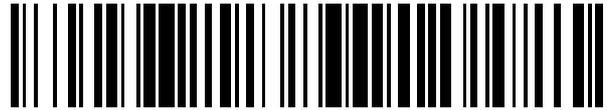


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 467 941**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2008 E 08290019 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2014 EP 1953218**

54 Título: **Recipiente destinado al cultivo de células, específicamente de linfocitos T**

30 Prioridad:

**12.01.2007 FR 0700252**

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

**13.06.2014**

73 Titular/es:

**MACO PHARMA (100.0%)  
RUE LORTHIOIS  
59400 MOUVAUX, FR**

72 Inventor/es:

**HERON, ANTOINE**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 467 941 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

Recipiente destinado al cultivo de células, específicamente de linfocitos T

La invención se relaciona con un recipiente destinado al cultivo de células *in vitro*.

5 El recipiente está destinado al cultivo de células en suspensión y específicamente al cultivo *in vitro* de los linfocitos T, en particular linfocitos T que infiltran los tumores (TIL).

Una técnica promisorio de tratamiento de los tumores es la inmunoterapia adoptiva. Según esta técnica, se toman células linfoides de un paciente, estimuladas y amplificadas *in vitro* antes de ser reinyectadas en el paciente.

10 La estimulación es realizada por adición de interleucina 2 (IL 2) y/o en presencia de células madre alogénicas no proliferantes. En este último caso, es necesario concentrar las células en un espacio confinado a fin de favorecer su comunicación.

Es por esto que esta etapa de estimulación es generalmente realizada en recipientes de cultivo abiertos como el matraz de fondo redondo.

15 Sin embargo, este cultivo en sistema abierto no es compatible con un uso clínico de rutina. En efecto, en un contexto médico, los recipientes de cultivo deben presentar garantías en materia de confinamiento de las células, de prevención de los riesgos de contaminación y errores técnicos de manipulación. Luego dichos recipientes deben respetar las reglas estrictas de buena práctica de los productos transfundibles para el acondicionamiento cerrado y la transferencia de las células.

20 Existen bolsas flexibles para cultivar células utilizadas en la terapéutica humana, específicamente en el contexto del desarrollo de los protocolos clínicos de expansión *ex vivo* de las células cepas hematopoyéticas tomadas de la extracción de médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón. Los documentos US 6 297 046 y EP 471 947 ilustran estas bolsas flexibles destinadas al cultivo de células.

Sin embargo, estas bolsas flexibles, colocadas de manera aplanada en la incubadora durante la fase de cultivo, no están adaptadas para el cultivo de TIL con células madre alogénicas, ya que éstas no permiten concentrar las células en un espacio confinado a fin de favorecer su comunicación.

25 Conviene desarrollar un recipiente y un procedimiento de cultivo que puedan respetar las buenas prácticas, específicamente en términos de confinamiento y riesgo de contaminación.

A tal efecto, la invención propone un recipiente para llevar a cabo una etapa de un procedimiento de cultivo *in vitro* de células, que comprende:

- 30
- una primera y segunda hojas de material termoplástico flexible solidarizadas una con la otra en la proximidad de sus periferias para formar un volumen interior;
  - una vía de acceso a dicho volumen que está preparada para permitir la introducción de las células;
  - una costura de sellado entre las hojas que está preparada para formar, en el volumen interior, dos compartimientos que se comunican entre ellos y con la vía de acceso, dicha costura de sellado siendo discontinua y estando asociada de manera estanca a un borde del recipiente.

35 Otros objetos y ventajas de la invención se presentarán a lo largo de la descripción que continúa con referencia a los dibujos anexados en los cuales:

- 40
- La figura 1 representa de manera esquemática una vista de una cara del recipiente según un modo de realización,
  - la figura 2 representa de manera esquemática una vista de una cara del recipiente según otro modo de realización de la invención, como su ubicación durante el estímulo de las células.
  - la figura 3 representa de manera esquemática un corte transversal del recipiente de la figura 1.
  - la figura 4 representa de manera esquemática una vista de una cara del recipiente según un tercer modo de realización, el recipiente conteniendo células y un medio de cultivo.
  - la figura 5 representa de manera esquemática un sistema cerrado comprendiendo un recipiente de emergencia, un recipiente de estimulación y un recipiente de amplificación de los linfocitos T.
- 45

El cultivo de células consiste en hacer crecer células fuera de su organismo ("ex-vivo") o de su medio original, con un objeto terapéutico, de experimentación científica o de producción biotecnológica.

5 Durante un procedimiento de cultivo de células, una de las primeras etapas consiste en aislar células a partir de un organismo viviente. En el caso de los linfocitos T infiltrando el tumor (TIL), esta etapa comprende la emergencia de los linfocitos T contenidos en un tumor. Esta etapa se realiza por ejemplo, por inmersión de fragmentos tumorales del tumor en un medio de cultivo.

El medio de cultivo puede ser un medio de base disponible en el mercado, como Medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), Medio Esencial Mínimo (MEM), CMRL, EMEM, RPMI1640, DMEM/F-10, DMEM/F12 o un medio de cultivo disponible en el mercado como X-VIVO™.

10 Este medio de cultivo puede ser complementado con diversos aditivos utilizados comúnmente por un experto. Entre los aditivos, se pueden citar cera o un sustituto de la cera, aminoácidos no esenciales, la L-glutamina, vitaminas, antibióticos, beta-mercaptopetanol, factores de crecimiento, citoquinas, etc.

15 Otra etapa de un procedimiento de cultivo consiste en mantener, hacer proliferar y/o amplificar las células aisladas. Esta etapa es generalmente realizada poniendo las células en suspensión en un medio de cultivo, específicamente diferente del utilizado para el aislamiento de las células.

Las células pueden igualmente experimentar diferentes tratamientos como la diferenciación, la activación o la estimulación. Dichos tratamientos se realizan generalmente por adición en el medio de cultivo de sustancias o células específicas, según el objeto de investigación.

20 En el caso de los linfocitos T, específicamente TIL, éstos son estimulados por ejemplo en presencia de células madre alogénicas no proliferantes y de interleucina 2.

Estas diferentes etapas se realizan en recipientes específicos con el tipo de células y con el tipo de tratamiento experimentado por las células.

25 La invención propone un recipiente para llevar a cabo una etapa de un procedimiento de cultivo *in vitro* de células, específicamente células no adherentes. En particular, el recipiente permite el cultivo de células provenientes de una o varias poblaciones en un espacio confinado.

Por ejemplo, el recipiente es utilizado para la estimulación de los linfocitos infiltrando el tumor (TIL o Tumor Infiltrating Lymphocytes) por cocultivo con otras células como las células madre alogénicas no proliferantes.

Según las figuras 1 y 3, el recipiente 1 comprende una primera y una segunda hojas 2,3 de material termoplástico flexible solidarizadas una con la otra con proximidad en su periferia para formar un volumen interior.

30 Los ejemplos de materiales termoplásticos flexibles son el policloruro de vinilo, el alcohol polivinílico, el polietileno tereftalato o el poliestireno. Otros ejemplos son el EVA, poliolefinas como el polipropileno, el polietileno y/o el polibutadieno, o polímeros fluorados como el etileno-propileno fluorado (FEP), el PFA Teflón® o el politetrafluoretileno (PTFE). Estos últimos ejemplos de material presentan la ventaja de ser permeables en los gases y esterilizables.

35 Según una realización posible, las hojas son selladas. No obstante, las hojas pueden igualmente estar solidarizadas por un método diferente, específicamente por encolado.

El recipiente comprende al menos una vía de acceso 4 al volumen interior que está preparada para permitir la introducción de las células. Según una variante, esta vía de acceso permite igualmente la recuperación de las células.

40 Según otra variante, el recipiente comprende dos vías de acceso 4,5 en el volumen interior, respectivamente para la introducción y la recuperación de las células.

La vía de acceso 4,5 está por ejemplo formada por una porción de tubería, sellada entre las dos hojas 2,3 formando el recipiente. En una variante no representada, la tubería se extiende en el volumen interior del recipiente.

Como se representa en la figura 1, la tubería está provista de un sujetador 23 para controlar el derrame de fluido a través de la tubería. El extremo de la tubería está provisto de un conector 24 de tipo Luer hembra, cerrado por un tope 25 movable.

Este conector 24 permite conectar una jeringa llena de células o un contenedor de medio de cultivo.

- 5 En relación con la figura 1 ó 2, el recipiente comprende una costura de sellado 6 entre las hojas que está preparada para formar, en el volumen interior, dos compartimientos 7,8 que se comunican entre ellos y con la vía de acceso 4, dicha costura de sellado 6 es discontinua y está asociada de manera estanca a un borde 9 del recipiente.

Los dos compartimientos 7,8 se comunican entre ellos y con la vía de acceso 4, de manera que un fluido vertido a partir de la vía de acceso 4 puede escurrirse en cada una de los dos compartimientos 7,8.

- 10 Uno de los dos compartimientos 7 del recipiente 1, llamado cámara de tranquilización, formada entre uno de los bordes 10 del recipiente y la costura de sellado 6, está destinada a recibir las células a cultivar, específicamente células no adherentes en suspensión en un poco de medio de cultivo.

El otro compartimiento 8, llamado cámara técnica, formado entre el borde 11 opuesto al borde delimitando la cámara de tranquilización 7 y la costura de sellado 6, está destinado a contener al menos parcialmente un medio de cultivo.

- 15 Específicamente, la cámara técnica 8 es utilizada para introducir y/o retirar del medio de cultivo en el volumen interior del recipiente 1, sin perturbar las células situadas en la cámara de tranquilización 7.

En efecto, la costura de sellado 6 demora y desvía un derrame de fluido llegando hacia ella, de manera que las células no están en contacto directo con el flujo del medio nuevamente introducido, limitando así el desplazamiento o la nueva puesta en suspensión de las células.

- 20 Durante la fase de cultivo de las células, el recipiente 1 está colocado de manera a situar la cámara técnica 8 arriba de la cámara de tranquilización 7. En esta posición, las células se sedimentan en el fondo de la cámara de tranquilización 7 que presenta una forma en V como se ilustra en la figura 3, favoreciendo la concentración y la comunicación de las células en cultivo.

- 25 Como se ilustra en las figuras, la costura de sellado 6 es discontinua, es decir que presenta una pluralidad de interrupciones, específicamente más de tres. Dichas interrupciones permiten un intercambio fluídico limitado entre la cámara de tranquilización 7 y la cámara técnica 8.

La costura de sellado 6 está asociada de manera estanca a un borde 9 del recipiente, de manera que la cámara técnica 8 y la cámara de tranquilización 7 no se comunican entre ellas en este nivel. Así, las células situadas en la cámara de tranquilización 7 no pueden ser transferidas a la cámara técnica 8, en este nivel. Específicamente, durante la introducción de las células, por ejemplo del lado opuesto a esta zona, las células permanecen en la cámara de tranquilización 7.

- 30 La cámara de tranquilización 7 brinda un espacio confinado en el cual las células están tranquilas, es decir poco o no desplazadas después de su introducción en el recipiente 1.

- 35 Según la figura 1, la costura de sellado 6 está asociada a un borde 9 del recipiente a través de uno de los puntos de sellado 12 constituyendo la costura. La costura está en este caso pegada al borde 9 del recipiente 1.

Según la figura 2, el punto de sellado 13 más próximo al borde 9 no está pegado a éste. En este caso, este punto de sellado se extiende hasta un borde 9 del recipiente, específicamente el más próximo.

En un modo de realización particular, la vía de acceso 4 está prevista en el borde 14 del recipiente 1 que está opuesto al borde 9 al que la costura de sellado 6 está asociada.

- 40 Durante la introducción de las células en la cámara de tranquilización 7, las células no pueden subir a la cámara técnica.

Según un modo de realización, el recipiente 1 comprende dos vías de acceso 4, 5 en el volumen interior, respectivamente para la introducción y la recuperación de las células.

Como se ilustra en la figura 4, una vía de acceso 4,5 drena en cada uno de los compartimientos 7,8.

La vía de acceso 4 que drena en la cámara de tranquilización 7 es utilizada para la introducción directamente en esta cámara de las células puestas en suspensión en un poco de medio de cultivo.

5 La vía de acceso 5 que se drena en la cámara técnica 8 es utilizada para la introducción del medio de cultivo fresco y/o la retirada del medio de cultivo usado. Esta segunda vía de acceso 5 permite limitar la perturbación de las células en la cámara de tranquilización 7 durante estas etapas de introducción y/o retirada de medio. Durante los cambios de medio, las tuberías al nivel de las células sedimentadas son así reducidas.

Asimismo, con dos vías de acceso 4,5, el riesgo de contaminación durante manipulaciones es reducido.

10 En una realización particular, la costura de sellado 6 se extiende paralelamente en los bordes longitudinales 10,11 de dicho recipiente.

Así, durante la fase de cultivo de las células, cuando el recipiente 1 está colocado con la cámara técnica 8 arriba de la cámara de tranquilización 7 (fig. 4), las células se sedimentan en la mayor longitud del recipiente. 1.

15 En particular, la costura de sellado 6 está prevista con proximidad de un borde longitudinal 10 de manera a formar dos compartimientos 7,8 de longitud diferente.

Específicamente, el compartimiento 7 de más pequeña longitud representa la cámara de tranquilización. La costura de sellado 6, situada con proximidad del borde del recipiente 1, por ejemplo entre 1 y 3 cm del borde, específicamente 2 cm del borde, crea y mantiene un espacio confinado para una suspensión de células, inclusive después de la adición del medio de cultivo.

20 En esta realización, los compartimientos 7,8 se comunican transversalmente entre ellos, entre el extremo de la costura de sellado 6 y un borde transversal 14 de dicho recipiente.

Esta zona de comunicación transversal permite, durante la introducción de células por una vía de acceso que drena hacia la cámara técnica, verter las células en suspensión en un medio de cultivo directamente en la cámara de tranquilización, sin encontrar la costura de sellado.

25 Según una variante no representada, la tubería formando la vía de acceso 4 se prolonga en el volumen interior del recipiente 1 hasta la cámara de tranquilización 7.

Como representada en las figuras, la costura de sellado 6 es discontinua y presenta una pluralidad de interrupciones, específicamente al menos 3 interrupciones.

30 Ventajosamente, la costura de sellado 6 está formada por una sucesión de puntos de sellado que son regularmente espaciados.

Por ejemplo, los puntos de sellado poseen una longitud comprendida entre 1 mm y 5 mm, los espacios entre ellos presentan una longitud comprendida entre 1 mm y 1 cm.

35 La longitud de los puntos de sellado es suficiente para mantener juntas las dos hojas formando el recipiente y crear el espacio confinado. Los espacios entre los puntos de sellado deben ser tamaño adaptado para asegurar un intercambio fluido entre los dos compartimientos 7,8.

Ahora se describe un procedimiento de cultivo *in vitro* de células con la ayuda del recipiente de la invención.

Según este procedimiento y en relación con la figura 4, se introduce en el recipiente según la invención células en suspensión en un medio de cultivo 15 a través de la vía de acceso 4, y se renueva el medio de cultivo 16.

40 La renovación del medio de cultivo se realiza por simple adición por gravedad de medio de cultivo fresco, por la vía de acceso utilizada para la introducción de las células o por una segunda vía de acceso, si existe una.

Por ejemplo, una cantidad de medio de cultivo es retirada del recipiente antes de la adición de medio fresco.

Según este procedimiento, se coloca el recipiente 1 con un compartimiento por arriba del otro, para llevar las células sobre un borde del recipiente.

Específicamente, se coloca el recipiente 1 con la cámara técnica 8 arriba de la cámara de tranquilización 7, para llevar las células 15 al borde 10 del recipiente 1.

Para hacer esto y como se ilustra en las figuras de la 1 a la 4, el recipiente está provisto de ojete 17 situados en la periferia del recipiente 1, a lo largo del borde 11 opuesto al borde 10 que delimita la cámara de tranquilización.

5 Durante la fase de cultivo, se suspende el recipiente 1 con la ayuda de ganchos 18 acoplándose en los ojete (figura 3).

Según una variante no representada, el recipiente es mantenido en la posición de cultivo por pinzas previstas en un soporte.

En las figuras 1 y 4, el recipiente está provisto de un alojamiento 26 para deslizar una etiqueta de identificación.

10 Se describe ahora más en detalle un procedimiento de cultivo *in vitro* de linfocitos T, en particular linfocitos T infiltrando los tumores llamados TIL, modificados o no, a partir de una extracción tumoral o de sangre tomada del paciente aquejado de un tumor.

15 Los linfocitos T que infiltran los tumores o TIL son células inmunes aisladas a partir de un tumor o de sangre tomada del paciente aquejado del tumor. Reinyectados después de la estimulación, éstos poseen un poder antitumoral, específico del tumor del cual éstos son tomados.

En el contexto de la terapia génica, estos linfocitos T pueden ser modificados por incorporación del gen como un gen de receptores quimeras, aumentando su poder antitumoral.

20 El procedimiento de cultivo de los linfocitos T comprende sucesivamente al menos una etapa de emergencia de los linfocitos T contenidos en el tumor o la sangre extraída, una etapa de estimulación de los linfocitos T extraídos de la etapa de emergencia y una etapa de amplificación de los linfocitos T estimulados.

Según la invención, la etapa de estimulación de los linfocitos T es realizada en un recipiente de cultivo cerrado compartimentado.

El recipiente de cultivo compartimentado es un recipiente adaptado al cultivo de los linfocitos T que comprende al menos dos compartimientos comunicándose uno con el otro.

25 Tal recipiente es específicamente flexible y formado por ensamblaje de dos hojas termoplásticas flexibles solidarizadas entre ellas con proximidad en su periferia.

Un ejemplo de recipiente de estimulación es descrito arriba con relación a las figuras de la 1 a la 4.

30 El recipiente está cerrado, es decir que su volumen interior no está en contacto con el ambiente, específicamente durante la fase de cultivo, cuando las células y el medio de cultivo están situados en el recipiente. El recipiente permite entonces mantener células en cultivo en un medio adaptado sin que éstas estén en contacto directo con el ambiente exterior.

Según el procedimiento de cultivo, se estimula los linfocitos T en presencia de células madre alogénicas no proliferantes.

35 Estas células madre alogénicas, es decir provenientes de la misma especie, pero de un individuo genéticamente diferente, se convierten en no proliferantes, por ejemplo, por irradiación.

Específicamente, se estimula los linfocitos T por co-cultivo con células madre alogénicas no proliferantes consistente en una mezcla formada por células mononucleadas tomadas de sangre de donante humano sano y de unas descendientes de células B transformadas por el EBV (Epstein-Barr Virus) de tipo LAZ.

40 Según el procedimiento de cultivo, se co-cultivan las células madre alogénicas no proliferantes y los linfocitos T en un medio de cultivo selectivo de tipo X-VIVO 15<sup>TM</sup> complementado en interleucina 2.

El medio de cultivo X-VIVO 15<sup>TM</sup> es un medio de cultivo sin cera comercializado por Cambrex Corp., Walkersville, Md., USA y optimizado para el cultivo de las TIL.

La interleucina 2 desempeña un papel importante como factor de crecimiento y activación de los linfocitos.

Para estimular el crecimiento de las TIL, durante la etapa de estimulación, se introduce en el recipiente de estimulación cerrado paralelamente en los linfocitos, un agente como el PHA L (fitohemaglutinina de tipo L) apta para favorecer la amplificación de los linfocitos.

- 5 Como se describió anteriormente, la estimulación de los linfocitos T es realizada en un recipiente 1 cerrado de estimulación consistente en al menos dos compartimientos 7,8, llamados una cámara técnica 8, el otro cámara de tranquilización 7, comunicándose entre ellas y al menos una vía de acceso 4 que drena en uno de los compartimientos 7,8, en el cual se introducen los linfocitos y las células madre alogénicas no proliferantes en suspensión en un medio de cultivo a través de dicha vía de acceso 4.
- 10 Durante la etapa de estimulación, se coloca el recipiente 1 cerrado de estimulación con la cámara técnica 8 extendiéndose por arriba de la cámara de tranquilización 7. Así, los linfocitos T y las células madre alogénicas no proliferantes se sedimentan por gravedad en el fondo de la cámara de tranquilización.
- Como se representa en la figura 3, este fondo, delimitado por la intersección de las dos hojas flexibles 2,3 que forma el recipiente 1, presenta una forma en V adaptada al confinamiento de las dos poblaciones de células.
- 15 Para mantener la viabilidad de los linfocitos T, se renueva el medio de cultivo a través de la vía u otra de acceso 4,5 del recipiente 1 cerrado de estimulación.
- La renovación del medio de cultivo se realiza por adición de un medio de cultivo fresco, como el X-VIVO 15™ eventualmente complementado en IL2.
- 20 Según la figura 1, el recipiente cerrado 1 consiste en al menos dos vías de acceso 4,5 drenando en la cámara técnica 8. En este caso, se introducen los linfocitos y las células madre alogénicas no proliferantes en suspensión en un medio de cultivo a través de una primera vía de acceso 4 que está ubicada lo más cercana a la cámara de tranquilización 7, y se renueva el medio de cultivo a través de una segunda vía de acceso 5 que está ubicada lo más alejado de dicha cámara de tranquilización.
- 25 La introducción de las células por la vía de acceso 4 la más cercana a la cámara de tranquilización 7 permite limitar el recorrido de las células en el recipiente 1 y entonces limitar su stress.
- La utilización de dos vías de acceso 4,5 diferentes para la introducción de las células y la renovación del medio limita los riesgos de contaminación durante la manipulación del recipiente.
- Según una variante del procedimiento de cultivo *in vitro* de linfocitos T, se lleva a cabo la etapa de emergencia de los linfocitos T, en particular de cultivo primario del o de las extracciones tumorales, en un recipiente de cultivo cerrado.
- 30 La etapa de emergencia es por ejemplo realizada poniendo en cultivo suspensiones celulares tomadas de fragmentos de tumores o de sangre tomada del paciente, en un medio de cultivo selectivo comprendiendo IL2. Después de algunos días de cultivo, sólo persiste una población de linfocitos T.
- El recipiente de cultivo cerrado utilizado para esta etapa de emergencia es por ejemplo un recipiente ilustrado en las figuras de la 1 a la 4 o un recipiente similar sin costura de sellado.
- 35 Según otra variante del procedimiento, se transfieren, después de la estimulación, los linfocitos T estimulados en un recipiente de cultivo cerrado de amplificación.
- El recipiente de cultivo cerrado de amplificación es por ejemplo un recipiente ilustrado en las figuras de la 1 a la 4 o un recipiente similar sin costura de sellado.
- 40 En particular, se llevan a cabo las etapas de emergencia, de estimulación y amplificación en un recipiente de cultivo cerrado diferente de una etapa a otra.
- Específicamente, la transferencia de un recipiente cerrado a otro es realizado de manera estéril, por ejemplo conectando con la ayuda de un dispositivo de conexión estéril de tipo SCD® de Terumo, las tuberías que sirven de vías de acceso.

En una variante, los recipientes cerrados de emergencia, de estimulación y amplificación son preconectados entre ellos en el momento de la fabricación, para formar un sistema cerrado.

Tal sistema es representado en la figura 5 y permite realizar el cultivo completo de los linfocitos T en sistema cerrado, limitando así el riesgo de contaminación.

- 5 En la figura 5, el recipiente cerrado de estimulación 1 está conectado a un recipiente de emergencia 19 a través de una tubería 20, y a un recipiente de amplificación 21 a través de una tubería 22.

Los linfocitos T, específicamente TIL, así estimulados y amplificados por el procedimiento descrito, poseen una actividad citotóxica útil para el tratamiento de los tumores en un paciente en el contexto de la inmunoterapia adoptiva.

REIVINDICACIONES

1. Recipiente (1) para llevar a cabo una etapa de un procedimiento de cultivo in vitro de células, que comprende:
- 5                   - una primera y una segunda hojas (2,3) de material termoplástico flexible solidarizadas una con otra en la proximidad de su periferia para formar un volumen interior;
- una vía de acceso (4) a dicho volumen que está preparada para permitir la introducción de las células;
- un costura de sellado (6) entre las hojas que está preparada para formar, en el volumen interior, dos compartimientos (7,8) que se comunican entre ellos y con la vía de acceso (4), dicha costura de sellado (6) es discontinua y está asociada de manera estanca a un borde (9) del recipiente (1).
- 10
2. Recipiente (1) según la reivindicación 1, **caracterizado porque** la vía de acceso (4) está prevista en el borde (14) del recipiente que está opuesto al borde (9) al que la costura de sellado está asociada.
3. Recipiente (1) según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque** comprende dos vías de acceso (4,5) en el volumen interior, respectivamente para la introducción y la recuperación de las células.
- 15
4. Recipiente (1) según la reivindicación 3, **caracterizado porque** una vía de acceso (4,5) drena hacia cada uno de los compartimientos (7,8).
- 20
5. Recipiente según una cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** los compartimientos (7,8) están formados respectivamente entre un borde (10,11) de dicho recipiente y la costura de sellado (6).
6. Recipiente (1) según la reivindicación 5, **caracterizado porque** la costura de sellado (6) se extiende paralelamente en los bordes (10,11) longitudinales de dicho recipiente (1).
- 25
7. Recipiente (1) según la reivindicación 6, **caracterizado porque** la costura de sellado (6) está prevista próxima a un borde (10) longitudinal para formar dos compartimientos (7,8) de amplitud diferente.
8. Recipiente (1) según la reivindicación 6 o 7, **caracterizado porque** los compartimientos (7,8) se comunican transversalmente entre ellos, entre el extremo de la costura de sellado (6) y un borde transversal (14) de dicho recipiente.
- 30
9. Recipiente (1) según una cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** la costura de sellado (6) está formado por una sucesión de puntos que están regularmente espaciados.
- 35
10. Recipiente (1) según la reivindicación 9, **caracterizado porque** los puntos de sellado poseen una longitud comprendida entre 1 mm y 5 mm, los espacios entre ellos presentando una longitud comprendida entre 1 mm y 1 cm.

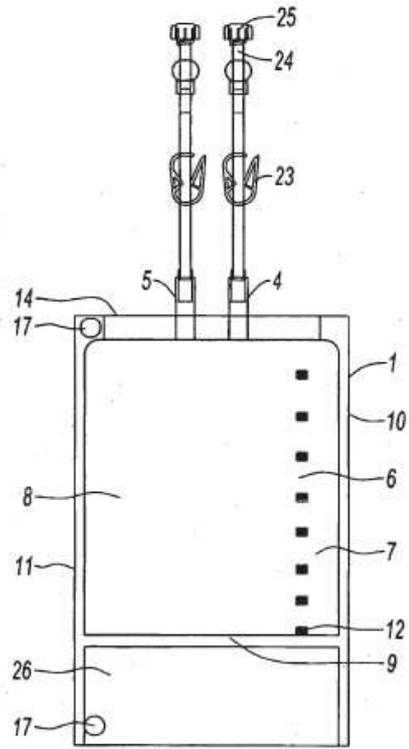


Fig. 1

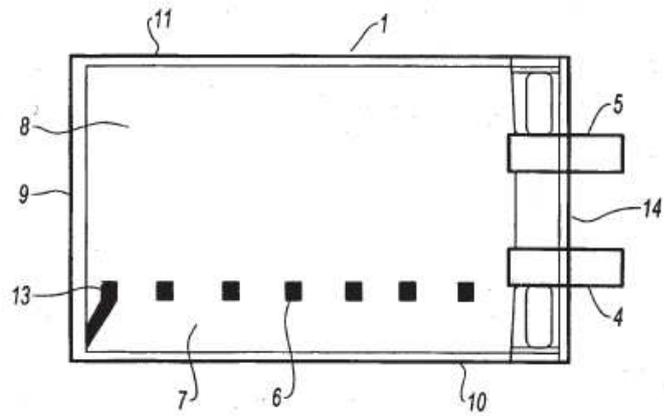


Fig. 2

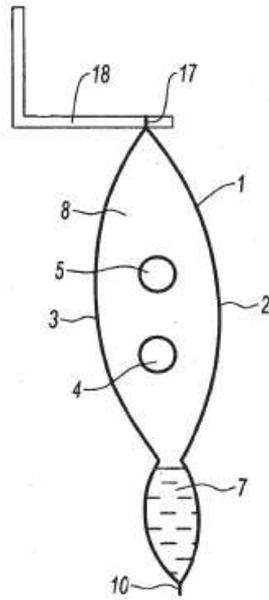


Fig. 3

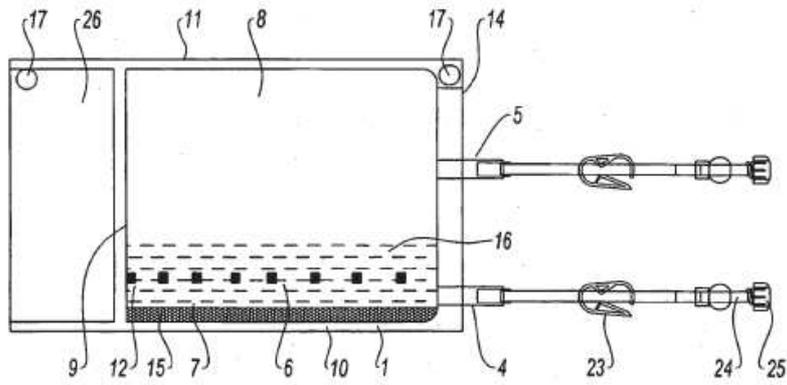


Fig. 4

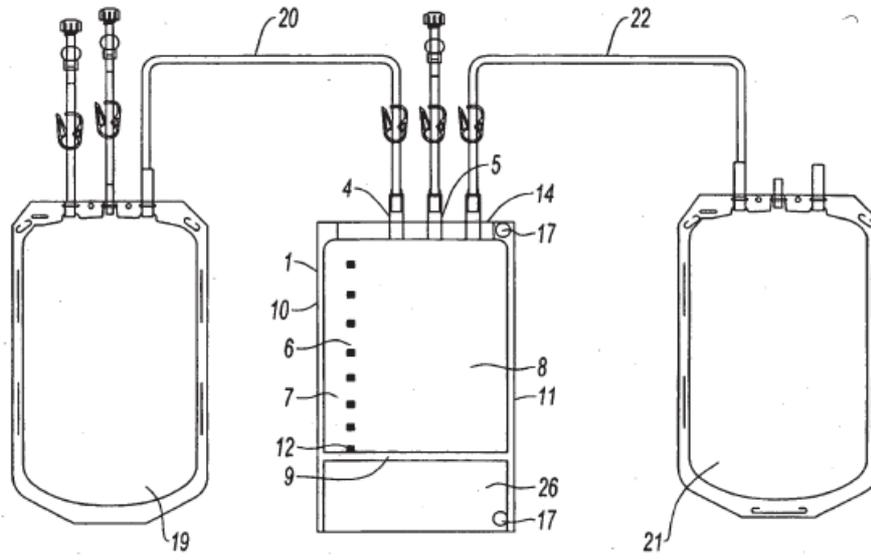


Fig. 5