

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 212**

51 Int. Cl.:

C12M 1/00	(2006.01)
C12M 1/06	(2006.01)
C12M 1/34	(2006.01)
C12M 1/36	(2006.01)
B01F 13/08	(2006.01)
B01F 15/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.06.2005 PCT/US2005/020083**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2005 WO05118771**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2005 E 05763165 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 1773976**

54 Título: **Sistemas y métodos de biorreactor desechable**

30 Prioridad:

04.06.2004 US 577143 P
07.04.2005 US 669252 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.05.2017

73 Titular/es:

GE HEALTHCARE BIO-SCIENCES CORP.
(100.0%)
800 Centennial Avenue
Piscataway, NJ 08855, US

72 Inventor/es:

HODGE, GEOFFREY;
GALLIHER, PARRISH y
FISHER, MICHAEL

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 612 212 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

Sistemas y métodos de biorreactor desechable

Reivindicación de prioridad y solicitudes relacionadas

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense n.º 60/577,143, presentada el 4 de junio de 2004 (el 4 de junio de 2005 es un sábado) con el título «DISPOSABLE BIOREACTOR» [BIORREACTOR DESECHABLE] y la solicitud de patente provisional estadounidense n.º 60/669 252, presentada el 7 de abril de 2005 con el título «MIXING SYSTEM PATENT APPLICATION» [SOLICITUD DE PATENTE DE SISTEMA DE MEZCLA]. La presente solicitud también se relaciona con la solicitud de patente de utilidad estadounidense en tramitación conjunta n.º 11/050,133 presentada el 3 de febrero de 2005.

10 Campo de la invención

Las realizaciones de la presente invención hacen referencia a un biorreactor que procesa materiales biológicos y, más particularmente, a sistemas o componentes desechables para el procesamiento de materiales biológicos.

Antecedentes

15 Los biorreactores tradicionales se diseñan como recipientes presurizados fijos que se puede mezclar mediante varios medios alternativos, mientras que los biorreactores desechables actuales son dispositivos que utilizan bolsas de plástico esterilizadas. Cada uno se utiliza para procesar materiales biológicos (por ejemplo, para cultivar células vegetales o animales) que incluyen, por ejemplo, células de mamífero, vegetales o de insectos y cultivos microbianos. Dichos dispositivos también se pueden utilizar en las aplicaciones de mezcla estéril, así como también en aplicaciones de mezcla no estéril. Tal como se ilustra en la solicitud de patente estadounidense n.º 6,544,788 para Singh, se divulga un biorreactor desechable, el cual logra la mezcla mediante un movimiento/proceso hacia atrás y hacia adelante. Este proceso se encuentra limitado y no se puede utilizar de manera rápida y eficiente. Específicamente, el movimiento oscilante se encuentra limitado a un bajo número de movimientos hacia atrás y hacia adelante a modo de no provocar tensiones en la bolsa y el sistema.

25 En US 2004/062140 y en US 2003/008389, se divulgan sistemas de mezcla en recipientes desechables con eje y motor o con agitadores magnéticos. El documento US 6,432,698 divulga un biorreactor desechable en el que las burbujas de gas proveen la mezcla.

30 Además, los biorreactores desechables actuales no incluyen un sistema completamente desechable, las sondas, los sensores y otros componentes son en general utilizados nuevamente y requieren esterilización antes de su uso reiterado. Por lo tanto, los sistemas de biorreactores desechables de última tecnología no son eficientes, especialmente en lo que respecta a la mezcla, y presentan un tiempo de demora entre usos, de modo que las sondas, los sensores y/u otros componentes se pueden esterilizar antes de otro uso.

Es necesario un sistema de biorreactor desechable rentable en el que muchos componentes sean desechables y en el que se limite el tiempo de demora entre usos y/o uno que incluya un sistema de mezcla mejorado.

Compendio de la invención

35 Por consiguiente, las realizaciones de la presente invención hacen referencia a las desventajas y deficiencias de los sistemas de biorreactor de la técnica previa y presentan un sistema de biorreactor desechable mejorado. En particular, las realizaciones de la presente invención proveen la mezcla, la ventilación y/o el control del proceso, en los que se ha eliminado una cantidad sustancial (por ejemplo, la mayoría) de los servicios típicos necesarios para ejecutar un biorreactor.

40 Con ese fin, algunas realizaciones de la presente invención incluyen un sistema biorreactor con base en una bolsa de bioproceso desechable en la que el envase estéril definido por el interior de la bolsa de biorreactor desechable incluye componentes desechables de un sistema de mezcla que no requiere la necesidad de mover el envase ni el uso de una bomba peristáltica en tubos externos a la bolsa. Además, algunas realizaciones de la presente invención proveen una solución completamente desechable, todas sus superficies de contacto, las que incluyen sondas y sensores, se pueden desechar.

45 Estas y otras realizaciones de la invención incluyen la ventaja de reducir el desgaste en el envase estéril provisto por el biorreactor desechable, de forma que se reduce la posibilidad de una brecha en el envase estéril debido a la tensión mecánica. Las realizaciones de la invención que no requieren la mezcla con movimiento oscilante también incluyen ventajas en aplicaciones no estériles en las que la integridad del recipiente plástico desechable es importante.

50 Por consiguiente, en la invención, tal como se define en la reivindicación 1, se presenta un sistema de biorreactor y este incluye un recipiente desechable que contiene biomateriales para su procesamiento y el recipiente desechable incluye al menos un puerto de entrada, al menos un puerto de escape, al menos un puerto de extracción, una

estructura para sostener el recipiente desechable, uno o más sensores para detectar uno o más parámetros de los biomateriales en el recipiente, un calentador para calentar el contenido del recipiente, el calentador con un termostato y un sistema de mezcla dispuesto con el sistema, de manera que se mezclen los biomateriales contenidos en el recipiente desechable.

- 5 En una realización de la invención, se provee un sistema de biorreactor y puede incluir al menos una y preferiblemente todas de una estructura de soporte y una bolsa plástica flexible colocada en la estructura de soporte. El recipiente desechable puede incluir una placa del propulsor fijada a una parte inferior de la bolsa de plástico flexible, en el que la placa del propulsor puede incluir un poste. El recipiente desechable también puede incluir un cubo del propulsor montado en el poste con al menos una paleta propulsora colocada en el poste y al menos un imán. El sistema de biorreactor puede incluir adicionalmente un motor con eje provisto en la estructura de soporte o adyacente a ella, y un cubo del motor montado en el eje del motor. El cubo del motor puede incluir al menos un imán que, tras montarlo a la bolsa de plástico flexible en la estructura de soporte, el cubo del motor se alinea con las placas propulsoras, de manera que el imán del cubo del motor se pueda alinear con el imán del cubo del propulsor para impulsar el cubo del propulsor al girar el eje del motor.
- 10
- 15 Otra realización de la invención incluye un sistema de biorreactor que puede incluir una estructura de soporte y una bolsa de plástico flexible colocada en la estructura de soporte.

- El recipiente desechable puede incluir una placa del propulsor fijada a una parte inferior de la bolsa de plástico flexible, un primer eje con un primer extremo colocado en el interior de la bolsa de plástico flexible y un segundo extremo colocado al exterior de la bolsa de plástico flexible, un sello alrededor del eje y un cubo del propulsor montado en el primer extremo del eje y el cubo del propulsor con al menos una placa del propulsor colocada en el eje. El sistema de biorreactor también puede incluir un motor colocado en la estructura de soporte o de forma adyacente a ella y, tras montar la bolsa de plástico flexible en la estructura de soporte, el motor impulsa el segundo extremo del eje.
- 20

- Estos y otros objetos, ventajas y características de la invención serán aun más evidentes con referencia a la siguiente descripción detallada y las figuras adjuntas, cuya breve descripción se provee a continuación.
- 25

La Figura 1A es un diagrama de bloques de una vista general de un sistema de biorreactor.

La Figura 1B es un diagrama esquemático de un sistema de biorreactor.

La Figura 2 es un diagrama esquemático de una bolsa de biorreactor desechable.

La Figura 3 es una ilustración esquemática de un sistema de mezcla para un sistema de biorreactor.

- 30 La Figura 4 es una ilustración esquemática de un sistema de mezcla para un sistema de biorreactor.

La Figura 5A es una vista lateral de un cubo del propulsor que ilustra una posición de una paleta propulsora deformable cuando el cubo del propulsor se encuentra en reposo.

La Figura 5B es una vista lateral del cubo del propulsor ilustrado en la Figura 5A que ilustra una posición de la paleta propulsora deformable cuando se gira el cubo del propulsor a una velocidad particular.

- 35 La Figura 6 es una vista lateral de un cubo del propulsor con una o más paletas propulsoras fijas que pueden girar de conformidad con una realización de la presente invención.

La Figura 7 es un diagrama que ilustra tres conceptos de una mezcladora de columna de burbujeo o de elevación por aire comprimido que sean aplicables a un biorreactor desechable de conformidad con una realización de la presente invención.

- 40 La Figura 8A es una ilustración en perspectiva de un depósito o una estructura de soporte con uno o más deflectores, el biorreactor desechable colocado en dicho depósito conforma los deflectores.

La Figura 8B es un diagrama esquemático que ilustra una realización de la presente invención que incluye un sistema de mezcla de columna de burbujeo o de elevación por aire comprimido (Figura 7) y los deflectores interiores en la estructura de soporte (Figura 8A).

45 **Descripción detallada de la invención**

Un recipiente del bioproceso forma la superficie de contacto del producto para el biorreactor. El recipiente es preferiblemente una bolsa flexible que se puede colocar en una estructura rígida, tal como una cubierta de depósito que lo sostenga. La estructura de soporte también puede incluir/implicar una plataforma móvil, de manera que el sistema de biorreactor se puede mover a diferentes ubicaciones antes, durante y después del procesamiento del material.

- 50 Se agregan accesorios a la bolsa para hacer posible la funcionalidad requerida en un biorreactor, tal como penetraciones y filtros que permiten la transferencia de fluido y gas, una interfaz de mezcla, sensores y una

superficie de reducción para controlar el tamaño de las burbujas. Para su aplicación como un biorreactor, el recipiente (la bolsa de bioproceso principal además de todos los accesorios, penetraciones, sensores, etc.) se puede esterilizar antes de su uso (por ejemplo, radiación gamma). Tras la esterilización, el interior de la bolsa, las tuberías y los componentes se pueden considerar estériles, se provee un «envase estéril» que protege el contenido del recipiente de contaminantes externos transmitidos por aire. El tamaño y la distribución de las burbujas se pueden controlar al pasar la corriente de gas de entrada a través de una superficie porosa antes de su adición al interior del biorreactor desechable. Además, la superficie de burbujeo se puede utilizar como un dispositivo de separación celular, por ejemplo, al alternar la presurización y despresurización (o la aplicación de vacío) en la superficie exterior de la superficie porosa o mediante efecto Bernoulli creado por el flujo rápido a lo largo de una parte de la superficie porosa que causa la despresurización a lo largo de otras partes de la superficie (por ejemplo, aire que fluye rápido en el centro de un tubo, sale por un extremo del tubo y crea un vacío a lo largo de la longitud del tubo).

Tal como se ilustra en las Figuras 1A y 1B, un sistema de biorreactor 100 puede incluir uno o más de los siguientes: un biorreactor desechable 102, un controlador de temperatura 106 y uno o más sensores y/o sondas 108. A fin de eliminar los servicios requeridos para el control de la temperatura a través de un intercambiador térmico, se puede proveer calor mediante una camisa de agua de bucle cerrado calentada y/o enfriada por el sistema de control montado en el biorreactor o mediante una o más mantas de calefacción eléctricas 104 o calentadores Peltier. La capa de calefacción puede incluir uno o más termopares 104a para detectar la temperatura del contenido del biorreactor 102, los que trabajan en conjunto con el controlador de temperatura para controlar una temperatura fija del contenido del biorreactor 102. Se puede incorporar un material conductor de temperatura en la superficie de la bolsa para superar el efecto de aislamiento del plástico, si fuera necesario.

En algunas realizaciones de la invención, el biorreactor desechable puede comprender una bolsa flexible de plástico, pero también puede comprender un material rígido (por ejemplo, plástico, metal, vidrio). Normalmente, los sensores y/o sondas se encuentran conectados a elementos electrónicos del sensor 132, cuya emisión se enviará a uno de una placa terminal y un relé o ambos. También se pueden proveer un sistema de mezcla 110 que generalmente incluye un motor 112 para accionar un propulsor colocado en el biorreactor, un acondicionador de potencia 114 y un controlador de motor 116.

El enfriamiento también se puede proveer mediante una camisa de agua de bucle cerrado calentada y/o enfriada por el sistema de control montado en el biorreactor o por el intercambiador térmico estándar a través de una cubierta/camisa en el depósito (se puede incluir la manta térmica en un dispositivo tanto para calentarlo como para enfriarlo, pero también puede estar separada de una camisa de refrigeración). El enfriamiento también se puede proveer mediante refrigeradores Peltier. Por ejemplo, se puede aplicar un refrigerador Peltier a una línea de escape (por ejemplo, a una cámara similar a una pequeña bolsa con un gran volumen para desacelerar aire y una gran área de superficie) para condensar gas en el aire extraído con el fin de ayudar a prevenir el humedecimiento de un filtro de escape.

Se puede incluir aire, oxígeno y/o gas de CO₂ (comprimido o bombeado) 118 de forma que se provea burbujeo del contenido del biorreactor. Se pueden proveer un filtro 120, un medidor de flujo 121 y/o una válvula 122 (por ejemplo, neumática) en línea y la última puede ser controlada por un sistema controlador 115, el que, tal como se ilustró, puede ser una PC. Dicho sistema controlador puede incluir una combinación de sistemas electrónicos, mecánicos o neumáticos para controlar el aire, líquido y calor en el sistema de biorreactor desechable. Tal como se ilustra en la Figura 1, la válvula 122 puede ser un accionador neumático (con, por ejemplo, aire comprimido/CO₂ 124), el que puede ser controlado por una válvula solenoide 126. La válvula solenoide, en cambio, se puede controlar con un relé 128 conectado a una placa terminal 130 que se conecta a la PC. La placa terminal puede comprender una placa terminal PCI o una conexión de placa terminal de USB/paralelo o fireport (IEEE 394).

Tal como se ilustra en la Figura 1B, el biorreactor desechable es preferiblemente sostenido por una estructura de soporte 101, la cual se muestra como un depósito (por ejemplo, acero inoxidable), montada en la parte superior de la base 103, la que tiene múltiples patas 105. Es posible diseñar el depósito para que incluya una altura y un diámetro similar a los biorreactores de acero inoxidable estándares. El diseño también se puede reducir a escala hasta los volúmenes de biorreactor de mesada pequeño y aumentar al exceder 1000 L de volúmenes de trabajo (por ejemplo). Los deflectores 800 (ver las Figuras 8A y 8B) se pueden construir en el interior del depósito de cubierta dura 802 para mejorar la mezcla al hacer que la bolsa adopte una forma que sobresale en las bolsas del biorreactor, lo que preferiblemente corta el flujo circular y/o previene la agitación por vórtex (por ejemplo).

Bajo al menos una de estas patas (preferiblemente, todas las patas) puede haber una carga celular 107, la que se puede utilizar para estimar el peso del contenido del biorreactor y/o el depósito y los componentes correspondientes del depósito. El depósito puede incluir una ventana de observación 101a que le permite a uno observar el nivel de fluido en el biorreactor desechable. El tamaño de la ventana de observación también se puede ajustar para permitir que uno observe una amplia área del biorreactor. El depósito también puede incluir puertos de sensor/sonda 101b, una salida 101c a la que se puede conectar la tubería de descarga 101d. En una parte superior del depósito, se agregan o se quitan (por ejemplo, entradas/extractores) una o más conexiones (por ejemplo, tubos, válvulas, aberturas) 101e para fluidos, gases y similares del biorreactor, cada una de las cuales puede incluir un sensor de flujo 101f y/o un filtro 101g. En el depósito o adyacente a este se puede proveer una torre de servicios 101h, la que se puede utilizar para contener una o más bombas, controladores y elementos electrónicos (por ejemplo, los

elementos electrónicos del sensor, las interfaces electrónicas, el controlador de gas presurizado, etc.).

Los sensores/sondas y los controles para monitorear y controlar parámetros del proceso importantes incluyen cualesquiera uno o más y combinaciones de: temperatura, presión, pH, oxígeno disuelto (DO), dióxido de carbono disuelto ($p\text{CO}_2$), velocidad de mezcla y velocidad de flujo de gas (por ejemplo). Preferiblemente, es posible lograr el control del proceso de formas que no comprometan la barrera estéril establecida por el biorreactor. En particular, es posible monitorear y/o controlar el flujo de gas con un rotámetro o un medidor de flujo de masa dispuesto antes de un filtro de aire de la entrada.

Las sondas ópticas desechables se pueden diseñar para que utilicen «parches» de material que contiene una tinta indicadora que se puede montar en la superficie interna de la bolsa del biorreactor desechable y leer a través de la pared de la bolsa por medio de una ventana en el depósito. Por ejemplo, se puede monitorear y controlar el oxígeno disuelto (DO) y/o pH y/o CO_2 con un parche óptico y un sensor montados en un polímero biocompatible que se puede irradiar con gamma y que, a su vez, se encuentra sellado, incorporado o de otro modo adherido a la superficie de la bolsa.

La presión se puede monitorear y controlar con transductores de presión estándares dispuestos antes de un filtro de aire de entrada y después de un filtro de aire de escape. De manera alternativa, se pueden utilizar sensores de presión desechables en el envase estéril del biorreactor desechable, ya sea al quitar los dispositivos comerciales (por ejemplo, Utah Medical o Honeywell) o al crear una T en la entrada de aire y/o en la línea de escape. La superficie de la T también puede estar recubierta con una membrana para mantener la barrera estéril, pero fabricada de modo que no repercuta en las lecturas de presión. Entonces, se puede ajustar un transductor de presión estándar en la T para medir y controlar la presión al interior de la barrera estéril.

La Figura 2 muestra un ejemplo del biorreactor desechable 200. Tal como se ilustra, el biorreactor incluye uno o más puertos 202, los que se pueden utilizar para agregar o expulsar gases y/o fluidos del biorreactor. Generalmente se provee un puerto de extracción o drenaje 204 en el fondo de la bolsa, de manera que la gravedad se pueda utilizar para dirigir el contenido al exterior del biorreactor. Las sondas y/o sensores 206 pueden estar integrados a una parte lateral del biorreactor, de manera que los sensores y/o sondas también pueden ser desechables. En una realización de la invención, los sensores/sondas pueden ser sondas ópticas que presentan la salida de una manera visual. Por lo tanto, los puertos de sensor/sonda 101b se pueden utilizar para controlar visualmente el estado del sensor/sonda.

Una parte del sistema de mezcla puede estar integrada al biorreactor. Específicamente, tal como se ilustra en la Figura 2, la parte del sistema de mezcla incluida con el biorreactor puede incluir una parte 208 del sistema de mezcla, una placa del propulsor y un cubo del propulsor. La placa del propulsor se conecta al sistema de accionamiento del motor para accionar el propulsor y también provee un sello entre el motor y el interior del biorreactor.

Algunas realizaciones de la invención proveen uno o más sistemas de mezcla excepcionales, los que proveen el sistema con un método rentable para proveer agitación al contenido del biorreactor. Dichos sistemas de mezcla pueden utilizar materiales tales como HDPE (polietileno de alta densidad) y/u otros plásticos biocompatibles que se pueden irradiar con gamma. Uno o más componentes del sistema de mezcla pueden ser elaborados mediante mecanizado de bloques de material, pero también se pueden moldear y/o fundir.

Uno de dichos sistemas de mezcla se ilustra en la Figura 3. El sistema de mezcla presenta un propulsor accionado magnéticamente, por lo que el motor no se encuentra directamente conectado al propulsor. En cambio, los imanes contenidos en un cubo del motor, a través de la atracción magnética, accionan los imanes contenidos en un cubo del propulsor. Cabe destacar que al menos la parte del motor (y otros componentes asociados al motor) se puede montar en la estructura de soporte/depósito/plataforma móvil.

Tal como se ilustra, el sistema generalmente incluye una placa del propulsor 300 fijada a un lado de la pared del biorreactor 302, preferiblemente, a una parte inferior de esta, un cubo del propulsor 304, un motor 306, un eje del motor 308 y un cubo del motor 310. La placa del propulsor se puede fijar a la pared del biorreactor al soldar con calor dos mitades de una placa del propulsor de dos partes y que estas formen un sándwich entre ellas y la pared del biorreactor o contra la pared. De manera alternativa, una abertura en la pared del biorreactor hace posible que una parte central de la placa del propulsor se extienda desde una parte exterior del biorreactor hasta el interior (o al revés). Luego, podría adherirse un anillo de sellado (no ilustrado) o el biorreactor podría soldarse con calor directamente a una circunferencia externa de la placa del propulsor para sellar la pared del biorreactor entre ellos. Aun otra alternativa puede ser una abertura de menor tamaño en la pared del biorreactor que forma un sello con un borde circunferencial de la placa del propulsor que es levemente más grande que la abertura.

Una característica importante de conformidad con una realización de la invención hace referencia a la inclusión de uno o más elementos porosos, microporosos o de ultrafiltración 301 en la placa del propulsor. Se puede utilizar el elemento para permitir un burbujeo de gases o fluidos en el interior o exterior del biorreactor. Es posible utilizar dicho burbujeo y/o adición o eliminación de fluido junto con el sistema de mezcla (es decir, la rotación del cubo del propulsor). El burbujeo es el uso de una fuerza de mezcla (normalmente aire) cerca del fondo del reactor. El gas ascendente burbujea y el líquido saturado con gas de baja densidad se eleva, lo cual desplaza el líquido con poco

gas, el que desciende y circula de la parte superior a la parte inferior. La trayectoria del líquido ascendente puede ser guiada mediante divisores en la cámara de la bolsa o con deflectores (ver anteriormente). Por ejemplo, dicha bolsa puede incluir una lámina de plástico que divide en dos la cámara de la bolsa de forma vertical con una brecha en la parte superior e inferior. Se puede agregar gas únicamente a un lado de este divisor, lo que causa que el gas y el líquido rico en gas asciendan en un lado, pasen a través de la parte superior de la barrera y desciendan por el otro lado, momento en que pasan por debajo del divisor para regresar al punto de adición de gas.

5 En algunas realizaciones de la invención, una zona de cizalladura elevada bajo el propulsor giratorio produce un rendimiento mejor de las características del sistema. En combinación con los materiales porosos (con tamaño de poro macro, micro, submicro o nano) anteriormente descritos, es posible utilizar la zona de cizalladura con una variedad de fines, burbujeo con gas, extracción de fluidos del recipiente, separaciones de cultivos celulares o de sólidos y líquidos (por ejemplo, cualquier separación de partículas en la que el biorreactor retenga los sólidos y se elimine el filtrado fluido), de las que algunos ejemplos incluyen cultivos de perfusión continua o semicontinua, separaciones celulares, separación de resinas, etc., e intercambio de amortiguadores o concentración de soluto o producto en la aplicación en la que el elemento poroso se encuentra en el rango de ultrafiltración.

10 Tal como se ilustra en la Figura 3, la parte interior de la placa del propulsor puede incluir un poste 312 que recibe una abertura central en el cubo del impulsor 304. Preferiblemente, se mantiene el cubo del impulsor a una distancia corta sobre la superficie de la placa del propulsor para evitar fricción entre ellos. Es posible utilizar materiales de baja fricción en la producción del cubo del propulsor para minimizar la fricción entre el cubo del propulsor y el poste. De manera alternativa, se puede incluir un soporte 311 para reducir la fricción.

15 Además, el cubo del propulsor preferiblemente incluye al menos un imán 314, y, preferiblemente, más de uno, que preferiblemente se ubica en la periferia del cubo y preferiblemente corresponde a una ubicación de un imán 316 provista en el cubo del motor 310. El cubo del propulsor también incluye una o más paletas propulsoras 318, y, preferiblemente, múltiples de estas. También cabe destacar que los imanes incrustados en el propulsor pueden eliminar partículas magnéticas o ferrosas de las soluciones, suspensiones o polvos.

20 En general, el cubo del motor 310 se fija de forma central en un eje 308 del motor 306. Además de los imanes 316, el cubo del motor también puede incluir un soporte de bandeja giratoria 322, de forma de evitar la fricción entre el cubo del motor y la placa del propulsor, aunque, de manera alternativa (o adicional), es posible utilizar materiales de baja fricción para reducir la fricción (por ejemplo, plásticos de baja fricción).

25 El soporte de bandeja giratoria también contribuye a minimizar la separación entre el cubo del motor y la placa del propulsor. Aunque se desea el menor espesor de placa del propulsor, a menudo no se logra. A medida que aumenta la escala del depósito, aumenta la presión hidrostática en el interior del depósito y la placa del propulsor, lo que puede generar una deformación o deflexión hacia abajo de la placa del propulsor y el poste central. Si no se evita la deformación, el cubo del propulsor puede descender hasta la placa del propulsor y generar arrastre, y de esa forma reducir las fuerzas de acoplamiento y provocar fricción. A su vez, esto puede resultar en el arrastre de partículas al contenido del biorreactor. Por lo tanto, el soporte de bandeja giratoria fijado en el centro del cubo de motor puede dar soporte a la parte inferior de la placa del propulsor para ayudar a evitar la deflexión de la placa del propulsor debido a presión hidrostática. Por consiguiente, esto garantiza el funcionamiento adecuado del propulsor en aplicaciones a gran escala y permite el uso de una placa de propulsor de espesor muy delgado, al tiempo que se maximiza la transmisión de torque.

30 Los solicitantes de la presente invención observaron que es posible determinar la resistencia de la transmisión de torque del cubo del motor al cubo del propulsor a través del acoplamiento magnético mediante uno o más de los siguientes: el ancho de la separación entre dos cubos, el que comprende el espesor de la placa del propulsor y el ancho combinado de las dos separaciones entre el cubo del propulsor y la placa, y el cubo del motor y la placa, la evasión o eliminación de cualesquiera sustancias magnéticas o ferrosas que interfieren en el cubo del motor, la placa del propulsor o el cubo del propulsor (lo que se logra en algunas modalidades de la presente invención mediante la producción de uno o más, o la totalidad, de los sistemas de mezcla a partir de plástico), la cantidad de imanes, la fuerza magnética de los imanes, la cantidad de anillos concéntricos de imanes y la distancia de los imanes al centro de los cubos.

35 Por consiguiente, preferiblemente, la separación entre los dos cubos se puede ajustar entre alrededor de 0,001 pulgadas y 0,750 pulgadas y, más preferiblemente, entre alrededor de 0,125" y alrededor de 0,500 pulgadas. La cantidad de imanes usados puede ser de uno, pero preferiblemente es de entre alrededor de 2-50 y, más preferiblemente, entre alrededor de 3 y 10 imanes, y dichos imanes tienen una fuerza magnética de entre alrededor de 1-100 millones Gauss Oersted (MGOe) y, más preferiblemente, de entre alrededor de 20-50 millones MGOe. En una modalidad, el tipo de imanes que se utiliza es un grado de imán de neodimio. Preferiblemente, el grado de neodimio es N38, lo que incluye un producto de energía máxima de 38 MGOe. La cantidad de anillos concéntricos de imanes puede variar de 1-4 y la distancia al cubo de los anillos de imanes sería de entre alrededor de 0,250 pulgadas y alrededor de 16 pulgadas y, más preferiblemente, de entre alrededor de 0,500 pulgadas y 12 pulgadas.

40 La Figura 4 ilustra un sistema de mezcla alternativo relacionado con un propulsor accionado de forma mecánica. Tal como se muestra, este sistema generalmente incluye una placa del propulsor 400, un cubo del propulsor 404 con un

eje 405, un motor externo 406 con un eje 408. Es posible lograr la conexión de ejes entre el eje del cubo del propulsor y el eje del motor de una forma familiar para el experto en la técnica (por ejemplo, caja de engranajes, llave hexagonal y similares).

5 Preferiblemente, se fija la placa del propulsor a un lado de la pared del biorreactor 402 en una parte inferior de esta. Es posible fijar la placa del propulsor a la pared del biorreactor mediante cualquiera de los métodos mencionados para el sistema de la Figura 3. En la presente realización, también se incluyen elementos porosos, microporosos o de ultrafiltración 401 para permitir el burbujeo gaseoso o el flujo de fluidos hacia el interior y el exterior del biorreactor.

10 Tal como se ilustra en la Figura 4, un sello 412 (que también puede incluir un soporte) ubicado centralmente en la placa del propulsor puede recibir el eje del cubo del propulsor. El sello garantiza que no se contamine el contenido del biorreactor. Preferiblemente, se mantiene el cubo del propulsor a una distancia corta sobre la superficie de la placa del propulsor para evitar la fricción entre ellos. El cubo del propulsor también incluye una o más paletas propulsoras 418 y, preferiblemente, múltiples de estas.

15 En incluso otra realización (vea las Figuras 7 y 8B), se utiliza un sistema de elevación por aire o columna de burbujeo (que emplean burbujas de aire o gas 701) con la bolsa de biorreactor desechable, lo que provee una fuerza de mezcla mediante la adición de gas (por ejemplo, aire) cerca del fondo del reactor. Tal realización puede incluir una columna de burbujeo 700, un fermentador de elevación por aire 702 con tubo de corriente interno 703 y un fermentador de elevación por aire 704 con un tubo de corriente externo 705 (la dirección de las burbujas puede corresponder con la dirección de las flechas).

20 Por consiguiente, la burbuja de gas y el líquido saturado de gas de baja densidad se elevan y desplazan el líquido con poco gas, el que desciende en circulación de arriba hacia abajo. Es posible guiar el trayecto del líquido que se eleva mediante divisores dentro de la cámara de la bolsa. Por ejemplo, mediante el uso de una lámina de plástico que divide el interior de la bolsa de biorreactor, preferiblemente, de forma vertical, con una separación en la parte superior y en la parte inferior. Es posible agregar gas a un lado del divisor, lo que hace que el gas y el líquido rico en gases se eleven en un lado, pasen por la parte superior de la lámina de barrera y desciendan del otro lado y pasen bajo el divisor para volver al punto de adición del gas. Cabe destacar que es posible combinar el método y el sistema de mezcla por elevación por aire y columna de burbujeo con cualquiera de los sistemas de mezcla con base en propulsores anteriormente descritos.

30 En cualquiera de los sistemas de mezcla de tipo de propulsor, realizaciones adicionales pueden hacer referencia a paletas de propulsor de inclinación variable. Tal como se muestra en las Figuras 5-6, la paleta de inclinación variable puede comprender paletas deformables o paletas de propulsor que giran. Específicamente, tal como se muestra en la Figura 5A, un cubo del propulsor 500 puede incluir una paleta deformable, de inclinación variable 502, la que se encuentra en una posición sustancialmente inclinada cuando el cubo del propulsor se encuentra fijo (o en un ángulo pequeño 503 respecto a la superficie superior y/o inferior del cubo del propulsor) y se inclina un ángulo 504 respecto a la superficie superior y/o inferior del cubo del propulsor cuando el cubo gira. El ángulo que forma la paleta con el cubo del propulsor puede depender de la velocidad de rotación del cubo del propulsor. Por lo tanto, cuanto más rápido gire el cubo del propulsor, más se inclinará la paleta respecto a la superficie superior y/o inferior del cubo del propulsor. Es posible utilizar un material utilizado en la producción de las paletas propulsoras con propiedades flexibles (de acuerdo con una realización) para proveer la función anteriormente indicada. Los expertos en la técnica conocen dichos materiales flexibles (por ejemplo, plástico, plástico modificado).

40 En una realización alternativa ilustrada en la Figura 6, es posible determinar la inclinación de la paleta propulsora 602 respecto a la superficie superior y/o inferior del cubo del propulsor 600 mediante la rotación manual de la paleta respecto al cubo del propulsor. Esto se puede lograr mediante la producción del cubo del propulsor con aberturas respectivas para recibir un eje de giro de cada paleta. El eje puede ser levemente grande respecto al tamaño de la abertura respectiva en el cubo del propulsor. De manera alternativa, es posible producir cubos del propulsor con una inclinación de paleta predeterminada e incluirlos en un biorreactor. Por lo tanto, las bolsas de biorreactor con paletas propulsoras con inclinación fija particular se pueden producir de forma independiente y pueden estar disponibles para una aplicación particular.

50 Los sistemas de mezcla anteriormente descritos hacen posible que el sistema mezcle fluidos o sólidos de cualquier tipo. En particular, se pueden mezclar los fluidos dentro del biorreactor para distribuir nutrientes y gases disueltos en aplicaciones de cultivo celular. Es posible utilizar el mismo recipiente desechable para medios y amortiguadores de mezcla u otras soluciones en las que se desea una superficie de contacto con el producto desechable. Esto puede incluir aplicaciones en las que no sea necesario que el recipiente sea estéril o mantenga la esterilidad. Asimismo, el presente sistema hace posible eliminar el depósito que contiene los fluidos, mezclas o gases a eliminar y descartar, de forma que los fluidos que se mezclan en la bolsa de biorreactor no contaminan el depósito. Por lo tanto, no es necesario limpiar o esterilizar el depósito después de cada uso.

55 Ejemplo:

Se evaluó la mezcla con agua con células CHO (de mamífero) que expresan la proteína de fusión al antígeno a una

ES 2 612 212 T3

- 5 escala de 150 L con un propulsor accionado de forma magnética de HDPE, con placa y eje de HDPE para mezcla y con tubería de HDPE porosa para burbujeo. Un parche óptico controló el oxígeno disuelto y la respuesta al flujo de gas. Se controló la temperatura mediante un termopar contra la superficie exterior de la bolsa y se proveyó calefacción intermitente mediante una manta eléctrica. En este ensayo, se cultivaron células de mamífero a densidad elevada y se mantuvieron muy viables, lo que implica una reducción exitosa en la práctica de este diseño de cultivo celular.

Ejemplo 2 - Inventario del sistema de biorreactor desechable

La siguiente es una lista de componentes de un ejemplo de sistema de biorreactor con una bolsa de biorreactor desechable (vea, también, la Figura 1B).

Opciones y descripción de cantidad de componentes del submontaje

Componente	Cantidad	Descripción
Cubierta del depósito, depósito	1	Cubierta del depósito 316SS con accesorios
Aislamiento y bobinado de depósito	1	Vía de transferencia de calor alrededor de la estructura de depósito
Unidad de control de temperatura	1	TCU independiente integrada al controlador de patín principal
Mangueras de camisa de depósito	1	Conexiones entre TCU y bobinado de depósito
Cristal de observación del depósito	1	Ventana de observación en un lateral de la estructura de depósito
Administrador de tubería	1	Panel con arandelas para tubería en la parte superior del depósito
Analizador y sonda de I&C	2	
Analizador de oxígeno disuelto	2	
Carga de células	3	
Analizador de carga de células	1	
Termopar	5	
Medidor de flujo - Burbujeo	1	Rotámetro para proveer indicación visual local del flujo para burbujear elementos.
Medido de flujo - Barrido de espacio libre	1	Rotámetro para proveer indicación visual local del flujo de gas hacia el espacio libre.
Cambio de flujo - Línea de escape	1	Detector de flujo para indicar obstrucción o flujo de filtro
Controlador de flujo de masa - barrido de espacio vacío	1	
Controlador de flujo de masa - burbujeo	4	
Bomba de suministro de ácido	1	Bomba peristáltica pequeña

ES 2 612 212 T3

Componente	Cantidad	Descripción
Bomba de suministro básica	1	Bomba peristáltica pequeña
Bomba de suministro antifforma	1	Bomba peristáltica pequeña
Bomba de suministro de medio	1	Bomba peristáltica
Bomba de descarga	1	Bomba peristáltica
Motor de agitador, reductor, cabezal de accionamiento	1	Baldor 1/2 HP para tareas a presión o equivalente
Controlador de agitador	1	Baldor para tareas a presión o equivalente
Distribución de energía	1	
Gabinete de entrada y salida e interruptores	1	
Controlador de PLC	1	
Interfaz de operario	1	

REIVINDICACIONES

- 1.** Un biorreactor (102, 200) que comprende:
- un recipiente desechable para contener biomateriales para su procesamiento, el que incluye al menos un puerto de entrada (202), al menos un puerto de escape (202),
 - 5 -al menos un puerto de extracción (204),
 - una estructura (101, 802) que da soporte al recipiente desechable,
 - uno o más sensores (108, 206) para detectar uno o más parámetros de los biomateriales en el recipiente,
 - un calentador (104) para calentar el contenido del recipiente, teniendo el calentador (104) un termostato y
 - 10 -medios de mezcla dispuestos con el biorreactor de forma tal que se mezclen los biomateriales contenidos en el recipiente desechable,
- caracterizado por que el biorreactor (102, 200) también comprende un accesorio que comprende una superficie porosa asociada con el puerto de entrada y configurado para permitir el pasaje de una corriente de gas de entrada y controlar el tamaño y la distribución de las burbujas de gas antes de la adición de la corriente de gas de entrada al interior del recipiente desechable, en donde el tamaño de poro de la superficie porosa se selecciona de macro,
- 15 micro, submicro, nano y combinaciones de estos,
- y por que los medios de mezcla comprenden un propulsor (208) en una pared (302) de una parte inferior del recipiente, siendo el propulsor (208) accionado mecánicamente por un motor (110, 112, 306) externo al recipiente y conectado de forma no directa al propulsor (208).
- 2.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el recipiente desechable comprende un recipiente de plástico o una bolsa de plástico flexible.
- 3.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el recipiente desechable incluye uno o más deflectores (800).
- 4.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el sistema de mezcla comprende una columna de burbujeo (700) en conjunto con un divisor ubicado en el interior del recipiente.
- 25 **5.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el calentador (104) comprende un área de material ubicado en el exterior del recipiente (101) que contiene el recipiente desechable.
- 6.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el calentador (104) comprende una manta de material o una camisa metálica que contiene agua fría o caliente alrededor de al menos una parte del exterior del recipiente (101) que contiene el recipiente desechable.
- 30 **7.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 6, en donde el calentador (104) se ubica dentro o en el exterior del recipiente desechable.
- 8.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el uno o más sensores (108, 206) comprende sensores para detectar al menos uno de oxígeno disuelto, dióxido de carbono disuelto, velocidad de mezcla, velocidad de flujo de gas, temperatura, pH y presión.
- 35 **9.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1 que además comprende un ordenador (115) para controlar el sistema (100).
- 10.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1 que además comprende al menos uno de un suministro de agua, un suministro de dióxido de carbono y suministro de oxígeno.
- 40 **11.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1 que además comprende medios de transporte para mover la estructura de soporte.
- 12.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 11, en donde los medios de transporte comprenden una plataforma móvil.
- 13.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho recipiente desechable comprende:
- 45 -una bolsa de plástico flexible ubicada en la estructura de soporte (101, 802);
- una placa del propulsor (300) fijada a una parte inferior de la bolsa de plástico flexible y que incluye un poste

(312); y

-un cubo del propulsor (304) colocado en el poste (312), teniendo el cubo del propulsor (304) al menos una paleta propulsora (318) dispuesta en el poste (312) y con al menos un imán (314), y

en donde se provee un motor (306) con un eje (308) adyacente a la estructura de soporte (101, 802) o en ella, y

5 se fija un cubo del motor (310) en el eje del motor (308), y el cubo del motor (310) incluye al menos un imán (316), en donde, tras disponer la bolsa de plástico flexible en la estructura de soporte (101, 802), el cubo del motor (310) se alinea con la placa del propulsor (300), de manera que el imán (316) del cubo del motor (310) se pueda alinear con el imán (314) del cubo del propulsor (304) para accionar el cubo del propulsor (304) al girar el eje del motor (308).

10 **14.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 13, en donde el cubo del motor (310) también incluye un soporte de bandeja giratoria que se ubica en el cubo (310), de forma que una parte del soporte se encuentre en contacto con un lado de la placa del propulsor (300).

15. Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 13, en donde la placa del propulsor (300) también incluye al menos un elemento poroso (301) dispuesto para permitir la comunicación fluida en un sentido o en ambos sentidos entre el interior de la bolsa de plástico flexible y el exterior de la bolsa de plástico flexible.

15 **16.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho recipiente desechable comprende:

-una bolsa de plástico flexible ubicada en dicha estructura de soporte (101, 802);

-una placa del propulsor (400) fijada a una parte inferior de la bolsa de plástico flexible;

20 -un primer eje (405) con un primer extremo ubicado en el interior de la bolsa de plástico flexible y con un segundo extremo ubicado en el exterior de la bolsa de plástico flexible;

-un sello (412) que rodea al eje (405); y

un cubo del propulsor (404) colocado en el primer extremo del eje, teniendo el cubo del propulsor (404) al menos una paleta propulsora (418) dispuesta en el eje (405); y

25 en donde un motor (406) se coloca adyacente a la estructura de soporte (101, 802) o en ella, tras montar la bolsa de plástico flexible en la estructura de soporte (101, 802), el motor (406) acciona el segundo extremo del eje.

17. Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 16, en donde la placa del propulsor (400) y/o sello (412) incluye un soporte.

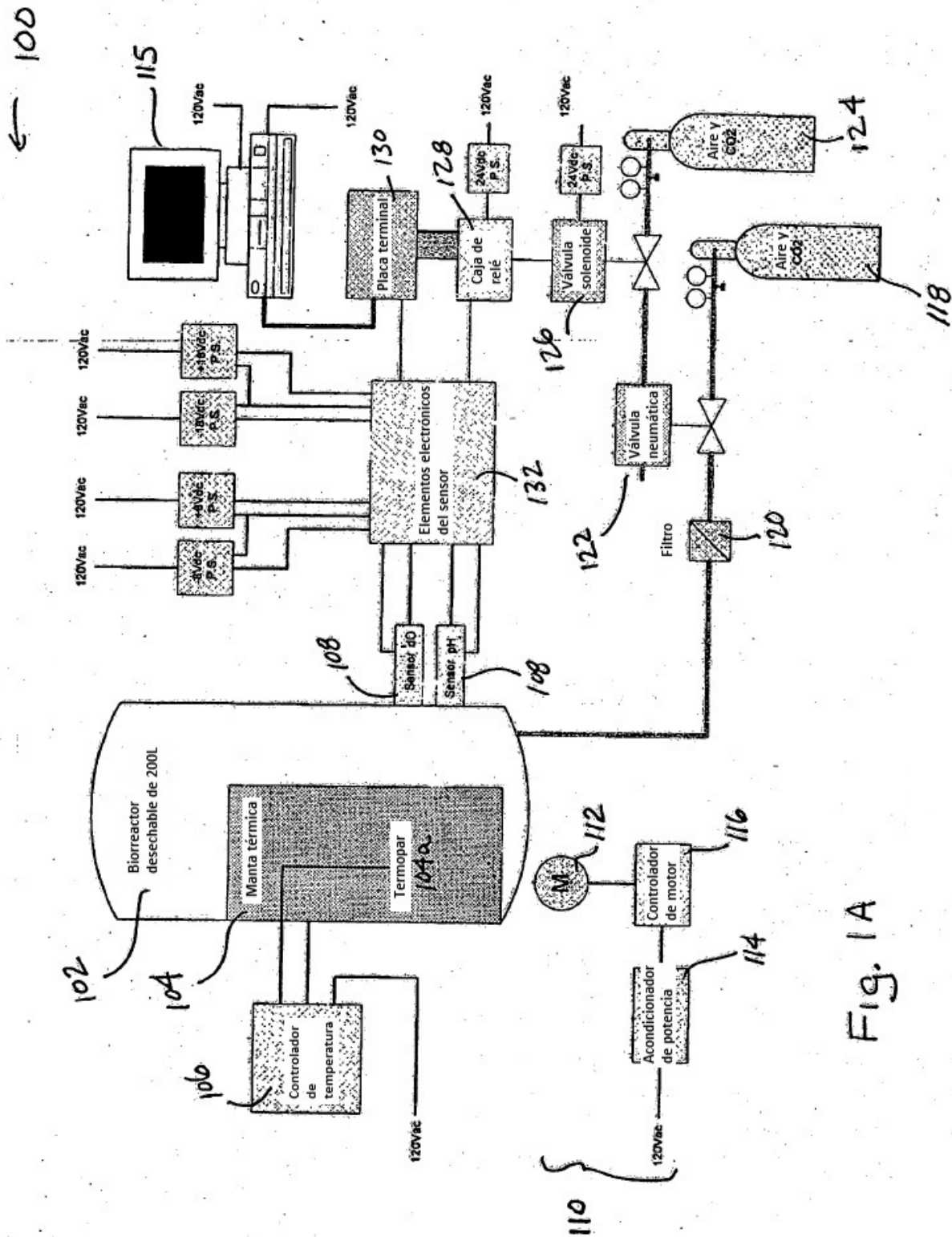
30 **18.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 16, en donde la placa del propulsor (400) también incluye al menos un elemento poroso (401) dispuesto para permitir la comunicación fluida en un sentido o en ambos sentidos entre el interior de la bolsa de plástico flexible y el exterior de la bolsa de plástico flexible.

19. Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 15 o la reivindicación 18, en donde la comunicación fluida comprende la introducción de un burbujeo con gas en el interior de la bolsa de plástico flexible o la extracción de fluidos del interior de la bolsa de plástico flexible.

35 **20.** Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 13 o la reivindicación 16, en donde la al menos una paleta propulsora comprende una paleta propulsora con inclinación variable (502).

21. Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 20, en donde la inclinación de la posible paleta propulsora varía conforme a la velocidad de rotación del cubo del propulsor (500).

22. Un biorreactor (102, 200) como se reivindica en la reivindicación 21, en donde se ajusta manualmente la inclinación de la placa del propulsor (602).



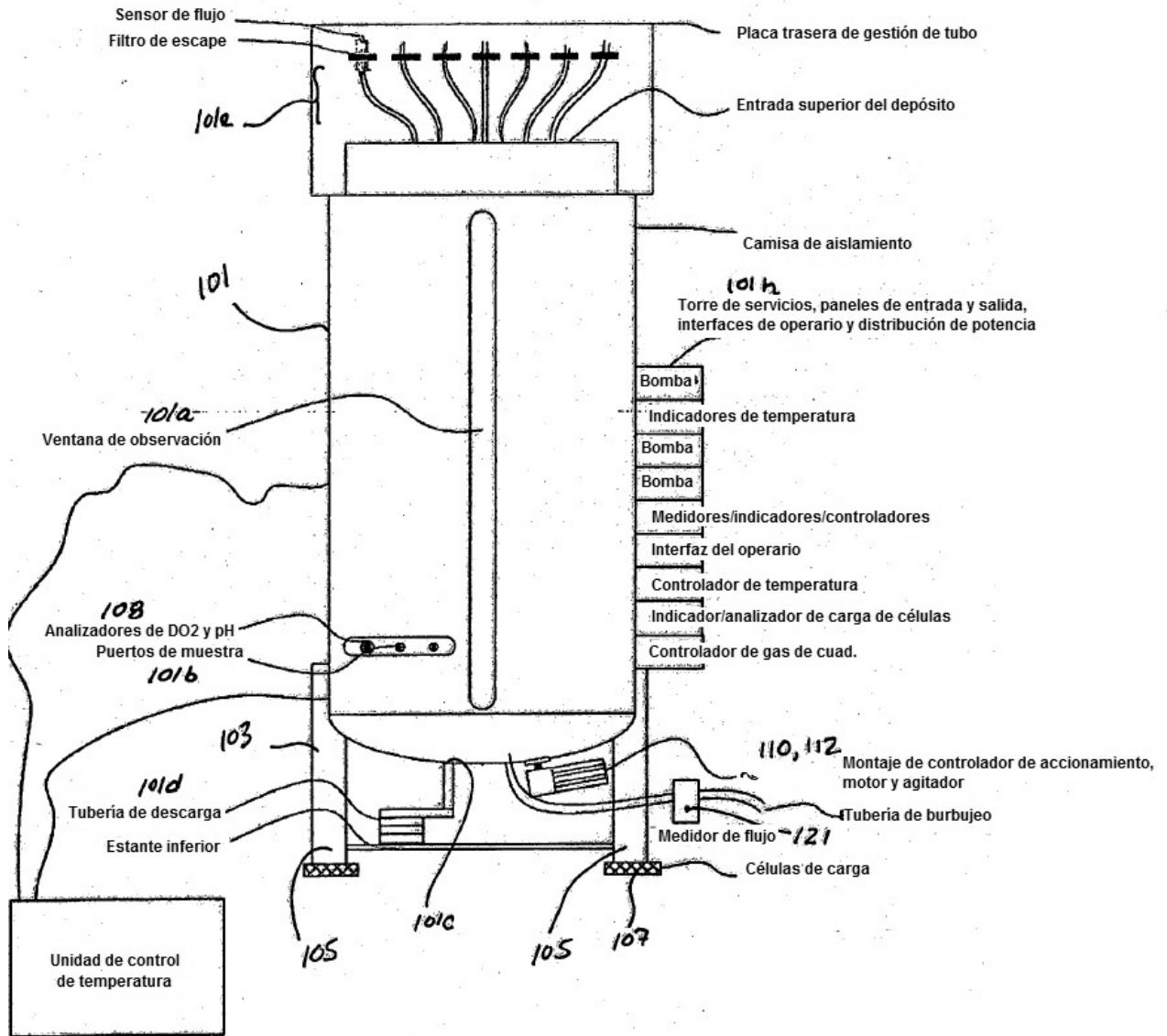


Fig. 1B

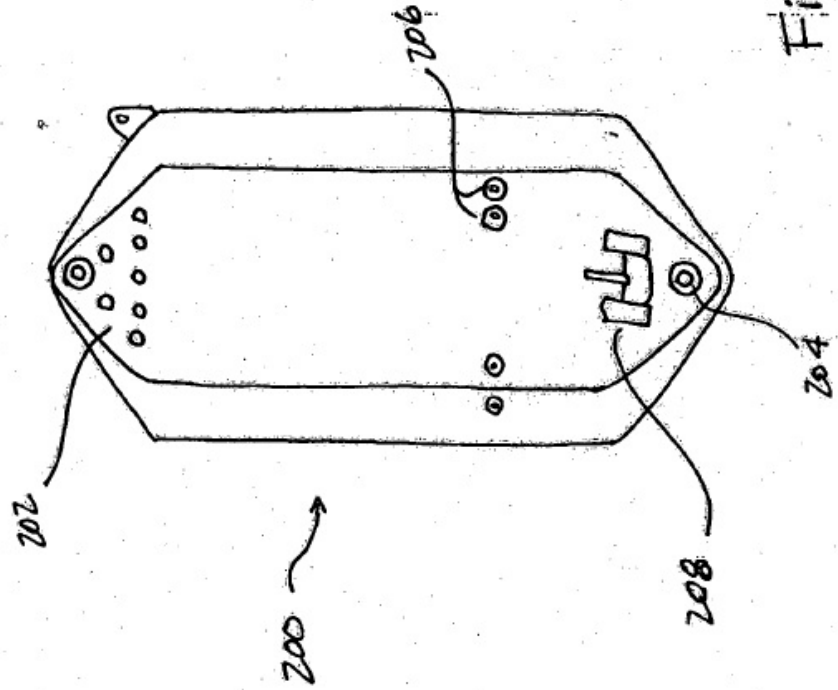


Fig 2

Fig. 3

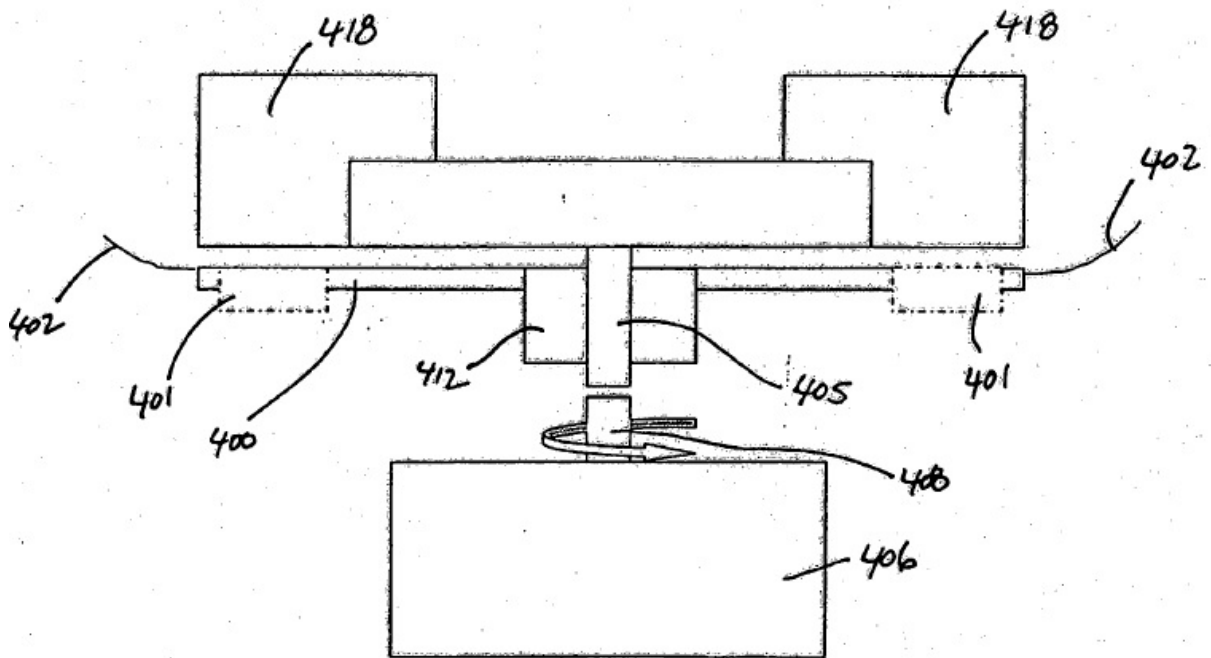
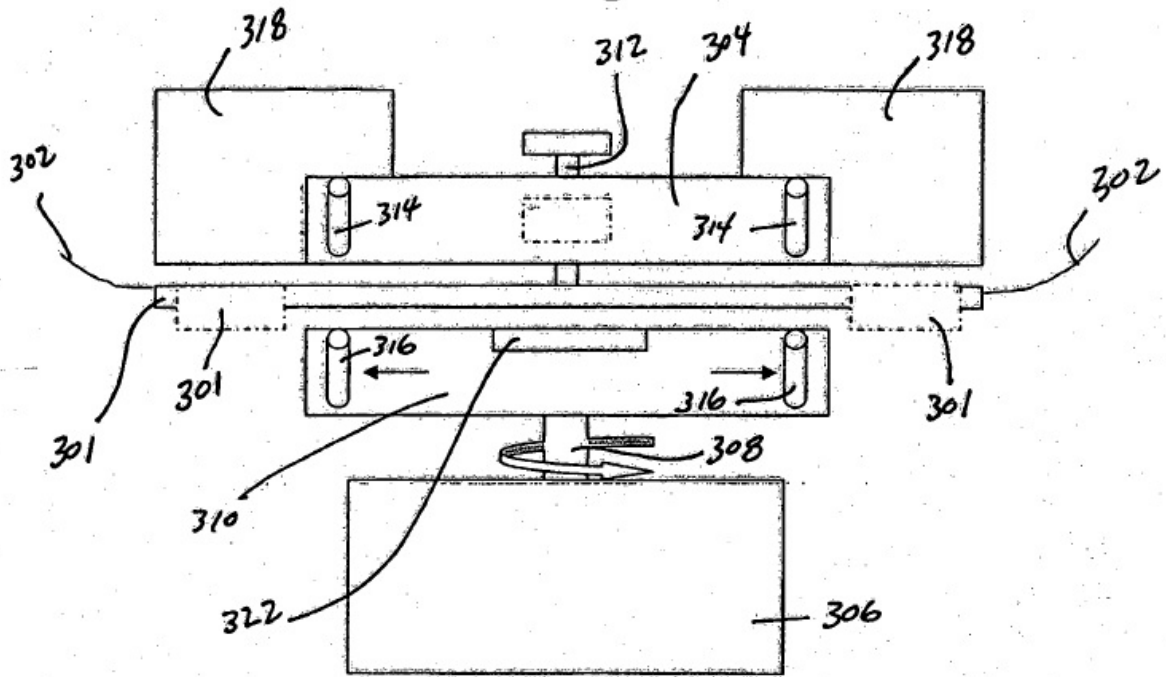


Fig. 4

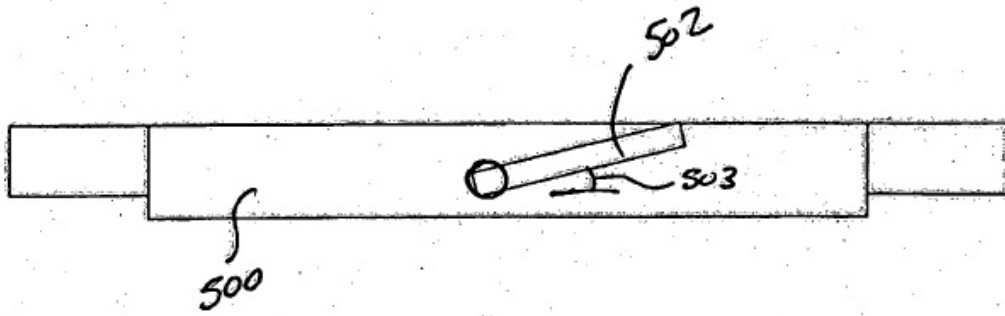


Fig. 5A

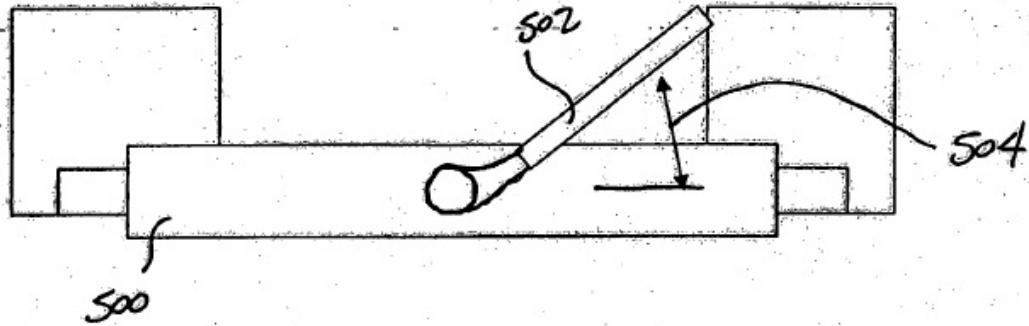


Fig. 5B

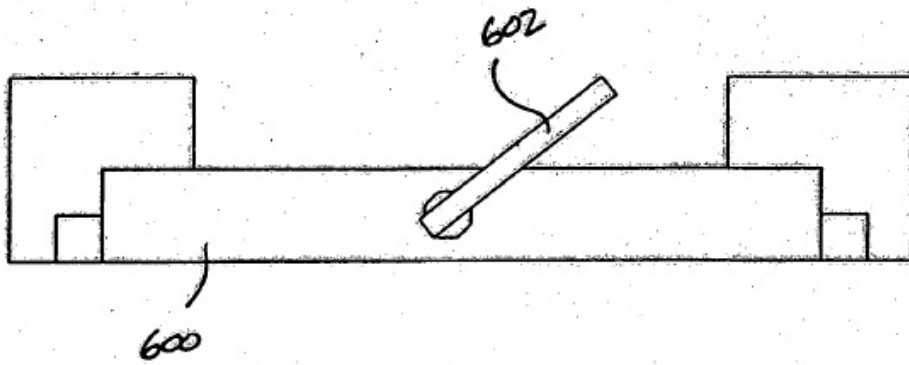


Fig. 6

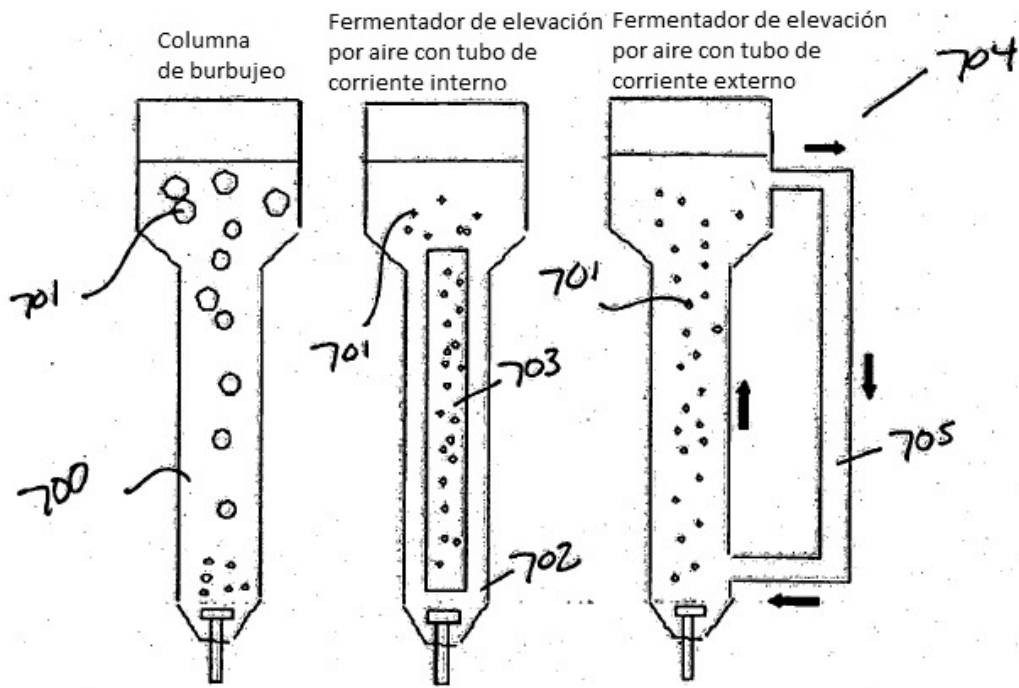


Fig. 7

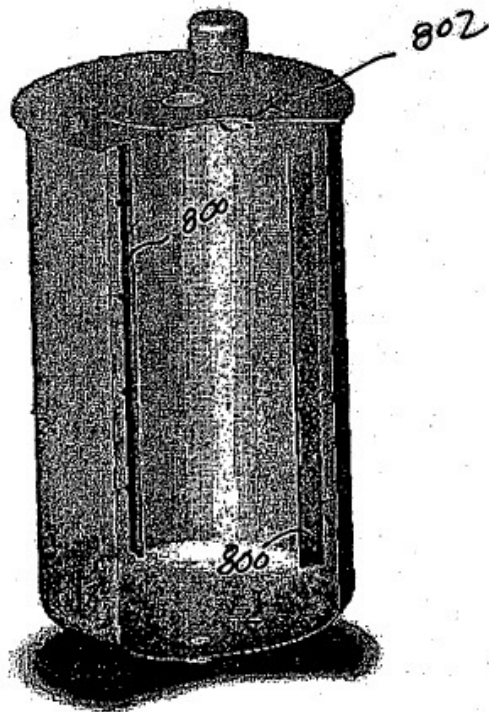


Fig. 8A

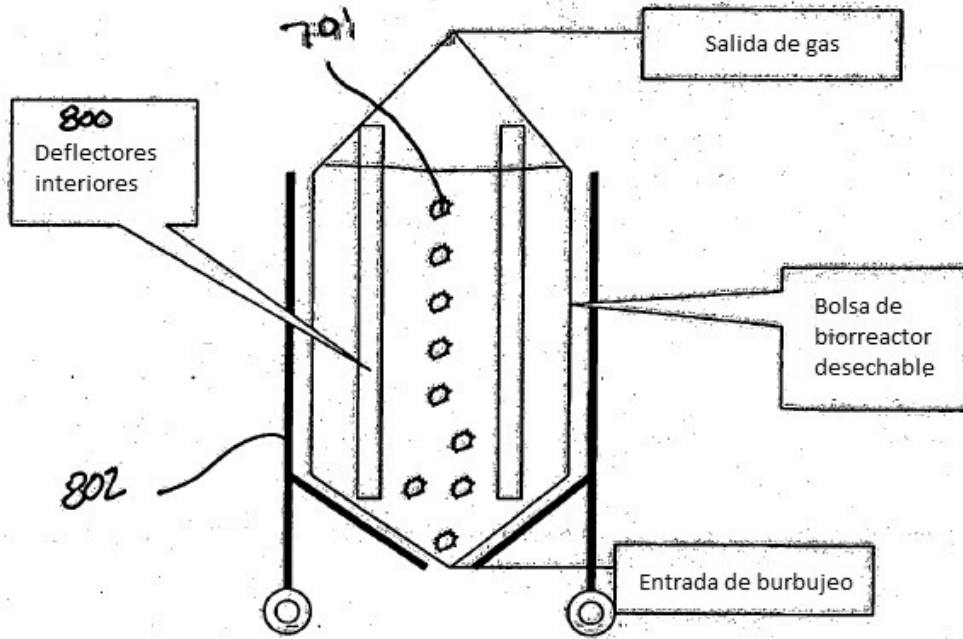


Fig. 8B