

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 808 600**

51 Int. Cl.:

C12M 1/10 (2006.01)

C12M 1/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2009** **E 09161982 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020** **EP 2141224**

54 Título: **Biorreactor de depósito agitado**

30 Prioridad:

11.06.2008 US 131640 P

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

01.03.2021

73 Titular/es:

**EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
400 Summit Drive
Burlington, MA 01803, US**

72 Inventor/es:

**KELLY, JAMES E.;
MULDOON, JOSEPH WILLIAM;
PROULX, STEPHEN y
VIGNA, JAMES J.**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 808 600 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

Biorreactor de depósito agitado

- 5 La presente invención se refiere a un biorreactor desechable. Más en particular, la misma se refiere a un biorreactor que tiene uno o más orificios conformados en el mismo.

Antecedentes de la Invención

- 10 Muchos biorreactores de pequeño tamaño, con un tamaño de aproximadamente 1 litro a aproximadamente 200 litros, están realizados en vidrio o acero, preferiblemente, en acero inoxidable. Los volúmenes habituales para las versiones de sobremesa son 2-10 litros. Todos ellos tienen un cuerpo sólido y una parte superior amovible precintada con respecto al cuerpo mediante una junta tórica. La parte superior contiene unos orificios para sondas, muestreo, aplicación de aire, intercambio de medios y para una vara de agitación para circulación. Los mismos se usan normalmente para cultivar o fermentar diversos organismos, tales como plantas, bacterias (p. ej., *E. coli*),
- 15 células de animales (p. ej., células de ovario de hámster chino (CHO)), levadura, moho, etc.

- Después de cada uso (normalmente, 3-15 días), el reactor y sus componentes deben desmontarse, limpiarse, montarse de nuevo, reconfigurarse y pasar por un autoclave antes de usarse nuevamente. Esto es un proceso que consume tiempo y laborioso que requiere el desmontaje y el movimiento de muchos componentes pesados y/o pequeños y frágiles. Además, generalmente, es necesario validar el procedimiento de limpieza para asegurar que se realiza correctamente una vez tras otra con los mismos resultados consistentes. En el mejor de los casos, una vez se ha completado todo el trabajo, el reactor y sus componentes se han limpiado asépticamente, lo que significa que sigue siendo posible un fenómeno de contaminación por organismos residuales o que entran a través de la unidad aséptica.
- 20

- 25 Muchos diseños han intentado superar estos problemas usando revestimientos desechables en el depósito de vidrio o acero inoxidable.

- 30 US 6.245.555 A sugiere usar un revestimiento de plástico que se introduce en el interior del depósito existente para reducir la cantidad de limpieza y aumentar el nivel de asepsia. No obstante, esto presenta numerosas limitaciones.

- El revestimiento debe adaptarse a la superficie interior del depósito para evitar cualquier discontinuidad en la circulación en el interior del dispositivo o para evitar la formación de puntos muertos o bolsillos en donde el material puede quedar atrapado y encontrarse o crear un flujo irregular en el sistema. No obstante, siguen produciéndose arrugas en el revestimiento que crean los problemas mencionados anteriormente. Todos los orificios están montados en la parte superior, limitando el área disponible para los diferentes componentes usados en el biorreactor (líneas de suministro, líneas de aire, ejes de agitación, motores y ejes de motor, orificios de muestreo, orificios para sondas y similares). De forma adicional, la placa superior está precintada de forma repetible con respecto al revestimiento, formando solamente una conexión aséptica. Con frecuencia, el sistema de revestimiento está limitado a un sistema de aplicación de aire para la transferencia y circulación de gas. El uso de ejes impulsores se ha evitado debido a la preocupación de que el eje o los impulsores puedan fracturar el revestimiento durante el transporte, almacenamiento o montaje. Además, todas las sondas y muestras entran a través de la tapa o la parte superior y tienen un tubo que se extiende hacia abajo en el interior del líquido hasta el nivel deseado. Esto significa que, con frecuencia, una gran cantidad de material en ese tramo debe ser purgada o eliminada antes y después de realizar un muestreo para asegurar que se ha obtenido una muestra precisa. Finalmente, resulta bien conocido que los lípidos y colesterol se adhieren a muchos de los plásticos usados para dichos revestimientos.
- 35
- 40
- 45

- Lo que resulta deseable es un revestimiento de depósito desechable que supere las deficiencias del actual estado de la técnica. La presente invención da a conocer un dispositivo de este tipo.
- 50

- US 20080131957 A describe un recipiente de agitación de cultivo de células desechable con un impulsor asociado. El recipiente comprende un cuerpo de recipiente que tiene una parte superior y una parte inferior que están precintadas circunferencialmente a lo largo de una línea de soldadura. Unos orificios de acceso se extienden hacia fuera desde la parte superior del recipiente y están cerrados mediante tapones de precintado roscados. El recipiente está hecho a partir de polímero moldeado por inyección y es desechable.
- 55

- US 20070272146 A describe un biorreactor desechable que incluye un recipiente esterilizado previamente formado por una bolsa flexible de plástico desechable o de material rígido. Unos orificios están dispuestos en una parte superior o inferior del recipiente.
- 60

- EP 1923461 A describe un biorreactor formado por un material, tal como vidrio o plástico, y dotado de una o más entradas al biorreactor. Un septo está dispuesto en un extremo estrecho superior de un recipiente del reactor para introducir reactivos no gaseosos en el recipiente.

- 65 GB 2305936 A describe un recipiente de cultivo bacteriano que comprende un contenedor y una tapa de encaje a presión. Unos orificios que pueden cerrarse para introducir bacterias o para permitir aireación están dispuestos en la

tapa. El contenedor y el recipiente están hechos de material plástico y se envasan por separado de manera estéril.

US 3702806 A describe un contenedor de medios de cultivo desechable de material plástico transparente y que incluye tres paredes laterales equiláteras que definen una parte de cuerpo sustancialmente triangular en sección transversal. Un cuello cilíndrico que se extiende verticalmente está conformado integralmente en el extremo superior del contenedor y un tapón perforable que puede precintarse de forma repetible está dispuesto en el cuello.

US 3483089 A describe un biorreactor que tiene un cuerpo, una cubierta adaptada para su montaje en un extremo abierto de un elemento de contenedor o bote en una unión precintada con el mismo y un dispositivo de retención que se une a la superficie superior de la cubierta para mantener la cubierta en su posición en el bote y permitir cierta separación si se crea una presión superior a una presión de gas máxima en el interior del contenedor. Se usa un vástago roscado que funciona como un conector mecánico para una unidad de carcasa separada que se enrosca en un agujero ciego de la cubierta. Un adaptador está montado en una abertura de la cubierta para formar unos medios de montaje para una cámara de expansión deformable, que, a su vez, está hecha de un material elastomérico para permitir que el exceso de gas contenido en el contenedor se expanda libremente en su interior.

Compendio de la Invención

La presente invención da a conocer un biorreactor para cultivar, fermentar o procesar una biomasa, que comprende las características de la reivindicación 1. Las realizaciones preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes. La presente invención es un biorreactor desechable formado por plástico moldeado, de modo que el mismo puede ser rígido o al menos semirrígido y puede soportarse en un pie o mantenerse en posición vertical por sí mismo. El biorreactor está esterilizado previamente y tiene una parte superior y un cuerpo precintados entre sí. Uno o más orificios están conformados en la parte superior y/o el lateral de la carcasa. Al menos un orificio está dispuesto debajo del nivel de líquido/aire de la carcasa. El orificio u orificios dispuestos debajo del nivel de la interfaz líquido/aire pueden utilizarse como orificios de muestreo u orificios de acceso para sondas. El uso de un orificio de este tipo permite tomar muestras sin que sea necesario el tubo de inmersión de la técnica anterior, eliminando la cantidad de material en ese tramo y el riesgo de obtener una muestra no adecuada o una muestra contaminada. De forma adicional, no es necesario que la sonda sea larga para llegar hacia abajo hasta el nivel deseado en el contenedor. La misma puede extenderse simplemente de forma lateral en el interior del líquido en el nivel deseado. Los orificios dispuestos debajo del nivel del líquido están en una ubicación ideal para la incorporación de detectores desechables ópticos y permiten obtener unos medios para la unión de equipos de detección.

La invención permite una readaptación directa para la unidad de vidrio o acero existente que utiliza las estructuras de soporte existentes, sondas para medir diferentes parámetros, tales como la temperatura y el pH, y controles. El diseño moldeado supera los problemas de discontinuidad, puntos muertos y similares debido a sus dimensiones fijas, que se obtienen mediante el proceso de moldeo. También se garantiza la reproducibilidad de la ubicación de las sondas y otros equipos a través del uso de las características del orificio moldeado. Además, un receptáculo rígido puede aceptar la camisa de calentamiento que se usa en el vidrio, lo que significa que no es necesario un soporte o una camisa de calentamiento externos. El plástico moldeado permite una mayor flexibilidad en la selección del material para reducir o eliminar la adherencia de lípidos o colesterol. Preferiblemente, el sistema permite obtener un sistema de gas/circulación de aplicación de aire y/o aplicación de aire para la transferencia de gas y un agitador/impulsor para la circulación sin preocupaciones de daños en el contenedor. Los contenedores moldeados se soportan por sí mismos y no requieren una carcasa de soporte, tal como sucede con los diseños de revestimiento flexible. Asimismo, con un diseño de plástico moldeado, es posible unir directamente unas camisas de calentamiento o enfriamiento al cuerpo del molde, mientras que, en una bolsa flexible, la camisa debe instalarse en el interior o en el exterior de la carcasa de soporte. Finalmente, al tener uno o más orificios conformados debajo del nivel de líquido/aire, es posible obtener un drenaje que permite una extracción sencilla y casi completa de todo el líquido si así se desea.

Un aspecto de la presente invención consiste en dar a conocer un biorreactor para cultivar o procesar una biomasa, formado por una carcasa esterilizada previamente, desechable, hecha de plástico, seleccionado de un grupo que consiste en plástico semirrígido y rígido, teniendo dicha carcasa una parte superior y un cuerpo precintados integralmente entre sí, teniendo el cuerpo un espacio interior, uno o más orificios conformados en la parte superior y el cuerpo, respectivamente, de la carcasa y en comunicación de fluidos con el interior de la carcasa, teniendo el orificio u orificios un tapón para aislar el espacio interior del cuerpo con respecto al entorno.

Otro aspecto de la presente invención consiste en dar a conocer un biorreactor que tiene dos o más orificios, y al menos un orificio está moldeado en el cuerpo en un nivel por debajo de una interfaz líquido/aire de la carcasa.

Otro aspecto de la presente invención consiste en dar a conocer un biorreactor que tiene uno o más orificios moldeados en la parte superior y el cuerpo.

Un aspecto adicional de la presente invención consiste en dar a conocer un biorreactor que comprende además un eje de agitación con una o más palas montadas en el interior del cuerpo de la carcasa.

Otro aspecto de la presente invención consiste en dar a conocer un biorreactor en donde el cuerpo incluye un orificio

adyacente a una parte del cuerpo más alejada de la parte superior y el orificio más alejado de la parte superior incluye un difusor de aire retenido selectivamente en el interior del cuerpo, estando formado el difusor por una frita seleccionada del grupo que consiste en fritas de plástico, cerámica y metal, y estando conectado el orificio a una línea de gas en la parte exterior del cuerpo.

5 Otro aspecto de la presente invención consiste en dar a conocer un biorreactor que tiene uno o más orificios, en donde el orificio u orificios del cuerpo están conectados a racores Luer.

10 En un aspecto, se da a conocer un biorreactor que tiene un eje de agitación con una o más palas montadas en el interior del cuerpo de la carcasa y un cubo de retención dispuesto en la parte inferior del cuerpo del biorreactor para retener y centrar el eje.

Estas y otras ventajas resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción.

15 En los dibujos:

La Figura 1 muestra una primera realización de la presente invención en una vista en perspectiva.

La Figura 2 muestra una primera realización del cuerpo de la presente invención en una vista en sección.

La Figura 3 muestra una primera realización de la presente invención en una vista en sección.

20 Las Figuras 4a-c muestran mecanismos de agitación alternativos de la presente invención en una vista en sección.

La Figura 5 muestra una realización alternativa del cuerpo de la presente invención en una vista en perspectiva.

La Figura 6 muestra una realización de la parte superior según la presente invención en una vista en perspectiva.

25 Las Figuras 7a-c muestran un tipo de racor y su manera de unirse a un tipo de orificio de la presente invención en una vista en perspectiva.

La Figura 8 muestra una realización alternativa de la presente invención.

La Figura 9 muestra una realización de la parte superior según la presente invención en una vista en perspectiva.

30 La Figura 10 muestra una realización de la parte inferior del biorreactor según la presente invención en una vista en perspectiva.

La Figura 11 muestra una realización de un soporte diferente que forma una interfaz con la parte inferior del biorreactor mostrado en la Figura 10 según la presente invención en una vista en perspectiva.

35 La Figura 12 muestra el biorreactor de la Figura 10 conectado a la base de la Figura 11 en una vista en perspectiva.

Descripción detallada de la Invención

40 La Figura 1 muestra una realización de la presente invención. El biorreactor 2 está soportado en un pie 4 que comprende varias patas 6 (en esta realización, 3 patas, aunque también es posible usar una pata continua o 2 patas grandes o más de 3 patas) y un borde 8 de soporte. Tal como se muestra, las patas 6 pueden tener una pieza 10 de soporte opcional en la parte inferior o cerca de la misma para evitar que las patas 6 se separen cuando el biorreactor 2 está lleno y en el pie 4.

45 Dependiendo del tipo de sistema de circulación usado, el pie 4 también puede soportar el mecanismo 12 de transmisión (tal como se muestra) para el mecanismo de circulación, que es normalmente una unidad 14 de agitación o de palas, tal como se describirá de forma más detallada más adelante. En esta realización particular, el mecanismo 12 de transmisión es un motor y está montado centrado en la parte superior 16 del biorreactor 2 mediante varios brazos 18 (aunque se muestran en un número de 3, es posible usar números alternativos). Otros elementos, tales como bloques de montaje (no mostrados) y similares, pueden estar conformadas en la parte superior 16 o el anillo 8 de soporte para soportar el mecanismo 12 de transmisión. Tal como se muestra, el mecanismo 12 de transmisión tiene un eje 20 que puede estar unido al agitador, tal como se explica más adelante en la presente memoria. Es posible usar otros pies en lugar del diseño descrito anteriormente, que funcionarán igualmente bien.

55 El cuerpo 22 del biorreactor tiene un espacio interior en cuyo interior los fluidos, células, sondas y otros dispositivos del biorreactor están contenidos al menos parcialmente. El cuerpo 22 está unido de forma precintable a la parte superior 16. Es decir, mediante un precinto mecánico, tal como una junta de caucho y ganchos 24 (tal como se muestra) o mediante una abrazadera, tal como una abrazadera de banda o una abrazadera Ladish o TriClover.

60 El cuerpo 22 tiene una o más paredes laterales 26 que se extienden hacia abajo desde la parte superior 16 y finalizan en una parte 28 inferior cerrada, preferiblemente, con una forma semiesférica. Tal como se muestra, se usa una pared lateral 26 con un diseño circular que se readapta a cuerpos de vidrio y metal existentes. De forma alternativa, es posible usar 3, 4 o más paredes laterales si así se desea (no mostradas).

65 Preferiblemente, el cuerpo está hecho de una única pieza de plástico moldeado. De forma alternativa, el mismo puede estar hecho de dos o más piezas de plástico precintadas entre sí, tal como mediante calor, pegamento o

juntas (no mostradas).

En otra realización alternativa mostrada en la Figura 5, solamente la parte superior 16a y la parte inferior 28a están hechas de plástico moldeado y la pared lateral 26a en esta realización está formada por plástico flexible, tal como una película de plástico. Esto sigue permitiendo el uso de uno o más orificios en el dispositivo por debajo del nivel de líquido/aire. También debe observarse que el orificio u orificios, tal como 32, pueden finalizar en un racor estriado u otro elemento de conexión si así se desea.

En el biorreactor 2 de esta realización también están conformados uno o más orificios 30 (en esta realización existen tres tipos 30a-c (para un total de 5 orificios) conformados en la parte superior 16 y uno o más orificios 32 en el cuerpo 22 (en esta realización, existen al menos dos tipos diferentes 32a-b para un total de siete orificios en general en esta realización). La parte superior 16 y el cuerpo 22 pueden tener múltiples orificios con estilos similares y/o diferentes para obtener el número de orificios del tipo deseado en las ubicaciones deseadas por todo el biorreactor 2. Estos orificios 30, 32, o al menos una parte de los mismos, están conformados como parte de la parte superior 16 y/o del cuerpo 22. Los mismos pueden estar conformados con unas roscas que se corresponden con unas cubiertas precintables, tales como tapones cerrados, tapones con juntas con una perforación pasante en la junta, o diversos racores Luer. De forma alternativa, uno o más de los orificios pueden estar realizados en la parte superior 16 de plástico y/o en el cuerpo 22 mediante perforación o combustión de un agujero y montando un orificio a continuación (por ejemplo, mediante unión térmica o adhesivos) en su posición a través o alrededor del agujero. Es posible adaptar muchos estilos y tamaños de orificio diferentes en esta invención.

Es posible usar los orificios 30a para la entrada o salida de líquido o gas o para sondas, tales como sondas de pH, termómetros o termopares o similares. Los orificios 30b pueden usarse a efectos similares. El orificio 30c es para el eje de agitación descrito de forma más detallada en la presente memoria. De forma alternativa, si el biorreactor tiene un diseño de agitación por aire y no usa un eje de agitación, el orificio 30c puede usarse para alojar la línea de aire para el aplicador en la parte inferior del cuerpo o junto a la misma para cualquier función deseada. Es posible usar los orificios 32a para muestreo del líquido o para sondas, tales como sondas de pH, temperatura, oxígeno disuelto, nivel de lactosa, etc., tal como resulta habitual en dichos biorreactores. Los orificios 32a, aunque se muestran conformados en la pared lateral 26, también pueden estar conformados en la parte inferior si así se desea, tal como se muestra en la Figura 2. El orificio 32b es un orificio con válvulas que es posible usar para suministrar gas al cuerpo 22 y/o como un drenaje o salida del cuerpo. El mismo puede tener ambas funciones mediante la unión de una válvula de 3 posiciones o un tubo en forma de Y con válvulas, tal como válvulas de pinza en cada brazo de la Y para controlar el flujo (no mostradas). Un sistema adecuado para la válvula del orificio 32b es un conector LYNX®, comercializado por Millipore Corporation, de Billerica, Massachusetts, y mostrado en US 2005/0016620 A1.

Preferiblemente, uno o más de los orificios 32 del cuerpo están conformados en una ubicación que está dispuesta debajo del nivel de la interfaz líquido/gas normal del biorreactor.

Si así se desea, uno o más de los orificios 32a o b de las Figuras 1 y/o 2 pueden usarse para suministrar gases al interior del cuerpo. Es posible unir un filtro de fritas de plástico, tal como una membrana de microporos POREX®, o piedra cerámica o metal sinterizado, al interior del orificio dentro del cuerpo para obtener las burbujas de gas con un tamaño deseado. De forma alternativa, es posible usar un orificio 30a en la parte superior 16 para soportar un tubo que se extiende hacia abajo en el interior del cuerpo para obtener el suministro de gas. De nuevo, es posible usar un filtro de fritas o piedra cerámica o metal sinterizado para obtener el tamaño de burbuja deseado.

La Figura 3 muestra un biorreactor 2 con una parte superior 16 y un cuerpo 22 precintados entre sí y con el mecanismo 14 de agitación en su posición. El mecanismo de agitación está formado por un eje 40 y una o más palas 42. El ejemplo 40 se extiende a través del orificio 30c y está conectado al eje 20 del mecanismo 12 de transmisión (no mostrado). Preferiblemente, una o más juntas en el orificio 30c permiten el movimiento del eje 40 sin comprometer la integridad del precinto en el interior del cuerpo 22.

La Figura 4a muestra un agitador 14 y un cubo 50 de retención conformado en la parte inferior del cuerpo 22. El cubo 50 de retención dispone y soporta una parte del eje de modo que el eje no se desaloja durante el transporte, el almacenamiento o el uso. Además, un elemento opcional comprende unas paletas 43, tal como se muestra en la Figura 4a. Estas paletas pueden ser moldeadas en el interior de la superficie interior del cuerpo 22 y extenderse hacia el interior o pueden añadirse por separado después del moldeo. Las paletas 43 ayudan a dirigir el flujo y aseguran una mezcla adecuada en el interior del biorreactor 2.

Las Figuras 4b y c muestran un diseño alternativo del agitador 14. En esta realización, la línea de suministro de gas está integrada en el eje 40 de agitación. El eje 40 tiene una perforación 44 central hueca que discurre a través de al menos una parte del eje. En la parte inferior del eje 40, o junto a la misma, está dispuesta una salida 46 de gas que puede contener un filtro 52 de fritas, piedra cerámica o metal sinterizado para crear el tamaño de burbuja deseado. El gas entra en la perforación 44 a través del orificio 48 de gas en el orificio 30a. Uno o más conductos 54 de gas conectan la parte interior del orificio 30a a la perforación 44. Una o más juntas 56, en este caso, 2, tal como unas juntas tóricas, están montadas por encima y/o por debajo del orificio 48 de gas para asegurar que el gas fluye a través del orificio 48 y al interior de la perforación 44 a través del conducto o conductos 54 y no se escapa a la

atmósfera o compromete la integridad del cuerpo. En uso, el gas fluye desde un suministro al interior del orificio 48, luego al interior del conducto o conductos 54, y hacia la perforación central 44, hacia la salida 46 de gas en el eje y luego al volumen interior del cuerpo 22.

5 La Figura 6 muestra una realización de la parte superior 16 con algunas de las diversas configuraciones y estilos de orificio que son posibles en la presente invención. Por ejemplo, el orificio 30a puede ser un tipo de orificio con rosca en donde se enrosca una línea o sonda de gas o líquido con unas roscas correspondientes para crear un precinto estanco a líquidos.

10 Las Figuras 7a-c muestran otro tipo de racor de orificio. El racor 31 mostrado en la Figura 7c tiene un cierre 33 de leva. Este cierre de leva se corresponde con un soporte 35 de cierre de leva correspondiente en el orificio 30 (Figura 7b). El racor 31 se inserta en el orificio 30 alineando en primer lugar los cierres 33 de leva del racor 31 con la abertura 35 de leva del orificio 30. A continuación, se empuja hacia abajo y se gira para pasar sobre la rampa 37 de leva y finalizar asentado en el retén 39 de cierre de leva del orificio 30.

15 La Figura 8 muestra una realización alternativa de la presente invención que incorpora un mezclador magnético 101 en el interior del cuerpo 14 accionado de forma remota por una transmisión magnética 100 dispuesta en la superficie exterior del cuerpo 14.

20 La Figura 9 muestra una parte superior 16 alternativa de la invención con respecto a la mostrada en la Figura 6, por el hecho de que al menos una o más partes de la parte superior 16 incorporan unos ganchos 202 de tubo que pueden soportar los diversos tubos del sistema en una disposición organizada y ordenada. Preferiblemente, los ganchos 202 de tubo están conformados en un borde exterior 200 de la parte superior 16, aunque, si así se desea, parte o la totalidad de los mismos también pueden estar unidos a la superficie superior de la parte superior (no mostrado). En esta realización ilustrada se muestran cuatro ganchos 202, aunque es posible usar más o menos si así se desea. Preferiblemente, los mismos están moldeados como parte de la parte superior 16. De forma alternativa, los mismos pueden unirse por separado mediante una unión por fusión, una unión por disolvente o pegamentos, si así se desea. De forma similar, parte o la totalidad de los orificios 30b' y 30b'' pueden tener forma de racor estriado, tal como se muestra, en lugar de forma de orificios 30 o racores de tipo Luer, tal como se muestra en la Figura 6, cierres de leva, tal como se muestra en la Figura 7, u otros tipos de racores descritos más adelante y usados habitualmente por los expertos en la técnica. Los tubos unidos a un racor estriado, tal como 30b', pueden tener abrazaderas de tira, conectores como los mostrados en US 2008/0284163 A1 u otros dispositivos, o pueden unirse al racor estriado para mantener los tubos en su posición incluso cuando están sometidos a cualquier presión que puede producirse en el sistema.

35 La Figura 10 muestra una parte inferior 28 alternativa del biorreactor 2 con respecto a la mostrada en las Figuras 1-3. En esta realización, en lugar de usar el pie 6, la pared 204 exterior inferior tiene dos o más, preferiblemente, tres o cuatro, lengüetas 206 de bloqueo, moldeadas como un elemento de la pared 204 exterior inferior o conformadas por separado y unidas a la pared 204 exterior inferior, por ejemplo, mediante unión térmica, unión por disolvente o pegamento.

40 Las lengüetas 206 de bloqueo de la pared 204 exterior inferior se corresponden con unos elementos 208 de bloqueo correspondientes de un soporte inferior 210 mostrado en la Figura 11. El biorreactor se dispone en el interior del soporte 210 y las lengüetas 206 de bloqueo de la pared 204 exterior inferior se unen a los elementos 208 de bloqueo del soporte 210. Esto fija el biorreactor 2 al soporte 210 para que el biorreactor 2 se mantenga en posición vertical de manera segura, tal como se muestra en la Figura 12. De forma adicional, si así se desea, es posible conformar una o más ranuras abiertas 212 en el soporte 210, de modo que cualquier tubo u otro elemento que se extiende hacia fuera desde el biorreactor 2 cuando el biorreactor y el soporte están unidos puede alojarse sin extracciones o pinzamientos. Tal como se muestra, las lengüetas y los elementos 206, 208 son dispositivos de tipo roscado. No obstante, son posibles otras formas, tales como cierres de leva y soportes de cierre de leva, usadas en algunas de las realizaciones de orificio descritas anteriormente. El elemento de bloqueo permite al usuario final retirar la base del receptáculo y reciclarlo fácilmente, ya que la base no está en contacto con el medio de cultivo y, por lo tanto, no es necesario esterilizarla.

55 Racores tales como racores de compresión y soldadura de tubos, racores estriados y roscas de tubería, al moldearse directamente en el cuerpo, reducen el volumen ocupado y simplifican el sistema. Dichos componentes son bien conocidos y las cubiertas, conectores, septos para muestreo (también denominados orificios de aguja perforables), válvulas antirretorno u otro tipo de válvulas y similares, de tipo Luer o de otro tipo; los racores Luer Lok®; y similares pueden obtenerse fácilmente para su correspondencia con estos orificios, siendo comercializados por varias empresas, tales como Value Plastics, Inc, de Fort Collins, Colorado.

60 Polímeros adecuados que es posible usar para formar la parte superior y el cuerpo incluyen, aunque no de forma limitativa, policarbonatos, poliésteres, nilones, resinas de PTFE y otras resinas de fluoropolímero, acrílicas y metacrílicas y copolímeros, polisulfonas, polietersulfonas, poliarilsulfonas, poliestirenos, polieterimidias, nilones, poliésteres, tereftalatos de polietileno (PET), cloruros de polivinilo, cloruros de polivinilo clorados, ABS y sus aleaciones y mezclas, poliolefinas, preferiblemente polietilenos tales como polietileno de baja densidad lineal,

polietileno de baja densidad, polietileno de alta densidad y polietileno de ultra alto peso molecular y copolímeros del mismo, polipropileno y copolímeros del mismo y poliolefinas de generación de metaloceno.

Los polímeros preferidos son poliolefinas, en particular polietilenos y sus copolímeros; poliestirenos; y policarbonatos. La parte superior y el cuerpo pueden estar hechos del mismo polímero o de diferentes polímeros si así se desea.

Asimismo, los polímeros pueden ser claros u ópticamente opacos o impermeables a la luz. Al usar polímeros opacos o impermeables a la luz, es preferido que su uso se limite a las paredes laterales, de modo que sea posible usar escáneres o lectores ópticos en la parte inferior para detectar los diversos parámetros del líquido en el interior del biorreactor.

La mayor parte de los biorreactores de la presente invención están moldeados por inyección, aunque los mismos pueden ser conformados por rotación si es necesario un cuerpo con camisa o se incorporan elementos únicos que se obtienen mejor mediante técnicas de moldeo por rotación.

Una ventaja adicional de un cuerpo de plástico moldeado o rígido consiste en que es posible unir fácilmente camisas de calentamiento o enfriamiento al mismo.

En la práctica, el cuerpo está diseñado según se desea, preferiblemente con un borde abierto sustancialmente plano, extendiéndose una pared lateral circular hacia abajo desde el borde y finalizando en una parte inferior redondeada, tal como se muestra en la Figura 1. Preferiblemente, el cuerpo se realiza en plástico moldeado, tal como poliestireno, preferiblemente con parte o la totalidad de los orificios deseados, incluyendo uno o más orificios conformados en la pared lateral y, más preferiblemente, con uno o más orificios conformados en la pared lateral en un nivel por debajo del nivel de líquido/aire previsto. La parte superior se moldea por separado con parte o la totalidad de sus orificios deseados moldeados en su posición. En numerosas aplicaciones de moldeo, los orificios contendrán en realidad una rebaba o estarán cerrados por una capa de plástico delgada que debe ser retirada para abrir los orificios. De forma alternativa, tal como se ha descrito anteriormente, los orificios pueden ser conformados después de su moldeo perforando agujeros en las ubicaciones adecuadas e incorporando racores de orificio en su posición de manera estanca a líquidos.

Tapones, tales como diversos racores Luer, incluyendo tapones roscados, cubiertas de septo de tipo Luer, tapones Luer Lok, tapones Luer cerrados o roscados de otro tipo, obturadores, tubos unidos a los orificios conformados con racores estriados y similares se unen al orificio u orificios.

En caso de usarse, el eje 40 de agitación con un impulsor o impulsores 42 se inserta en el orificio 30 en la parte superior 16 y la parte inferior del eje 40 queda centrada y retenida en el interior del cubo 50. La parte superior 16 se precinta a continuación con respecto al cuerpo 22, por ejemplo, mediante los ganchos 24 o mediante precintado térmico o adhesivo.

Dependiendo del tipo de sonda y de la técnica de esterilización seleccionada, es posible incorporar y precintar en su posición una o más de las sondas en este momento.

A continuación, el biorreactor cerrado se esteriliza, se envasa y se envía al usuario.

El biorreactor puede ser esterilizado mediante numerosas técnicas diferentes. Lo más habitual sería hacerlo mediante radiación, especialmente con radiación gamma y, en menor medida, radiación beta. En esta realización, numerosas sondas no son estables con radiación gamma, y deberían montarse asépticamente en el biorreactor en las instalaciones del usuario.

Otro método consiste en usar gases, tales como óxido de etileno. En este tipo de esterilización, sería posible usar los diversos orificios para suministrar el gas y retirarlo a continuación del interior del biorreactor. El orificio u orificios pueden ser dedicados o pueden ser utilizados posteriormente con otra función, tal como para drenaje y/o movimiento de líquido/aire.

De forma alternativa, el dispositivo puede ser esterilizado por autoclave mediante vapor y, preferiblemente, con vapor súper caliente y presión. En esta realización, una abertura de evacuación (no mostrada) para retirar el vapor resultaría una incorporación útil para uno de los orificios (30 o 32).

El dispositivo estéril se dispone en el interior del pie y las diversas conexiones para aire, líquido, sondas, muestreo, etc., se unen al dispositivo en los orificios adecuados. El dispositivo se llena con un medio hasta un nivel deseado, formando una interfaz líquido/aire en una ubicación debajo de donde la parte superior 16 se une al cuerpo 22 para dejar un espacio superior de gas, tal como resulta habitual en dichos dispositivos. Al menos un orificio 32 queda dispuesto debajo del nivel de la interfaz.

A continuación, se aplica en el medio el organismo a cultivar, ya sea una planta, una célula animal (células CHO o

NSO, por ejemplo), virus, levadura, moho o bacterias (tal como E. coli) y el líquido circula y el aire/gases se introducen en el dispositivo y se extraen del mismo para fomentar de manera eficaz el crecimiento del cultivo en su interior.

- 5 Tras un periodo de tiempo adecuado, las células pueden ser recogidas, retirando el líquido, dejando detrás las células, o, en el caso en donde las células deben romperse para recuperar el producto deseado, retirando las células y rompiéndolas a continuación o rompiéndolas en el dispositivo y retirando la masa fracturada para su procesamiento adicional. Asimismo, con el gran número de orificios disponibles, sería posible usar el dispositivo para utilizar un reactor de perfusión en donde pequeñas cantidades de células o producto explícito se retiran de manera
- 10 continua para su procesamiento adicional mientras las células en el interior del dispositivo siguen creciendo y produciendo el producto deseado.

Una vez el proceso ha finalizado, el dispositivo se drena y todas las conexiones se retiran, y los orificios del dispositivo se precintan. A continuación, el mismo se desecha de forma adecuada, tal como mediante incineración.

15

REIVINDICACIONES

1. Biorreactor (2) para cultivar, fermentar o procesar una biomasa, que comprende:

- 5 una carcasa esterilizada previamente desechable que tiene una parte superior (16; 16a) y un cuerpo (22),
teniendo el cuerpo (22) un espacio interior, en donde la carcasa es rígida por estar realizada en un plástico
moldeado o es semirrígida por estar realizadas la parte superior (16a) y una parte inferior (28a) en plástico
moldeado y por estar realizada una pared lateral (26a) en un plástico flexible; y
10 uno o más orificios (30, 32) conformados en la parte superior (16; 16a) y/o el cuerpo (22), respectivamente,
de la carcasa y en comunicación de fluidos con el espacio interior del cuerpo (22);
en donde el cuerpo (22) está unido de forma estanca a la parte superior (16; 16a) mediante un precinto
mecánico formado por un precinto de caucho y ganchos o abrazaderas (24), y
en donde al menos un orificio (30, 32) está dispuesto en el cuerpo (22) en un nivel por debajo de una interfaz
líquido/aire normal de la carcasa.
- 15 2. Biorreactor según la reivindicación 1, en donde el orificio u orificios (30, 32) están moldeados en la parte superior
(16) y/o el cuerpo (22), respectivamente.
- 20 3. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde al menos uno del orificio u orificios (30,
32) tiene un tapón para aislar el espacio interior del cuerpo (22) con respecto al entorno.
4. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además un eje (40) de agitación
con una o más palas (42) montadas en el interior del cuerpo (22) de la carcasa.
- 25 5. Biorreactor según la reivindicación 4, en donde el eje (40) de agitación contiene un componente magnético que
interactúa con una transmisión magnética dispuesta fuera del cuerpo (22) en una ubicación sustancialmente en
paralelo con respecto al componente magnético del eje (40) de agitación.
- 30 6. Biorreactor según la reivindicación 4 o 5, en donde el eje (40) de agitación se extiende a través de la parte
superior (16) de la carcasa a través de un orificio (30a) y está precintado de forma estanca a líquidos en el orificio
(30a) mediante una o más juntas (56).
- 35 7. Biorreactor según la reivindicación 4, 5 o 6, que comprende además un cubo (50) de retención dispuesto en una
superficie inferior del espacio interior del cuerpo (22) para retener un extremo inferior del eje (40) de agitación.
- 40 8. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además un impulsor (101) que
tiene un componente de conexión magnética montado en el interior del cuerpo (22) de la carcasa y un componente
de transmisión magnética dispuesto en una superficie exterior del cuerpo (22) adyacente al impulsor (101) para
accionar de forma remota el impulsor (101) en el interior del cuerpo (22).
9. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el cuerpo (22) incluye un orificio
adyacente a una parte del cuerpo (22) más alejada de la parte superior (16) y el orificio más alejado de la parte
superior incluye un difusor de aire.
- 45 10. Biorreactor según la reivindicación 9, en donde el difusor de aire está moldeado en el interior del cuerpo (22) o
está retenido selectivamente en el interior del cuerpo (22).
- 50 11. Biorreactor según la reivindicación 9 o 10, en donde el difusor de aire está formado por una frita seleccionada del
grupo que comprende fritas de plástico, cerámica y metal.
12. Biorreactor según la reivindicación 9, 10 o 11, en donde el orificio adyacente a la parte del cuerpo (22) más
alejada de la parte superior (16) que incluye el difusor de aire está conectado o es conectable a una línea de gas en
la parte exterior del cuerpo.
- 55 13. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el orificio u orificios (32) del cuerpo
(22) están conectados cada uno a un racor seleccionado del grupo que comprende racores Luer y racores estriados.
- 60 14. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el orificio u orificios (32) del cuerpo
(22) están conectados cada uno a un/el racor y contienen un dispositivo seleccionado del grupo que consiste en una
válvula antirretorno y un dispositivo de muestreo, un septo de muestreo, una aguja para perforar el septo, teniendo la
aguja una parte de perforación frontal y una parte posterior, teniendo la aguja un lumen hueco que va de la parte
frontal de perforación a la parte posterior, estando conectada la parte posterior a un tubo que, a su vez, está
conectado o es conectable a un contenedor de muestras.
- 65 15. Biorreactor según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde una pared exterior de una parte
inferior de la carcasa tiene dos o más lengüetas (206) de bloqueo y el biorreactor comprende además un pie (210)

que tiene dos o más elementos (208) de bloqueo que interactúan con las lengüetas (206) de bloqueo de la carcasa para soportar la carcasa en el pie (210) de manera vertical y segura.

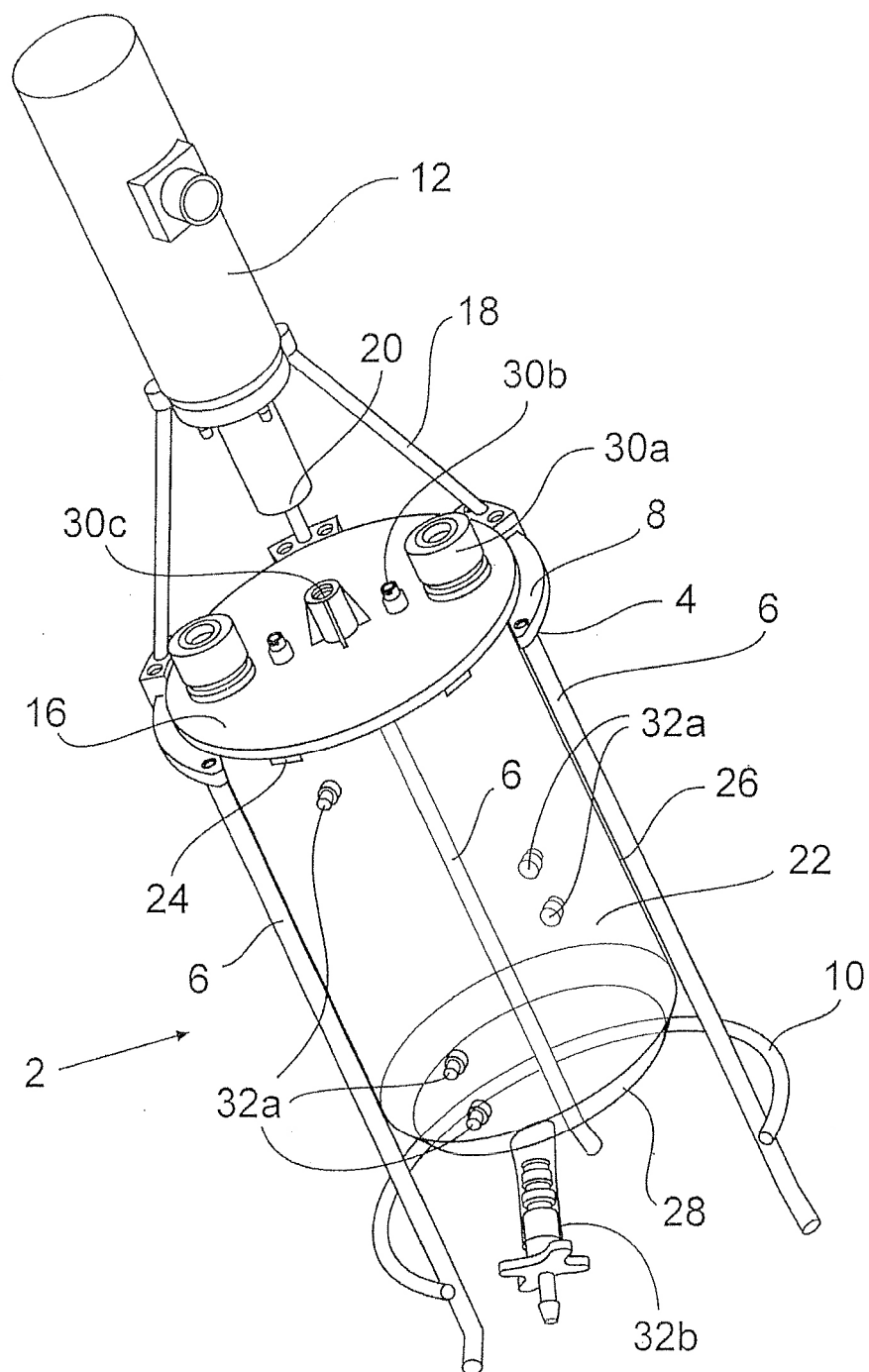


Figura 1

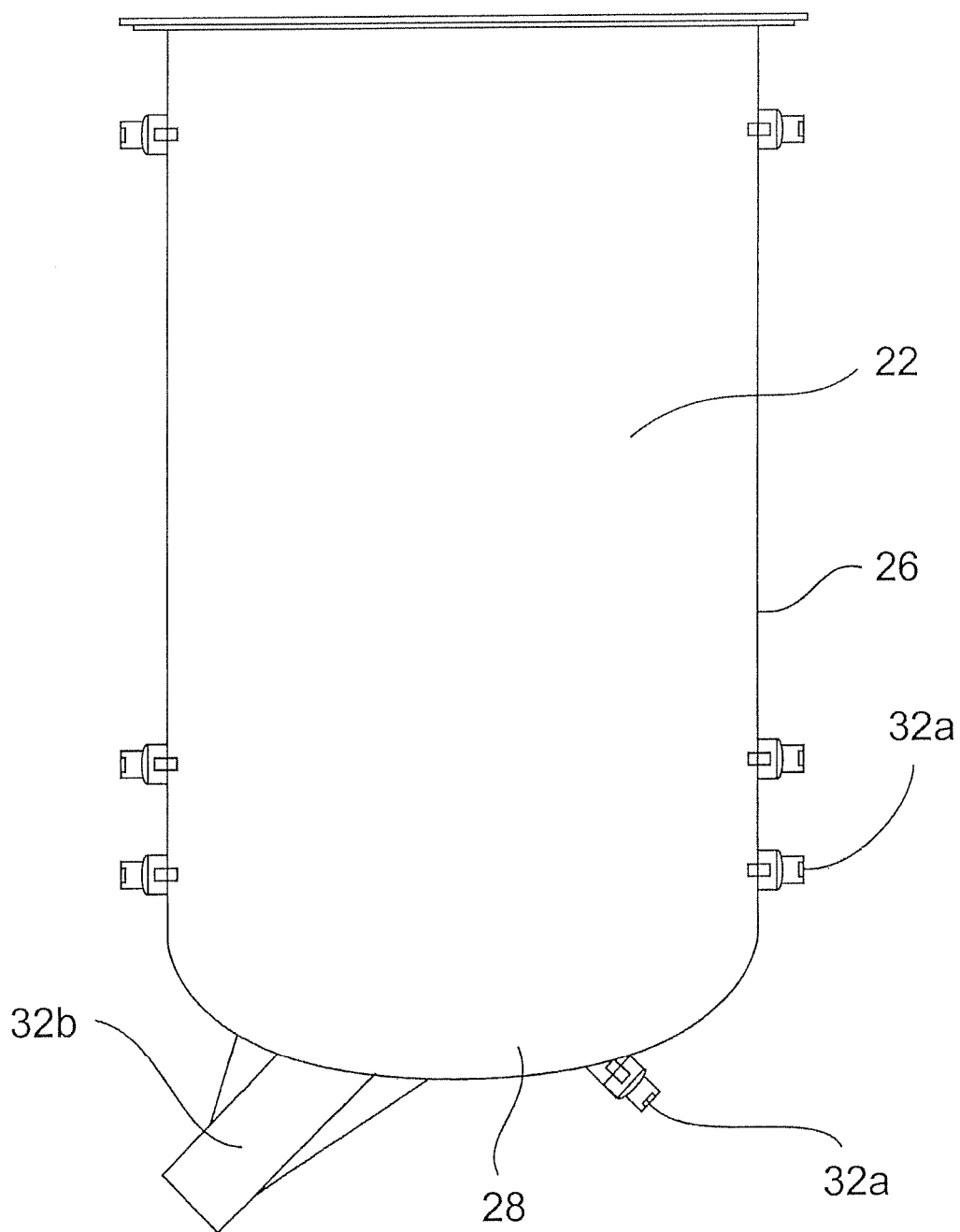


Figura 2

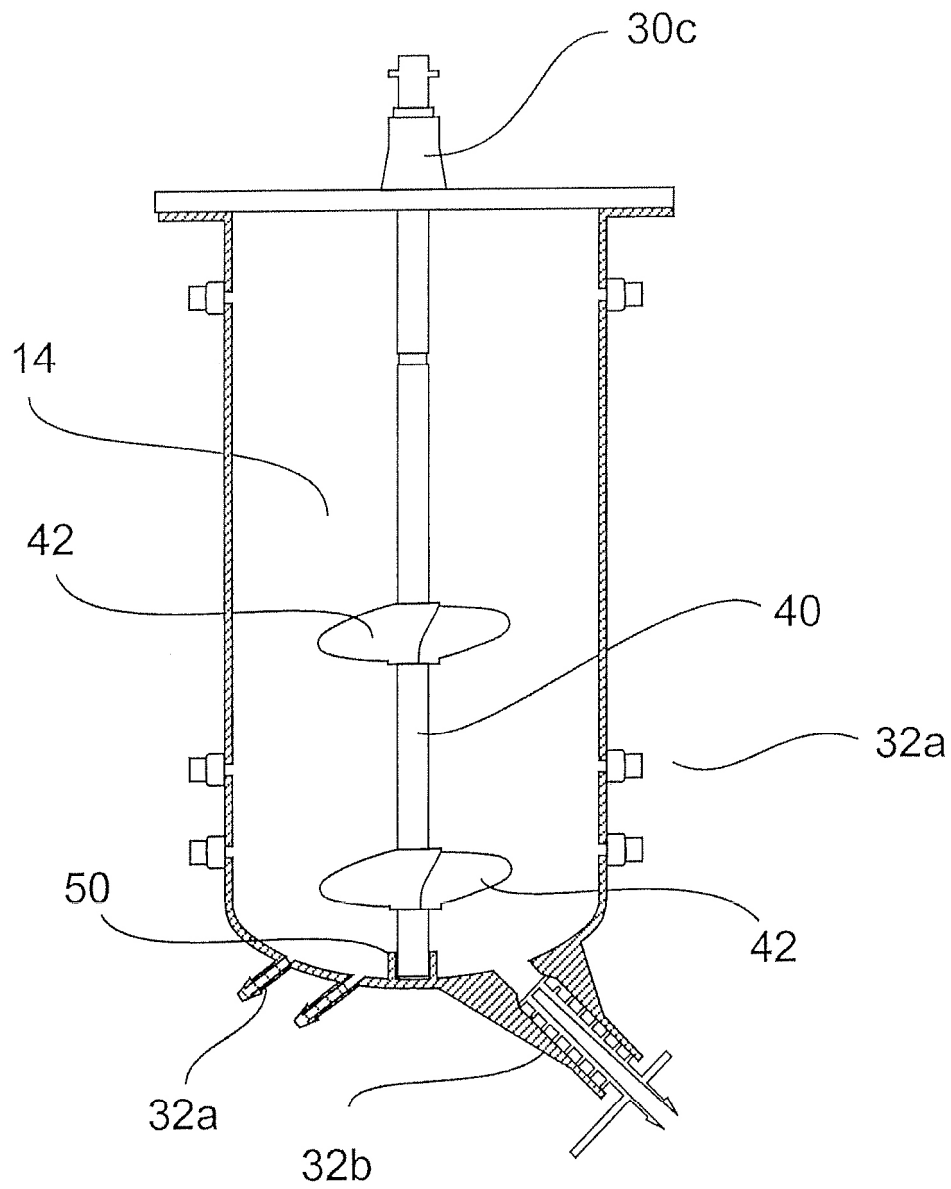


Figura 3

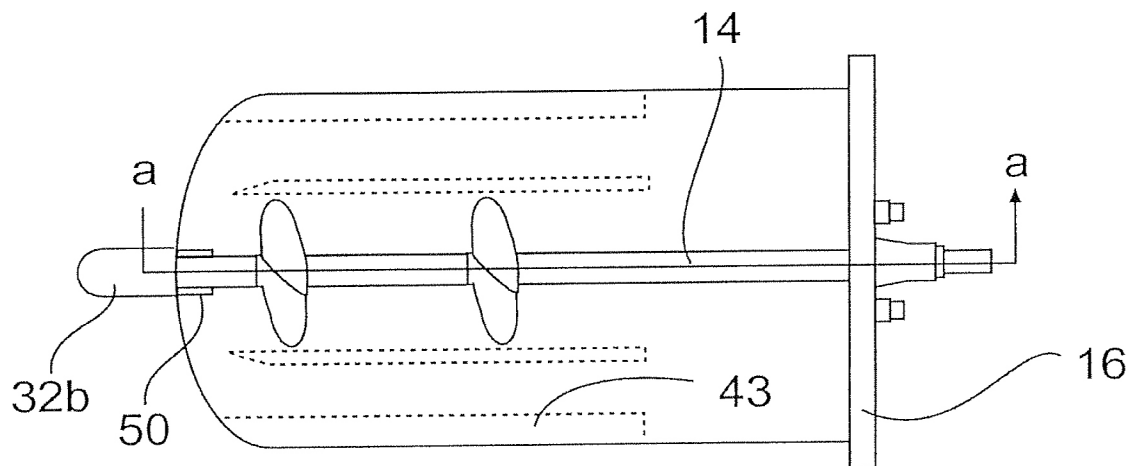


Figura 4a

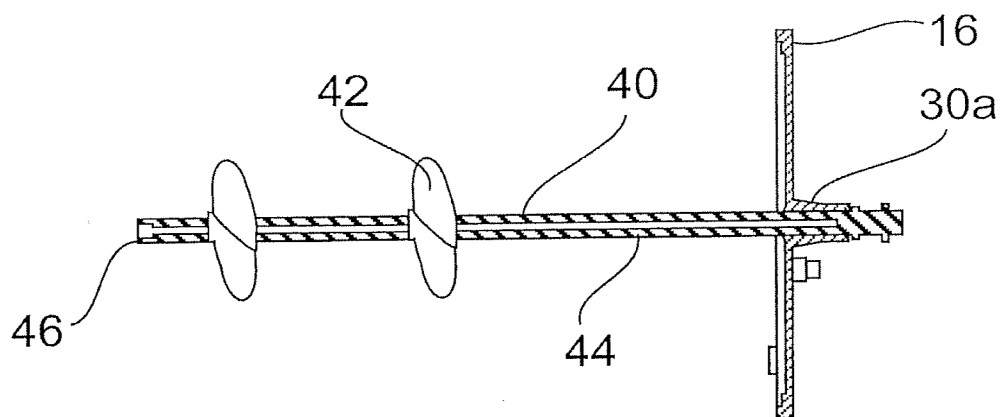


Figura 4b

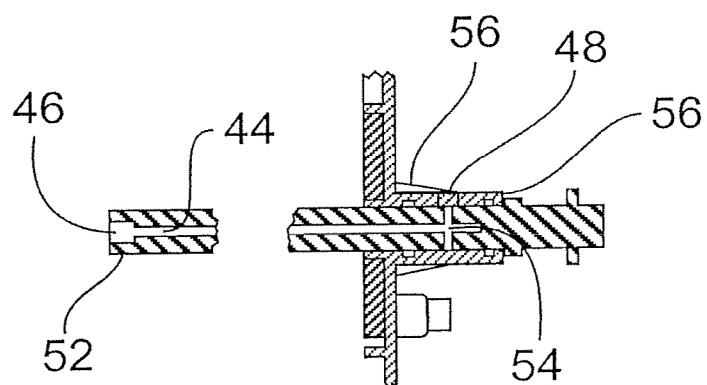


Figura 4c

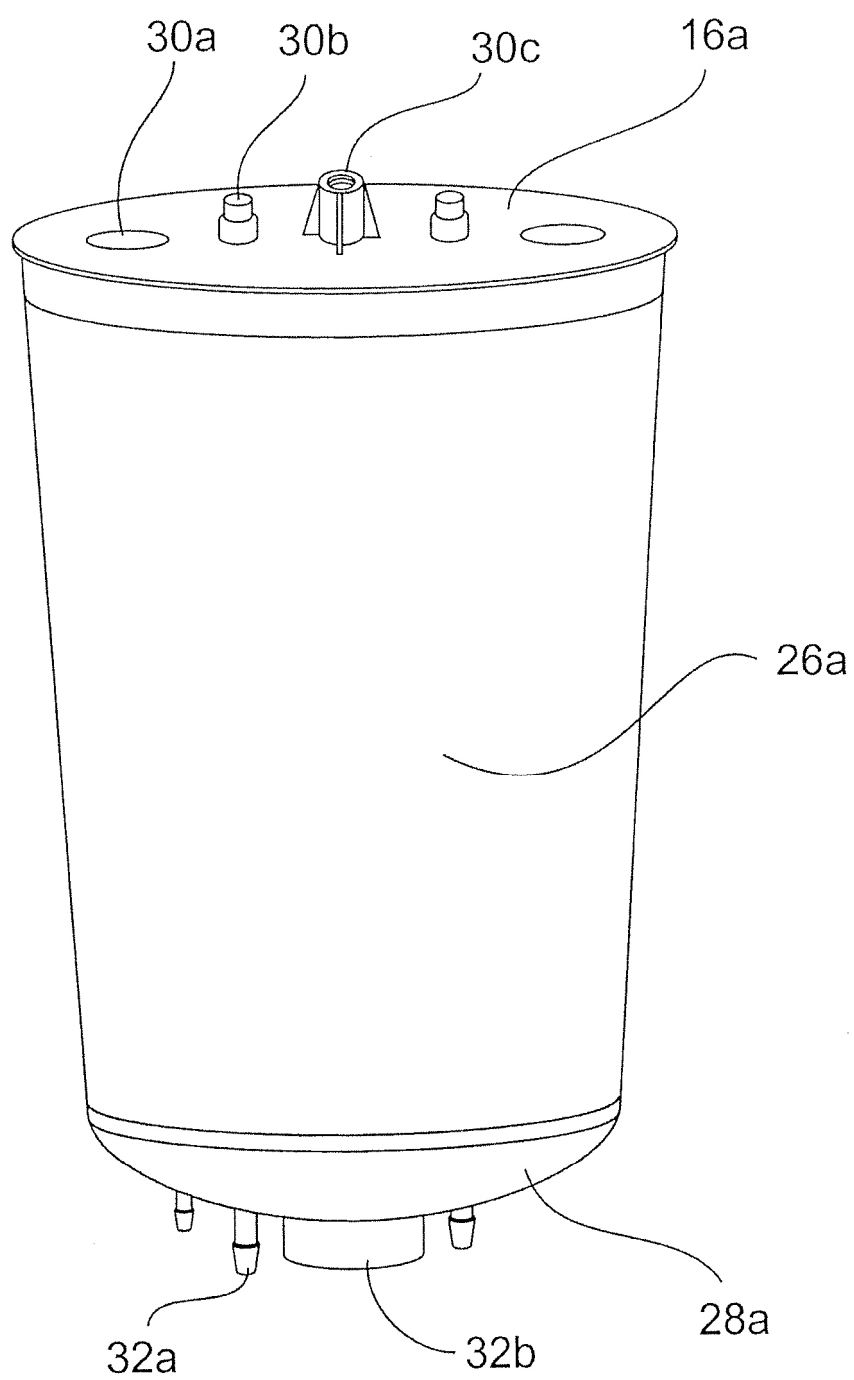


Figura 5

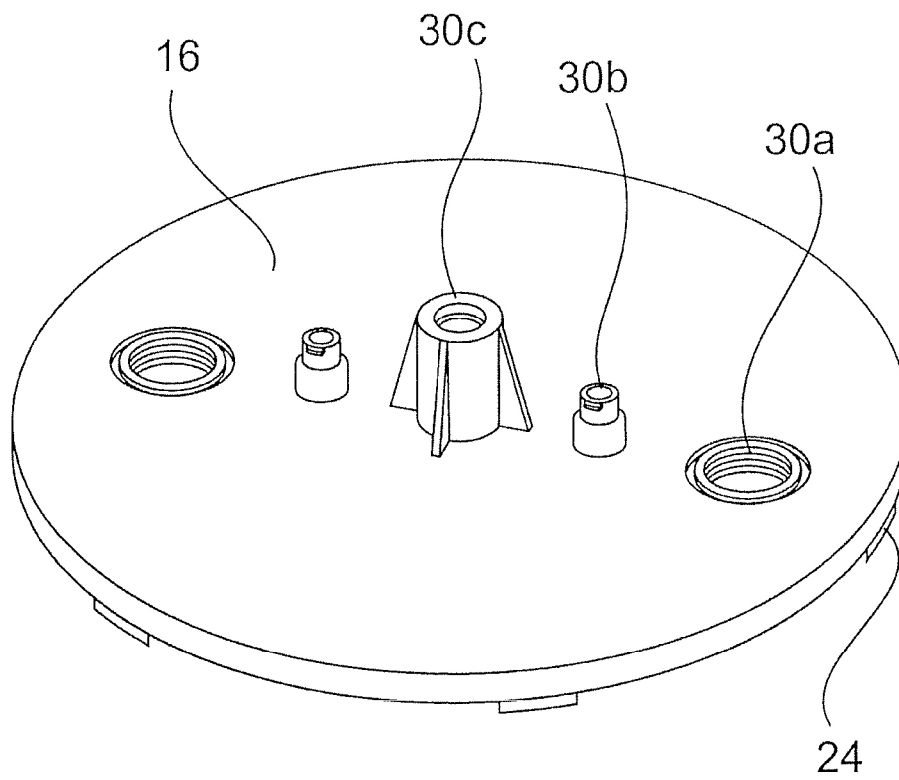


Figura 6

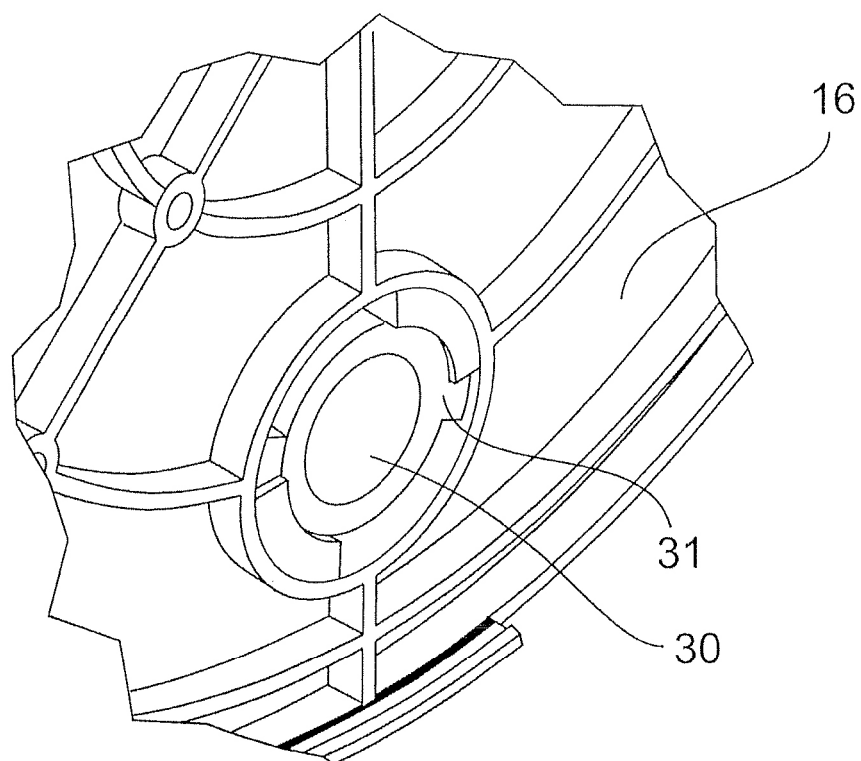


Figura 7a

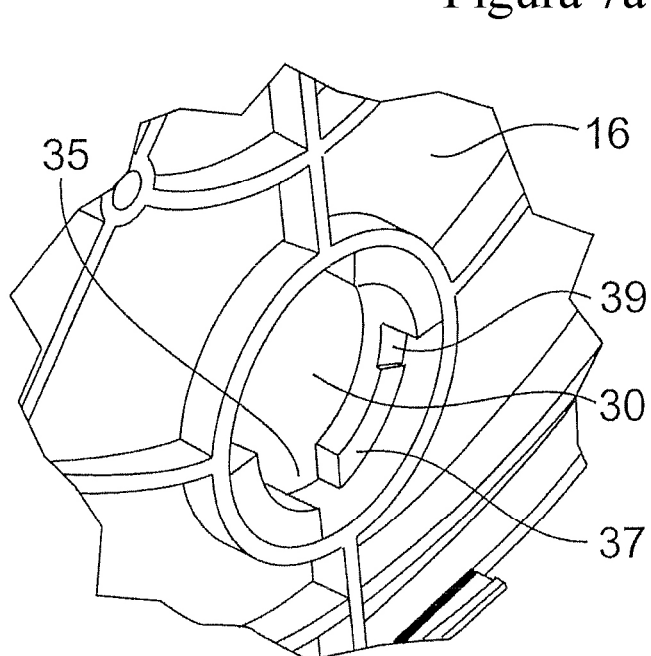


Figura 7b

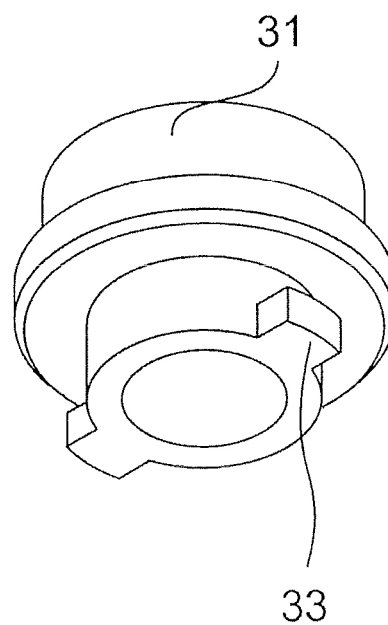


Figura 7c

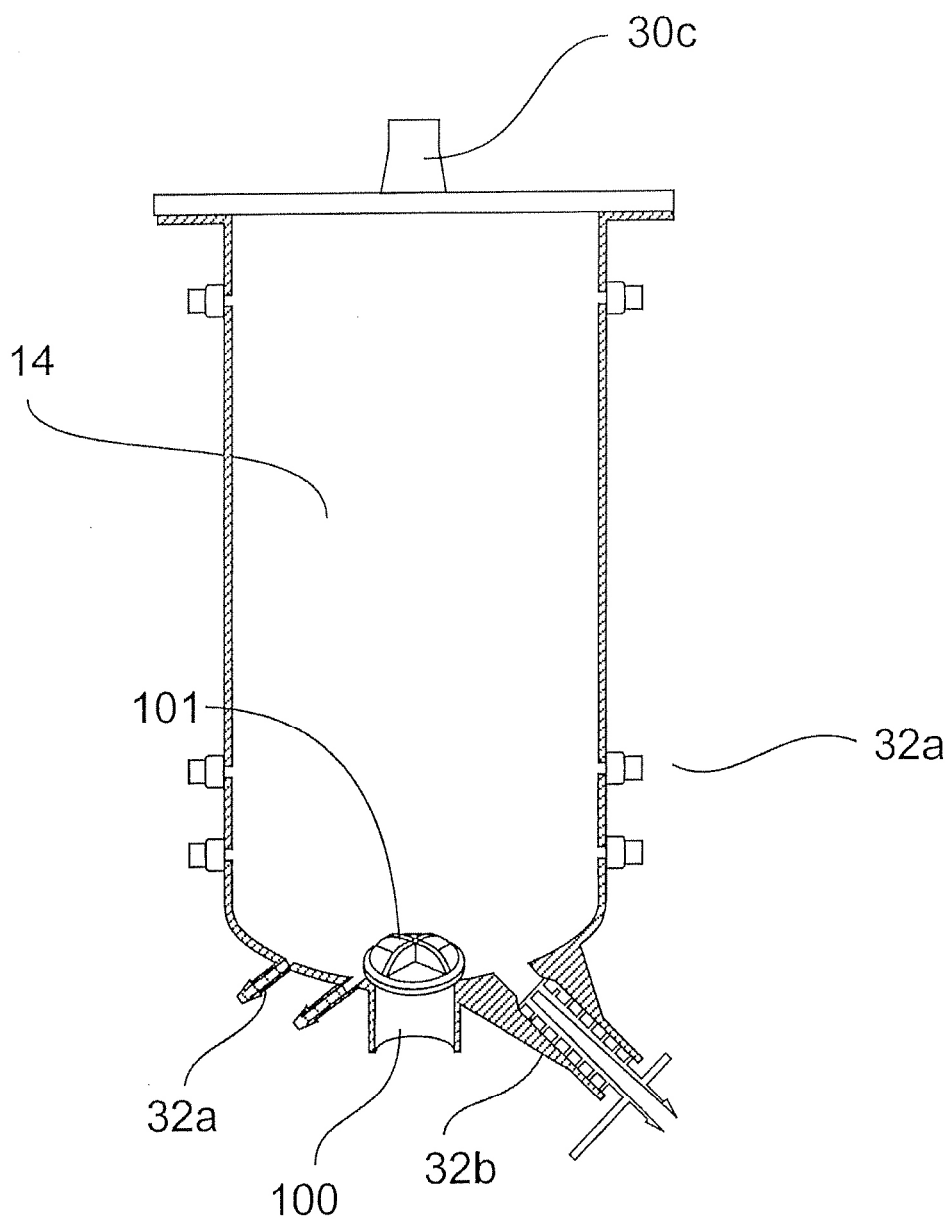


Figura 8

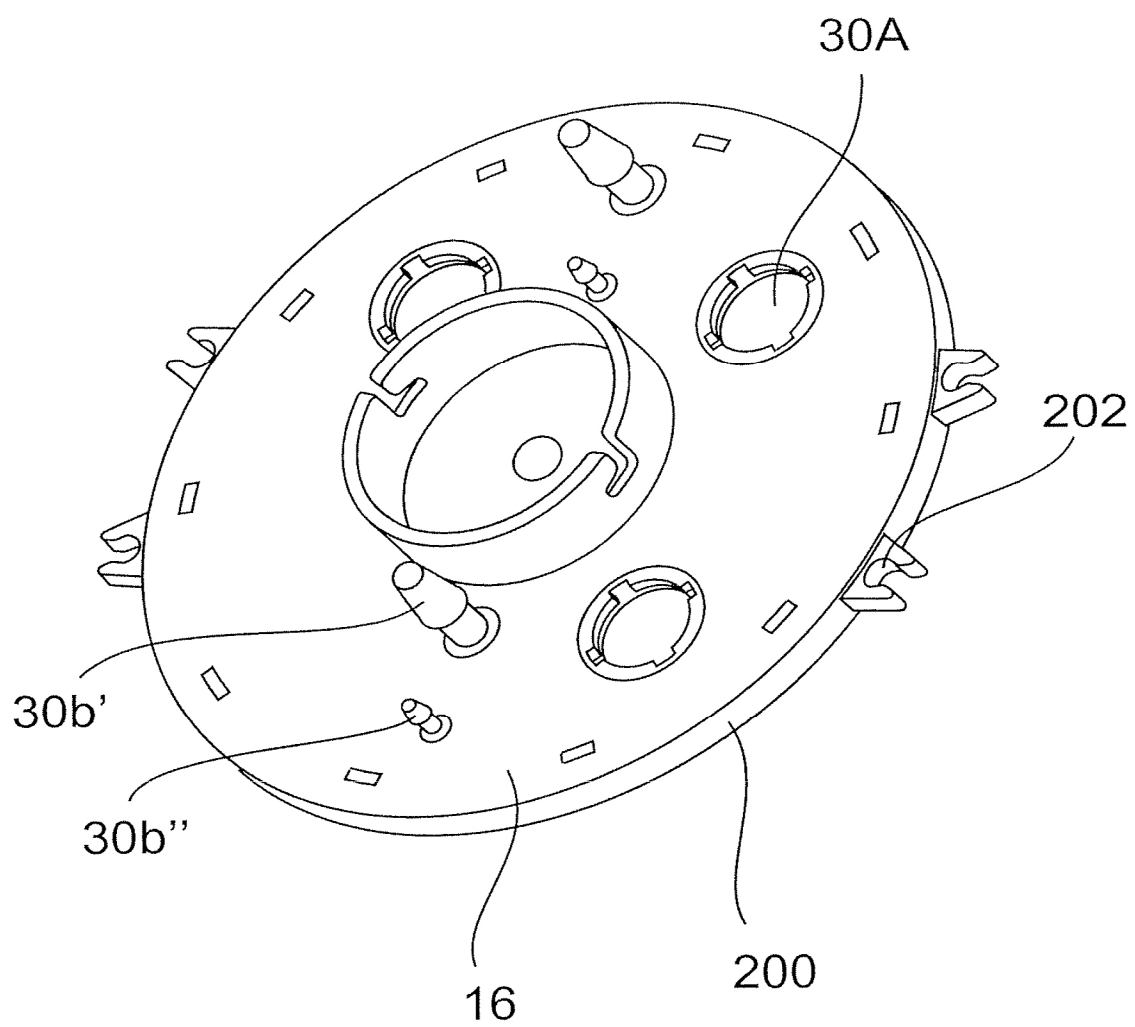


Figura 9

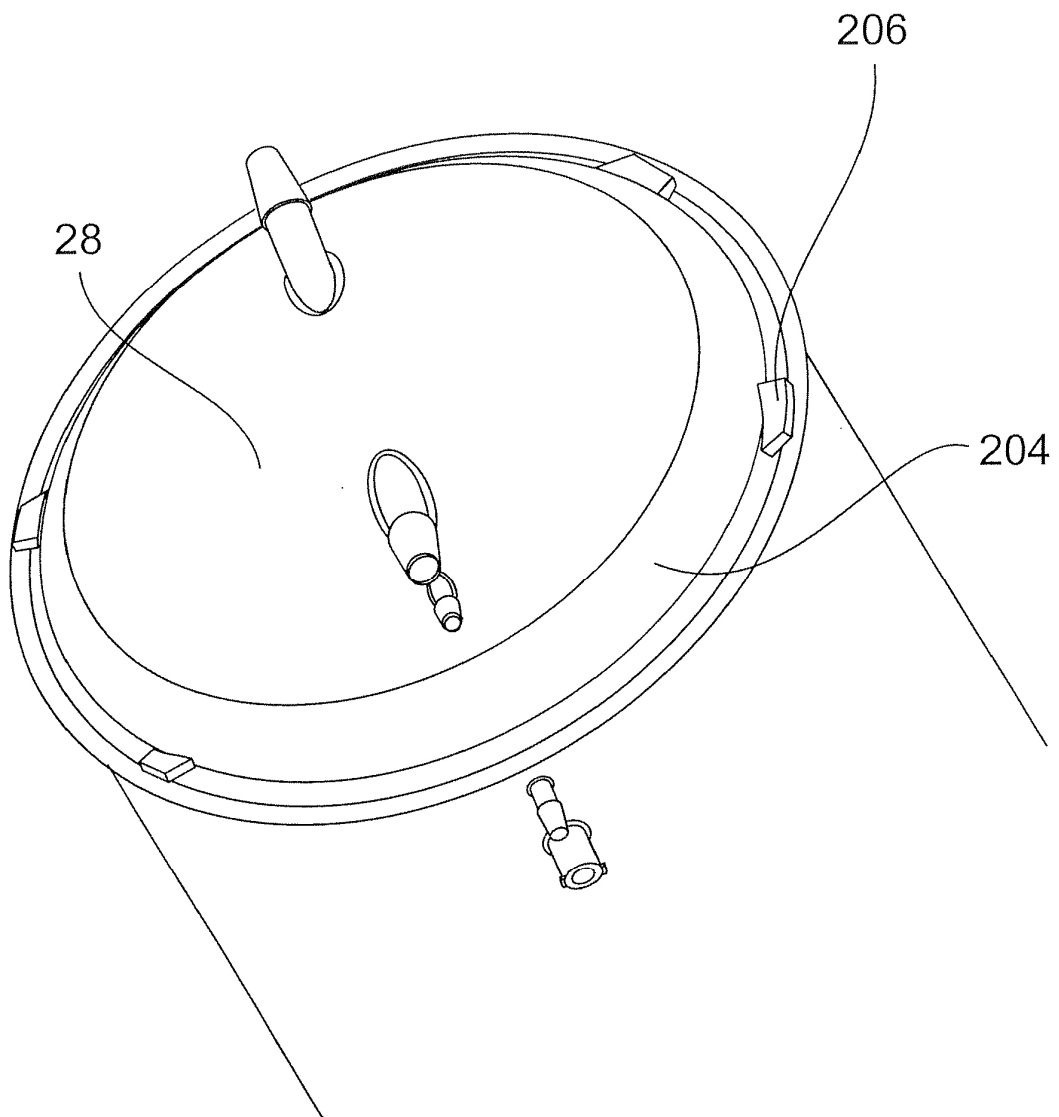


Figura 10

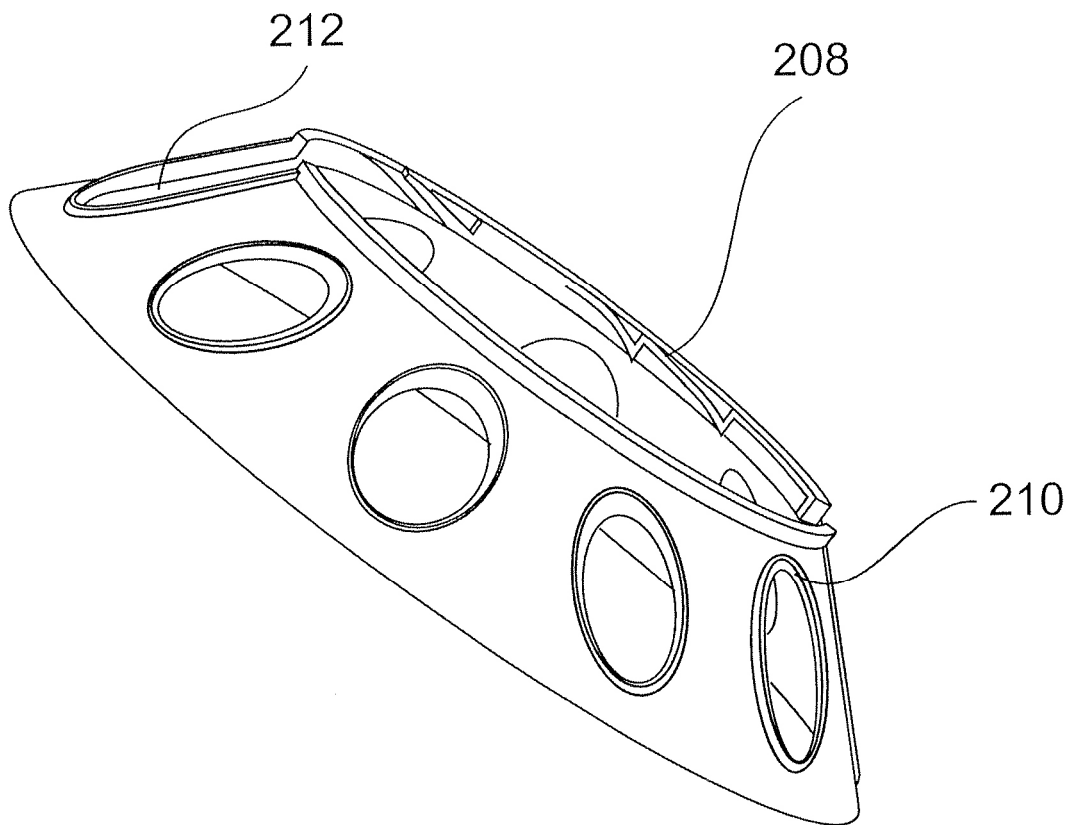


Figura 11

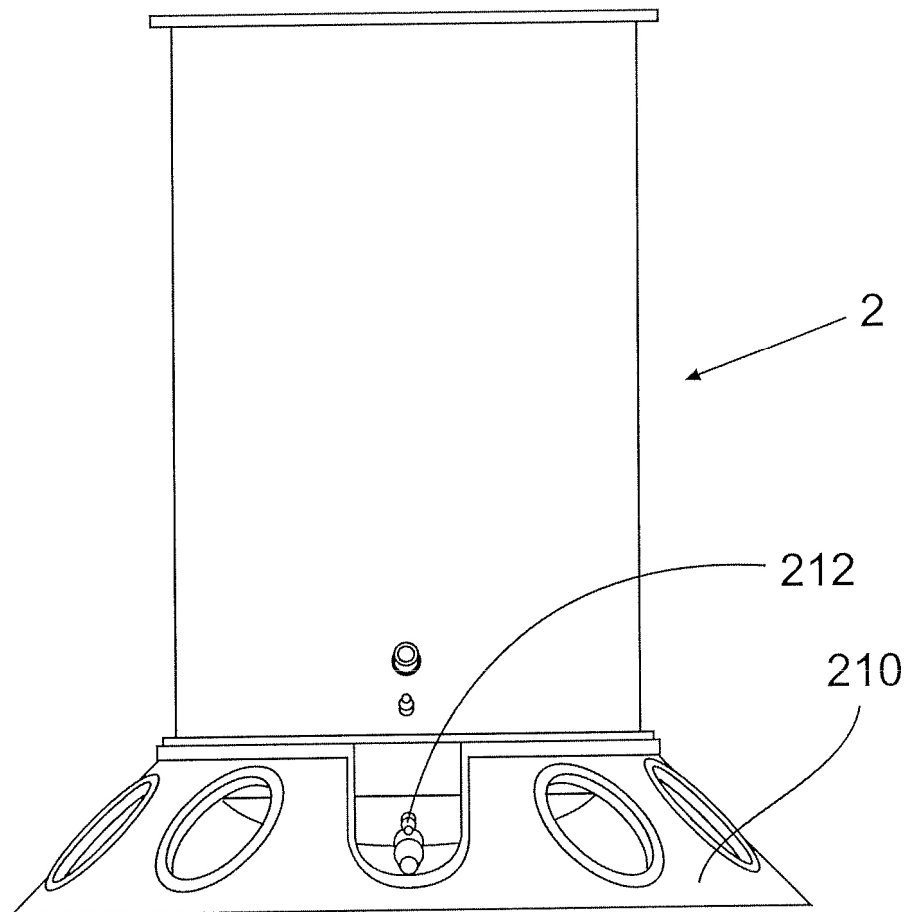


Figura 12