. El procedimiento puede incluir retirar continuamente un segundo líquido de la bolsa plegable, teniendo el segundo líquido una segunda concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos,  
30 en el que la primera y segunda concentraciones del material en forma de partículas u objetos sólidos es diferente. Puede mantenerse un volumen sustancialmente constante dentro de la bolsa plegable durante las etapas de introducción y retirada. En algunas realizaciones, el segundo líquido es sustancialmente homogéneo con respecto al líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada, de manera que la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el segundo líquido retirado de la bolsa plegable es sustancialmente equivalente a la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada.

35 En otra realización, un procedimiento comprende introducir un primer líquido en una bolsa plegable que comprende un rodete, teniendo el primer líquido una primera concentración de un material en forma de partículas u objetos sólidos, en el que la bolsa plegable está soportada por una estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable. El procedimiento incluye también mezclar el primer líquido en la bolsa plegable usando el rodete y retirar un segundo líquido de la bolsa plegable. El segundo líquido puede tener una segunda concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos, en el que la primera y segunda concentraciones del material en forma de partículas u objetos sólidos es diferente. El segundo líquido puede ser sustancialmente homogéneo con respecto al líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada, de manera que la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el segundo líquido retirado de la bolsa plegable es sustancialmente equivalente a la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada. El procedimiento incluye también  
40 provocar que un líquido fluya desde la bolsa plegable hasta un aparato y provocar que un líquido fluya desde el aparato hasta la bolsa plegable.

Se proporciona también un procedimiento de la invención que comprende:

45 transferir un primer líquido que comprende una pluralidad de materiales en forma de partículas u objetos sólidos desde una primera bolsa plegable hasta un aparato que incluye un dispositivo de separación líquido-sólidos, en el que la primera bolsa plegable está soportada por una primera estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa plegable;  
separar al menos una parte de la pluralidad de materiales en forma de partículas u objetos sólidos del primer líquido en el aparato; y transferir un segundo líquido desde el aparato hasta la primera bolsa plegable, en el que  
50 el primer y segundo líquidos tienen diferentes concentraciones de los materiales en forma de partículas u objetos sólidos.

El aparato puede ser externo o interno respecto a la bolsa plegable.

La invención proporciona también un procedimiento, que comprende:

5 introducir continuamente un primer líquido en una bolsa plegable que comprende un rodete, teniendo el primer líquido una primera concentración de un material en forma de partículas u objetos sólidos, en el que la bolsa plegable está soportada por una estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable;  
 retirar continuamente un segundo líquido de la bolsa plegable, teniendo el segundo líquido una segunda concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos, en el que la primera y segunda concentraciones del material en forma de partículas u objetos sólidos es diferente; y  
 10 mantener un volumen sustancialmente constante dentro de la bolsa plegable durante las etapas de introducción y retirada.

El procedimiento puede comprender adicionalmente mezclar continuamente un líquido en la bolsa plegable. El segundo líquido puede ser sustancialmente homogéneo con respecto al líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada, de manera que la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el segundo líquido retirado de la bolsa plegable es sustancialmente equivalente a la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada.

La invención proporciona adicionalmente un procedimiento, que comprende:

20 introducir un primer líquido en una bolsa plegable que comprende un rodete, teniendo el primer líquido una primera concentración de un material en forma de partículas u objetos sólidos, en el que la bolsa plegable está soportada por una estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la bolsa plegable;  
 mezclar el primer líquido en la bolsa plegable usando el rodete; y  
 retirar un segundo líquido de la bolsa plegable, teniendo el segundo líquido una segunda concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos, en el que la primera y segunda concentraciones del material en forma de partículas u objeto sólido es diferente,  
 25 en el que el segundo líquido es sustancialmente homogéneo con respecto al líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada, de manera que la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el segundo líquido retirado de la bolsa plegable es sustancialmente equivalente a la concentración del material en forma de partículas u objetos sólidos en el líquido que queda en la bolsa plegable inmediatamente después de la retirada;  
 30 provocar que un líquido fluya desde la bolsa plegable hasta un aparato; y  
 provocar que un líquido fluya desde el aparato hasta la bolsa plegable.

El procedimiento puede comprender adicionalmente mantener un volumen sustancialmente constante dentro de la bolsa plegable durante las etapas de introducción y retirada.

35 Otras ventajas y nuevas características de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de diversas realizaciones no limitantes de la invención cuando se consideran junto con las figuras adjuntas. En los casos en los que la presente memoria descriptiva y un documento incorporado por referencia incluyen una divulgación en conflicto y/o inconsistente, controlará la presente memoria descriptiva. Si dos o más documentos incorporados por referencia incluyen una divulgación en conflicto y/o inconsistentes uno con respecto a otro, entonces controlará el documento que tiene la fecha eficaz posterior.

#### 40 **Breve descripción de los dibujos**

Las realizaciones no limitantes de la presente invención se describirán a modo de ejemplo con referencia a las figuras adjuntas, que son esquemáticas y no pretenden estar dibujadas a escala. En las figuras, cada componente idéntico o casi idéntico ilustrado está representado típicamente por un solo número. Con fines de claridad, no todos los componentes están marcados en todas las figuras, ni se muestran todos los componentes de cada realización de la invención cuando su ilustración no es necesaria para permitir que los expertos en la materia entiendan la invención. En las figuras:

La Figura 1 es un diagrama esquemático que muestra la interconexión de fluido de varios aparatos, de acuerdo con una realización de la invención;

La Figura 2 es un diagrama esquemático que muestra la interconexión de fluido de varios aparatos portátiles individualmente, de acuerdo con una realización de la invención;

La Figura 3 es un diagrama esquemático que muestra un aparato que forma al menos una parte de un sistema de biorreactor, de acuerdo con una realización de la invención;

Las Figuras 4A-4B ilustran diversos dispositivos de mezcla que comprenden un rodete, de acuerdo con una realización de la invención;

La Figura 5 muestra un rodete magnéticamente acoplado a un motor externo, de acuerdo con una realización de la invención;

La Figura 6 muestra un rodete, de acuerdo con una realización de la invención;

La Figura 7 muestra un ejemplo de un procedimiento de control y retroalimentación operativos para ciertas

realizaciones de los aparatos y sistemas desvelados, de acuerdo con una realización de la invención;  
 La Figura 8 es un gráfico que muestra un aumento en la densidad óptica de células de E. Coli en un biorreactor como una función del tiempo durante un procedimiento de perfusión continua; y  
 Las Figuras 9-11 muestran mediciones de diversos parámetros en un biorreactor durante la ejecución del procedimiento descrito en la Figura 8.

### **Descripción detallada**

La presente invención se refiere en ciertos aspectos a sistemas y procedimientos para contener y manipular líquidos, que pueden implicar, en algunas realizaciones, recipientes y operaciones unitarias o componentes de cultivo celular, contención celular, biorreactor, y/o sistemas de fabricación farmacéuticos. En ciertas realizaciones, tales recipientes y operaciones unitarias se refieren a mezcla continua con perfusión, reactor químico o sistemas de biorreactor y pueden incluir uno o más componentes desechables. Por ejemplo, en un aspecto, un sistema de la invención incluye un aparato en forma de un biorreactor para cultivar y, opcionalmente, recolectar células que producen uno o más productos. El aparato puede incluir una bolsa plegable, desechable, adaptada para contener un líquido, estando la bolsa plegable en comunicación de fluido con un dispositivo de separación líquido-sólidos (por ejemplo, célula). Por ejemplo, una salida de la bolsa plegable puede estar conectada a una entrada del dispositivo de separación, y una salida del dispositivo de separación puede estar conectada a una entrada de la bolsa plegable para facilitar el reciclado de los sólidos separados, por ejemplo células, a un reactor/biorreactor de la invención. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, después de separar las células del líquido en el dispositivo de separación, algunas o todas las células pueden hacerse fluir de vuelta al interior de la bolsa plegable. Mientras tanto, el producto contenido en el líquido puede recogerse en un contenedor separado. La eficacia de formación de producto en tal sistema puede potenciarse usando los sistemas de mezcla descritos en el presente documento.

Ventajosamente, el dispositivo de separación y/u otros dispositivos asociados con el reactor/biorreactor pueden incluir también uno o más componentes desechables tales como bolsas plegables. Los sistemas de manipulación de fluido de un solo uso pueden simplificar la complejidad y el coste de realizar la perfusión continua eliminando la necesidad de limpiar y esterilizar con vapor. Por tanto, la complejidad de las tuberías puede reducirse y el sistema puede instalarse rápidamente y de forma económica en comparación con ciertos sistemas de acero inoxidable, no desechables.

La Solicitud de Patente Internacional con N° de Serie PCT/US2008/001051, presentada el 25 de enero de 2008 y titulada, "Information Acquisition and Management Systems and Methods in Bioreactor Systems and Manufacturing Facilities" de Galliher et al.; la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 12/011,492, presentada el 25 de enero de 2008 y titulada, "Information Acquisition and Management Systems and Methods in Bioreactor Systems and Manufacturing Facilities" de Galliher et al.; la Solicitud de Patente Internacional con N° de Serie PCT/US2008/001005, presentada el 25 de enero de 2008 titulada "Bag Wrinkle Remover, Leak Detection Systems, and Electromagnetic Agitation for Liquid Containment Systems" de Galliher et al.; la Solicitud de Estados Unidos con N° de Serie 12/011,493, presentada el 25 de enero de 2008 titulada "Bag Wrinkle Remover, Leak Detection Systems, and Electromagnetic Agitation for Liquid Containment Systems" de Galliher et al.; la Solicitud Provisional de Estados Unidos con N° de Serie 61/039,382, presentada el 25 de marzo de 2008, titulada "Temperature Control System"; la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 12/039,052, presentada el 28 de febrero de 2008, titulada "Weight Measurements of Liquids in Flexible Containers", de P.A. Mitchell, et al.; la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 11/879.033, presentada el 13 de julio de 2007, titulada "Environmental Containment Systems", de G. Hodge, et al.; la Solicitud de Patente Internacional con N° de Serie PCT/US2007/015954, presentada el 13 de julio de 2007 titulada, "Environmental Containment Systems" de Galliher et al.; la Solicitud de Patente Internacional con N° de Serie PCT/US2007/014050 presentada el 15 de junio de 2007 y titulada, "Gas Delivery Configurations, Foam Control Systems, and Bag Molding Methods and Articles for Collapsible Bag Vessels" de Fisher et al.; la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 11/818.901 presentada el 15 de junio de 2007 y titulada, "Gas Delivery Configurations, Foam Control Systems, and Bag Molding Methods and Articles for Collapsible Bag Vessels" de Fisher et al.; la Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Serie 11/147.124, presentada el 6 de junio de 2005, titulada "Disposable Bioreactor Systems and Methods", de G. Hodge, et al., publicada como Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Publicación 2005/0272146 el 8 de diciembre de 2005; la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2005/020083, presentada el 6 de junio de 2005, titulada "Disposable Bioreactor Systems and Methods", de G. Hodge, et al., publicada como WO 2005/118771 el 15 de diciembre de 2005; la Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Serie 11/050.133, presentada el 3 de febrero de 2005, titulada "System and Method for Manufacturing", de G. Hodge, et al., publicada como Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Publicación 2005/0226794 el 13 de octubre de 2005; y la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2005/002985, presentada el 3 de febrero de 2005, titulada "System and Method for Manufacturing", de G. Hodge, et al., publicada como WO 2005/076093 el 18 de agosto de 2005.

El documento EP 0 200 792 A1 desvela un fermentador laminar esterilizable para el crecimiento de microorganismos o de cultivos celulares y tisulares en un espacio de reacción cilíndrico que consiste en un tubo fino que está sujetado entre dos placas planas. Cualquier ajuste necesario (sondas, ajustes de aireación, liberación de presión, enfriador, calentador, mecanismo de agitación) se fija a una de las placas planas. Puede insertarse en un cilindro metálico durante una esterilización *in situ*. El fermentador laminar puede comprender una pluralidad de cámaras de reacción.

Aunque gran parte de la descripción en el presente documento implica una aplicación ejemplar de la presente invención relacionada con biorreactores (y/o sistemas de reacción bioquímicos y químicos que incluyen recipientes de contención de líquido), la invención y sus usos no están limitados a esto, y debe entenderse que los aspectos de la invención pueden usarse también en otros escenarios, que incluyen aquellos que implican sistemas de contención en general, sistemas para contener y/o procesar un fluido (por ejemplo, un líquido o un gas) en un contenedor (por ejemplo, sistemas de mezcla y sistemas de filtración), así como sistemas relacionados con un procedimiento de fabricación biológico, químico y/o farmacéutico (por ejemplo, sistemas de recuperación primaria, filtración y cromatografía, sistemas de cultivo celular, microscopía y/o otros dispositivos analíticos, etc.). Debe entenderse también que aunque muchos ejemplos proporcionados en el presente documento implican el uso de recipientes que comprenden bolsas plegables o contenedores flexibles, los aspectos de la invención pueden estar integrados con recipientes que comprenden contenedores no plegables o rígidos, y otras configuraciones que implican contención de líquido.

En un aspecto de la invención, se proporciona un sistema para contener y manipular fluidos. Como se muestra en el procedimiento ilustrado en la Figura 1, el sistema 10 incluye un aparato 14 que puede comprender un recipiente. En general, por simplicidad y concisión, a menos que el contexto circundante lo prohíba, el término "recipiente" puede usarse como un comodín para indicar un contenedor volumétrico adaptado para contener un líquido, o una estructura de soporte para soportar un contenedor volumétrico, o un componente de operación unitaria, u otro dispositivo o componente del mismo que forma parte al menos de un sistema de cultivo celular, contención celular, biorreactor, fabricación de productos químicos, fabricación de productos farmacéuticos, u otro sistema de fabricación. Los ejemplos no limitantes de componentes de operación unitaria incluyen biorreactores de tipo tanque agitado, sistemas de filtración, sistemas de expansión de cultivo de siembra, sistemas de recuperación primaria, sistemas cromatográficos, sistemas de carga, sistemas cerrados de preparación de medio/tampón, y sistemas de purificación de agua (por ejemplo, sistemas de agua para inyección (API)). El término comodín "recipiente" puede usarse para aplicarlo a cualquiera de estos y a otros.

En algunas realizaciones, el aparato 14 incluye uno o más componentes desechables. Por ejemplo, como se describe con más detalle más adelante, el aparato 14 puede comprender un reactor para formar un producto químico, biológico, y/o farmacéutico en forma de una bolsa plegable, desechable, adaptada para contener un líquido. La bolsa plegable puede estar soportada por y puede revestir una superficie interna de una estructura de soporte reutilizable.

En ciertas realizaciones, el aparato 14 contiene un líquido que comprende componentes viables y/o no viables tales como materiales en forma de partículas y objetos sólidos (por ejemplo, células, perlas, precipitados, cristales, etc.). Como se usa en el presente documento, un "objeto sólido" cuando se usa en el contexto de un material contenido en o llevado por un líquido, es un objeto que no se disuelve en o forma de otra manera una solución miscible con el líquido. Los objetos sólidos no son necesariamente completamente sólidos, y pueden incluir, en algunas realizaciones, entidades individuales que pueden ser deformables, tales como células, organismos, y partículas gelatinosas. Los objetos sólidos pueden formar o no una suspensión estable (por ejemplo, una suspensión coloidal), dependiendo del tamaño y la flotabilidad de los objetos sólidos y las propiedades superficiales de los objetos sólidos y las propiedades termodinámicas del líquido. En algunas realizaciones, pueden usarse componentes que incluyen materiales en forma de partículas y objetos sólidos como parte de un procedimiento de fabricación biológico, químico y/o farmacéutico para generar uno o más productos o pueden comprender un producto ellos mismos. Por ejemplo, el aparato 14 puede usarse para producir una diversidad de productos a partir de diversos objetos sólidos tales como, por ejemplo, bacterias, células de insecto, hongos, células de mamífero, células humanas, órganos, levaduras, protozoos, nematodos, virus, algas, y células vegetales. Los organismos superiores tales como insectos, plantas, peces y camarones pueden comprender también los objetos sólidos y usarse para generar uno o más productos. Los ejemplos adicionales de tales objetos sólidos se describen con más detalle más adelante. Los objetos sólidos no viables que pueden estar contenidos en un aparato incluyen, por ejemplo, perlas (por ejemplo, perlas de citodex), precipitados, y cristales de naturaleza biológica o no biológica.

El aparato 14 puede estar configurado para estar en comunicación de fluido con el aparato 18, que puede incluir también un recipiente adaptado para contener un líquido. La comunicación de fluido puede ser continua en algunas realizaciones, o periódica en otras realizaciones. En algunos casos, un líquido puede transferirse desde el aparato 14 hasta el aparato 18, donde puede tener lugar una manipulación del líquido. La manipulación puede incluir, por ejemplo, mezcla, aireación, separación, filtración, provocar que ocurra una reacción, cambiar una concentración de un componente en el líquido, y similares. En algunos casos, la manipulación del líquido tiene lugar durante la transferencia. Por ejemplo, un tubo que conecta los aparatos puede incluir un filtro para separar los objetos sólidos del líquido. En otros casos, la manipulación del líquido tiene lugar mientras el líquido está contenido en el aparato 18. Por ejemplo, el aparato 18 puede comprender un dispositivo de separación (por ejemplo, una centrífuga, una columna de fibra hueca, u otro dispositivo adecuado) para separar un componente del líquido. En algunos casos, el dispositivo de separación es un dispositivo de separación líquido-sólidos que separa los materiales en forma de partículas u objetos sólidos del líquido.

Como el aparato 14, el aparato 18, en algunas realizaciones, puede incluir uno o más componentes desechables tales como una bolsa plegable adaptada para contener un líquido. La bolsa plegable puede estar soportada por y puede revestir una superficie interna de una estructura de soporte reutilizable. Por ejemplo, en una realización



particular, el aparato 18 está en forma de una centrífuga que incluye una bolsa plegable, desechable, que contiene el líquido a manipular.

5 Ventajosamente, para ciertas realizaciones que incluyen componentes desechables y estructuras de soporte reutilizables, debido a que el líquido en la bolsa plegable no entra en contacto con la estructura de soporte, la estructura de soporte puede reutilizarse sin limpiarla. Es decir, después de que un procedimiento de manipulación de fluido u otro tiene lugar en la bolsa plegable, el contenedor puede retirarse de la estructura de soporte y reemplazarse por un segundo contenedor (por ejemplo, desechable). Puede realizarse una segunda manipulación de fluido o procedimiento en el segundo contenedor sin tener que limpiar ni el primer contenedor ni la estructura de soporte reutilizable.

10 En otras realizaciones, componentes desechables distintos de los contenedores desechables pueden asociarse con un aparato. Por ejemplo, pueden usarse elementos de filtración, sensores, dispositivos de muestreo, bombas, válvulas, y mezcladoras desechables en combinación con los aparatos descritos en el presente documento.

15 En algunas realizaciones, una salida del aparato 14 está en comunicación de fluido con una entrada del aparato 18, y una salida del aparato 18 está en comunicación de fluido con una entrada del aparato 14. De esta manera, un primer líquido puede fluir desde el aparato 14 hasta el aparato 18 y un segundo líquido puede fluir desde el aparato 14 hasta el aparato 18, donde el primer y segundo fluidos pueden ser iguales o diferentes. En tales realizaciones, el reciclado de un líquido ocurre entre los aparatos 14 y 18. Por ejemplo, después que tiene lugar una manipulación de un primer líquido en el aparato 18, un segundo líquido puede transferirse 22 al aparato 14. En algunos casos, el segundo líquido tiene una composición y/o concentración diferente de un componente (por ejemplo, un material en forma de partículas u objeto sólido) que la del primer líquido.

20 En una realización, el aparato 18 es un dispositivo de separación celular (por ejemplo, una centrífuga o filtro) que separa las células de un primer líquido contenido en el aparato 14. Después de la separación, las células pueden devolverse al aparato 14 en forma de una segunda suspensión líquida (por ejemplo, un retenido) para crecimiento/recolección continuada. Mientras tanto, el líquido restante que se separó (por ejemplo, el permeado, un tercer líquido) puede transferirse 24 y recogerse en el aparato 28. En algunos casos, el tercer líquido incluye un producto producido por las células. El producto puede aislarse (por ejemplo, purificarse) y/o procesarse adicionalmente usando el aparato 28. Por ejemplo, el aparato 28 puede incluir un recipiente tal como una bolsa plegable, desechable, para retener el líquido, por ejemplo, una bolsa de almacenamiento, o para contener el líquido para manipulación adicional.

25 Adicionalmente o como alternativa, todo o una parte de un líquido del aparato 18 puede transferirse 32 al aparato 34, donde el líquido puede procesarse adicionalmente. Por ejemplo, cuando el tercer líquido contiene un producto, el producto puede usarse como un reactivo en una reacción química, biológica y/o farmacéutica que tiene lugar en el aparato 34. Por consiguiente, como los aparatos 14 y 18, el aparato 34 puede incluir uno o más componentes de operación unitaria tales como un reactor para realizar un procedimiento de fabricación biológico, químico y/o farmacéutico o una etapa del mismo.

30 Opcionalmente, en algunas realizaciones el aparato 14 está en comunicación de fluido con uno o más aparatos 40. Por ejemplo, el líquido puede transferirse 42 continuamente o periódicamente desde el aparato 40 hasta el aparato 14. El aparato 40 puede incluir, por ejemplo, un recipiente tal como un tanque de almacenamiento adaptado para contener medios, tampón, reactivos, y/u otros fluidos. Una pluralidad de aparatos 40 puede contener, cada uno, diferentes medios, tampón, reactivos, y/u otros líquidos a transferir al aparato 14. Uno o más aparatos 40 pueden incluir componentes desechables tales como una bolsa plegable adaptada para contener un líquido, estando la bolsa plegable opcionalmente soportada y contenida por una estructura de soporte reutilizable.

35 En algunos casos, la transferencia 42 ocurre mientras la transferencia 16 tiene lugar entre los aparatos 14 y 18. En algunas de tales realizaciones, pueden realizarse reacciones o biorreacciones de perfusión continua. Por ejemplo, en una realización particular, a medida que un primer líquido que contiene una concentración relativamente baja de células se transfiere desde el aparato 14 hasta el aparato 18, la separación de las células y el líquido puede tener lugar en el aparato 18. Un segundo líquido (por ejemplo, un retenido) que contiene una concentración relativamente alta de células puede transferirse 22 de vuelta al aparato 14 para realizar el reciclado celular. Mientras tanto, los medios u otros reactivos pueden transferirse desde el aparato 40 hasta el aparato 14. En algunas de tales realizaciones, el aparato 18 está configurado para recibir un primer líquido que comprende una primera concentración de un componente (por ejemplo, células) desde el aparato 14 y suministrar un segundo líquido que comprende una segunda concentración del componente. Como se ha mencionado, la primera y segunda concentraciones pueden ser iguales en algunos casos, y diferentes en otros casos.

40 En algunos casos, la transferencia 42 y la transferencia 16 tiene lugar simultáneamente de manera que se mantiene un volumen sustancialmente constante en el aparato 14. Como se usa en el presente documento, un procedimiento de "volumen sustancialmente constante" se refiere a un procedimiento en el que una reacción u otro procedimiento de manipulación de líquido tiene lugar en un aparato que contiene un volumen de líquido cuyo volumen no cambia en más de un 10% en cierta realización, o en otras realizaciones no cambia en más de un 5%, en más de un 1%, en más de un 0,5%, o en más de un 0,1% a lo largo del transcurso del procedimiento. En el caso de un aparato que

incluye un recipiente (por ejemplo, un reactor), se dice que el recipiente funcionará a un volumen sustancialmente constante cuando se satisfacen las condiciones mencionadas anteriormente.

5 La medición del volumen, que incluye un volumen sustancialmente constante, en un aparato puede realizarse por una variedad de procedimientos que incluyen, aunque sin limitación, el uso de una o más células de carga situadas por debajo de los soportes o patas del aparato, así como los procedimientos descritos en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 12/039.052, presentada el 28 de febrero de 2008, titulada "Weight Measurements of Liquids in Flexible Containers", de P.A. Mitchell, et al., que se incorpora en el presente documento por referencia.

10 Ventajosamente, en algunas realizaciones, el aparato 14 está diseñado para generar un líquido que está mezclado sustancialmente de forma homogénea. Un líquido está "mezclado sustancialmente de forma homogénea" cuando una primera parte del líquido en una primera localización dentro del aparato contiene sustancialmente la misma concentración de componentes (por ejemplo, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, gases, nutrientes, etc.) como una segunda parte del líquido en una segunda localización dentro del aparato, en el que la primera y segunda localizaciones están separadas físicamente por una distancia igual a al menos la mitad de la distancia que define una dimensión de la sección transversal máxima de la porción humedecida del aparato que contiene el líquido. "Sustancialmente la misma concentración" como se usa en el contexto anterior se refiere a la concentración en la primera localización que difiere de la concentración en la segunda localización en no más de un 10% en ciertas realizaciones, y en otras realizaciones, en no más de un 5%, en no más de un 1 %, en no más de un 0,5%, o en no más de un 0,1 %. La primera y segunda localizaciones, por ejemplo, pueden ser las porciones superior e inferior del aparato. En algunas de tales realizaciones, el aparato 14 incluye una mezcladora, por ejemplo, en forma de un rodete accionado magnéticamente, que tiene una alta eficacia de mezcla dentro del aparato. Por ejemplo, en algunos casos, el tiempo de mezcla, que puede definirse por cuánto tarda en alcanzar homogeneidad sustancial después de una adición, puede ser menor del 10% del tiempo de residencia promedio de un elemento fluido en el aparato. En otros casos, el tiempo de residencia es menor del 8%, menor del 6%, menor del 4%, o menor del 2% del tiempo de residencia promedio de un elemento fluido en el aparato. Los ejemplos de rodetes accionados magnéticamente, que pueden ser desechables y estar adaptados para un solo uso en algunos casos, se describen con más detalle más adelante.

30 Un aparato que incluye una mezcladora descrita en el presente documento puede permitir la retirada de porciones esencialmente homogéneas de un líquido del aparato. Por ejemplo, una porción líquida retirada del aparato puede ser esencialmente homogénea con respecto al líquido que queda en el aparato inmediatamente después de la retirada, de manera que la concentración de un componente (por ejemplo, un material en forma de partículas, objeto sólido, gas, nutriente, etc.) en la porción líquida retirada del aparato es sustancialmente equivalente a la concentración del componente en el líquido que queda en el aparato inmediatamente después de la retirada (es decir, difiere en concentración en una cantidad dentro de los límites como se define con respecto a "mezclado sustancialmente de forma homogénea" anterior). Cuando se combinan líquidos mezclados sustancialmente de forma homogénea con un sistema de reciclado de líquido (por ejemplo, un sistema donde una salida de un primer aparato está conectada a una entrada de un segundo aparato, y una salida del segundo aparato está conectada a una entrada del primer aparato), y opcionalmente con aparatos que incluyen uno o más componentes desechables (por ejemplo, bolsas plegables), los sistemas de la invención pueden tener una mayor eficacia en la formación de productos biológicos, químicos y/o farmacéuticos en comparación con los sistemas conocidos. Por ejemplo, cuando los sistemas de la invención se usan para cultivar células u organismos superiores para formar un producto, los líquidos bien mezclados en un aparato pueden aumentar la viabilidad de las células u organismos, a medida que los nutrientes requeridos por las células u organismos se dispersan bien dentro del líquido. De esta manera, el número y tamaño de zonas sin mezclar, que puede conducir a perturbaciones y a una formación de producto menos eficaz, puede disminuir.

45 Haciendo referencia de nuevo a la Figura 1, el sistema 10 puede incluir opcionalmente uno o más aparatos 48 en comunicación de fluido con el aparato 40. El aparato 48 puede comprender, por ejemplo, un sistema de mezcla que genera las soluciones a almacenar en uno o más aparatos 40. El aparato 48 puede incluir, en algunas realizaciones, un rodete accionado magnéticamente y/o una bolsa plegable, que pueden estar opcionalmente integrados juntos como una sola unidad y diseñados para ser desechables.

50 En algunas realizaciones, cada uno de los aparatos asociados con un sistema descrito en el presente documento (por ejemplo, el sistema 10 de la Figura 1) incluye uno o más componentes desechables. En algunas de tales realizaciones, cada uno de los aparatos incluye una bolsa plegable, desechable, (por ejemplo, un revestimiento).

55 Como se ha mencionado anteriormente, la comunicación de fluido entre cada uno de los aparatos puede ser continua o periódica. La comunicación de fluido periódica entre dos aparatos puede estar controlada por uno o más componentes tales como válvulas de control intermedias, válvulas de retención, bombas, o similares. La comunicación de fluido restringida entre los aparatos también puede tener lugar. Por ejemplo, un filtro u otro dispositivo pueden posibilitar que un líquido, pero no una cantidad sustancial de materiales en forma de partículas, objetos sólidos y/o agentes indeseables pasen de un aparato a otro. Además, uno o más manómetros de presión, sensores, bombas, y/u otros componentes pueden estar situados entre los aparatos para controlar el flujo, transferir fluido, o para otros fines.

60

Debe entenderse que no es necesario que todos los aparatos mostrados en la Figura 1 estén presentes en todas las realizaciones de la invención y que los aparatos ilustrados, por lo demás, pueden estar situados o configurados y ciertas realizaciones pueden emplear aparatos adicionales más allá de aquellos ilustrados. Por ejemplo, los aparatos adicionales que incluyen otros componentes de operación unitaria o elementos pueden estar presentes en otras realizaciones, como se describe con más detalle más adelante.

Opcionalmente, los aparatos descritos en el presente documento pueden incluir un recinto de contención medioambiental. Un "recinto de contención medioambiental" como se usa en el presente documento se refiere a un recinto que rodea, al menos parcialmente, y que crea un espacio sustancialmente cerrado o cerradizo (un "espacio cerrado") que tiene, cuando está en operación, un entorno estéril, aséptico, sustancialmente libre de partículas, o de contenido reducido de partículas dentro del recinto (en comparación con un entorno que rodea el recinto). El aparato de contención puede estar en comunicación de fluido con un sistema de ventilación que ayuda a mantener tal entorno dentro del aparato de contención. El sistema de ventilación puede ser externo al recinto o podía estar contenido parcial o completamente dentro del recinto. Como alternativa, en lugar de o además de un sistema de ventilación, puede usarse algún otro sistema de tratamiento medioambiental para crear y mantener un entorno estéril, aséptico, sustancialmente libre de partículas, o de contenido reducido de partículas, tal como, por ejemplo, un esterilizador ultravioleta y/u otra forma de radiación, una fuente de vapor, óxido de etileno y/u otro desinfectante, etc. Además de la descripción en el presente documento, los recintos de contención medioambiental, componentes, y procedimientos asociados con los mismos se describen con más detalle en una Solicitud de Patente Internacional y una Solicitud de Patente de Estados Unidos presentada el 13 de julio de 2007, titulada, "Environmental Containment Systems" de Galliher et al., cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia.

En ciertas realizaciones, especialmente en realizaciones que implican recipientes grandes, el recinto de contención medioambiental tiene una forma y/o contorno que es complementario a una forma y/o contorno de un recipiente al que está fijado el recinto para permitir el acceso a un material contenido en el recipiente desde diversas localizaciones alrededor del recipiente. La forma y/o contorno complementarios reduce también el tamaño global y/o espacio que ocupa la combinación de recipiente y recinto de contención. En ciertas realizaciones, el acceso se consigue sin someter al material a una atmósfera externa que rodea al recinto o recintos de contención medioambiental. Por consiguiente, tal contención medioambiental puede evitar y disminuir la cantidad de contaminación, por ejemplo, del personal, equipos y aire ambiente, de un material contenido en el recipiente o el grado de exposición de un usuario al material. Estos sistemas pueden ser particularmente útiles para producir y/o aislar toxinas u otros materiales infecciosos dentro del recipiente con una mejor seguridad.

Con la inclusión de contención medioambiental en los aparatos descritos en el presente documento, puede conseguirse la integridad y control del entorno dentro del aparato para una o más etapas de un procedimiento de fabricación. Por consiguiente, en algunas realizaciones, pueden usarse aparatos en un espacio ambiental no clasificado, ahorrando así los costes asociados por lo demás con la formación y/o mantenimiento de una instalación de sala limpia. Adicionalmente, las condiciones medioambientales dentro de los aparatos pueden clasificarse de una manera consistente con las clasificaciones apropiadas para un procedimiento normal para sistemas de fabricación típicos. Por ejemplo, un aparato usado para fermentación de biorreactor puede hacerse funcionar como desclasificado, mientras que los aparatos diseñados para purificación pueden clasificarse como Clase 10.000. Los entornos de un aparato lleno con una sustancia farmacéutica de siembra y a granel pueden clasificarse como entornos de Clase 100. Los expertos en la materia pueden determinar los entornos apropiados requeridos para realizar procedimientos de fabricación biológicos, químicos y/o farmacéuticos particulares. Adicionalmente, en algunas realizaciones, un sistema de tratamiento medioambiental que comprende un sistema de descontaminación *in situ* puede estar asociado con un aparato para limpiar el interior del aparato y/o para mantener un entorno estéril, aséptico, sustancialmente libre de partículas, o de contenido reducido de partículas dentro del aparato.

En algunas realizaciones, los aparatos de la invención están configurados como módulos móviles individuales que pueden estar interconectados con otros módulos. Los módulos pueden usarse, en algunas realizaciones, para realizar una serie de etapas relacionadas con un procedimiento de fabricación biológico, químico y/o farmacéutico (por ejemplo, biofarmacéutico) u otro procedimiento de manipulación de fluido. Por ejemplo, como se muestra en la realización ilustrada en la Figura 2, el sistema 60 incluye un primer aparato 62 que tiene ruedas 64 u otros componentes para facilitar el movimiento y/o portabilidad del aparato. Opcionalmente, el primer aparato puede conectarse al segundo aparato 66 mediante la conexión 72.

La conexión entre aparatos puede tener lugar a través de una variedad de medios tales como, por ejemplo, un tubo rígido o flexible, un cerrojo o similares. En algunos casos, se forma una conexión flexible entre los aparatos, permitiendo que cada uno de los aparatos se mueva en diferentes orientaciones con respecto al otro incluso cuando están interconectados. Por ejemplo, tras la comunicación de fluido entre aparatos, cada aparato puede moverse respecto al otro sin romper la conexión. Esta característica puede facilitar el transporte de los aparatos, especialmente alrededor de esquinas puntiagudas. La interconexión entre aparatos y los procedimientos asociados con los mismos se describen con más detalle en la Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Serie 11/050.133, presentada el 3 de febrero de 2005, titulada "System and Method for Manufacturing", de G. Hodge, et al., publicada como Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Publicación 2005/0226794 el 13 de octubre de 2005; la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US2005/002985, presentada el 3 de febrero de 2005, titulada "System and Method for Manufacturing", de G. Hodge, et al., publicada como WO 2005/076093 el 18 de agosto de

2005; y la Solicitud de Patente Internacional y la Solicitud de Patente de Estados Unidos presentada el 13 de julio de 2007 titulada, "Environmental Containment Systems" de Galliher et al., cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia.

5 La conexión entre los aparatos 62 y 66 puede formarse antes, durante, y/o después de que un procedimiento se haya realizado en el primer aparato 62. En algunas realizaciones, la conexión 72 permite la comunicación de fluido entre los aparatos. Esta disposición puede permitir, en algunos casos, que un material dentro del interior del aparato 62 se transfiera a una porción interior del aparato 66. En los aparatos que incluyen un recinto de contención medioambiental, la conexión puede implicar comunicación de fluido entre los recintos. La comunicación de fluido entre los recintos puede ocurrir independientemente, o junto con la comunicación de fluido entre los interiores de los aparatos. Opcionalmente, los aparatos pueden estar conectados físicamente pero sin comunicación de fluido entre los interiores de los aparatos.

15 La transferencia de un material desde el aparato 62 hasta el aparato 66 puede permitir que el material se procese o manipule adicionalmente en el aparato 66, que puede tener una funcionalidad diferente que la del aparato 62 (por ejemplo, un componente de operación unitaria diferente). Por ejemplo, aunque el aparato 62 puede incluir un recipiente en forma de un reactor para producir un material biológico, químico y/o farmacéutico, el aparato 66 puede incluir un recipiente configurado para purificar el material formado en el aparato 62.

20 Si se requiere procesamiento o manipulación adicional del material dentro del aparato 66, el aparato 66 puede interconectarse con el aparato 68 mediante la conexión 73 de una manera descrita anteriormente en relación con los aparatos 62 y 66. El aparato 68 puede estar diseñado y configurado para realizar un procedimiento diferente que el del aparato 66; por ejemplo, el aparato 66 puede incluir un recipiente que comprende un sistema de ultra-filtración, tal como un aparato de ultra-filtración con flujo tangencial. Por supuesto, aparatos adicionales pueden estar interconectados para realizar funciones de procesamiento adicionales.

25 En ciertas realizaciones, uno o más aparatos 62, 66, 68, y/o 70 pueden estar asociados con su propio sistema de ventilación, sistema de enfriamiento, sistema de control de retroalimentación y/u otro componente o sistema que pueda permitir que el aparato o aparatos funcionen independientemente de otra manera, si se desea.

30 Ventajosamente, los aparatos que están configurados para que sean individualmente móviles/portátiles pueden reconfigurarse después de su uso para realizar un segundo procedimiento biológico, químico o farmacéutico u otro procedimiento de manipulación de fluido dentro del aparato. Por ejemplo, después de que un material dentro del aparato 62 se haya transferido al aparato 66, los aparatos 62 y 66 pueden desconectarse y el aparato 62 puede usarse para realizar un segundo procedimiento. En algunos casos, el segundo procedimiento no está relacionado con el primer procedimiento; por ejemplo, el primer procedimiento puede consistir en formar un fármaco y el segundo procedimiento puede consistir en recolectar células. En otros casos, el segundo procedimiento está relacionado con el primer procedimiento; por ejemplo, el primer procedimiento puede consistir en formar un precursor de fármaco y el segundo procedimiento puede consistir en hacer reaccionar el precursor de fármaco con un compuesto para formar un fármaco.

40 El uso de componentes desechables dentro de los aparatos puede facilitar la reconfiguración de los aparatos. Por ejemplo, en una realización particular, el aparato 62 incluye un recipiente 65, que puede estar en forma de una bolsa plegable, desechable, que puede usarse como un recipiente de reacción biológica, química o farmacéutica. Después de que se haya realizado un primer procedimiento en la bolsa desechable, y el material se haya transferido del aparato 62 al aparato 66, la bolsa desechable puede retirarse del aparato 62 y puede insertarse una nueva bolsa desechable en su interior. Esta disposición puede permitir realizar un segundo procedimiento dentro del aparato 62 mientras el material transferido se procesa en el aparato 66. Análogamente, después de que se haya realizado el segundo procedimiento dentro del aparato 62, el material dentro del aparato puede transferirse al aparato 66. Como alternativa, el aparato 62 puede estar interconectado con el aparato 70 mediante la conexión 74. Por consiguiente, pueden realizarse uno o más procedimientos simultáneamente usando el sistema 60, ahorrando tiempo y espacio al usuario.

50 En otras realizaciones, el reciclado de líquido puede realizarse entre dos o más aparatos que son individualmente móviles o portátiles. Por ejemplo, una salida del aparato 66 puede estar conectada a una entrada del aparato 68 mediante la conexión 73 (por ejemplo, un tubo u otro dispositivo de transferencia de fluido) y una salida del aparato 68 puede estar conectada a una entrada del aparato 66 mediante la conexión 80. En algunos casos, un primer líquido que tiene una primera concentración de un componente fluye desde el aparato 66 hasta el aparato 68, y un segundo líquido que tiene una segunda concentración del componente fluye desde el aparato 68 hasta el aparato 66. La primera y segunda concentraciones pueden ser iguales en algunas realizaciones, y diferentes en otras realizaciones. Opcionalmente, una salida del aparato 62 puede estar conectada a una entrada del aparato 66. En algunos de tales sistemas, un líquido puede introducirse continuamente en el aparato 66 desde el aparato 62 y un líquido puede retirarse continuamente desde el aparato 66 hasta el aparato 68. En algunos casos, la transferencia de líquidos puede realizarse de manera que se mantiene un volumen sustancialmente constante en el aparato 66. Pueden realizarse también procedimientos con volumen no constante. Opcionalmente, una porción líquida retirada del aparato 66 puede ser sustancialmente homogénea con respecto al líquido que queda en el aparato 66 inmediatamente después de la retirada, de manera que la concentración de un componente (por ejemplo, un

material en forma de partículas, objeto sólido, gas, nutriente, etc.) en la porción líquida retirada del aparato es sustancialmente equivalente a la concentración del componente en el líquido que queda en el aparato inmediatamente después de la retirada.

5 Individualmente, los aparatos móviles pueden ser auto-suficientes y estar personalizados independientemente para realizar un procedimiento biológico, químico o farmacéutico específico. Esto puede permitir, por ejemplo, que el sistema 60 se personalice para realizar un procedimiento particular en una primera localización, se desmonte, y después se traslade a una segunda localización para realizar el mismo procedimiento en la segunda localización. Como cada aparato puede ser móvil y funcionar independientemente, el tiempo y la experiencia requeridos para ensamblar los aparatos en la segunda localización pueden ser mínimos. La automatización de los aparatos puede  
10 facilitar también el montaje y uso de los aparatos en la segunda localización, especialmente cuando los usuarios en la segunda localización no tienen formación o no están familiarizados con el sistema. Adicionalmente, si se desea, el uso de aparatos que tienen un recinto de contención medioambiental puede permitir que los aparatos se usen en entornos de sala que no es estéril ni limpia para procedimientos que requieren tales entornos, puesto que el espacio o espacios cerrados formados por el recinto o recintos de contención medioambiental pueden funcionar en  
15 condiciones estériles, asépticas, libres de partículas, o de contenido reducido de partículas. Esta característica puede ahorrar costes sustancialmente, puesto que puede que no se requiera una sala limpia u otras instalaciones.

Como se describe en el presente documento, una variedad de componentes en forma de objetos sólidos o entidades disueltos, suspendidos o contenidos de otra manera en un líquido pueden estar contenidos en los sistemas y aparatos de la invención. Los objetos sólidos o entidades pueden usarse, en algunos casos, para generar o facilitar  
20 la generación de uno o más productos. Los ejemplos no limitantes de objetos sólidos incluyen microsoportes (por ejemplo, esferas poliméricas, esferas sólidas, partículas gelatinosas, microperlas, y microdiscos que pueden ser porosos o no porosos), perlas reticuladas (por ejemplo, dextrano) cargadas con grupos químicos específicos (por ejemplo, grupos amina terciaria), microsoportes 2D que incluyen células atrapadas en fibras poliméricas no porosas, soportes 3D (por ejemplo, fibras de soporte, fibras huecas, reactores multicartucho, y membranas semi-permeables que pueden comprender fibras porosas), microsoportes que tienen una reducida capacidad de intercambio iónico, células, capilares, y agregados (por ejemplo, agregados de células).  
25

En algunos casos, los componentes contenidos en un líquido son viables y pueden incluir células u otras entidades. Los ejemplos no limitantes de componentes viables incluyen cultivos celulares derivados de fuentes tales como animales (por ejemplo, hámsteres, ratones, cerdos, conejos, perros, peces, camarones, nematodos, y seres  
30 humanos), insectos (por ejemplo, polillas y mariposas), plantas (por ejemplo, algas, maíz, tomate, arroz, trigo, cebada, alfalfa, caña de azúcar, caña de azúcar, patata, lechuga, altramuza, tabaco, semilla de soja (cánola), girasol, nabo, molasas de remolacha azucarera, semillas, cartamo y cacahuetes), bacterias, hongos y levaduras. En algunos casos, organismos enteros (por ejemplo, insectos, crustáceos, etc.) tales como los anteriores pueden estar contenidos en los aparatos descritos en el presente documento.

35 Los ejemplos no limitantes de células animales incluyen ovario de hámster chino (CHO), mieloma de ratón, MO035 (línea celular NS0), hibridomas (por ejemplo, células tipo linfocito-B condensadas con células tumorales de mieloma), riñón de hámster baby (BHK), mono COS, epitelial de riñón de mono verde africano (VERO), fibroblastos de embrión de ratón (NIH-3T3), fibroblastos de tejido conectivo de ratón (L929), endotelial de aorta bovina (BAE-1), similar a linfoblastoide de mieloma de ratón (NSO), linfoblastoide de linfoma de célula B de ratón (WEHI 231),  
40 linfoblastoide de linfoma de ratón (YAC 1), fibroblasto de ratón (LS), ratón hepático (por ejemplo, MC/9, NCTC clon 1469), y células de rata hepática (por ejemplo, ARL-6, BRL3A, H4S, Phi 1 (de células Fu5)).

Las células de seres humanos pueden incluir células tales como células retinianas (PER-C6), células de riñón embrionario (HEK-293), fibroblastos del pulmón (MRC-5), células epiteliales de cuello del útero (HELA), fibroblastos diploides (WI38), células epiteliales de riñón (HEK 293), células epiteliales del hígado (HEPG2), células de linfoblastoide de linfoma (Namalwa), células similares a linfoblastoide de leucemia (HL60), células de linfoblastoide de mieloma (U 266B1), neuroblastos de neuroblastoma (SH-SY5Y), células de la cepa celular diploide (por ejemplo, propagación del virus de la poliomielitis), células de la isleta pancreática, células madre embrionarias (hES), células madre mesenquimales humanas (MSC, que pueden diferenciarse en los linajes osteogénico, condrogénico, tenogénico, miogénico, adipogénico, y estroma de la médula, por ejemplo), células madre neurales humanas (NSC),  
50 células de linfoblastoide de linfoma histiocítico humano (U937), y células hepáticas humanas tales como WRL68 (de células embrionarias), PLC/PRF/5 (es decir, que contiene secuencias de hepatitis B), Hep3B (es decir, proteínas productoras de plasma: fibrinógeno, alfa-fetoproteína, transferrina, albúmina, complemento C3 y/o alfa-2-macroglobulina), y HepG2 (es decir, proteínas productoras de plasma: protrombina, antitrombina III, alfa-fetoproteína, complemento C3, y/o fibrinógeno).

55 En algunos casos, pueden cultivarse células de insectos (por ejemplo, baculovirus y ovario de *Spodoptera frugiperda* (las células Sf21 producen la línea Sf9)) y células de plantas y/o alimentos. Por ejemplo, células de fuentes tales como arroz (por ejemplo, cultivo de *Oryza sativa*, *Oryza sativa* cv Bengal callus, y *Oryza sativa* cv Taipei 309), semilla de soja (por ejemplo, *Glycine max* cv Williams 82), tomate (*Lycopersicon esculentum* cv Seokwang), y hojas de tabaco (por ejemplo, *Agrobacterium tumefaciens* que incluye Bright Yellow 2 (BY-2), *Nicotiana tabacum* cv NT-1, *N. tabacum* cv BY-2, y *N. tabacum* cv Petite Havana SR-1) pueden cultivarse en diversos tipos de aparatos como se describe en el presente documento.  
60

En otros casos, las células de diversas fuentes de bacterias, hongos, o levaduras pueden cultivarse en los aparatos. Los ejemplos no limitantes de bacterias incluyen *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas sp*, *Rhodococcus sp*, *Streptomyces sp*, y *Alcaligenes sp*. Las células fúngicas pueden cultivarse a partir de especies tales como *Aspergillus niger* y *Trichoderma reesei*, y las células de levadura pueden incluir células de *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae* cruzado con *S. bayanus*, *S. cerevisiae* cruzado con los genes LAC4 y LAC12 de *K. lactis*, *S. cerevisiae* cruzado con *Aspergillus shirousamii*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces diastasicus*, *Schwanniomyces occidentalis*, *S. cerevisiae* con genes de *Pichia stipitis*, y *Schizosaccharomyces pombe*.

Puede producirse una diversidad de productos finales diferentes en los aparatos descritos en el presente documento. Los productos pueden incluir proteínas (por ejemplo, anticuerpos y enzimas), vacunas, productos virales, hormonas, inmunorreguladores, metabolitos, ácidos grasos, vitaminas, fármacos, antibióticos, células, y tejidos. Los ejemplos no limitantes de proteínas incluyen activadores de plasminógeno de tejido humano (tPA), factores de coagulación sanguínea, factores de crecimiento (por ejemplo, citocinas, incluyendo interferones y quimiocinas), moléculas de adhesión, familia de proteínas Bcl-2, proteínas polihedrinadas, albúmina de suero humano, fragmento de anticuerpo scFv, eritropoyetina humana, cadena pesada monoclonal de ratón e IgG<sub>2b/k</sub> de ratón, IgG<sub>1</sub> de ratón, cadena pesada mAb, Briodina 1, interleucina-2 humana, interleucina-4 humana, ricina, una 1-antitripsina humana, fragmento de anticuerpo bisFcFv, inmunoglobulinas, granulocito humano, factor estimulante (hGM-CSF), antígeno superficial de hepatitis B (HBsAg), lisozima humana, IL-12, y mAb contra HBsAg. Los ejemplos de proteínas del plasma incluyen fibrinógeno, alfa-fetoproteína, transferrina, albúmina, complemento C3 y alfa-2-macroglobulina, protrombina, antitrombina III, alfa-fetoproteína, complemento C3 y fibrinógeno, insulina, antígeno superficial de hepatitis B, urato oxidasa, glucagón, granulocito-factor estimulante de colonia de macrófagos, hirudina/desirudina, angiostatina, inhibidor de elastasa, endostatina, análogo del factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento-1 similar a insulina, inhibidor de kalikreína, antitripsina  $\alpha$ -1, factor de necrosis tumoral, dominios de proteína de colágeno (pero no glicoproteínas de colágeno entero), proteínas sin subproductos metabólicos, albúmina humana, albúmina bovina, trombomodulina, transferrina, factor VIII para hemofilia A (es decir, de células CHO o BHK), factor VIIa (es decir, de BHK), factor IX para hemofilia B (es decir, de CHO), fosfatasa alcalina secretada por humanos, aprotinina, histamina, leucotrienos, receptores de IgE, N-acetilglucosaminil transferasa-III, y factor VIII antihemofílico.

Las enzimas pueden producirse a partir de una variedad de fuentes en los aparatos descritos en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de tales enzimas incluyen enzima híbrida YepACT-AMY-ACT-X24 de levadura,  $\alpha$ -amilasa de *Aspergillus oryzae*, xilanasas, urokinasa, activador de plasminógeno tisular (rt-PA), quimosina bovina, glucocerebrosidasa (enzima terapéutica para la enfermedad de Gaucher, de CHO), lactasa, tripsina, aprotinina, lactoferrina humana, lisozima, y oleosinas.

En algunos casos, pueden producirse vacunas. Los ejemplos no limitantes incluyen vacunas para cáncer de próstata, virus del papiloma humano, gripe viral, gripe por hemaglutinina trivalente, SIDA, VIH, malaria, antrax, meningitis bacteriana, varicela, corificiora, difteria, gripe hemofílica tipo B, hepatitis A, hepatitis B, tos ferina, peste, neumonía neumocócica, polio, rabias, rabias humanas, tétanos, fiebre tifoidea, fiebre amarilla, FMD veterinario, enfermedad de New Castle, enfermedad del pie y la boca, ADN, virus de la encefalitis equina venezolana, cáncer (cáncer de colon) vacunas (es decir, profilácticas o terapéuticas), MMR (sarampión, paperas, rubeola), fiebre amarilla, *Haemophilus influenzae* (Hib), DTP (vacunas de difteria y tétanos, con subunidad para tos ferina), vacunas relacionadas con polisacáridos (por ejemplo, Hib, *Neisseria meningococcus*), *Staphylococcus pneumoniae*, nicotina, esclerosis múltiple, encefalopatía espongiiforme bovina (enfermedad de las vacas locas), IgG1 (fosfonato éster), IgM (hapteno neuropéptido), SlgA/G (adhesina de *Streptococcus mutans*), inmunotoxina scFv-briodina 1 (CD-40), IgG (HSV), LSC (HSV), virus Norwalk, citomegalovirus humano, rotavirus, virus sincitial respiratorio F, diabetes mellitus autoinmune dependiente de insulina, diarrea, rinovirus, virus del herpes simple, y vacunas para el cáncer personalizadas, por ejemplo, para el tratamiento del linfoma (es decir, en forma inyectable, oral, o comestible). En algunos casos, pueden producirse vacunas con subunidad recombinante, tales como proteína de la envoltura del virus de la hepatitis B, glicoproteína del virus de la rabia, enterotoxina termo-lábil de *E. coli*, proteína de la cápsida del virus Norwalk, diabetes autoantigénica, subunidad de la toxina B de corificiora, subunidades B y dA2 de toxina de corificiora, enterotoxina de rotavirus y *E. coli* enterotoxigénico, antígeno de fusión fimbrial, y glicoproteína S del virus de la gastroenteritis transmisible porcina.

Puede ser deseable, en algunos casos, producir productos virales en los sistemas de la invención. Los ejemplos no limitantes de productos virales incluyen sindbis, VSV, oncorina, hepatitis A, virus del canal de pez gato, RSV, virus corona, FMDV, rabias, polio, reo virus, sarampión, y paperas.

Las hormonas son otra clase de productos finales que pueden producirse en los aparatos descritos en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de hormonas incluyen hormona del crecimiento (por ejemplo, hormona del crecimiento humana (hGH) y hormona del crecimiento bovina), factores de crecimiento, interferón beta y gamma, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), somatostatina, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), hormona estimulante de folículo (FSH), hormona luteinizante, hormona coriónica humana, y eritropoyetina.

Los inmunorreguladores pueden producirse también en los aparatos descritos en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de inmunorreguladores incluyen interferones (por ejemplo, interferón-beta (para esclerosis

múltiple), interferón-alfa e interferón-gamma) e interleucinas (tales como IL-2).

Pueden producirse también metabolitos (por ejemplo, sikonina y paclitaxel) y ácidos grasos (es decir, incluyen ácidos grasos de cadena lineal (por ejemplo, ácido adípico, ácido azelaico, 2-hidroxi ácidos), de cadena ramificada (por ejemplo, ácido 10-metil octadecanoico y ácido retinoico), que incluyen anillos (por ejemplo, ácido coronárico y ácido lipoico), y ácidos grasos complejos (por ejemplo, acil-CoA graso)).

En ciertas realizaciones, los aparatos descritos en el presente documento forman al menos una parte de un sistema de biorreactor. El sistema de biorreactor puede contener o producir una o más de las entidades descritas anteriormente. Un ejemplo no limitante de un sistema de biorreactor que incluye un contenedor, tal como un contenedor flexible, se muestra en el diagrama esquemático de la Figura 3. Como se muestra en la realización ilustrada en la Figura 3, el aparato 100 incluye un recipiente 114 que, en la realización ilustrada, es una estructura de soporte reutilizable (por ejemplo, un tanque de acero inoxidable) que rodea y contiene un contenedor 118. Opcionalmente, el aparato 100 puede incluir un recinto 120 de contención medioambiental, que rodea una porción del recipiente 114.

En algunas realizaciones, el contenedor 118 está configurado como una bolsa plegable (por ejemplo, una bolsa polimérica). Adicionalmente o como alternativa, toda o porciones de la bolsa plegable u otro contenedor pueden estar formadas de un material sustancialmente rígido tal como un polímero rígido, metal y/o vidrio. En otras realizaciones, se usa un contenedor rígido en esta configuración, en la que las paredes internas del recipiente 114 están en contacto directo con el líquido, y el contenedor 118 no está presente. El contenedor 118 puede ser desechable y puede estar configurado para retirarlo fácilmente de la estructura 114 de soporte. Por consiguiente, el contenedor 118 puede estar fijado de forma reversible a la estructura de soporte (es decir, puede separarse a mano o con herramientas sin dañar los componentes). En otras realizaciones, el contenedor 118 puede estar fijado irreversiblemente a una estructura 114 de soporte. Como se usa en el presente documento, el término "fijado irreversiblemente", cuando se refiere a dos o más objetos, significa que la separación de los dos o más objetos requiere provocar daño a al menos uno de los objetos (o componentes del objeto), por ejemplo, por rotura o desgarro (por ejemplo, al separar componentes sujetos juntos mediante adhesivos, herramientas, etc.).

Si se usa una bolsa plegable, la bolsa 118 plegable puede ser hermética a fluidos para permitir que contenga un líquido 122, que puede contener reactivos (por ejemplo, ciertos objetos sólidos), medios y/u otros componentes necesarios para realizar un procedimiento deseado tal como una reacción química, bioquímica y/o biológica. La bolsa 118 plegable puede estar configurada también de manera que el líquido 122 permanezca sustancialmente en contacto únicamente con la bolsa plegable durante el uso y no esté en contacto con el recipiente 114 de soporte. En tales realizaciones, la bolsa puede ser desechable y usarse para una sola reacción o una sola serie de reacciones, después de que la bolsa se deseche. Debido a que el líquido en la bolsa plegable en tales realizaciones no entra en contacto con la estructura 114 de soporte, la estructura de soporte puede reutilizarse sin limpiarla. Es decir, después de que una reacción tiene lugar en el contenedor 118, el contenedor puede retirarse de la estructura 114 de soporte y reemplazarse por un segundo contenedor (por ejemplo, desechable). Puede realizarse una segunda reacción en el segundo contenedor sin tener que limpiar el primer contenedor o la estructura de soporte reutilizable.

En la Figura 3 se muestra también un puerto 142 de entrada opcional y un puerto 146 de salida opcional, que pueden estar formados en el contenedor 118 y/o en la estructura 114 de soporte reutilizable y pueden facilitar la introducción y retirada conveniente de un líquido y/o gas del contenedor. El contenedor puede tener cualquier número adecuado de puertos de entrada y cualquier número adecuado de puertos de salida. Por ejemplo, puede usarse una pluralidad de puertos de entrada para proporcionar diferentes composiciones de gas (por ejemplo, a través de una pluralidad de rociadores 147), y/o para permitir la separación de los gases antes de su introducción en el contenedor. Estos puertos pueden estar situados en cualquier localización adecuada con respecto al contenedor 118. Por ejemplo, para ciertos aparatos que incluyen rociadores, el contenedor puede incluir uno o más puertos de entrada de gas localizados en una parte inferior del contenedor. Los tubos pueden estar conectados a los puertos de entrada y/o salida para formar, por ejemplo, conductos de suministro y recolección, respectivamente, para introducir y retirar líquido del contenedor. Opcionalmente, el contenedor y/o estructura de soporte puede incluir una torre 150 de servicio, que puede proporcionarse para facilitar la interconexión de uno o más dispositivos internos al contenedor y/o estructura de soporte con una o más bombas, controladores, y/o componentes electrónicos (por ejemplo, componentes electrónicos detectores, interfaces electrónicas, y controladores de gas presurizado) u otros dispositivos. Tales dispositivos pueden controlarse usando un sistema 134 de control.

Para los sistemas que incluyen múltiples rociadores, el sistema 134 de control puede estar asociado operativamente con cada uno de los rociadores y configurado para hacer funcionar los rociadores independientemente entre sí. Esto puede permitir, por ejemplo, el control de múltiples gases que se están introduciendo en el contenedor. En general, como se usa en el presente documento, un componente de un sistema que está "asociado operativamente con" uno o más componentes distintos indica que tales componentes están conectados entre sí directamente, en contacto físico directo entre sí sin estar conectados o fijados entre sí, o no están conectados directamente entre sí o en contacto entre sí, sino que están interconectados mecánicamente, magnéticamente, eléctricamente (incluyen a través de señales electromagnéticas transmitidas a través del espacio), o fluidicamente, de manera que provoca o posibilita que los componentes así asociados realicen su funcionalidad pretendida.

El aparato 100 puede incluir opcionalmente un sistema de mezcla tal como un rodete 151 situado dentro del contenedor 118, que puede hacerse girar (por ejemplo, alrededor de un solo eje) usando un motor 152 que puede ser externo (o interno) respecto al contenedor. En algunas realizaciones, como se describe con más detalle más adelante, el rodete y el motor están acoplados magnéticamente. En algunos casos, una placa base está fijada (por ejemplo, reversible o irreversiblemente) al contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable). La placa base puede estar configurada para soportar un rodete para formar una "placa de rodete" o un "soporte de rodete". El rodete puede estar fijado a o soportado de otra manera por la placa base, por ejemplo, mediante un árbol, un cojinete y/o mediante otro componente. En algunos casos, el rodete está accionado magnéticamente y está fijado a la placa base a través de un árbol, un cojinete y/o mediante otro componente. El sistema de mezcla puede estar controlado por el sistema 134 de control. Los sistemas de mezcla se describen con mayor detalle más adelante.

Adicionalmente y/o como alternativa, el aparato puede incluir un sistema antiespumante tal como un dispositivo antiespumante mecánico (no mostrado). El dispositivo antiespumante puede incluir, por ejemplo, un rodete dentro del contenedor 118 situado cerca de la parte superior del contenedor que puede girar (por ejemplo, magnéticamente) usando un motor, que puede ser externo o interno respecto al contenedor. El rodete puede usarse para colapsar una espuma contenida en un espacio de cabeza del contenedor. En algunas realizaciones, el sistema antiespumante está en comunicación eléctrica con un sensor (por ejemplo, un sensor de espuma) a través de un sistema de control. El sensor puede determinar, por ejemplo, el nivel o cantidad de espuma en el espacio de cabeza o la presión en el contenedor, que puede desencadenar la regulación o control del sistema antiespumante. En otras realizaciones, el sistema antiespumante funciona independientemente de cualquier sensor. Los sistemas antiespumantes se describen con más detalle en una Solicitud PCT titulada, "Gas Delivery Configurations, Foam Control Systems, and Bag Molding Methods and Articles for Collapsible Bag Vessels", presentada el 15 de junio de 2007, que se incorpora en el presente documento por referencia.

La estructura 114 de soporte y/o el contenedor 118 pueden incluir también, en algunas realizaciones, uno o más puertos 154 que pueden usarse para muestrear, analizar (por ejemplo, determinar el pH y/o la cantidad de gases disueltos en el líquido), o para otros fines. Estos puertos pueden estar alineados con uno o más puertos 156 de acceso del recinto 120 de contención medioambiental opcional. Como se muestra en la realización ilustrativa, el recinto de contención medioambiental tiene una forma y contorno que es complementario a una forma y contorno de la estructura 114 de soporte en la que está fijado el recinto para permitir el acceso a un material contenido en el contenedor desde diversas localizaciones alrededor del contenedor. Un recinto de contención medioambiental con forma y contorno complementarios puede reducir también el tamaño global y/o espacio que ocupa la combinación de estructura de soporte, contenedor y recinto de contención medioambiental. Esta característica es especialmente muy adecuada para contenedores grandes, donde el acceso a los puertos y/u otros componentes alrededor de la estructura 114 de soporte y/o el contenedor 118 puede ser, por lo demás, bastante difícil. De esta manera, un usuario situado fuera del recinto de contención medioambiental puede acceder a un material dentro del contenedor a través de los puertos sin someter al material a la atmósfera 20 que rodea el recinto. El recinto de contención medioambiental puede evitar o disminuir la cantidad de contaminación, por ejemplo, por parte del personal, los equipos y el aire ambiente, de un material contenido en el sistema y/o el grado de exposición del material a un usuario.

Como se muestra, la estructura 114 de soporte puede incluir también uno o más ventanas 160 de zona para visualizar el nivel de líquido dentro del contenedor 118. Como alternativa, la estructura 114 de soporte reutilizable puede formarse de un material transparente para permitir el acceso visual dentro del contenedor 118. El recinto 120 de contención medioambiental puede estar formado también de un material transparente para permitir el acceso visual al interior del recinto.

Una o más conexiones 164 pueden estar situadas en la parte superior del contenedor 118 o en cualquier otra localización adecuada. Las conexiones 164 pueden incluir aberturas, tubos y/o válvulas para añadir o extraer líquidos, gases y similares del contenedor 118, cada uno de los cuales puede incluir opcionalmente un sensor de flujo y/o un filtro (no mostrado). Opcionalmente, las conexiones 164 pueden estar en comunicación de fluido con los puertos 165 de introducción y extracción de gas.

En algunas realizaciones, una o más conexiones 172 y 174 pueden estar situadas en una parte superior del recinto 120 de contención medioambiental o en cualquier otra localización adecuada. Las conexiones 172 y 174 pueden incluir aberturas, tubos y/o válvulas para añadir o extraer gases y similares del recinto 120 de contención medioambiental, cada uno de los cuales puede incluir opcionalmente un sensor de flujo y/o filtro (no mostrado). Opcionalmente, las conexiones 172 y 174 pueden conectarse a un sistema 170 de ventilación y pueden estar en comunicación de fluido con el espacio cerrado definido por el hueco 130. Por ejemplo, la conexión 172 puede ser una entrada de gas para introducir un gas en el espacio cerrado y la conexión 174 puede ser una salida de gas para la retirada de un gas del espacio cerrado. El sistema 170 de ventilación puede incluir filtros (por ejemplo, filtros HEPA) y puede estar configurado y funcionar bajo el control del sistema 134 de control, para crear y mantener un entorno estéril, aséptico, sustancialmente libre de partículas, o de contenido reducido de partículas.

El aparato 100 puede incluir, en algunas realizaciones, uno o más puertos 180 de conexión para interconectar el interior de una estructura 114 de soporte reutilizable (por ejemplo, el hueco 132) con el interior de un segundo aparato. Adicionalmente o como alternativa, el aparato puede incluir uno o más puertos 182 de conexión adaptados



- 5 para conectar el interior del contenedor 118 (por ejemplo, el interior 56) con el interior de un interior del segundo aparato. Estos puertos pueden facilitar la transferencia de un material desde el interior 56 hasta el segundo aparato o a otro contenedor adecuado (por ejemplo, una bolsa sellada). La transferencia puede realizarse, por ejemplo, bombeando el material a través de las tuberías (por ejemplo, por bombea peristáltico o aplicando una presión positiva a una entrada), mediante el uso de la gravedad y/o mediante la aplicación de un vacío.
- La estructura 114 de soporte puede incluir adicionalmente una pluralidad de soportes 186, opcionalmente con ruedas 188 para facilitar el transporte del aparato. Los soportes pueden incluir, en algunas realizaciones, células de carga que pueden usarse para determinar el peso de un líquido dentro del contenedor.
- 10 Debe entenderse que no es necesario que todas las características mostradas en la Figura 3 estén presentes en todas las realizaciones de la invención y que los elementos ilustrados pueden estar situados o configurados de otra manera. También, los elementos adicionales pueden estar presentes en otras realizaciones, tales como los elementos descritos con más detalle más adelante.
- 15 Diversas realizaciones descritas en el presente documento incluyen un contenedor tal como una bolsa plegable. Los términos "contenedor flexible", "bolsa flexible" o "bolsa plegable", como se usan en el presente documento, indican que el contenedor o bolsa es incapaz de mantener su forma y/o integridad estructural cuando se somete a presiones internas (por ejemplo, debido al peso y/o presión hidrostática de los líquidos y/o gases contenidos en su interior esperadas durante la operación) sin el beneficio de una estructura de soporte separada. La bolsa plegable puede estar fabricada de materiales inherentemente flexibles, tales como muchos plásticos, o puede estar fabricada de lo que normalmente se consideran materiales rígidos (por ejemplo, vidrio o ciertos metales) pero que tienen un espesor y/o propiedades físicas que hacen al contenedor en su conjunto incapaz de mantener su forma y/o integridad estructural cuando se somete a las presiones internas esperadas durante la operación sin el beneficio de una estructura de soporte separada. En algunas realizaciones, las bolsas plegables incluyen una combinación de materiales flexibles y rígidos; por ejemplo, la bolsa puede incluir componentes rígidos tales como conexiones, puertos, soportes para un sistema de mezcla y/o antiespumante, etc.
- 20 Un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) puede tener cualquier tamaño adecuado para contener un líquido. Por ejemplo, el contenedor puede tener un volumen entre 1-40 l, 40-100 l, 100-200 l, 200-300 l, 300-500 l, 500-750 l, 750-1.000 l, 1.000-2.000 l, 2.000-5.000 l, o 5.000-10.000 l. En algunos casos, el contenedor tiene un volumen mayor de 1 l, o en otros casos, mayor de 10 l, 20 l, 40 l, 100 l, 200 l, 500 l o 1.000 l. También son posibles volúmenes mayores de 10.000 l.
- 25 En algunas realizaciones, la bolsa plegable es desechable y está formada de un material flexible adecuado. El material flexible puede ser uno que está certificado como USP Clase VI, por ejemplo, silicona, policarbonato, polietileno, y polipropileno. Los ejemplos no limitantes de materiales flexibles incluyen polímeros tales como polietileno (por ejemplo, polietileno de baja densidad lineal y polietileno de densidad ultra baja), polipropileno, policloruro de vinilo, polidicloruro de vinilo, cloruro de polivinilideno, acetato de etilen vinilo, policarbonato, polimetacrilato, alcohol polivinílico, nylon, caucho de silicona, otros cauchos sintéticos y/o plásticos. Como se ha indicado anteriormente, las porciones del contenedor flexible pueden comprender un material sustancialmente rígido tal como un polímero rígido (por ejemplo, polietileno de alta densidad), metal y/o vidrio (por ejemplo, en áreas para soportar accesorios, etc.). En otras realizaciones, el contenedor está fabricado de un material sustancialmente rígido. Todo o algunas porciones del contenedor pueden ser ópticamente transparentes para permitir la visualización de los contenidos dentro del contenedor. Los materiales o combinación de materiales usados para formar el contenedor pueden elegirse en base a una o más propiedades tales como flexibilidad, resistencia a pinchazos, resistencia a tracción, permeabilidades a líquido y gas, opacidad, y adaptabilidad a ciertos procedimientos tales como moldeo por soplado, moldeo por inyección, o moldeo por colada y centrifugación (por ejemplo, para formar bolsas plegables sin costuras).
- 30 Un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) puede tener cualquier espesor adecuado para contener un líquido y puede estar diseñado para tener una cierta resistencia a pinchazos durante la operación o mientras se manipula. Por ejemplo, las paredes de un contenedor pueden tener un espesor total de menos de o igual a 6.350 micrómetros, menos de o igual a 5.080 micrómetros, menos de o igual a 2.540 micrómetros, menos de o igual a 1.778 micrómetros, menos de o igual a 1.270 micrómetros, menos de o igual a 635 micrómetros, menos de o igual a 381 micrómetros, o menos de o igual a 254 micrómetros. En algunas realizaciones, el contenedor incluye más de una capa de material que pueden estar laminadas juntas o fijadas de otra manera entre sí para conferir ciertas propiedades al contenedor. Por ejemplo, una capa puede estar formada de un material que es sustancialmente impermeable al oxígeno. Otra capa puede estar formada de un material para conferir resistencia al contenedor. Puede incluirse otra capa más para conferir resistencia química a un fluido que puede estar contenido en el contenedor. Debe entenderse que un contenedor puede estar formado de cualquier combinación adecuada de capas. El contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) puede incluir, por ejemplo, 1 capa, más de o igual a 2 capas, más de o igual a 3 capas, o más de o igual a 5 capas de materiales. Cada capa puede tener un espesor de, por ejemplo, menos de o igual a 5.080 micrómetros, menos de o igual a 2.540 micrómetros, menos de o igual a 1.270 micrómetros, menos de o igual a 635 micrómetros, menos de o igual a 381 micrómetros, menos de o igual a 254 micrómetros, menos de o igual a 127 micrómetros, o menos de o igual a 76,2 micrómetros, o combinaciones de los mismos.
- 35  
40  
45  
50  
55  
60

En un conjunto de realizaciones de la invención, el contenedor es sin costuras. El contenedor puede ser, por ejemplo, una bolsa plegable sin costuras o un contenedor rígido (o semi-rígido) sin costuras. Muchas de las bolsas plegables existentes se construyen a partir de dos láminas de un material plástico unidas por unión térmica o química para formar un contenedor que tiene dos costuras longitudinales. Los extremos abiertos de las láminas se sellan después usando técnicas conocidas y se forman aberturas de acceso a través de la pared del contenedor. Durante el uso, las bolsas plegables que tienen costuras pueden provocar la formación de grietas en o cerca de las costuras donde los fluidos o reactivos contenidos en su interior no se mezclan minuciosamente. En ciertas realizaciones que implican, por ejemplo, el uso de bolsas plegables para realizar una reacción química, bioquímica y/o biológica, reactivos sin mezclar pueden provocar una reducción en el rendimiento de un producto deseado. La presencia de costuras en una bolsa plegable puede dar como resultado también la incapacidad de la bolsa plegable a adaptarse a la forma de una estructura de soporte reutilizable que puede soportar la bolsa. Usando bolsas plegables sin ninguna costura en una, dos o más porciones de pared flexible de la bolsa, sin embargo, los problemas de mezcla y conformidad pueden evitarse o reducirse. En ciertas realizaciones, las bolsas plegables sin costuras pueden fabricarse específicamente para ajustarse a una estructura de soporte reutilizable particular que tiene una forma y configuración únicas. Pueden usarse bolsas plegables para accesorios sustancialmente perfectas, por ejemplo, como parte de un sistema de biorreactor o un sistema de reacción bioquímica y/o química. Los contenedores rígidos o semi-rígidos sin costuras también pueden ser beneficiosos en algunos casos.

En una realización, se forma una bolsa plegable sin costuras en un procedimiento en el que el revestimiento de la bolsa (por ejemplo, las porciones de pared flexible de la bolsa), así como uno o más componentes tales como un componente de un sistema de agitador/mezcladora (por ejemplo, un árbol y/o una base de soporte), puerto, etc. se cuele desde un suministro continuo de un material precursor polimérico. En algunos casos, la colada puede ocurrir sin sellado hermético, por ejemplo, por soldadura. Tal bolsa plegable sin costuras puede permitir que el líquido interior u otro producto entre en contacto con una superficie generalmente uniforme, por ejemplo, una que no contenga arrugas, pliegues, grietas sustanciales o similares. Además, en algunos casos, la bolsa plegable se ajusta complementariamente dentro de una estructura de soporte cuando se instala y carga con un líquido o un producto. La bolsa plegable sin costuras puede tener también una superficie química polimérica generalmente uniforme que, por ejemplo, puede minimizar las reacciones secundarias. Pueden realizarse también procedimientos para formar bolsas plegables sin costuras implican más de un material precursor polimérico.

Las bolsas plegables sin costuras pueden crearse por una variedad de procedimientos. En una realización, una bolsa plegable sin costuras se forma inyectando un plástico líquido en un molde que se ha equipado previamente con componentes tales como puertos, conexiones, soportes y porciones rígidas configuradas para soportar un sistema de mezcla (por ejemplo, un árbol y/o una base) que posteriormente se rodean, sumergen y/o embeben por el plástico líquido. El componente puede ser un componente rígido, por ejemplo, uno que puede mantener sustancialmente su forma y/o integridad estructural durante el uso. Cualquier número adecuado de componentes (por ejemplo, al menos 1, 2, 5, 10, 15, etc.) puede estar integrado con los contenedores (por ejemplo, bolsas plegables) usando los procedimientos descritos en el presente documento. El molde puede estar diseñado para formar una bolsa plegable que tiene la forma y el volumen del molde, que puede tener una forma, volumen y/o configuración sustancialmente similar de una estructura de soporte reutilizable.

En una realización, un contenedor se forma usando un componente embebido/ técnica de moldeo lineal (ECM). En una técnica de este tipo, componentes rígidos o pre-fabricados tales como puertos tubulares, bases de agitador, etc. se sitúan en primer lugar en el molde. Puede introducirse un polímero o precursor de polímero usado para formar un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable sin costuras) (por ejemplo, en un estado fundido) por una técnica de fabricación de polímeros tal como las descritas a continuación. En algunos casos, un componente o una porción del componente se funde parcialmente con el precursor de polímero, permitiendo que el componente forme un elemento continuo con el contenedor. Es decir, el componente puede unirse (por ejemplo, fundirse) con una o más porciones de pared del contenedor (por ejemplo, porciones de pared flexible de una bolsa plegable) para formar una sola pieza, integral, de material sin costuras. Tal técnica puede usarse para formar, por ejemplo, un árbol asociado con una placa base que está fijada integralmente a una bolsa plegable y/o una placa base sin un árbol que esté fijado integralmente a la bolsa plegable.

En ciertas realizaciones, especialmente en ciertas realizaciones que implican manipulaciones de fluido o realización de una reacción química, bioquímica y/o biológica en un recipiente, el recipiente está sustancialmente cerrado, por ejemplo, el recipiente está sustancialmente sellado del entorno fuera del contenedor excepto, en ciertas realizaciones, por uno o más puertos de entrada y/o salida que permiten la adición a, y/o extracción de contenidos del recipiente. Si se usa una bolsa plegable, puede desinflarse sustancialmente antes de llenarla con un líquido, y puede empezar a inflarse a medida que se llena con el líquido. En otras realizaciones, los aspectos de la invención pueden aplicarse a sistemas de recipiente abierto.

En algunos casos, los líquidos pueden introducirse y/o retirarse de un aparato, recipiente, contenedor o componente de operación unitaria a través de puertos de entrada y/o puertos de salida. El aparato o recipiente puede ser una parte de o estar en forma de un sistema de reactor para realizar una reacción biológica, bioquímica o química, o puede estar en forma de un componente de operación unitaria tal como un sistema de filtración, sistema de expansión de cultivo de semillas, sistema de recuperación primaria, sistema de cromatografía, sistema de carga, sistema cerrado de preparación de medio/tampón, y sistema de purificación de agua, por ejemplo. El aparato o

recipiente puede tener cualquier número adecuado de puertos de entrada y cualquier número adecuado de puertos de salida. En algunos casos, pueden usarse bombas, tales como bombas desechables, para introducir un gas u otro fluido en el recipiente, por ejemplo, a través de un puerto de entrada y/o pueden usarse para retirar un gas u otro fluido del recipiente, por ejemplo, a través de un puerto de salida.

5 En ciertas realizaciones, un aparato o recipiente puede estar en forma de una estructura de soporte, por ejemplo, el recipiente 114 como se muestra en la Figura 3, que puede rodear y contener el contenedor 118. La estructura de soporte puede tener cualquier forma adecuada capaz de rodear y/o contener el contenedor. En algunas realizaciones, la forma de la estructura de soporte es sustancialmente similar a la forma del contenedor. Adicionalmente, una o más paredes del contenedor pueden adaptarse a y/o apoyarse contra las paredes de la estructura de soporte. Por ejemplo, toda o una porción la estructura de soporte puede rodear al contenedor, que incluye una o más partes laterales, partes superiores y/o partes inferiores del contenedor. En algunos casos, la estructura de soporte puede estar configurada de manera que al menos el 50%, al menos 60%, al menos el 75%, al menos el 90% o al menos el 95% del área superficial externa del contenedor esté rodeada por la estructura de soporte.

15 En algunos casos, la estructura de soporte es reutilizable. La estructura de soporte puede estar formada de un material sustancialmente rígido. Los ejemplos no limitantes de materiales que pueden usarse para formar la estructura de soporte reutilizable incluyen acero inoxidable, aluminio, vidrio, fibra de vidrio o fibra de carbono impregnada con resina, polímeros (por ejemplo, polietileno de alta densidad, poliacrilato, policarbonato, poli estireno, nylon u otras poliamidas, poliéster es, polímeros fenolitos y combinaciones de los mismos. Los materiales pueden certificarse para su uso en el entorno en el que se usan. Por ejemplo, pueden usarse materiales anti-desprendimiento en entornos donde se requiere una generación mínima de material en forma de partículas.

25 En algunas realizaciones, la estructura de soporte reutilizable puede estar diseñada para tener una altura y diámetro similares a los biorreactores de acero inoxidable de tamaño industrial convencionales (u otros reactores o recipientes convencionales). El diseño puede reducirse de escala también a sistemas de reactor a escala experimental de pequeño volumen. Por consiguiente, la estructura de soporte reutilizable puede tener cualquier volumen adecuado para realizar una reacción química, bioquímica y/o biológica deseada. En muchos casos, la estructura de soporte reutilizable tiene un volumen sustancialmente similar al del contenedor. Por ejemplo, puede usarse una estructura de soporte reutilizable individual para soportar y contener un único contenedor que tiene un volumen sustancialmente similar. En otros casos, sin embargo, se usa una estructura de soporte reutilizable para contener más de un contenedor. La estructura de soporte reutilizable puede tener un volumen entre, por ejemplo, 1-100 l, 100-200 l, 200-300 l, 300-500 l, 500-750 l, 750-1,000 l, 1,000-2,000 l, 2,000-5,000 l o 5,000-10,000 l. En algunos casos, la estructura de soporte reutilizable tiene un volumen mayor de 1 l, o en otros casos, mayor de 10 l, 20 l, 40 l, 100 l, 200 l, 500 l, o 1,000 l. Son posibles también volúmenes mayores de 10.000 l.

35 En otras realizaciones, sin embargo, un aparato o recipiente descrito en el presente documento no incluye un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) y una estructura de soporte diferentes, si no que en lugar de ello comprende un contenedor desechable o reutilizable auto-soportable. El contenedor puede ser, por ejemplo, un recipiente de plástico y, en algunos casos, puede incluir un sistema de agitación fijado integralmente, irreversiblemente, o de forma retirable al mismo. El sistema de agitación puede ser desechable junto con el contenedor. En una realización particular, tal sistema incluye un rodete soldado o empernado a un contenedor polimérico. Por lo tanto, debe entenderse que muchos de los aspectos y características de los recipientes descritos en el presente documento con referencia a un contenedor y una estructura de soporte (por ejemplo, un contenedor sin costuras, un sistema de rociado, un dispositivo antiespumante, etc.), son también aplicables a un contenedor desechable auto-soportable.

45 Adicionalmente, un aparato o recipiente puede incluir diversos sensores y/o sondas para controlar y/o supervisar uno o más parámetros de procedimiento dentro del aparato o recipiente tal como, por ejemplo, temperatura, presión, pH, oxígeno disuelto (OD), dióxido de carbono disuelto (CO<sub>2</sub>D), velocidad de mezcla, y caudal de gas. El sensor puede ser también un sensor óptico en algunos casos.

50 En algunas realizaciones, el control del procedimiento puede conseguirse de maneras que no comprometen la barrera estéril establecida por un recipiente, contenedor, o recinto de contención medioambiental. Por ejemplo, el flujo de gas puede supervisarse y/o controlarse por un rotámetro o un medidor de flujo másico aguas arriba de un filtro de aire de entrada. En otra realización, pueden diseñarse sondas ópticas desechables para el uso de "parches" de material que contienen un tinte indicador que puede montarse sobre la superficie interna del contenedor desechable y leerse a través de la pared del contenedor desechable a través de una ventana en la estructura de soporte reutilizable. Por ejemplo, cada uno de oxígeno disuelto, pH, y/o CO<sub>2</sub> puede supervisarse y controlarse mediante un parche óptico y sensor montados, por ejemplo, sobre un polímero biocompatible irradiable con rayos gamma que, puede estar sellado a, embebido en, u fijado de otra manera a la superficie del contenedor.

60 Un aparato o recipiente puede estar asociado operativamente con un controlador de temperatura que puede ser, por ejemplo, un cambiador de calor, una camisa de agua de bucle cerrado, una manta calefactora eléctrica, o un calentador de Peltier. Otros calentadores para calentar un líquido dentro de un recipiente son conocidos por los expertos en la materia y pueden usarse también en combinación con los aparatos descritos en el presente

documento. El calentador puede incluir también un termopar y/o un detector de temperatura por resistencia (DTR) para detectar una temperatura de los contenidos dentro del recipiente. El termopar puede estar conectado operativamente al controlador de temperatura para controlar la temperatura de los contenidos en el recipiente. Opcionalmente, un material conductor del calor puede estar embebido en la superficie del recipiente para proporcionar una superficie de transferencia de calor para superar el efecto aislante del material usado para formar otras porciones del recipiente.

El enfriamiento de un aparato lo puede proporcionar también un sistema de enfriamiento de camisa de agua de bucle cerrado, un sistema de enfriamiento montado en el aparato, o por intercambio de calor convencional a través de una cubierta/camisa asociada con un aparato, por ejemplo, sobre una estructura de soporte reutilizable (por ejemplo, la manta térmica o una unidad doble empaquetada que proporciona calentamiento y enfriamiento puede ser un componente de un dispositivo configurado para ambos calentamiento/enfriamiento pero también para separar de una camisa de enfriamiento). El enfriamiento puede ser proporcionado también por enfriadores de Peltier. Por ejemplo, puede aplicarse un enfriador de Peltier a una tubería de gases de escape para condensar el gas en el aire de escape para ayudar a prevenir que un filtro de escape se humedezca. En algunos casos, puede usarse un refrigerante tal como etilenglicol u otro líquido que puede enfriarse a una baja temperatura en un dispositivo de enfriamiento.

En ciertas realizaciones, un aparato incluye enfriamiento de gas para enfriar el espacio de cabeza y/o escape de salida. Por ejemplo, puede proporcionarse un enfriamiento con camisa, enfriamiento electrotérmico y/o químico, o un cambiador de calor en una tubería de aire de salida y/o en el espacio de cabeza de un contenedor. Este enfriamiento puede potenciar el retorno de condensado al contenedor, que puede reducir la obturación y ensuciamiento del filtro de aire de salida. En algunas realizaciones, la purga de gas pre-enfriado en el espacio de cabeza puede rebajar el punto de rocío y/o reducir la carga de vapor de agua del gas del aire de salida.

En algunos casos, los sensores y/o sondas pueden estar conectados a un módulo electrónico detector, cuya salida puede enviarse a una placa de bornes y/o una caja de relés. Los resultados de las operaciones de detección pueden introducirse en un sistema de control implementado en un ordenador (por ejemplo, un ordenador) para calcular y controlar diversos parámetros (por ejemplo, mediciones de temperatura y peso/volumen) y para visualización e interfaz de usuario. Tal sistema de control puede incluir también una combinación de sistemas electrónicos, mecánicos y/o neumáticos para controlar el calor, aire y/o líquido suministrado a o extraído del contenedor deseable según se requiera para estabilizar o controlar los parámetros medioambientales de la operación del procedimiento. Debe apreciarse que el sistema de control puede realizar otras funciones y la invención no se limita a tener ninguna función particular o conjunto de funciones.

El uno o más sistemas de control descritos en el presente documento pueden implementarse de numerosas maneras, tal como con un hardware y/o firmware especializado, usando un procesador que se programa usando microcódigo o software para realizar las funciones citadas anteriormente o cualquier otra combinación adecuada de los anteriores. Un sistema de control puede controlar una o más operaciones de un solo reactor para una reacción biológica, bioquímica o química, o de múltiples reactores (separados o interconectados).

Cada uno de los sistemas descritos en el presente documento, y los componentes de los mismos, pueden implementarse usando cualquiera de una variedad de tecnologías, que incluyen software (por ejemplo, C, C#, C++, Java, o una combinación de los mismos), hardware (por ejemplo, uno o más circuitos integrados específicos para la aplicación), firmware (por ejemplo, memoria programada eléctricamente) o cualquier combinación de los mismos.

Pueden implementarse diversas realizaciones de acuerdo con la invención en uno o más sistemas informáticos. Estos sistemas informáticos pueden ser, por ejemplo, ordenadores de propósito general, tales como aquellos basados en procesadores tipo Intel PENTIUM y tipo XScale, procesadores Motorola PowerPC, Motorola DragonBall, IBM HPC, Sun UltraSPARC, Hewlett-Packard PA-RISC, cualquiera de una variedad de procesadores disponibles en Advanced Micro Devices (AMD) o cualquier otro tipo de procesador. Debe apreciarse que puede usarse uno o más de cualquier tipo de sistema informático para implementar diversas realizaciones de la invención. El sistema informático puede incluir hardware de propósito especial programado especialmente, por ejemplo, un circuito integrado específico para la aplicación (ASIC). Los aspectos de la invención pueden implementarse en software, hardware o firmware, o cualquier combinación de los mismos. Adicionalmente, tales procedimientos, actos, sistemas, elementos de sistema y componentes de los mismos pueden implementarse como parte del sistema informático descrito anteriormente o como un componente independiente.

En una realización, un sistema de control asociado operativamente con un aparato o recipiente descrito en el presente documento es portátil. El sistema de control puede incluir, por ejemplo, todos o muchos de los controles y funciones necesarios requeridos para realizar una manipulación fluidica (por ejemplo, mezclas y reacciones) en el sistema de control. El sistema de control puede incluir un soporte y ruedas para facilitar el transporte del recipiente. Ventajosamente, tal sistema de control portátil puede programarse con un conjunto de instrucciones, si se desea, transportarse (opcionalmente con el recipiente), y engancharse en el recipiente, listo para realizar una manipulación de fluido en una menor cantidad de tiempo que los sistemas de control de manipulación de fluido convencionales (por ejemplo, menos de 1 semana, 3 días, 1 día, 12 horas, 6 horas, 3 horas, o incluso menos de 1 hora).

Un aparato, que incluye un recipiente, puede estar conectado también a una o más fuentes de gases tales como aire, oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno, amoníaco, o mezclas de los mismos. Los gases pueden estar comprimidos, bombeados, etc. Tales gases pueden usarse para proporcionar condiciones de crecimiento y/o reacción adecuadas para producir un producto dentro del recipiente. Los gases pueden usarse también para proporcionar un rociado a los contenidos dentro del recipiente, por ejemplo, para mezcla u otros fines. Por ejemplo, en ciertas realizaciones que emplean rociadores, el tamaño y distribución de burbujas puede controlarse haciendo pasar una corriente de gas de entrada a través de una superficie porosa antes de añadirla al recipiente. Adicionalmente, la superficie de rociado puede usarse como un dispositivo de separación de material en forma de partículas u objetos sólidos (por ejemplo, células) alternando presurización y despresurización (o aplicación de vacío) sobre la superficie exterior de la superficie porosa, o por cualquier otro procedimiento adecuado.

En una realización, un aparato, que incluye un recipiente o contenedor, está conectado a diversas fuentes de gases y los gases de entrada pueden pasar opcionalmente a través de un filtro, un caudalímetro, y/o una válvula, que pueden ser controlados por un sistema controlador, antes de entrar en el aparato. La válvula puede ser un accionador neumático (accionado, por ejemplo, por aire comprimido/dióxido de carbono u otro gas), que puede estar controlado por una válvula de solenoide. Estas válvulas de solenoide pueden estar controladas por un relé conectado a una placa de bornes, que está conectada al sistema controlador. La placa de bornes puede comprender, por ejemplo, una placa de bornes PCI, o un USB/paralelo, o una placa de bornes de conexión con puerto de descarga. En otras realizaciones, pueden usarse válvulas de cierre a ras para puertos de adición, recolección y válvulas de muestreo. Pueden usarse también válvulas de pinza de tubo progresivo que son capaces de medir el flujo con precisión. En algunos casos, las válvulas pueden ser válvulas de cierre a ras (por ejemplo, para puertos de entrada, puertos de salida, puertos de muestreo, etc.). Los gases de entrada pueden estar conectados a cualquier entrada del aparato adecuada. En una realización, los gases de entrada están asociados con uno o más rociadores que pueden controlarse independientemente, como se describe con más detalle más adelante.

Como se muestra en la realización ejemplar ilustrada en la Figura 3, un aparato que comprende un contenedor puede estar asociado operativamente con una variedad de componentes como parte de todo el aparato 100. Por consiguiente, el contenedor y/o estructura de soporte puede incluir diversos accesorios para facilitar la conexión a componentes funcionales tales como filtros, sensores y mezcladoras, así como conexiones a tuberías para proporcionar reactivos tales como medios líquidos, gases, y similares. El contenedor y los accesorios pueden esterilizarse antes de su uso para proporcionar una "envoltura estéril" que proteja los contenidos dentro del contenedor de los contaminantes en el aire exterior. En algunas realizaciones, los contenidos dentro del contenedor no entran en contacto con la estructura de soporte reutilizable y, por lo tanto, la estructura de soporte reutilizable puede reutilizarse después de realizar una reacción química, bioquímica y/o biológica particular sin ser esterilizada, mientras que el contenedor y/o accesorios conectados al contenedor pueden desecharse. En otras realizaciones, el contenedor, accesorios y/o estructura de soporte reutilizable pueden reutilizarse (por ejemplo, después de la limpieza y esterilización).

Un aparato o recipiente puede incluir también, en algunas realizaciones, un sistema de mezcla para mezclar los contenidos de un contenedor y/o un sistema antiespumante para retirar o reducir la espuma en el espacio de cabeza del contenedor. El sistema de mezcla y/o antiespumante puede incluir un agitador o mezcladora. En algunos casos, puede usarse más de un agitador o mezcladora, y los agitadores y/o mezcladoras pueden ser iguales o diferentes. Puede usarse más de un sistema de agitación, por ejemplo, para aumentar la potencia de mezcla. En algunos casos, el agitador puede ser uno en el que la altura puede ajustarse, por ejemplo, de manera que el árbol de arrastre permita elevar un rodete o agitador por encima del fondo del tanque y/o permita usar múltiples rodetes o agitadores. Un sistema de mezcla de un recipiente puede ser desechable o estar destinado a un solo uso (por ejemplo, junto con el contenedor), en algunos casos.

Pueden implementarse diversos procedimientos para mezclar fluidos en un contenedor. Por ejemplo, pueden usarse mezcladoras basadas en accionamiento magnético, rociado y/o elevación por aire. Pueden usarse también mezcladoras de impulsión directa que están selladas y acopladas magnéticamente. En una realización particular, se usan sistemas de mezcla tales como los desvelados en la Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Serie 11/147.124, presentada el 6 de junio de 2005, titulada "Disposable Bioreactor Systems and Methods", de G. Hodge, et al., publicada como Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Publicación 2005/0272146 el 8 de diciembre de 2005, y una Solicitud PCT titulada, "Gas Delivery Configurations, Foam Control Systems, and Bag Molding Methods and Articles for Collapsible Bag Vessels", presentada el 15 de junio de 2007, cada de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, con las realizaciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, el sistema de mezcla puede incluir un motor, por ejemplo, para accionar un rodete (u otro componente usado para la mezcla) situado dentro del contenedor, un acondicionador de potencia y/o un controlador de motor.

En algunos casos, se usa una pluralidad (por ejemplo, más de 1, 2 o 3, etc.) de mezcladoras o rodetes para mezclar contenidos en un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable). Adicionalmente o como alternativa, un sistema de mezcla puede incluir un rodete de altura ajustable y/o un rodete con diversas configuraciones de las paletas del rodete. Por ejemplo, la mezcladora puede tener un eje impulsor extendido que permite que el rodete se eleve a diferentes alturas respecto al fondo del contenedor. El árbol extendido puede permitir también la integración de múltiples rodetes. En otra realización, un sistema de biorreactor incluye más de un impulsor de agitación por

contenedor, que puede aumentar la potencia de mezcla.

5 Para aumentar la eficacia de mezcla, un contenedor puede incluir deflectores tales como bandas de película internas o protuberancias, por ejemplo, situados a través del interior del contenedor o que se extienden desde la superficie interna del contenedor a diferentes alturas y a diversos ángulos. Los deflectores pueden formarse de cualquier material adecuado tal como un polímero, un metal, o un cerámico siempre y cuando puedan integrarse con el contenedor. En algunas realizaciones, los deflectores están fijados de forma reversible o irreversible a una bolsa plegable. En otras realizaciones, los deflectores están fijados de forma reversible o irreversible a una estructura de soporte reutilizable.

10 En una realización, se usa un agitador de impulsión directa. Típicamente, el agitador incluye un eje impulsor directo que está insertado dentro del contenedor. En ciertos casos, la localización donde el árbol sale del contenedor puede mantenerse en una condición estéril. Por ejemplo, pueden usarse sellos rotatorios internos y/o externos para mantener un sello estéril, y/o puede usarse vapor caliente para facilitar el mantenimiento del sello estéril. Manteniendo tal sello estéril, la contaminación provocada por el árbol, por ejemplo, del entorno externo, de los gases salientes, etc., puede reducirse o evitarse.

15 En otra realización, se usa un agitador magnético. Típicamente, un agitador magnético usa imanes tales como imanes fijos o permanentes para hacer girar o mover de otra manera el agitador, por ejemplo, rodetes, paletas, álabes, placas, conos, etc. En algunos casos, los imanes dentro del agitador magnético son estacionarios y pueden conectarse o activarse en secuencia para acelerar o desacelerar el agitador, por ejemplo, mediante un cubo de rodete magnético interno. Como no hay penetración del contenedor por parte del árbol, puede que no haya necesidad de mantener el agitador en una condición estéril, por ejemplo, usando sellos rotatorios internos y/o externos, vapor caliente, o similares.

En otra realización más, se usa un agitador polimérico electromecánico, por ejemplo, un agitador que incluye un rodete basado en polímero electromecánico que se hace girar a sí mismo por "movimiento de paletas", es decir, donde el agitador se mueve mecánicamente para propulsar el agitador o rodete, por ejemplo, rotacionalmente.

25 Los ejemplos no limitantes específicos de dispositivos que pueden usarse como un sistema de mezcla, y/o un sistema antiespumante en ciertas realizaciones, se ilustran en las Figuras 4-6. Los dispositivos mostrados incluyen un rodete accionado magnéticamente, aunque son posibles otras disposiciones. En algunas de estas configuraciones magnéticas, el motor no está conectado directamente al rodete. Los imanes asociados con una cabeza motriz pueden estar alineados con los imanes asociados con un cubo del rodete, tales como manera que la cabeza motriz puede hacer girar al rodete mediante interacciones magnéticas. En algunos casos, la parte del motor (y otros componentes asociados con el motor) puede estar montada en la estructura de soporte.

30 Como se muestra en la realización ilustrada en la Figura 4A, este sistema ejemplar generalmente incluye un soporte 400 de rodete (por ejemplo, una placa base o una placa de rodete) fijado a partes de una pared 402 del contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) o a una parte inferior del mismo, un cubo 404 del rodete, un motor 406, un árbol 408 del motor y una cabeza 410 motriz. El soporte de rodete puede estar fijado a la pared del contenedor usando cualquier técnica adecuada, por ejemplo, soldando en caliente juntas dos porciones de un soporte de rodete de dos piezas, intercalando la pared del contenedor entre ellas o sobre la pared, o usando otros procedimientos descritos en el presente documento. Como un ejemplo, puede usarse una abertura en la pared del contenedor para permitir que una parte central de la placa de rodete se extienda desde un exterior del contenedor hasta el interior (o viceversa). Después, puede adherirse un anillo de estanqueidad (no mostrado) o el contenedor puede soldarse directamente a una circunferencia externa del soporte de rodete para sellar la pared del contenedor entre ellos. Como otro ejemplo, puede usarse una abertura demasiado pequeña en la pared del contenedor para formar un sello con un borde circunferencial del soporte de rodete ligeramente mayor que la abertura. En otras realizaciones, al menos una parte del soporte de rodete está embebida con una pared del contenedor y/o el soporte de rodete y el contenedor se fabrican simultáneamente (por ejemplo, por colada por centrifugación, moldeo por inyección, o moldeo por soplado).

35 En algunas realizaciones, uno o más rociadores están asociados con un soporte de rodete, que puede usarse para dirigir aire u otros gases al interior del contenedor. En algunos casos, el rociador puede incluir elementos 409 porosos, micro-porosos o de ultrafiltración (por ejemplo, elementos de rociado). Los rociadores pueden usarse para permitir rociar gases o fluidos hacia y/o desde el contenedor dimensionándolos para su conexión a una fuente de un gas; esta conexión puede tener lugar a través del tubo 411. Tal rociado y/o adición o retirada de fluido puede usarse, en algunos casos, junto con un sistema de mezcla (por ejemplo, la rotación del cubo del rodete). Los sistemas de rociado se describen con más detalle más adelante.

40 En la realización ilustrada en la Figura 4A, el lado interior del soporte de rodete puede incluir un árbol o poste 412 en el que se recibe una abertura central en el cubo 404 del rodete. El cubo del rodete puede mantenerse a una ligera distancia 405 por encima de la superficie del soporte de rodete (por ejemplo, usando un espaciador físico) para evitar la fricción entre ellos. Pueden usarse materiales de baja fricción en la fabricación del cubo del rodete para minimizar la fricción entre el cubo del rodete y el poste. En otra realización, puede incluirse uno o más cojinetes para reducir la fricción. Por ejemplo, el cubo del rodete puede incluir, en ciertos casos, un cojinete 423-A (por ejemplo, un

cojinete de rodillos, cojinete de bolas (por ejemplo, un cojinete de bolas de eje radial), cojinete de empuje, cojinete unidireccional, cojinete bidireccional, cojinete perezoso, o cualquier otro cojinete adecuado) para reducir o evitar la fricción entre el soporte de rodete y el poste. Adicionalmente, la cabeza motriz puede incluir un cojinete 423-B, igual o diferente del cojinete 423-A, y/o un espaciador físico 424 para reducir o evitar la fricción entre la cabeza motriz y el soporte de rodete.

El cubo del rodete puede incluir también uno o más imanes 414, que pueden estar situados en la periferia del cubo o cualquier otra posición adecuada, y puede corresponder a una posición de un imán o imanes 416 proporcionados sobre la cabeza 410 motriz. Los polos de los imanes pueden alinearse de una manera que aumenta la cantidad de atracción magnética entre los imanes del cubo del rodete y los de la cabeza motriz.

La cabeza 410 motriz puede estar montada centralmente en un árbol 408 del motor 406. El cubo del rodete puede incluir también una o más paletas 418 del rodete. En algunos casos, el imán o imanes embebidos en el rodete pueden usarse también para retirar partículas ferrosas o magnéticas de soluciones, suspensiones o polvos.

Otros ejemplos de sistemas de mezcla se describen con más detalle en la Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Serie 11/147.124, presentada el 6 de junio de 2005, titulada "Disposable Bioreactor Systems and Methods", de G. Hodge, et al., publicada como Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Publicación 2005/0272146 el 8 de diciembre de 2005, que se incorpora en el presente documento por referencia.

La Figura 4B ilustra otra realización, que tiene un rodete accionado mecánicamente. Como se muestra, la presente realización generalmente incluye un soporte 450 de rodete, un cubo del rodete 454 con árbol 455, y un motor externo 456 con árbol 458. La conexión de los árboles entre el árbol del cubo del rodete y el árbol del motor puede conseguirse de una manera conocida por un experto en la materia (por ejemplo, una caja de cambios, transmisión hexagonal, o similares).

El soporte de rodete puede estar fijado, por ejemplo, a un lado de la pared 402 del contenedor en una parte inferior del mismo. El soporte de rodete puede estar fijado a la pared de un contenedor por cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento. Pueden incluirse también elementos 409 porosos, micro-porosos o de ultrafiltración en la presente realización para permitir rociar gases o fluidos dentro y fuera del biorreactor, como se analiza en detalle más adelante. En la realización ilustrada en la Figura 4B, el árbol del cubo del rodete puede ser recibido en un sello 462 (que puede incluir también un cojinete, en algunos casos) localizado centralmente en un soporte 450 de rodete. El sello puede usarse para evitar o reducir la contaminación de los contenidos del contenedor. El cubo del rodete puede mantenerse también a una ligera distancia por encima de la superficie del soporte de rodete para evitar la fricción entre ellos. El cubo del rodete puede incluir una o más paletas 468 de rodete, u otras estructuras de mezcla adecuadas, tales como álabes, placas, conos, etc. La alineación cuidadosa y próxima, vertical y horizontalmente, entre la cabeza motriz y el soporte de rodete puede añadir beneficios significativos a los dispositivos de mezcla descritos en el presente documento.

Haciendo referencia ahora a la Figura 5, se ilustra esquemáticamente una realización de una cabeza motriz acoplada magnéticamente a un rodete. En la Figura 5, un sistema 500 que incluye un soporte 501 de rodete, mostrado en sección transversal, incluye una parte 504 sustancialmente horizontal, desde la que se extiende un árbol 508 de rodete sustancialmente vertical hacia arriba soportando un rodete 509 (que puede incluir un núcleo 510 y paletas 511). El rodete 509 puede girar alrededor del árbol 508. Opcionalmente, esta rotación puede estar facilitada por un cojinete 507, que puede ser cualquier cojinete adecuado tal como un cojinete de rodillos, cojinete de bolas (por ejemplo, un cojinete de bolas con eje radial), cojinete de empuje, cojinete unidireccional, cojinete bidireccional, cojinete perezoso, o similares. El soporte 501 del rodete incluye elementos 512 de alineación de cabeza motriz que, en la realización ilustrada, son caballetes descendentes sustancialmente verticales que pueden definir un rebaje circular en el que puede insertarse, al menos una parte de una cabeza 516 motriz. Los elementos 512 de guía están situados de manera que la cabeza motriz, cuando está engranada con el soporte de rodete, sitúa la cabeza motriz en una localización predeterminada deseada respecto al rodete 509. En una disposición, los elementos 512 de guía centran la cabeza motriz, cuando están engranados con el soporte de rodete, con respecto al rodete 509. Como una realización opcional adicional, puede proporcionarse un espaciador 520 físico entre la cabeza 516 motriz y una superficie 524 inferior del soporte de rodete alineado con la parte de la superficie 526 superior de la cabeza motriz en la localización en la que la cabeza motriz está situada idealmente con respecto al soporte de rodete. El espaciador 520 físico separa físicamente, en una distancia deseada, la superficie 524 inferior del soporte de rodete con una superficie 526 superior de la cabeza motriz, pero, al menos una parte entre la superficie 526 superior y la superficie 524 inferior puede definir una conexión física continua (libre de huecos de aire o similares) entre la cabeza motriz y el soporte de rodete. Esto permite una tolerancia más cercana de la cabeza motriz con el soporte de rodete que la que podría haberse conseguido en muchas disposiciones previas, y permite un engranaje reproducible y seguro de la cabeza motriz con el soporte de rodete. En algunos casos, la cabeza motriz incluye un rebaje 528 en el que puede insertarse al menos una parte del espaciador 520 físico. Esta disposición puede permitir un engranaje reproducible y seguro de la cabeza motriz con el espaciador físico.

El fondo del soporte de rodete y la superficie superior de la cabeza motriz pueden estar separados (por ejemplo, usando un espaciador físico) por una distancia 521. En una realización, la distancia 521 no es mayor del 50% del espesor 530 promedio de la parte 504 sustancialmente horizontal del soporte de rodete. En otras realizaciones, esta

distancia no es mayor del 40%, 30%, 20%, 10%, o 5% del espesor del soporte de rodete.

En algunas realizaciones, el espaciador 520 físico tiene un espesor no mayor del 50% del espesor 530 promedio de la parte 504 sustancialmente horizontal del soporte de rodete. En otras realizaciones, este espesor no es mayor del 40%, 30%, 20%, 10%, o 5% del espesor del soporte de rodete.

5 En un conjunto de realizaciones, el espaciador 520 físico es un cojinete que facilita la rotación de la cabeza motriz respecto al soporte de rodete. Cuando el espaciador 520 físico es un cojinete, puede seleccionarse cualquier cojinete adecuado tal como un cojinete de rodillos, cojinete de bolas (por ejemplo, un cojinete de bolas con eje radial), cojinete de empuje, cojinete unidireccional, cojinete bidireccional, cojinete perezoso, o similares.

10 En la realización ilustrada en la Figura 5, la cabeza motriz puede variar de posición, respecto al árbol 508, horizontalmente en no más de 5 mm durante la operación normal o, en otras realizaciones, en no más de 4, 3, 2, 1 (0,5, o 0,25 mm durante la operación normal). La cabeza motriz puede variar también en la distancia relativa a la superficie 524 inferior del soporte de rodete en no más de 10 mm, 1 mm, 0,5 mm, 0,25 mm, 0,1 mm, o 0,005 mm en ciertas realizaciones con el uso de las disposiciones ilustradas en la Figura 5.

15 Las disposiciones de la Figura 5, especialmente en las realizaciones en las que se usa el espaciador 520 físico, también añaden un soporte físico al soporte 501 de rodete además de cualquier otro soporte físico que el soporte 501 de rodete pueda recibir. Este soporte añadido es particularmente ventajoso en las disposiciones de la bolsa plegable que incluyen rodetes (por ejemplo, para mezcladoras y/o dispositivos antiespumantes).

20 Opcionalmente, el soporte 501 de rodete puede incluir rociadores 540 situados por debajo de las paletas del rodete. Los rociadores pueden estar dimensionados para su conexión a una o más fuentes de gas. Por ejemplo, los rociadores pueden incluir un puerto que puede conectarse a un tubo 542 en comunicación de fluido con una o más fuentes de gas.

25 Aunque las figuras ilustradas en el presente documento pueden mostrar rodetes que están situados en o cerca de una parte inferior de un contenedor, en otras realizaciones, los rodetes pueden estar situados en cualquier localización adecuada dentro de un contenedor, por ejemplo, cerca del centro o de una parte superior de un contenedor. Esto puede conseguirse extendiendo la longitud de un árbol que soporta el rodete, o mediante cualquier otra configuración adecuada. Las posiciones de los rodetes en un contenedor pueden depender del procedimiento a realizar en el contenedor. Por ejemplo, en algunas realizaciones donde se requiere rociado, los rodetes pueden estar situados cerca del rociador, de manera que el rodete puede arrastrar y/o regular las burbujas introducidas en el contenedor. Adicionalmente, aunque las figuras descritas en el presente documento muestran un solo rodete asociado con un árbol, puede usarse más de un rodete en algunos casos. Por ejemplo, un primer rodete acoplado a un árbol puede estar localizado cerca de una parte inferior del contenedor y un segundo rodete acoplado al árbol puede estar situado cerca del centro del contenedor. El primer rodete puede proporcionar un arrastre adecuado de un gas rociado, y el segundo rodete puede proporcionar una mezcla adecuado de los contenidos dentro del contenedor.

35 En algunas realizaciones, el soporte de rodete está diseñado excepcionalmente para diseñarlo para sujetarlo fácilmente a una bolsa plegable. Ciertas disposiciones conocidas de rodetes fijados a bolsas plegables pueden sufrir inconvenientes resultantes de la fijación no ideal de la bolsa al soporte de rodete, o técnicas no ideales para dicha fijación, o ambas. Como se muestra en la realización ilustrada en la Figura 5, un soporte de rodete puede incluir una base, sustancialmente perpendicular a un árbol sobre el que gira el rodete, que tiene una primera parte 534 de un cierto espesor promedio, y una segunda parte 536 periférica más fina, y opcionalmente más flexible que la primera parte para facilitar la fijación a la bolsa. La primera parte del espesor está definida como la sección transversal del espesor global tomada por la primera parte en cualquier punto y, donde la primera parte incluye un cordoncillo u otra estructura que incluye diversos espesores, el espesor para los fines de este análisis está definido como la parte más gruesa. La segunda parte periférica, en una realización, define una composición similar a o esencialmente idéntica a la de la bolsa plegable, y se proporciona en un espesor similar al de la bolsa plegable. En otras realizaciones, la segunda parte periférica está formada por una composición diferente que la de la bolsa plegable. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la primera parte está formada por polietileno de baja densidad, y la segunda parte está formada de polietileno de alta densidad, polipropileno, silicona, policarbonato y/o polimetacrilato.

50 Un recipiente al que está asociado el sistema de mezcla 500 puede soportar partes del sistema de manera que el sistema no se rompe, dobla y/o pliega bajo el peso de los contenidos en el recipiente. En este caso, la primera parte 534 y/o la segunda parte 536 pueden tener espesores promedio adecuados y pueden formarse de materiales adecuados de manera que una o ambas partes son suficientes para soportar adecuadamente el árbol del rodete y/o la propia estructura de soporte durante el uso, o bajo el peso de cualquier contenido existente en el recipiente. Dependiendo del tamaño y el diseño del recipiente, en algunas realizaciones, la estructura de soporte (por ejemplo, el recipiente 114 que puede estar en forma de una estructura de soporte reutilizable) se extiende sobre el área 554 (por ejemplo, la segunda parte) para soportar el área 554, dejando el área 550 sin soportar y expuesta a la atmósfera 20 fuera del recipiente. En tales realizaciones, la segunda parte 536 puede ser rígida y/o estar formada de un material suficientemente fuerte. En otras realizaciones, el recipiente se extiende por debajo de ambas áreas 554 y 550. En algunos casos, el sistema puede estar diseñado de manera que la mayor parte de la resistencia del



sistema surge del área 550 de la primera parte 534. Por consiguiente, la primera parte 534 puede ser rígida y/o puede formarse de un material suficientemente fuerte, mientras que la segunda parte 536 puede ser flexible y/o incapaz de soportarse ella misma bajo el peso de los contenidos existentes en el recipiente. En otros casos, ambas primera y segunda partes pueden soportarse ellas mismas bajo el peso de los contenidos existentes en el recipiente.

5 El espesor de la parte periférica del soporte de rodete y el espesor de las paredes de la bolsa 540 plegable, antes de la fijación, puede diferir en no más del 100%, o en no más del 80%, 60%, 40%, 20%, o 10% en otras realizaciones (por ejemplo, como un porcentaje del mayor espesor entre las paredes de la bolsa y la parte periférica). Cuando el espesor de la parte periférica del soporte de rodete y el espesor de la bolsa desechable (al menos la porción fijable al soporte de rodete) están fabricados de materiales similares (o compatibles) y son de un espesor similar, entonces  
10 la unión de uno al otro puede facilitarse de forma fácil, reproducible, y con un producto que está libre de irregularidades significativas, y el espesor en la transición de la bolsa a la parte de fijación al soporte de rodete. Como se describe en el presente documento, la unión de la bolsa y el soporte puede realizarse por cualquier procedimiento adecuado que incluye, por ejemplo, moldeo y soldadura (por ejemplo, soldadura ultrasónica o térmica).

15 En algunas realizaciones, los rodetes con paletas sustituibles pueden usarse con los aparatos descritos en el presente documento. La Figura 6 ilustra un rodete 570 que incluye un cubo 572, que puede tener un perímetro externo generalmente circular y puede incluir un pasaje 576 central dentro del cual reside el árbol del rodete o el poste (no ilustrado). El cubo 572 incluye una o más rendijas 578 dentro del que una o más paletas 580 del rodete, en algunas realizaciones, pueden insertarse de forma reemplazable. Como se ilustra, se muestra una rendija 578 que  
20 no contiene una paleta y se muestra una rendija 578 que contiene una paleta del rodete. La paleta y rendijas de la paleta se ilustran muy esquemáticamente y, por supuesto, los expertos en la materia reconocerán que puede seleccionarse una variedad de diferente tamaños, formas y espaciados de paletas y rendijas por los expertos en la materia para una variedad de fines de mezcla descritos en el presente documento y conocidos en la técnica. Las paletas 580 pueden estar situadas y mantenidas dentro de las rendijas 578 de forma suficientemente segura para un  
25 uso adecuado y de acuerdo con la invención por cualquier número de técnicas que incluye, por ejemplo, accesorio de fricción, accesorio de prensa, mecanismo de parada, una disposición de sujeción y liberación de la sujeción, sujeción con tornillos, ganchos, abrazaderas, o similares, soldaduras (por ejemplo, soldadura térmica y ultrasónica), y el uso de adhesivos.

La disposición de paleta reemplazable de la invención, como se ilustra en la Figura 6, proporciona la ventaja de que  
30 pueden usarse diferentes paletas con un solo cubo en una disposición de mezcla/rotación, de manera que la disposición puede usarse para diferentes fines o implica diferente velocidad rotacional, par de torsión, perfil de mezcla, o similares. Por ejemplo, las paletas de un primer tamaño o espaciado pueden reemplazarse con paletas de un segundo tamaño o espaciado para crear una cizalla, aireación, mezcla mayor o menor o similares como pueden entender los expertos en la materia. Mientras que las paletas sustituibles (por ejemplo, paletas propulsoras de  
35 hélice) son conocidas en diferentes campos, las paletas sustituibles en una disposición de bolsa plegable tales como las descritas en el presente documento no era de esperar que hubieran sido encontradas en base al conocimiento en la técnica porque dichas bolsas típicamente se usaban solo para medios de mezcla que contienen células que, para evitar ser lisadas, deben agitarse por debajo de un umbral de cizalla, o para medios que contienen otros materiales que puedan tolerar una cizalla mucho mayor. Sin embargo, como se describe en el presente documento,  
40 pueden prepararse disposiciones de bolsa plegable con múltiples paletas y proporcionarse para el uso con cualquiera o ambos de los dos o más perfiles de mezcla.

En algunos casos, el rodete (en algunas realizaciones, por acoplamiento magnético de la cabeza motriz al rodete) está accionado por un motor capaz de invertir su dirección de rotación y/o de ajustarse finamente con respecto a la  
45 velocidad rotacional. La inversión de la dirección de giro proporciona una ventaja significativa para producir una variedad de perfiles de aireación/rociador, o similares. Adicionalmente, el ajuste fino de la velocidad del rodete puede permitir un grado y/o equilibrio preciso y controlable de aireación/rociado, cizalla, o similares, que ha sido determinado para ser bastante útil en conexión con diversos medios para mezcla, especialmente aquellos que incluyen células. Tales realizaciones permiten un ajuste reproducible y controlable de la velocidad rotacional del rodete que supone más o menos del 5% o menor a través de un intervalo de velocidades rotacionales de entre el  
50 10% y el 90% de la velocidad rotacional total máxima del rodete. En otras realizaciones, se facilita el ajuste rotacional del 4%, 3%, 2%, o 1% de esta velocidad. En una disposición, estos aspectos se consiguen mediante el uso de un servo motor.

Los sistemas de rodete descritos en el presente documento pueden permitir que el sistema mezcle líquidos, sólidos, o espumas de cualquier tipo. Por ejemplo, los líquidos dentro del contenedor pueden mezclarse para proporcionar  
55 distribución de nutrientes y gases disueltos para aplicaciones de crecimiento celular. Puede usarse el mismo contenedor desechable para mezclar tampones y medios u otras soluciones en las que es deseable una superficie de contacto con el producto desechable. Esto puede incluir también aplicaciones en las que no se requiere que el recipiente sea estéril o mantenga la esterilidad. Además, las realizaciones descritas en el presente documento permiten al contenedor contener los fluidos/mezclas/gases a retirar y desechar de la estructura de soporte reutilizable de manera que la estructura de soporte reutilizable no se manche por los fluidos que están mezclados en  
60 el contenedor. De esta manera, no es necesario limpiar o esterilizar la estructura de soporte reutilizable después de cada uso.

En ciertas realizaciones, múltiples rociadores (que incluyen elementos de rociado) que pueden estar dimensionados para conexión a diferentes fuentes de gas y/o que pueden controlarse independientemente, están asociados con los aparatos descritos en el presente documento. El tipo de gas, número de rociadores, y tipos y configuraciones de rociadores usados en un aparato (por ejemplo, un sistema de biorreactor o un sistema de reacción bioquímica/química) puede depender, en parte, del procedimiento particular a realizar (por ejemplo, una reacción aerobia frente a una anaerobia), la retirada de cualquier subproducto tóxico del líquido, el control del pH de una reacción, etc. Como se describe con más detalle más adelante en relación con ciertas realizaciones descritas en el presente documento, un sistema puede incluir diferentes rociadores para diferentes gases que pueden tener diferentes funciones en la realización de, por ejemplo, una reacción química, bioquímica y/o biológica. Por ejemplo, un sistema de biorreactor para cultivo celular puede incluir diferentes tipos de gases tales como un "gas de control de oxígeno disuelto (OD)" para controlar la cantidad de oxígeno disuelto en el fluido de cultivo, un "gas de agotamiento" para controlar la cantidad de subproductos tóxicos en el fluido de cultivo, y un "gas de control de pH" para controlar el pH del fluido de cultivo. Cada tipo de gas puede introducirse en el cultivo usando diferentes rociadores que pueden funcionar y controlarse independientemente. Ventajosamente, un sistema de este tipo puede proporcionar un control del procedimiento más rápido y una menor variabilidad en el control del procedimiento (en comparación, por ejemplo, con ciertos sistemas que combinan un gas de control de OD, gas de agotamiento, y gas de control de pH en una corriente de gas introducida en un reactor). Las reacciones químicas, bioquímicas y/o biológicas realizadas en los sistemas de biorreactor descritos en el presente documento pueden requerir también un menor consumo de gas, lo que puede ahorrar dinero en gases caros, y/o un menor caudal de gas total (por ejemplo, para un gas de agotamiento), lo que puede reducir la generación de espuma y/o reducir el tamaño de los filtros estériles requeridos para el gas de entrada.

En algunas realizaciones, los aparatos y recipientes descritos en el presente documento son una parte de un sistema de biorreactor. En los biorreactores usados para ciertos tipos de cultivo celular, las células pueden requerir nutrientes tales como azúcares, una fuente de nitrógeno (tal como amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) o aminoácidos), diversas sales, trazas de metales y oxígeno para cultivar y dividir. Al igual que otros nutrientes, la distribución homogénea y uniforme de oxígeno por todo el reactor puede ser esencial para proporcionar un crecimiento celular uniforme. Una mala distribución del oxígeno puede crear zonas de células privadas de oxígeno, que conducen a un crecimiento más lento, alteración del metabolismo celular o incluso muerte celular. En ciertas aplicaciones donde las células se modifican genéticamente para producir un bioproducto, la privación de oxígeno puede tener un grave efecto sobre la cantidad y calidad de la formación de bioproducto. La cantidad de nutrientes disponibles para las células en cualquier momento depende en parte de la concentración de nutrientes en el fluido. Los azúcares, fuente de nitrógenos, sales, y trazas de metales pueden ser solubles en el fluido y, por lo tanto, pueden estar en exceso y ser fácilmente disponibles para las células. El oxígeno, por otra parte, puede ser relativamente poco soluble o "disoluble" en agua. Además, la presencia de sales más la elevada temperatura necesaria para cultivar las células puede reducir adicionalmente la concentración de oxígeno disuelto. Para compensarlo, puede usarse un sistema de detección rápida de oxígeno disuelto, una transferencia de oxígeno constante y estacionaria en el fluido (por ejemplo, usando uno o más rociadores como se describe en el presente documento), combinado con una distribución rápida y uniforme en el biorreactor, para reducir o evitar la privación de oxígeno.

Puesto que la transferencia de oxígeno desde las burbujas de gas que entran en el fluido del cultivo puede ser un importante parámetro de control, la constante de tiempo de la sensibilidad del sistema de suministro de gas también puede ser importante. En ciertas realizaciones, a medida que aumenta la densidad de la población de células, la tasa de respuesta del sistema de gasificación para suministrar un gas de control de OD enriquecido en oxígeno puede ser cada vez más importante. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los sistemas descritos en el presente documento incluyen uno o más sensores tales como un sensor de OD que detecta la necesidad de más oxígeno (u otro gas), un controlador de gas, y uno o más rociadores que pueden estar comunicados para enriquecer el cultivo con oxígeno extra usando, por ejemplo, un gas de control de  $\text{N}_2/\text{O}_2$ /aire. Puesto que el tiempo de retardo (por ejemplo, varios minutos) para que este gas enriquecido alcance el reactor puede dar como resultado una pérdida en el OD que puede conducir a privación de oxígeno, los sistemas descritos en el presente documento pueden incluir un bucle de retroalimentación de control entre el sensor o sensores, el controlador de gas, y el rociador o rociadores. De esta manera, puede proporcionarse un suministro y distribución sensible y uniforme del gas de control que lleva oxígeno (por ejemplo, una mezcla  $\text{N}_2/\text{O}_2$ /aire) para el crecimiento celular y formación de bioproducto controlado y predecible. Los sistemas descritos en el presente documento que permiten el control independiente de los rociadores y/o las composiciones de gas pueden ser ventajosos en comparación con los sistemas que requieren que los gases se laven antes del rociado de un gas diferente en el contenedor.

Además, puesto que el aire comprimido y el oxígeno pueden ser caros de suministrar al reactor, puede implementarse un sistema que proporciona justo el suficiente aire enriquecido con justo el suficiente oxígeno, de manera que las burbujas no se pierden en el espacio de cabeza del contenedor (ni se pierden a través de la tubería de los gases de escape). Esto puede realizarse, por ejemplo, controlando la cantidad y caudal de un gas de control independientemente de los otros gases usados en el sistema (por ejemplo, un gas de agotamiento y/o un gas de control de pH).

Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que la tasa de transferencia de oxígeno en el fluido del biorreactor desde el aire, oxígeno puro o una mezcla de gas está relacionada directamente con la cantidad de área superficial total de las burbujas en el fluido. Por tanto, burbujas más grandes proporcionan un área superficial total menor que

- una neblina fina de burbujas muy pequeñas. Por esta razón, en ciertas realizaciones de la invención, puede proporcionarse un gas de control a través de rociadores microporosos para crear burbujas muy pequeñas. Un rociador microporoso puede incluir aberturas que tienen un tamaño (por ejemplo, un diámetro promedio) de, por ejemplo, menor de 500 micrómetros, menor de 200 micrómetros, menor de 100 micrómetros, menor de 60 micrómetros, menor de 50 micrómetros, menor de 40 micrómetros, menor de 30 micrómetros, menor de 20 micrómetros, menor de 10 micrómetros, menor de 3 micrómetros, menor de aproximadamente 1 micrómetro, o menor de 0,1 micrómetros. En ciertas realizaciones, los rociadores microporosos tienen un tamaño de abertura entre 0,1 y 100 micrómetros. Por supuesto, pueden usarse también rociadores que tienen tamaños de abertura más grandes. Por ejemplo, un rociador puede tener un tamaño de abertura entre 0,1 y 10 mm. El tamaño de abertura puede ser mayor de 100 micrómetros, mayor de 200 micrómetros, mayor de 500 micrómetros, mayor de 1 mm, mayor de 3 mm, mayor de 5 mm, mayor de 7 mm, o mayor de 10 mm. La abertura puede tener cualquier forma de la sección transversal (por ejemplo, circular, ovalada, triangular, irregular, cuadrada o rectangular, o similares). Los rociadores que tienen combinaciones de tamaños de abertura pueden incorporarse en los recipientes descritos en el presente documento.
- Adicionalmente, un buen crecimiento celular y metabolismo controlado pueden depender de la retirada de subproductos tóxicos del crecimiento celular, tales como, por ejemplo, dióxido de carbono, amoníaco y ácidos orgánicos volátiles. El dióxido de carbono puede ser altamente soluble en agua, lo que puede empeorar su efecto tóxico sobre las células. Estos subproductos pueden "separarse" del fluido de cultivo por gasificación del cultivo usando un gas de agotamiento. Por consiguiente, una distribución uniforme del gas de agotamiento y el gas de agotamiento que se introduce a un caudal suficientemente alto bastante para que las burbujas escapen del cultivo (y fuera de la purga de escape, por ejemplo) puede ser importante para el crecimiento celular y/o producción del bioproducto. Estos parámetros pueden controlarse independientemente de otros gases usados en el sistema (por ejemplo, un gas de control y/o un gas de control de pH) usando un rociador diferente para el gas de agotamiento.
- En algunos casos, se introduce un gas de agotamiento en un contenedor usando un rociador que tiene un tamaño de abertura entre 0,1 y 10 mm. Por ejemplo, el tamaño de abertura puede ser mayor de 100 micrómetros, mayor de 200 micrómetros, mayor de 500 micrómetros, mayor de 1 mm, mayor de 3 mm, mayor de 5 mm, mayor de 7 mm, o mayor de 10 mm. Estos tamaños de abertura pueden permitir que burbujas relativamente más grandes pasen a través del líquido del contenedor, que pueden separar cualquier subproducto tóxico del líquido sin crear grandes cantidades de espuma en el espacio de cabeza del contenedor.
- En ciertas realizaciones, se usa un gas de control de pH para controlar el pH del fluido en un sistema de biorreactor. Por ejemplo, puede usarse dióxido de carbono para aumentar el pH de la solución y puede usarse amoníaco para disminuir el pH de la solución. En una realización, un gas de control del pH puede incluir una combinación de dióxido de carbono, amoníaco, u otros gases para controlar (por ejemplo, aumentar o disminuir) el pH. En otra realización, el pH de un fluido de reacción está controlado por un primer rociador que contiene un agente que aumenta el pH (por ejemplo, CO<sub>2</sub>) y un segundo rociador que contiene un agente que disminuye el pH (por ejemplo, NH<sub>3</sub>).
- Puede añadirse uno o más gases de control de pH a un contenedor del sistema de biorreactor a partir de las señales de un sensor de control del pH asociado con el sistema. Los gases de control de pH pueden trabajar independientemente y sin interferencia por la demanda de oxígeno (por ejemplo, un gas de control de OD) o sistemas de gas de agotamiento. Un gas de control de pH puede introducirse en un contenedor usando rociadores que tienen aberturas de diversos tamaños.
- En otras realizaciones, las células que normalmente crecen sin oxígeno (por ejemplo, reacciones anaerobias) o que incluso son sensibles al oxígeno requieren la retirada de oxígeno del cultivo. Puede usarse una distribución de nitrógeno gas uniforme y controlada en estos cultivos para controlar el crecimiento celular y formación de producto apropiados.
- Como se ha mencionado, en algunas realizaciones descritas en el presente documento, gases tales como aire, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, y/o oxígeno disuelto pueden rociarse en el contenedor. En algunos casos, el rociado puede controlarse, por ejemplo, de manera que el rociado puede activarse o alterarse rápidamente, según sea necesario. En algunos casos, pueden usarse múltiples rociadores. Por ejemplo, en una realización, pueden introducirse diferentes composiciones de gas en el contenedor usando múltiples rociadores, por ejemplo, un primer rociador para una primera composición de gas, un segundo rociador para una segunda composición de gas, un tercer rociador para una tercera composición de gas, etc. Los gases pueden diferir en composición y/o en concentración. Como un ejemplo, una primera composición de gas puede incluir aire con un 5% de CO<sub>2</sub>, y una segunda composición de gas puede incluir aire con un 10% de CO<sub>2</sub>; en otro ejemplo, una primera composición de gas puede incluir O<sub>2</sub>, y una segunda composición de gas puede incluir N<sub>2</sub>; en otro ejemplo más, una primera composición de gas puede incluir un gas de control, una segunda composición de gas puede incluir un gas de agotamiento, y una tercera composición de gas puede incluir un gas de control de pH. Por supuesto, son posibles también otras combinaciones de gases. En algunos casos, múltiples rociadores pueden ser útiles para permitir respuestas más rápidas, por ejemplo, como la composición de gas que se introduce en el contenedor puede cambiar rápidamente activando diferentes rociadores, por ejemplo, individualmente y/o en combinación. Como un ejemplo específico, el gas que se introduce en un contenedor puede cambiarse rápidamente de un primer gas (a través de un primer rociador) a un segundo gas (a través de un segundo rociador), y/o a una combinación del primer y segundo gas, o una combinación del segundo

gas y un tercer gas, etc. Los caudales de cada gas pueden cambiarse también independientemente de uno a otro. (En contraste, con un solo rociador, un cambio en la composición requiere que la nueva composición alcance el rociador antes de introducirla en el contenedor.) Además, el uso de múltiples rociadores puede permitir la customización del tipo de rociador para un tipo de gas particular, por ejemplo, un gas de agotamiento, gas de control de OD, gas de control de pH, aire, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, o cualquier otro gas adecuado, si se desea.

El rociado puede ejecutarse continuamente, periódicamente o, en algunos casos, en respuesta a ciertos acontecimientos, por ejemplo, dentro de un sistema de biorreactor y/o dentro del contenedor. Por ejemplo, como se ha mencionado, los rociadores pueden estar conectados a uno o más sensores y un sistema de control que sea capaz de controlar la cantidad de rociado, el grado de espumación, la cantidad o concentración de una sustancia en el contenedor, y responder por inicio, reducción o aumento del grado de rociado de una o más composición o composiciones de gases.

En una realización particular, un aparato o recipiente (por ejemplo, como parte de un sistema de reactor para realizar una reacción biológica, bioquímica o química) está configurado para contener un volumen de líquido e incluye un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) que tiene un volumen de al menos 2 litros (o cualquier otro volumen adecuado) para contener el volumen del líquido. El recipiente puede incluir opcionalmente una estructura de soporte para rodear y que contiene el contenedor. Adicionalmente, el recipiente incluye un primer rociador conectado a un dimensionado para estar conectado a una fuente de una primera composición de gas en comunicación de fluido con el contenedor, y un segundo rociador conectado o dimensionado para estar conectado a una fuente de una segunda composición de gas diferente de la primera composición de gas en comunicación de fluido con el contenedor. El recipiente comprende adicionalmente un sistema de control asociado operativamente con el primer y segundo rociadores y configurado para hacer funcionar los rociadores independientemente entre sí. Por supuesto, puede incluirse un tercer, cuarto, quinto o mayor número de rociadores (por ejemplo, más de 10 o más de 20 rociadores), dependiendo de, por ejemplo, el tamaño del contenedor. En algunas realizaciones, el recipiente comprende adicionalmente un sistema de mezcla que incluye un rodete y una placa base, en el que el primer y/o segundo rociadores están asociados con la placa base. El recipiente puede ser parte de un aparato que comprende al menos un recinto de contención medioambiental que rodea al menos parcialmente y, opcionalmente, está fijado al recipiente. En una realización particular, la primera composición de gas comprende aire y la segunda composición de gas comprende aire complementado con O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. Si se incluyen rociadores adicionales, los rociadores pueden conectarse a una fuente de gas que comprende N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> y/o cualquier otro gas adecuado.

En otra realización ejemplar, un aparato o recipiente configurado para contener un volumen de líquido comprende un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) para contener el líquido, y opcionalmente, una estructura de soporte para rodear y que contiene la bolsa plegable. El recipiente incluye un primer rociador conectado al contenedor, teniendo el primer rociador un primer tamaño de abertura, en el que al menos una parte del primer rociador está dimensionada para conectarla a una fuente de una primera composición de gas. El recipiente incluye también un segundo rociador conectado al contenedor, teniendo el segundo rociador un segundo tamaño de abertura, en el que al menos una parte del segundo rociador está dimensionada para conectarla a una fuente de una segunda composición de gas. La segunda composición de gas puede tener la misma composición o una diferente que la primera composición de gas. En algunas realizaciones, el recipiente es parte de un sistema de biorreactor; o el recipiente puede ser una parte de un sistema de reacción bioquímica/química, o un sistema de mezcla. El recipiente puede incluir un sistema de control asociado operativamente con el primer y segundo rociadores y puede estar configurado para hacer funcionar los rociadores (o gases asociados con los mismos) independientemente entre sí. El recipiente puede incluir cualquier número adecuado de rociadores (por ejemplo, más de 10 o más de 20 rociadores), y el contenedor puede tener cualquier volumen adecuado (por ejemplo, al menos 2, 10, 20, 40, o 100 litros). La primera y/o segunda composición o composiciones de gas pueden incluir, por ejemplo, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, o aire. Por ejemplo, en un caso, el primer gas comprende aire y el segundo gas comprende aire complementado con O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. El primer tamaño de abertura puede ser mayor que el segundo tamaño de abertura. Por ejemplo, el primer tamaño de abertura puede estar entre 0,1 y 10 mm, y el segundo tamaño de abertura puede estar entre 0,1 y 100 micrómetros.

Las aberturas asociadas con los rociadores pueden formarse de cualquier material adecuado. Por ejemplo, en una realización, se usa un material polimérico poroso como un elemento de rociado para permitir el transporte de gas de un lado a otro lado del material. Las aberturas pueden estar formadas también de otros materiales tales como metales, cerámicos, polímeros y/o combinaciones de los mismos. Los materiales que tienen poros o aberturas pueden tener cualquier configuración adecuada. Por ejemplo, los materiales pueden estar tricotados, tejidos, o usarse para formar mallas u otros elementos porosos. Los elementos pueden estar en forma de láminas, películas, y bloques, por ejemplo, y pueden tener cualquier dimensión adecuada. En algunos casos, tales elementos se incorporan con rodetes o soportes de rodete, por ejemplo, como se ilustra en la Figura 5. Los elementos pueden estar situados y mantenidos dentro de regiones del rodete o soporte de rodete de forma suficientemente segura para un uso adecuado y de acuerdo con la invención mediante cualquier número de técnicas que incluyen, por ejemplo, accesorio de fricción, accesorio de prensa, mecanismo de parada, una disposición de sujeción y liberación de la sujeción, sujeción con tornillos, ganchos, abrazaderas, o similares, soldaduras (por ejemplo, soldadura térmica y ultrasónica), y el uso de adhesivos. En otras realizaciones, las partes del rodete y/o soporte de rodete pueden fabricarse directamente con poros o aberturas que pueden permitir que los fluidos fluyan a través de los mismos.

En otra realización, un rociador puede estar en forma de un tubo abierto/tubería que incluye una pluralidad de poros (por ejemplo, orificios con un diámetro de 5-10 micrómetros, u orificios más grandes en otras realizaciones) para suministrar un gas (por ejemplo, un gas de agotamiento) a un aparato. El tubo puede ser recto o curvado, y puede ser rígido, semi-rígido o flexible. En algunas realizaciones, el tubo está situado en una parte inferior de un aparato; por ejemplo, el tubo puede extenderse desde el fondo de una bolsa plegable. Sin embargo, en otras realizaciones, son posibles otras posiciones. Por ejemplo, todo o parte de un tubo puede estar situado en una parte lateral, superior y/o central del aparato. Pueden usarse también múltiples rociadores de tubo abierto.

En ciertas realizaciones, se usa una combinación de diferentes rociadores en los aparatos descritos en el presente documento. Por ejemplo, un aparato (o bolsa plegable) puede incluir uno o más rociadores en forma de un tubo abierto, así como uno o más rociadores que están incorporados en un soporte de rodete. Son posibles también otras configuraciones de rociadores.

El aparato o recipiente puede incluir, opcionalmente, uno o más sensores en comunicación eléctrica con el sistema de control para determinar una cantidad o concentración de un gas (por ejemplo, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, un bi-producto de una reacción) en el contenedor. Adicionalmente y/o como alternativa, el recipiente puede incluir un sensor en comunicación eléctrica con el sistema de control para determinar un pH de un líquido en el contenedor, o una cantidad o nivel de una espuma en el contenedor (por ejemplo, una bolsa).

Como se ha mencionado, pueden usarse sistemas de control y bucles de retroalimentación para controlar una variedad de procedimientos descritos en el presente documento, que incluyen el grado de rociado en una realización, o el grado de mezcla, la cantidad de concentración de reactivo, o la actividad de una bomba o sistema de ventilación en otras realizaciones. Un ejemplo de tal procedimiento de control y retroalimentación se muestra en la realización ilustrada en la Figura 7. El sistema 600 puede incluir un primer sensor 602 (por ejemplo, para detectar la cantidad y/o concentración de CO<sub>2</sub> de un líquido en el contenedor) y un segundo sensor 604 (por ejemplo, para detectar la cantidad y/o concentración de O<sub>2</sub> de un líquido en el contenedor). Después de calibrar los sensores, pueden añadirse reactivos a un contenedor 608 y puede tener lugar un procedimiento de manipulación fluidica, tal como una mezcla o realización de una reacción biológica, química o bioquímica. La cantidad de un gas tal como O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> puede variar en el líquido del contenedor según transcurre el procedimiento. Por ejemplo, si tiene lugar una reacción biológica que implica células, las células pueden consumir O<sub>2</sub> y formar CO<sub>2</sub> con el tiempo, que puede variar dependiendo de la fase de crecimiento de las células. De esta manera, la cantidad y/o concentración de gases puede ser determinada por los sensores (por ejemplo, como una función del tiempo), y las señales 612 y 614 relacionadas con las cantidades y/o concentraciones de los gases pueden enviarse a un sistema 620 de control. El sistema de control puede incluir parámetros 624 registrados, tales como niveles umbral de uno o más gases que pueden ser introducidos por un usuario antes de o durante la reacción. Por ejemplo, un parámetro puede incluir un cierto nivel umbral de CO<sub>2</sub> en el líquido antes de que el rociador se active para reducir la cantidad de CO<sub>2</sub> usando un gas de agotamiento. Por consiguiente, puede enviarse una señal desde el sistema de control para activar un componente 632, tal como una válvula conectada a una fuente de un gas de agotamiento usado para reducir la cantidad de CO<sub>2</sub>. A medida que el gas de agotamiento se introduce en el contenedor 608, la cantidad y/o concentración de CO<sub>2</sub> puede disminuir, lo que puede medirse mediante 612 y las señales enviadas al sistema de control. Cuando la cantidad y/o concentración de CO<sub>2</sub> disminuye a un cierto nivel, el sistema de control puede reducir o desactivar la cantidad de CO<sub>2</sub> que se introduce en el contenedor, completando de esta manera el bucle de retroalimentación. Puede tener lugar un procedimiento similar independientemente del procedimiento descrito anteriormente usando un segundo sensor 614, que puede medir, por ejemplo, un segundo gas, un pH, o una cantidad de una espuma en un espacio de cabeza del contenedor. En otras realizaciones, puede realizarse un procedimiento similar para medir la cantidad de material en forma de partículas en un recinto de contención medioambiental y la activación/regulación de un procedimiento de tratamiento medioambiental.

En otra realización, puede implementarse un procedimiento de retroalimentación similar al descrito anteriormente para controlar la cantidad de un reactivo (por ejemplo, glucosa) añadido al aparato. Por ejemplo, un aparato usado para cultivar células (u otros organismos) puede incluir uno o más sensores para detectar la cantidad de oxígeno disuelto en un líquido contenido en el aparato. A medida que las células consumen glucosa, continúan creciendo. A medida que la glucosa se consume sustancialmente, las células ralentizan su crecimiento y demandan menos oxígeno, lo que eleva el nivel de oxígeno disuelto. El sensor puede detectar (por ejemplo, continuamente o periódicamente) el nivel aumentado de oxígeno disuelto y esta señal puede enviarse a un sistema de control. Tras alcanzar un alto nivel umbral particular de oxígeno disuelto, que puede pre-programarse en el sistema de control, el sistema de control puede enviar una señal para activar una bomba, válvula, u otro componente que esté asociado operativamente con un depósito de glucosa. A medida que se añade glucosa al líquido en el aparato, las células pueden continuar creciendo y consumiendo más oxígeno, lo que puede ser detectado por el sensor de oxígeno disuelto. Tras alcanzar un cierto nivel umbral bajo de oxígeno disuelto, que puede pre-programarse en el sistema de control, el sistema de control puede enviar una señal a una bomba, válvula, u otro componente para disminuir el nivel glucosa que se añade al aparato. Ventajosamente, en aparatos que incluyen retroalimentación para controlar la cantidad de glucosa añadida, la dosificación de las células con demasiada glucosa, que puede conducir a efectos dañinos en algunos casos, puede evitarse o reducirse. Puede usarse un sistema similar para controlar la cantidad de otros reactivos añadidos al aparato durante la realización de un procedimiento en el aparato.

Como se describe en el presente documento, un sistema de la invención puede incluir uno o más dispositivos de

separación. En algunos casos, un dispositivo de separación es un dispositivo de separación líquido-sólidos, es decir, un dispositivo que está configurado y dispuesto para separar objetos sólidos del líquido con el que están asociados los objetos. En otros casos, un dispositivo de separación descrito en el presente documento separa entidades (por ejemplo, proteínas) que están disueltas en el líquido.

5 Un dispositivo de separación puede estar asociado con un sistema o aparato de la invención de cualquier manera adecuada. En algunas realizaciones, el dispositivo de separación está situado en una parte interna de, o en una parte de una superficie de, un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) o aparato adaptado para contener el líquido y sólidos a separar. El dispositivo de separación puede ser una parte de la estructura del contenedor, por ejemplo, una parte de una placa base de un contenedor, en algunas realizaciones. Por ejemplo, en una realización de este tipo, los elementos 409 porosos descritos previamente para su uso como rociadores (véase la Figura 4A) pueden comprender un medio poroso que tiene un tamaño y configuración poro eficaz para separar células u otros objetos sólidos del líquido tras la retirada del líquido desde el contenedor a través de los elementos 409. En otras realizaciones, el dispositivo de separación es externo respecto al contenedor adaptado para contener el líquido y sólidos a separar; por ejemplo, el dispositivo de separación puede formar al menos una parte de un dispositivo/tubería de transferencia de líquido que conecta dos aparatos, o el dispositivo de separación puede formar al menos una parte de un segundo aparato en comunicación de fluido con un primer aparato. Pueden usarse combinaciones de dispositivos de separación internos y externos y, en algunas realizaciones, pueden ponerse múltiples dispositivos de separación en serie y/o paralelo.

20 Las separaciones pueden realizarse continuamente o periódicamente en sistemas de la invención. Adicionalmente, como se describe en el presente documento, los dispositivos de separación pueden formar parte de un sistema de reciclado de líquido (por ejemplo, un bucle) con uno o más aparatos distintos. Por ejemplo, una salida de un aparato, tal como un biorreactor, puede estar en comunicación de fluido con una entrada del dispositivo de separación, y una salida del dispositivo de separación puede estar en comunicación de fluido con una entrada del aparato. Un sistema de este tipo puede usarse para realizar perfusión continua, en algunas realizaciones.

25 Dependiendo de los componentes particulares a separar, puede implementarse una variedad de dispositivos de separación con los sistemas descritos en el presente documento. Tales sistemas pueden ser internos o externos respecto a un contenedor (por ejemplo, una bolsa plegable) adaptado para contener un líquido. Los parámetros de tamaño de poro, caudal, tasa de recirculación de flujo cruzado opcional, tasa de filtrado, y la proporción de volumen de filtrado a área de membrana pueden elegirse y/o variarse en estos y otros sistemas, como entenderán los expertos en la materia, según sea necesario para satisfacer objetivos de rendimiento particulares. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los dispositivos de separación pueden manipularse para controlar la concentración de los objetos sólidos que pasan a través de las diversas partes del sistema. Para dispositivos de separación rotacional (por ejemplo, centrífugas), esto puede hacerse, por ejemplo, variando las rpm y, por lo tanto, la fuerza G del dispositivo. El caudal de permeado extraído del dispositivo de separación puede controlarse también, y el tamaño de poro puede seleccionarse según se desee para un resultado de rendimiento deseado particular.

30 En algunas realizaciones, los dispositivos de separación están en forma de dispositivos de filtración. Los ejemplos no limitantes de dispositivos de filtración incluyen filtros microporosos, dispositivos de ultrafiltración, filtros de membrana, filtros de profundidad, filtros de fibras huecas, dispositivo de filtración con placa y marcos, filtros de flujo tangencial, filtros giratorios, y similares. Un ejemplo de un filtro de fibra hueca potencialmente adecuado es el cartucho de fibra hueca de Amersham Biosciences (Nº Cat. UFP-500-C-6A, corte PM 500K, 0,48m<sup>2</sup>, DI fibra 0,5 mm de fibra hueca).

En otras realizaciones, puede usarse sedimentación por gravedad para separar los objetos sólidos de los líquidos en los aparatos descritos en el presente documento. Los dispositivos tales como dispositivos de sedimentación, que pueden estar inclinados o no inclinados, son conocidos en la técnica y pueden usarse en los sistemas de la invención.

45 Un dispositivo de separación puede estar también en forma de una centrífuga, en algunas realizaciones. Aunque en algunos casos la centrifugación ha encontrado una aplicación limitada en el cultivo celular debido a la dificultad para mantener la esterilidad, un aspecto de la invención implica el uso de una centrífuga que comprende un revestimiento/bolsa plegable desechable como parte de un sistema descrito en el presente documento. La mezcla líquido-sólidos puede estar contenida en el revestimiento desechable, que puede estar soportado por una estructura de soporte reutilizable. Por consiguiente, debido a que la mezcla líquido-sólidos en el revestimiento no entra en contacto con la estructura de soporte, la estructura de soporte puede reutilizarse sin limpiarla. Por ejemplo, después de que tenga lugar la separación, el revestimiento puede retirarse de la estructura de soporte y reemplazarse por un segundo revestimiento (por ejemplo, desechable). Puede realizarse después una segunda separación usando el segundo revestimiento sin tener que limpiar ni el primer revestimiento ni la estructura de soporte reutilizable. Un ejemplo de una centrífuga que incluye componentes desechables es la centrífuga Carr Centritech CELL 1 (artículo/pieza = CELL; artículo/pieza nº= 85400).

60 Como se ha descrito anteriormente, en algunas realizaciones, un sistema de la invención incluye un tanque de almacenamiento para almacenar un líquido (por ejemplo, medios, tampón, reactivos, u otras soluciones). El tanque de almacenamiento puede estar en forma de una bolsa plegable, que puede estar soportada opcionalmente por una estructura de soporte reutilizable adaptada para rodear y contener la bolsa plegable. En otras realizaciones, pueden

usarse contenedores rígidos, en los que las paredes internas del contenedor están en contacto directo con el líquido, como tanques de almacenamiento.

En algunos casos, el tanque de almacenamiento está en comunicación de fluido con un sistema de mezcla que genera la solución a almacenar en el tanque de almacenamiento. En algunas de tales realizaciones, pueden usarse uno o más filtros esterilizados para filtrar la solución antes de o durante la transferencia de soluciones al tanque de almacenamiento. Tal sistema puede generar, por ejemplo, medios filtrados (por ejemplo, que pueden ser adecuados para fermentaciones o para otros procedimientos realizados en un contenedor) tales como medios de crecimiento y medios de glucosa (incluyendo glucosa, vitaminas, etc.). Ventajosamente, estos y otros sistemas pueden reemplazar la necesidad de medios que se esterilizan en autoclave o con vapor en el sitio.

En ciertas realizaciones, un sistema descrito en el presente documento incluye un sistema adjunto de carga de resina/relleno de columna. Típicamente, el relleno de la columna puede conseguirse típicamente en una sala limpia con garrafas abiertas que contienen la resina que se mezcla manualmente mientras la suspensión de resina se bombea sobre la columna. En una realización, sin embargo, se carga un contenedor, tal como un contenedor flexible, con una resina de cromatografía que se suspende con un agitador mientras la suspensión se bombea dentro de una columna.

En otro aspecto, puede usarse una columna de burbujas o sistema de agitación por aire (utilizando burbujas de aire u otro gas) con la bolsa desechable. Tal sistema puede proporcionar una fuerza de mezcla mediante la adición de gas (por ejemplo, aire) cerca del fondo del reactor. Aquí, las burbujas de gas que suben y la menor densidad del líquido saturado en gas que sube, que desplaza al líquido pobre en gas que cae, proporcionando una circulación de arriba abajo. La trayectoria del líquido ascendente puede guiarse, por ejemplo, usando divisores dentro de la cámara de la bolsa. Por ejemplo, usando una lámina de plástico que bisecciona el interior de la bolsa del biorreactor, por ejemplo, verticalmente, con un hueco en la parte superior y la inferior. En algunos casos, una bolsa a usar con una estructura de soporte reutilizable comprende tal división. En otros casos, una división está fijada a una estructura de soporte reutilizable. Puede añadirse gas en un lado del divisor, causando que el gas y el líquido rico en gas suban por un lado, crucen por encima de la lámina de barrera, y desciendan por el otro lado, pasando por debajo del divisor para retornar al punto de adición de gas. Además, dicho sistema de mezcla y procedimiento de columna de burbujas/agitación por aire puede combinarse con cualquier otro sistema de mezcla descrito en el presente documento.

En ciertos procedimientos químicos, bioquímicos y/o biológicos que requieren luz, un aparato descrito en el presente documento puede incluir iluminación directa, indirecta y/o tubular, por ejemplo, usando fibra óptica, de acuerdo con otro aspecto de la invención. Puede usarse cualquier fuente de luz adecuada. Tales aparatos pueden ser útiles para procesar, por ejemplo, células vegetales, por ejemplo, para activar la fotosíntesis. En una realización particular, se usa un contenedor flexible fosforescente para proporcionar luz, por ejemplo, para el crecimiento de células vegetales.

El siguiente ejemplo pretende ilustrar ciertas realizaciones de la presente invención, pero no se consideran limitantes y no ejemplifican el ámbito completo de la invención.

### Ejemplo

Este ejemplo describe el rendimiento de un procedimiento de perfusión microbiano con un sistema de biorreactor desechable junto con un dispositivo de separación celular. Específicamente, el cultivo del microorganismo *E. Coli* se realizó en un sistema de biorreactor desechable XDR200™ y la separación de las células se realizó usando un cartucho de fibra hueca.

El biorreactor XDR200 (que tiene una sola frita de rociado con un tamaño nominal de 2 micrómetros y el rodete accionado magnéticamente mostrado esquemáticamente en la Figura 5) se controló usando un sistema de control Bionet (o PLC). Los parámetros de control del biorreactor se muestran en la Tabla 1. En primer lugar, un cultivo de 65 l se hizo funcionar en modo discontinuo hasta que se alcanzó una densidad de cultivo diana, según se mide por mediciones de densidad óptica (D.O.), de  $5 \pm 1$  UA y/o una concentración de glucosa de  $5 \pm 2$  g/l. Después, se inició la perfusión para ensayar el efecto de la separación/perfusión de células externas sobre la densidad celular, el rendimiento global del cultivo, y la capacidad de controlar la concentración de glucosa en el cultivo a  $>2$  g/l. Las células se devolvieron al biorreactor a través del flujo de retenido en el cartucho de fibra hueca. El medio acondicionado o agotado se dirigió a un depósito de residuos desde el flujo de permeado en el cartucho de fibra hueca. El medio del sistema/fuente de medio de alimentación se suministró continuamente o semi-continuamente al biorreactor a una velocidad igual al caudal de salida del permeado de fibra hueca para mantener un volumen de biorreactor o cultivo sustancialmente constante.

El cartucho de fibra hueca usado era un GE Healthcare modelo N° UFP-500-C-6A. El área superficial del cartucho era de 4800 cm<sup>2</sup> con un d.i. nominal del lumen de 0,5 mm. Los cartuchos se prepararon de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, como sigue:

- 1) Lavar con agua purificada
- 2) Lavar con etanol al 20% y recircular seguido de mantenimiento en reposo durante una noche

- 3) Lavar con agua purificada
- 4) Medir el flujo de agua >399 Lmh/98,6 kPa a 25 °C
- 5) Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 60 min en un ciclo de líquido

5 65 l de medio de alimentación (1 volumen de reactor/día) igualaba un caudal de permeado de 45-50 ml/min. El caudal de permeado esperado para esta fibra era significativamente mayor de 50 ml/min; por lo tanto, era necesaria una restricción regulada del caudal de permeado, puesto que un flujo de permeado no restringido conduciría al ensuciamiento de la membrana. El permeado se ajustó para mantener los valores diana del cultivo. El flujo cruzado se mantuvo a 10 a 20 veces el caudal de permeado, específicamente, para conseguir un caudal de retenido de 1,4 l/min. El intervalo de caudal cruzado recomendado por el fabricante para esta fibra era de 1,1-8,6 l/min) y la presión transmembrana recomendada (TMP) era de 5-15 psi (35-104 kPa).

15 Una bomba dirigió el cultivo desde el biorreactor XDR al cartucho de fibra hueca. Se situó un indicador de presión entre la bomba y el cartucho. La presión transmembrana del cartucho de fibra hueca se mantuvo a o por debajo de aproximadamente 34 kPa. Esto se consiguió ajustando las válvulas o abrazaderas sobre las tuberías de salida de retenido y salida de permeado del cartucho de fibra hueca, según fuera necesario. El medio acondicionado fluyó desde los puertos de permeado del cartucho y las células fluyeron desde el retenido que vuelve al biorreactor. Las tuberías de alimentación y retenido se ajustaron para minimizar las salpicaduras y/o la espumación dentro del biorreactor.

Se siguieron los siguientes protocolos para realizar el aumento de escala de semillas de fermentación de *E. Coli* en el biorreactor.

- 20 1. Retirar un vial del congelador a -80 °C y registrar los datos de la etiqueta.
2. Descongelar el vial a temperatura ambiente. Transferir las células a un tubo de plástico de 4 ml. Incubar en hielo durante 5 minutos.
3. Llevar el cultivo a choque térmico a 42 °C durante 45 segundos.
- 25 4. Añadir 800 µl de medio SOC e incubar a 37 °C durante 1 hora con agitación constante a 250 rpm.
5. Inocular un cultivo de LB de 1000 ml en un matraz agitador de 500 ml con 1 ml del cultivo.
6. Incubar durante 4-8 horas a 37 °C con agitación constante a 250 rpm.
7. Muestrear el matraz 10 minutos después de la inoculación, y cada hora posteriormente, y medir la densidad óptica del líquido a 600 nm (DO<sub>600</sub>). Obtener una muestra de aproximadamente 1,0 ml y diluir en consecuencia con agua USP. Registrar los resultados en la hoja de datos. (Nota: para cultivos celulares bacterianos, DO<sub>600</sub> de 1,0 = 8 x 10<sup>8</sup> células/ml).
- 30 8. Representar gráficamente las curvas de crecimiento - final y determinar el tiempo requerido para alcanzar 3 DO.
9. Repetir las etapas 4 - 8 hasta que esté listo para inocular el matraz agitador de 2,8 l.
10. Determinar la DO<sub>600</sub> en el momento de la expansión a 1000 ml en un matraz agitador de 2,8 l.
- 35 11. Inocular dos matraces agitadores de 2,8 l que contienen 990 ml de LB con 10 ml de cultivo que crece exponencialmente.
12. Incubar durante la cantidad de tiempo predeterminado a 37 °C con agitación constante a 250 rpm.
  - a. Etiquetar los Matraces "A" y "B" respectivamente y cada hora posteriormente medir la DO<sub>600</sub> hasta que la densidad celular se estabiliza y/o empieza a disminuir. Registrar los resultados en la hoja de datos.
  - 40 b. El Matraz B se usará para inocular el XDR200
13. Determinar la DO<sub>600</sub> del Matraz B en el tiempo de la expansión a 65 l.
14. Inocular un cultivo de 65 l de LB + glucosa + MgSO<sub>4</sub> + antiespumante 204 en el XDR-200 con 1000 ml del cultivo que crece exponencialmente.
- 45 15. Muestrear el XDR200 10 minutos después de la inoculación, y cada 1 hora posteriormente, y medir la DO<sub>600</sub>. Registrar los resultados en la hoja de datos.

Los resultados de la reacción se muestran en las Figuras 7-10 como "Ensayo N° 2". Como se muestra en la Figura 8, las células crecieron durante el procedimiento de perfusión a una densidad óptica de 36. Las Figuras 9-11 muestran las mediciones de diversos parámetros como una función del tiempo.

50 Este ejemplo muestra que la combinación de biorreactor y cartucho de fibra hueca puede funcionar en condiciones de perfusión continua para la recuperación de células de *E. Coli* y el mantenimiento del cultivo.

**Tabla 1: Parámetros y Detalles del Biorreactor XDR200:**

<b>XDR200 - volumen operativo 65 l de LB con suplementos</b>
200E de Medio LB para el Proyecto de Perfusión de <i>E. Coli</i>
Complementado con 10 g/l g de glucosa (2000 g)



Complementado con 0,5 g/l de MgSO <sub>4</sub> (100 g)
Complementado con Antiespumante al 0,02% (40 ml)
sonda de calibrado del pH: patrones a 4,01 y 7,00
punto de ajuste del pH de 6,8 ± 0,2
control del pH - control del lado inferior - NaOH al 10%
punto de ajuste de la temperatura de 37 ± 0,5 °C
Agitación inicialmente a 250 rpm, aumentar hasta 350 rpm con bombeo ascendente
punto de ajuste del OD del 20%
Revestimiento (Aire) - 2 l/min
control de OD con cascada de O <sub>2</sub> y tubería abierta
Rociado (O <sub>2</sub> ) - según sea necesario para el control de OD - 20 l/min máx.
Tubería abierta (Máx) --10 l/min
Tubería abierta, iniciar con: (aire) -2 l/min de aire
Medio fresco basado en la concentración de glucosa en el cultivo y caudal de permeado

5 Aunque en el presente documento se han descrito e ilustrado diversas realizaciones de la presente invención, los expertos en la materia podrán prever fácilmente una variedad de otros medios y/o estructuras para realizar las funciones y/u obtener los resultados y/o una o más de las ventajas descritas en el presente documento, y cada una de tales variaciones y/o modificaciones se considera dentro del alcance de la presente invención. Más generalmente, los expertos en la materia apreciarán fácilmente que todos los parámetros, dimensiones, materiales, y configuraciones descritos en el presente documento pretenden ser ejemplares y que los parámetros, dimensiones, materiales, y/o configuraciones actuales dependerán de la aplicación o aplicaciones específicas para las que se usan las enseñanzas de la presente invención. Los expertos en la materia reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descrita en el presente documento. Por lo tanto, debe entenderse que las realizaciones anteriores se presentan a modo de ejemplo únicamente y que, dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y los equivalentes de las mismas, la invención puede realizarse de una forma práctica distinta de la descrita y reivindicada específicamente. La presente invención se refiere a cada característica, sistema, artículo, material, kit, y/o procedimiento individual descrito en el presente documento. Además, cualquier combinación de dos o más de tales características, sistemas, artículos, materiales, kits, y/o procedimientos, si tales características, sistemas, artículos, materiales, kits, y/o procedimientos no son mutuamente inconsistentes, se incluye dentro del ámbito de la presente invención.

20 Debe entenderse que todas las definiciones, como se definen y se usan en el presente documento, controlan sobre las definiciones del diccionario, definiciones en los documentos incorporados por referencia, y/o los significados ordinarios de los términos definidos.

Los artículos indefinidos "un" y "una", como se usan en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que claramente se indique lo contrario, debe entenderse que significan "al menos uno".

25 Debe entenderse también que, a menos que claramente se indique lo contrario, en cualquiera de los procedimientos reivindicados en el presente documento que incluyen más de una etapa o acto, el orden de las etapas o actos del procedimiento no está limitado necesariamente al orden en el que se citan las etapas o actos del procedimiento.

30 La expresión "y/o", como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, debe entenderse que significa "cualquiera o ambos" de los elementos así unidos, es decir, elementos que están presentes conjuntamente en algunos casos y presentes disyuntivamente en otros casos. Otros elementos pueden estar presentes opcionalmente distintos de los elementos específicamente identificados por la cláusula "y/o", ya estén relacionados o no con aquellos elementos identificados específicamente. De esta manera, como un ejemplo no limitante, una referencia a "A y/o B" puede referirse, en una realización, solo a A (que opcionalmente incluye elementos distintos de B); en otra realización, solo a B (que opcionalmente incluye elementos distintos de A); en otra

5 realización más, a ambos A y B (que opcionalmente incluye otros elementos); etc. Como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, debe entenderse que "o" tiene el mismo significado que "y/o" como se ha definido anteriormente. Por ejemplo, cuando se separan artículos en una lista, "o" o "y/o" debe interpretarse como inclusivo, es decir, la inclusión de al menos uno, pero que también incluye más de uno, de un número o una lista de elementos, y, opcionalmente, artículos no listados adicionales. Solo los términos indicados claramente como contrarios, tales como "solo uno de o "exactamente uno de", se referirán a la inclusión de exactamente un elemento de un número o lista de elementos. En general, el término "o" como se usa en el presente documento se interpretará únicamente como que indica alternativas exclusivas (es decir "uno o el otro pero no ambos") cuando va precedido de los términos de exclusividad, tales como "cualquiera", "uno de", "solo uno de", o "exactamente uno de".

10 En las reivindicaciones, así como en la memoria descriptiva anterior, todas las frases transicionales tales como "que comprende", "que incluye", "que lleva", "que tiene", "que contiene", "que implica", "que contiene", "compuesto de", y similares debe entenderse que son de final abierto, es decir, que significan que incluye aunque sin limitación. Solo las frases transicionales "que consiste en" y "que consiste esencialmente en" serán frases transicionales cerradas o semi-cerradas, respectivamente.

15

**REIVINDICACIONES**

1. Un sistema (10; 60) para contener y manipular sustancias de fluidos, que comprende:

- un primer aparato (14; 66; 100), que comprende:

- una primera bolsa (118; 402; 560) plegable adaptada para contener un fluido, incluyendo la primera bolsa (118; 402; 560) plegable una primera entrada, una primera salida, y una placa (400; 450; 501) base que está fijada a la primera bolsa (118; 402; 560) plegable;
- un rodete (509) asociado con la placa (400; 450; 501) base;
- una primera estructura (114) de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa (118; 402; 560) plegable; y

- un segundo aparato (18; 68; 100) en comunicación de fluido con el primer aparato (14; 66; 100), incluyendo el segundo aparato (18; 68; 100) una segunda entrada y una segunda salida, en el que el segundo aparato (18; 68; 100) está dispuesto externo a la primera bolsa (118; 402; 560) plegable o dispuesto dentro de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable, en el que

- (a) cuando el segundo aparato (18; 68; 100) está dispuesto externo a la primera bolsa (118; 402; 560) plegable, la primera salida de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable está en comunicación de fluido con la segunda entrada del segundo aparato (18; 68; 100), y la segunda salida del segundo aparato (18; 68; 100) está en comunicación de fluido con la primera entrada de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable; y
- (b) cuando el segundo aparato (18; 68; 100) está dispuesto dentro de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable, la primera salida de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable está en comunicación de fluido con la segunda salida del segundo aparato (18; 68; 100), y la segunda entrada del segundo aparato (18; 68; 100) está en comunicación de fluido directa con el fluido dentro de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable.

2. Un sistema (10; 60) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el segundo aparato (18; 68; 100) está

- (a) dispuesto externo al primer aparato (14; 66; 100) y está configurado para recibir un primer fluido que comprende una primera concentración de un componente desde el primer aparato (14; 66; 100) y suministrar un segundo fluido que comprende una segunda concentración del componente al primer aparato (14; 66; 100), en el que la primera y segunda concentraciones son diferentes, o
- (b) está dispuesto dentro de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable y está configurado para recibir a través de la segunda entrada del segundo aparato (18; 68; 100) un primer fluido que comprende una primera concentración de un componente directamente desde el fluido dentro de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable y suministrar una segunda concentración del componente al primer aparato (14; 66; 100), en el que la primera y segunda concentraciones son diferentes.

3. Un sistema (10; 60) de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el componente

- (a) comprende una sustancia elegida entre un organismo viable, un organismo no viable, un precipitado, una célula, una esfera polimérica porosa o no porosa, una esfera sólida, una partícula gelatinosa, una microperla, un microdisco, una perla reticulada, una entidad molecular bioquímica, y combinaciones de los mismos; o
- (b) comprende una célula que crece sobre un objeto sólido elegida entre una esfera sólida, una fibra, una partícula gelatinosa, una partícula polimérica, una partícula no porosa, una partícula porosa, y combinaciones de los mismos.

4. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 3, en el que el segundo aparato (18; 68; 100) comprende adicionalmente una segunda bolsa (118; 402; 560) plegable, y una segunda estructura (114) de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la segunda bolsa (118; 402; 560) plegable.

5. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la comunicación de fluido del segundo aparato (18; 68; 100) con el primer aparato (14; 66; 100) durante el uso es continua o periódica.

6. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que

- (a) la placa (400; 450; 501) base está fijada irreversiblemente a la bolsa (118; 402; 560) plegable; y/o
- (b) el rodete (509) se elige entre un rodete (509) accionado magnéticamente y un rodete accionado mediante un árbol directo; y/o
- (c) el rodete (509) tiene un soporte (400; 450; 501) de rodete fijado a un lado de la pared del contenedor (402; 560) en una parte inferior del mismo; y/o
- (d) el rodete (509) está descentrado del centro del fondo de la bolsa (118; 402; 560).

7. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el primer aparato (14; 66; 100) forma al menos parte de un sistema de biorreactor o al menos parte de un sistema de fabricación farmacéutico.

8. Un sistema (10; 60) de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la primera bolsa (118; 402; 560) plegable tiene un volumen de entre aproximadamente 1 l y aproximadamente 1.000 l.
9. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el segundo aparato (18; 68; 100) forma
- 5 (a) al menos parte de un dispositivo de separación; en el que el dispositivo de separación opcionalmente comprende un dispositivo de separación líquido-sólidos elegido entre una centrífuga, un dispositivo de sedimentación, un filtro de fibra hueca, un filtro de membrana plana, un filtro enrollado en espiral, un filtro rotatorio, y un dispositivo de filtración con placa y marco; y/o
- 10 (b) al menos parte de un dispositivo elegido entre un tanque de almacenamiento de medio o tampón, un sistema de mezcla, y un sistema de recolección discontinuo, periódico o continuo.
10. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 8, que comprende adicionalmente un dispositivo de separación líquido-sólidos situado sobre una superficie, o en una parte interna, de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable; en el que el dispositivo de separación opcionalmente comprende un dispositivo elegido entre una frita microporosa, una membrana de ultrafiltración, un filtro rotatorio, una centrífuga, y
- 15 un dispositivo de sedimentación.
11. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que
- (a) la primera estructura (114) de soporte comprende uno o más deflectores montados interna o externamente como parte de la bolsa (118; 402; 560) plegable o como parte de la estructura (114) de soporte externa; y/o
- 20 (b) la primera bolsa (118; 402; 560) plegable comprende uno o más deflectores que contienen un fluido de enfriamiento o calentamiento.
12. Un sistema (10; 60) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que
- (a) la primera bolsa (118; 402; 560) plegable comprende una o más divisiones internas; y/o
- (b) cada uno del primer aparato (14; 66; 100) y el segundo aparato (18; 68; 100) están en forma de un módulo portátil, y en el que cada aparato (14, 18; 66, 68; 100) puede moverse respecto al otro sin romper la
- 25 comunicación de fluido (16, 22; 73, 80) entre ellos.
13. Un procedimiento para contener y manipular sustancias de fluidos, que comprende:
- transferir un primer fluido que comprende una pluralidad de sustancias elegidas entre solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, y combinaciones de los mismos desde una primera bolsa (118; 402; 560) plegable hasta un aparato (18; 68; 100) que incluye un dispositivo de separación líquido-sólidos,
- 30 en el que el aparato (18; 68; 100) que incluye el dispositivo de separación líquido-sólidos es externo o interno respecto a la bolsa (118; 402; 560) plegable, y en el que la primera bolsa (118; 402; 560) plegable está soportada por una primera estructura (114) de soporte reutilizable adaptada para rodear y soportar la primera bolsa (118; 402; 560) plegable;
- separar al menos una parte de la pluralidad de los solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, o una combinación de los mismos del primer fluido en el aparato (18; 68; 100); y
- 35 - transferir un segundo fluido desde el aparato (18; 68; 100) hasta la primera bolsa (118; 402; 560) plegable, en el que el primer y segundo fluidos tienen diferentes concentraciones de los solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, o una combinación de los mismos.
14. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que al menos una parte de la pluralidad de solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, o una combinación de los mismos separados del primer fluido en el aparato (18; 68; 100) se eligen entre productos bioquímicos, células, sólidos con o sin células sobre la superficie, esferas semi-rígidas, esferas poliméricas, precipitados, y combinaciones de los mismos, y
- 40 el segundo fluido transferido desde el aparato (18; 68; 100) hasta la primera bolsa (118; 402; 560) plegable comprende una mayor concentración de los solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, o una combinación de los mismos que la concentración de solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos, o una combinación de los mismos en el primer fluido, haciendo fluir de esta manera algunos o todos los solutos bioquímicos, materiales en forma de partículas, objetos sólidos separados, o una combinación de los mismos, de vuelta a la bolsa (118; 402; 560) plegable.
- 45
15. Un procedimiento de recuperación y reciclado de solutos o células de un biorreactor que comprende la primera bolsa (118; 402; 560) plegable del sistema (10; 60) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, mientras se mantiene un volumen sustancialmente constante de fluido en el biorreactor, comprendiendo el procedimiento:
- 50 - permitir una suspensión de cultivo celular en un medio fluido en la primera bolsa (118; 402; 560) plegable para cultivar una primera concentración de solutos o células;
- permitir continuamente que una parte del medio fluido que comprende el soluto o suspensión de cultivo celular que tiene la primera concentración de solutos o células fluya fuera de la primera salida de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable y dentro de la segunda entrada del segundo aparato (18; 68; 100) externo que comprende el
- 55

dispositivo de separación o a través del segundo dispositivo de separación interno hasta la salida del primer aparato (14; 66; 100);

5 - permitir que el dispositivo de separación del segundo aparato (18; 68; 100) se separe de al menos una parte de los solutos o células del medio fluido que fluye hacia el segundo aparato (18; 68; 100) desde la primera bolsa (118; 402; 560) plegable, mientras que provoca simultáneamente que un fluido fluya desde el segundo aparato (18; 68; 100) fuera de la segunda salida del segundo aparato (18; 68; 100) y dentro de la primera entrada de la primera bolsa (118; 402; 560) plegable; y

10 - reciclar al menos una parte de los solutos o células separados por el segundo aparato (18; 68; 100) haciendo fluir parte o todos los solutos o células separados de vuelta a la bolsa (118; 402; 560) plegable, o directamente de vuelta al fluido dentro del primer aparato (14; 66; 100),

mientras mantiene continuamente un volumen sustancialmente constante dentro de la bolsa (118; 402; 560) plegable durante las etapas de salida de flujo, entrada de flujo y reciclado, recuperando de esta manera y reciclando los solutos o células del biorreactor mientras mantiene un volumen sustancialmente constante de fluido en el biorreactor o dispositivo farmacéutico.

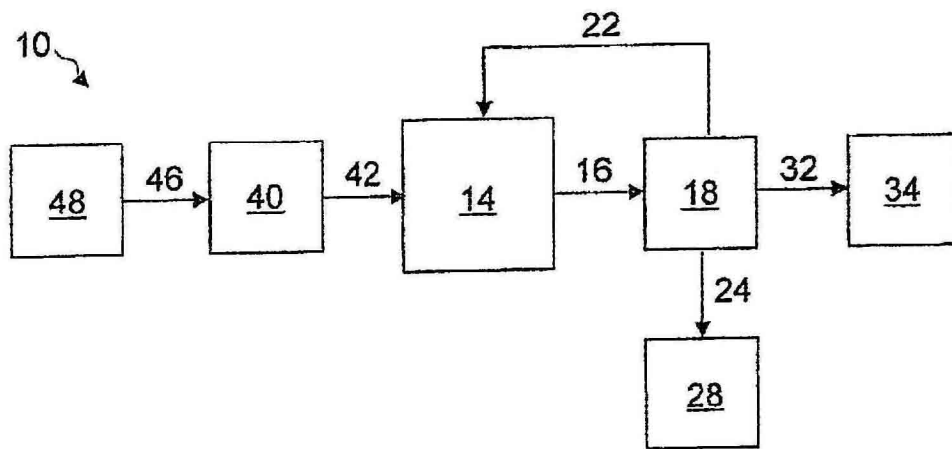


FIG. 1

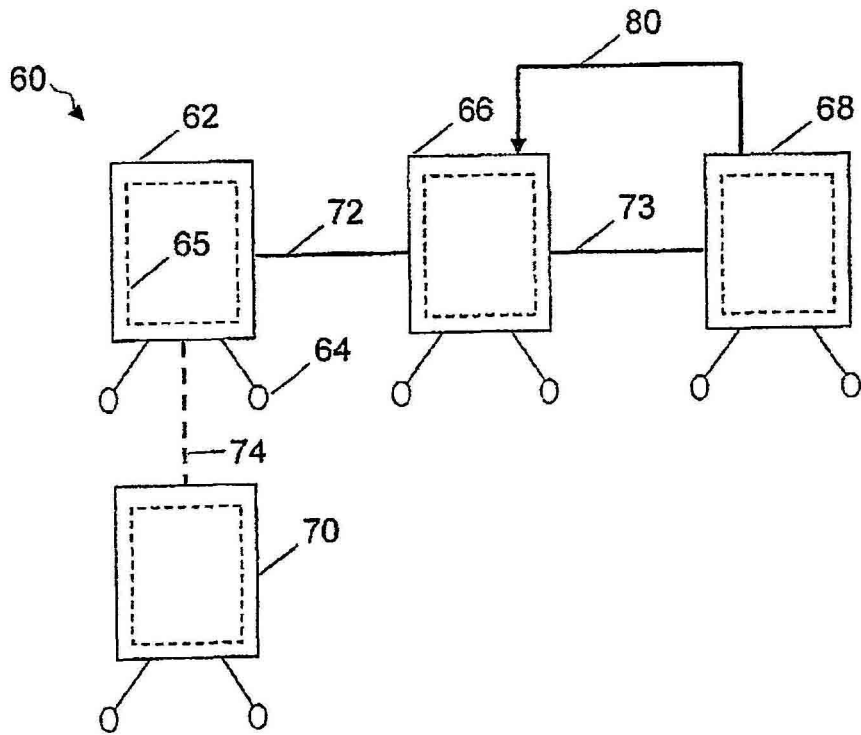


FIG. 2

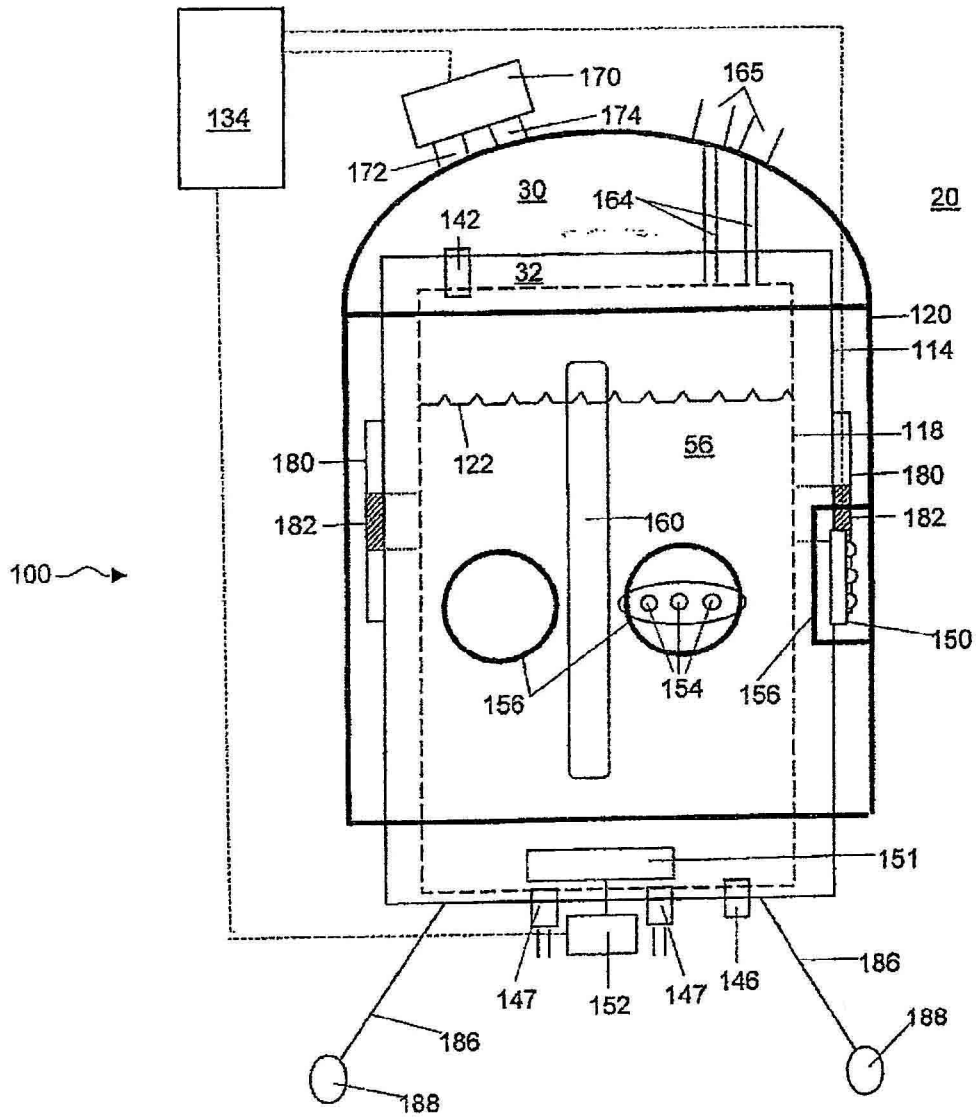


FIG. 3



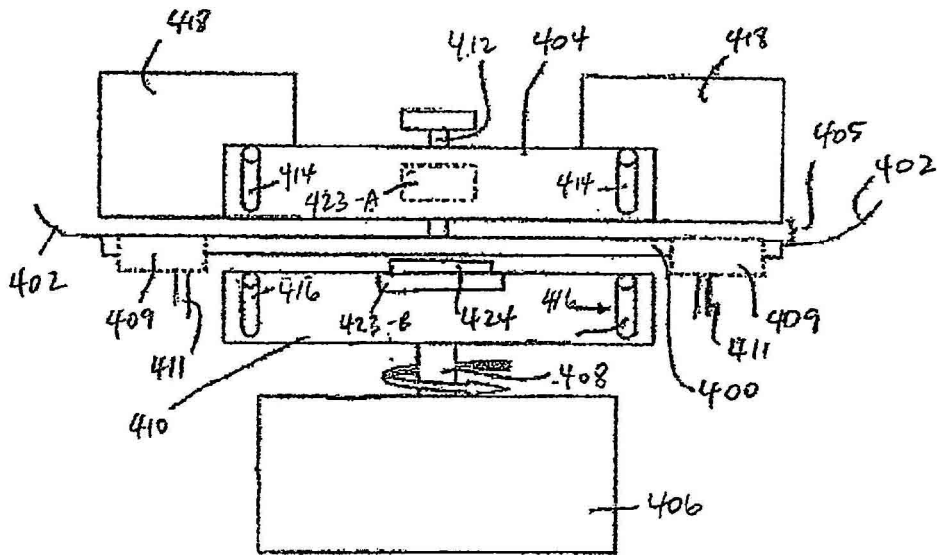


FIG. 4A

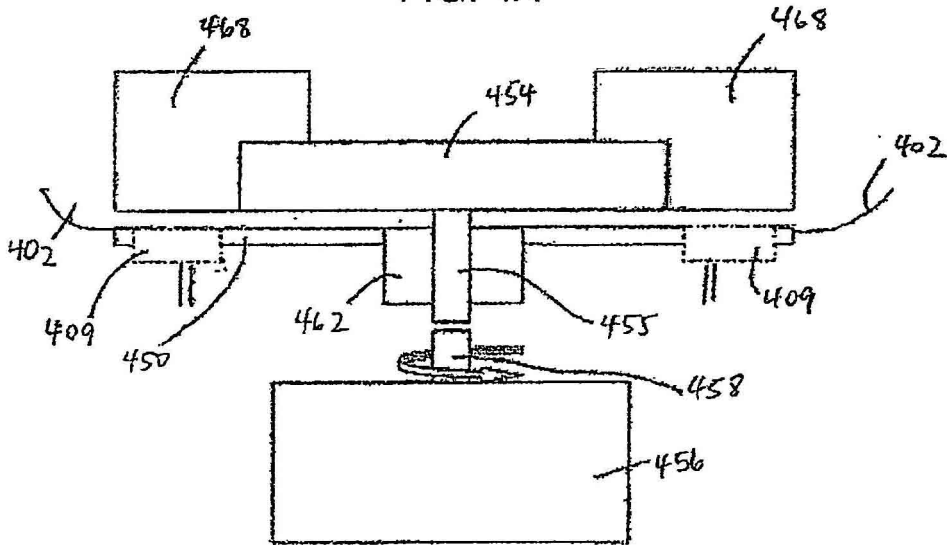
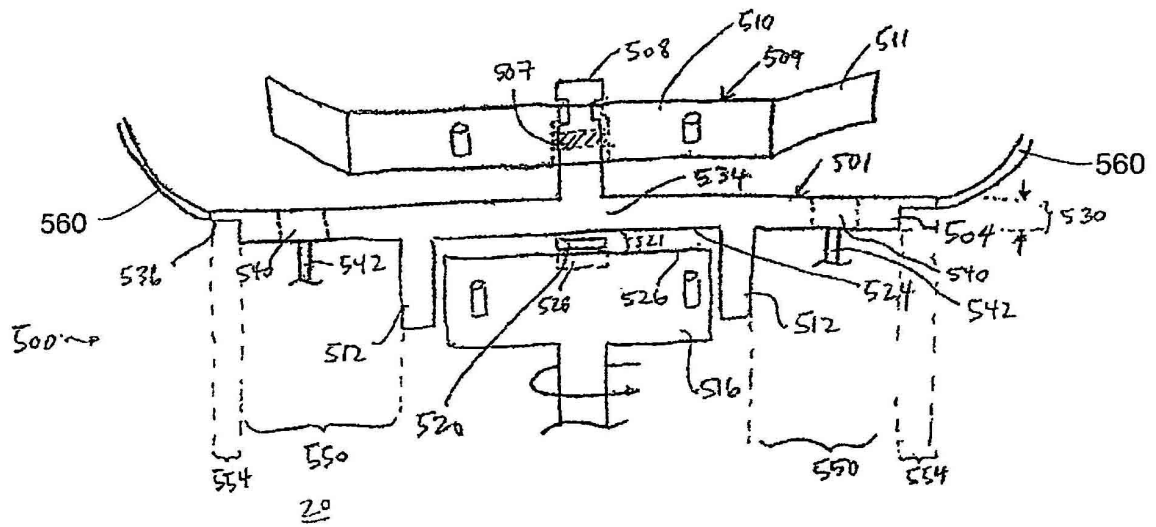


FIG. 4B



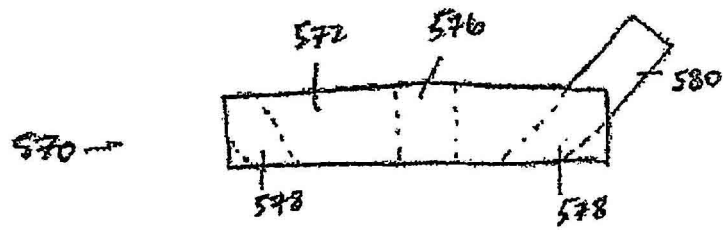


FIG. 6

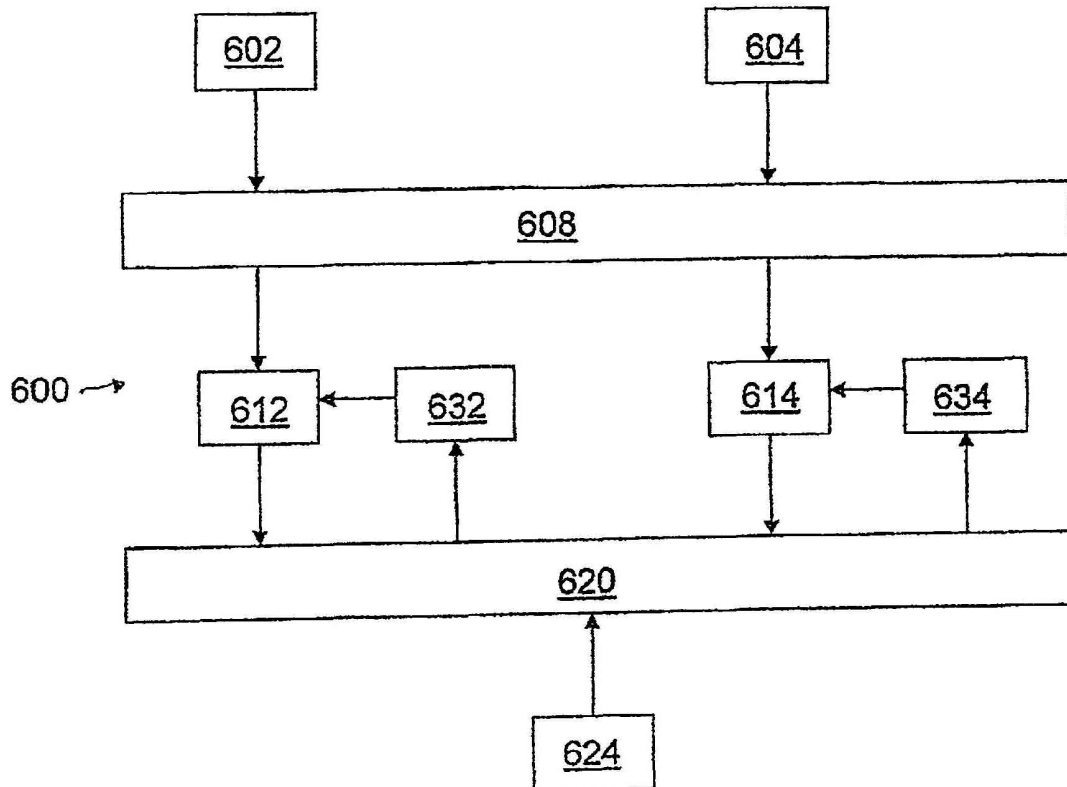


FIG. 7

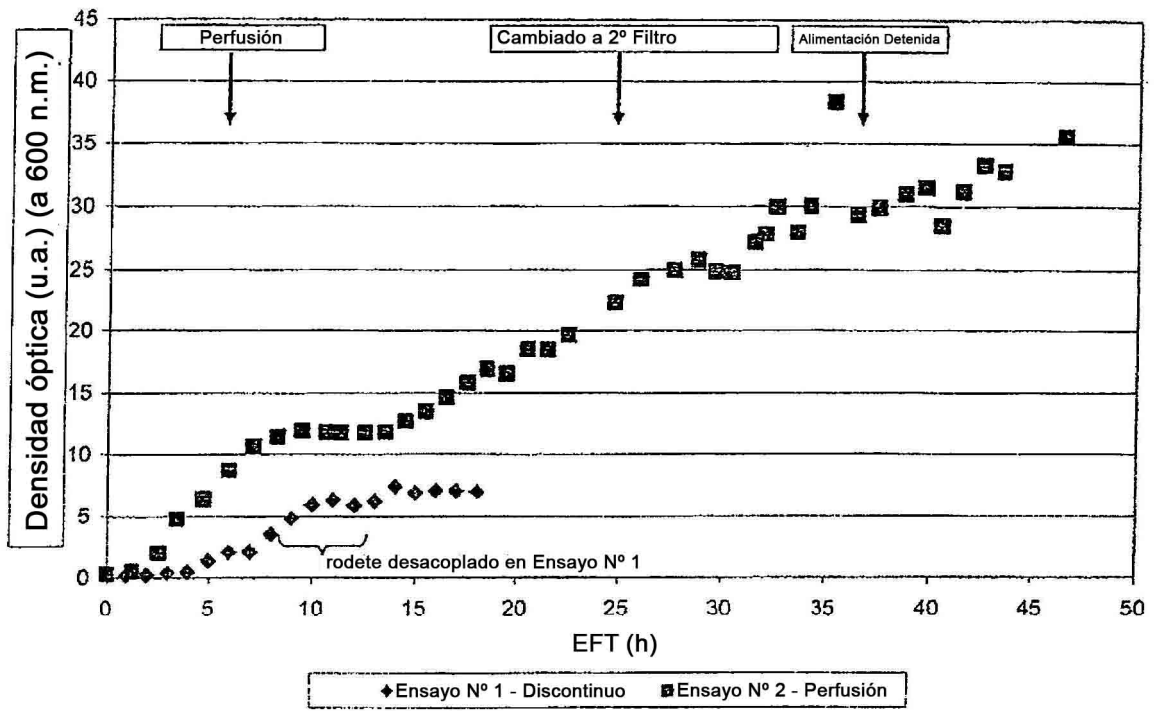


FIG. 8

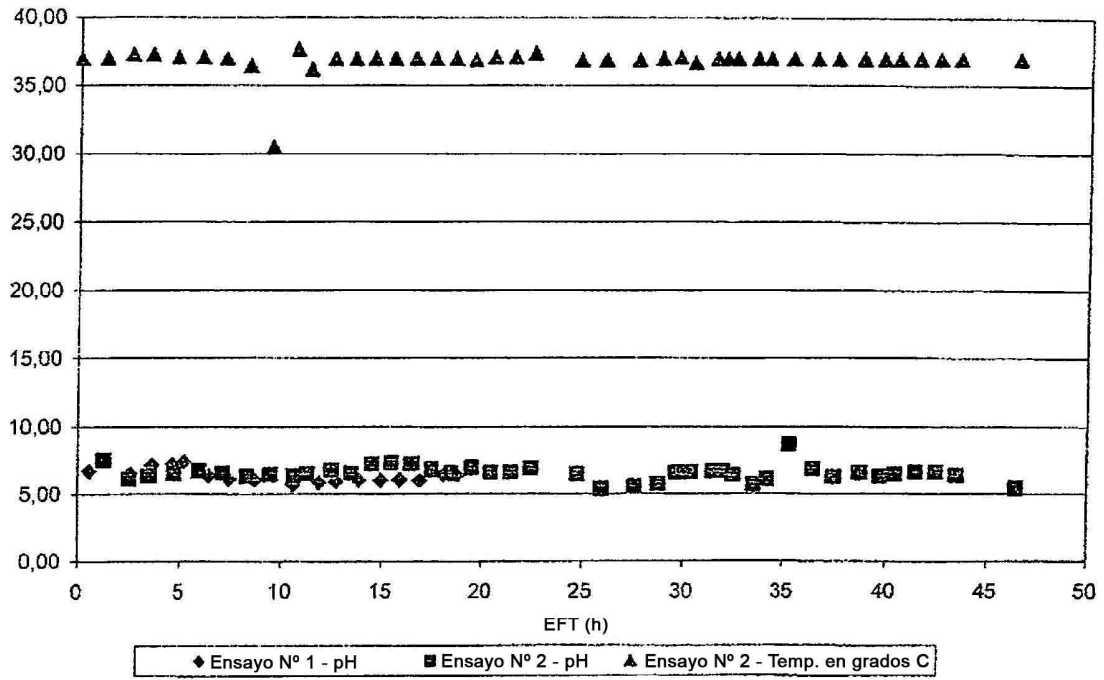


FIG. 9

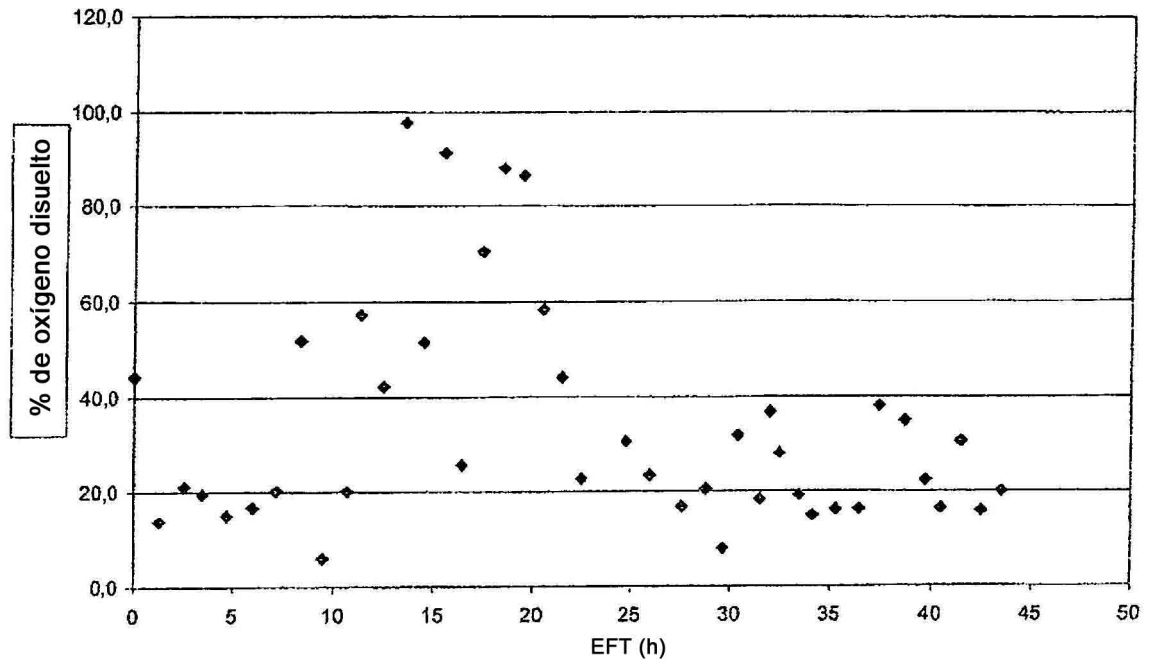


FIG. 10

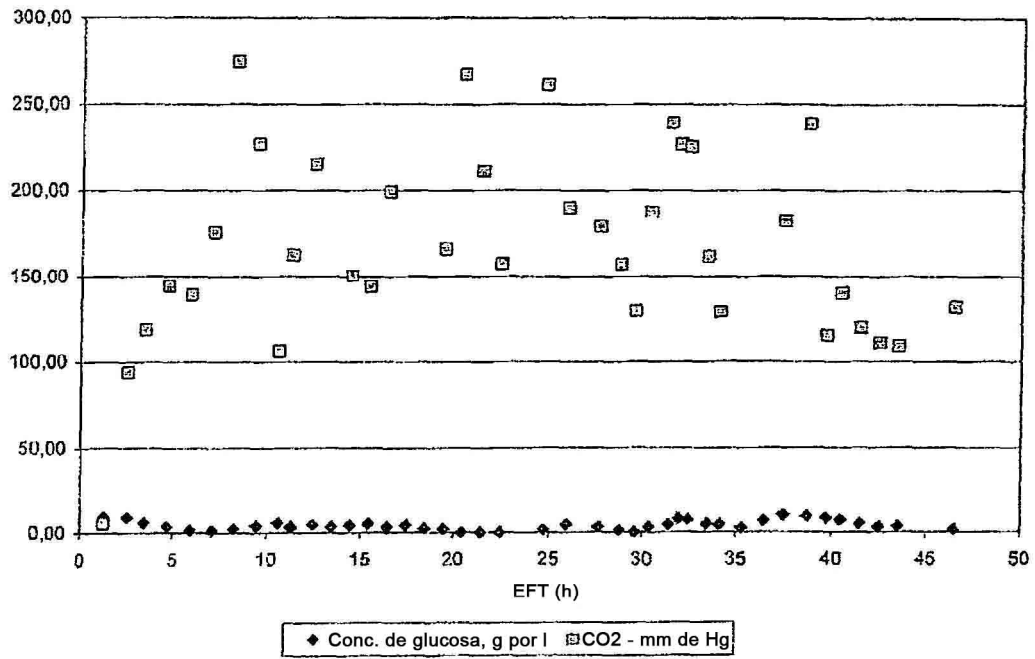


FIG. 11