



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102018012631-8 A2



(22) Data do Depósito: 20/06/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 24/12/2019

(54) Título: DISPOSITIVO, MÉTODO E SISTEMA DE CULTIVO CELULAR

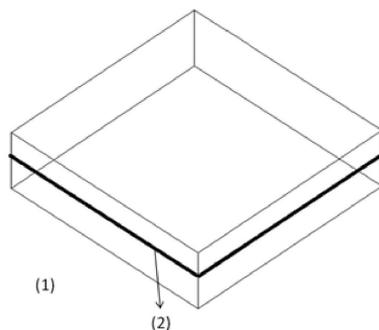
(51) Int. Cl.: C12M 3/00.

(52) CPC: C12M 3/00.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL.

(72) Inventor(es): LEONARDO FRANCISCO DIEL; BIBIANA FRANZEN MATTE; MARCELO LAZZARON LAMERS.

(57) Resumo: DISPOSITIVO, MÉTODO E SISTEMA DE CULTIVO CELULAR A presente invenção descreve um dispositivo de cultivo celular, um método de utilização deste dispositivo e um sistema de cultivo celular que compreende este dispositivo para troca contínua dos insumos presentes no meio de cultivo celular. Especificamente, a presente invenção compreende mecanismo que permite a troca automatizada contínua de meio de cultura celular através de infusão, e permite sua drenagem por sucção a vácuo. Ainda, permite que o meio se perfunda entre a matriz utilizada para culturas celulares bidimensionais e culturas tridimensionais, também chamadas de organotípicas, propiciando ambiente semelhante ao fisiológico. A presente invenção se situa nos campos da medicina, biologia e áreas farmacêuticas.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

DISPOSITIVO, MÉTODO E SISTEMA DE CULTIVO CELULAR

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção descreve um dispositivo de cultivo celular, um método de utilização deste dispositivo e um sistema de cultivo celular que compreende este dispositivo que permite a circulação contínua do meio de cultura e sua drenagem. A presente invenção se situa nos campos da medicina, biologia e áreas farmacêuticas.

Antecedentes da Invenção

[0002] O cultivo celular é uma prática muito difundida utilizada para avaliar o comportamento celular, análise de diferentes doenças, teste de novas drogas ou cosméticos entre outros. As técnicas para cultivo necessitam de recipientes para acomodar as células e um meio líquido que contém os nutrientes necessários para o desenvolvimento, replicação e organização das células. A necessidade de deposição e troca do meio de cultura celular ocorre tanto em culturas celulares bidimensionais e tridimensionais ou organotípicas. O processo de troca deste meio é realizado manualmente sobre as células em diferentes intervalos de tempo, que pode ocorrer diariamente ou em intervalos maiores. Isto gera um maior gasto de tempo, maior risco de contaminação da cultura, dificuldade de acesso aos nutrientes para células localizadas em níveis mais baixos de culturas tridimensionais e baixa padronização da disponibilização de reagentes, visto que ocorre uma diminuição gradativa dos nutrientes e/ou fármacos disponíveis para as células com o passar do tempo de cultivo.

[0003] Na busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária, foram encontrados os seguintes documentos que tratam sobre o tema:

[0004] O documento Falcon® Product Selection Guide revela garrafas de cultura ou placas para cultura celular, com diversos tamanhos e capacidades

para deposição de células para cultivo celular. Nas placas, as células são depositadas juntamente com o meio de cultura, que fica sobre as células, sendo trocado manualmente. Existem ainda biorreatores para cultivo celular, utilizados quando se necessita de um cultivo em ampla escala, utilizados principalmente para produção de proteínas e outros derivados celulares. Estes equipamentos possuem um sistema de injeção e remoção de meio na superfície da cultura, o que dificulta difundi-lo por toda a cultura e não permitem a circulação contínua deste meio.

[0005] Os documentos WO2017122658-A1, WO2016157378-A, WO2016133209-A1, US2015344833-A1, JP2007020411 A, US5424209 e WO2013069309 A1 revelam dispositivos que se propõem ao cultivo celular e realizam uma troca automatizada do meio. O método de troca de meio proposto por estes documentos se baseia na deposição de meio sobre as células e remoção realizada por uma descarga acionada quando o meio atinge determinado nível. Estas soluções, entretanto, não permitem a circulação contínua de meio e sua deposição sobre as células dificulta difundi-lo por toda a cultura.

[0006] Os documentos DE2812640 A1 e DE2813389 A1 revelam um dispositivo que faz a troca do meio através de um sistema de pipetagem automático. Sua deposição sobre as células, entretanto, dificulta difundir o meio por toda a cultura.

[0007] Os documentos WO2005059088 A1, GB0914195 D0, EP0866119 A2 e CN1900265 A revelam uma espécie de placa para cultura de celular, mas que não se dispõe a realizar uma troca automatizada do meio.

[0008] Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

[0009] É ausente no estado da técnica um dispositivo que permite a troca automatizada de meio, por circulação contínua do meio de cultura, através de

infusão, e uma remoção mecânica deste por sucção a vácuo e, além disso, permita que o meio se perfunda entre a base utilizada para culturas celulares tridimensionais, também chamadas de organotípicas, propiciando ambiente semelhante ao encontrado fisiologicamente.

Sumário da Invenção

[0010] Dessa forma, a presente invenção tem por objetivo resolver os problemas constantes no estado da técnica a partir de um dispositivo de cultivo celular, um método de utilização deste dispositivo e um sistema de cultivo celular que compreende este dispositivo que permite a troca automatizada contínua de meio de cultura celular através de infusão, e permite sua drenagem por sucção a vácuo. Ainda, permite que o meio se perfunda entre a matriz utilizada para culturas celulares bidimensionais e culturas tridimensionais, também chamadas de organotípicas, propiciando ambiente semelhante ao fisiológico.

[0011] Em um primeiro objeto, a presente invenção apresenta um dispositivo de cultivo celular que compreende ao menos:

- a. base(1);
- b. conjunto de canalículos; e
- c. tampa(7);

em que,

- a base (1) possui ressalto de acomodação (2) da tampa (7);
- a base (1) possui orifícios (3) de passagem dos canalículos;
- o conjunto de canalículos possui canalículos de circulação e canalículos de drenagem;
- os canalículos de circulação possuem região de entrada (4), região com micro-orifícios (15) e região de saída (5);
- os canalículos de drenagem possuem região de saída (6) e região com micro-orifícios (16);
- a tampa (7) possui geometria de encaixe vedado na base (1).

[0012] Em um segundo objeto, a presente invenção apresenta um método

de cultivo celular implementado em um dispositivo de cultivo celular conforme definido anteriormente e que compreende ao menos as etapas de:

- a. seleção da vazão do meio de cultura celular;
- b. injeção automatizada e contínua do meio de cultura na entrada de canalículos de circulação;
- c. perfusão do meio de cultura pelos micro-orifícios dos canalículos de circulação;
- d. saída automatizada e contínua do meio de cultura na saída de canalículos de circulação;
- e. drenagem do meio de cultura pelos micro-orifícios dos canalículos de drenagem; e
- f. armazenamento de conteúdo drenado.

[0013] Em um terceiro objeto, a presente invenção apresenta um sistema de cultivo celular que realiza a troca automatizada do meio de cultura celular e compreende ao menos:

- a. dispositivo de cultivo celular conforme definido anteriormente;
- b. sistema de bombeamento;
- c. sistema regulador de vazão do meio de cultura celular; e
- d. dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado;

em que,

- o sistema regulador de vazão do meio de cultura celular comanda o sistema de bombeamento;
- o sistema de bombeamento compreende mecanismo de bombeamento e mecanismo de drenagem;
- o mecanismo de bombeamento é ligado à entrada (11) e à saída (12) dos canalículos de circulação e ao dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado;
- o mecanismo de drenagem é ligado à saída (13) dos canalículos de drenagem.

[0014] Ainda, o conceito inventivo comum a todos os contextos de

proteção reivindicados possibilita realizar a perfusão homogênea do meio de cultura entre a base utilizada para o cultivo, seja este bidimensional ou tridimensional, de maneira automatizada e contínua, reduzindo os riscos de falha humana e contaminação.

[0015] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[0016] Com o intuito de melhor definir e esclarecer o conteúdo do presente pedido de patente, são apresentadas as presente figuras:

[0017] A figura 1 mostra uma concretização da base (1) da presente invenção compreendendo ressalto de acomodação (2) da tampa (7).

[0018] A figura 2 mostra uma concretização do conjunto de canalículos da presente invenção, compreendendo orifícios (3) de passagem dos canalículos, região de entrada (4) e região de saída (5) dos canalículos de circulação e região de saída (6) dos canalículos de drenagem.

[0019] A figura 3 mostra uma concretização de uma região de entrada (4) dos canalículos de circulação da presente invenção, compreendendo ângulo (9) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma entrada (11).

[0020] A figura 4 mostra uma concretização de uma região de saída (5) dos canalículos de circulação da presente invenção, compreendendo ângulo (9) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma saída (12).

[0021] A figura 5 mostra uma concretização de uma região de saída (6) dos canalículos de drenagem da presente invenção, compreendendo ângulo (14) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma saída (13).

[0022] A figura 6 mostra uma concretização dos micro-orifícios (15)(16) do conjunto de canalículos da presente invenção.

[0023] A figura 7 mostra uma concretização da tampa (7) da presente

invenção compreendendo geometria de encaixe na base (1).

[0024] A figura 8 mostra uma concretização da tampa (7) da presente invenção compreendendo geometria de encaixe na base (1) e saliências removíveis (8) de troca gasosa da cultura com o meio externo da base.

Descrição Detalhada da Invenção

[0025] As descrições que se seguem são apresentadas a título de exemplo e não limitativas ao escopo da invenção e farão compreender de forma mais clara o objeto do presente pedido de patente.

[0026] Em um primeiro objeto a presente invenção apresenta um dispositivo de cultivo celular que compreende ao menos: base(1); conjunto de canalículos; e tampa(7).

[0027] A base (1) possui ressalto de acomodação (2) da tampa (7). Em uma concretização, sem que haja limitação do escopo da presente invenção, o ressalto de acomodação (2) da tampa (7) é um degrau positivo e se encontra na parte externa da base (1).

[0028] O conjunto de canalículos possui canalículos de circulação e canalículos de drenagem. Os canalículos de circulação possuem região de entrada (4), região com micro-orifícios (15) e região de saída (5). Os canalículos de drenagem possuem região de saída (6) e região com micro-orifícios (16). Os canalículos de circulação e os canalículos de drenagem são arranjados paralelamente e intercalados entre si, abrangendo toda a cultura celular distribuída na base (1).

[0029] A base (1) possui orifícios (3) de passagem dos canalículos. A região de entrada (4) dos canalículos de circulação compreende ângulo (9) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma entrada (11). A região de saída (5) dos canalículos de circulação compreende ângulo (9) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma saída (12). A região de saída (6) dos canalículos de drenagem compreende ângulo (14) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma saída de drenagem (13). Em uma concretização, sem

que haja limitação do escopo da presente invenção, em uma das paredes laterais da base (1) existem orifícios (3) para passagem dos canalículos de circulação, que fornecem o meio de cultura para o sistema, e na parede oposta há orifícios (3) com as mesmas medidas para a saída dos canalículos. Ainda, na parede onde estão os orifícios (3) de saída, os orifícios (3) para saída dos canalículos de drenagem do meio de cultura são dispostos entre os orifícios (3) para passagem dos canalículos de circulação.

[0030] A tampa (7) possui geometria de encaixe vedado na base (1) e compreende saliência removível (8) de troca gasosa da cultura com o meio externo da base. Em uma concretização, onde se deseja que a cultura celular não troque gases com o meio externo do dispositivo de cultivo celular, a tampa (7) realiza encaixe vedado na base (1), impedindo tais trocas gasosas. Em uma concretização, onde se deseja que a cultura celular realize trocas gasosas com o meio externo do dispositivo de cultivo celular, utiliza-se saliências removíveis (8) que permitem tais trocas gasosas.

[0031] Em um segundo objeto, a presente invenção apresenta um método de cultivo celular implementado em um dispositivo de cultivo celular conforme definido anteriormente e que compreende ao menos as etapas de: seleção da vazão do meio de cultura celular; injeção automatizada e contínua do meio de cultura na entrada de canalículos de circulação; perfusão do meio de cultura pelos micro-orifícios dos canalículos de circulação; saída automatizada e contínua do meio de cultura na saída de canalículos de circulação; drenagem do meio de cultura pelos micro-orifícios dos canalículos de drenagem; e armazenamento de conteúdo drenado.

[0032] O método de cultivo celular implementado no dispositivo de cultivo celular da presente invenção compreende etapa de seleção de cultura celular bidimensional e/ou tridimensional. Em uma concretização, ao utilizar um dispositivo de cultivo celular da presente invenção, o usuário pode cultivar células de maneira bidimensional laminar, ou tridimensional organotípica.

[0033] O método de cultivo celular da presente invenção compreende

etapa de seleção de número de tipos celulares em cultura simultânea. Em uma concretização, ao utilizar um dispositivo de cultivo celular da presente invenção, o usuário pode cultivar simultaneamente mais de um tipo de células.

[0034] Em um terceiro objeto, a presente invenção apresenta um sistema de cultivo celular que realiza a troca automatizada do meio de cultura celular e compreende ao menos: dispositivo de cultivo celular, definido na presente invenção; sistema de bombeamento; sistema regulador de vazão do meio de cultura celular; e dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado.

[0035] O sistema regulador de vazão do meio de cultura celular comanda o sistema de bombeamento. O sistema de bombeamento compreende mecanismo de bombeamento e mecanismo de drenagem. O mecanismo de bombeamento é ligado à entrada (11) e à saída (12) dos canalículos de circulação e ao dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado. O mecanismo de drenagem é ligado à saída (13) dos canalículos de drenagem. Em uma concretização, para uma cultura celular que necessite de elevada troca dos insumos do meio, o sistema regulador de vazão aciona o sistema de bombeamento, que aciona o mecanismo de bombeamento para bombear o meio pela entrada (11) do conjunto de canalículos, projetando parte do meio pelos micro-orifícios (15)(16) e bombeando o restante pela saída (12) dos canalículos. Ainda, o sistema de bombeamento aciona o mecanismo de drenagem que, ligado à saída (13) dos canalículos de drenagem, realiza a drenagem do meio que é produto da cultura celular, armazenando-o em um dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado para posterior aproveitamento.

Exemplos - Concretizações

[0036] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

Exemplo I

[0037] Em uma concretização, o dispositivo de cultivo celular compreende

um recipiente quadrilátero de dimensões variadas, confeccionado em material polimérico transparente e compreende ao menos uma base (1), um conjunto de canalículos e uma tampa (7), sendo o conjunto de canalículos dividido em canalículos de circulação e canalículos de drenagem. Sua base (1) possui em uma posição próxima ao centro de sua altura um ressalto de acomodação (2) da tampa (7). Em uma de suas paredes laterais, existem orifícios (3) que servem de passagem para a região de entrada (4) dos canalículos na base (1). Na parede lateral oposta, há orifícios com as mesmas medidas para a região de saída (5) dos canalículos de circulação, e orifícios para a região de saída (6) dos canalículos de drenagem. A tampa (7) possui geometria para permitir o encaixe na base (1) por meio do ressalto de acomodação (2). Este encaixe impede a passagem de gases da parte interna do dispositivo de cultivo celular para a parte externa e vice-versa, mas a tampa (7) pode compreender saliências removíveis (8) que criam folga entre a tampa (7) e a base (1) que permite trocas gasosas do cultivo celular com o ambiente externo do dispositivo. Os canalículos de circulação recebem o meio do cultivo celular por uma entrada (11), que se divide em canalículos convergentes (10), que sofrem uma inclinação em ângulo (9) e transpassam uma parede da base (1) em uma região de entrada (4), atravessam a base (1) projetando o meio pelos micro-orifícios (15) e chegam a uma região de saída (5), transpassando uma parede oposta da base (1), sofrem uma inclinação em ângulo (9) para canalículos convergentes (10), que se unem em uma saída (12). Os canalículos de drenagem estão em contato com uma parede da base (1) e atravessam a base (1), de modo a estarem paralelos e intercalados com os canalículos de circulação para melhor distribuição e captação do meio, chegando até uma região de saída (6), transpassando uma parede oposta da base (1), de maneira a sofrer uma inclinação em ângulo (14) para canalículos convergentes (10), que se unem em uma saída (13) que é conectada a um dispositivo de armazenamento do conteúdo drenado.

[0038] A entrada (11) e a saída (12) dos canalículos de circulação estão conectadas a um mecanismo de bombeamento, que é comandado por um

sistema de bombeamento e bombeia o meio que será inserido no cultivo celular. A saída (13) dos canalículos de drenagem está conectada a um mecanismo de drenagem, que pode ser uma bomba de vácuo, por exemplo, e é comandado pelo sistema de bombeamento.

[0039] O sistema de bombeamento, por sua vez, é comandado por um sistema regulador de vazão do meio de cultura celular que regula a vazão do meio conforme parâmetros e comandos fornecidos pelo usuário. O usuário, ao utilizar o dispositivo de cultivo celular, realiza uma etapa de seleção de cultura celular bidimensional e/ou tridimensional, onde é definido se a cultura celular é laminar (bidimensional) ou organotípica (tridimensional). Ainda, o usuário realiza uma etapa de seleção de número de tipos celulares em cultura simultânea, definindo se a cultura celular tem um único tipo de células ou mais de um tipo de células em cultura simultânea. Ainda, o usuário realiza uma etapa de seleção da vazão do meio na cultura. O dispositivo de armazenamento do conteúdo drenado conectado na saída (13) dos canalículos de drenagem armazena o produto drenado do meio de cultivo celular para estudos posteriores e/ou utilização para fins farmacêuticos, médicos e/ou bioquímicos. A utilização da presente invenção confere ao cultivo celular reduz a contaminação proveniente da troca manual do meio, o arranjo do conjunto de canalículos permite desenvolvimento homogêneo de cultivos celulares bidimensionais e tridimensionais e a circulação automatizada constante assemelha o ambiente do cultivo celular a um processo fisiológico dos seres vivos.

[0040] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Dispositivo de cultivo celular **caracterizado** por compreender ao menos:
 - a. base (1);
 - b. conjunto de canalículos; e
 - c. tampa (7);

em que,

- a base (1) possui ressalto de acomodação (2) da tampa (7);
- a base (1) possui orifícios (3) de passagem dos canalículos;
- o conjunto de canalículos possui canalículos de circulação e canalículos de drenagem;
- os canalículos de circulação possuem região de entrada (4), região com micro-orifícios (15) e região de saída (5);
- os canalículos de drenagem possuem região de saída (6) e região com micro-orifícios (16);
- a tampa (7) possui geometria de encaixe vedado na base (1).

2. Dispositivo de cultivo celular de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de os canalículos de circulação e os canalículos de drenagem serem arranjados paralelamente e intercalados entre si.

3. Dispositivo de cultivo celular de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 2, **caracterizado** pelo fato de a tampa (7) compreender saliência removível (8) de troca gasosa da cultura com o meio externo da base.

4. Dispositivo de cultivo celular de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de a região de entrada (4) dos canalículos de circulação compreender ângulo (9) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma entrada (11).

5. Dispositivo de cultivo celular de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de a região de saída (5) dos canalículos de circulação compreender ângulo (9) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma saída (12).

6. Dispositivo de cultivo celular de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de a região de saída (6) dos canalículos de drenagem compreender ângulo (14) de canalículos convergentes (10) que se unem em uma saída de drenagem (13).

7. Método de cultivo celular **caracterizado** por ser implementado em um dispositivo de cultivo celular conforme definido na reivindicação 1 e compreender ao menos as etapas de:

- a. seleção da vazão do meio de cultura celular;
- b. injeção automatizada e contínua do meio de cultura na entrada de canalículos de circulação;
- c. perfusão do meio de cultura pelos micro-orifícios dos canalículos de circulação;
- d. saída automatizada e contínua do meio de cultura na saída de canalículos de circulação;
- e. drenagem do meio de cultura pelos micro-orifícios dos canalículos de drenagem; e
- f. armazenamento de conteúdo drenado.

8. Método de cultivo celular de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** por compreender etapa de seleção de cultura celular bidimensional e/ou tridimensional.

9. Método de cultivo celular de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** por compreender etapa de seleção de número de tipos celulares em cultura simultânea.

10. Sistema de cultivo celular **caracterizado** por realizar a troca automatizada do meio de cultura celular e compreender ao menos:

- a. dispositivo de cultivo celular conforme definido na reivindicação 1;
- b. sistema de bombeamento;
- c. sistema regulador de vazão do meio de cultura celular; e
- d. dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado;

em que,

- o sistema regulador de vazão do meio de cultura celular comanda o sistema de bombeamento;
- o sistema de bombeamento compreende mecanismo de bombeamento e mecanismo de drenagem;
- o mecanismo de bombeamento é ligado à entrada (11) e à saída (12) dos canalículos de circulação e ao dispositivo de armazenamento de conteúdo drenado;
- o mecanismo de drenagem é ligado à saída (13) dos canalículos de drenagem.

FIGURAS

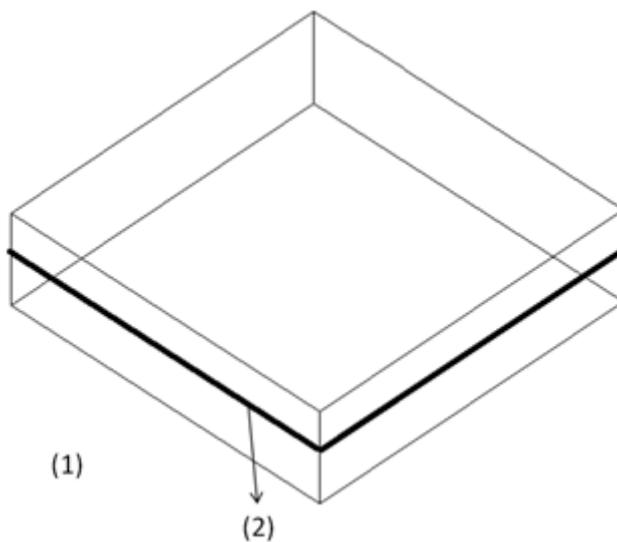


Figura 1

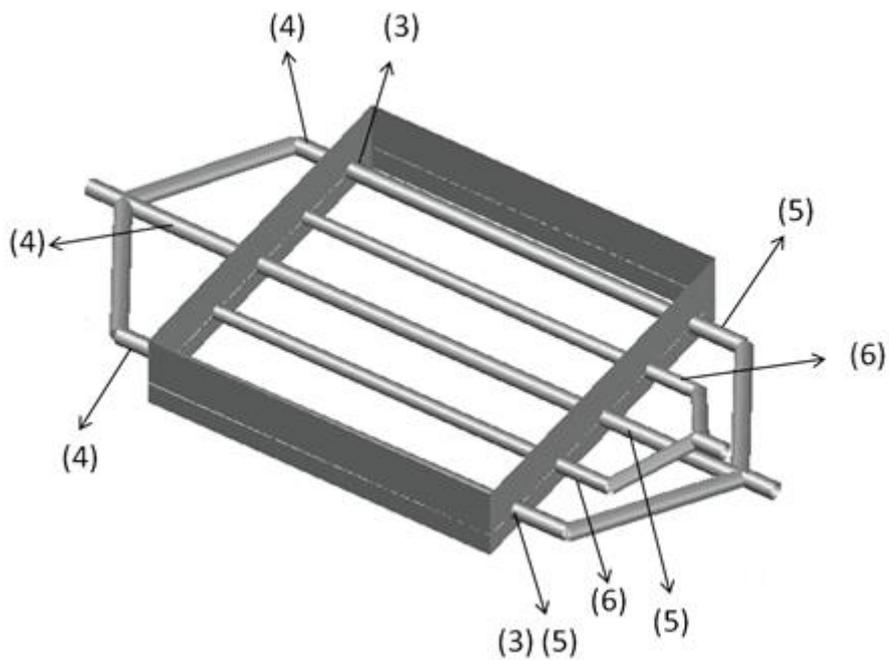


Figura 2

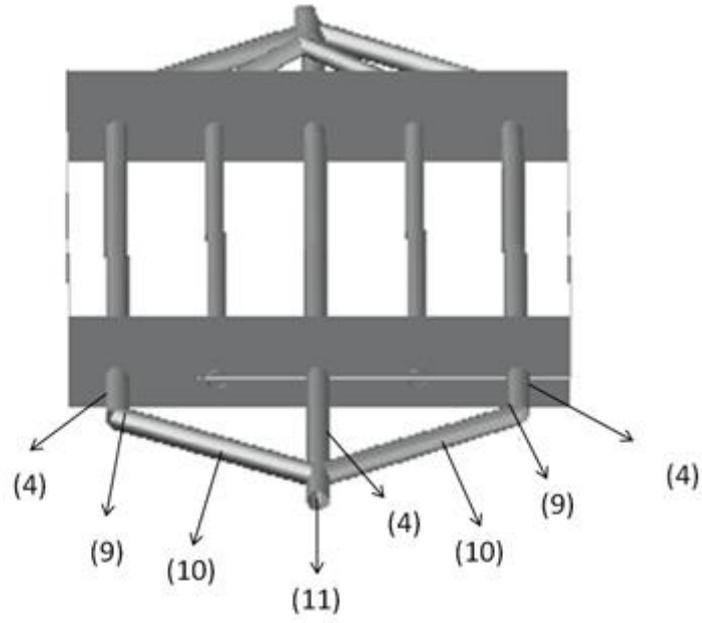


Figura 3

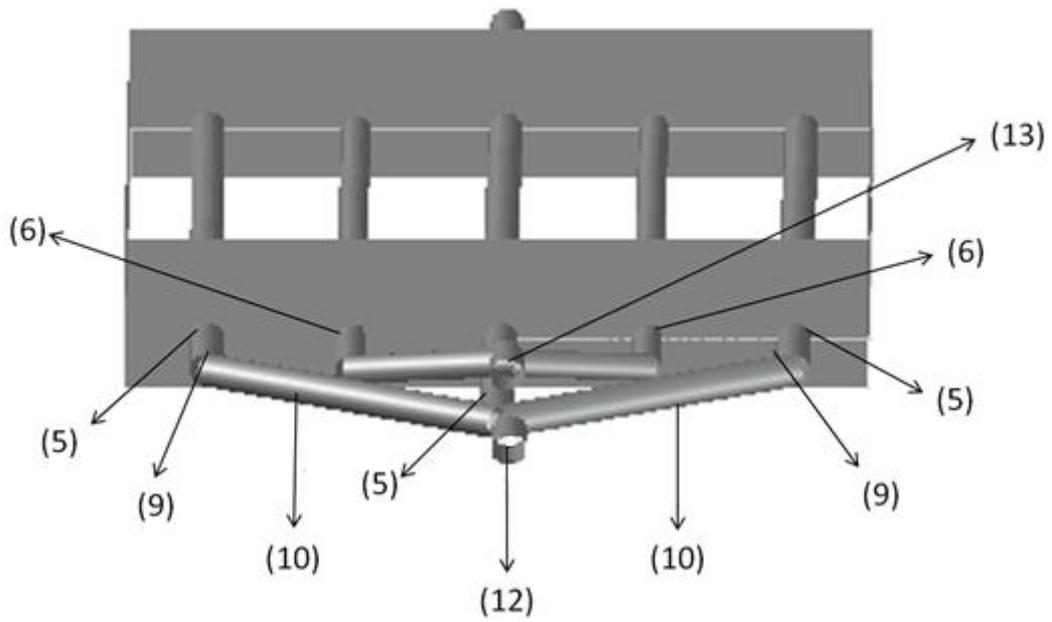


Figura 4

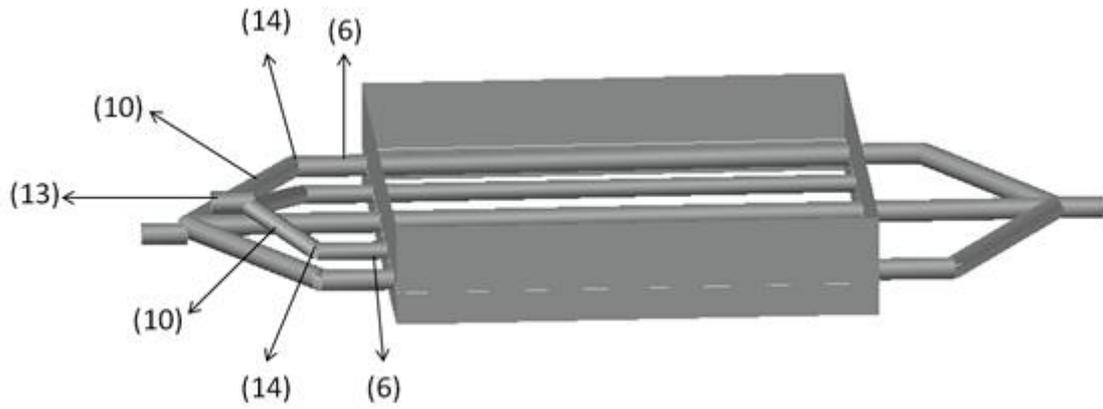


Figura 5

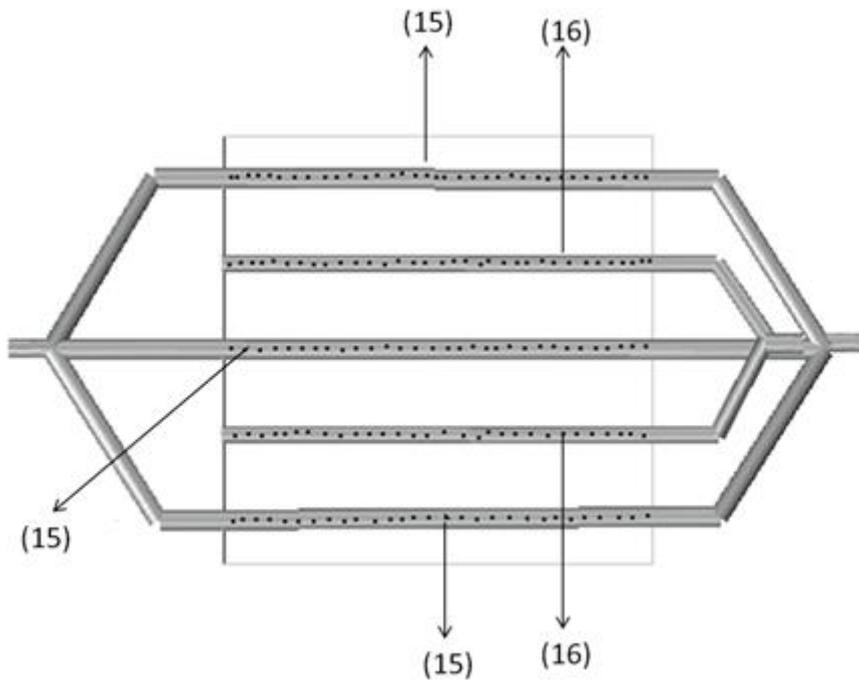


Figura 6

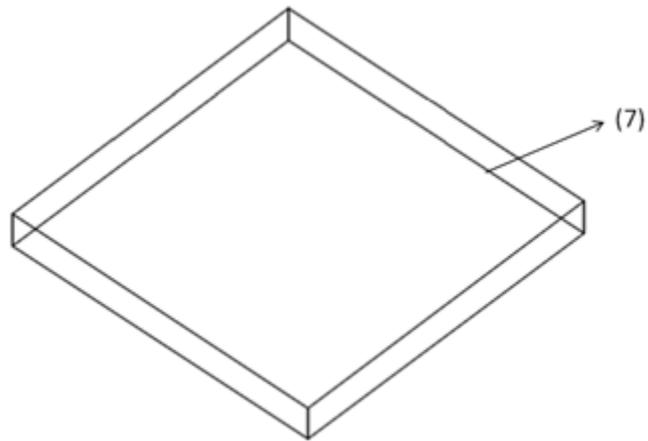


Figura 7

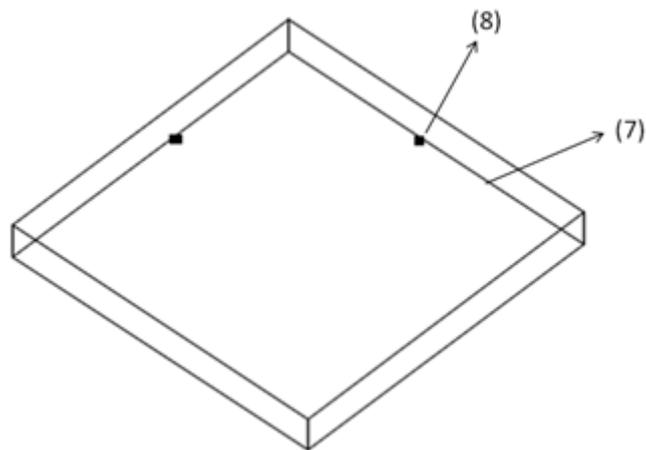


Figura 8

Resumo**DISPOSITIVO, MÉTODO E SISTEMA DE CULTIVO CELULAR**

A presente invenção descreve um dispositivo de cultivo celular, um método de utilização deste dispositivo e um sistema de cultivo celular que compreende este dispositivo para troca contínua dos insumos presentes no meio de cultivo celular. Especificamente, a presente invenção compreende mecanismo que permite a troca automatizada contínua de meio de cultura celular através de infusão, e permite sua drenagem por sucção a vácuo. Ainda, permite que o meio se perfunda entre a matriz utilizada para culturas celulares bidimensionais e culturas tridimensionais, também chamadas de organotípicas, propiciando ambiente semelhante ao fisiológico. A presente invenção se situa nos campos da medicina, biologia e áreas farmacêuticas.