(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 601 227**

(51) Int. CI.:

F16D 1/076 (2006.01)
B01F 15/00 (2006.01)
B01F 11/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.02.2013 PCT/EP2013/052039**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014 WO14117859**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.02.2013 E 13704896 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 2951452**

(54) Título: **Sistema de agitación no invasivo**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.02.2017

(73) Titular/es:

ASOCIACIÓN CENTRO DE INVESTIGACIÓN COOPERATIVA EN BIOMATERIALES - CIC BIOMAGUNE (100.0%)
Parque Tecnológico de San Sebastián, Paseo Marimón, 182, Edificio Empresarial C
2009 San Sebastián, ES

(72) Inventor/es:

SIMON SORIA, MARCOS

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

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 agitación no invasivo

Campo de la invención

La invención proporciona un medio para la agitación controlada, contenida y no invasiva de los contenidos de un recipiente cerrado, sin introducir ningún fragmento o partícula dentro de dicho recipiente.

Antecedentes de la invención

Algunos procesos, tales como el cultivo de células, necesitan que se agite un fluido dentro de un recipiente. Este paso puede lograrse de muchas maneras, pero lograrlo introduciendo alguna pieza externa móvil dentro del recipiente tiene muchas desventajas.

En primer lugar, es más difícil asegurar la estanqueidad del recipiente, ya que debe haber una abertura para que la pieza externa se introduzca y por que la abertura debe dejar que la pieza se mueva. Además, es más difícil asegurar la esterilidad de la parte interior del recipiente.

Se han propuesto diferentes soluciones para lograr una agitación contenida y no invasiva dentro de vasos cerrados. Estas soluciones pueden agruparse en tres amplios enfoques:

Agitación del recipiente

La patente US 6.190.913 describe una plataforma oscilante que aplica un movimiento oscilante a una bolsa parcialmente llena con una suspensión de células, logrando así una agitación simultánea de la suspensión y aireación del cultivo debido al intercambio de gas entre la fase de líquido y la fase de gas en la parte superior.

La patente US 3.941.661 describe células adherentes que crecen en la pared interior de una botella cilíndrica que se sumergen periódicamente en un medio de cultivo de líquido contenido en la botella a medida que la botella horizontal rota alrededor de su eje longitudinal.

La patente US 5.816.702 propone el uso de una paleta montada en el interior de un tambor incrementando así la mezcla de los contenidos fluidos del recipiente.

La patente US 4.732.487 describe la aplicación de un movimiento oscilante en la pared de un recipiente de manera que este movimiento transfiera el movimiento oscilante a una placa de mezcla sujeta en el lado interior de la pared oscilante. La placa oscila con mayor amplitud que la aplicada a la pared, produciendo así un efecto de mezcla de líquidos contenidos en el recipiente.

La patente US 4.685.811 describe el uso de un diodo fluídico que comprende una placa perforada contenida en un recipiente y de tal manera que la trayectoria diferente seguida por el líquido cuando fluye en diferentes direcciones crea un efecto de mezcla.

La patente US 7.083.323 propone el movimiento desde un compartimento a otro del contenido líquido de un recipiente flexible de múltiples compartimentos. Al comprimir las paredes de los diferentes compartimentos, se obliga el líquido a pasar a través de pequeños pasos que incrementan la velocidad de flujo y crean un efecto de mezcla.

Gas burbujeante

La patente US 5.443.985 propone el cultivo de células en suspensión usando una cámara de cultivo inclinada y larga donde las burbujas de gas introducidas en la parte inferior de la cámara progresan hacia la parte superior de la cámara a lo largo de la interfase entre la suspensión de células y la pared de la cámara, agitando de esta manera suavemente la suspensión de células contenida en la cámara y proporcionando simultáneamente el intercambio de gas.

Agitación magnética

El acoplamiento magnético se usa normalmente en sistemas abiertos para agitar los contenidos de líquido de los vasos. En estos sistemas, un vaso abierto que contiene líquido a agitar y un imán se colocan en la parte superior de una superficie que cubre un campo magnético rotativo. Los ejemplos de esta técnica pueden encontrarse en la patente US 4.209.259 o en la patente US 3.647.632.

El documento US 3.290.017 A, que divulga un dispositivo de acuerdo con el preámbulo de las reivindicaciones 1 y 8, describe un recipiente dividido para almacenar una pluralidad de diferentes ingredientes que deben mantenerse

separados hasta que estén listos para su uso. En una de las realizaciones, se usan dedos para empujar una barrera con forma de bola a lo largo del interior de un tubo.

Sin embargo, todos estos sistemas existentes tienen al menos uno de los siguientes inconvenientes: la intensidad de agitación, y por tanto las fuerzas de cizalla, no se controlan bien, limitando así la aplicación a contenidos resistentes a la cizalla; el suministro y escape de fluido continuo no es posible debido a enredos de tuberías, lo que limita la automatización; la agitación directa se produce solo en un volumen reducido del contenido del vaso, reduciendo la eficacia; la transferencia de líquido de un vaso a otro a través de pequeños pasos es necesaria para lograr la agitación, limitando por tanto el tamaño de estructuras sólidas en el interior del vaso e incrementando el tamaño del sistema en general; el uso de componentes metálicos en el interior del vaso evita el uso de algunas tecnologías de esterilización, lo que evita el uso de vasos preesterilizados; y el mecanismo de agitación es grande y complejo, limitando su aplicación en entornos particularmente controlados.

Todos los inconvenientes antes mencionados se superan mediante la invención divulgada.

Sumario de la invención

La invención sugiere una solución mejorada para los anteriores inconvenientes. La invención se refiere a un primer producto interrelacionado de acuerdo con la reivindicación 1, un segundo producto interrelacionado de acuerdo con la reivindicación 8 y un sistema de acuerdo con la reivindicación 11. Las realizaciones preferentes de la invención se definen en las reivindicaciones dependientes.

En un primer aspecto inventivo, la invención proporciona un primer producto interrelacionado para una agitación no invasiva de un fluido, adecuado para el cultivo de células, de acuerdo con las características de la reivindicación 1.

En una realización preferente, los principales medios mezcladores móviles se acoplan mecánicamente a unos segundos medios mezcladores situados dentro del recipiente en el que el movimiento de los segundos medios mezcladores se acciona mediante el movimiento de los principales medios mezcladores móviles.

En una realización preferente, los principales medios mezcladores móviles y los segundos medios mezcladores son dos elementos acoplados en forma de rueda dentada, encajados en las paredes del recipiente para que cuando roten, el primer producto interrelacionado funcione como un propulsor, bombeando fluido desde un suministro de fluido a un drenaje de fluido.

En una realización preferente, la superficie de los principales medios mezcladores móviles se modifica mediante la funcionalización de dicha superficie o revistiendo dicha superficie con catalizadores, reactivos químicos, células, polímeros o cristales.

En una realización preferente, el primer producto interrelacionado comprende además medios de entrada y salida para suministrar y extraer al menos un fluido del recipiente.

En una realización preferente, el recipiente comprende un alojamiento de guía y los principales medios mezcladores móviles comprenden al menos una proyección guiada correspondiente adaptada para alojarse en el alojamiento de guía del recipiente permitiendo un movimiento guiado de los principales medios mezcladores móviles con respecto al recipiente.

En una realización preferente, el recipiente comprende medios de termostato adaptados para mantener una temperatura constante dentro del recipiente.

En una realización preferente,

- el recipiente es una pared cilíndrica extendida de acuerdo con un eje longitudinal y limitada mediante dos extremos en el que al menos un extremo es una pared transversal que comprende el primer elemento flexible,
- el recipiente está adaptado para orientarse de manera que el eje longitudinal es esencialmente perpendicular a la dirección de gravedad, y
- los principales medios mezcladores móviles comprenden una placa y una estructura accionada unida a ella y adaptada para interactuar con la deformación de la superficie interna del primer elemento flexible.

El término “cilíndrico” debe interpretarse en su sentido más amplio, es decir, una superficie generada mediante una curva cerrada o generatriz que se extiende de acuerdo con una directriz, por ejemplo, un eje longitudinal o una curva de baja curvatura. Por ejemplo, los ejemplos de paredes cilíndricas son aquellos ofrecidos por cuerpos tubulares que tienen una sección circular o poligonal.

En una realización preferente, la placa comprende una sección en espiral y se extiende a lo largo del eje longitudinal del recipiente entre un primer extremo y un segundo extremo.

En una realización preferente, la sección en espiral es transversal al eje longitudinal del recipiente.

En una realización preferente, la sección en espiral comprendida en la placa está cerrada cierra en ambos extremos por dos paredes laterales, teniendo al menos una de las paredes un orificio de drenaje en comunicación con la cavidad interna del recipiente para permitir la salida de un fluido desde la parte interior de la placa que comprende la sección en espiral, de manera que, en un modo operativo, la placa con la sección en espiral está adaptada para el transporte por rotación de fluido del recipiente a la parte interior de la placa que comprende la sección en espiral, y el orificio de drenaje está adaptado para devolver el fluido desde la parte interior de la placa a la parte exterior de la placa de vuelta para estar en contacto con las paredes interiores del recipiente.

En una realización preferente, los principales medios mezcladores móviles comprenden un conjunto de cilindros anidados de manera que:

- cada cilindro está en conexión fluida con el cilindro que lo aloja inmediatamente,
- el orificio de drenaje de la placa que tiene la sección en espiral está en comunicación fluida con el cilindro más interior, y
- el cilindro más exterior está en comunicación fluida con el recipiente;

de manera que la salida de fluido desde la parte interior de la placa que tiene la sección en espiral respecto al recipiente se realiza mediante la interposición del conjunto de cilindros anidados.

En una realización preferente, la conexión fluida de cada cilindro con el cilindro que lo aloja inmediatamente se realiza mediante salidas situadas en extremos alternativos de manera que el flujo alterna la dirección cuando fluye en cada cilindro.

En una realización preferente,

- el recipiente es una pared cilíndrica extendida de acuerdo con un eje longitudinal y limitada mediante dos extremos en el que la pared cilíndrica comprende el primer elemento flexible,
- el recipiente está adaptado para orientarse de manera que el eje longitudinal es esencialmente paralelo a la dirección de la gravedad, y
- los principales medios mezcladores móviles comprenden una estructura accionada unida a los mismos y adaptada para interactuar con la deformación de la superficie interna del primer elemento flexible.

En una realización preferente, las primeras protuberancias son primeras protuberancias cilíndricas sustancialmente paralelas al eje longitudinal del recipiente y vinculadas con la estructura accionada por elementos de conexión.

En una realización preferente, principales medios mezcladores móviles comprenden además una placa que comprende una porción helicoidal o palas helicoidales con el eje longitudinal de la hélice esencialmente paralelo al eje longitudinal del recipiente y adaptado para elevar el fluido contenido en el recipiente.

En una realización preferente, el recipiente comprende un segundo recipiente para almacenar dicho fluido y el segundo recipiente forma parte integral de los principales medios mezcladores móviles.

En un segundo aspecto inventivo, la invención proporciona un segundo producto interrelacionado de acuerdo con las características de la reivindicación 8.

En una realización preferente, el segundo producto interrelacionado está además adaptado para moverse en una trayectoria lineal o en una trayectoria circular o en una combinación de ambas.

En una realización preferente, el segundo producto interrelacionado adaptado para actuar sobre el primer producto interrelacionado de acuerdo con el primer aspecto inventivo, comprende además una pluralidad de segundas protuberancias, y los medios de impulso y los medios mezcladores movibles principales están dispuestos para que las segundas protuberancias sean adecuadas para alojar las primeras protuberancias mediante la interposición del primer elemento flexible.

En una realización preferente, las segundas protuberancias están adaptadas para alojar las primeras protuberancias en más de una posición de alojamiento.

En un tercer aspecto inventivo, la invención proporciona un sistema que comprende una combinación de un primer producto interrelacionado de acuerdo con el primer aspecto inventivo y un segundo producto interrelacionado de acuerdo con un segundo aspecto inventivo.

En una realización preferente, el primer producto interrelacionado está situado en una primera cámara y el segundo producto interrelacionado está situado en una segunda cámara, estando dichas cámaras separadas por una pared,

comprendiendo además la pared, un segundo elemento flexible situado entre los medios de impulso y el primer elemento flexible del recipiente, preferentemente una membrana, para proporcionar una separación entre el entorno alrededor del primer producto interrelacionado y el entorno alrededor del segundo producto interrelacionado.

Todas las características descritas en esta memoria descriptiva (incluyendo las reivindicaciones, la descripción y los dibujos) y/o todas las etapas del método descrito pueden combinarse en cualquier combinación, a excepción de combinaciones de tales características y/o etapas mutuamente exclusivas.

Breve descripción de los dibujos

Estas y otras características y ventajas de la invención se pondrán más claramente de manifiesto a partir de la siguiente descripción detallada de los modos de realización preferentes, proporcionados solo como ejemplos ilustrativos y no limitativos, en referencia a las figuras adjuntas.

Figura 1	Representa una primera realización de la invención, con el recipiente que comprende una membrana transversal y elementos esféricos inactivos como primeras y segundas protuberancias.
Figuras 2a - 2b	Representan detalles de la interacción entre las primeras protuberancias y las segundas protuberancias en una realización de la invención.
Figuras 3a - 3b	Representan detalles de la interacción entre el fluido y la placa en espiral en la realización mostrada en la Figura 1.
Figura 4	Representa una realización de la invención, con un recipiente que comprende una botella de rodillos.
Figura 5	Muestra una sección cortada de una realización que no forma parte de la invención, con las primeras y segundas protuberancias cilíndricas y una membrana periférica en el recipiente.

Descripción detallada de la invención

Las realizaciones preferentes de la presente invención se describirán ahora con referencia a las figuras adjuntas, en las que los mismos números de referencia se usan para indicar las partes iguales o correspondientes a través de las varias figuras.

La Figura 1 muestra un sistema de cultivo de células (1) de acuerdo con la invención. Este sistema (1) comprende una botella (10) y una máquina (20). En esta realización particular, ambos dispositivos se colocan en lados opuestos de una pared perforada (8) que separa las cámaras donde se colocan la botella (10) y la máquina (20). Una membrana de aislamiento (5) separa la botella (10) de la máquina (20) segregando eficazmente ambos lados de la pared (8) y evitando cualquier contacto entre la botella (10) y la máquina (20).

En otra realización, cada cámara aislada tiene el tamaño de una habitación. La pared (8) y la membrana de aislamiento (5) separan dos habitaciones diferentes, aislando de esta manera totalmente la máquina (20) y al personal que trabaja en la máquina (20) de la botella (10) y el personal que trabaja en la botella (10). Ventajosamente, el espacio de trabajo donde se manipulan las células está totalmente aislado de otros espacios de trabajo con un alto riesgo de contaminación.

En el ejemplo de la Figura 1, la botella (10) es un recipiente (11) que comprende los siguientes elementos:

- una membrana de recipiente (14) colocada en vez de la pared de base del recipiente (11),
- principales medios mezcladores móviles (15), que comprenden una placa (151) y una estructura accionada (152),
- una alojamiento de guía (17), y
- conexiones de entrada y salida (35, 36) que permiten el suministro y la extracción del fluido (4), mostrados en la Figura 3b, hacia y desde el recipiente (11).

La membrana de recipiente (14) cierra el recipiente (11) herméticamente, por lo que el recipiente puede permanecer hermético y estéril de manera indefinida, a menos que se abra o se rompa por otros motivos. Al mismo tiempo, se permite que los elementos dentro del recipiente (11) queden afectados por los elementos fuera del recipiente (11) que interactúan con dicha membrana de recipiente (14).

La placa (151) es una lámina fina, o un conjunto de ellas, dispuesta de muchas maneras diferentes en diferentes realizaciones, siempre y cuando agite el fluido (4) contenido dentro del recipiente (11). De esta manera, en una realización, la placa (151) es un conjunto de palas helicoidales; en otra realización, la placa (151) es una lámina enrollada; en otra realización, la placa (151) es un conjunto de palas de molienda; en otra realización, la placa (151) es un conjunto de palas curvadas radiales.

El alojamiento de guía (17) del recipiente (11) es adecuado para alojar una proyección de guía (18) correspondiente comprendida en los principales medios mezcladores móviles (15), permitiendo un movimiento guiado de los

principales medios mezcladores móviles (15) con respecto al recipiente (11).

La estructura accionada (152) es una pieza que soporta la placa (151) y comprende primeras protuberancias (16). Ventajosamente, estas primeras protuberancias (16) permiten la interacción de la botella (10) con el resto de los elementos del sistema (1), tal como se describirá a continuación. En la realización mostrada en la Figura 1, estas primeras protuberancias (16) son protuberancias esféricas inactivas.

La máquina (20), a su vez, comprende medios de impulso (21). Estos medios de impulso (21) comprenden segundas protuberancias (22). En la realización mostrada en la Figura 1, estas segundas protuberancias (22) están dispuestas en grupos de tres protuberancias semiesféricas.

En la realización mostrada en la Figura 1, las segundas protuberancias (22) están dispuestas para que cada grupo de tres segundas protuberancias (22) aloje una primera protuberancia (16). De esta manera, cuando este sistema (1) está funcionando, el movimiento rotativo de los medios de impulso (21) en la máquina (20) hace que las segundas protuberancias (22) sigan una trayectoria circular. Esta trayectoria circular se transmite a la primeras protuberancias (16) de la estructura accionada (152) por medio del acoplamiento mecánico entre ellas. Este acoplamiento se hace posible mediante las deformaciones de la membrana de aislamiento (5) y la membrana de recipiente (14).

La Figura 2a muestra un detalle de la interacción entre una de las primeras protuberancias (16) y un grupo de las segundas protuberancias (22), con la membrana de intercalado (14) entre ellas.

La Figura 2b muestra una realización particular de la disposición de las segundas protuberancias (22). Para facilitar la colocación correcta de las primeras protuberancias (16) en relación con las segundas protuberancias (22), dichas segundas protuberancias (22) están dispuestas en tres grupos de tres segundas protuberancias (22), situadas en los vértices de tres primero triángulos equiláteros, más tres segundas protuberancias (22) adicionales dispuestas para completar tres segundos triángulos equiláteros con un vértice de dos primeros triángulos equiláteros diferentes. Ventajosamente, las primeras protuberancias (16) pueden alojarse en las segundas protuberancias (22) de seis maneras diferentes que tienen como resultado acoplamientos equivalentes, asegurando que se producirá un acoplamiento adecuado entre las primeras y segundas protuberancias mientras se hace funcionar el sistema (1).

De vuelta a la Figura 1, en la realización mostrada en esta figura, también existen medios de sujeción (7) que sujetan la botella (10) y la membrana de aislamiento (5) a la pared (8) que separa las cámaras donde se colocan la botella (10) y la máquina (20).

Ventajosamente, sujetar la botella (10) por un extremo deja la botella colgando y permite una fácil manipulación y colocación de las tuberías y conexiones.

Cuando el sistema (1) está funcionando, el movimiento de los medios de impulso (21) hace que la estructura accionada (152) y la placa (151) comprendida en los principales medios mezcladores móviles (15) roten. Una trayectoria constante para el movimiento rotativo de la estructura accionada (152) se asegura mediante el alojamiento de guía (17) que soporta la proyección guiada (18) comprendida en los principales medios mezcladores móviles (15). En esta realización preferente, tanto el alojamiento de guía (17) como la proyección guiada (18) son concéntricos respecto a la trayectoria circular que siguen los medios de impulso (21).

El movimiento rotativo de la estructura accionada (152) se lleva a cabo cuando los medios de impulso de (21) de la máquina (20) realizan un movimiento rotativo. El movimiento rotativo de los medios de impulso (21) de la máquina (20) hace que la placa (151) rote en sentido contrario a las agujas del reloj introduciendo así el fluido (4) dentro de la placa (151).

Las Figuras 3a y 3b muestran un detalle de la interacción entre la placa (151), el fluido (4) y el recipiente (11).Tal como se muestra en esta Figura 3a, la gravedad hace que el fluido (4) se acumule en la parte inferior del recipiente (11) y en diferentes zonas de la placa (151). En la realización mostrada en esta figura, el fluido (4) se acumula en la parte inferior del recipiente (11) y en la porción inferior de cada una de las vueltas de la sección en espiral de la placa (151), permitiendo así que la placa en espiral (151) se empape entera a medida que rota. La Figura 3b muestra una vista en sección lateral del recipiente (11), con la placa en espiral (151) y el fluido (4). Tal como se muestra, en esta realización, la placa (151) está cerrada en ambos extremos por dos paredes laterales (155). En esta realización, una de las paredes (155) tiene un orificio de drenaje (153) en comunicación con la cavidad interna del recipiente (11) para permitir la salida del fluido (4) desde la parte interior de la lámina en espiral de manera que , en un modo operativo, la placa (151) está adaptada para transportar por rotación el fluido del recipiente a la parte interior de la placa (151), y el orificio de drenaje (153) está adaptado para devolver el fluido (4) desde la parte interior de la placa (151) de vuelta para estar en contacto con las paredes interiores del recipiente (11).

Ventajosamente, esta manera de transportar el fluido (4) permite que la placa (151) esté en un contacto alternativo tanto con el fluido (4) como con la fase de gas, ya que el extremo exterior de la sección en espiral abierta de la placa (151) no permanece continuamente sumergido en dicho fluido (4).

En una realización particular, la dirección de rotación de los medios de impulso (21) es reversible. Tal como se dijo antes, la dirección de rotación recta de los medios de impulso (21) conduce al vaciado de la espiral a través del orificio de drenaje (153) que está en comunicación con la cavidad interna del recipiente (11). A su vez, la dirección de rotación inversa de los medios de impulso (21) conduce al vaciado de la espiral a través del bucle exterior de la lámina en espiral. La velocidad de rotación y la dirección de los medios de impulso (21) se controlan mediante un bucle de control programable que responde al valor de los parámetros medidos por sondas (41, 42, 33, 37, 51, 52) situadas tanto en el recipiente (11) como en los medios de impulso (21).

El funcionamiento del sistema (1) se inicia mediante la sujeción de la botella (10) con los medios de sujeción (7) en una de las posiciones disponibles de las primeras protuberancias (16) y las segundas protuberancias (22).

Después, un fluido de termostato se introduce en el elemento de termostato (13) a través de la entrada de fluido de termostato (31). En esta realización preferente, el elemento de termostato (13) es una cámara cilíndrica anular alrededor de la pared cilíndrica del recipiente (11) donde un fluido de termostato a una temperatura controlada circula continuamente. El fluido de termostato abandona el elemento de termostato (13) a través de la salida de fluido de termostato (32). Una sonda de temperatura (41) indica la temperatura actual dentro del recipiente (11) por lo que la velocidad o temperatura de flujo del fluido de termostato pueden modificarse para alcanzar un valor establecido. En una realización particular, este proceso de termostato se automatiza mediante la conexión de la sonda de temperatura (41) con un elemento de detección y un bucle de control con bombas integradas del tipo encontrado en el estado de la técnica. En otra realización, el elemento de termostato (13) se sustituye por un cable de calentamiento circundante distribuido uniformemente en la superficie del dispositivo. Cuando esta realización preferente se usa para cultivar células adherentes, en este punto se introduce una suspensión de células en la cámara manualmente a través de la abertura que se revela al desatornillar la tapa de filtro (34) o automáticamente a través de las tuberías conectadas al suministro de fluido (44).

Reduciendo la distancia entre los bucles contiguos en la espiral o incrementando el volumen de la suspensión de células se llega al contacto de ambos lados de cada bucle con la suspensión de células, incrementando así el área eficaz disponible para la unión de células y el posterior crecimiento.

Cuando las células contenidas en la suspensión de células cubren la superficie de la placa (151), el medio de cultivo fresco se suministra a través del suministro de fluido (44) mientras el medio expulsado se extrae a través del drenaje de fluido (43). El suministro automático con un medio de cultivo fresco continúa hasta que la densidad de células alcanza un valor definido. La temperatura y el pH del medio de cultivo se controlan con una sonda de temperatura del medio (33) y una sonda del pH del medio (37), respectivamente. En diferentes realizaciones, pueden medirse más parámetros tales como glucosa u oxígeno disuelto además de las sondas especializadas. En caso de que el cultivo de células requiera el uso de un mínimo porcentaje de dióxido de carbono gaseoso o cualquier otro que se adecúe a la aplicación, este gas se suministra a través del suministro de gas (36), mientras que el exceso de gas sale del recipiente (11) a través del drenaje de gas (35). Mediante el uso de la sonda de gas (42), el porcentaje de dióxido de carbono gaseoso se controla, permitiendo así el ajuste del flujo de suministro de gas. En otra realización, el sistema se coloca dentro de un entorno controlado donde el dióxido de carbono gaseoso está presente, por lo que el gas puede difundirse al recipiente (11) a través de una membrana de filtro en la tapa de filtro (34). Cuando la fase de cultivo de células termina y va a iniciarse la cosecha, el flujo de fluido a través del suministro de fluido (44) cambia a un fluido de cosecha, tal como una solución de tripsina, y la suspensión de células cosechadas se recupera a través del drenaje de fluido (43).

En otra realización, se realiza una etapa de lavado con una solución amortiguadora leve antes de la cosecha y/o la recogida de suspensión de células ocurre a través de la abertura de la tapa de filtro (34). En otra realización, la velocidad y dirección de rotación a través de todo el proceso se controlan de manera programable. Otras sondas (51, 52) en la máquina (20) están disponibles para el control de temperatura y el control de la velocidad de los medios de impulso (21). En otra realización, la pared (8) es parte de una cubierta que rodea la máquina (20). En otra realización, la programación, control y/o monitorización se llevan a cabo desde ubicaciones remotas.

En una segunda realización preferente, tal como se ilustra en la Figura 4, el recipiente (11) es una cámara de termostato que comprende una botella de rodillos (3) en su interior, y la máquina (20) es la misma que en la realización de la Figura 1. La máquina (20), comprende de esta manera, medios de impulso (21), que a su vez comprenden segundas protuberancias (22). En la realización mostrada en la Figura 4, estas segundas protuberancias (22) están dispuestas en grupos de tres protuberancias esféricas inactivas y el elemento de termostato (13) es un cable calentado.

En la realización mostrada en la Figura 4, las segundas protuberancias (22) están dispuestas de la misma manera que en la realización de la Figura 1.

La botella de rodillos (3) de esta realización comprende el fluido (4) en su interior. La botella de rodillos (3) también comprende la estructura accionada (152) y la estructura accionada (152) comprende un anillo rotativo (154) y las primeras protuberancias (16), que interactúan con las segundas protuberancias (22).

En una realización particular, la botella de rodillos (3) comprende medios de fijación, tales como abrazaderas (6). En esta figura, la botella de rodillos (3) se sujeta mediante un conjunto de abrazaderas (6), permitiendo una fácil retirada y sustitución.

En la realización mostrada en la Figura 4, también existen medios de sujeción (7) que sujetan el anillo (154) y la membrana de recipiente (14) a la pared (8).

En esta segunda realización, la membrana de recipiente (14) segrega la máquina (20) de la parte interior del recipiente (11) donde está situada la botella de rodillos (3).

Cuando esta segunda realización preferente se usa en un proceso de cultivo de células, la retirada y sustitución de la botella rodillos (3) puede realizarse manualmente durante el funcionamiento, ya que la velocidad rotativa usada en estos procesos es normalmente inferior a 5 rpm. Cuando la máquina (20) está funcionando, esta establece la estructura de accionamiento (152) en funcionamiento y, tal como se describe para la primera realización preferente, el movimiento rotativo se transmitirá a la botella de rodillos (3), que está colocada horizontalmente. Ventajosamente, cuando se produce este movimiento rotativo, los medios de cultivo empapan continuamente el lado interior de la pared cilíndrica de la botella de rodillos (3) donde se unen las células adherentes, suministrando así las células. En otra realización, varios sistemas (1) están dispuestos en la misma pared (8) con diferentes membranas de recipiente (14) formando una máquina de múltiples cámaras. En otra realización, varias botellas de rodillos (3) se instalan dentro de un único recipiente grande (11), multiplicando ventajosamente el rendimiento del sistema en general.

Una realización adicional descrita que no forma parte de la invención reivindicada se representa parcialmente en la Figura 5. Tal como se muestra en la figura, tres segundas protuberancias cilíndricas (22) están dispuestas en paralelo al eje longitudinal de la membrana de recipiente cilíndrica (14). Ya que la distancia desde cada segunda protuberancia (22) al centro de la membrana de recipiente (14) es menor que el radio de la membrana de recipiente (14), se crea una deformación de la membrana de recipiente (14) mediante cada una de las segundas protuberancias (22). En la realización mostrada en esta figura, las primeras protuberancias (16) son a su vez tres primeras protuberancias cilíndricas, paralelas a las segundas protuberancias cilíndricas (22). Estas están enlazadas con la estructura accionada (152), mediante una serie de elementos de conexión (19) que unen el elemento central con cada primera protuberancia cilíndrica (16).

Cuando las segundas protuberancias (22) rotan, estas siguen una trayectoria circular concéntrica respecto al eje del recipiente (11) mientras ruedan simultáneamente en la membrana de recipiente (14) y de esta manera rotan alrededor de su respectivo eje longitudinal. El efecto combinado de las segundas protuberancias móviles (22) y la presión dentro del recipiente (11) debido al fluido contenido en el recipiente (11) hace que las deformaciones en la membrana del recipiente flexible (14) sigan una trayectoria circular correspondiente a una trayectoria seguida por las segundas protuberancias (22). Cuando las deformaciones resultantes creadas en la membrana de recipiente (14) se encuentran con la primeras protuberancias (16), la estructura accionada (152) se obliga a rotar siguiendo una trayectoria concéntrica respecto al eje del recipiente (11), haciendo por tanto que los elementos de conexión (19), que vinculan las primeras protuberancias cilíndricas (16) con la estructura accionada (152), agiten el fluido (4) dentro del recipiente (11).

Ventajosamente, el primer producto interrelacionado divulgado en la presente invención puede construirse totalmente de materiales, tales como plástico, adecuados para la esterilización por radiación, tal como radiación gamma.

Ventajosamente, estas realizaciones ofrecen una gran mejora en la estanqueidad, contención y esterilidad de los contenidos del recipiente (11), sin afectar al funcionamiento interno de los principales medios mezcladores móviles (15). Esto es así aunque estos principales medios mezcladores móviles (15) realizan un mejor trabajo, siendo incluso más adecuados que los dispositivos actuales para varias aplicaciones biotecnológicas, tal como:

agitación y mezcla de fluidos en la industria química,
bombeo de fluidos,
producción de células, ácidos nucleicos, proteínas y otros productos biofarmacéuticos,
producción de tejidos vivos, especialmente piel artificial,
modificación de composición de fluido, mediante la acción de algunos elementos fijados en la placa, por ejemplo, modificaciones enzimáticas o procesos similares,
el uso del sistema para el cultivo de organismos acuáticos.

REIVINDICACIONES

1. Un primer producto interrelacionado (10) para la agitación no invasiva de un fluido (4), adecuado para un cultivo de células, proporcionado en forma de un dispositivo que comprende:

- un recipiente (11) adaptado para contener directamente o mediante un segundo recipiente (3) el fluido (4), en el que al menos una de las paredes del recipiente comprende un primer elemento flexible (14), preferentemente una membrana, que tiene una superficie interna orientada hacia la parte interior del recipiente (11) y una superficie externa orientada hacia la parte exterior del recipiente (11),
- principales medios mezcladores móviles (15) situados dentro del recipiente adaptados para agitar al menos el fluido (4),

en el que,

- la superficie externa del primer elemento flexible (14) está adaptada para interferir mecánicamente con un medio de impulso móvil externo (21) creando así una deformación en la superficie interna del primer elemento flexible (14),
- de manera que dicha deformación de la superficie interna del primer elemento flexible (14) tiene una interferencia mecánica con los principales medios mezcladores móviles (15), y
- el movimiento de tales medios de impulso (21) se transmite a los principales medios mezcladores móviles (15) mediante la interposición del primer elemento flexible (14),

caracterizado por que los principales medios mezcladores móviles (15) comprenden primeras protuberancias (16), y al menos una de las primeras protuberancias (16) es una protuberancia cilíndrica, protuberancia semicilíndrica, protuberancia semiesférica, cilindro inactivo, elemento esférico inactivo, barra retráctil o una combinación de los mismos.

2. Un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo la reivindicación 1, en el que los principales medios mezcladores móviles (15) se acoplan mecánicamente a unos segundos medios mezcladores situados dentro del recipiente (11) en el que el movimiento de los segundos medios mezcladores se acciona mediante el movimiento de los principales medios mezcladores móviles (15).

3. Un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el recipiente (11) comprende un alojamiento de guía (17) y los principales medios mezcladores móviles (15) comprenden al menos una proyección guiada (18) correspondiente adaptada para alojarse en el alojamiento de guía (17) del recipiente (11) permitiendo un movimiento guiado de los principales medios mezcladores móviles (15) con respecto al recipiente (11).

4. Un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:

- el recipiente (11) es una pared cilíndrica extendida de acuerdo con un eje longitudinal y limitada mediante dos extremos en el que al menos un extremo es una pared transversal que comprende el primer elemento flexible (14),
- el recipiente (11) está adaptado para orientarse de manera que el eje longitudinal es esencialmente perpendicular a la dirección de la gravedad, y
- los principales medios mezcladores móviles (15) comprenden una placa (151) y una estructura accionada (152) unida a los mismos, donde están situadas las primeras protuberancias (16), adaptadas para interactuar con la deformación de la superficie interna del primer elemento flexible (14).

5. Un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la placa (151) comprende una sección en espiral y se extiende a lo largo del eje longitudinal del recipiente (11) entre un primer extremo y un segundo extremo.

6. Un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que:

- el recipiente (11) es una pared cilíndrica extendida de acuerdo con un eje longitudinal y limitada mediante dos extremos en el que la pared cilíndrica comprende el primer elemento flexible (14),
- el recipiente está adaptado para orientarse de manera que el eje longitudinal es esencialmente paralelo a la dirección de la gravedad, y
- los principales medios mezcladores móviles (15) comprenden una estructura accionada (152) unida a los mismos, donde están situadas las primeras protuberancias (16), adaptadas para interactuar con la deformación de la superficie interna del primer elemento flexible (14).

7. Un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con la reivindicación 6 en el que las primeras protuberancias (16) son primeras protuberancias cilíndricas sustancialmente paralelas al eje longitudinal del recipiente (11) y

vinculadas con la estructura accionada (152) mediante elementos de conexión (19).

8. Un segundo producto interrelacionado (20) proporcionado en la forma de medios de impulso (21) adaptado para actuar sobre la superficie de un elemento flexible (14), particularmente la superficie externa del primer elemento flexible (14) del primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y destinado a situarse fuera del recipiente (10) de tal primer producto interrelacionado (10), en el que dichos medios de impulso (21) comprenden al menos una segunda protuberancia (22) adaptada para interferir mecánicamente con la superficie externa del elemento flexible (14) provocando la deformación de dicho elemento flexible (14) que sobresale de la superficie interna, caracterizado por que las segundas protuberancias (22) son semiesféricas y están dispuestas para que cada grupo de tres segundas protuberancias (22) aloje una primera protuberancia (16) de los medios mezcladores móviles (15) del primer producto interrelacionado (10).

9. Un segundo producto interrelacionado (20) de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dichas segundas protuberancias semiesféricas (22) están dispuestas en tres grupos de tres segundas protuberancias (22), situadas en los vértices de tres primeros triángulos equiláteros, más tres segundas protuberancias (22) adicionales dispuestas para completar tres segundos triángulos equiláteros con un vértice de dos primeros triángulos equiláteros diferentes.

10. Un segundo producto interrelacionado (20) de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, adaptado para actuar sobre un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, que además comprende una pluralidad de segundas protuberancias (22), en el que los medios de impulso (21) y los principales medios mezcladores móviles (15) están dispuestos para que las segundas protuberancias (22) sean adecuadas para alojar las primeras protuberancias (16) mediante la interposición del primer elemento flexible (14).

11. Un sistema (1) que comprende una combinación de un primer producto interrelacionado (10) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un segundo producto interrelacionado (20) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10.

12. Un sistema (1) de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el primer producto interrelacionado (10) está situado en una primera cámara y el segundo producto interrelacionado (20) está situado en una segunda cámara, estando dichas cámaras separadas por una pared (8), comprendiendo además la pared (8) un segundo elemento flexible (5) situado entre los medios de impulso (21) y el primer elemento flexible (14) del recipiente (11), preferentemente una membrana, para proporcionar una separación entre el entorno alrededor del primer producto interrelacionado (10) y el entorno alrededor del segundo producto interrelacionado (20).

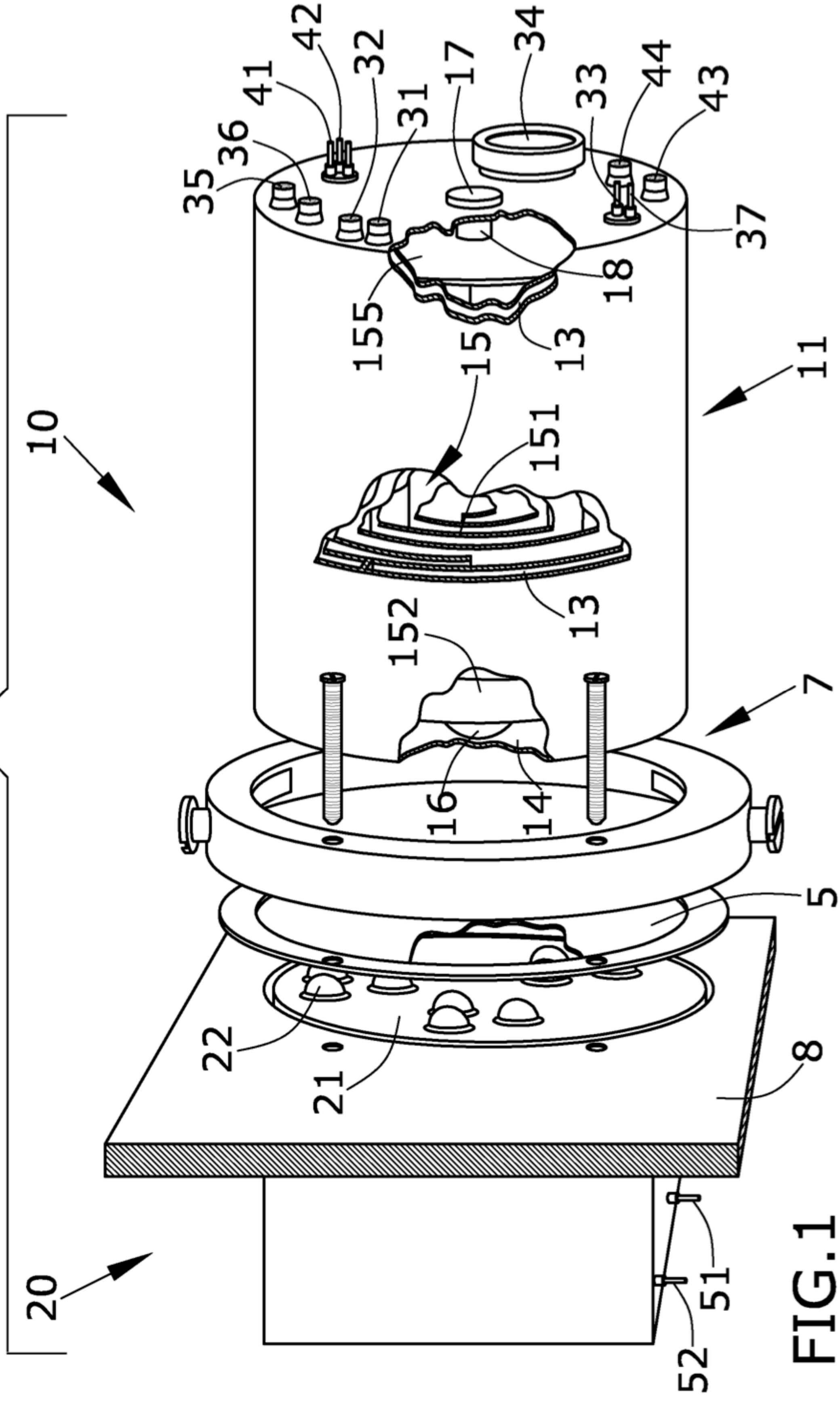
1
10
20
11
7
5
8
13
14
15
16
17
18
21
22
31
32
33
34
35
36
37
41
42
43
44
51
52
151
152
155

FIG.1

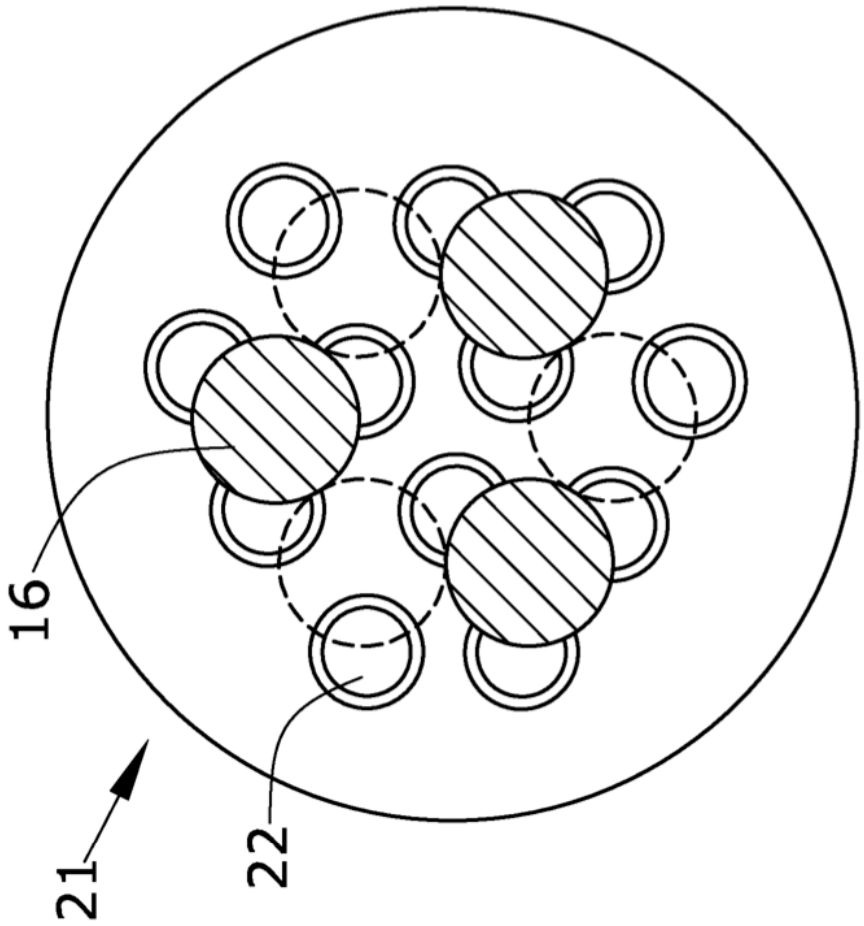

FIG.2b

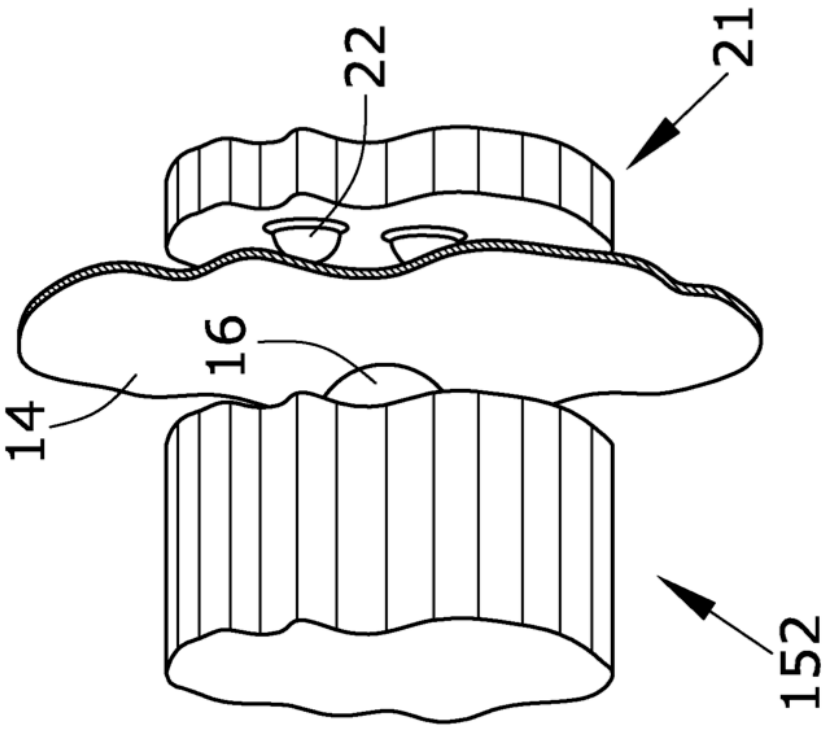

FIG.2a

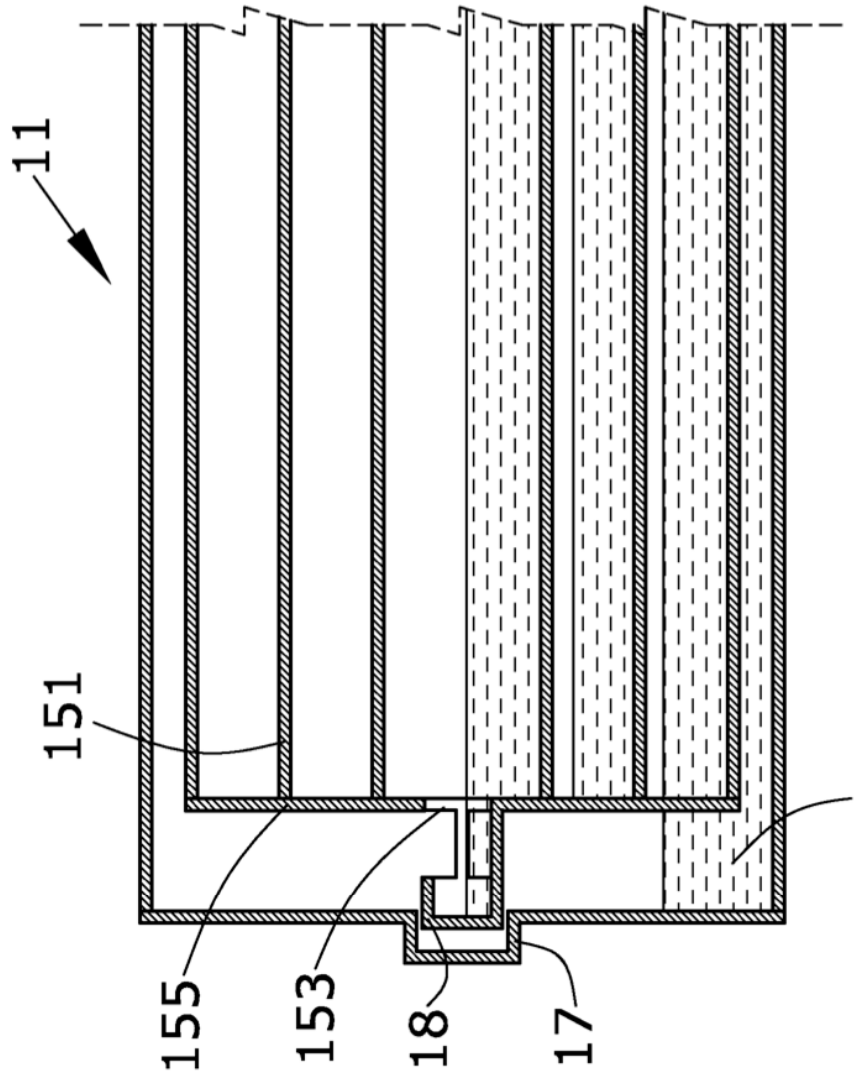

FIG.3b

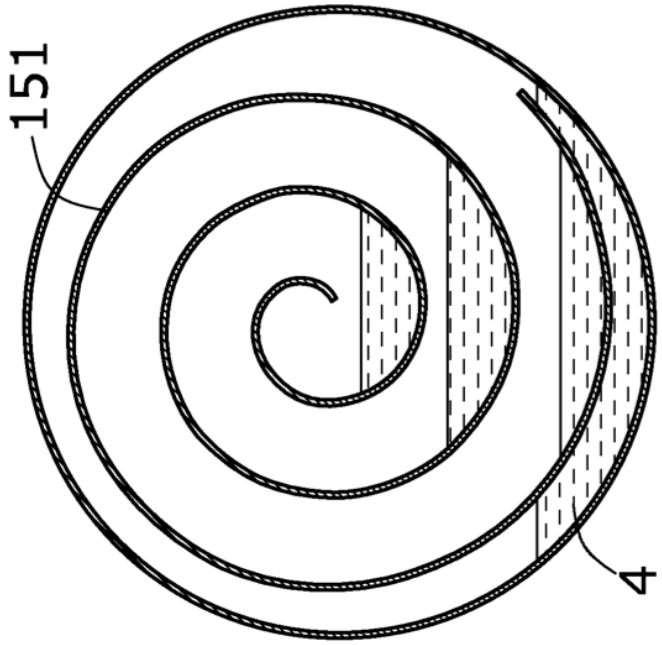

FIG.3a

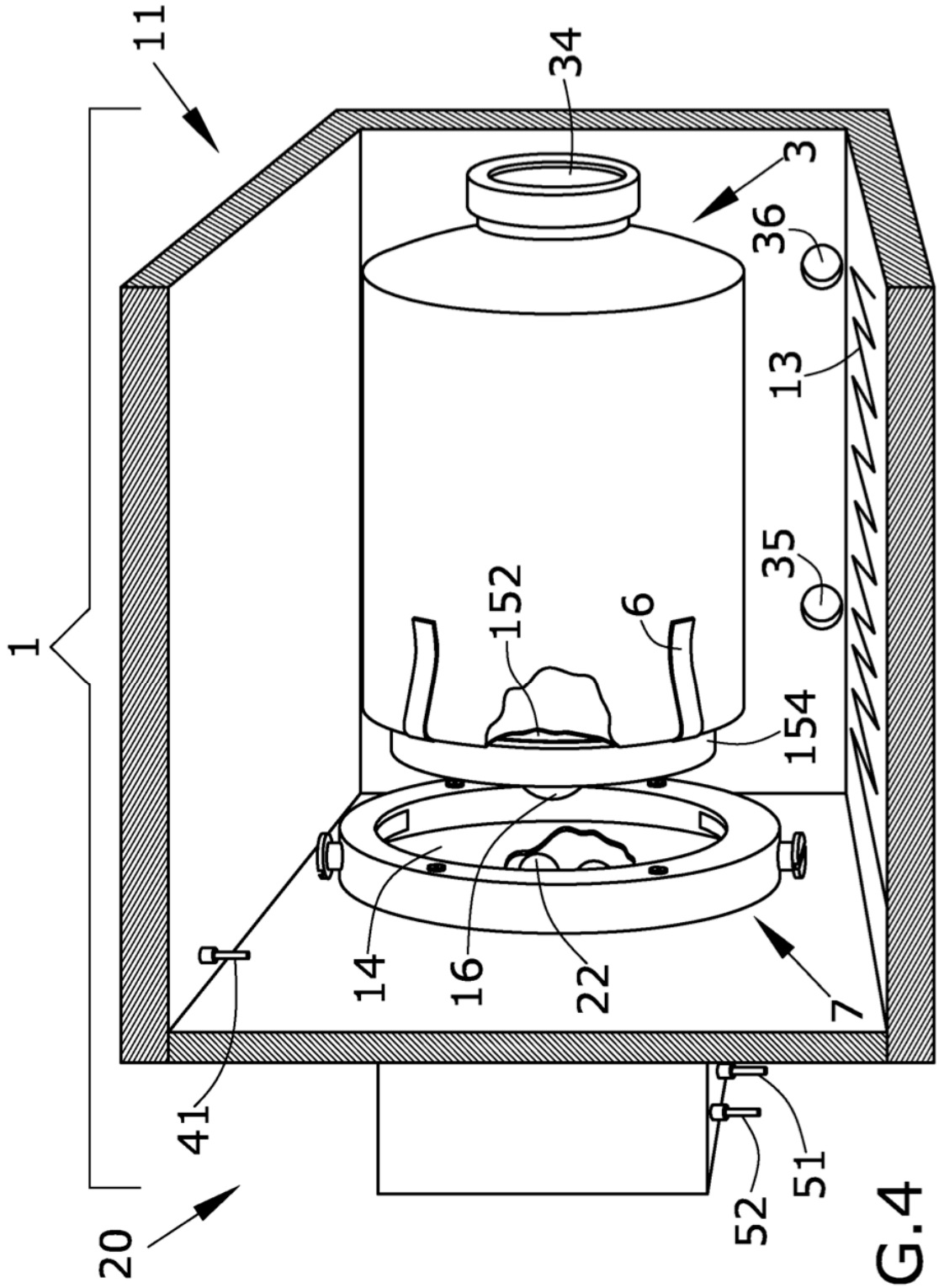

FIG.4

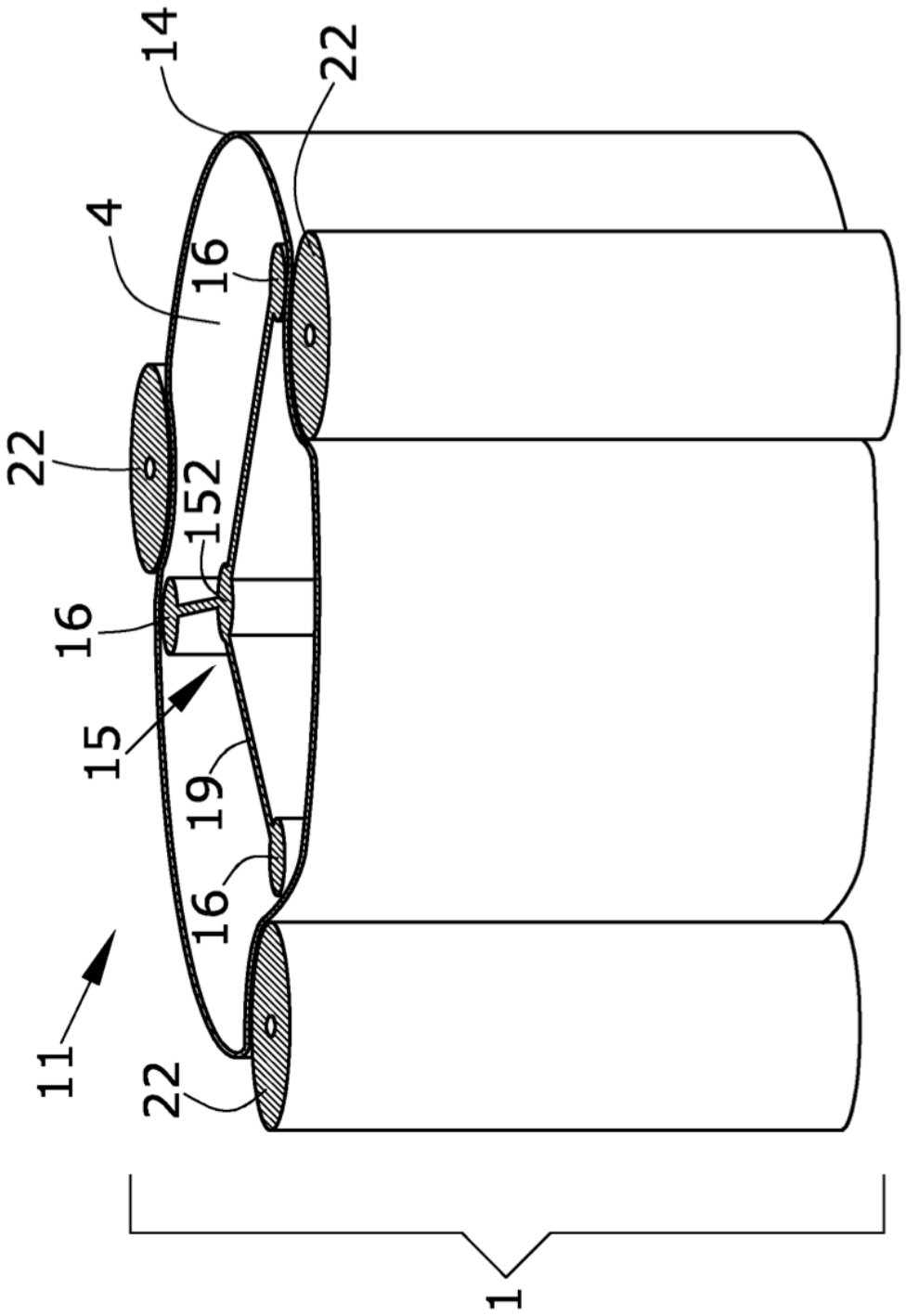

FIG.5