

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 202**

51 Int. Cl.:

C12N 5/00 (2006.01)

C12M 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.09.2006 PCT/US2006/037468**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.12.2007 WO07142664**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2006 E 06815465 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 2021459**

54 Título: **Un método para aumentar oxígeno disuelto en un recipiente de cultivo**

30 Prioridad:

08.06.2006 WO PCT/US2006/022312

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

11.04.2018

73 Titular/es:

**ZHEJIANG JINYISHENGSHI BIOENGINEERING CO., LTD. (100.0%)
3-1201-2 Room, 1366 Hongfeng Road, Huzhou City
Zhejiang 313000, CN**

72 Inventor/es:

HUI, MIZHOU

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 663 202 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

Un método para aumentar oxígeno disuelto en un recipiente de cultivo

Solicitud relacionada

5 Esta solicitud es la continuación de la solicitud de patente PCT/US06/22312 titulada "recipientes para cultivo en suspensión", presentada el 08 de junio de 2006.

Campo de la invención

Se describe proporcionar un método para producir biorreactores eficaces.

Antecedentes de la invención

10 En el anterior descubrimiento de los autores de la presente invención, descrito en la solicitud de patente PCT/US06/22312 titulada "recipientes para cultivo en suspensión", los autores de la presente invención han descrito un recipiente de cuerpo ancho para cultivo, con un fondo troncocónico invertido, sobre una plataforma de agitación orbital, para el cultivo en suspensión de células de mamífero. Sorprendentemente, este sistema era significativamente mejor que el biorreactor clásico y los frascos de fondo plano para agitación por sacudidas. Los
15 autores de la presente invención han descrito que este sistema hace que el medio de cultivo trepe fácilmente por la pared del recipiente con menos estrés hidromecánico. Este sistema crea una capa extensa y delgada de medio de cultivo, proporcionando una superficie ampliada, mayor aireación y mejor mezcladura.

Curiosamente, los autores de la presente invención no conocían el mecanismo de acción exacto de este sistema de recipiente de fondo troncocónico basado en agitación por sacudidas. Los autores de la presente invención han
20 descubierto ahora el mecanismo de acción. Basándose en el mecanismo de acción, en concreto un método para aumentar el nivel de oxígeno disuelto en medio de cultivo, los autores de la presente invención han diseñado y probado varios tipos de biorreactores para cultivo de células de mamífero.

Compendio de la invención

25 Se describe el mecanismo de acción de recipientes para cultivo en suspensión con un fondo troncocónico invertido o de tronco invertido descritos con anterioridad (solicitud de patente PCT/US06/22312). Se describe proporcionar un método para aumentar oxígeno disuelto (OD) en medio de cultivo, que constituye una base para diseñar y fabricar biorreactores eficaces para cultivo de células de mamífero.

30 La invención se refiere a un método para producir burbujas microscópicas de aire u oxígeno en un medio de cultivo tal como se relata en la reivindicación 1. La invención también se refiere a un método para oxigenar un medio de cultivo tal como se relata en la reivindicación 2. La invención también trata de aparatos y dispositivo para cultivo celular y dispositivo tal como se relata en las reivindicaciones 7, 8 y 15, y de un método para cultivar en suspensión células de mamífero tal como se relata en la reivindicación 10.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1 Un recipiente de cuerpo ancho con fondo troncocónico invertido para cultivo en suspensión de células de mamífero.

35 Figura 2a Ilustración de la tecnología Flurometrix de detección de OD/pH mediante sensor en parche.

Figura 2b Sistema Fluorometrix de detección de OD/pH mediante sensor en parche.

Figura 3 Recipiente de cultivo de 150 ml de volumen de trabajo, con fondo troncocónico invertido, sobre plataforma de agitación por sacudidas.

40 Figura 4 Uso de bomba de aire para burbujear el medio de cultivo en estado estático con el fin de aumentar el nivel de OD.

Figuras 5a, b, c, d, e Una cámara digital Nikon ha captado características instantáneas de la superficie del medio. En un momento preciso, todas las imágenes mostraban el nivel de la superficie del medio inclinado, principalmente sobre un lado de la pared del recipiente. Estas características del movimiento del medio aumentan el OD en el medio de cultivo al "barrer" de manera repetitiva o lavar la superficie lisa, expuesta al aire, del recipiente.

45 Figuras 6a, b Al utilizar movimiento de rodadura de tubos de plástico inclinados, el medio de cultivo dentro del tubo "barre" o lava de manera repetitiva la superficie lisa, expuesta al aire, de la pared del vaso. Este movimiento aumenta rápidamente hasta 100% el OD en el medio.

50 Figura 7 Mediante el uso de tubos de plástico con fondo troncocónico invertido (diámetro 3 cm), células CHOK cultivadas en suspensión alcanzaron fácilmente un vce (volumen de células empaquetadas) de 2,2% en 4 días de cultivo sobre plataforma de agitación por sacudidas ajustable, con OD de 100% constante. Esto creó un sistema de

minibiorreactor eficaz para cribar, con criterios de robustez, clones celulares.

Figura 8a Un biorreactor autorrodante en forma de bola con movimiento de vaivén, para mezclar el medio de cultivo.

Figura 8b Un biorreactor autorrodante en forma de bola sobre una plataforma de agitación orbital para mezclar el medio de cultivo.

5 Figura 8c Un biorreactor autorrodante en forma de cono con raíles orbitales que sobresalen en el interior.

Figura 9a Base de recipiente de 10 litros con fondo troncocónico invertido para bolsa de cultivo de plástico.

Figura 9b Base de recipiente de 10 litros con fondo troncocónico invertido.

Figura 10a Sistema actual Flurometrix de minibiorreactor de alto rendimiento para cribado con criterios de robustez y optimización de proceso, de clones celulares.

10 Figura 10b Pocillos múltiples con fondo troncocónico para agitación basada en sacudidas, para cribar, con criterios de robustez, líneas celulares.

Descripción detallada de la invención

15 Esta invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento previo de que, sin utilizar un centro de control sofisticado ni sondas de OD y de pH relacionadas, células de mamífero adaptadas a suspensión crecían significativamente mejor en recipientes de cultivo con un fondo troncocónico invertido o fondo de tronco invertido sobre una plataforma de agitación por sacudidas con cierta longitud de movimiento, que en un biorreactor Applikon clásico así como en frascos de agitación por sacudidas de fondo plano (Figura 1).

20 Para estudiar su mecanismo de acción, los autores de la presente invención han empleado sensor de OD, sensor de pH y su sistema de detección (www.flurometrix.com) (Figuras 2a, b). También han empleado una cámara digital (Nikon) para captar y estudiar el movimiento detallado del medio de cultivo durante el movimiento de agitación por sacudidas en los recipientes con fondo troncocónico.

25 En primer lugar, los autores de la presente invención midieron el OD del medio de cultivo en un recipiente de 150 ml de volumen de trabajo, con fondo cónico invertido (Figura 3). Descubrieron que el nivel de OD alcanzaba fácilmente 100% (Tabla 1). Después utilizaron una bomba de aire para burbujear el medio de cultivo en un mismo recipiente en estado estático (Figura 4). Sorprendentemente, no se consiguió alcanzar 100% en un período de tiempo razonable (Tabla 2). Los autores de la presente invención quedaron muy sorprendidos por este fenómeno ya que rutinariamente utilizaban el método de burbujeo de aire para calibrar la sonda de OD en el biorreactor Applikon de 3 litros y asumían que el OD alcanzaba 100%. Debe existir un mecanismo de acción detrás de este fenómeno.

30 Tabla 1 Se añadió medio de cultivo fresco a un recipiente de cultivo de 150 ml de volumen de trabajo, con fondo troncocónico invertido, con agitación por sacudidas a 120 r. p. m. (Figura 3). Cada 30 minutos se midió el OD.

Tiempo (minutos)	0	30	30	30
% de OD	45	75	92	100

Tabla 2 Se añadió medio de cultivo fresco a un recipiente de cultivo de 150 ml de volumen de trabajo, con fondo troncocónico invertido, sin agitar. Se utilizó burbujeo de bomba de aire para añadir OD al medio (Figura 4). Cada 30 minutos se midió el OD.

Tiempo (minutos)	0	30	30	30
% de OD	45	52	55	75

35 En busca de la respuesta, los autores de la presente invención utilizaron una cámara de alta velocidad para captar el movimiento instantáneo del medio de cultivo en los recipientes de cultivo con fondo troncocónico invertido durante la agitación por sacudidas (Figuras 5a, b, c, d) (Figura 3). Todas las imágenes mostraron claramente que, en un instante dado, el medio de cultivo se encuentra principalmente en un lado de los recipientes de cultivo, mientras que la mayor parte del otro lado está expuesta al contacto con el aire. Gracias al fondo cónico invertido, el movimiento de agitación por sacudidas mueve fácilmente el medio de cultivo haciendo que trepe por un lado de la pared del recipiente. Esto crea un movimiento circular de la corriente de medio, "barriendo" o lavando repetidamente la pared del recipiente expuesta al aire. Los autores de la presente invención plantearon la hipótesis de que este movimiento

circular y su "barrido" repetitivo aumentaban el OD en el medio de cultivo.

El oxígeno disuelto (OD) se encuentra en burbujas microscópicas de oxígeno que se mezclan en el agua o el medio de cultivo y se sitúan entre las moléculas de agua. En el caso de lo que antecede, es posible que pequeñas burbujas de oxígeno se hayan absorbido en la superficie lisa de vidrio o de plástico y hayan formado así una capa microscópica de burbujas de oxígeno durante el período de exposición instantánea al aire. A continuación, los autores de la presente invención plantearon la hipótesis de que la capa de burbujas de aire formada de manera instantánea en la superficie lisa es tan pequeña que se asemeja al tamaño de burbuja microscópica de OD en el agua. Esta capa de burbujas microscópicas es luego "barrida" o arrastrada por la corriente del medio circulante, haciendo que el oxígeno se disuelva fácilmente en el agua. Este movimiento circular ocurre una y otra vez debido a la parte inferior troncocónica y al movimiento de agitación por sacudidas, aumentando así el nivel de DO más eficazmente que el burbujeo directo de aire en el interior del medio, con inyección incluida.

Para probar esta hipótesis, los autores de la presente invención han empleado tubos de plástico de 12 ml (NUNC) con 4 ml de medio de cultivo y un tambor que giraba a una velocidad de 60 r. p. m. (Figuras 6a, b). Después de girar durante poco más de 10 minutos, todas las muestras de medio en los tubos habían alcanzado 100% de OD. Este estudio demostró que el medio de cultivo o la corriente de medio que barren repetidamente o entran en contacto con la superficie lisa expuesta al aire, con cierta velocidad o fuerza, aumentan de manera sorprendentemente eficaz el OD en el medio de cultivo.

Los autores de la presente invención cultivaron después en suspensión células CHOK en los tubos del tambor giratorio, a velocidades de 60 y 100 r. p. m. durante 4 días. Como se esperaba, el OD alcanzó 100% en todos los casos durante estos 4 días de cultivo. Sin embargo, las células no crecieron en absoluto. Por lo tanto, los autores de la presente invención llegaron a la conclusión de que, para un cultivo celular en suspensión óptimo, debe ser necesaria una mezcla eficaz además de suficiente OD en el medio. A continuación, los autores de la presente invención cultivaron las células en tubos de centrifuga de 50 ml (NUNC) con fondo troncocónico invertido, sobre una plataforma de agitación ajustable, durante 4 días (Figura 7). Todas las células crecieron y alcanzaron fácilmente un volumen de células empaquetadas (vce) de 2,2%. Este resultado indicó que para un cultivo celular en suspensión óptimo se requiere movimiento de mezcladura además de suficiente OD.

Basándose en los antedichos descubrimientos, los autores de la presente invención han diseñado varios tipos de biorreactores para la construcción de prototipo. Para cada tipo, los autores de la presente invención han incorporado el método para aumentar el OD en el medio de cultivo mediante el uso repetido de corriente de medio para barrer con fuerza o entrar en contacto con la superficie lisa expuesta al aire, junto con suficiente movimiento de mezcladura del medio en cuestión (Figuras 8a, b, c). Los detalles se describen más ampliamente en el Ejemplo-4.

Los autores de la presente invención han examinado también los detalles de un proceso de cultivo por lotes utilizando una línea de células CHOK en suspensión que expresan TNFR2-Fc-IL-1ra, en un medio de cultivo en suspensión sin suero. Se demostró claramente que los recipientes de cultivo con fondo troncocónico invertido eran ideales con un nivel óptimo de OD, densidad celular y rendimiento del producto (Tabla 3). Los detalles también se describen en el Ejemplo 1.

Ejemplo 1

Cultivo por lotes para estudiar recipiente de 150 ml de volumen de trabajo con fondo troncocónico invertido

Se realizó durante 8 días el uso de recipientes a pequeña escala para agitación por sacudidas, de 150 ml de volumen de trabajo, para el cultivo por lotes de una línea celular CHO de producción que expresa candidatos a fármacos de TNFR2-Fc-IL-1ra, en medio de cultivo B001 libre de suero. Se midió cada día el OD utilizando el sistema Fluometrix de detección de OD mediante sensor en parche (Figuras 2a, b). Además del uso del sistema Fluometrix de detección, también se detectó el pH mediante un pH-metro portátil (Figura 2b). La glucosa se midió con un medidor de glucosa de un solo toque (Figura 2b). La Tabla 3 muestra claramente que los recipientes de cultivo con fondo troncocónico invertido eran ideales, con niveles óptimos de OD, densidad celular y rendimiento del producto.

Tabla 3 Seguimiento simultáneo de OD, pH, glucosa, velocidad de mezclado y temperatura en un proceso de cultivo por lotes en un recipiente de 150 ml de volumen de trabajo, con fondo troncocónico invertido.

Día	1	2	3	4	5	6	7	8
% de OD	100	100	100	100	100	100	100	100
pH	7,5	7,4	7,0	6,8	6,6	6,6	6,7	6,8
Glucosa g/L	1,5	1,5	1,2	0,8	0,5	0,3	0,2	0,1
Temperatura	37	37	37	34	34	34	34	34
Velocidad de mezclado r. p. m.	120	120	120	120	120	120	120	120
Título de expresión mg/L	22	55	115	220	415	530	705	750
Densidad de células % de vce	0,3%	0,7%	1,5%	2,8%	3,2%	3,6%	3,2%	2,8%

Ejemplo 2

- 5 Fabricación de bolsas de plástico de un solo uso para cultivo celular sobre bases de recipiente para biorreactor con fondo troncocónico invertido

10 Se diseñaron y se construyeron bases de recipiente para biorreactor con fondo troncocónico invertido y bolsas de plástico blando (Figuras 9a, b). Estas bases y bolsas fueron diseñadas para ser utilizadas en plataformas de agitación por sacudidas con longitud de movimiento ajustable. El fondo troncocónico diseñado, junto con la plataforma de agitación por sacudidas ajustable, tenían como objetivo hacer que el medio de cultivo trepara lo más alto posible y lo más fácilmente posible (uso de mínima energía de agitación) para aumentar el nivel de OD en el medio y superar el reto de lograr un alto nivel de uso de O₂ en condiciones de cultivo con alta densidad de células. Se han diseñado para la construcción y prueba de prototipo bases para recipientes y bolsas de plástico de 3, 10, 20, 40, 100, 500 y 1.000 litros. El objetivo de los autores de la presente invención es construir biorreactores de cultivo de mamífero de un solo uso y sin fuerza de cizalladura, que sean económicos, para usos de I+D e industriales.

Ejemplo 3

Diseño de placa de múltiples pocillos basada en agitación por sacudidas, con fondo troncocónico invertido, para cribar clones de producción, con criterios de robustez, tras el cribado por título de expresión de proteína con alto rendimiento

20 La robustez de una línea celular de producción es importante para la estabilidad del proceso de escalamiento y el rendimiento último de expresión de un fármaco proteico dado. Entre las líneas celulares de alta expresión, seleccionadas de miles de clones celulares, algunas de ellas son líneas celulares robustas que satisfacen los requisitos para células de producción industrial. Las líneas celulares robustas seleccionadas pueden crecer con alta densidad durante más tiempo, y generar así un título de expresión >10 veces superior al título de expresión del clon celular originalmente cribado.

25 El sistema actual de miniorreactor (www.fluorometrix.com) para el cribado con criterios de robustez de línea celular y optimización del proceso (Figura 10a) no está optimizado para un crecimiento celular con alta densidad de células y no presenta un nivel de OD óptimo para dar apoyo a una población de células con alta densidad. Por lo tanto, no realiza el cribado de clones celulares robustos. Sin suficiente OD en el medio, no es posible optimizar un proceso de lote alimentado con alta densidad celular.

35 Gracias al movimiento de agitación por sacudidas y el fondo troncocónico de los pocillos de cultivo, la placa de múltiples pocillos diseñada, sobre la plataforma de agitación por sacudidas (Figura 10b), proporcionará suficiente OD en el medio para apoyar un crecimiento de alta densidad de células, pudiéndose así seleccionar la capacidad última de una determinada línea celular para crecer en la densidad más alta, y distinguirla de clones celulares no robustos. Este sistema es fácil de manejar y además muy económico.

Ejemplo 4

Diseño de biorreactores eficaces basados en el método para aumentar OD en medio de cultivo combinado con un movimiento de mezclado eficaz

5 Basándose en los experimentos con tambor giratorio realizados en lo que antecede (Figuras 6a, b), los autores de la presente invención han descubierto un método para aumentar OD en medio de cultivo de células de mamífero. Los autores de la presente invención han diseñado después biorreactores rodantes (Figuras 8a, b, c). La Figura 8a muestra un recipiente de biorreactor autorrodante en forma de bola, que lava repetidamente la superficie interna, expuesta al aire, del recipiente. Este movimiento de rodadura aumenta el OD en el medio de cultivo, para apoyar un crecimiento celular de alta densidad. Al mismo tiempo, un movimiento de vaivén a nivel de la base hace que el medio de cultivo se mezcle bien durante el movimiento de rodadura (Figura 8a). En conjunto, apoyan un óptimo cultivo de células en suspensión.

10 La Figura 8b muestra un recipiente de biorreactor autorrodante en forma de bola. Este movimiento de rodadura aumenta el OD en el medio de cultivo al lavar repetidamente la superficie interna, expuesta al aire, del recipiente, para apoyar un crecimiento celular de alta densidad. Al mismo tiempo, una plataforma de agitación orbital a nivel de la base hace que el medio de cultivo se mezcle bien durante el movimiento de rodadura. En conjunto, apoyan un óptimo cultivo de células en suspensión.

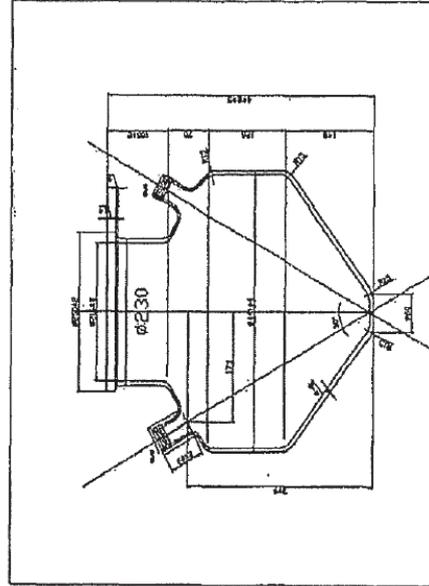
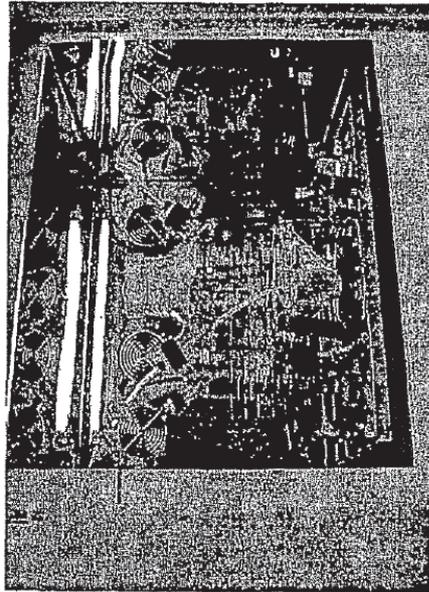
15 La Figura 8c muestra un recipiente de biorreactor autorrodante en forma de cono. Este movimiento de rodadura aumenta el OD en el medio de cultivo al lavar repetidamente la superficie interna, expuesta al aire, del recipiente, para apoyar un crecimiento celular de alta densidad. Al mismo tiempo, raíles orbitales que sobresalen en el interior hacen que el medio de cultivo se mueva hacia el extremo superior mientras rueda, y caiga hacia el extremo inferior. Este movimiento adicional ayuda a mezclar el medio de cultivo durante el movimiento de rodadura. En conjunto, apoyan un óptimo cultivo de células en suspensión.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para producir burbujas microscópicas de aire u oxígeno en un medio de cultivo, que comprende provocar un movimiento de barrido del medio de manera repetitiva sobre una superficie expuesta al aire, en donde el movimiento de barrido comprende combinar movimiento de rodadura con uno de los movimientos seleccionados entre sacudida, oscilación y movimiento de vaivén.
2. Un método para oxigenar un medio de cultivo, que comprende:
introducir un medio de cultivo en una cámara de cultivo al menos parcialmente llena de gas, en donde la cámara de cultivo está definida por una pared de un recipiente, y una superficie interna de la pared está configurada para favorecer el contacto gas-superficie interna; y
- 10 mover el recipiente para crear un movimiento relativo del medio de cultivo con respecto a la superficie interna de la pared para crear burbujas microscópicas que transportan moléculas de oxígeno al medio de cultivo, en donde el movimiento comprende combinar movimiento de rodadura con uno de los movimientos seleccionados entre sacudida, oscilación y movimiento de vaivén.
- 15 3. El método según la reivindicación 1 o 2, en donde el medio de cultivo está en un recipiente para cultivo con un fondo troncocónico invertido.
4. El método según la reivindicación 2, en donde el paso de mover el recipiente se realiza de modo que se generan burbujas microscópicas que transportan moléculas de oxígeno y son barridas por el medio en movimiento.
5. El método según la reivindicación 2, que comprende además:
medir un estado de fluido del medio de cultivo; y
- 20 controlar una velocidad del movimiento relativo según el estado de fluido medido.
6. El método según la reivindicación 5, en donde el estado de fluido incluye uno o varios de los siguientes: un nivel de pH, un nivel de oxígeno disuelto y una temperatura.
7. Un aparato para cultivo celular que comprende:
un recipiente giratorio que tiene una pared con forma de bola para definir una cámara de cultivo, teniendo la pared una superficie interna configurada para favorecer el contacto gas-superficie interna; y
- 25 un motor acoplado al recipiente para hacer girar el recipiente en torno a un primer eje con el fin de aumentar el nivel de oxígeno disuelto en un medio en la cámara de cultivo, y
que comprende además una plataforma móvil acoplada al recipiente giratorio para mover el recipiente con vaivén, o
que comprende además una plataforma de agitación orbital acoplada al recipiente giratorio para mover el recipiente a lo largo de un segundo eje.
- 30 8. Un aparato para cultivo celular que comprende
un recipiente giratorio que comprende:
una carcasa externa, y
- 35 una pared interna para definir una cámara de cultivo, en donde la pared interna tiene uno o varios raíles que sobresalen en el interior, configurados para favorecer el contacto gas-superficie interna,
un motor acoplado al recipiente para hacer girar el recipiente en torno a un primer eje con el fin de aumentar el nivel de oxígeno disuelto en un medio en la cámara de cultivo, y
que comprende además una plataforma móvil acoplada al recipiente giratorio para mover el recipiente con vaivén, o
que comprende además una plataforma de agitación orbital acoplada al recipiente giratorio para mover el recipiente a lo largo de un segundo eje.
- 40 9. El aparato para cultivo celular según la reivindicación 7 o el aparato para cultivo celular según la reivindicación 8, en donde por giro del recipiente se crean en el medio burbujas microscópicas que transportan moléculas de oxígeno.
- 45 10. Un método para cultivar en suspensión células de mamífero, en donde el método comprende cultivar las células en un medio en un aparato de cultivo celular según la reivindicación 7 sometido a un movimiento de vaivén, sin uso de burbujeo de oxígeno o de aire.

11. Un método para cultivar células de mamífero en suspensión, en donde el método comprende cultivar las células en un medio en un aparato para cultivo celular según la reivindicación 8 con raíles orbitales que sobresalen internamente, sometido a un movimiento de rodadura, sin uso de burbujeo de oxígeno o de aire.
- 5 12. El método según la reivindicación 10 u 11, en donde el método comprende mover el medio con movimiento de barrido de manera repetitiva sobre una superficie lisa expuesta al aire de una pared del recipiente.
13. El método según la reivindicación 12, en donde el paso del método se lleva a cabo mediante agitación, rodadura, oscilación y flujo.
14. El método según la reivindicación 1, 2 o 13, en donde la superficie comprende vidrio, plástico o metal.
15. Un dispositivo para cultivo celular, que comprende:
- 10 (1) una base de recipiente para cultivo celular que comprende una cámara que incluye (a) una sección inferior que es sección inferior configurada con fondo troncocónico invertido o fondo redondo con forma de cono, y (b) una sección superior, y
- (2) una bolsa para cultivo celular que, una vez llena con un fluido, tiene una parte inferior que está configurada con fondo troncocónico invertido o fondo redondo con forma de cono
- 15 en donde la bolsa para cultivo celular está dispuesta de forma desprendible dentro de la sección inferior de la base de recipiente para cultivo celular.
16. El dispositivo de cultivo celular según la reivindicación 15, en donde la bolsa para cultivo celular es desechable.
17. El dispositivo de cultivo celular según la reivindicación 15, en donde la base de recipiente para cultivo celular comprende una platina de vidrio para un sensor de OD/pH.
- 20 18. El dispositivo para cultivo celular según la reivindicación 15, en donde la sección inferior y la sección superior son concéntricas.
19. Una bolsa inflable para cultivo celular que, una vez llena con un fluido, tiene una parte inferior que está configurada con fondo troncocónico invertido o fondo redondo con forma de cono.

Figura 1 Un recipiente de cuerpo ancho con fondo troncocónico invertido para cultivo en suspensión de células de mamífero



tecnología de detección por sensor en parche

software

Parche de papel

Sensores ópticos

- Fuentes luminosas de bajo coste, detección por semiconductor
- Mide a través del vidrio (cualquier recipiente transparente)
- Alto rendimiento
- Lectura a distancia
- Sin contacto eléctrico directo
- Desechable
- Miniaturización posible

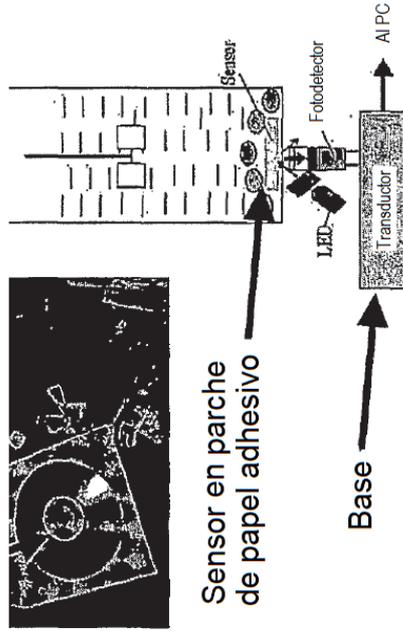
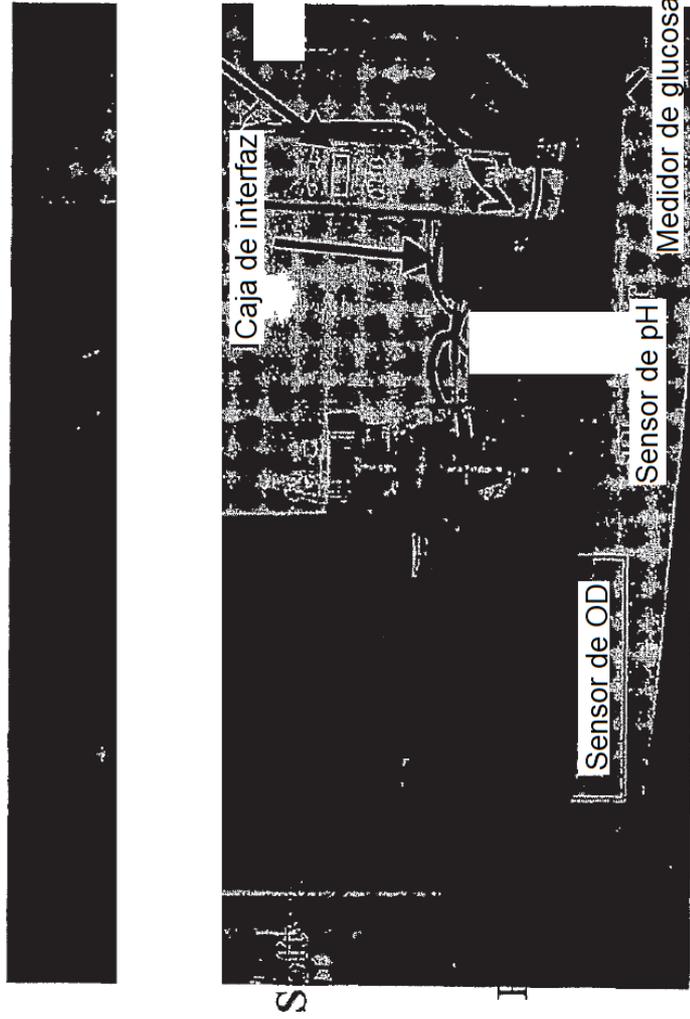


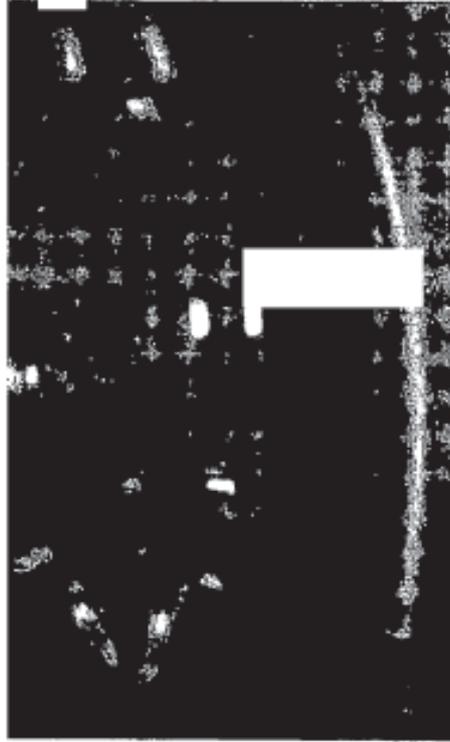
Diagrama de conexión de los sensores de pH y OD al sistema de control de la fermentación



**Figura 3 Recipiente de cultivo de 150 ml de volumen de trabajo,
con fondo troncocónico invertido, sobre plataforma
de agitación por sacudidas**



Figura 4 Uso de bomba de aire para burbujear el medio de cultivo en estado estático con el fin de aumentar el nivel de OD



Superficie de medio inclinada

Figura 5a

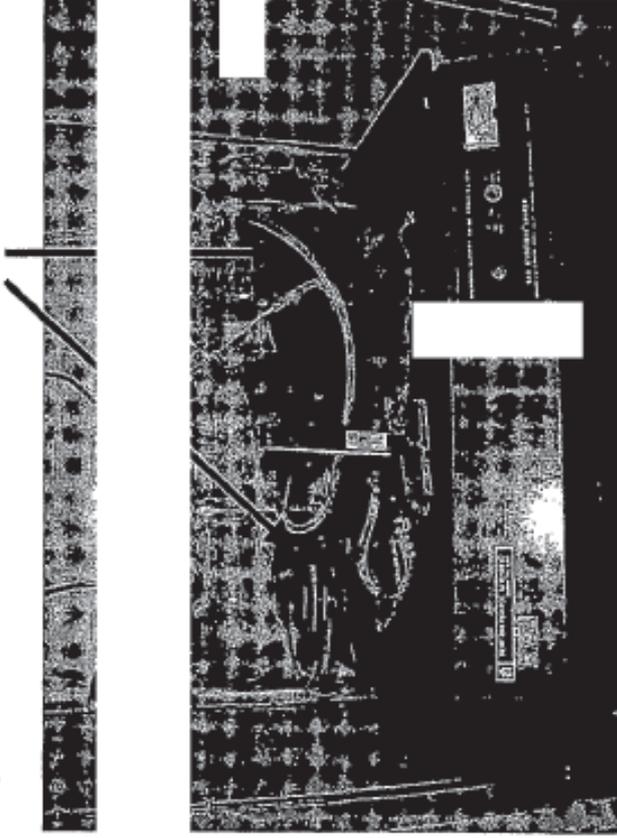


Figura 5b Superficie de medio inclinada

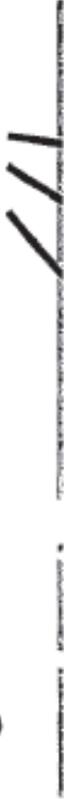


Figura 5c
Superficie de medio inclinada



Figura 5d

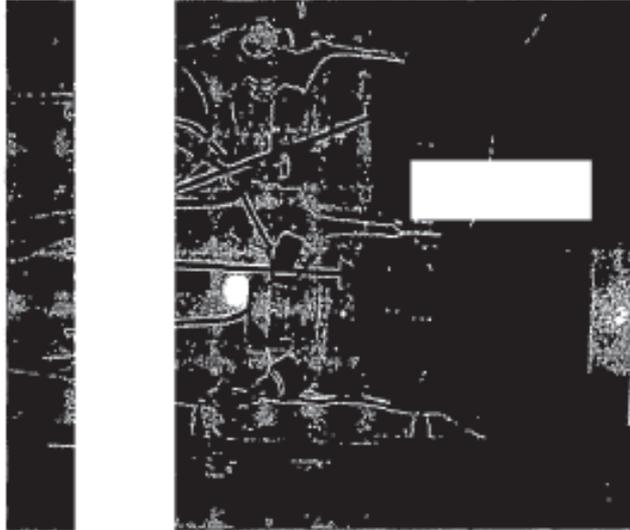


Figura 6a Tambor giratorio y tubos inclinados



Figura 6b

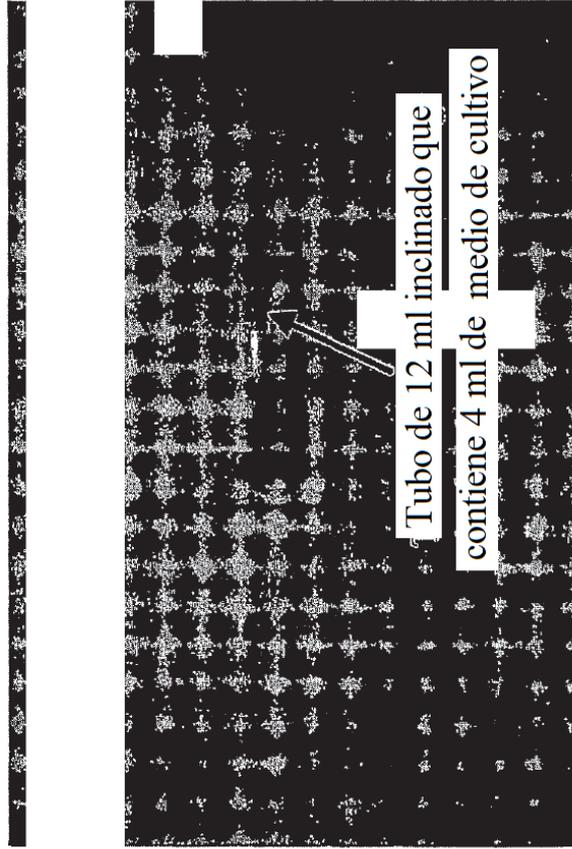


Figura 7



Figura 8a Un biorreactor autorrodante en forma de bola con movimiento de vaivén, para mezclar el medio de cultivo

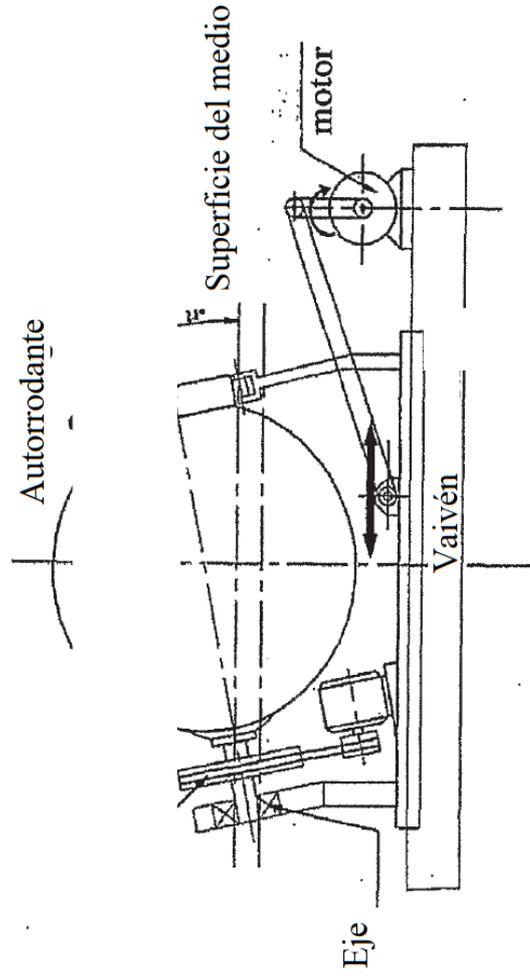
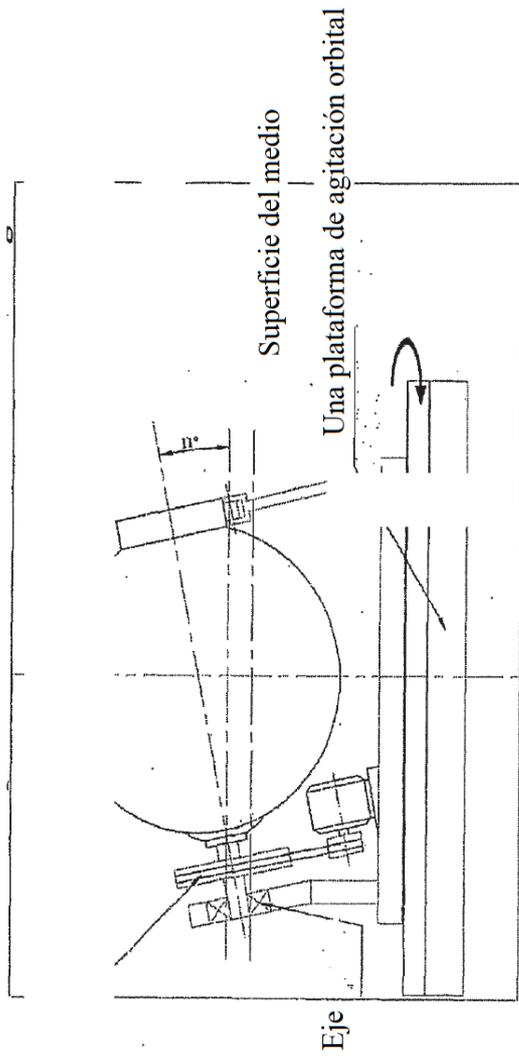


Figura 8b Un biorreactor autorrodante en forma de bola sobre una plataforma de agitación orbital para mezclar el medio de cultivo



recipiente con railes orbitales que sobresalen en el interior

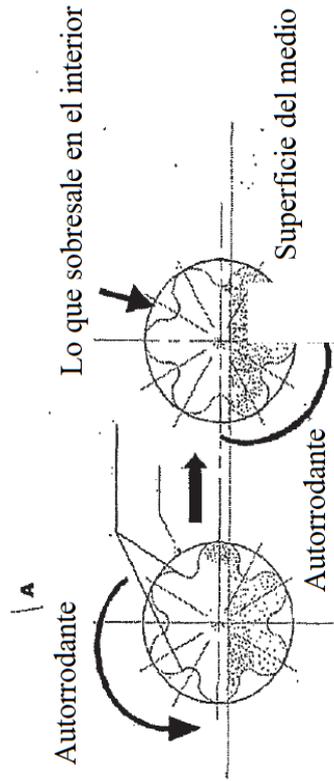
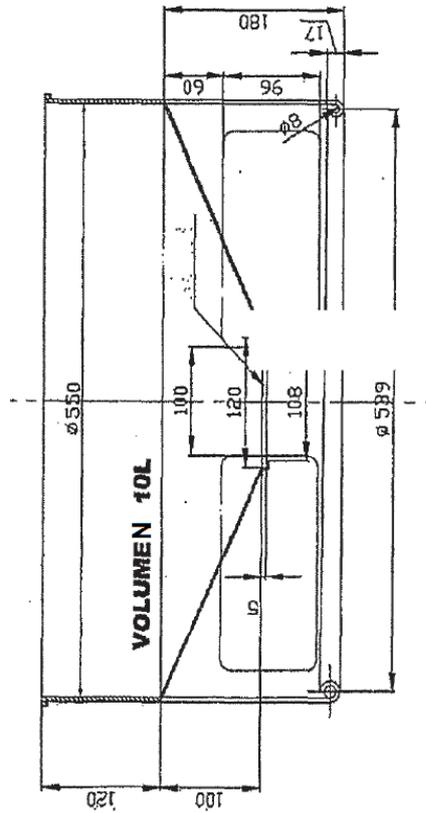


Figura 9a Base de recipiente de 10 litros con fondo troncocónico invertido para bolsa de cultivo de plástico



**Figura 9b Base de recipiente de 10 litros
con fondo troncoconico invertido**

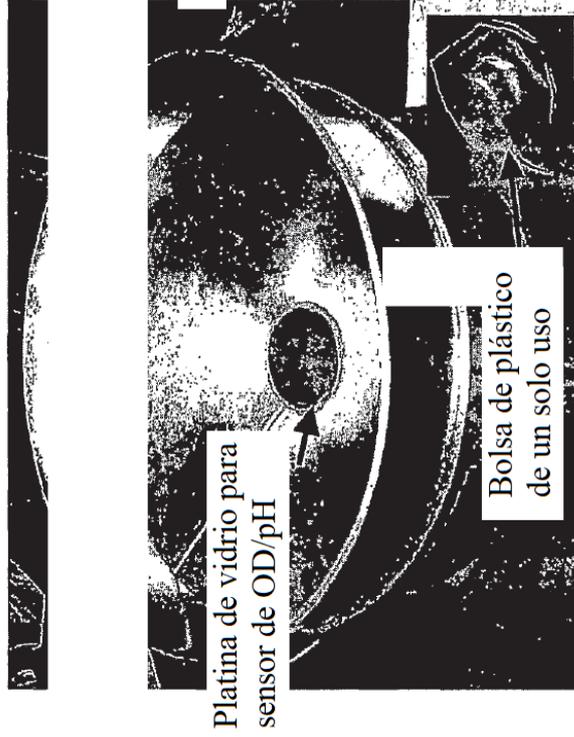
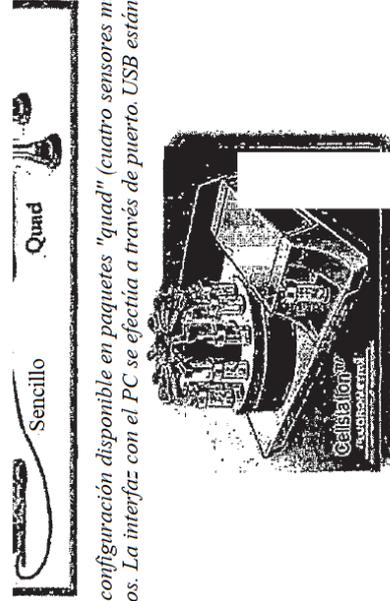


Figura 10a Sistema actual Fluometrix de minibiorreactor de alto rendimiento para cribado con criterios de robustez y optimización de proceso, de clones celulares



Paquete de configuración disponible en paquetes "quad" (cuatro sensores multiplexados) o sencillos. La interfaz con el PC se efectúa a través de puerto. USB estándar.

Familia de biorreactores de alto rendimiento

Figura 10b Pocillos múltiples con fondo tronco-cónico para agitación basada en sacudidas, para cribar, con criterios de robustez, líneas celulares

