(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 762 977**

(51) Int. Cl.:

C12M 1/12 (2006.01)
C12M 1/26 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.05.2016 PCT/EP2016/062016**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2016 WO16193150**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2016 E 16729801 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3303549**

(54) Título: **Procedimientos y dispositivos para separar células de microportadores**

(30) Prioridad:

29.05.2015 AU 2015901998

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.05.2020

(73) Titular/es:

MESOBLAST INTERNATIONAL SÀRL (100.0%)
Route de Pré-Bois 20
1217 Meyrin, CH

(72) Inventor/es:

DAVIDZON, NORMAND y
SIMMONS, PAUL

(74) Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 762 977 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

Procedimientos y dispositivos para separar células de microportadores

Campo técnico

Las realizaciones descritas se refieren a procedimientos y dispositivos para separar células de microportadores.

Antecedentes

La tecnología de microportadores se emplea para cultivar células en biorreactores. En particular, los microportadores actúan como matrices de soporte para permitir que las células dependientes de anclaje crezcan en cultivo.

Los procedimientos convencionales para separar las células de los microportadores pueden ser costosos y lentos, lo que implica permitir que las células y los microportadores suspendidos en el medio se asienten hacia una base del biorreactor, introduciendo una enzima en el biorreactor, agitando la mezcla para que las células se desprendan o liberen de los microportadores y posteriormente, pasando la mezcla a través de un filtro para separar las células de los microportadores. US2013081995 describe un sistema de filtro para separar microportadores de disoluciones de cultivo celular. En el sistema, hay células que crecen en microportadores dentro de un biorreactor (102), al final del proceso de cultivo se agrega una enzima a la disolución de cultivo para separar las células de los microportadores y la disolución que contiene los microportadores y las células separadas se pasa a un equipo de filtrado (106) que retiene los microportadores y deja pasar las células.

En consecuencia, se desea abordar o mejorar una o más deficiencias de tales procedimientos de la técnica anterior o al menos proporcionar una alternativa útil a los mismos.

Cualquier análisis de documentos, actos, materiales, dispositivos, artículos o similares que se haya incluido en la presente memoria descriptiva no deberá considerarse como una admisión de que cualquiera o todos estos asuntos forman parte de la base de la técnica anterior o eran conocimiento general común en el campo relevante para la presente divulgación tal como existía antes de la fecha de prioridad de cada reivindicación de esta solicitud.

A lo largo de esta memoria descriptiva, se entenderá que la palabra «comprender», o variaciones tales como «comprendiendo» o «que comprende», implica la inclusión de un elemento, número entero o etapa declarado, o grupo de elementos, números enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro elemento, número entero o etapa, o grupo de elementos, números enteros o etapas.

Resumen

Algunas realizaciones se refieren a un dispositivo para separar células de microportadores, el aparato que comprende una cámara que tiene un cuerpo y una base, la cámara configurada para recibir una mezcla que comprende células y microportadores; un elemento de filtración dispuesto dentro de la cámara y acoplado al cuerpo, el elemento de filtración configurado para filtrar microportadores de la mezcla; y un mecanismo de ajuste acoplado a la cámara, el mecanismo de ajuste configurado para la extensión selectiva y la retracción de al menos una parte del cuerpo de la cámara para mover el elemento de filtración con respecto a la base de la cámara.

En algunas realizaciones, la extensión selectiva de al menos una parte del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste puede hacer que al menos una parte del cuerpo se extienda alejándose de la base de la cámara y la retracción selectiva de la al menos una porción del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste puede hacer que al menos una porción del cuerpo se retraiga hacia la base de la cámara.

En algunas realizaciones, la extensión selectiva de al menos una parte del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste puede hacer que el elemento de filtración se aleje de la base de la cámara y la retracción selectiva de al menos una parte del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste puede hacer que el elemento de filtración se mueva hacia la base de la cámara.

Por ejemplo, la cámara puede configurarse para hacer la transición entre un estado extendido y un estado retraído en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste.

El elemento de filtración puede comprender un filtro configurado para permitir que las células pasen a través del filtro y bloquear el paso de los microportadores a través del filtro. El elemento de filtración puede comprender una base de filtro configurada para cooperar con la base de la cámara para permitir que la base del filtro se asiente al ras con la

base de la cámara cuando el aparato está en un estado retraído.

El cuerpo puede ser un cuerpo alargado y la base puede ser una base cónica. En algunas realizaciones, el cuerpo puede incluir fuelles para permitir la expansión y contracción del cuerpo. El cuerpo puede estar compuesto de un material flexible.

El mecanismo de ajuste puede comprender uno o más actuadores. Por ejemplo, el uno o más actuadores comprenden uno o más cilindros eléctricos. En algunas realizaciones, el uno o más actuadores están acoplados al cuerpo de la cámara. En algunas realizaciones, la cámara comprende una cubierta acoplada a un primer extremo del cuerpo y el uno o más actuadores están acoplados a la cubierta.

En algunas realizaciones, el aparato puede comprender además un mecanismo de agitación para incitar la agitación de una mezcla dentro de la cámara. Por ejemplo, el mecanismo de agitación puede comprender al menos una de una mesa de vibración, una leva de caída y aire.

El dispositivo se describe anteriormente y un sistema de agitación para agitar una mezcla dentro de la cámara. El sistema de agitación puede comprender uno o más impulsores.

Algunas realizaciones se refieren a un procedimiento para separar células de microportadores, el procedimiento comprende: introducir una mezcla que comprende células y microportadores al elemento de filtración del dispositivo descrito anteriormente cuando el dispositivo está en un estado extendido; retener microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración; accionar el mecanismo de ajuste para mover el elemento de filtración hacia la base de la cámara; introducir una sustancia para facilitar el desprendimiento de las células de los microportadores a la cámara; agitar la mezcla en la cámara para separar al menos algunas de las células de los microportadores; y retener los microportadores en el elemento de filtración y permitir que las células y la sustancia separadas pasen a través del elemento de filtración.

En algunas realizaciones, la mezcla puede comprender además medios y retener microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración pueden comprender además transportar medios desde la cámara.

En algunas realizaciones, la sustancia para facilitar la separación de las células de los microportadores a la cámara puede introducirse en la cámara a través de un puerto dispuesto en la base de la cámara. El procedimiento puede comprender además transportar aire a la cámara para ayudar a facilitar la mezcla de la sustancia, células y microportadores.

En algunas realizaciones, el procedimiento puede comprender además transportar la sustancia y las células separadas de la cámara a una segunda cámara de un segundo dispositivo. El procedimiento puede comprender además transportar aire de transporte a la cámara para ayudar a facilitar el transporte de la sustancia y las células separadas de la cámara. El procedimiento puede comprender además transportar tampón a la cámara para ayudar a facilitar el transporte de la sustancia y las células separadas de la cámara. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende introducir un inhibidor de la sustancia en la segunda cámara para inhibir la actividad de la sustancia.

En algunas realizaciones, el procedimiento puede comprender además accionar el mecanismo de ajuste para alejar el elemento de filtración de la base de la cámara; e introducir un inhibidor en la cámara para inhibir la actividad de la sustancia. El procedimiento puede comprender transportar tampón a la cámara para enjuagar el elemento de filtración y la cámara.

El procedimiento puede comprender transportar las células separadas a un recipiente de recogida.

Algunas realizaciones se refieren a un procedimiento para separar células de microportadores, el procedimiento comprende introducir una mezcla que comprende células y microportadores al elemento de filtración del dispositivo descrito anteriormente; retener microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración; introducir una sustancia para facilitar el desprendimiento de las células de los microportadores a la cámara; agitar la mezcla en la cámara para separar al menos algunas de las células de los microportadores; retener los microportadores en el elemento de filtración y permitir que las células y la sustancia desprendidas pasen a través del elemento de filtración; accionar el mecanismo de ajuste para alejar el elemento de filtración de la base de la cámara; e introducir un inhibidor en la cámara para inhibir la actividad de la sustancia.

Algunas realizaciones se refieren a un procedimiento para separar células de microportadores, el procedimiento comprende: introducir una mezcla que comprende células y microportadores al elemento de filtración del dispositivo descrito anteriormente; retener microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración; introducir una sustancia para facilitar el desprendimiento de las células de los microportadores a la cámara; agitar la

mezcla en la cámara para separar al menos algunas de las células de los microportadores; y retener los microportadores en el elemento de filtración y permitir que las células y la sustancia separadas pasen a través del elemento de filtración.

El procedimiento puede comprender accionar el mecanismo de ajuste para alejar el elemento de filtración de la base de la cámara e introducir un inhibidor en la cámara para inhibir la actividad de la sustancia.

En algunas realizaciones, la mezcla puede introducirse en el dispositivo cuando el dispositivo está en un estado extendido y el procedimiento puede comprender accionar el mecanismo de ajuste para mover el elemento de filtración hacia la base de la cámara antes de introducir la sustancia en la cámara.

En algunas realizaciones, la mezcla puede comprender medios y retener microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración pueden comprender además transportar medios desde la cámara.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1A es una vista frontal de un dispositivo para separar células de microportadores, según algunas realizaciones;

La figura 1B es una vista frontal del dispositivo de la figura 1A en un estado extendido, según algunas realizaciones;

La figura 2A es una vista frontal de un dispositivo para separar células de microportadores, según algunas realizaciones;

La figura 2B es una vista frontal del dispositivo de la figura 2A en un estado extendido, según algunas realizaciones;

La figura 3 es una vista esquemática de un equipo para separar células de microportadores que incluye el aparato de las figuras 1A y 1B, según algunas realizaciones;

Las figuras 4A y 4B son un diagrama de flujo de proceso de un procedimiento para separar células de microportadores, según algunas realizaciones;

Las figuras 5A a 5F son vistas esquemáticas del dispositivo de las figuras 1A y 1B asociado con el procedimiento de separación de células de los microportadores de las figuras 4A y 4B;

Las figuras 5G y 5H son vistas esquemáticas de un segundo dispositivo asociado con el procedimiento de separación de células de los microportadores de las figuras 4A y 4B;

Las figuras 6A y 6B son un diagrama de flujo de proceso de un procedimiento para separar células de microportadores, según algunas realizaciones; y

Las figuras 7A y 7B son vistas esquemáticas de una cámara del dispositivo de las figuras 1A y 1B asociadas con el procedimiento de las figuras 6A y 6B.

Descripción de las realizaciones

Las realizaciones descritas se refieren a procedimientos y dispositivos para separar células de microportadores. En algunas realizaciones, el dispositivo comprende una cámara para recibir una mezcla, tal como medios, células y microportadores, y un elemento de filtración para filtrar los microportadores de la mezcla. La cámara puede comprender una base y un cuerpo ajustable capaz de extenderse y retraerse. El elemento de filtración puede estar unido o acoplado directa o indirectamente al cuerpo. Se puede proporcionar un mecanismo de ajuste que, cuando se acciona, se configura para cooperar con la cámara para provocar la extensión y retracción seleccionables de al menos una parte del cuerpo de la cámara y el movimiento del elemento de filtración alejándose y hacia la base de la cámara, respectivamente. De esta manera, la cámara puede ajustarse selectivamente permitiendo que la cámara se emplee para diversos procesos como se describe a continuación. En algunas realizaciones, el dispositivo puede emplearse para realizar procedimientos de separación de células de microportadores. En algunas realizaciones, el dispositivo puede emplearse como un biorreactor. En algunas realizaciones, el dispositivo puede emplearse como un biorreactor y puede emplearse para realizar procedimientos de separación de células de microportadores y/u otros procesos de biorreactor que incluyen perfusión y lavado.

Con referencia a las figuras 1A y 1B, se ilustra un dispositivo 100 para separar células de microportadores, según algunas realizaciones. El dispositivo 100 comprende una cámara 102 para recibir y contener mezclas y un mecanismo

de ajuste 104 para permitir el ajuste selectivo de la cámara 102. En algunas realizaciones, el dispositivo 100 puede comprender una carcasa 106 para alojar la cámara 102. La carcasa 106 puede ser un recipiente o recipiente configurado para alojar cooperativamente la cámara 102.

La cámara 102 puede comprender un cuerpo 108 y una base 110. El cuerpo 108 puede ser sustancialmente alargado y la base 110 puede estrecharse desde el cuerpo 108. Por ejemplo, el cuerpo 108 puede ser un cuerpo sustancialmente cilíndrico y la base 110 puede ser una base sustancialmente cónica. En algunas realizaciones, la cámara 102 puede comprender una cubierta o tapa 112 acoplada o unida a un primer extremo 114 del cuerpo 108 de la cámara 102. En algunas realizaciones, la cubierta 112 puede comprender un disco.

El cuerpo 108 puede ser extensible y retráctil o contraíble a lo largo de su longitud. Por ejemplo, el cuerpo 108 puede estar compuesto de un material plegable, elástico o flexible, como un material flexible, para permitir que el cuerpo 108 se extienda y retraiga o comprima. En algunas realizaciones, el cuerpo 108 puede estar provisto de fuelles o corrugaciones (no mostradas) para permitir la expansión y contracción del cuerpo 108. En algunas realizaciones, el mecanismo de ajuste 104 está acoplado o unido a la cámara 102 y el cuerpo 108 puede extenderse o retraerse con respecto a la base 110 en respuesta al accionamiento del mecanismo de ajuste 104 como se analiza con más detalle a continuación.

La cámara 102 puede comprender una entrada/salida o puerto 116 para permitir la comunicación fluida entre la cámara 102 y un conducto (no mostrado) para conectarse a la misma. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la entrada/salida o puerto 116 puede proporcionarse hacia o en el primer extremo 114 de la cámara 102 y puede extenderse a través de la cubierta 112. La entrada/salida o puerto 116 puede proporcionarse para permitir que la biomasa sea transportada a la cámara 102. En algunas realizaciones, también puede proporcionarse una entrada 118 para permitir que fluidos, tales como aire y/o tampón, sean transportados a la cámara 102. Por ejemplo, la entrada 118 puede estar dispuesta hacia o en el primer extremo 112 del cuerpo 108 de la cámara 102 y puede extenderse a través de la cubierta 112.

La cámara 102 puede comprender una entrada/salida o puerto 120 para permitir la comunicación fluida entre la cámara 102 y un conducto (no mostrado) para conectarse a la misma. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la entrada/salida o puerto 120 puede proporcionarse en la base 110 de la cámara 102 y la base 110 puede estrecharse desde un segundo extremo 122 del cuerpo 108 hacia el puerto 120. En algunas realizaciones, el alojamiento 106 también puede comprender una entrada/salida o puerto 124 dispuesto para cooperar con el puerto 110 para permitir la comunicación fluida entre la cámara 102 y el conducto (no mostrado) para conectarse a la misma.

Como se representa en las figuras 1A y 1B, el dispositivo 100 puede comprender un elemento de filtración 126, tal como una bolsa de filtración, dispuesta dentro de la cámara 102 y en comunicación fluida con el puerto 116 y la entrada 118, si está presente. El elemento de filtración 126 puede comprender paredes laterales 128 y una base de filtro 130, tal como una base afilada o cónica que se extiende desde las paredes laterales 128. La base de filtro 130 puede comprender o estar compuesta por un filtro de malla. Por ejemplo, el filtro de malla puede configurarse o dimensionarse para permitir que las células pasen a través del filtro de malla y para filtrar o bloquear que los microportadores pasen a través del filtro de malla.

El elemento de filtración 126 puede estar directamente acoplado o unido al cuerpo 108 de la cámara, por ejemplo, en el primer extremo 114 del cuerpo 108, y/o a la cubierta 112 de la cámara 102.

Como se muestra en las figuras 1A y 1B, en algunas realizaciones, el mecanismo de ajuste 104 puede comprender uno o más actuadores 132. Por ejemplo, el uno o más actuadores 132 pueden comprender cilindros eléctricos o actuadores mecánicos, tales como levas.

El uno o más accionadores 132 pueden estar acoplados directa o indirectamente al cuerpo 108 de la cámara 102. En algunas realizaciones, el uno o más actuadores 132 pueden estar acoplados al primer extremo 114 del cuerpo y/o la cubierta 112 de la cámara 102 y el cuerpo 108 puede estar configurado para moverse con respecto a la base 110 de la cámara 102, por ejemplo, para alejarse de o acercarse a la base 110 de la cámara 102, en respuesta al accionamiento selectivo de uno o más accionadores 132.

En algunas realizaciones, el mecanismo de ajuste 104 puede estar acoplado o unido de manera fija al cuerpo 108 de la cámara 102 en una región situada entre el primer extremo 114 y el segundo extremo 122 del cuerpo 108, por ejemplo, por una o más pestañas 133. Por lo tanto, el cuerpo 108 puede comprender una sección 134 relativamente fija en proximidad al segundo extremo 122 del cuerpo 108 y una sección 136 relativamente ajustable en proximidad al primer extremo 114 del cuerpo 108. Por ejemplo, la sección ajustable relativa 136 puede configurarse para extenderse y retraerse en respuesta al accionamiento de uno o más accionadores 132.

La actuación de uno o más actuadores 132 para hacer que el primer extremo 114 del cuerpo 108 de la cámara 102

se mueva hacia la base 110 puede provocar que al menos una porción del cuerpo 108 de la cámara 102, por ejemplo, la sección relativamente ajustable 136, se retraiga o contraiga y hacer que el elemento de filtración 126 se mueva hacia la base 110 de la cámara 102, como se ilustra en la figura 1A. De manera similar, la actuación de los actuadores 132 para hacer que el primer extremo 114 del cuerpo 108 de la cámara 102 se aleje de la base 110 puede provocar que al menos una parte del cuerpo 108 de la cámara 102, por ejemplo, la sección relativamente ajustable 136, se extienda y hacer que el elemento de filtración 126 se aleje de la sección relativamente fija 134 y/o la base 110 de la cámara 102, como se ilustra en la figura 1B.

Por lo tanto, en respuesta al accionamiento de uno o más actuadores 132, la cámara 102 puede asumir un estado al menos parcial o totalmente retraído o contraído, como se muestra en la figura 1A, y un estado al menos parcial o totalmente extendido o expandido, como se muestra en la figura 1B. El mecanismo de ajuste 104 permite a la cámara 102 hacer la transición entre un estado totalmente retraído, un estado parcialmente retraído, un estado parcialmente extendido y un estado completamente extendido y, por lo tanto, mover el elemento de filtración 126 hacia y alejarlo de la base 110 de la cámara 102.

Una longitud total del elemento de filtración 126 puede ser menor que una longitud total de la cámara 102. En algunas realizaciones, la longitud de las paredes laterales 128 del elemento de filtración 126 es menor que la longitud del cuerpo 108 de la cámara 102. En algunas realizaciones, la base de filtro 130 está configurada para cooperar con la base 110 para permitir que la base de filtro 130 se asiente o sustancialmente al ras con la base de la cámara 102 cuando el dispositivo 100 esté en el estado retraído o comprimido.

En algunas realizaciones, el aparato 100 comprende un mecanismo de agitación 338 (figura 3) para incitar la agitación o la mezcla de una mezcla dentro de la cámara 104. Por ejemplo, el mecanismo de agitación 338 puede comprender una mesa de vibración, una leva de caída y/o aire.

Con referencia a las figuras 2A y 2B, se ilustra un dispositivo 200 para separar células de microportadores, según algunas realizaciones. El dispositivo 200 comprende componentes y elementos similares a los del dispositivo 100 representado en las figuras 1A y 1B y, en consecuencia, esos componentes y elementos similares se designan como números.

En algunas realizaciones, el dispositivo 200 puede ser un biorreactor. Por ejemplo, el dispositivo 200 puede emplearse como un biorreactor y puede comprender un sistema de agitación 202 que incluye un impulsor 204. En algunas realizaciones, el sistema de agitación 202 puede configurarse para agitar una mezcla 206 retenida dentro del elemento de filtración 126 de la cámara 102. Por ejemplo, el impulsor 204 puede estar dispuesto dentro del elemento de filtración 126 de la cámara 102. En algunas realizaciones, el impulsor 204 puede estar acoplado al primer extremo 114 del cuerpo 108 y/o a la cubierta 112 de la cámara 212 y puede estar configurado para moverse con el elemento de filtración 126 con respecto a la base 110 de la cámara 102 en respuesta a la actuación del mecanismo de ajuste 104. El dispositivo 200 puede incluir o no el mecanismo de agitación 338 del dispositivo 100.

En algunas realizaciones, el dispositivo 200 puede comprender una estructura de soporte 208 para alojar la cámara 102. Por ejemplo, la estructura de soporte 208 puede comprender un asiento 210, tal como un asiento de forma cónica, para recibir la base 110 de la cámara 102 y las paredes 212 para recibir al menos una parte del cuerpo 108 de la cámara 102. Se puede disponer una abertura 214 en el asiento 210 para alojar el puerto 120 de la cámara 102 y el puerto 124 de la carcasa 106. En algunas realizaciones, la estructura de soporte 208 también puede comprender patas 216 para permitir la elevación del asiento 210 y, en consecuencia, la cámara 102.

En algunas realizaciones, la base 110 de la cámara 104 puede configurarse para adherirse al asiento 210 de la estructura de soporte 208. En algunas realizaciones, se proporciona un adhesivo (no mostrado) sobre una superficie externa de la base 110 y/o una superficie interna del asiento 210. En algunas realizaciones, un puerto de vacío (no mostrado) está dispuesto en la estructura de soporte 208 y puede configurarse para conectarse a una bomba de vacío para proporcionar así succión para atraer y adherir la base 110 al asiento 210.

En algunas realizaciones, la carcasa 106 puede comprender una base ajustable (no mostrada) capaz de hacer una transición selectiva entre una base con forma afilada o cónica y una base de plataforma que puede ser sustancialmente plana. La base 110 de la cámara 102 puede configurarse para cooperar con la base ajustable de modo que la base 110 se comprima para ajustarse al alojamiento cuando asume o ha pasado a la base de la plataforma.

Con referencia a la figura 3, se ilustra una visión general esquemática de un equipo 300 para separar células de microportadores según algunas realizaciones. El equipo 300 comprende el dispositivo 100 en comunicación fluida con un biorreactor 302 a través de un conducto de fluido de biorreactor 304 dispuesto entre el biorreactor 302 y el puerto 116 de la cámara 102. Por ejemplo, se puede proporcionar una bomba de biorreactor 306 en el conducto de fluido 304 para transportar biomasa desde el biorreactor 302 a la cámara 102 del dispositivo 100. En algunas realizaciones,

la cámara 102 está configurada para mantener el contenido proporcionado en la misma a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En algunas realizaciones, la cámara 102 puede estar alojada en una carcasa (no mostrada) para facilitar el mantenimiento del contenido de la cámara 102 a una temperatura deseada y/o conexión a otros conductos de fluido.

El equipo 300 puede comprender además un depósito de tampón 310 en comunicación fluida con la cámara 102 del dispositivo 100 a través de un conducto de fluido de tampón 312 dispuesto entre el depósito de tampón 310 y el puerto 116 de la cámara 102. Por ejemplo, se puede proporcionar una bomba de tampón 316 en el conducto de fluido de tampón 312 para transportar el tampón desde el depósito de tampón 310 a la cámara 102 del dispositivo 100. En algunas realizaciones, el depósito de tampón 310 está configurado para almacenar el tampón a una temperatura establecida, por ejemplo, aproximadamente 37 °C.

El equipo 300 puede comprender además un depósito de aire 318 en comunicación fluida con la cámara 102 del dispositivo 100 a través de un conducto de aire 320 dispuesto entre el depósito de aire 318 y la entrada 118 de la cámara 102.

El equipo 300 puede comprender además un depósito de sustancia 324 en comunicación fluida con el puerto 120 de la cámara 102 del dispositivo 100 a través de un conducto de fluido de sustancia 326 y el conducto 332. Se puede proporcionar una bomba de sustancia 328 en el conducto de fluido de sustancia 326 para transportar la sustancia desde el depósito de sustancia 324 a la cámara 102 del dispositivo 100. En algunas realizaciones, el depósito de sustancia 324 está configurado para almacenar sustancia a una temperatura establecida, por ejemplo, aproximadamente 37 °C. Por ejemplo, la sustancia puede ser una sustancia de separación. En algunas realizaciones, la sustancia de desprendimiento puede comprender una enzima, como la tripsina. En algunas realizaciones, la sustancia de desprendimiento puede comprender una sustancia no enzimática, tal como un quelante de cationes.

El equipo 300 puede comprender además un depósito de inhibidor 330. El depósito de inhibidor 330 puede estar en comunicación fluida con la cámara 102 del dispositivo 100 a través del conducto de fluido 332 dispuesto entre el depósito de inhibidor 330 y el puerto 120 de la cámara 104. Por ejemplo, se puede proporcionar una bomba de inhibidor 334 en el conducto de fluido 332 para transportar el inhibidor desde el depósito de inhibidor 330 a la cámara 102. En algunas realizaciones, el depósito de inhibidor 330 está configurado para almacenar un inhibidor a una temperatura establecida, por ejemplo, aproximadamente 4 °C.

En algunas realizaciones, el equipo 300 puede comprender además un segundo dispositivo 334 que comprende una segunda cámara 336. El segundo dispositivo 334 también puede comprender un mecanismo de agitación 338 para agitar una mezcla contenida o contenida en la segunda cámara 336. La segunda cámara 336 puede estar en comunicación fluida con el puerto 120 de la cámara 102 del dispositivo 100 a través de un conducto de fluido 340 conectado a un puerto de entrada 342 de la segunda cámara 336. La segunda cámara 336 también puede estar en comunicación fluida con el depósito de inhibidor 324, el depósito de sustancia 324 y/o el depósito de aire 318 a través de los conductos 332, 326 y 334, y 320, respectivamente, y por ejemplo, a través del conducto de fluido 340.

Se puede emplear una pluralidad de válvulas de control de flujo 344 para controlar el transporte de fluido entre el depósito de aire 318, el depósito de sustancia 324, el depósito de inhibidor 330, la cámara 102 del dispositivo 100 y/o la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334.

El equipo 300 puede comprender además un recipiente de recogida 346 para recibir una mezcla de la cámara 102 del dispositivo 100 y/o una mezcla de la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334. Por ejemplo, el recipiente de recogida 346 puede estar en comunicación fluida con la cámara 102 y/o la segunda cámara 336 a través de un conducto de recogida 348 y puede estar en comunicación fluida con el conducto 332. En algunas realizaciones, el receptáculo de recogida 346 puede comprender una pluralidad de compartimentos 350 que pueden configurarse para alojar mezcla y/o materia para reciclar, recoger y/o desechar.

Los conductos 304, 312, 320, 326, 332, 340 y 348 pueden incluir cada uno un canal adecuado para transportar fluidos, y pueden, por ejemplo, comprender un tubo y/o una tubería.

Con referencia a las figuras 4A y 4B, se muestra un flujo de proceso para un procedimiento 400 de separación de células de microportadores, según algunas realizaciones. Las figuras 5A a 5F representan vistas esquemáticas de la cámara 102 del dispositivo 100 y las figuras 5G y 5H representan vistas esquemáticas de la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334 asociado con el procedimiento de separación de células de microportadores del flujo del proceso de las figuras 4A y 4B.

En 402, se introduce una mezcla que incluye medios, células y microportadores en el elemento de filtración 126 en la cámara 102 del dispositivo 100. La cámara 102 puede asumir un estado al menos parcial o totalmente extendido,

como se muestra en la figura 1B, para permitir una mayor capacidad para alojar la mezcla. El contenido de la cámara 102 se mantiene preferiblemente a una temperatura establecida, por ejemplo, aproximadamente 37 °C.

En 404, los medios se transportan desde la cámara 102 a través del puerto 120 provisto en la base 110 de la cámara 102 y las células y los microportadores a los que están unidos son filtrados por el elemento de filtración 126, como se representa en la figura 5A. En algunas realizaciones, la válvula de control de flujo 344 dispuesta en o cerca del puerto 120 puede abrirse para permitir que los medios sean transportados desde la cámara 102 del dispositivo 100. Los medios transportados desde la primera cámara 102 pueden transportarse directamente, por ejemplo, a través del conducto 332, o indirectamente, por ejemplo, a través de la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334 y el conducto 348, al recipiente de recogida 346 o a uno de los compartimentos 350 del recipiente de recogida 346. Una válvula de control de flujo 344 asociada con la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334 puede abrirse para permitir que los medios sean transportados a través de la segunda cámara 336 al recipiente de recogida 346 o a uno de los compartimentos 350 del recipiente de recogida 346 a través del conducto 348. La válvula de control de flujo 344 asociada con la segunda cámara 336 puede cerrarse una vez que el medio haya sido transportado al recipiente de recogida 346 o a uno de los compartimentos 350.

En 406, el aire del depósito de aire 318 puede transportarse a la cámara 102 a través del conducto de aire 320 para ayudar a facilitar el transporte de los medios desde la cámara 102, como se representa en la figura 5B.

En 408, el mecanismo de ajuste 104 se acciona para hacer que el cuerpo 108 de la cámara 102 se retraiga o comprima para reducir la capacidad de la cámara 102 del dispositivo y hacer que el elemento de filtración 126 se mueva hacia la base 110 de la cámara 102. En 410, la válvula de control de flujo 344 dispuesta en el puerto 120 se cierra para evitar o bloquear un flujo de fluido desde la cámara 102, como se representa en la figura 5C.

En 412, una sustancia, por ejemplo, una sustancia de desprendimiento, se introduce en la cámara 102 de modo que el elemento de filtración 126 en la cámara 102 incluye una mezcla que comprende la sustancia, las células y los microportadores. Por ejemplo, la sustancia puede transportarse desde el depósito de sustancia 324 a través del conducto de sustancia 326 e introducirse en la cámara 102 a través del puerto 120. La sustancia puede propagarse o dispersarse desde la base 108 hacia el cuerpo 106 de la cámara 102. Introducir la sustancia en la cámara 102 en la base de la cámara puede mejorar la penetración de la mezcla. La sustancia se emplea para facilitar el desprendimiento o liberación de células de los microportadores. En 414, la mezcla se agita usando el mecanismo de agitación 136 para ayudar con el desprendimiento o liberación de las células de los microportadores.

Al accionar el mecanismo de ajuste 104, el cuerpo 106 de la cámara 102 se retrae y el elemento de filtración 126 se mueve hacia la base 110 de la cámara 102. Como resultado, las células y los portadores de células se concentran hacia la base de la cámara 102 y se puede reducir una cantidad de sustancia de desprendimiento que se deberá introducir en la cámara para provocar el desprendimiento de las células de los microportadores.

En 416, el aire del depósito de aire 318 puede transportarse a la cámara 102 a través del conducto de aire 320 para ayudar a facilitar la mezcla de la sustancia, las células y los microportadores y el desprendimiento de las células de los microportadores, como se muestra en la figura 5D.

En 418, la válvula de control de flujo 344 dispuesta en el puerto 120 se abre para permitir que la sustancia y las células que se han separado de los microportadores se transporten desde la cámara 102, lo que filtra los microportadores y permanecen en el elemento de filtración 126. En algunas realizaciones, la sustancia y las células separadas se transportan a la cámara 336 del segundo dispositivo 334. En algunas realizaciones, se puede transportar aire a la cámara 102 para facilitar la mezcla de la sustancia y las células desde la cámara 102, como se representa en la figura 5E. Por ejemplo, el aire puede ser transportado desde el depósito de aire 318 a la entrada 118 de la cámara 102 a través del conducto de aire 320.

En 420, en algunas realizaciones, se puede transportar tampón y aire a la cámara 102 para enjuagar o eliminar la sustancia y las células de la cámara 102, como se representa en la figura 5F. Por ejemplo, el tampón puede ser transportado desde el depósito de tampón 310 al puerto 116 de la cámara 102 a través del conducto 312 y el aire puede ser transportado desde el depósito de aire 318 al puerto 120 de la cámara 102 a través del conducto de aire 320.

En 422, la mezcla de tampón, sustancia y célula se transporta a la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334. En algunas realizaciones, como se representa en la figura 5G, la segunda cámara 336 puede comprender una válvula o elemento desviador 352 para permitir el control sobre un flujo de fluidos hacia la segunda cámara 336. La válvula de control de flujo 344 asociada con la segunda cámara 336 puede cerrarse para no permitir o evitar el transporte del tampón, la sustancia y la mezcla celular desde la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334.

En 424, un inhibidor, tal como un inhibidor de la sustancia, se transporta a la segunda cámara para disminuir o inhibir la actividad de la sustancia en la mezcla. En algunas realizaciones, como se representa en la figura 5G, el inhibidor puede transportarse desde el depósito de inhibidor 330 a la segunda cámara 334 a través del conducto 332. El contenido de la segunda cámara 334 se mantiene preferiblemente a una temperatura establecida, por ejemplo, aproximadamente 4 °C.

En 426, la válvula de control de flujo 344 asociada con la segunda cámara 336 se abre para permitir el transporte de la mezcla de tampón, sustancia, célula e inhibidor desde la segunda cámara 336 del segundo dispositivo 334 al recipiente de recogida 346. Se puede introducir aire en la segunda cámara 336 para ayudar con el transporte de la mezcla de tampón, sustancia, célula e inhibidor desde la segunda cámara 336 al recipiente de recogida 346.

Con referencia a las figuras 6A y 6B, se muestra un flujo de proceso para un procedimiento 600 de separación de células de microportadores, según algunas realizaciones. Las figuras 5A a 5D y 7A y 7B representan vistas esquemáticas de la cámara 102 del dispositivo 100 asociado con el procedimiento de separación de células de microportadores del flujo del proceso de las figuras 6A y 6B.

Las etapas 602, 604, 606, 608, 610, 612, 614 y 616 del procedimiento 600 corresponden a las etapas 402, 404, 406, 408, 410, 412, 414 y 416 del procedimiento 400. Sin embargo, a diferencia de transferir la sustancia y las células que se han separado de los microportadores a otro recipiente o cámara antes de introducir un inhibidor, el procedimiento 600 implica introducir el inhibidor en la cámara 102 del dispositivo 100.

Como se representa en la figura 7A, en 618, el mecanismo de ajuste 104 se acciona para hacer que el cuerpo 108 de la cámara 102 se extienda para hacer que el elemento de filtración 126 se aleje de la base 110 de la cámara 102. Por ejemplo, y como se representa en la figura 7A, el elemento de filtración 126 se eleva o se mantiene a una distancia de la base 110 de la cámara 102. Los microportadores pueden ser retenidos o filtrados por el elemento de filtración 126 y las células y la sustancia separadas pueden pasar a través del elemento de filtración 126 y pueden dirigirse hacia o permanecer en la base 110 de la cámara 102.

En 620, en algunas realizaciones, se puede transportar tampón y/o aire a la cámara 102 para enjuagar el elemento de filtración 126 y la cámara 102 y hacer que la sustancia y las células se enjuaguen a través del elemento de filtración 126. Por ejemplo, el tampón puede ser transportado desde el depósito de tampón 310 a la cámara 102 a través del conducto 312 y el aire puede ser transportado desde el depósito de aire 318 a la entrada 118 de la cámara 102 a través del conducto de aire 320.

En 622, se introduce un inhibidor de la sustancia en la cámara 102. El inhibidor de la sustancia se mezcla con la mezcla que comprende las células y la sustancia para inhibir la actividad de la sustancia en la mezcla. Por ejemplo, en algunas realizaciones, donde la sustancia de desprendimiento comprende una enzima, el inhibidor de la sustancia es un inhibidor de enzima para detener la reacción de la sustancia de desprendimiento.

Como se representa en la figura 7B, el inhibidor puede introducirse en la cámara 102 del dispositivo 100 a través del puerto 120 y el inhibidor puede propagarse o dispersarse desde la base 110 hacia el cuerpo 108 de la cámara 102. En algunas realizaciones, la introducción del inhibidor en la cámara 102 en la base 110 de la cámara 102 puede mejorar la penetración de la mezcla. El inhibidor puede transportarse desde el depósito de inhibidor 330 a la cámara 102 a través del conducto de inhibidor 332. La temperatura del contenido de la cámara 102 puede reducirse y mantenerse preferiblemente a una temperatura de aproximadamente 4 ºC.

En 624, la válvula de control de flujo 344 se abre para permitir el transporte de la mezcla que incluye las células, la sustancia, el inhibidor y el tampón, si está presente, desde la cámara 102 del dispositivo 100 al recipiente de recogida 346. En algunas realizaciones, se puede introducir aire y/o tampón en la cámara 102 para ayudar con el transporte de la mezcla desde la cámara 102 al recipiente de recogida 346.

Como se discutió en relación con las figuras 2A y 2B, el dispositivo 100 puede emplearse como un dispositivo biorreactor 200. Los procedimientos 400 y 600 descritos anteriormente también se pueden realizar usando el dispositivo biorreactor 200 de las figuras 2A y 2B en oposición al dispositivo 100. El dispositivo biorreactor 200 puede emplearse para realizar la separación celular de los microportadores y otros procesos de biorreactor que incluyen perfusión y lavado. Por ejemplo, el dispositivo biorreactor 200 puede usarse para intercambiar volúmenes preestablecidos de medios durante un proceso de mezcla. Esto permitiría intercambiar volúmenes preestablecidos de medios, por ejemplo, añadidos y/o retirados del dispositivo biorreactor 200, sin que sea necesario detener el proceso. En consecuencia, el proceso puede realizarse de forma continua. Además, no se requeriría equipo adicional para intercambiar los volúmenes preestablecidos de medios.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para separar células de microportadores, el aparato que comprende:

una cámara que tiene un cuerpo y una base, la cámara configurada para recibir una mezcla que comprende células y microportadores;
un elemento de filtración dispuesto dentro de la cámara y acoplado al cuerpo, el elemento de filtración configurado para filtrar microportadores de la mezcla; y
un mecanismo de ajuste acoplado a la cámara, el mecanismo de ajuste configurado para extensión y retracción selectiva de al menos una parte del cuerpo de la cámara para mover el elemento de filtración con respecto a la base de la cámara.

2. El dispositivo de la reivindicación 1, donde la extensión selectiva de al menos una porción del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste hace que al menos una parte del cuerpo se extienda alejándose de la base de la cámara y la retracción selectiva de la al menos una porción del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste hace que al menos una parte del cuerpo se retraiga hacia la base de la cámara.

3. El dispositivo de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde la extensión selectiva de al menos una parte del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste hace que el elemento de filtración se aleje de la base de la cámara y la retracción selectiva de al menos una parte del cuerpo de la cámara en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste hace que el elemento de filtración se mueva hacia la base de la cámara.

4. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la cámara está configurada para hacer la transición entre un estado extendido y un estado retraído en respuesta al accionamiento selectivo del mecanismo de ajuste.

5. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el elemento de filtración comprende un filtro configurado para permitir que las células pasen a través del filtro y bloquear el paso de los microportadores a través del filtro.

6. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el elemento de filtración comprende una base de filtro configurada para cooperar con la base de la cámara para permitir que la base del filtro quede al ras con la base de la cámara cuando el dispositivo esté en un estado retraído.

7. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el cuerpo incluye fuelles para permitir la expansión y contracción del cuerpo.

8. Un procedimiento para separar células de microportadores, el procedimiento que comprende:

introducir una mezcla que comprende células y microportadores en el elemento de filtración del dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7;
retener microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración;
introducir una sustancia para facilitar el desprendimiento de las células de los microportadores a la cámara;
agitar la mezcla en la cámara para separar al menos algunas de las células de los microportadores; y
retener los microportadores en el elemento de filtración y permitir que las células y la sustancia desprendidas pasen a través del elemento de filtración.

9. El procedimiento de la reivindicación 8, donde la mezcla se introduce en el dispositivo cuando el dispositivo está en un estado extendido y el procedimiento comprende además accionar el mecanismo de ajuste para mover el elemento de filtración hacia la base de la cámara antes de introducir la sustancia en la cámara.

10. El procedimiento de la reivindicación 9, donde la sustancia para facilitar el desprendimiento de las células de los microportadores a la cámara se introduce en la cámara a través de un puerto dispuesto en la base de la cámara.

11. El procedimiento de la reivindicación 9 o 10, que comprende además transportar aire a la cámara para ayudar a facilitar la mezcla de la sustancia, células y microportadores.

12. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, que comprende además transportar la sustancia y las células separadas de la cámara a una segunda cámara de un segundo dispositivo e introducir un

inhibidor de la sustancia en la segunda cámara para inhibir la actividad de la sustancia.

13. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, que comprende además transportar al menos uno de entre aire y tampón a la cámara para ayudar a facilitar el transporte de la sustancia y las células separadas desde la cámara.

14. El procedimiento de la reivindicación 9 o 10, que comprende además:

accionar el mecanismo de ajuste para alejar el elemento de filtración de la base de la cámara; e

introducir un inhibidor en la cámara para inhibir la actividad de la sustancia.

15. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, donde la mezcla comprende además medios y en el que la retención de microportadores y células unidas a microportadores en el elemento de filtración comprende además transportar medios desde la cámara.

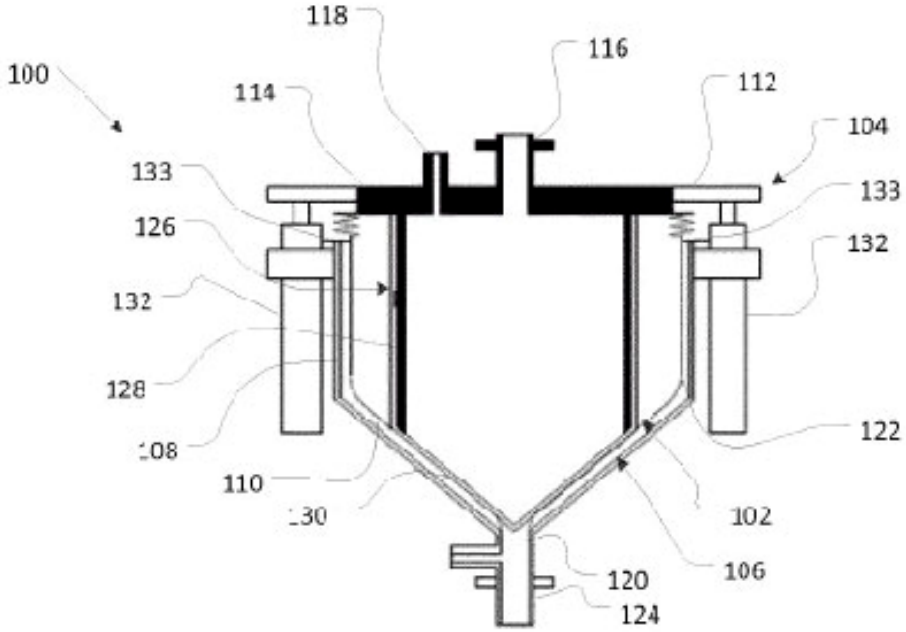

Figura 1A

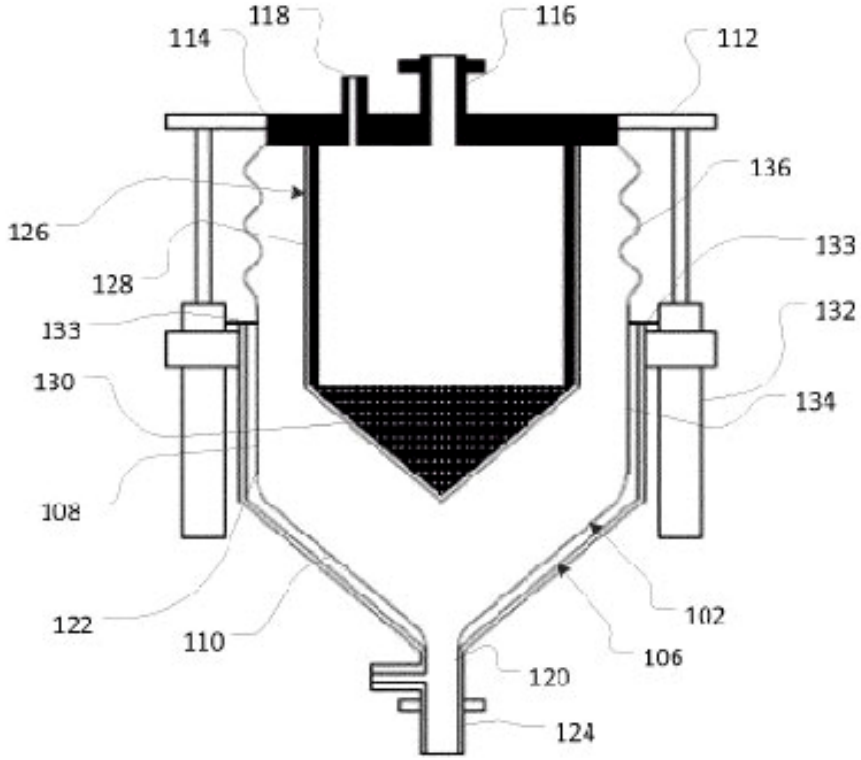

Figura 1B

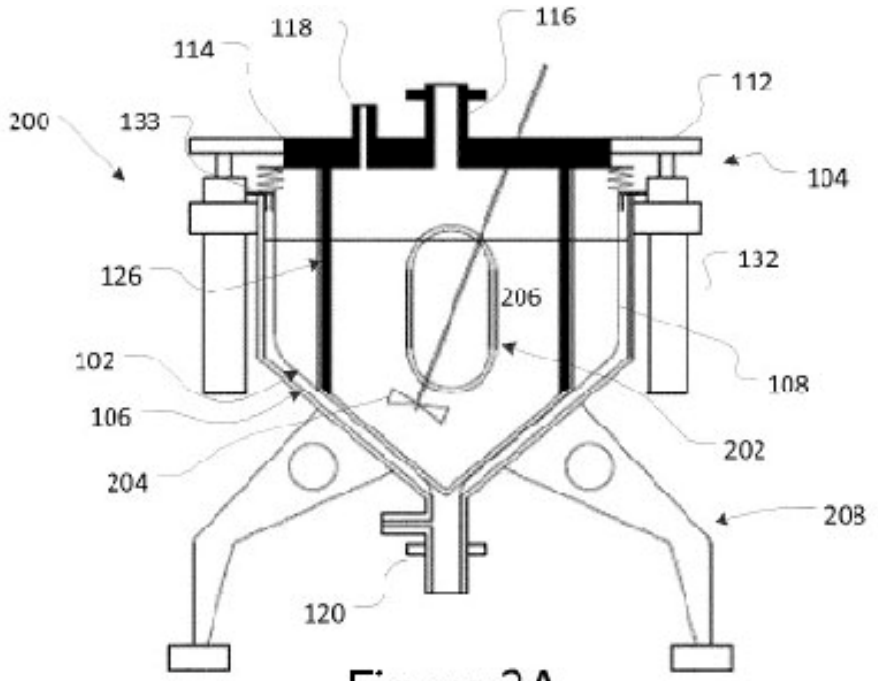

Figura 2A

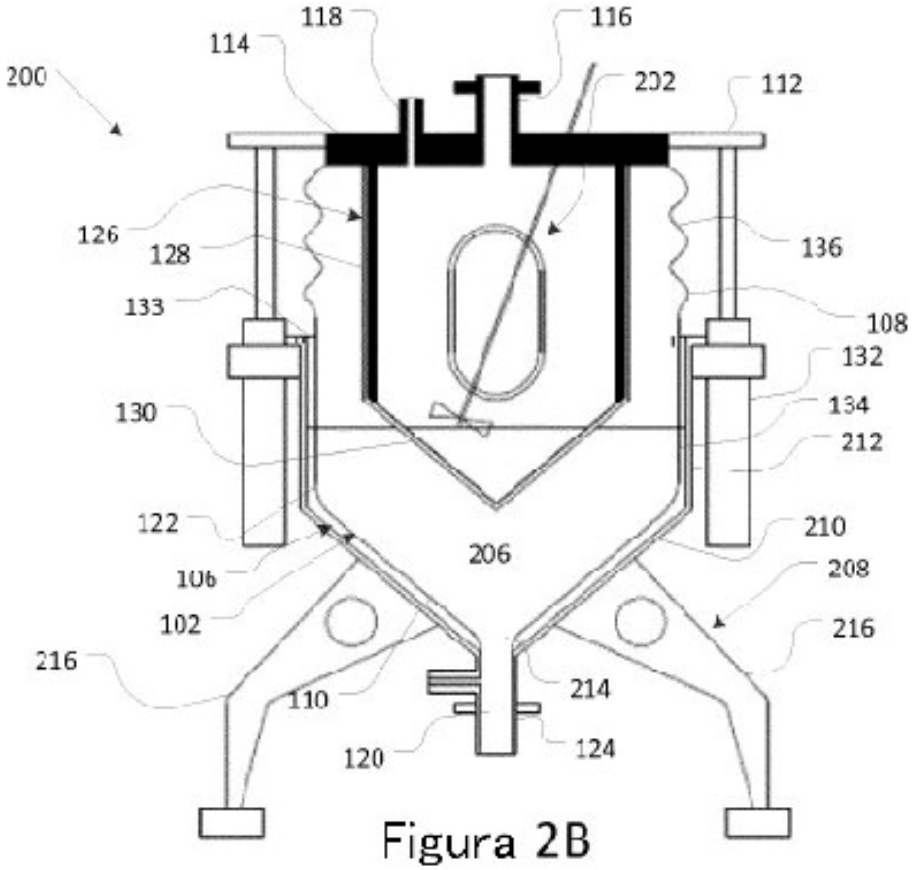

Figura 2B

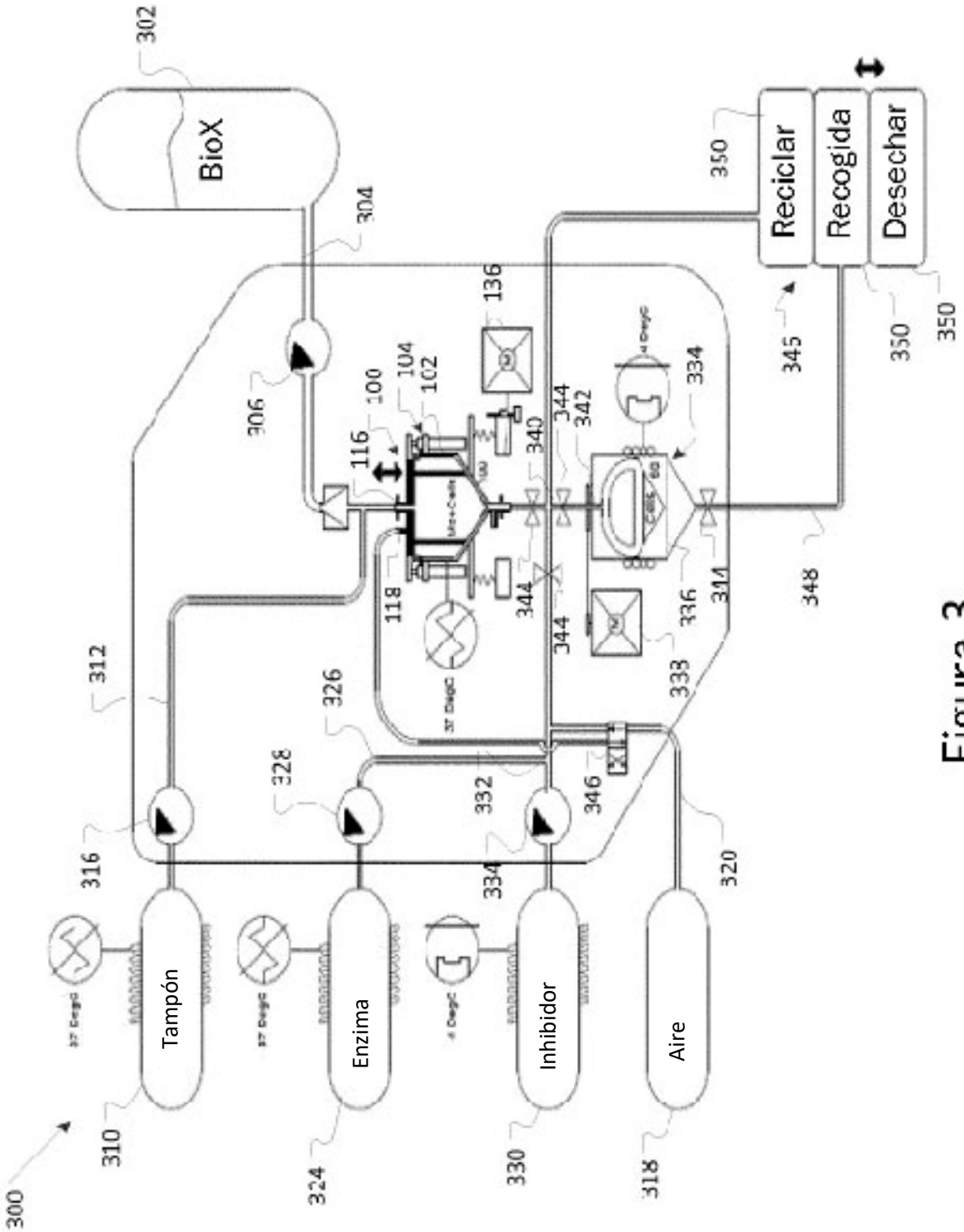
BioX
Tampón
Enzima
Inhibidor
Aire
Reciclar
Recogida
Desechar
300
302
304
306
310
312
316
318
320
324
326
328
330
332
333
334
336
338
340
342
344
345
346
348
350
100
102
104
116
118
136

Figura 3

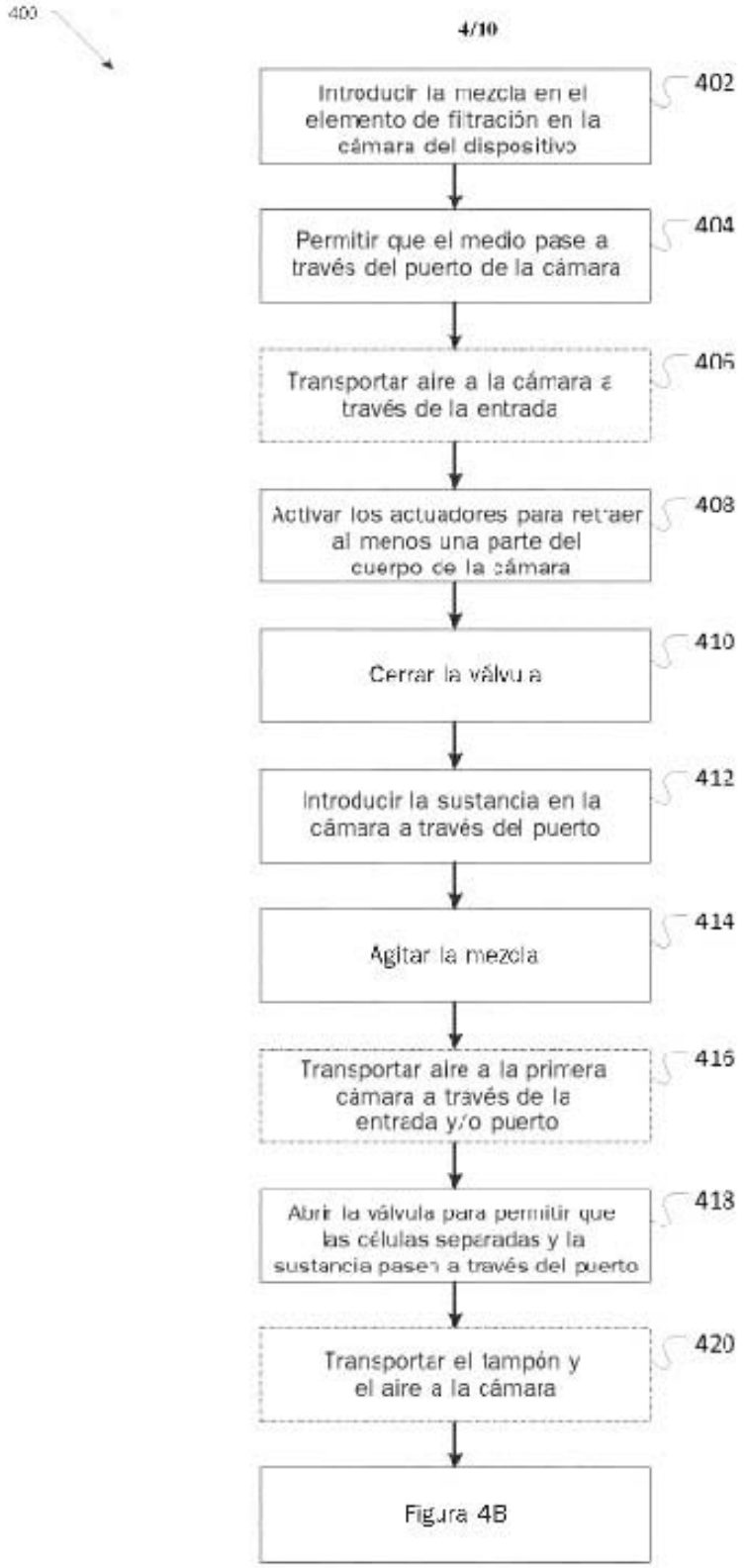
400
4/10
Introducir la mezcla en el elemento de filtración en la cámara del dispositivo
402
Permitir que el medio pase a través del puerto de la cámara
404
Transportar aire a la cámara a través de la entrada
406
Activar los actuadores para retraer al menos una parte del cuerpo de la cámara
408
Cerrar la válvula
410
Introducir la sustancia en la cámara a través del puerto
412
Agitar la mezcla
414
Transportar aire a la primera cámara a través de la entrada y/o puerto
416
Abrir la válvula para permitir que las células separadas y la sustancia pasen a través del puerto
418
Transportar el tampón y el aire a la cámara
420
Figura 4B

Figura 4A

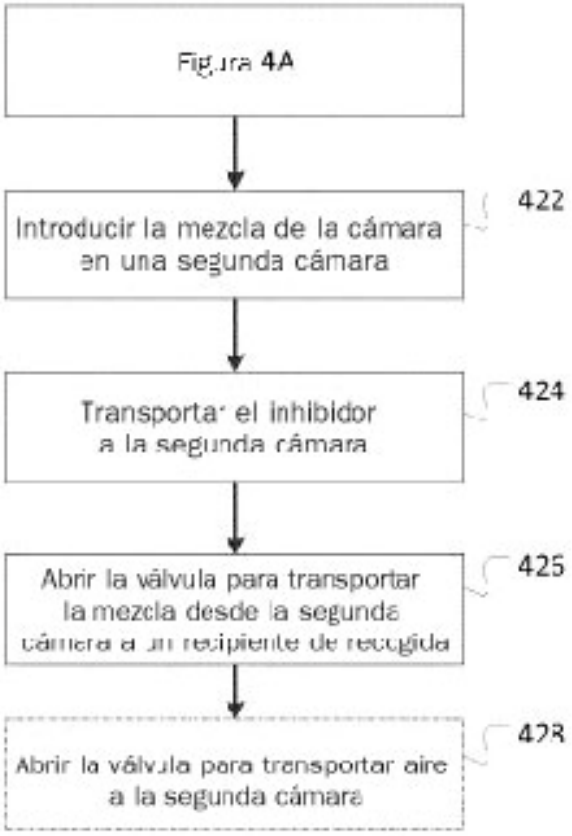
Figura 4A
Introducir la mezcla de la cámara en una segunda cámara
422
Transportar el inhibidor a la segunda cámara
424
Abrir la válvula para transportar la mezcla desde la segunda cámara a un recipiente de recogida
425
Abrir la válvula para transportar aire a la segunda cámara
428

Figura 4B

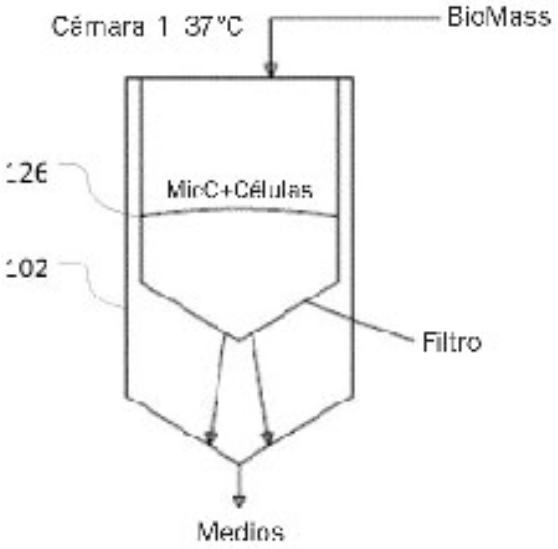

Figura 5A

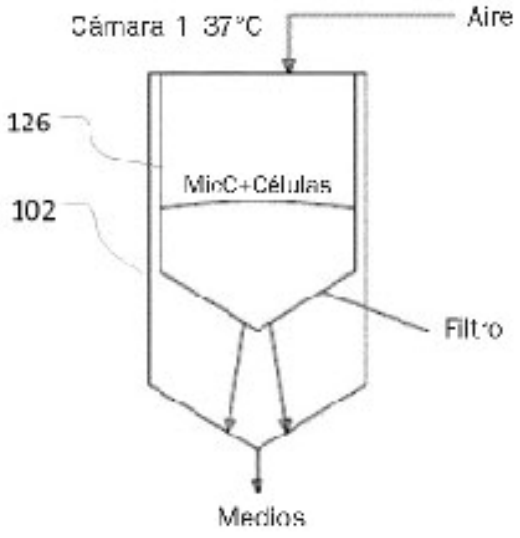

Figura 5B

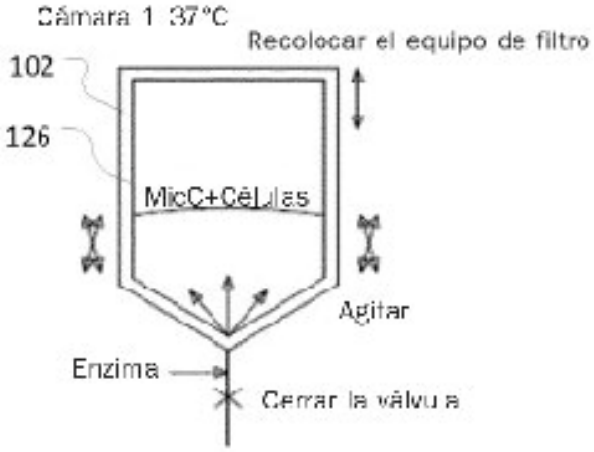

Figura 5C

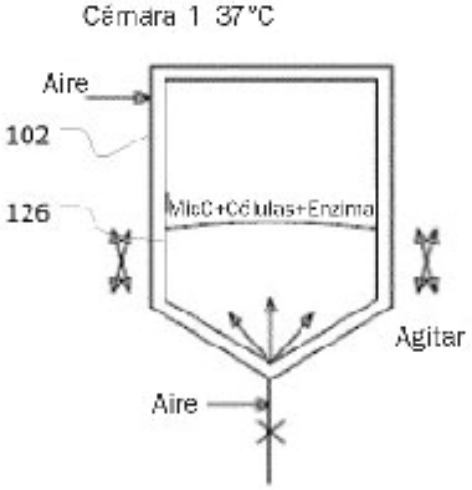

Figura 5D

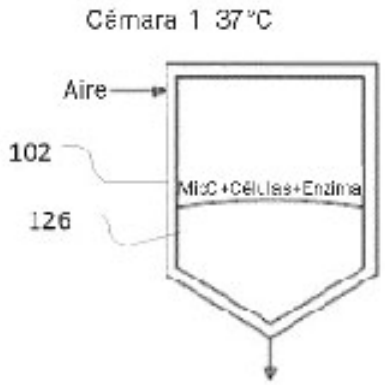

Figura 5E

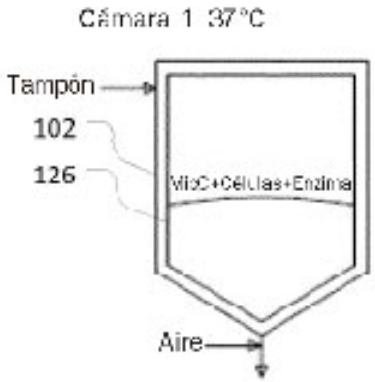

Figura 5F

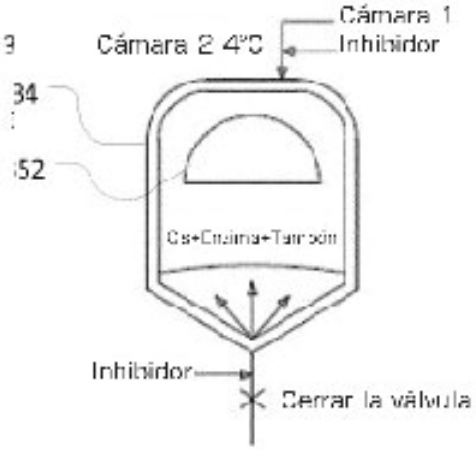

Figura 5G

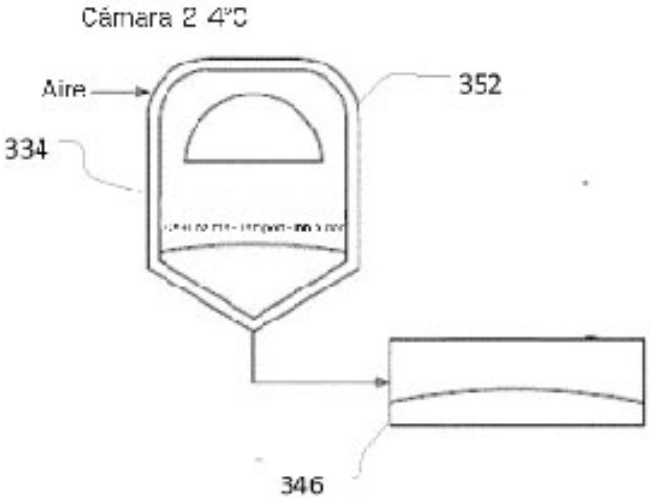

Figura 5H

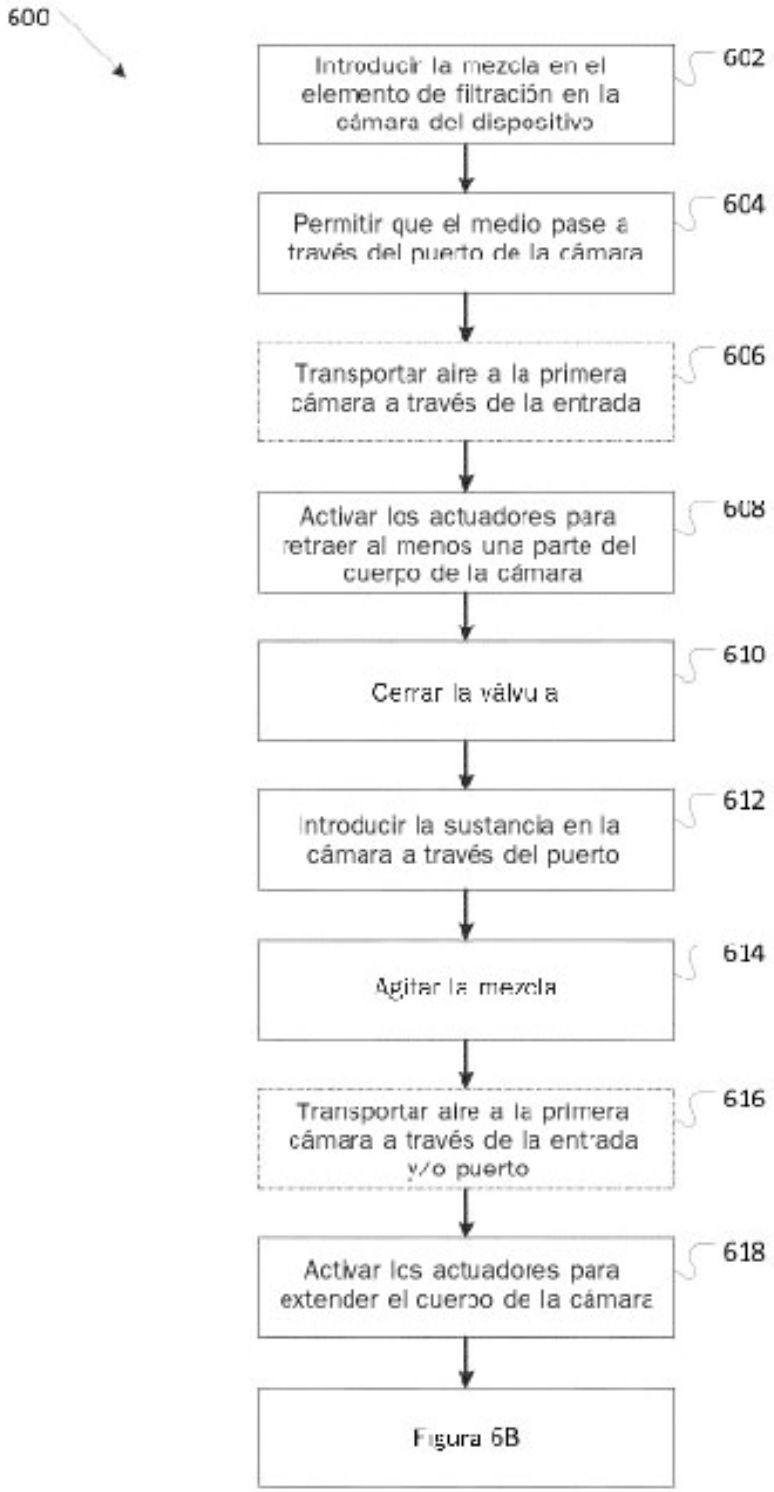
600
Introducir la mezcla en el elemento de filtración en la cámara del dispositivo
602
Permitir que el medio pase a través del puerto de la cámara
604
Transportar aire a la primera cámara a través de la entrada
606
Activar los actuadores para retraer al menos una parte del cuerpo de la cámara
608
Cerrar la válvula
610
Introducir la sustancia en la cámara a través del puerto
612
Agitar la mezcla
614
Transportar aire a la primera cámara a través de la entrada y/o puerto
616
Activar los actuadores para extender el cuerpo de la cámara
618
Figura 6B

Figura 6A

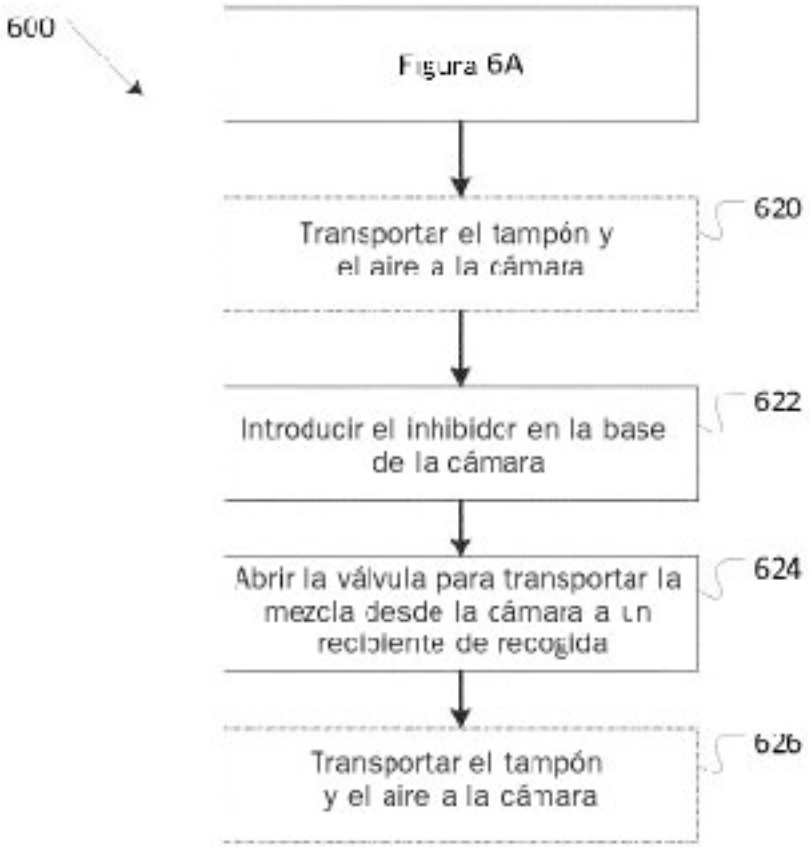
600
Figura 6A
Transportar el tampón y el aire a la cámara
620
Introducir el inhibidor en la base de la cámara
622
Abrir la válvula para transportar la mezcla desde la cámara a un recipiente de recogida
624
Transportar el tampón y el aire a la cámara
626

Figura 6B

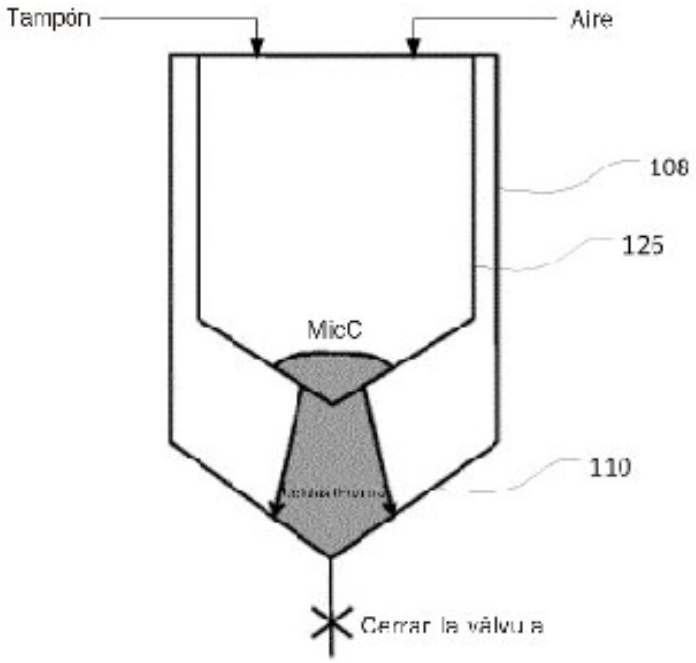

Figura 7A

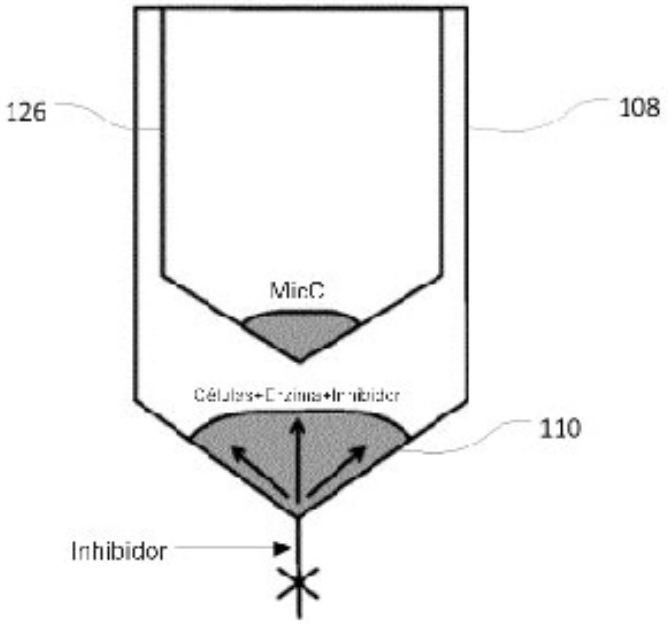

Figura 7B