

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 733 345**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/34** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2010 E 10305161 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019 EP 2233560**

54 Título: **Dispositivo de cultivo celular o tisular y conjunto asociado**

30 Prioridad:

**18.02.2009 FR 0951062**  
**03.04.2009 US 166303 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.11.2019**

73 Titular/es:

**L'ORÉAL (100.0%)**  
**14, rue Royale**  
**75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**AZADIGUIAN, GAYANÉ;**  
**CARLIER, FRÉDÉRIC;**  
**BLACK, ANNIE;**  
**BOYERA, NATHALIE y**  
**EMMERECHEITS, CARL**

74 Agente/Representante:

**SALVÀ FERRER, Joan**

**ES 2 733 345 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**

Dispositivo de cultivo celular o tisular y conjunto asociado

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a un dispositivo de cultivo celular o tisular.
- [0002]** Tal dispositivo está destinado en particular al cultivo in vitro de diferentes tipos de células y/o tejidos, con vistas a utilizar estos cultivos para diferentes pruebas o evaluaciones. Las muestras de cultivos celulares generalmente se extienden en dos dimensiones, mientras que las muestras de cultivos tisulares se extienden en tres  
10 dimensiones.
- [0003]** Tal dispositivo está destinado particularmente a producir muestras de tejido de células cutáneas, tales como muestras de piel reconstruida.
- 15 **[0004]** Se conoce a partir del documento WO 2006/131123 un dispositivo del tipo mencionado anteriormente, destinado a montarse en una bandeja que contiene un medio de cultivo líquido.
- [0005]** El dispositivo comprende un soporte montado en la bandeja, y una pluralidad de insertos extraíbles, cada uno con un sustrato permeable para el cultivo de células o tejidos. El cultivo celular se realiza disponiendo las  
20 células sobre la superficie del cultivo y alimentando estas células a través del sustrato gracias con el medio de cultivo presente en la bandeja inferior.
- [0006]** Para este propósito, los insertos se disponen sobre el soporte en una posición de cultivo. El soporte y los insertos se montan juntas en la bandeja para impregnar el sustrato permeable de cada inserto por el medio de  
25 cultivo y permitir de este modo que las células crezcan.
- [0007]** Cada inserto puede moverse individualmente con respecto al soporte, es posible cargar y/o descargar sucesivamente cada inserto independientemente, sin tener que retirar los demás insertos del soporte o el medio de  
30 cultivo.
- [0008]** Tal dispositivo no proporciona una satisfacción completa, especialmente para realizar operaciones de cultivo o de prueba complejas que a veces requieren devolver todos los insertos simultáneamente, para poner en contacto simultáneamente todas las muestras en la interfaz aire-líquido o en contacto con un reactivo, o realizar un  
35 tratamiento térmico simultáneo de todas las muestras.
- [0009]** Además, cuando deben agitarse las muestras de cultivo, el dispositivo descrito en el documento WO 2006/131123 no es muy fuerte y puede provocar el desprendimiento de los insertos con la pérdida de las muestras que contienen.
- 40 **[0010]** El documento EP 0 688 602 describe un sistema de microtitulación para su uso en el campo del diagnóstico. Este sistema no incluye una bandeja que contenga un medio de cultivo, ni un inserto que delimite un paso de alimentación de una superficie de cultivo con el medio de cultivo, siendo el paso distinto de una abertura superior del inserto.
- 45 **[0011]** El documento US 2001/0036426 describe un dispositivo de almacenamiento de muestras configurado para evitar la contaminación de una muestra contenida en una placa por medio de un tapón fijado a la muestra. Este dispositivo no incluye insertos móviles.
- [0012]** Un objeto de la invención es obtener un dispositivo de cultivo que permita cultivar individualmente  
50 diferentes muestras de células o tejidos y que, sin embargo, sea fácil de manipular, especialmente durante las diferentes operaciones requeridas para cultivos o pruebas complejas.
- [0013]** Para este propósito, el objeto de la invención es un dispositivo según la reivindicación 1.
- 55 **[0014]** El dispositivo según la invención puede comprender una o más de las características de las reivindicaciones 2 a 12.
- [0015]** Otro objeto de la invención es además un conjunto de cultivo celular o tisular, según la reivindicación  
60 13.
- [0016]** El conjunto según la invención puede comprender una o más de las características de las reivindicaciones 14 y 15.
- [0017]** La invención se comprenderá mejor con la lectura de la descripción que se ofrece a continuación, dada  
65 únicamente a modo de ejemplo y realizada en referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

- La figura 1 es una vista en perspectiva esquemática en despiece ordenado de un primer conjunto de cultivo según la invención, con un inserto que ocupa una posición de manipulación;
- 5 - la figura 2 es una vista lateral del inserto en el conjunto de la figura 1;
- la figura 3 es una vista desde arriba del primer dispositivo de cultivo según la invención, ocupando el inserto su posición de cultivo;
- 10 - la figura 4 es una vista en perspectiva de tres cuartos de la cara de un inserto de un segundo conjunto de cultivo según la invención;
- la figura 5 es una vista análoga a la figura 3 del segundo conjunto de cultivo según la invención;
- 15 - la figura 6 es una vista desde abajo del segundo conjunto de cultivo según la invención;
- la figura 7 es una vista en perspectiva de un inserto de un tercer conjunto de cultivo según la invención;
- la figura 8 es una vista lateral del inserto de la figura 7;
- 20 - la figura 9 es una vista desde arriba del soporte del inserto del tercer conjunto de cultivo según la invención;
- la figura 10 es una vista en sección a lo largo del plano vertical X-X de la figura 9.
- 25 **[0018]** Un primer conjunto de cultivo 10 según la invención se muestra en las figuras 1 a 3.
- [0019]** Este conjunto 10 está destinado a cultivar in vitro diferentes tipos de células y/o tejidos o a mantener diferentes tejidos ex vivo, para su uso en diferentes pruebas o evaluaciones.
- 30 **[0020]** El primer conjunto 10 comprende, de abajo hacia arriba en la figura 1, una bandeja 12 para recibir un medio de cultivo 14, un primer dispositivo de cultivo 16 según la invención, destinado a montarse en la bandeja 12, y una cubierta 18 para tapar la bandeja 12 y el dispositivo 16, a fin de garantizar la esterilidad del sistema. Los intercambios de gases entre el interior de la bandeja 12 cubierta con su tapa 18 se permiten a través de los días. Sin embargo, los días que se permiten estos intercambios son de tal tamaño que previenen la contaminación bacteriana.
- 35 **[0021]** La bandeja 12 define al menos una cavidad 20 para recibir el medio 14 y una superficie superior 22 para montar el dispositivo 16, que se extiende a lo largo del borde superior de la bandeja 12.
- 40 **[0022]** La cavidad 20 se abre hacia arriba a través de la superficie superior 22. En el ejemplo que se muestra en la figura 1, la bandeja 12 tiene una única cavidad 20 que contiene un medio de cultivo común 14.
- [0023]** En una variante, la bandeja 12 define una pluralidad de cavidades 20, designadas por el término "pocillos", separadas de manera sellada entre sí para contener diferentes medios.
- 45 **[0024]** El medio 14 es ventajosamente un líquido. Es capaz de impregnar las células o tejidos que se cultivarán para promover su crecimiento y mantenerlos vivos. El líquido es, por ejemplo, una solución acuosa de diferentes nutrientes tales como sales minerales, reactivos, vitaminas, etc. El medio 14 puede ser sólido. En este caso, se denomina "agar".
- 50 **[0025]** El dispositivo de cultivo 16 comprende un soporte de inserto 30 destinado a acoplarse por encima de la bandeja 12, al menos un inserto de cultivo 32 destinado a transportarse por el soporte de inserto 30 y, según la invención, medios de retención liberables 34 de cada inserto 32 en el soporte 30, que se describirán en más detalle a continuación.
- 55 **[0026]** El soporte 30 comprende un cuerpo sustancialmente plano 36 que delimita una pluralidad de aberturas de recepción de insertos 38.
- [0027]** En el ejemplo que se muestra en la figura 1, el cuerpo 36 define seis aberturas de recepción 38. Más generalmente, el número de aberturas de recepción 38 es ventajosamente igual al número de insertos 32 y está entre 1 y 96.
- 60 **[0028]** El cuerpo 36 se extiende entre una superficie superior 40 para retener los insertos 32 y una superficie de montaje inferior 42 en la bandeja 12.
- 65

## ES 2 733 345 T3

- [0029]** El cuerpo 36 tiene ventajosamente un espesor, tomado entre las superficies 40 y 42 inferior a sus otras dimensiones.
- [0030]** El cuerpo 36 tiene un contorno de forma sustancialmente complementaria al contorno exterior de la bandeja 12 a lo largo de su borde superior. En el ejemplo que se muestra en la figura 1, el contorno es rectangular.
- [0031]** La superficie superior 40 es sustancialmente horizontal cuando el cuerpo 36 está montado en la bandeja 12. La superficie superior 40 define, en la periferia de cada abertura de recepción 38, un primer escalón 44 para retener el inserto, y un segundo escalón 46 para retener el inserto situado frente al primer escalón 44.
- [0032]** Con referencia a la figura 3, cada escalón 44, 46 define una superficie inferior sustancialmente horizontal 48, ubicada ligeramente por debajo del nivel promedio de la superficie superior 40.
- [0033]** Cada abertura de recepción 38 se extiende a lo largo de un eje vertical A-A' para la inserción del inserto en la abertura 38, entre la superficie inferior 42 y la superficie superior 40. Cada abertura de recepción 38 es transversal, de manera que se abra hacia las superficies 40 y 42.
- [0034]** Cada abertura 38 tiene una sección horizontal sustancialmente constante en toda su altura a través del cuerpo 36.
- [0035]** Como se ilustra en la figura 3, cada abertura 38 comprende una región central 50 de sección externa sustancialmente similar a la sección exterior de un inserto 32 y una hendidura periférica 52 que extiende hacia fuera la región central 50 radialmente con respecto al eje A-A'.
- [0036]** En este ejemplo, la región central 50 tiene un contorno circular.
- [0037]** La hendidura periférica 52 se abre hacia la región central 50. Se extiende angularmente en torno al eje A-A' en un sector angular de extensión inferior a 30°.
- [0038]** La hendidura 52 define de este modo, cuando el inserto 32 se inserta en la región 50, un paso de acceso al medio de cultivo contenido en la cavidad 20. Una herramienta de muestreo, llenado o dosificación, tal como una pipeta, se puede introducir entonces en la hendidura 52 para alimentar con medio de cultivo o para tomar o añadir cualquier otra sustancia en el medio de cultivo, sin tener que mover el inserto 32.
- [0039]** En el ejemplo mostrado en las figuras 1 a 3, el soporte 30 se puede mover con respecto a la bandeja de base 12 entre una posición acoplada en la bandeja 12, en la que el soporte 14 sella sustancialmente la o cada cavidad 20, a excepción de las aberturas de paso 38, y una posición desmontada lejos de la bandeja 12 para la manipulación conjunta de los insertos 32 retenidos en el soporte 30, como se describirá en detalle a continuación.
- [0040]** Cuando el soporte 30 ocupa su posición montada en la bandeja 12, la superficie de retención superior 40 está orientada hacia arriba.
- [0041]** En el ejemplo que se muestra en las figuras 1 a 3, cada inserto 32 comprende un recipiente hueco 60, un sustrato de cultivo 62 unido al recipiente 60, una brida de soporte 64 en la superficie de retención 40, con forma de collar, y un brazo 66 para soportar y manipular el inserto 32.
- [0042]** El recipiente 60 comprende una pared inferior 68 sustancialmente horizontal en la figura 2, y una pared periférica lateral 70 que define un volumen interior de cultivo 72 que se desemboca a través de una abertura superior 73. La unión 73A entre la pared inferior 68 y la pared periférica lateral 70 se redondea ventajosamente en el volumen interior 72, para garantizar un flujo ideal de los diferentes líquidos que pueden depositarse en el volumen interior 72.
- [0043]** La pared inferior 68 se extiende sustancialmente en perpendicular al eje de inserción A-A' del inserto 32 en una abertura de recepción.
- [0044]** La pared inferior 68 delimita un paso central 74 para la alimentación con medio de cultivo que se abre en el volumen interior 72. En el ejemplo que se muestra en las figuras 1 a 3, el paso central 74 es del eje A-A' y de forma sustancialmente circular.
- [0045]** Tiene una superficie variable en función del sustrato de cultivo y, generalmente superior al 10 % de la superficie delimitada por la pared inferior.
- [0046]** La pared lateral 70 se proyecta hacia arriba desde la pared inferior 68 hasta un borde superior 75. Tiene una forma sustancialmente cilíndrica del eje A-A'. Delimita dos muescas laterales 76 de acceso al volumen interior 72 ubicadas a cada lado de un plano vertical medio que pasa a través del eje A-A'.

- [0047]** Las muescas 76 se abren hacia arriba alrededor de la abertura superior 73. La altura de las muescas 76, tomada paralelamente al eje A-A' entre el borde superior 75 y la pared inferior 68 es superior al grosor del cuerpo 36, tomado a lo largo del eje A-A' para asegurar un gran intercambio de gases entre los diferentes compartimentos del dispositivo.
- 5 **[0048]** Por lo tanto, las muescas 76 permiten un fácil acceso al volumen interno 72, particularmente para el muestreo, con la ayuda de una herramienta de agarre, tal como una pinza, de la muestra cultivada en el volumen 72.
- [0049]** En una variante no mostrada, la pared lateral lleva separadores que sobresalen externamente de la pared para evitar el contacto entre la pared 70 y el cuerpo 36 en la abertura de recepción 38 y limitar el aumento del medio de cultivo por capilaridad.
- 10 **[0050]** El sustrato de cultivo 62 está unido a la pared inferior 68 en la parte superior o inferior alrededor del paso 74. Este sustrato sella el paso 74. El sustrato 62 es permeable para permitir la entrada de medio de cultivo en el volumen interior 72 a través del paso 74. Define una superficie de cultivo superior 78 para recibir las células o tejidos a cultivar. Se fabrica, por ejemplo, a base de una esponja de colágeno, una película de colágeno, o a base de una matriz de policarbonato, o un tejido sintético como el nylon o una rejilla metálica.
- 15 **[0051]** En una variante (no mostrada), el sustrato 62 se forma directamente en la pared inferior 68 al ser integral con la pared inferior. Delimita una pluralidad de aberturas de paso 74 para la difusión de medios de cultivo en el volumen 72.
- 20 **[0052]** En otra variante, el sustrato 62 es impermeable y al menos un paso de alimentación 74 está formado lejos de la superficie de cultivo 78 en la pared inferior 68 o en una parte inferior de la pared lateral 70 situada en las proximidades de la pared inferior 68.
- 25 **[0053]** En el ejemplo que se muestra en las figuras 1 a 3, la brida de soporte 64 es integral con el recipiente 60. Se extiende radialmente lejos del eje A-A' en perpendicular a este eje A-A'. Tiene una sección horizontal, tomada en perpendicular al eje A-A', similar a la sección horizontal definida por el primer escalón 44.
- 30 **[0054]** La brida 64 define una primera superficie de soporte inferior 80 destinada a aplicarse sobre la superficie de retención 40 en la posición de cultivo.
- [0055]** El brazo 66 se extiende radialmente lejos del eje A-A' opuesto a la brida 64. Comprende una placa de soporte 82 sustancialmente horizontal y una lengüeta de retención 84 que sobresale hacia arriba desde la placa 82.
- 35 **[0056]** La placa 82 define una segunda superficie de soporte inferior 86 en la superficie de retención 40, de sección horizontal sustancialmente similar a la sección horizontal del segundo escalón 46.
- 40 **[0057]** El brazo 66 tiene una extensión angular, tomada en torno al eje A-A', inferior a la extensión angular de la brida 64.
- [0058]** La altura útil del inserto 32, definida entre la primera y segunda superficies de soporte 80, 86 y la pared inferior 68, es superior al grosor e1 del cuerpo 36.
- 45 **[0059]** Cada inserto 32 se puede mover con relación al soporte 30 entre una posición de cultivo, que se muestra en la figura 3, en la que está acoplada en una abertura de recepción 38, y una posición de manipulación, que se muestra en la figura 1, en la que el inserto 32 se dispone lejos del soporte 30 para desplazarse libremente con respecto al soporte 30.
- 50 **[0060]** En la posición de cultivo, el inserto 32 se ha insertado en una abertura de recepción 38, paralelamente al eje A-A'.
- [0061]** La primera superficie de soporte 80 se aplica contra la superficie del primer escalón 44 sobre la superficie de retención 40.
- 55 **[0062]** La segunda superficie de soporte 86 se aplica contra la superficie del segundo escalón 46 en la superficie de retención superior 40.
- 60 **[0063]** La pared inferior 68 se proyecta hacia abajo más allá de la superficie inferior 42 para poder empaparse en el medio de cultivo 14 cuando el soporte 30 está montado en la bandeja 12.
- [0064]** La lengüeta de retención 84 sobresale por encima de la superficie de retención superior 40 para que un usuario del dispositivo lo pueda agarrar fácilmente con los dedos o con la ayuda de una herramienta de retención, tal como una pinza.
- 65

- 5 **[0065]** Según la invención, y en la realización de las figuras 1 a 3, los medios de retención liberables 34 comprenden un elemento de retención formado por un saliente de retención 100 integral con el inserto 32, y un elemento de retención complementario 102 de enclavamiento del saliente de retención 100, integral con el cuerpo 36 en las proximidades de cada abertura 38.
- 10 **[0066]** En el ejemplo que se muestra en la figura 2, el saliente 100 es integral con el inserto 32. Está formado por un filo vertical 104 que se extiende radialmente con respecto al eje A-A' debajo de la placa 82 y fuera de la pared lateral 70, cerca del borde superior 75. El filo 104 tiene un espesor sustancialmente constante.
- [0067]** Un elemento de enclavamiento 102 se forma en el cuerpo 36 en la proximidad de cada abertura de recepción 38.
- 15 **[0068]** Cada elemento 102 define una ranura 106 para recibir el saliente, ligeramente más pequeña que el ancho del filo 104. La ranura 106 se extiende radialmente hacia afuera desde la abertura de recepción 38 con respecto al eje A-A'. Se abre hacia la pared inferior 48 del segundo escalón 46.
- 20 **[0069]** Por lo tanto, en la posición de cultivo, el saliente 100 se inserta a la fuerza en la ranura 106 definida por el elemento de enclavamiento 102. En esta posición, los medios de retención 34 cooperan para retener el inserto 32 en la abertura 38 durante un vuelco conjunto del soporte 30 y el inserto 32, en el que la superficie de apoyo 40 está orientada hacia abajo y en el que las superficies de soporte 80 y 86 están orientadas hacia arriba.
- 25 **[0070]** Por lo tanto, cuando los medios de retención liberables 34 cooperan, el soporte 30 y el inserto 32 pueden desplazarse juntos independientemente de la orientación de la superficie de retención 40.
- [0071]** Sin embargo, es posible liberar los medios de retención 34 del inserto 32 con respecto al soporte 30 aplicando sobre el inserto 32 una fuerza de tracción manual lejos del cuerpo 36 de manera reversible, sin un desprendimiento o deterioro irreversible del soporte 30 y el cuerpo 36.
- 30 **[0072]** Para ello, el saliente 100 se desplaza fuera de la ranura 106, lo que permite la extracción del inserto 32 fuera de la abertura de recepción 38 sustancialmente a lo largo del eje A-A'.
- 35 **[0073]** La cubierta 18 está adaptada para cubrir el dispositivo 16 y la bandeja 12 para definir, dentro del conjunto de cultivo 10, un espacio de cultivo que tiene una atmósfera controlada y estéril y que contiene los insertos 32.
- [0074]** En una posición de cultivo auxiliar, el inserto 32 se coloca justo en la superficie superior 40 del cuerpo sin acoplamiento de los medios de retención 34. El inserto 32 no se mantiene en la abertura de recepción 38 durante un vuelco conjunto del soporte 30 y del o cada inserto 32 que dirige la superficie de retención 40 hacia abajo.
- 40 **[0075]** Ahora se describirá el funcionamiento del primer conjunto 10 según la invención.
- [0076]** Inicialmente, cada inserto 32 se carga con células y/o tejido a cultivar.
- 45 **[0077]** Para este propósito, las células y/o el tejido se depositan sobre la superficie de cultivo 78. El medio de cultivo 14 también se introduce en la cavidad 20.
- 50 **[0078]** Cada inserto 32 se monta en su posición de cultivo en el soporte 30. Para este propósito, cada recipiente hueco 60 se introduce en una abertura de recepción 38 desde la superficie superior 40, hasta que la primera superficie de soporte 80 y la segunda superficie de soporte 86 se aplican a las superficies inferiores 48 definidas respectivamente en el primer escalón 44 y en el segundo escalón 46 de la superficie de retención superior 40.
- 55 **[0079]** Durante este desplazamiento, el saliente 100 formado por el filo 104 entra a la fuerza en la ranura 106 definida por el elemento de enclavamiento 102, que inmoviliza el inserto 32 con respecto al soporte 30 en la posición de cultivo.
- [0080]** Después, el dispositivo de cultivo 16 se monta en la bandeja 12. Durante el paso del dispositivo 16 de la posición desmontada a la posición de montaje, la pared inferior 68 de cada inserto 32 se sumerge en el medio de cultivo 14 para empapar las células y/o el tejido a través del paso de alimentación 74 y el sustrato permeable 62.
- 60 **[0081]** La tapa 18 se cierra para tapar el dispositivo 16.
- [0082]** En una variante, el soporte 30 se monta en la bandeja 12 antes de la disposición de los insertos 32 en las aberturas de recepción 38.
- 65 **[0083]** Cuando se debe realizar un muestreo y/o una prueba individualmente en un inserto dado 32, un

operador sujeta la lengüeta 84 y extrae el saliente 100 de la ranura 106. Después, aleja el inserto 32 de la abertura de recepción 38 para realizar el muestreo y/o prueba, mientras que posiblemente mantiene el soporte 30 montado en la bandeja 12.

- 5 **[0084]** Por el contrario, cuando varios insertos 32 de un grupo de insertos cargados en el soporte 30 deben manipularse juntos, el soporte 30 y los insertos 32 en sus posiciones de cultivo se desplazan juntos lejos de la bandeja 12. La presencia de los medios de retención liberables 34 permite eventualmente volcar el soporte 30 para colocar la superficie de retención superior 40 hacia abajo, mientras se mantienen los insertos 32 solidarios al soporte 30.
- 10 **[0085]** Además, cuando los insertos 32 se retienen en el soporte 30, todas las paredes inferiores 68 y los sustratos 62 se mantienen ventajosamente en el mismo plano. La disposición de los insertos 32 en el cuerpo 36 y la disposición del cuerpo 36 con respecto a la bandeja 12 permiten, ventajosamente, colocar las paredes inferiores 68 y los sustratos 62 en el mismo plano horizontal, en paralelo al plano en el que está dispuesta la bandeja.
- 15 **[0086]** Ventajosamente, es posible entonces disponer cada sustrato 62 en la misma posición llamada interfaz aire-líquido, o incluso realizar un tratamiento térmico simultáneo, por ejemplo, congelación por contacto.
- [0087]** Además, cuando las muestras contenidas en los insertos 32 deben agitarse, es posible agitar el soporte 30 de manera robusta, sin riesgo de desprendimiento de los insertos 32, ya que los medios de retención 34 mantienen a los insertos 32 en sus posiciones de cultivo.
- [0088]** Un segundo conjunto 130 según la invención se muestra parcialmente en las figuras 4 a 6.
- 25 **[0089]** A diferencia del primer conjunto 10, los insertos 32 del segundo conjunto, tal como se ilustra en la figura 1, comprenden tres brazos de soporte 66 distribuidos alrededor de la periferia de la pared lateral 70. Además, la pared lateral 70 está desprovista de muescas 76 y tiene una altura sustancialmente constante en torno al eje A-A'.
- [0090]** Cada lengüeta de retención 84 está formada por un gancho 132 que sobresale verticalmente a lo largo del borde exterior de la placa 82.
- 30 **[0091]** La superficie de retención superior 40 define tres escalones 134 distribuidos alrededor de la periferia de cada abertura de recepción 38. Cada escalón 134 tiene una extensión angular, tomada en torno al eje A-A', superior a la extensión angular en torno al eje A-A' de cada brazo 66.
- 35 **[0092]** Además, cada escalón 134 define dos bordes radiales 136 para bloquear en rotación el inserto 32, como se describirá a continuación.
- [0093]** En el segundo conjunto 130 según la invención, los medios de retención liberables 34 del inserto se diferencian de los medios de retención 34 del primer conjunto 10 en que los elementos de retención y los elementos de retención complementarios están formados respectivamente por los topes 140 solidarios al inserto y por los topes complementarios 142 solidarios al cuerpo 30, formando un mecanismo del tipo "bayoneta".
- 40 **[0094]** Como se ilustra en la figura 4, cada tope 140 se proyecta radialmente hacia fuera con respecto a la pared lateral 70 del inserto 32. Cada tope 140 define una superficie de tope superior sustancialmente horizontal 144.
- 45 **[0095]** Con referencia a la figura 6, cada tope complementario 142 se proyecta radialmente hacia el eje A-A' en la abertura de recepción 38 desde el cuerpo 36. Cada tope complementario 142 define una superficie inferior sustancialmente horizontal 146.
- 50 **[0096]** Cuando las superficies de soporte 86 están dispuestas en apoyo sobre la superficie de retención superior 40, el inserto 32 se monta de manera giratoria en torno al eje A-A' en la abertura de recepción 38 entre una posición de inserción del inserto 32 en la abertura de recepción 38 y la posición de cultivo.
- [0097]** En la posición de inserción, el tope 140 y el tope complementario 142 están situados angularmente entre sí en torno al eje A-A'.
- 55 **[0098]** Por lo tanto, en esta posición, el espacio sobre el tope 140 paralelamente al eje A-A' está despejado y el inserto 32 se puede extraer libremente de la abertura de recepción 38.
- 60 **[0099]** En la posición de cultivo bloqueada, el inserto 32 se ha girado en torno al eje A-A' para disponer la superficie de tope inferior 146 de manera axial y angular con respecto a la superficie de tope superior 144. El tope complementario 142 está situado justo debajo del tope 140 y cierra el espacio sobre este tope 140 paralelo al eje A-A'.
- 65 **[0100]** Los dos topes 142, 144 están entonces en contacto para evitar la extracción del inserto 32 por la abertura

de recepción 38.

**[0101]** En esta posición, cada placa de soporte 82 coopera con un borde de bloqueo 136 de un escalón para evitar el desplazamiento rotacional del inserto en torno al eje A-A' en una primera dirección más allá de la posición de cultivo bloqueada.

**[0102]** Cuando se utiliza el segundo conjunto 130, cada inserto 32 se introduce en una abertura de retención 38 desplazándose a lo largo del eje A-A' para su disposición en la posición de inserción. Durante este desplazamiento, cada tope 140 pasa sucesivamente por encima, lateralmente opuesto, y después por debajo de los topes complementarios 142.

**[0103]** Después, el inserto 32 gira sobre el eje A-A' deslizando cada brazo 66 en un escalón 134 en la primera dirección hasta que la placa 82 se apoya lateralmente contra un borde de bloqueo 136.

**[0104]** Durante este movimiento, cada tope 140 pasa angularmente con respecto a un tope complementario 142. La cooperación entre la superficie superior 144 del tope 140 y la superficie inferior 146 del tope complementario 142 bloquea el inserto 32 en su posición de cultivo.

**[0105]** En una variante mostrada en la figura 5, y aplicable a la realización de las figuras 1 a 3, la pared inferior 68 define una ranura radial de guiado de líquido 150 que desemboca en la superficie de cultivo 78. Por lo tanto, un operador puede introducir el extremo inferior de una herramienta de medición de líquido en el volumen 72 a través de la abertura superior 73 y depositar líquido en la ranura 150 para disponerlo en la superficie de cultivo 78, sin riesgo de dañar el cultivo presente en la superficie 78.

**[0106]** En una variante (no mostrada), los medios de retención liberables 34 comprenden medios para atornillar el inserto 32 en el cuerpo 36.

**[0107]** Estos medios de atornillado comprenden, por ejemplo, una rosca externa solidaria al inserto 32 y una rosca interna solidaria al cuerpo 36 que se dispone en la abertura 38.

**[0108]** En otra variante (no mostrada), los medios de retención liberables 34 están formados por medios de anclaje.

**[0109]** Ventajosamente, los conjuntos según la invención están hechos en formato SBS para permitir la manipulación por un robot.

**[0110]** Cabe apreciar que, en la posición de inserción definida anteriormente, es posible sumergir parcialmente cada inserto 32 en el medio de cultivo para realizar un cultivo celular. Por lo tanto, no es necesario que el inserto 32 esté en la posición de bloqueo para realizar un cultivo.

**[0111]** El uso de medios de retención liberables 34 que comprenden un mecanismo de bayoneta tiene la ventaja de evitar el desgaste mecánico a lo largo del tiempo de los brazos.

**[0112]** Además, las superficies inferiores 86 de los brazos 66 se aplican firmemente a las superficies de retención 40, lo que garantiza una perfecta planitud de la pared inferior 68 con respecto a la bandeja de cultivo 12.

**[0113]** Por lo tanto, la inmersión de la pared inferior 68 en el medio de cultivo 14 es idéntica en todos los puntos del fondo del inserto 32, lo que garantiza que el contenido de cada inserto 32 se coloque con precisión en la interfaz entre el aire y el medio de cultivo.

**[0114]** La presencia de los medios de retención 34 del tipo de bayoneta, y en particular la cooperación entre el tope complementario 142 solidario al soporte 30 y el tope 140 presente en el inserto 32, asegura la inmovilidad axial de cada inserto 32 a lo largo del eje de inserción A-A' con respecto al soporte 30 cuando el inserto ocupa la posición de cultivo bloqueada.

**[0115]** Esta inmovilización del inserto 32 con respecto al soporte 30 está garantizada independientemente de la dirección de desviación del inserto a lo largo del eje A-A'.

**[0116]** Por lo tanto, cada inserto 32 permanece estacionario cuando se aplica una fuerza de abajo hacia arriba en la pared inferior 68, por ejemplo, cuando los insertos 32 se colocan en el mismo plano para someterse a un choque térmico. Cuando se aplica dicha fuerza, cada tope 140 presente en el inserto 32 queda retenido por el tope complementario 142 presente en el soporte 30.

**[0117]** De manera similar, la cooperación entre la superficie inferior 86 de los brazos 66 y la superficie de retención 40 asegura que el inserto 32 permanezca estacionario cuando se aplica una fuerza de empuje dirigida desde

la parte superior a la inferior sobre el inserto 32.

**[0118]** Un tercer conjunto de cultivo 210 según la invención se muestra parcialmente en las figuras 7 a 10.

5 **[0119]** A diferencia del segundo conjunto 130, los brazos 66 de cada inserto 32 delimitan ventajosamente una cavidad de retención hueca 212 capaz de recibir una herramienta para manipular el inserto entre su posición de inserción y su posición bloqueada. Esta herramienta es, por ejemplo, una pinza con dos o tres mandíbulas.

**[0120]** Las cavidades 212 se abren hacia arriba y hacia abajo paralelamente al eje A-A'.

10 **[0121]** Al igual que el segundo conjunto 130, el tercer conjunto 210 tiene medios de retención 34 del tipo bayoneta.

**[0122]** En el tercer conjunto 310, cada superficie de tope superior de tope 144 de un tope 140 se abre hacia un  
15 brazo 66, en oposición a la superficie inferior 86.

**[0123]** La superficie inferior 86 delimitada por cada brazo delimita así con la superficie superior 144 del tope 140 opuesta, un paso 214 para la inserción del tope complementario 142.

20 **[0124]** El tope 140 está formado en este ejemplo por una nervadura axial que se proyecta desde la pared lateral 70.

**[0125]** El inserto 32 del tercer conjunto 210 comprende ventajosamente una muesca 76 en la pared lateral 70, formada entre cada par de brazos adyacentes 66.

25 **[0126]** La altura de las muescas 76 es menor que su anchura máxima. Esta altura es ventajosamente inferior al 50 % de la altura de la pared lateral 70. Esta elección dimensional garantiza los intercambios entre el interior del inserto 32 y el exterior, cualquiera que sea la posición del inserto 32 entre su posición de inserción y su posición de cultivo bloqueada.

30 **[0127]** En este ejemplo, las muescas 76 tienen cada una la forma general de T invertida.

**[0128]** Como en el segundo conjunto 130, el soporte 30 del tercer conjunto 210 comprende, alrededor de cada  
35 abertura 38, una pluralidad de escalones 134 que delimitan una superficie de retención superior 40 de un brazo 66.

**[0129]** Los topes complementarios 142 sobresalen radialmente en la abertura de recepción 38 hacia el eje A-A' de la abertura de recepción 38.

40 **[0130]** Cada tope complementario 142 tiene una superficie superior horizontal 216 que está al ras y se extiende radialmente hacia el eje A-A', la superficie de retención superior 40, y una superficie inferior 146 destinada a cooperar con el tope 140 que lleva el inserto 32.

45 **[0131]** En el ejemplo que se muestra en la figura 10, la superficie inferior 146 comprende una primera parte 218 inclinada con respecto a la horizontal, y una segunda parte 220 sustancialmente horizontal destinada a la retención del inserto 32 en su posición de cultivo bloqueada. La segunda parte 220 está desplazada angularmente en torno al eje A-A' con respecto a la primera parte 218.

**[0132]** Ahora se describirá el funcionamiento del tercer conjunto 210.

50 **[0133]** En cuanto al segundo conjunto 130, cada inserto 32 se introduce primero en una abertura de retención 38 desplazándose hacia abajo a lo largo del eje A-A' para colocarlo en la posición de inserción.

**[0134]** Para este propósito, los brazos 66 se introducen en cada escalón 134 lejos angularmente del tope  
55 complementario 142.

**[0135]** Durante este desplazamiento, el tope 140 pasa sucesivamente por encima, lateralmente lejos y después por debajo de los topes complementarios 142.

60 **[0136]** Cada tope complementario 142 se sitúa entonces opuesto al paso de inserción 214 delimitado entre la superficie inferior 86 de cada brazo 66 y la superficie superior 144 del tope 140.

**[0137]** Después, el inserto 32 gira en torno al eje A-A' deslizando cada brazo 66 en un escalón 134, hasta que el brazo 66 se apoya contra un borde de bloqueo 136.

65 **[0138]** Durante este paso, la superficie superior 144 del tope 140 entra sucesivamente en contacto con la

## ES 2 733 345 T3

primera parte inclinada 218 del tope complementario 142, y se introduce entonces entre la superficie inferior 86 y la superficie superior 144 en el paso de inserción 214, bajo la segunda parte 220.

**[0139]** El tope complementario 142 se encierra entonces entre las superficies 86, 144 para bloquear axialmente a lo largo del eje A-A' el inserto 32 con respecto al soporte en ambas direcciones a lo largo del eje A-A'.

**[0140]** Sin embargo, el enclavamiento del tope complementario se ajusta para tolerar el bloqueo y desbloqueo manual.

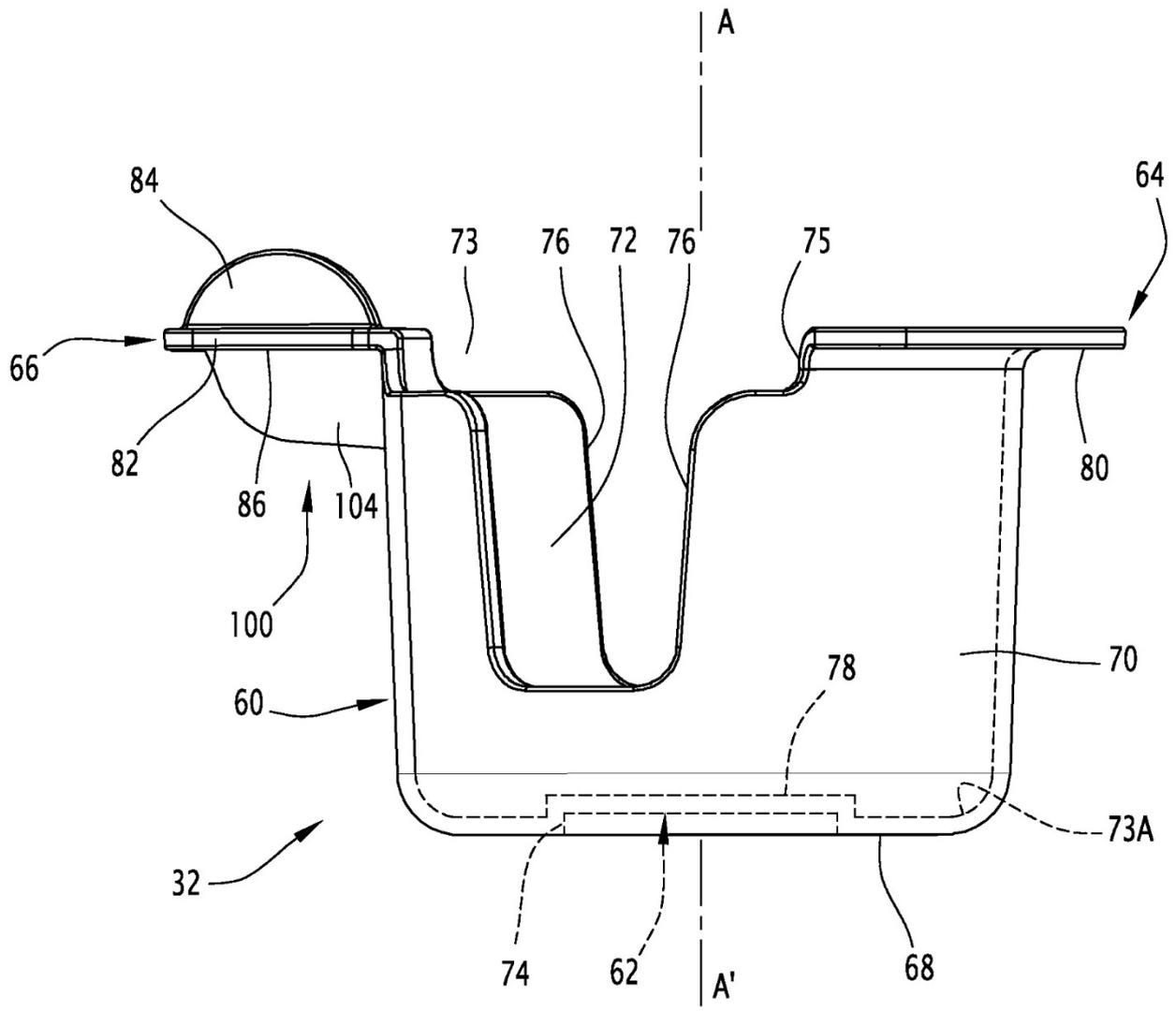
**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo de cultivo celular o tisular (16), del tipo que comprende:
  - 5 - un soporte (30) destinado a sellar al menos parcialmente una bandeja (12) que contiene un medio de cultivo (14), comprendiendo el soporte (30) un cuerpo (36) que delimita al menos una abertura trasversal de recepción de inserto (38) y al menos una superficie de retención de inserto (40) destinada a orientarse hacia arriba cuando el soporte (30) sella la bandeja (12);
  - 10 - al menos un inserto (32) montado móvil con relación al soporte (30) entre una posición de cultivo en la que el inserto (32) se acopla a través de la abertura de recepción (38) y una posición de manipulación, en la que el inserto (32) se dispone lejos del soporte (30), comprendiendo el inserto (32) una pared inferior (68) que lleva una superficie de cultivo (78) y una pared lateral (70) que delimita una abertura superior (73), delimitando el inserto (32) al menos un paso (74) para alimentar la superficie de cultivo (78) con medio de cultivo, distinto de la abertura superior (73); en el que el dispositivo (16) comprende medios de retención liberables (34) para el o cada inserto (32) en su posición de cultivo, estando los medios de retención liberables (34) adaptados para mantener el o cada inserto (32) en la abertura de recepción (38) durante un vuelco conjunto del soporte (30) y del o cada inserto (32) que dirige la superficie de retención (40) hacia abajo, y en el que los medios de retención (34) forman un mecanismo de tipo bayoneta.
  - 20
  2. Dispositivo (16) según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, en la posición de cultivo, al menos una superficie de soporte (80, 86) del inserto (32) se aplica contra la superficie de retención (40), estando los medios de retención liberables (34) adaptados para mantener la superficie de soporte (80, 86) del inserto (32) aplicada contra la superficie de retención (40) durante el vuelco conjunto del soporte (30) y el o cada inserto (32) que dirige la superficie de retención (34) hacia abajo.
  - 25
  3. Dispositivo (16) según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los medios de retención liberables (34) comprenden un elemento de retención (100; 140) solidario a un primer soporte de inserto (30) y el inserto (32) y un elemento de retención complementario (102; 142) solidario a un segundo soporte de inserto (30) y el inserto (32) para cooperar con el elemento de retención (100; 140) al menos durante el vuelco conjunto del soporte (30) y el o cada inserto (32).
  - 30
  4. Dispositivo (16) según la reivindicación 3, **caracterizado porque** el elemento de retención (100) comprende un saliente, delimitando el elemento de retención complementario (102) al menos una ranura (106) para encerrar el saliente, de tamaño adecuado para mantener el saliente en la ranura (106) mediante enclavamiento.
  - 35
  5. Dispositivo (16) según la reivindicación 3, **caracterizado porque** el elemento de retención comprende un tope (140), comprendiendo el elemento de retención complementario un tope complementario (142), pudiendo desplazarse el inserto (32) en la abertura de recepción (38) entre una posición insertada en la que el espacio sobre el tope (140) a lo largo de un eje de inserción (A-A') del inserto (32) en la abertura de recepción (38) se libera, y la posición de cultivo, en la que el tope complementario (142) se coloca en el espacio sobre el tope (140) a lo largo de un eje de inserción (A-A') del inserto (32) en la abertura de recepción (38).
  - 40
  6. Dispositivo (16) según la reivindicación 5, **caracterizado porque** el inserto (32) está montado de forma giratoria en torno al eje de inserción (A-A') entre la posición de inserción y la posición de cultivo, comprendiendo ventajosamente los medios de retención liberables (34) una superficie (136) para bloquear en rotación el inserto (32) en su posición de cultivo bloqueada.
  - 45
  7. Dispositivo (16) según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, **caracterizado porque** el inserto (32) comprende al menos un brazo (66) que sobresale transversalmente hacia el exterior con respecto a la pared lateral (70), llevando el brazo (66) uno del elemento de retención (100) y el elemento de retención complementario (102).
  - 50
  8. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque**, en la posición de cultivo, el inserto (32) está estacionado axialmente a lo largo del eje de inserción (A-A').
  - 55
  9. Dispositivo (16) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la pared lateral (70) define al menos una muesca (76) que se abre hacia arriba, extendiéndose la muesca (76) axialmente en una altura mayor que el grosor del cuerpo (34).
  - 60
  10. Dispositivo (16) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la pared inferior (68) define una ranura (150) para guiar un líquido que se extiende radialmente hacia la superficie de cultivo (72).
  - 65
  11. Dispositivo (16) según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el inserto (32) comprende un elemento de retención (84) que se proyecta lejos de y sobre el soporte (30) cuando el

inserto (32) ocupa su posición de cultivo.

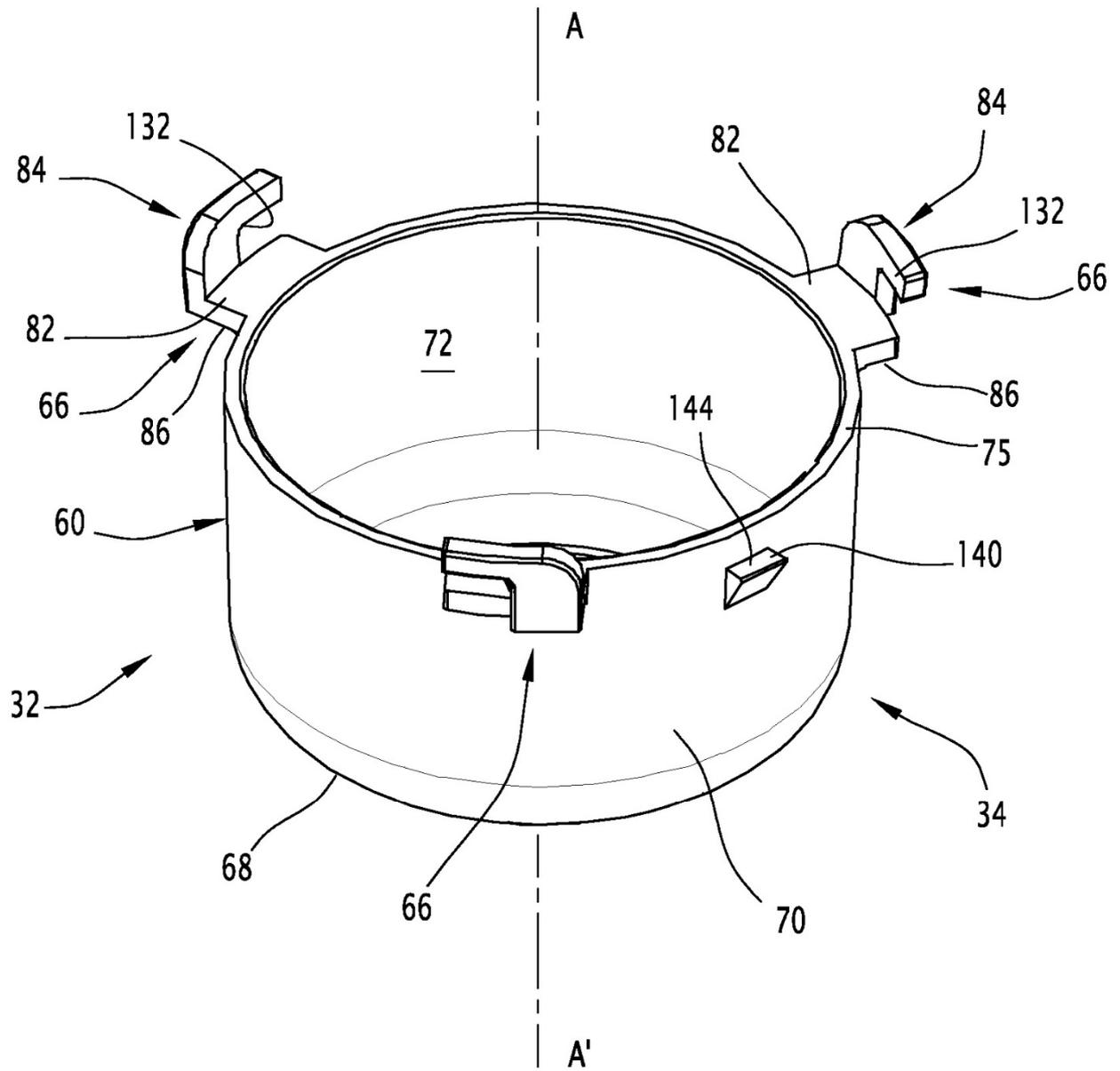
12. Dispositivo (16) según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la o cada abertura de recepción (38) comprende una región central (50) adaptada para recibir el inserto (32) en la posición de cultivo y una hendidura periférica (52) que se extiende radialmente lejos de región central (50) para permitir la inserción de una herramienta en la bandeja (12) a través del soporte (30) cuando se recibe el inserto (32) en la región central (50).
13. Conjunto de cultivo celular o tisular (10; 130), **caracterizado porque** comprende:
- una bandeja (12) que tiene al menos una cavidad (20) destinada a recibir un medio de cultivo (14);
  - un dispositivo (16) según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, estando el soporte (30) montado en la bandeja (12) para sellar parcialmente la cavidad (20).
14. Conjunto (10; 130) según la reivindicación 13, **caracterizado porque** el soporte (30) está montado en la bandeja (12) de manera que una superficie de cultivo de una pared inferior (68) de un inserto (32) se disponga horizontalmente.
15. Conjunto (10; 130) según una de las reivindicaciones 13 o 14, **caracterizado porque** comprende una cubierta (18) adaptada para tapar el soporte (30), siendo el soporte (30) y el o cada inserto (32) recibidos de forma estéril entre la bandeja (12) y la cubierta (18), en un mismo plano.





**FIG.2**





**FIG.4**

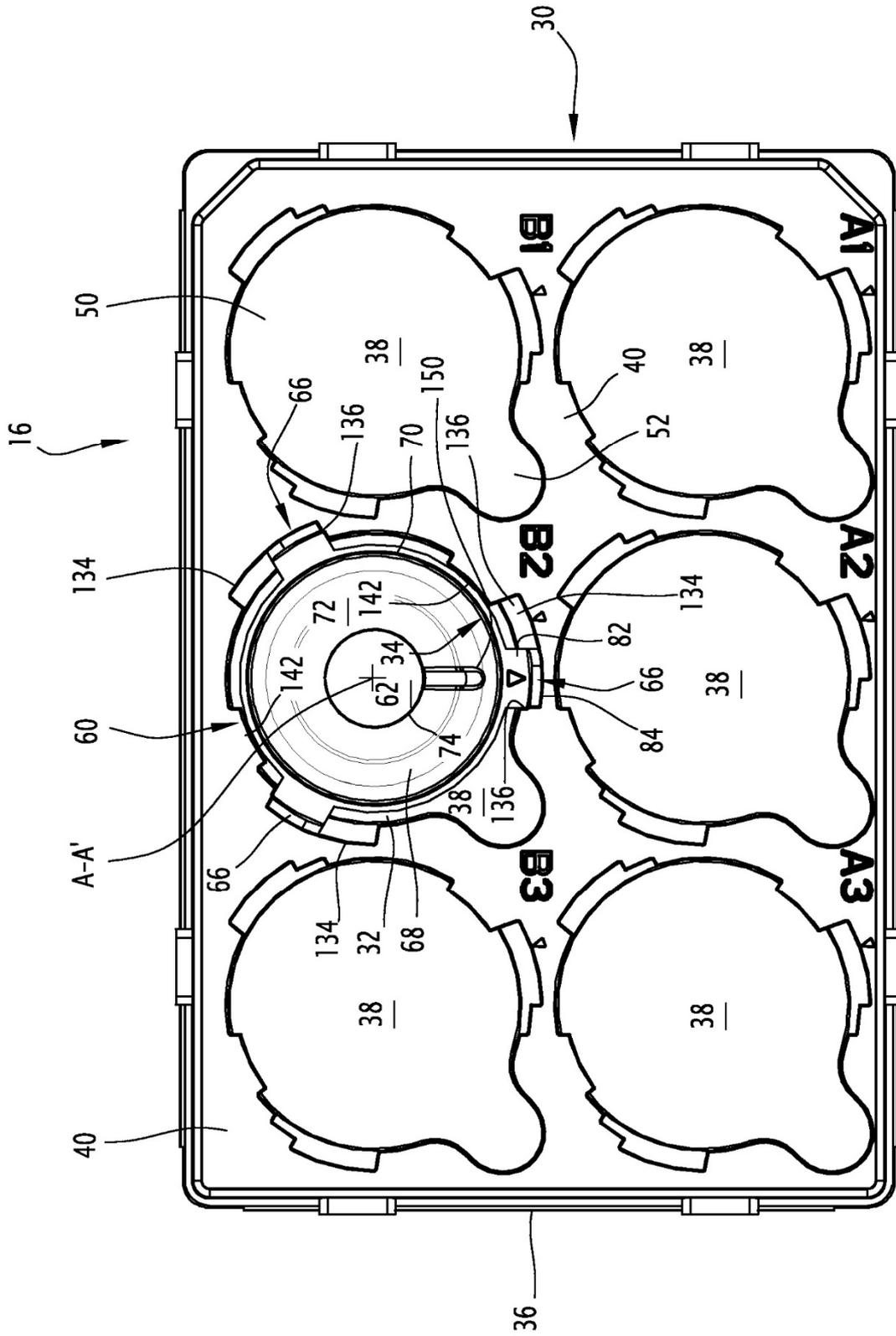
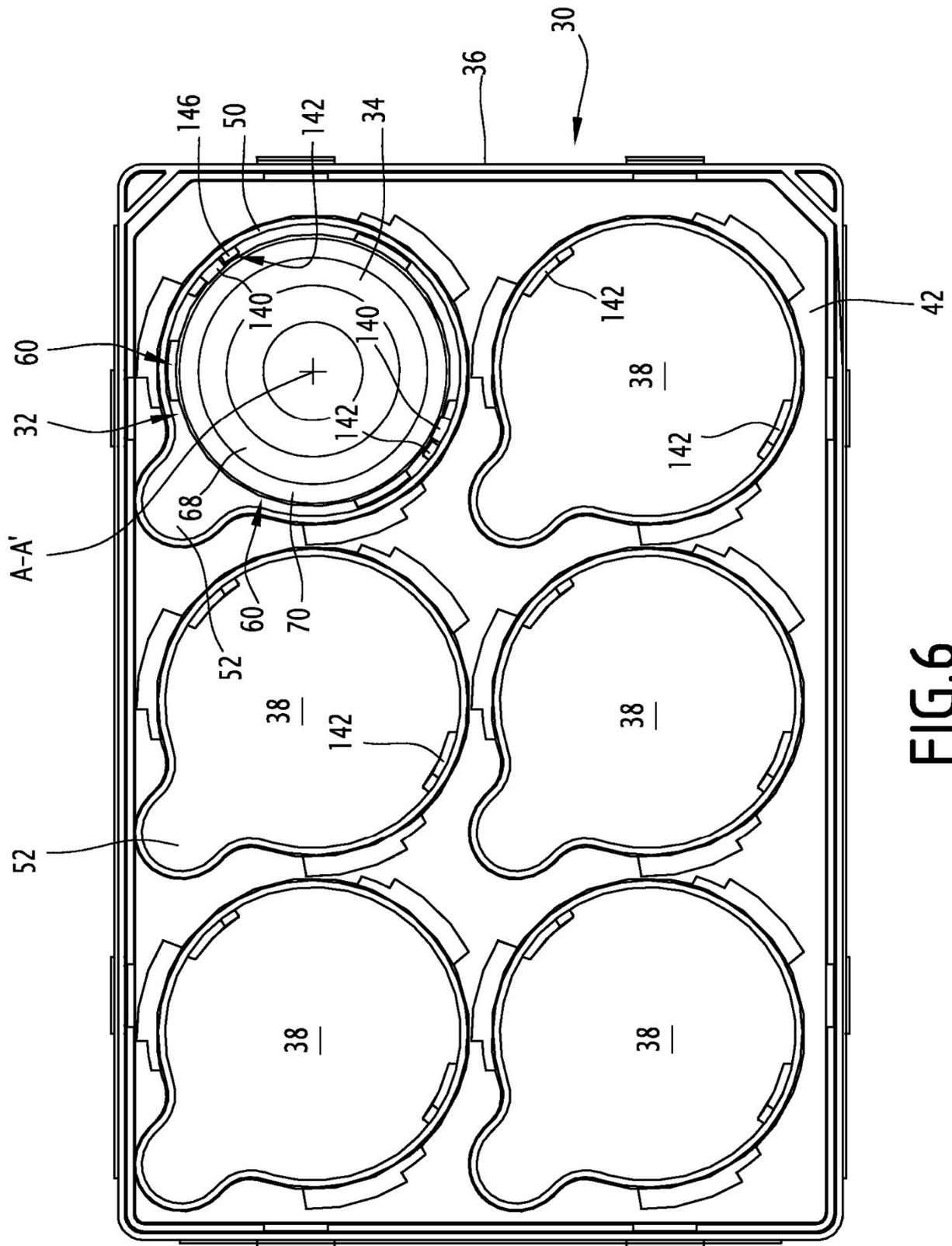
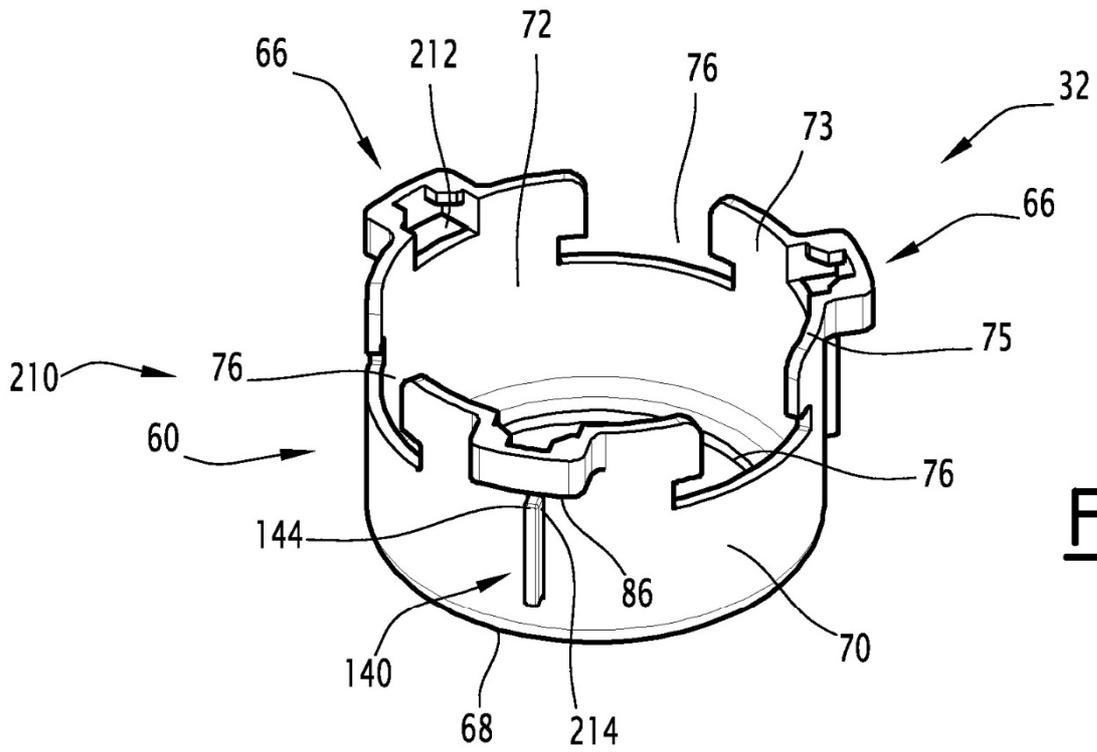


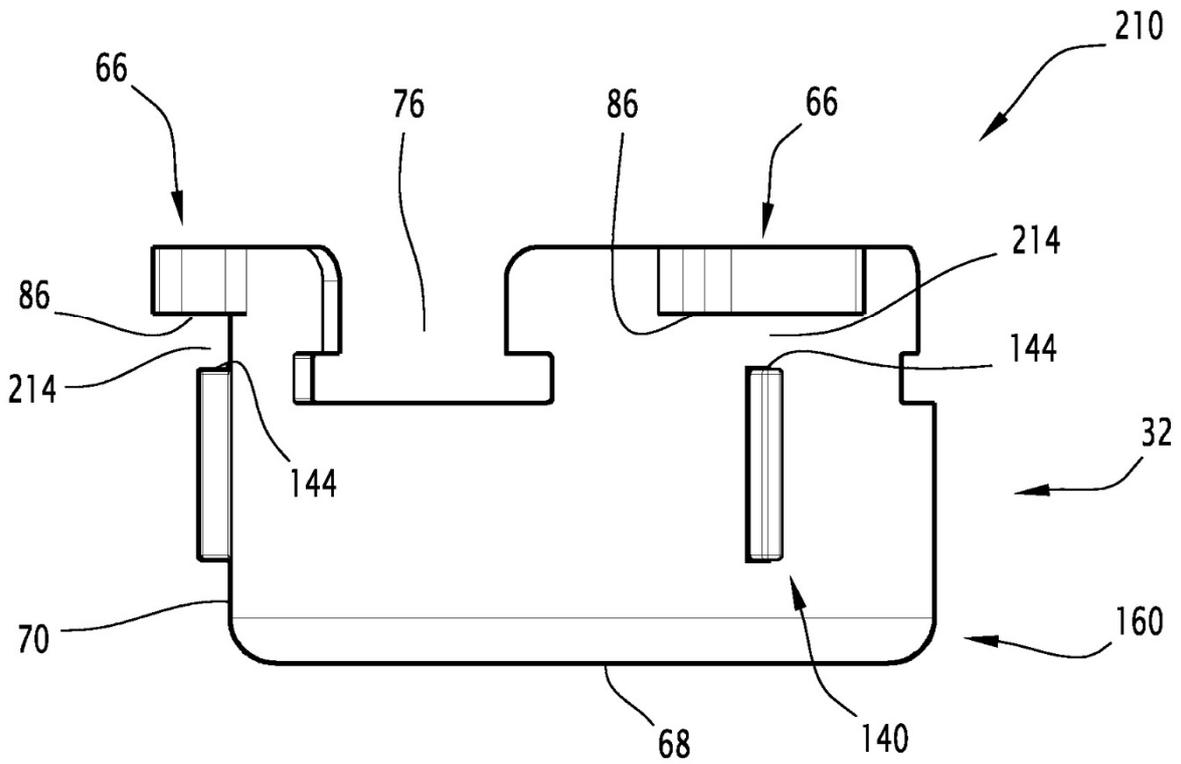
FIG. 5



**FIG. 6**



**FIG. 7**



**FIG. 8**

