

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 503**

51 Int. Cl.:

**C12M 3/00** (2006.01)

**C12M 1/32** (2006.01)

**C12M 1/00** (2006.01)

**C12M 1/34** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.01.2014 PCT/US2014/013604**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014 WO14120772**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.01.2014 E 14706712 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2951282**

54 Título: **Plataforma modular para el cultivo celular integrado multitejido**

30 Prioridad:

**29.01.2013 US 201361758119 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.12.2019**

73 Titular/es:

**THE CHARLES STARK DRAPER LABORATORY,  
INC. (50.0%)  
555 Technology Square  
Cambridge, MA 02139, US y  
MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**CUIFFI, JOSEPH DENNIS;  
MESCHER, MARK JOSEPH;  
COPPETA, JONATHAN ROBERT;  
INMAN, SAMUEL WALKER;  
SPENCER, ABIGAIL JUNE;  
NGUYEN, TRANSON VAN y  
BORENSTEIN, JEFFREY T.**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 734 503 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

Plataforma modular para el cultivo celular integrado multitejido.

5 **Antecedentes de la divulgación**

Los modelos *in vitro* de tejido humano típicamente se cultivan como cultivos individuales en medios aislados. El aislamiento de los cultivos de tejidos elimina la interacción entre los cultivos de tejidos que se encuentran presentes en los sistemas *in vivo*. Los medios de tejidos aislados dificultan el estudio de problemas sistémicos, tales como la dosificación de fármacos, en cultivos *in vitro*.

El documento US 2005/260745 divulga un sistema para llevar a cabo análisis *in vitro* que modelan enfermedades en tejidos y/o órganos con un lecho capilar que simula el tejido humano normal. El sistema facilita la perfusión de monocultivos celulares tridimensionales (3D) y cocultivos celulares heterotípicos a través de la red capilar.

15 **Sumario de la divulgación**

Según un aspecto de la exposición, un dispositivo modular para el cultivo de células incluye por lo menos un recipiente de cultivo celular abierto, que se acopla reversiblemente a una placa de control. La placa de control incluye una bomba de volumen constante para hacer fluir un líquido hacia el interior y saliendo de por lo menos un recipiente de cultivo celular abierto. La bomba de volumen constante incluye una cámara de desplazamiento central que presenta una bomba de desplazamiento y por lo menos cuatro canales que radian hacia afuera desde la cámara de desplazamiento central. Cada uno de por lo menos cuatro canales se acopla en línea con una válvula de membrana.

En algunas formas de realización, una membrana de la válvula de membrana incluye un elastómero fluoropolímero, tal como Viton. Entre algunas formas de realización del dispositivo se incluyen un condensador fluídico acoplado en línea con por lo menos uno de por lo menos cuatro canales.

En determinadas formas de realización, la válvula de membrana incluye además un accionador. El accionador puede ser un accionador electromagnético, un accionador neumático o un accionador piezoeléctrico. La bomba de volumen constante está configurada para bombear un líquido a través del primer canal a un caudal de entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 1  $\mu\text{l/s}$ .

Según otro aspecto de la exposición, un procedimiento para cultivar una pluralidad de células incluye proporcionar por lo menos un recipiente de cultivo celular abierto que se acopla reversiblemente con una placa de control. La placa de control incluye una bomba de volumen constante con una cámara de desplazamiento central que presenta una bomba de desplazamiento y por lo menos cuatro canales que radian hacia afuera desde la cámara de desplazamiento central. Cada uno de por lo menos cuatro canales se acopla en línea con una válvula de membrana. El procedimiento incluye activar una primera válvula de membrana acoplada con un primer canal de los por lo menos cuatro canales para cerrar el primer canal, y después extraer, con la bomba de desplazamiento, un primer líquido hacia el interior de la cámara de desplazamiento. El procedimiento incluye además activar una segunda membrana para cerrar el segundo canal y después desactivar la primera válvula de membrana para abrir el primer canal. El procedimiento incluye además evacuar, con la bomba de desplazamiento, el líquido de la cámara de desplazamiento para hacer fluir el primer líquido por el primer canal.

En algunas formas de realización, una membrana de las válvulas de membrana incluye un elastómero de fluoropolímero, por ejemplo, Viton. En algunas formas de realización, un condensador fluídico se acopla en línea con el primer canal. En algunas formas de realización, las válvulas de membrana acopladas con por lo menos cuatro canales incluyen además un accionador. Los accionadores pueden ser un accionador electromagnético, un accionador neumático y un accionador piezoeléctrico. En algunas formas de realización, el volumen del primer líquido aspirado hacia el interior de la cámara de desplazamiento es de entre aproximadamente 0.5  $\mu\text{l}$  y aproximadamente 1  $\mu\text{l}$ . A continuación, el primer líquido se hace fluir por el primer canal a una velocidad de entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 1  $\mu\text{l/s}$ .

En algunas formas de realización, el procedimiento incluye además activar una tercera válvula de membrana acoplada con un tercer canal de los por lo menos cuatro canales para cerrar el tercer canal. A continuación, se aspira un segundo líquido hacia el interior de la cámara de desplazamiento. El procedimiento incluye además activar una cuarta válvula de membrana para cerrar un cuarto canal. A continuación, se abre el tercer canal mediante desactivación de la tercera válvula de membrana. A continuación, se evacúa el segundo líquido de la cámara de desplazamiento y fluye por el tercer canal. En algunas formas de realización, el segundo líquido es diferente del primer líquido. Un segundo condensador de líquidos se acopla en línea con el tercer canal en algunas formas de realización.

**Breve descripción de los dibujos**

El experto en la materia apreciará que las figuras, indicadas en la presente memoria, se proporcionan únicamente a título ilustrativo. Debe apreciarse que, en algunos casos, diversos aspectos de las formas de realización descritas pueden mostrarse exageradas o agrandadas para facilitar la comprensión de las formas de realización descritas. En los dibujos, caracteres de referencia iguales se refieren generalmente a características iguales, elementos funcionalmente similares y/o estructuralmente similares en la totalidad de los diversos dibujos. Los dibujos no se representan necesariamente a escala; por el contrario, se enfatiza la ilustración de los principios de las enseñanzas. Los dibujos no pretenden limitar el alcance de las presentes enseñanzas de modo alguno. El sistema y procedimiento pueden ponerse más claramente de manifiesto a partir de la descripción ilustrativa siguiente haciendo referencia a los dibujos a continuación, en los que:

- la figura 1 es un esquema de un sistema de cultivo celular.
- La figura 2 ilustra un esquema de una plataforma de cultivo celular ejemplificativa que puede utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- Las figuras 3A y 3B ilustran modelos sólidos de una plataforma de cultivo celular de ejemplo que puede utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- Las figuras 4A-4C ilustran modelos sólidos de placas de control de ejemplo que pueden utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- La figura 4D ilustra un esquema ampliado de una bomba de volumen constante de ejemplo de la placa de control de la figura 4A.
- Las figuras 4E y 4F ilustran las vistas transversales de configuraciones de ejemplo de una bomba de volumen constante, tal como la bomba de volumen constante de la figura 4D.
- Las figuras 5A y 5B ilustran modelos sólidos de placas de flujo de líquido de ejemplo que pueden utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- Las figuras 6A-6D ilustran configuraciones de ejemplo de recipientes de cultivo celular que pueden utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- Las figuras 7A y 7B ilustran modelos sólidos de un recipiente de cultivo celular de ejemplo.
- La figura 8 ilustra un modelo sólido de un recipiente de cultivo celular de ejemplo.
- La figura 9A ilustra un esquema de un accionador de ejemplo que puede utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- La figura 9B ilustra un esquema de una forma de realización de ejemplo de un accionador de una forma de realización de ejemplo de un accionador configurado para inyectar y aspirar muestras de líquido que pueden utilizarse en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- La figura 10 ilustra un diagrama de flujo de un procedimiento de ejemplo para el cultivo de células en el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- La figura 11 ilustra un esquema de un caso de uso de ejemplo para el sistema de cultivo celular de la figura 1.
- La figura 12 ilustra un diagrama de flujo de un procedimiento de ejemplo para hacer fluir un líquido a través de la bomba de volumen constante de la figura 4D.

**Descripción detallada**

Los diversos conceptos introducidos anteriormente y expuestos con mayor detalle a continuación pueden ponerse en práctica de cualquiera de entre numerosos modos, ya que los conceptos descritos no se encuentran limitados a ningún modo particular de forma de realización. Se proporcionan ejemplos de formas de realización y aplicaciones específicas principalmente a título ilustrativo.

Los sistemas y procedimientos divulgados se relacionan generalmente a un sistema de cultivo celular. Más particularmente, los sistemas y procedimientos que permiten el cultivo e interconexión de una pluralidad de tipos de tejidos en un medio biomimético. Mediante el cultivo de tipos de tejido específico de órgano dentro de un medio biomimético e interconectando cada uno de los sistemas orgánicos de un modo fisiológicamente significativo, pueden llevarse a cabo experimentos con células *in vitro* que mimetizan sustancialmente las respuestas de las

poblaciones celulares *in vivo*. En algunas formas de realización, el sistema se utiliza para monitorizar cómo responden los sistemas orgánicos a agentes, tales como toxinas o medicaciones. El sistema permite una administración precisa y controlada de estos agentes, que, en algunas formas de realización, permite mimetizar la dosificación biomimética de fármacos en seres humanos.

5

La figura 1 ilustra un sistema de cultivo celular 100. El sistema de cultivo celular 100 incluye una plataforma de cultivo celular 102 dentro de un incubador 104. El sistema de cultivo celular 100 incluye además una pluralidad de sensores 106 y un microscopio 108 para monitorizar las células en la plataforma de cultivo celular 102. Un ordenador de control 110 utiliza un controlador 112 para controlar el flujo de líquidos y gases a través de la plataforma de cultivo celular 102. El flujo de líquidos y el flujo de gases está causado por como mínimo una bomba de líquidos 114 y por lo menos una bomba de gases 116, respectivamente. Antes del flujo a través de la plataforma de cultivo celular 102, se almacena líquido en un reservorio de líquido 118 y en respuesta al flujo a través de la plataforma de cultivo celular 102, se almacena el líquido en un reservorio de residuos 120.

10

Tal como se ha expuesto anteriormente, el sistema de cultivo celular 100 incluye una plataforma de cultivo celular 102. La plataforma de cultivo celular 102 y sus componentes se describen adicionalmente en relación a las figuras 2 a 9, aunque, brevemente, la plataforma de cultivo celular 102 es una plataforma modular para el cultivo celulares y/o tejidos. Tal como se expone a continuación, la plataforma de cultivo celular 102 incluye una placa de control, una placa de flujo de líquido y una pluralidad de recipientes de cultivo celular. En algunas formas de realización, la placa de control es reutilizable e incluye accionadores, válvulas y sensores utilizados en el cultivo y monitorización de células. En algunas formas de realización, la placa de flujo de líquidos y/o los recipientes de cultivo celular son desechables.

15

20

La plataforma de cultivo celular 102 se aloja dentro de un incubador 104. El incubador 104 mantiene un medio dentro de la plataforma de cultivo celular 102 que es favorable al cultivo de las células y/o tejidos. En algunas formas de realización, el incubador 104 controla y/o mantiene una temperatura, humedad, nivel de dióxido de carbono, nivel de oxígeno predeterminados, o cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, el incubador 104 puede configurarse para mantener condiciones en la plataforma de cultivo celular 104 que mimetizan las condiciones dentro del sistema respiratorio humano. En otro ejemplo, el incubador 104 está configurado para mantener medios de cultivo celular estándares, tal como se describe de manera general mediante un protocolo de cultivo celular. Por ejemplo, el incubador 104 puede mantener una temperatura de entre aproximadamente 32°C y aproximadamente 37°C con una humedad de entre aproximadamente 50% y aproximadamente 100%. En algunas formas de realización, el incubador 104 elimina los gases generados por las células dentro de la plataforma de cultivo celular 102. El incubador 104 incluye además una pluralidad de puertos de acceso (no representados). Los puertos permiten conexiones de sensores, líneas de flujo y otras líneas para pasar desde el medio exterior al interior del incubador 104 sin afectar al medio controlado dentro del incubador 104.

25

30

35

En algunas de estas formas de realización, el sistema de cultivo celular 100 no incluye un incubador independiente 104. En dichas formas de realización, los recipientes de cultivo celular de la plataforma de cultivo celular 102 se sellan reversiblemente e incluyen elementos calefactores y otros elementos que mantienen una condición medioambiental apropiada dentro de cada recipiente de cultivo celular.

40

El sistema de cultivo celular 100 incluye además una pluralidad de sensores 106. En algunas formas de realización, uno o más de los sensores 106 indicados en la presente memoria se alojan dentro de (o como componente) la plataforma de cultivo celular 102. Una descripción adicional de los sensores 106, incluyendo su utilización y colocación, se describe a continuación. Brevemente, los sensores 106 pueden utilizarse para monitorizar uno o más parámetros en la plataforma de cultivo celular 102. Por ejemplo, los sensores 106 pueden monitorizar biomarcadores, caudales, presiones, temperaturas, composiciones de gases (por ejemplo, niveles de oxígeno y dióxido de carbono), composiciones químicas (por ejemplo, concentraciones de fármacos, toxinas y metabolitos), niveles de pH, parámetros eléctricos (por ejemplo, resistencia eléctrica transepitelial) o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, los sensores son utilizados para obtener información por el ordenador de control 110 en el control de los parámetros del sistema (por ejemplo, condiciones ambientales) dentro de la plataforma de cultivo celular 102 y/o incubador 104.

45

50

Tal como asimismo se ilustra en la figura 1, el sistema de cultivo celular 100 incluye un microscopio 108. En algunas formas de realización, por lo menos una parte de la plataforma de cultivo celular 102 está configurada para permitir la inspección visual de las células y/o tejidos dentro de la plataforma de cultivo celular 102. Por ejemplo, los componentes de la plataforma de cultivo celular 102 se realizan en materiales sustancialmente transparentes y/o incluyen puertos para la visualización. El microscopio 108 se utiliza para la visualización de células y/o tejidos en cultivo en la plataforma de cultivo celular 102. En algunas formas de realización, el microscopio 108 se configura para registrar imágenes fijas o móviles de las células y/o tejidos dentro de la plataforma de cultivo celular 102. En algunas formas de realización, el microscopio 108 es un microscopio de luz óptico, microscopio confocal, microscopio de fluorescencia o, en general, cualquier tipo de microscopio utilizado en el campo de la obtención de imágenes y análisis celular.

55

60

65

El sistema de cultivo celular 100 incluye además un ordenador de control 110 y un controlador 112. En general, el

ordenador de control 110 controla los componentes mencionados en la presente memoria del sistema de cultivo celular 100. En algunas formas de realización, el ordenador de control 110 es un dispositivo informático de uso general. Por ejemplo, el ordenador de control 110 puede ser un ordenador portátil, tableta o teléfono inteligente. En otras formas de realización, el ordenador de control 110 es un dispositivo informático de uso especial e incluye uno o más procesadores y por lo menos un medio legible por ordenador, tal como un disco duro, discos compactos u otro dispositivo de almacenamiento. Las instrucciones ejecutables por procesador se almacenan en un medio legible por ordenador. Al ejecutarse, las instrucciones causan que el ordenador de control 110 lleve a cabo las funciones y procedimientos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, el ordenador de control 110 controla el flujo de un líquido hacia el interior y saliendo de la plataforma de cultivo celular 102 mediante el control de las bombas de líquido 114. Tal como se ha expuesto anteriormente, en algunas formas de realización, el ordenador de control 110 recibe datos de la pluralidad de sensores 106 y mantiene condiciones del sistema de respuesta a los datos recibidos. El ordenador de control 110 almacena los datos de sensores y otros datos en el medio legible por ordenador en respuesta a una solicitud de un usuario. En algunas formas de realización, el ordenador de control 110 permite al usuario fijar parámetros de sistema específicos a través de una interfaz de usuario.

El ordenador de control 110 interactúa con los demás componentes del sistema de cultivo celular 100 mediante un controlador 112. En algunas formas de realización, el controlador 112 es un componente del ordenador de control 110 o la plataforma de cultivo celular 102 y se implementa como hardware y/o software. En otras formas de realización, el controlador 112 es un dispositivo independiente que interactúa con el ordenador de control 110 y diversos componentes del sistema de cultivo celular 100 mediante USB, Firewire o una conexión similar.

El controlador incluye una pluralidad de entradas o una pluralidad de salidas a través de las cuales interactúa con los diversos componentes del sistema de cultivo celular 100. La pluralidad de entradas y salidas del controlador 112 puede ser digital y/o entradas y salidas analógicas. En algunas formas de realización, el controlador 112 incluye por lo menos un procesador. Utilizando el procesador o procesadores, el controlador 112 preprocesa entradas antes de transmitir la información de entrada al ordenador de control 112. Por ejemplo, el controlador 112 puede "prefiltrar" o comprimir los datos de sensores antes de transmitirlos al ordenador de control 110. En todavía otras formas de realización, se cargan instrucciones en el controlador 112, de manera que el controlador 112 puede controlar el sistema de cultivo celular 100 sin instrucciones del ordenador de control 110. En algunas formas de realización, el controlador 112 y/o ordenador 110 alerta al usuario cuando el comportamiento del sistema de cultivo celular 100 se aparta de los rangos predeterminados. Por ejemplo, el ordenador de control 110 puede enviar una alerta al usuario al detectar el ordenador de control 110 una caída de temperatura en el incubador 104.

Haciendo referencia nuevamente a la figura 1, el sistema de cultivo celular 100 incluye por lo menos una bomba de líquidos 114 y por lo menos una bomba de gases 116. La bomba de líquidos 114 y la bomba de gases 116 (colectivamente denominada simplemente bombas) hacen fluir líquidos y/o gases hacia el interior a través de la plataforma de cultivo celular 102. Se almacena líquido adicional dentro del reservorio de líquido 118 y puede depositarse en un reservorio de residuos tras fluir por la plataforma de cultivo celular 102. En otras formas de realización, el líquido se hace recircular por la plataforma de cultivo celular 102. Tal como se ilustra, las bombas son independientes de la plataforma de cultivo celular 102. Tal como se expone a continuación, en algunas formas de realización, las bombas se alojan dentro de la plataforma de cultivo celular 102. Las bombas pueden incluir bombas peristálticas, bombas de jeringa, una serie de accionadores (es decir, bombas neumáticas) o cualquier combinación de las mismas. En algunas formas de realización, las bombas se configuran para producir un flujo suave, flujo pulsátil, flujo periódico o cualquier combinación de los mismos a través de la plataforma de cultivo celular 102. En todavía otras formas de realización, las bombas son direccionales y pueden servir de válvulas unidireccionales dentro de la plataforma de cultivo celular 102. Por ejemplo, pueden incluirse bombas unidireccionales dentro de la plataforma de cultivo celular 102 para forzar un flujo de una manera predeterminada y no permitir el flujo de retorno durante un flujo pulsátil.

Las bombas anteriormente indicadas hacen fluir un líquido por la plataforma de cultivo celular 102 y al interior de los recipientes de cultivo celular descritos a continuación. Entre los fluidos de ejemplo se incluyen medio de crecimiento (u otros fluidos para el crecimiento y sostén celulares), agentes de ensayo, toxinas, medicamentos (por ejemplo, antibióticos, vacunas, agentes biológicos y contramedidas médicas) o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, las bombas se configuran para inducir una fuerza de cizalla predeterminada sobre las células dentro de la plataforma de cultivo celular 102. La fuerza de cizalla puede seleccionarse para mimetizar las condiciones fisiológicas o con fines experimentales. Por ejemplo, las células epiteliales pueden formar barreras celulares más representativas fisiológicamente al cultivarlas bajo una fuerza de cizalla apropiada. En algunas formas de realización, los caudales a los que las bombas hacen fluir líquido se seleccionan para mimetizar los caudales sanguíneos típicamente observados en partes del sistema circular.

A continuación, haciendo referencia a la figura 2, la figura 2 es un esquema que ilustra componentes de la plataforma de cultivo celular 102. Los componentes individuales de la plataforma de cultivo celular 102 se describen en detalle en relación a las figuras 4 a 9. Como breve introducción, la plataforma de cultivo celular 102 incluye una placa de control 202, una placa de flujo de fluidos 204 y una pluralidad de recipientes de cultivo celular 206(1)-(n). La placa de flujo de líquido 204 está acoplada a la placa de control 202 y una pluralidad de recipientes de cultivo celular 206(1)-206(n) está acoplada en la parte superior de la placa de flujo de fluidos 204. La plataforma de cultivo

celular 102 incluye además una pluralidad de puertos de entrada/salida de fluidos y/o gases 208. Tal como se ilustra, los puertos 208 son componentes de la placa de control 204. En otras formas de realización, la placa de control 202, la placa de flujo de fluidos 204 y/o los recipientes de cultivo celular 206(1)-206(n) incluyen, cada uno, uno o más puertos 208.

5

Continuando con la vista general de la plataforma de cultivo celular 102, la plataforma de cultivo celular 102 se utiliza para el cultivo de células y/o tejidos. En algunas formas de realización, lo anterior incluye el cultivo de múltiples tipos de células y/o tejidos de diferentes sistemas orgánicos. En algunas formas de realización, tal como se indica a continuación, los recipientes de cultivo celular 206 están configurados para incluir andamiajes de cultivo celular tridimensionales para soportar y cultivar las células y/o tejidos. Las placas restantes de la plataforma de cultivo celular 102 facilitan la interacción (por ejemplo, la comunicación de fluidos) entre las células/tejidos cultivados en los recipientes de cultivo celular 206(1)-206(n) y permiten que los recipientes de cultivo celular 206 interconecten de manera fisiológicamente significativa.

10

En algunas formas de realización, los componentes de la plataforma de cultivo celular 102 se acoplan reversiblemente entre sí. Por ejemplo, los componentes de la plataforma de cultivo celular 102 pueden acoplarse entre sí con clips, tornillos, mediante vacío, adhesivo o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, el elemento acoplador (por ejemplo, un tornillo) que se utiliza para acoplar el recipiente de cultivo celular 206 con la placa de flujo de fluidos 204 pasa a través de la placa de flujo de fluidos 204 para acoplar asimismo la placa de flujo de fluidos 204 con la placa de control 202.

20

En determinadas formas de realización, uno o más de los componentes de la plataforma de cultivo celular 102 son desechables y/o reutilizables. Por ejemplo, la placa de control 202 puede alojar conexiones de control con el controlador 112, conexiones de sensor, accionadores, componentes personalizados o cualquier combinación de los mismos, que pretenden ser reutilizables con placas de flujo de fluidos desechables 204 y recipientes de cultivo celular desechables 206.

25

En algunas formas de realización, entre los elementos desechables se incluyen estructuras pasivas que se producen utilizando procedimiento de bajo coste, tales como el mecanizado, el moldeo por inyección o el grabado. En algunas formas de realización, estas estructuras pasivas se controlan mediante accionadores dentro de la placa de control 202. En algunas formas de realización, la placa de control 202 proporciona una base a la que las placas de flujo de fluidos 204 y recipientes de cultivo celular 206 desechables pueden añadirse modularmente.

30

La figura 3A es un modelo sólido que ilustra la plataforma de cultivo celular 102 con mayor detalle. Tal como se ilustra, se acoplan ocho recipientes de cultivo celular 206 con una placa de flujo de fluidos 204 que, a su vez, se acopla con una placa de control 202. La placa de control 202 incluye un primer tipo de recipiente de cultivo celular 206(a) y un segundo tipo de recipiente de cultivo celular 206(b).

35

La figura 3B es una vista lateral del modelo de la figura 3A que ilustra la plataforma de cultivo celular 102. En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 se sellan con tapas reversiblemente acopladas 302 y 306. La tapa 302 incluye un puerto 304, que en algunas formas de realización se utiliza para hacer fluir gases y/o líquidos hacia el interior del recipiente de cultivo celular 206(b). La tapa 306 es una tapa sellada y no incluye un puerto. Tal como se ilustra, los recipientes de cultivo celular 206 se acoplan con la placa de flujo de fluidos 204 con tornillos 308.

40

A continuación, cada uno de la placa de control 202, la placa de flujo de fluidos 204 y los recipientes de cultivo celular 206 de las figuras 2, 3A y 3B se describen a su vez y con mayor detalle haciendo referencia a las figuras 4 a 9.

45

Tal como se ha expuesto anteriormente haciendo referencia a las figuras 2, 3A y 3B, la plataforma de cultivo celular 102 incluye una placa de control 202. En general, la placa de control 202 contiene conectores, accionadores y/o sensores reutilizables que interactúan con la placa de flujo de fluidos 204 y/o recipientes de cultivo celular 206. En algunas formas de realización, la colocación de los conectores, accionadores y/o sensores en la placa de control reutilizable 202 proporciona un ahorro de costes, ya que partes de la plataforma de cultivo celular 102 que interactúan directamente con las células pueden desecharse después de la experimentación, mientras que los componentes más caros pueden reutilizarse. Tal como se indica a continuación, en algunas formas de realización, la placa de control 202 se realiza en un plástico o una placa de circuitos impresos multicapa.

50

En algunas formas de realización, la placa de control 202 incluye entre 5 y 10, entre 10 y 30, entre 30 y 50, entre 50 y 100 o entre 100 y 200 accionadores. Los accionadores se utilizan para controlar el flujo de fluidos a través de la placa de flujo de fluidos 204 y/o recipiente de cultivo celular 206 y, en algunas formas de realización, se utilizan como bombas. Los accionadores controlan el flujo de fluidos mediante la activación de válvulas dentro de la placa de control 202, placa de flujo de fluidos 204 y/o recipiente de cultivo celular 206. En formas de realización en las que los accionadores se configuran como bombas, bombean entre aproximadamente 100 nl y aproximadamente 500 nl, entre aproximadamente 500 nl y 1000 nl, o entre aproximadamente 1000 nl y aproximadamente 2000 nl/min de líquido por un canal. El flujo inducido por las bombas accionadoras puede presentar un perfil de flujo continuo,

65

de un solo pico y/o oscilante.

5 En algunas formas de realización, la bomba se configura para inyectar una dosis predeterminada de una toxina, agente de ensayo, medicamentos (por ejemplo, antibióticos, vacunas, agentes biológicos y contramedidas  
médicas), o cualquier combinación de los mismos en la placa de flujo de fluidos 204 y/o el recipiente de cultivo  
10 celular 206. Por ejemplo, en un ciclo predeterminado (por ejemplo, una vez al día, tres veces al día, una vez cada hora, etc.), el accionador configurado como bomba puede configurarse para administrar una dosis de insulina en un recipiente de cultivo celular que contiene células hepáticas. En algunas formas de realización, un accionador configurado como bomba aspira un volumen de muestra líquida predeterminado de una placa de flujo de fluidos 204 y/o del recipiente de cultivo celular 206. Por ejemplo, el accionador puede aspirar 100 nl de un recipiente de cultivo celular cada hora, de manera que puede determinarse la concentración de un medicamento, analito o toxina, u otro material biológicamente relevante, en el recipiente de cultivo celular.

15 En diversas formas de realización, los accionadores son accionadores neumáticos, accionadores electromagnéticos, válvulas o una combinación de los mismos. El mecanismo de la activación del accionador se describe adicionalmente en relación a la figura 9A, y el mecanismo del accionador cuando actúa como una bomba inyectando o aspirando muestras de líquido se describe en relación a la figura 9B. Brevemente, los accionadores incluyen una membrana, que está impulsada por un pistón. Al activarlo, el accionador impulsa el pistón y membrana hacia el interior de un canal situado en la parte superior del accionador. La membrana desvía el flujo de un fluido por el canal. En algunas formas de realización, se utilizan accionadores neumáticos debido a que, en algunas formas de realización, la activación de un accionador electromagnético puede inducir ruido térmico o electromagnético que podría interferir con determinadas aplicaciones de sensor, tales como la resistencia eléctrica transepitelial.

20 Los accionadores permiten un control personalizado de los líquidos a través de la plataforma de cultivo celular 102. La utilización de una membrana en el accionador permite la separación de líquidos biológicos de los componentes reutilizables de la placa de control 202. En algunas formas de realización, la membrana flexible utilizada en el accionador (y/o estructuras de bomba) se fabrica a partir de, aunque sin limitación, materiales basados en poliimida y poliuretano. En algunas formas de realización, sustancialmente la totalidad, o por lo menos grandes partes de la superficie superior de la placa de control 202 están cubiertas con la membrana.

25 En algunas formas de realización, la placa de control 202 incluye un factor de forma fija que se acopla (o se empareja) con el recipiente de cultivo celular 206 y/o la placa de flujo de fluidos 204. Tal como se indica a continuación, la placa de flujo de fluidos 204 y el recipiente de cultivo celular 206 pueden configurarse de manera  
30 diferencia en respuesta a las necesidades del experimento. En estas formas de realización, el factor de forma estandarizado de la placa de control 202 permite la mezcla y acoplamiento de otros componentes modulares a la placa de control 202.

35 Tal como se ha mencionado anteriormente, la placa de control 202 incluye uno o más sensores 106 y/o conexiones de sensores. Por ejemplo, la placa de control 202 puede incluir caudalímetros, sensores de gases, sensores de pH, sensores de temperatura, sensores de resistencia eléctrica transepitelial (TEER), o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, el sensor de flujo es un sensor de flujo térmico. En determinadas formas de realización, los sensores 206 están montados en sustratos de poliimida y separados de los fluidos por la membrana anteriormente indicada.

40 En formas de realización que incluyen conexiones de sensor (o puertos de expansión de sensor), los sensores 106 mencionados en la presente memoria se añaden a la placa de control 202 según los requisitos del experimento. Por ejemplo, un investigador que esté realizando un experimento de flujo puede decidir unir sólo sensores de flujo a la placa de control 202 y puede renunciar a otros sensores, tales como un sensor de pH. En algunas formas de  
45 realización, la retirada de sensores 106 mediante desacoplado de los mismos de los puertos de expansión, facilita la reutilizabilidad de la placa de control 202 al permitir la extracción de componentes delicados de la placa de control 202 antes de la esterilización de la placa de control 202. En algunas formas de realización, los puertos de expansión de sensor son puertos de entrada/salida para el controlador 112 y permiten la conexión de sensores personalizados a la placa de control 202.

50 En algunas formas de realización, la placa de control 202 incluye por lo menos un elemento calefactor. El elemento calefactor se utiliza para mantener una temperatura configurable dentro de uno o más de los recipientes de cultivo celular 206. En algunas formas de realización, la utilización de un elemento calefactor y recipientes cerrados de cultivo celular 206 permiten llevar a cabo experimentos sin un incubador 104 ya que puede mantenerse una  
55 condición predeterminada dentro de cada recipiente de cultivo celular 206.

60 En todavía otras formas de realización, la placa de control 202 incluye un módulo auxiliar de administración de agente. El módulo se conecta a la placa de control y permite la administración de agente específico en uno o más de los recipientes de cultivo celular 206.

65 Con el fin de describir adicionalmente la placa de control 202 expuesta anteriormente, las figuras 4A-4C ilustran

formas de realización de ejemplo de la placa de control 202. El experto ordinario en la materia apreciará que características de las diversas placas de control descritas a continuación pueden aplicarse a cualquiera de las demás placas de control descritas en la presente memoria.

5 La figura 4A es una vista superior que ilustra una placa de control neumático 400. La placa de control 400 incluye una pluralidad de accionadores 402 que actúan en canales de flujo dentro de la placa de flujo de fluidos 204. La placa de control 400 asimismo incluye una pluralidad de puertos neumáticos 404, controlando la pluralidad de accionadores 402. Un flujo de fluido entra en la placa de control 400 en el puerto de entrada 408 y sale de la placa de control 400 por la pluralidad de puertos de flujo 406(a) y 406(b). La placa de control 400 incluye además una pluralidad de puertos de visualización 410 que proporcionan acceso óptico a la cara inferior de los recipientes de cultivo celular 206.

15 Tal como se ha mencionado anteriormente, la placa de control 400 incluye una pluralidad de accionadores neumáticos 402. Tal como se ilustra, la placa de control 400 incluye veinte accionadores divididos en cuatro bombas de volumen constante de 4 puertos 412. Cada bomba de volumen constante 412 corresponde a la intersección de dos canales en la placa de flujo de fluidos 204. El accionador 402(a) se encuentra en el centro de la bomba de volumen constante 412 e impulsa fluido por las cuatro ramas de la intersección. Cada accionador 402(b)-405(e) controla el flujo del fluido a su rama respectiva de la intersección. La bomba de volumen constante 412 se expone adicionalmente en relación a las figuras 4D-4F.

20 La placa de control 400 incluye además una pluralidad de puertos de flujo 406. Tal como se ilustra, la placa de control 400 incluye un primer tipo de puerto de flujo, puerto de flujo 406(a), y un segundo tipo de puerto de flujo, puerto de flujo 406(b). El puerto de flujo 406(b) presenta un diámetro relativo mayor que el puerto de flujo 406(a). En algunas formas de realización, un puerto de mayor diámetro 406 permite el flujo de un volumen relativo mayor de fluido por el puerto de flujo 406. En algunas formas de realización, cada puerto de flujo 406 está acoplado con un único puerto de entrada 408. En otras formas de realización, la placa de control 400 es configurable para proporcionar fuentes separadas a uno o más de los puertos de flujo 406. En algunas formas de realización, la abertura del puerto de flujo 406 se encuentra fresada en la placa de control 400 e incluye una arandela o aro tórico en la zona fresada. La arandela o aro tórico evita la fuga de fluido al pasar el flujo de fluido de la placa de control 400 a la placa de flujo de fluido 204.

25 La placa de control 400 incluye además cuatro puertos de visualización 410. Los puertos de visualización 410 son pasos (o vías) que permiten el acceso óptico a la cara dorsal de los recipientes de cultivo celular 206 eventualmente acoplados con la plataforma de cultivo celular 102. En algunas formas de realización, la placa de control 400, placa de flujo de fluidos 204 y/o recipientes de cultivo celular 206 se fabrican a partir de materiales ópticamente transparentes, de manera que los cultivos celulares son ópticamente accesibles sin puertos de visualización 410. En algunas formas de realización, los componentes del sistema de cultivo celular 100 son sustancialmente ópticamente transparentes e incluyen una pluralidad de puertos de visualización 410.

35 La figura 4B es una vista de sección transversal que ilustra los canales de flujo interno de la placa de control 400. Tal como se ilustra, la placa de control 400 incluye los canales 414(1) a 414(6). El canal 414(1) corresponde al puerto de entrada de fluido 408. Los canales 414(2) a 414(6) corresponden, cada uno, a uno de los puertos neumáticos 404 y actúan como canales de control de los accionadores anteriormente indicados, 402(a) a 402(e). La figura 4B ilustra que cada bomba de volumen constante 412 se encuentra conectada con los mismos canales de control 414(2) a 414(6) que, de esta manera, funcionan al unísono. En algunas formas de realización, cada accionador 402 en la bomba de volumen constante 412, la placa de control 202 es individualmente controlable.

40 El canal 414(1) incluye una pluralidad de ramas para dirigir un fluido a los puertos de flujo 406. El puerto de flujo 406(b) incluye un diámetro relativamente mayor que el puerto de flujo 406(a). De acuerdo con lo anterior, la rama 416, que corresponde al puerto de mayor flujo 406(b), presenta un diámetro mayor a fin de dar soporte a un flujo incrementado por el puerto de flujo 406(b). En comparación, la rama 418 que corresponde al puerto de flujo 406(a) presenta un diámetro relativamente más pequeño. En algunas formas de realización, las ramas 416 y 418 y los canales de flujo de fluidos indicados en la presente memoria presentan un diámetro de aproximadamente 1 a 5 mm, de aproximadamente 5 a 10 mm y de aproximadamente 15 a 25 mm.

50 Tal como se ha mencionado anteriormente, en algunas formas de realización, el accionador es un accionador electromagnético. La figura 4C es una vista isométrica de una placa de control 450 con accionadores electromagnéticos 452. La placa de control 450 se fabrica en una placa de circuito impreso 454 y de manera similar a la placa de control 400 incluye una pluralidad de puertos de visualización 410. Adicionalmente, la placa de control 450 incluye una membrana 456 que protege la electrónica de la placa de control 450 de los líquidos contenidos en las capas superiores. La placa de control 450 incluye además una pluralidad de conectores eléctricos 458. Tal como se ilustra, la placa de control 450 no incluye canales de flujo de fluidos. En la presente forma de realización, el puerto de entrada de fluidos 408 estaría incluido dentro de la placa de flujo de fluidos 204 y/o los recipientes de cultivo celular 206. En otras formas de realización, la placa de control 450 está configurada para incluir un puerto de entrada de fluidos 408 similar a la placa de control 400.

65



En algunas formas de realización, los accionadores electromagnéticos permiten una huella relativa más pequeña en comparación con la placa de control 400. En algunas formas de realización, los accionadores 452 se implementan para el funcionamiento biestable con topes mecánicos fijos para los pistones que incorporan. Esto permite que los accionadores presenten volúmenes de carrera reproducibles y sólo requieran energía durante las transiciones acoplado-desacoplado. Tal como se ha sugerido anteriormente, en algunas formas de realización, la placa de control 400 con accionadores neumáticos se utiliza en el caso que desee un número reducido o nulo de componentes eléctricos dentro de la plataforma de cultivo celular 104. Por ejemplo, en el caso de que un experimentador realice experimentos electrofisiológicos y los componentes eléctricos de la placa de control 202 interfieran con los registros de electrofisiología, el experimentador puede seleccionar la utilización de un sistema de tipo neumático.

La placa de control 450 incluye además una pluralidad de conectores 458. En algunas formas de realización, los conectores 458 se utilizan para acoplar eléctricamente la placa de control 450 con el controlador 112 con el fin de activar los accionadores 452. En otras formas de realización, los conectores 458 se utilizan para conectar sensores 106 a la placa de control 450 y finalmente al ordenador de control 110. En algunas formas de realización, las formas de realización neumáticas incluyen además conectores 458 para la conexión de sensores 106.

Haciendo referencia de nuevo a las figuras 2, 3A y 3B, la plataforma de cultivo celular 102 incluye una placa de flujo de fluidos 204. La placa de flujo de fluidos 204 incluye una pluralidad de canales de flujo definidos en la totalidad de la misma. La placa de flujo de fluidos 204 actúa como interfaz entre la placa de control 202 y los recipientes de cultivo celular 206. Por ejemplo, la placa de flujo de fluidos 204 presenta una interfaz con su cara dorsal con los puertos de flujo 406 de la placa de control 400. A continuación, se dirige un flujo de fluidos desde la placa de control 202 hasta la placa de flujo de fluidos 204, donde el fluido puede dirigirse a los recipientes de cultivo celular 206.

En algunas formas de realización, la placa de flujo de fluidos 204 está realizada en materiales termoplásticos transparentes, químicamente estables y mecánicamente robustos, tales como el poliestireno. El material de la placa de flujo de fluidos 204 se selecciona para evitar inestabilidades químicas y absorción química.

En algunas formas de realización, el control dinámico del flujo por la placa de flujo de fluidos 204 se consigue utilizando los accionadores anteriormente indicados de la placa de control 202. Por ejemplo, el usuario puede activar accionadores específicos para cerrar, controlar el caudal o desviar fluido respecto de los canales.

En algunas formas de realización, la placa de flujo de fluidos 204 es desechable. En otras formas de realización, la placa de flujo de fluidos 204 incluye además accionadores, sensores y/o "componentes reutilizables" tal como se indica en la presente memoria.

La figura 4D ilustra un esquema ampliado de la bomba de volumen constante de ejemplo 412 de la placa de control 400. En el centro la bomba de volumen constante 412 incluye una bomba de desplazamiento 460. Cuatro canales de flujo 464 radian hacia afuera desde la bomba de desplazamiento 460. Una válvula de membrana 462 se encuentra en serie con cada uno de los canales de flujo 464.

La bomba de volumen constante 412 incluye una bomba de desplazamiento 460. La bomba de desplazamiento 460 y la válvula de membrana 462 se describen adicionalmente en relación a las figuras 4E y 4F. Brevemente, la bomba de desplazamiento 460 está situada próxima al centro de la bomba de volumen constante 412. En algunas formas de realización, la bomba de desplazamiento 460 es un accionador que genera flujo mediante el impulso de una membrana entrando y saliendo de una cámara de desplazamiento. La deflexión de la membrana genera una presión positiva o negativa dentro de la cámara de desplazamiento, que fuerza un flujo de fluido a través de la bomba de volumen constante 412. En algunas formas de realización, el accionador es un accionador neumático, un accionador electromagnético o un accionador piezoeléctrico. En otras formas de realización, el accionamiento de la membrana se consigue produciendo neumáticamente un vacío parcial o presión elevada en el espacio de cabeza en la cara de no fluido de la membrana. En algunas formas de realización, unos accionadores electromagnéticos reducen la complejidad de la placa de control al permitir el control eléctrico de los accionadores, comparado con los accionadores neumáticos, que se activan mediante líneas de fluido neumático. En algunas formas de realización, los accionadores se implementan para el funcionamiento biestable y presentan topes mecánicos fijos para los pistones. Ello permite que los accionadores presenten volúmenes de carrera reproducibles y sólo requieran energía durante las transiciones acoplado-desacoplado.

En algunas formas de realización, cada carrera de la bomba de desplazamiento 460 produce entre aproximadamente 0.05 N y aproximadamente 2 N, entre aproximadamente 0.25 N y aproximadamente 1.5 N o entre aproximadamente 0,75 N y aproximadamente 1.25 N de fuerza. La distancia de accionamiento de la membrana durante cada carrera de la bomba de desplazamiento 460 es de entre aproximadamente 50 µm y aproximadamente 500 µm, entre aproximadamente 100 µm y aproximadamente 400 µm, o entre aproximadamente 200 µm y aproximadamente 300 µm.

En algunas formas de realización, la bomba de volumen constante 412 desplaza entre aproximadamente 0.1 µl y

aproximadamente 2.0  $\mu\text{l}$ , entre aproximadamente 0.5  $\mu\text{l}$  y aproximadamente 1.5  $\mu\text{l}$ , o entre aproximadamente 0.75  $\mu\text{l}$  y aproximadamente 1.25  $\mu\text{l}$  de fluido por carrera del accionador. Este desplazamiento de fluido genera un caudal de entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 25  $\mu\text{l/s}$ , entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 20  $\mu\text{l/s}$ , entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 15  $\mu\text{l/s}$ , entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 10  $\mu\text{l/s}$ , entre aproximadamente 0,1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 5  $\mu\text{l/s}$ , o entre aproximadamente 0.1  $\mu\text{l/s}$  y aproximadamente 1  $\mu\text{l/s}$ .

La bomba de volumen constante 412 incluye además una pluralidad de válvulas de membrana 462. Tal como se ilustra, la bomba de volumen constante 412 incluye cuatro válvulas de membrana 462. En algunas formas de realización, la bomba de volumen constante 412 incluye entre 4 y 12 válvulas o entre 4 y 8 válvulas, cada una acoplada con un canal de flujo diferente 464. De manera similar a la bomba de desplazamiento 460, las válvulas de membrana 462 incluyen un accionador que impulsa una membrana. En un procedimiento descrito con mayor detalle en relación a las figuras 4E, 4F y la figura 12, la válvula de membrana 462 cierra el canal de flujo 464 al que se encuentra unido impulsando la membrana hacia el interior del canal de flujo 464, sellando las dos partes del canal de flujo 464 en cada cara de la válvula de membrana 462 y aislándolas mutuamente. En algunas formas de realización, las válvulas de membrana 462 se encuentran normalmente abiertas (NA) y, en otras formas de realización, las válvulas de membrana 462 se encuentran normalmente cerradas (NC). Una válvula de membrana NA 462 permite el flujo de fluido por el canal de flujo 464 al que se encuentra acoplado en el caso de que la válvula de membrana NA 462 se encuentre desactivada. A la inversa, una válvula NC 462 evita el flujo de fluido por el canal de flujo 464 al que se encuentra acoplado en el caso de que la válvula NC 462 se encuentre desactivada. En algunas formas de realización, un muelle o imán permanente dentro de las válvulas de membrana 462 proporciona una fuerza estática requerida para mantener una posición cerrada en el caso de que una válvula NC 462 se encuentre en su posición por defecto. Por ejemplo, una corriente de flujo a presión relativamente elevada podría forzar la apertura de una válvula NC; sin embargo, la fuerza estática de la válvula garantiza que la válvula 462 se mantenga en su estado cerrado hasta que se acciona la válvula 462.

Las válvulas de membrana 462 (y bomba de desplazamiento 460) están controladas por el controlador mencionado anteriormente 112. El control de las válvulas de membrana 462 permite doce posibles caminos de flujo a través de la bomba de volumen constante 412 (es decir, un camino de fluidos desde cada válvula de membrana 462 a cada una de las demás válvulas de membrana 462 de la bomba de volumen constante 412). El control multiplexado de las válvulas permite un volumen de flujo constante a lo largo de una pluralidad de caminos de fluidos a un tiempo. El control multiplexado de las válvulas significa que, con cada ciclo de carrera de la válvula de sustitución 460, se modifica la configuración de válvulas de membrana abiertas y cerradas 462 (seleccionando de esta manera diferentes caminos de fluidos a través de la bomba de volumen constante 412). En algunas formas de realización, una pluralidad de condensadores de fluidos está acoplada a cada uno de los canales de flujo de fluidos 464, de manera que los ciclos de la bomba de volumen constante 412 a través del grupo multiplexado de caminos de fluidos, el flujo de salida de la bomba de volumen constante 412 a lo largo de cada uno de los caminos de fluidos multiplexados se convierte de un flujo pulsátil en un flujo de volumen constante. Por ejemplo, en una primera carrera de la bomba de desplazamiento 460, las válvulas de membrana 462 están configuradas para inyectar fluido en un recipiente de cultivo celular de un reservorio de fluidos y después, en una segunda carrera de la bomba de desplazamiento 460, las válvulas de membrana 462 pueden configurarse de manera que la bomba de volumen constante 412 aspira fluido del recipiente de cultivo celular y desecha el fluido a un reservorio de residuos.

La bomba de volumen constante 412 incluye además una pluralidad de canales de flujo 464. En algunas formas de realización, los canales de flujo 464 presentan una anchura y altura de entre aproximadamente 0.1 mm y aproximadamente 1.5 mm, de entre aproximadamente 0.1 mm y aproximadamente 1 mm, o de entre aproximadamente 0.1 mm y aproximadamente 0.5 mm. En algunas formas de realización, uno o más condensadores de fluidos están acoplados en línea con cada uno de los canales de flujo 464. Los condensadores de fluidos transforman la naturaleza pulsátil del flujo generado por la bomba de desplazamiento 460 en un flujo uniforme constante. El flujo a través de la bomba de volumen constante 412 puede modelarse como un circuito RC. En algunas formas de realización, la capacitancia de los condensadores de fluidos se selecciona de manera que la constante de tiempo ( $\tau$ ) del canal de fluidos 464 es aproximadamente cinco veces superior a la frecuencia de conmutación de la bomba de desplazamiento 460. La constante de tiempo ( $\tau$ ), como un circuito RC eléctrico, se calcula como la resistencia del canal de flujo multiplicada por la capacitancia del condensador fluido en serie con el canal de flujo. Tal como se indica a continuación, en algunas formas de realización, el recipiente de cultivo celular está abierta de manera que las células dentro del recipiente de cultivo celular pueden estar expuestas a gases ambientales. En el caso de que el recipiente de cultivo celular se encuentre abierto resulta importante utilizar una bomba de volumen constante 412 para garantizar que el recipiente de cultivo celular no rebose. En un recipiente de cultivo celular abierto, la presión no se acumula dentro del recipiente de cultivo celular. De acuerdo con lo anterior, en algunas formas de realización, un volumen de líquido sustancialmente igual al volumen de fluido inyectado en el recipiente de cultivo celular no fluye pasivamente hacia el exterior del recipiente de cultivo celular. Sin embargo, la presión negativa creada dentro de la bomba de volumen constante 412 permite que la bomba de volumen constante 412 aspire un volumen de líquido hacia el exterior del recipiente de cultivo celular abierto equivalente al volumen de fluido que inyecta hacia el interior del recipiente de cultivo celular abierto.

La figura 4E ilustra una vista de una sección transversal de una bomba de volumen constante de ejemplo 470. La

bomba de volumen constante 470 incluye una bomba de desplazamiento 471 y cuatro válvulas 472 (dos de las cuales se ilustran en la vista transversal). Los pistones 472 de las válvulas 472 y la bomba de desplazamiento 471 están configurados para desviar una membrana 474. La bomba de volumen constante 470 incluye además un canal de flujo 475 y una cámara de desplazamiento 476. La membrana 474 está interpuesta entre una capa de fluido 477 y una capa de accionamiento 478.

Tal como se ha mencionado anteriormente, la bomba de volumen constante 470 incluye una bomba de desplazamiento 471 y válvulas 472. En algunas formas de realización, la bomba de desplazamiento 471 y válvulas 472 son accionadores. Por ejemplo, la bomba de desplazamiento 471 y válvulas 472 pueden ser accionadores electromagnéticos, piezoeléctricos o neumáticos. La bomba de desplazamiento 471 y las válvulas 472 presentan un diámetro de entre aproximadamente 2 mm y aproximadamente 15 mm, de entre aproximadamente 5 mm y aproximadamente 10 mm, o de entre aproximadamente 7 mm y aproximadamente 10 mm. Tal como se ilustra, la válvula 472(a) está desactivada y la bomba de desplazamiento 471 está volviendo a su estado desactivado, creando un vacío en la cámara de desplazamiento 476. Tal como se ilustra, aspira un fluido hacia el interior de la cámara de desplazamiento 476.

La bomba de volumen constante 470 incluye además una membrana 474. En la configuración de válvula NA ilustrada en la figura 4E, la membrana 474 es desviada por las válvulas 472 para cerrar un canal (tal como se ilustra con la válvula 472 (b)). En algunas formas de realización, la membrana 474 es una lámina de membrana que está laminada en sustancialmente la totalidad de la superficie de la capa de accionamiento 478. En otras formas de realización, la membrana 474 es un componente de cada una de bomba de desplazamiento 471 y válvulas 472 y no es una capa única dentro de la placa de control. En algunas formas de realización, la membrana 474 es un poliuretano de alta temperatura, un elastómero fluoropolímero o un caucho sintético. Por ejemplo, la membrana 474 puede incluir Viton® (fabricado por DuPont, con sede central en Wilmington, Delaware). La membrana es de entre aproximadamente 25 µm y aproximadamente 300 µm, de entre aproximadamente 50 µm y aproximadamente 250 µm, de entre aproximadamente 100 µm y aproximadamente 200 µm, o de entre aproximadamente 100 µm y aproximadamente 150 µm. El material para la membrana se selecciona de manera que: (1) no se produzca sustancialmente flujo por la válvula 472 en el caso de que la válvula 472 se encuentre en una posición cerrada, (2) el material sea inerte, (3) el material no absorba compuestos químicos, (4) el material sea resistente a la fatiga, (5) el material sea no pegajoso (es decir, la membrana de válvula se abra con relativa facilidad tras encontrarse cerrada durante un periodo de tiempo prolongado), (5) mantenga las propiedades deseadas durante todo el procedimiento de esterilización, o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, la membrana se trata para incrementar la no pegajosidad del material. En algunas formas de realización, la membrana se trata con un abrasivo (por ejemplo, limpieza con chorro de arena, desbastado o lijado). En algunas formas de realización, la superficie de la membrana se trata químicamente con alúmina, titanio, circonia (óxidos metálicos) o una combinación de los mismos. El tratamiento superficial crea una capa superficial de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 400 angstroms de grosor.

La bomba de volumen constante 470 incluye además una capa de accionamiento 478. En algunas formas de realización, la capa de accionamiento 478 está formada de una poliimida, tal como Kapton, o un acrílico. En algunas formas de realización, la capa de accionamiento 478 se forma mediante acoplamiento de una pluralidad de capas entre sí. Por ejemplo, pueden dirigirse canales neumáticos hacia el interior de capas individuales de poliimida. Las capas de poliimida dirigidas a continuación se unen entre sí con capas adhesivas, entre los ejemplos de las cuales se incluyen butiral fenólico, poliuretano (PU) o acrílicos (PMMA) para formar una capa de accionamiento sólida 478 con canales neumáticos que discurren por el interior de la misma. En formas de realización con accionadores eléctricos (por ejemplo, accionadores electromagnéticos), las trazas de señal y de energía discurren a través de la capa de accionamiento.

La bomba de volumen constante 470 incluye además una capa de fluidos 477. La capa de fluidos 477 contiene los canales de flujo de fluidos (por ejemplo, el canal de flujo 475). La capa de fluidos 477 incluye además la cámara de desplazamiento 476. En algunas formas de realización, la capa de fluidos 477 está formada por un termoplástico de clase VI, tal como, aunque sin limitación, polieterimida (PEI), poliimida (PI), poliuretano (PU), Viton o una combinación de los mismos.

La figura 4F ilustra una vista de una sección transversal de una bomba de volumen constante de ejemplo 480. La bomba de volumen constante 480 ilustra una configuración de válvula NA. La bomba de volumen constante 480 incluye un canal de flujo segmentado 483. La bomba de volumen constante 480 incluye además una bomba de desplazamiento 481 y cuatro válvulas 482 (dos de las cuales se ilustran en la figura 4F). La bomba de volumen constante 480 incluye una membrana 474 interpuesta entre la capa de fluido 477 y la capa de accionamiento 478.

La bomba de volumen constante 480 incluye la bomba de desplazamiento 481 y válvulas 482. En una configuración de válvula NA, las válvulas 482 y bomba de desplazamiento 481 son activadas (es decir, abiertas) mediante la aplicación de un vacío en el lado de capa de accionamiento 478 de la membrana. Tal como se ilustra en la figura 4F, la cámara de desplazamiento 484 de la bomba de desplazamiento 481 se encuentra dentro de la capa de accionamiento 478. En algunas formas de realización, el suelo de la cámara de desplazamiento 484 es cóncavo, de manera que la membrana 474 se adapta al suelo de la cámara de desplazamiento 484 al aplicar un vacío en la

bomba de desplazamiento 481.

A continuación, haciendo referencia a la figura 5A, que ilustra una vista isométrica de una placa de flujo de fluidos de ejemplo 500. La superficie superior de la placa de flujo de fluidos 500 incluye una pluralidad de cavidades (o muescas) 504. Tal como se indica a continuación, los recipientes de cultivo celular 206 incluyen proyecciones correspondientes (o salientes). Las muescas 504 y salientes encajan mutuamente y alinean apropiadamente los recipientes de cultivo celular 206 con los puertos de flujo 502. Tal como se ilustra, los puertos de flujo 502 están incluidos en un subgrupo de muescas 504. En algunas formas de realización, cada muesca 504 incluye un puerto de flujo 502.

Tal como se ilustra, y haciendo referencia nuevamente a las figuras 3A y 3B, la placa de flujo de fluidos 500 da soporte a seis recipientes de cultivo celular 206. En algunas formas de realización, la placa de flujo de fluidos 500 proporciona soporte a entre 1 y 10, entre 10 y 20, entre 20 y 50, o entre 50 y 100 recipientes de cultivo celular 206.

La figura 5B ilustra una vista de una sección transversal de la placa de flujo de fluidos 500 de la figura 5A. Tal como revela la vista de una sección transversal, la placa de flujo de fluidos 500 incluye una pluralidad de canales de flujo de fluidos 508. En algunas formas de realización, los canales de flujo de fluidos 508 conectan uno o más puertos de flujo 502 a otros canales de flujo de fluidos 508, puertos de flujo 406 en la placa de control 202, o una combinación de los mismos. De esta manera, en algunas formas de realización, los canales de flujo de fluidos 508 conectan uno o más recipientes de cultivo celular 206, interconectan diferentes partes de un único recipiente de cultivo celular 206 y/o conectan los canales de flujo de fluidos 508 con la placa de control 202. En algunas formas de realización, la placa de flujo de fluidos 500 incluye una pluralidad de capas, cada una de las cuales incluye canales de flujo de fluido adicionales 508. Por ejemplo, la placa de flujo de fluidos 500 puede incluir una primera capa de canales de flujo de fluidos 508 que discurren a lo largo de una primera rama y un segundo grupo de canales de flujo de fluidos 508 que discurren ortogonalmente respecto al primer eje.

Haciendo referencia nuevamente a las figuras 2, 3A y 3B, la plataforma de cultivo celular 102 incluye una pluralidad de recipientes de cultivo celular 206(1)-(n), en donde  $n$  es el número de recipientes de cultivo celular. Tal como se ha indicado anteriormente, diversas plataformas de cultivo celular 102 pueden proporcionar soporte a entre 1 y 10, entre 10 y 20, entre 20 y 50, o entre 50 y 100 recipientes de cultivo celular 206. En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 están configurados para alojar un tipo celular específico y/o células de un tipo de órgano particular. En algunas formas de realización, las células de un tipo de órgano particular incluyen una pluralidad de tipos celulares relacionados con el órgano particular. Por ejemplo, en el caso de que el recipiente de cultivo celular 206 esté configurado para alojar células de un órgano, el recipiente de cultivo celular puede configurarse para cultivar células del segmento delgado del asa de Henle, células de los túbulos, células de los conductos colectores y células parietales de glomérulo. En algunas formas de realización con múltiples tipos celulares relacionados con un tipo de órgano particular, se cultiva un primer tipo celular relacionado con el órgano sobre una membrana permeable y un segundo tipo relacionado con el órgano se cultivó bajo la membrana permeable.

En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 incluyen un factor de forma exterior común con independencia de la configuración interna del recipiente de cultivo celular 206. Por ejemplo, cada recipiente de cultivo celular 206 puede incluir los salientes y puertos de fluido anteriormente indicados en localizaciones predeterminadas de manera que los recipientes de cultivo celular 206 pueden situarse en cualquier ranura de recipiente de cultivo celular en la placa de flujo de fluidos 202.

En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 se configuran para proporcionar soporte a tipos de tejido de células y/o órganos específicos. En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 pueden incluir andamiajes o estructuras específicas para permitir el crecimiento celular 3-dimensional de un tipo celular y/o de órgano específico. En otras formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 se configuran para proporcionar soporte a tipos de tejido de células y/o órganos específicos mediante la provisión de un caudal predeterminado al recipiente de cultivo celular 206 y/o mediante la provisión de fluidos predeterminados (por ejemplo, mezclas de medios específicos) al recipiente de cultivo celular 206. Por ejemplo, un tipo celular que requiere una elevada fuerza de cizalla puede cultivarse en un recipiente de cultivo celular 206 con una pluralidad de puertos de entrada y una pluralidad de puertos de salida. La pluralidad de puertos de entrada y salida permite que un volumen relativamente más grande fluido fluya por el recipiente de cultivo celular 206, proporcionando de esta manera una fuerza de cizalla relativamente más grande a las células dentro del recipiente de cultivo celular 206. En algunas formas de realización, las células que requieren poca o ninguna fuerza de cizalla pueden cultivarse en recipientes de cultivo celular con un único puerto, de manera que los nutrientes se difunden en el recipiente de cultivo celular por el único puerto bajo ninguna fuerza del flujo de fluidos.

En otras formas de realización, basándose en sus requisitos fisiológicos, las células se cultivan en un andamiaje sumergido en medio o sobre una membrana en una interfaz aire-líquido. Por ejemplo, pueden introducirse células alveolares del pulmón en un recipiente de cultivo celular 206 que está diseñado para proporcionar aire a la cara superior de las células, suministrando simultáneamente nutrientes a la cara dorsal de las células. En otro ejemplo, pueden cultivarse células hepáticas sobre una membrana permeable sobre un reservorio de manera que puede

producirse difusión a través de la capa de células hepáticas y membrana hasta el reservorio.

- 5 Tal como se expone con mayor detalle a continuación, en algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 incluyen ranuras para uno o más insertos de cultivo celular. Los insertos de cultivo celular alojan las células cultivadas en el recipiente de cultivo celular 206. Los insertos de cultivo celular son extraíbles y permiten sembrar y cultivar los cultivos individuales fuerza del sistema de cultivo celular 100. Por ejemplo, una compañía puede comercializar insertos de cultivo celular presembrados, que adquiere un investigador y después inserta en un sistema de cultivo celular 100.
- 10 En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 incluyen múltiples compartimientos que están separados por membranas semipermeables. En algunas formas de realización, las membranas pueden incluir componentes matriciales específicos que representan la química superficial rigidez mecánica y porosidad de los tejidos *in vivo*. En algunas formas de realización, las células se cultivan directamente sobre las membranas.
- 15 Al igual que con los demás componentes de la plataforma de cultivo celular 102, en algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 son desechables. Los recipientes de cultivo celular 206 se realizan en materiales ópticamente transparentes, tales como poliestireno y/o poliimida. Los materiales de los recipientes de cultivo celular 206 son estables y compatibles con el cultivo celular y fluidos biológicos respecto a materiales de microfluidos convencionales. Por ejemplo, en algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 se fabrican en PDMS. En algunas formas de realización, se fabrican componentes de recipientes de cultivo celular desechables de termoplásticos, tales como poliestireno, policarbonato, copolímero de olefina cíclica (COC) o cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 se fabrican mediante mecanizado directo, grabado, moldeo por inyección o puede utilizarse cualquier combinación de los mismos. En algunas formas de realización, la placa de control 202 y/o la placa de flujo de fluidos 204 se fabrican mediante procedimientos similares con materiales similares a los indicados anteriormente.
- 20 En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 y/o la placa de flujo de fluidos 204 incluyen válvulas unidireccionales. Las válvulas unidireccionales permiten extraer los recipientes de cultivo celular 206 temporalmente de la placa de flujo de fluidos 204 durante la experimentación. Por ejemplo, un usuario puede extraer un recipiente de cultivo celular 206 de la plataforma de cultivo celular 102 para llevar a cabo un experimento o prueba separado en las células dentro del recipiente de cultivo celular extraído 206.
- 30 En algunas formas de realización, el reservorio de fluidos 118 y/o reservorio de residuos 120 anteriormente indicado pueden presentar el mismo factor de forma que el recipiente de cultivo celular 206, permitiendo añadir modularmente el reservorio de fluidos 118 y/o el reservorio de residuos 120 a la plataforma de cultivo celular 102. La placa de flujo de fluidos 202 y la placa de control 202 a continuación pueden hacer fluir medio de crecimiento u otros fluidos (tales como una medicación o una toxina) desde el reservorio a los demás componentes de la plataforma de cultivo celular 102.
- 35 Tal como se menciona a continuación, en algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular 206 incluyen estructuras de andamiaje personalizadas para cada modelo de sistema fisiológico. En algunas formas de realización, los andamiajes (asimismo denominados insertos de cultivo celular) permiten desarrollar modelos individuales separadamente de la plataforma de cultivo celular 102 y después suministrarlos individualmente para la forma de realización práctica.
- 40 En algunas formas de realización, puede requerirse un almacenamiento y administración especializados de fármacos para los recipientes de cultivo celular específicos 206 (por ejemplo, de administración de insulina en un recipiente de cultivo celular 206 para el cultivo de células hepáticas). Estas formas de realización pueden incluir módulos personalizados adaptados a las tapas anteriormente indicadas de pocillos de cultivo específicos. Por ejemplo, y haciendo referencia a la figura 3B, el puerto 304 en la tapa 302 puede utilizarse para permitir la administración de un agente en el interior del recipiente de cultivo celular 206(b). En algunas formas de realización, el módulo de administración se controla mediante la placa de control 202 y/o directamente mediante el controlador 112.
- 45 Las figuras 6A-6D ilustran esquemas de diversos recipientes de cultivo celular de ejemplo. Tal como se ilustra, cada recipiente de cultivo celular 600, 610, 620 y 630 incluye un puerto de entrada 602 y un puerto de salida 604. En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular incluyen una pluralidad de puertos de entrada 602 y/o una pluralidad de puertos de salida 604. En determinadas formas de realización, cada puerto de un recipiente de cultivo celular 206 está configurado para ser un puerto de entrada 602 o un puerto de salida 604 mediante configuración de la placa de flujo de fluidos 204 con uno o más accionadores en la placa de control 202.
- 50 Cada recipiente de cultivo celular 600, 610, 620 y 630 incluye además un inserto de cultivo celular 606. Tal como se ha indicado anteriormente, el inserto de cultivo celular 606 permite el cultivo fuera de la plataforma de células. Los recipientes de cultivo celular incluyen ranuras que fijan en su sitio los insertos de cultivo celular 606. En algunas formas de realización, la superficie del fondo del inserto de cultivo celular incluye una membrana semipermeable sobre la que se cultivan células.
- 60
- 65

La figura 6A ilustra un recipiente de cultivo celular 600 configurado para un flujo basal 608. Tal como se ha indicado anteriormente, algunas células son sensibles a flujos y/o fuerzas de cizalla específicos. Por ejemplo, una población celular de células hepáticas puede mimetizar más estrechamente las células hepáticas *in vivo* si se expone a una fuerza de cizalla. Mediante la utilización de un inserto de cultivo celular 606 con una membrana permeable, la configuración del recipiente de cultivo celular 600 exponen la membrana basal de las células a un flujo y, de esta manera, a la fuerza de cizalla indicada. En algunas formas de realización, un flujo basal permite exponer la superficie dorsal a gases. Por ejemplo, este tipo de configuración puede utilizarse para mimetizar el tejido alveolar. En el presente ejemplo, las células epiteliales alveolares se cultivan en el inserto de cultivo celular 606. Los nutrientes se suministran a las células mediante el flujo basal 608, exponiendo simultáneamente las células a gas por su superficie superior.

Las figuras 6B y 6C ilustran los recipientes de cultivo celular 610 y 620, respectivamente. Los recipientes de cultivo celular 610 y 620 están configurados para proporcionar un flujo superior. El recipiente de cultivo celular 610 incluye un inserto de cultivo celular elevado 606. El inserto de cultivo celular elevado 606 permite la difusión a través de las células y al interior de un espacio de reservorio 611 situado bajo el inserto 606(b). En algunas formas de realización, la configuración de cultivo celular del recipiente de cultivo celular 620 se utiliza para cultivar células epiteliales intestinales. La figura 6D ilustra el recipiente de cultivo celular 630. El recipiente de cultivo celular 630 está configurado para permitir el flujo en la parte superior y en la parte inferior del inserto de cultivo celular 606.

La figura 7A ilustra una vista isométrica de una forma de realización de ejemplo de un recipiente de cultivo celular 630 similar al recipiente de cultivo celular 206(b) en la figura 3A. Exteriormente, cada pared del recipiente de cultivo celular 700 incluye un hueco utilizado para fijar el recipiente de cultivo celular 700 en una placa de flujo de fluido 204 con tornillos de mariposa. El interior del recipiente de cultivo celular 700 induce una zona superior de flujo 704 y una zona de cultivo celular 706. En algunas formas de realización, el suelo de la zona de cultivo celular 704 es una membrana semipermeable.

La figura 7B ilustra una vista de corte isométrica del recipiente de cultivo celular 700. Tal como revela el corte, el recipiente de cultivo celular 700 incluye una zona inferior de flujo 708. Fluye fluido hacia el interior y hacia el exterior de la zona inferior de flujo 708 por los puertos 710. La flecha 712 ilustra un posible patrón de flujo por el recipiente de cultivo celular 700. Una tapa 714 se encuentra acoplado opcionalmente con el recipiente de cultivo celular 700. La tapa 714 está realizada en materiales similares a los del recipiente de cultivo celular 700. En algunas formas de realización, la tapa 714 es transparente, proporcionando acceso óptico a las células dentro de la zona de cultivo celular 706. La tapa 714 incluye además una pluralidad de puertos de acceso 716. En algunas formas de realización, los puertos de acceso 716 se utilizan para introducir un gas y/o un líquido en la zona superior de flujo 704. Se suministra el gas y/o líquido a los puertos de acceso 716 a través de la placa de control 202 y/o la placa de flujo de fluidos 204 en algunas formas de realización. En otras formas de realización, el suministro de gases y/o líquidos a los puertos de acceso 716 es independiente de la plataforma de cultivo celular 102. En algunas formas de realización, el recipiente de cultivo celular 700 se utiliza para cultivar tejido pulmonar. Por ejemplo, se cultivan células pulmonares dentro de la zona de cultivo celular 706. Los nutrientes en la zona inferior de flujo se difunden a las células a través de la membrana semipermeable de la zona de cultivo celular 706. Se hace pasar gas, que emula el gas dentro de los pulmones humanos, hacia el interior de la zona superior de flujo 704 a través de los puertos de acceso 716.

La figura 8 ilustra otra forma de realización de un recipiente de cultivo celular 206. La figura 8 ilustra una vista superior de un recipiente de cultivo celular 800 similar al recipiente de cultivo celular 206(a) en la figura 3A. El recipiente de cultivo celular 800 incluye un puerto de entrada 802. El flujo de fluido que entra en el recipiente de cultivo celular 800 se dirige en torno a la pared 804 y hacia la salida 806. La salida 806 se encuentra excavada dentro de una ranura 808, que es similar a las ranuras anteriormente indicadas para fijar los insertos de cultivo celular. En el recipiente de cultivo celular 800, una parte del flujo de fluido fluye por las células y membrana del inserto de cultivo celular, alcanzando la salida 806. Los huecos 810 permiten que el exceso de fluido evite el inserto de cultivo celular y fluya directamente hasta la salida 806. En algunas formas de realización, un recipiente de cultivo celular similar al recipiente de cultivo celular 800 se utiliza para cultivar células, tales como células hepáticas, en presencia de una fuerza de cizalla.

La figura 9A ilustra una vista de una sección transversal de un accionador 900 adecuado para la inclusión en la placa de control para el control de los caminos de fluidos en la placa de flujo de fluidos. El accionador 900 está alojado dentro de la placa de control 902. Una placa de flujo de fluidos 904, que incluye el canal de flujo 906, está acoplada con la placa de control 902. Para cerrar el canal de flujo 906, el accionador 900 impulsa su pistón hacia arriba. Tal como se ha indicado anteriormente, una membrana 908 separa el accionador del fluido de la placa de flujo de fluidos 904. Una vez extendido, el pistón se introduce en un hueco 920 en la parte superior del canal de flujo. Lo anterior crea un sello, cerrando el canal 906.

La figura 9A asimismo ilustra un condensador fluídico 912. En algunas formas de realización, se incluye uno o más condensadores de fluidos 912 en los canales de flujo de la plataforma de cultivo celular 102. El condensador fluídico 912 suaviza un flujo de fluido por el canal al que se encuentra unido. El condensador fluídico 912 incluye

una membrana 914 sobre una cavidad 916. En respuesta a una onda pulsátil (u otro flujo no suave), la membrana 914 se deforma entrando en la cavidad 916. La expansión del canal hacia el interior de la cavidad 916 enlentece la onda pulsátil y suaviza el flujo por el canal.

5 La figura 9B ilustra una vista de una sección transversal de accionadores de ejemplo configurados para inyectar y/o extraer muestras de fluidos para un sistema de cultivo celular. Tal como se ilustra en la figura 9B, un canal de fluidos 950 discurre bajo un recipiente de cultivo celular 952. Un módulo de inyección/extracción (I/E) 954 se encuentra acoplado con un extremo del canal 950. El módulo I/E 954 incluye un primer accionador 956, que al ser activado sella el módulo I/E 954 respecto del canal de fluidos 950. El mecanismo del primer accionador 956 es similar al accionador anteriormente indicado 908 que se ilustra en la figura 9A. Brevemente, el primer accionador 956 impulsa una membrana 962 dentro de un hueco en la parte superior del canal de fluidos 950, creando un sello y cierra el módulo I/E 954 separándolo del canal de fluidos 950. El módulo I/E 954 incluye además un segundo accionador 958, que está acoplado con una segunda membrana 964. El módulo I/E 954 incluye además un reservorio 960 para almacenar un fluido para la inyección y/o después de la extracción. En algunas formas de realización, el módulo I/E 954 incluye además un puerto de acceso (no representado) para permitir la inyección y/o extracción de fluido del reservorio 960.

20 Para la extracción (asimismo denominada aspirado) de una muestra del canal de fluidos 950, baja el primer accionador 954. Con el primer accionador 954 abajo, puede entrar un fluido en el módulo I/E 954. El segundo accionador 958 retrae su pistón e impulsa la segunda membrana 964 hacia arriba. El movimiento hacia arriba de la membrana 964 crea un vacío en el reservorio 960, que aspira un fluido del canal de fluidos 950 hacia el interior del reservorio 960. Para inyectar un fluido en el canal de fluidos 950, se produce un procedimiento similar. Durante la inyección de un fluido, un segundo accionador 958 extiende su pistón, creando una acumulación de presión en el reservorio 960. En respuesta a que el primer accionador 956 abre el acceso al canal de fluidos 950, la acumulación de presión impulsa el fluido en el reservorio 960 hacia el exterior del módulo I/E 954 y hacia el interior del canal de fluidos 950.

30 En algunas formas de realización, el módulo I/W 954 no requiere que el segundo accionador 958 extraiga fluido del canal de fluidos 950. Por ejemplo, el flujo presente en el canal de fluidos 950 puede impulsar fluido hacia el interior del reservorio 960. En algunas formas de realización, el módulo I/E 954 es un componente de la placa de flujo de fluidos, recipientes de cultivo celular o placa de control anteriormente indicados. Por ejemplo, el módulo I/E 954 puede ser un componente de un recipiente de cultivo celular e inyectar o extraer fluido directamente del recipiente de cultivo celular. En otras formas de realización, el módulo I/E 954 es un módulo que está separado de la plataforma de cultivo celular y puede añadirse modularmente a cualquier de entre recipientes de cultivo celular y/o placa de flujo de fluido.

40 La figura 10 ilustra un gráfico de flujo de un procedimiento 1000 para cultivar una pluralidad de células. En algunas formas de realización, el procedimiento 1000 se utiliza para someter a ensayo la interacción entre sistemas de órganos *in vitro*. El procedimiento 1000 incluye proporcionar unos primer y segundo recipientes de cultivo celular (etapa 1001). El procedimiento 1000 incluye además proporcionar una plataforma de cultivo celular (etapa 1002). Las células de un primer tipo se encuentran dispuestas en el primer recipiente de cultivo celular y células de un segundo tipo se encuentran dispuestas en el segundo recipiente de cultivo celular (etapa 1003). A continuación, se acoplan los recipientes de cultivo celular con la plataforma de cultivo celular (etapa 1004) y se configura un camino de fluidos (asimismo denominado circuito de fluidos) con el primer y segundo recipientes de cultivo celular (etapa 1005). El procedimiento 1000 incluye además hacer fluir un fluido por la plataforma de cultivo celular hasta el primer y segundo recipientes de cultivo celular (etapa 1006).

50 Tal como se ha indicado anteriormente, el procedimiento 1000 se inicia con la provisión de un primer y segundo recipientes de cultivo celular (etapa 1001) y plataforma de cultivo celular (etapa 1002). El primer y segundo recipientes de cultivo celular pueden ser similares a los recipientes de cultivo celular indicados anteriormente en relación a las figuras 2-3B y 6A-8. En algunas formas de realización, el primer y segundo recipientes de cultivo celular se configuran de manera diferente. Por ejemplo, el primer recipiente de cultivo celular puede configurarse para el cultivo de tejidos de un primer órgano (por ejemplo, tejido pulmonar) y el segundo recipiente de cultivo celular puede configurarse para el cultivo de tejido de un segundo órgano (por ejemplo, tejido hepático). Por ejemplo, el primer recipiente de cultivo celular puede ser el recipiente de cultivo celular 700 ilustrado en la figura 7A y el segundo recipiente de cultivo celular puede ser el recipiente de cultivo celular 800 ilustrado en la figura 8. En algunas formas de realización, la plataforma de cultivo celular es la plataforma de cultivo celular 102 comentada anteriormente. En algunas formas de realización, uno o más recipientes de cultivo celular ya se encuentran acoplados con la plataforma de cultivo celular 102 antes del inicio del procedimiento 1000.

60 A continuación, se dispone un primer tipo de células en el primer recipiente de cultivo celular y se dispone un segundo tipo de células en el segundo recipiente de cultivo celular (etapa 1003). En algunas formas de realización, las configuraciones de recipiente de cultivo celular seleccionadas en la etapa 1001 responden al tipo de células que pretende utilizar el usuario en la etapa 1003. En algunas formas de realización, el usuario puede mimetizar un sistema de órganos mediante la combinación de un tipo celular específico con una configuración específica de recipiente de cultivo celular. Por ejemplo, un usuario puede seleccionar la combinación de células alveolares con

una configuración de recipiente de cultivo celular que proporciona una interfaz líquido-gas (por ejemplo, el recipiente de cultivo celular 700 ilustrado en las figuras 7A y 7B).

5 En algunas formas de realización, los primer y segundo tipos celulares son tipos celulares diferentes. En estas formas de realización, un usuario puede combinar diferentes tipos celulares y configuraciones de recipiente de cultivo celular para mimetizar una pluralidad de sistemas de órganos. En algunas formas de realización, los sistemas de órganos corresponden a dos o más de hígado, pulmón o riñón. Tal como se indica a continuación, en algunas formas de realización una combinación modular de sistemas de múltiples órganos permite al usuario estudiar las interacciones entre estos sistemas de órganos. En otras formas de realización, el usuario puede utilizar una plataforma de cultivo celular que cultiva una pluralidad de sistemas de órganos interconectados para estudiar la administración de fármacos y la incorporación de fármacos.

10 A continuación, un primer y un segundo recipientes de cultivo celular se acoplan con la plataforma de cultivo celular (etapa 1004). En algunas formas de realización, tal como se ha indicado anteriormente en relación a las figuras 2-3B, los recipientes de cultivo celular se acoplan con una placa de flujo de fluidos, que actúa como interfaz entre una placa de control y los recipientes de cultivo celular. En algunas formas de realización, los recipientes de cultivo celular están acoplados reversiblemente con la placa de control y/o la placa de flujo de fluidos.

15 El procedimiento 1000 incluye además configurar un circuito de fluidos entre los primer y segundo recipientes de cultivo celular (etapa 1005). Tal como se ha indicado anteriormente, en algunas formas de realización, se acopla un accionador con (o dentro de) la placa de control. La activación del accionador controla por lo menos una válvula en la placa de flujo de fluidos y/o recipientes de cultivo celular. Mediante la activación de uno o más accionadores en la plataforma de cultivo celular, un usuario configura un circuito de fluidos que dirige el flujo de fluidos entre el primer y segundo recipientes de cultivo celular.

20 En respuesta al acoplamiento de los primer y segundo recipientes de cultivo celular con la placa de control, se hace fluir un fluido por la plataforma de cultivo celular hasta los primer y segundo recipientes de cultivo celular (etapa 1006). En algunas formas de realización, el fluido entra en la plataforma de cultivo celular en una interfaz con la placa de control y/o la placa de flujo de fluidos. En todavía otras formas de realización, el fluido entra en la plataforma de cultivo celular por uno o más de los recipientes de cultivo celular. En algunas formas de realización, el flujo de fluido por la plataforma de cultivo celular constituye recircular el fluido por la plataforma de cultivo celular. En algunas formas de realización, el fluido es un medio de crecimiento, sangre, un gas o cualquier combinación de los mismos.

25 En algunas formas de realización, el procedimiento 1000 incluye además disponer un tercer tipo celular en un tercer recipiente de cultivo celular y después acoplar el tercer recipiente de cultivo celular con la plataforma de cultivo celular además de, o en lugar de, el primer y segundo recipientes de cultivo celular. En otras formas de realización, el procedimiento 1000 incluye además reconfigurar el circuito de fluidos creados en la etapa 1006 mediante la activación de uno o más accionadores. Por ejemplo, mediante la activación de uno o más accionadores, el circuito de fluidos anteriormente indicado puede reconfigurarse para incluir el tercer recipiente de cultivo celular. En otras formas de realización, el procedimiento 1000 incluye reorganizar y/o eliminar el primer, segundo y/o tercer recipiente de cultivo celular dentro de la plataforma de cultivo celular. En todavía otras formas de realización, el procedimiento 1000 incluye medir un parámetro en la plataforma de cultivo celular 102. Por ejemplo, puede medirse una temperatura en uno de los recipientes de cultivo celular y/o un caudal por el circuito de fluidos. En algunas formas de realización, se extrae temporalmente un recipiente de cultivo celular de la plataforma de cultivo celular 102 para llevar a cabo la medición. En otras formas de realización, se extrae permanentemente un recipiente de cultivo celular y se sustituye por un recipiente de cultivo celular que aloja células o un tipo de tejido órgano similares o diferentes.

30 El experto ordinario en la materia reconocerá que, en algunas formas de realización, las etapas de los procedimientos anteriores del procedimiento 1000 pueden llevarse a cabo en un orden diferente o una o más de las etapas de procedimiento pueden omitirse. Por ejemplo, en una forma de realización, el circuito de fluidos puede configurarse antes del acoplamiento de los recipientes de cultivo celular con la plataforma de cultivo celular. En un ejemplo similar, un usuario puede adquirir una placa de flujo de fluidos que incluye canales preconfigurados de flujo de fluidos y, por lo tanto, no necesita configurarse una vez acoplado con la plataforma de cultivo celular.

35 La figura 11 ilustra un ejemplo esquemático de un caso de utilización del sistema anteriormente descrito. El esquema ilustra un sistema 1100 que, en algunas formas de realización, se utiliza para investigar candidatos a fármaco. El sistema 1100 corresponde a una plataforma de cultivo celular que cultiva células que corresponden a cuatro sistemas de órganos. En algunas formas de realización, uno o más recipientes de cultivo celular corresponden a cada sistema de órganos. Entre los cuatro sistemas de órganos del sistema 1100 se incluyen tejido traqueobronquial 1102, tejido alveolar 1104, tejido de intestino delgado 1106 y tejido hepático 1108. Mediante la utilización de la pluralidad de válvulas 1110 y bombas de volumen constante 1112, que corresponden a accionadores en la placa de control, se crean dos circuitos circulatorios dentro de la placa de flujo de fluidos utilizados para implementar el sistema 1100. El primer circuito 1114 representa un sistema circulatorio (o cardiovascular). El primer circuito 1114 proporciona nutrientes a cada uno de los sistemas de órganos 1102, 1104,



1106 y 1108. En algunas formas de realización, el fluido utilizado en el transporte de nutrientes y de otros compuestos químicos a cada uno de los sistemas de órganos 1102, 1104, 1106 y 1108 es un medio de crecimiento, sangre o un analito sanguíneo. El segundo circuito 1116 (ilustrado con una línea discontinua) está acoplado a únicamente el tejido de intestino delgado 1106 y al tejido hepático 1108. El segundo circuito 1116, tejido de intestino delgado 1106 y tejido hepático 1108, corresponden a un sistema linfático y desechos de filtración y otros materiales del primer circuito 1114.

En el sistema 1100, cada uno de los recipientes de cultivo celular utilizados para poner en práctica el sistema 1100 proporciona un flujo superior y un flujo inferior, de manera similar al recipiente de cultivo celular 630 ilustrado en la figura 6D. Por ejemplo, en los recipientes de cultivo celular correspondientes al tejido alveolar 1104 y al tejido traqueobronquial 1102, las células reciben nutrientes a través de fluido del primer circuito 1114, que fluye por la cámara inferior de los recipientes de cultivo celular. En la cámara superior de los recipientes de cultivo celular, el tejido alveolar 1104 y el tejido traqueobronquial 1102 están expuestos a oxígeno. La exposición a oxígeno en una cara y el fluido del primer circuito 1114, en la otra, permite a las células del tejido alveolar 1104 y del tejido traqueobronquial 1102 que oxigene el fluido, eliminando simultáneamente asimismo el CO<sub>2</sub>.

Los flujos del fondo en los recipientes de cultivo celular, que corresponden al tejido de intestino delgado 1106 y al tejido hepático 1108 asimismo se originan en el primer circuito 1114. Tal como se ha indicado anteriormente, el fluido del primer circuito 1114 se utiliza para suministrar nutrientes al tejido respectivo. En los recipientes de cultivo celular que corresponden al tejido de intestino delgado 1106 y al tejido hepático 1108, el flujo superior es un componente del flujo del segundo circuito 1116. Además de recibir nutrientes del fluido del primer circuito 1114, el tejido del intestino delgado 1106 y del tejido hepático 1108 filtran el fluido del primer circuito 1114 y transfieren los desechos filtrados al fluido del segundo circuito 1116, donde pueden ser eliminados del sistema 1100.

Mediante el cultivo de tipos de tejido específicos de órgano dentro de un medio biomimético (por ejemplo, dentro de un recipiente de cultivo celular tal como se ha mencionado anteriormente, en el que la temperatura, la humedad y otros parámetros imitan las condiciones *in vivo*) y la interconexión de cada uno de los sistemas de órganos de un modo fisiológicamente significativo, pueden llevarse a cabo experimentos en células *in vitro* que mimetizan sustancialmente las respuestas de las poblaciones celulares *in vivo*. Por ejemplo, puede introducirse una dosis predeterminada de un fármaco en el sistema 1100 a través del sistema de administración de fármaco 1120. Partiendo del sistema de administración de fármaco 1120, el primer circuito 1114 del sistema 1100 transporta el fármaco a cada uno de los sistemas de órganos 1102, 1104, 1106 y 1108. Las flechas 1250 ilustran el camino que sigue el fármaco por el primer circuito 1114. Las células incorporan el fármaco a medida que fluye por el primer circuito 1114. Adicionalmente, parte del fármaco se filtra separándolo del fluido del primer circuito 1114 a medida que circula por el sistema 1100. Por ejemplo, el tejido alveolar 1104 puede eliminar parte del fármaco como gas expulsado al eliminar las células alveolares CO<sub>2</sub> del fluido del primer circuito 1114. El tejido hepático 1108 asimismo puede filtrar el fármaco separándolo del fluido del primer circuito 1114 y después transferir el fármaco al fluido del segundo circuito 1116.

A medida que el fármaco fluye por el sistema 1100, pueden realizarse varias mediciones. Por ejemplo, el usuario puede monitorizar el pH del fluido en el primer circuito 1114 para determinar si el fármaco está causando que el fluido devenga básico o ácido. El usuario puede muestrear los residuos recogidos en el fluido del segundo circuito 1116 para determinar si la dosis de fármaco es excesivamente elevada. Por ejemplo, el usuario puede llevar a cabo experimentos en los que se rebaja la dosis de fármaco hasta el punto en que el fármaco no se encuentra sustancialmente presente en el fluido del segundo circuito 1116. En algunas formas de realización, una cantidad sustancial de fármaco en el fluido del segundo circuito 1116 indica que se está introduciendo un exceso de fármaco en el sistema 1100.

En algunas formas de realización, el usuario puede extraer temporalmente uno de los recipientes de cultivo celular correspondiente a uno de los sistemas de tejidos, y examinar las células en el recipiente de cultivo celular con el microscopio anteriormente indicado. Por ejemplo, el usuario puede examinar las células con un microscopio para determinar si el fármaco está causando daño a las células. En algunas formas de realización, el usuario puede examinar las células en un recipiente de cultivo celular sin extraer el recipiente de cultivo celular de la plataforma de cultivo celular.

La figura 12 ilustra un diagrama de flujo de un procedimiento de ejemplo 1200 para hacer fluir un fluido a través de una bomba de volumen constante. En primer lugar, se proporciona un sistema de cultivo celular con una bomba de volumen constante (etapa 1201). El procedimiento 1200 incluye cerrar una primera válvula de membrana (etapa 1202). A continuación, se aspira fluido hacia el interior de la cámara de desplazamiento (etapa 1203). A continuación se cierra una segunda válvula de membrana (etapa 1204) y se abre la primera válvula de membrana (etapa 1205). Se evacúa la cámara de desplazamiento (etapa 1206). Finalmente, se hace fluir el fluido hacia afuera de la bomba de volumen constante (etapa 1206).

Tal como se explica y asimismo haciendo referencia a la figura 4D, el procedimiento 1200 se inicia con la provisión de un sistema de cultivo celular (etapa 1201). El sistema de cultivo celular incluye una placa de control, que incluye una bomba de volumen constante similar a la bomba de volumen constante 412 ilustrada en la figura 4D. La bomba

5 de volumen constante incluye una bomba de desplazamiento central y una pluralidad de canales que radian hacia afuera desde la bomba de desplazamiento. Tal como se ilustra en la figura 4D, en algunas formas de realización, la bomba de volumen constante incluye cuatro canales de flujo. Se acopla una válvula de membrana en línea con cada uno de los canales de flujo. En algunas formas de realización, asimismo se acopla un condensador fluido en línea con uno o más de los canales de flujo.

10 El procedimiento 1200 incluye además cerrar una primera válvula de membrana (etapa 1202). Tal como se ha indicado anteriormente en relación a las figuras 4E y 4F, en una configuración NA, se cierra un canal de fluidos mediante la activación de la válvula de membrana y en una configuración NC, se cierra el canal de fluidos cuando la válvula de membrana se encuentra en su estado por defecto. La primera válvula de membrana es la membrana por la que fluye el fluido en la etapa final del procedimiento 1200. Por ejemplo, y haciendo referencia a la figura 4D, se supone que la válvula de membrana 462(a) se acopla con una entrada de un recipiente de cultivo celular, se acopla una válvula de membrana 462(d) con una salida del recipiente de cultivo, la válvula 362(b) se acopla con un reservorio de fluidos, la válvula 362(c) se acopla con un reservorio de residuos y que cada una de las válvulas 15 362 son válvulas NC. En el caso de que el fluido se haga fluir al interior del recipiente de cultivo celular, en la etapa 1202, se cierra la válvula 262(a). El cierre de la válvula del canal de destino garantiza que el fluido que llena la cámara de desplazamiento en la etapa siguiente no procede de, en el presente ejemplo, el recipiente de cultivo celular.

20 A continuación, el procedimiento 1200 incluye aspirar el fluido al interior de la cámara de desplazamiento (etapa 1203). Se aspira fluido al interior de la cámara de desplazamiento mediante el desvío de la membrana de la bomba de desplazamiento. El aspirado de fluido hacia el interior de la cámara de desplazamiento se denomina carrera hacia adentro de la bomba de desplazamiento. El desvío de la membrana crea un vacío en la cámara de desplazamiento, causando que la cámara de desplazamiento se llene con fluido de cualquiera de los canales de 25 flujo de fluido acoplados con la cámara de desplazamiento que presenta una válvula de membrana en el estado abierto. Por ejemplo, continuando con el ejemplo anterior, las válvulas de membrana 362(a), 362(c) y 362(d) pueden cerrarse de manera que la cámara de desplazamiento se llene con líquido del reservorio de fluido.

30 El procedimiento 1200 incluye cerrar una segunda válvula de membrana (etapa 1204). Una vez la cámara de desplazamiento está llena con fluido, se cierra la segunda válvula de membrana. La segunda válvula de membrana se acopla con el canal de fluidos que ha proporcionado el fluido para llenar la cámara de desplazamiento - por ejemplo, la válvula 362(b) en el ejemplo anterior.

35 El procedimiento 1200 incluye además abrir la primera válvula de membrana (etapa 1205). En algunas formas de realización, el cierre de la segunda válvula de membrana (etapa 1204) y la apertura de la primera válvula de membrana (etapa 1205) se produce sustancialmente al mismo tiempo.

40 En respuesta a la apertura de la primera válvula de membrana, se evacúa la cámara de desplazamiento (etapa 1206). Se evacúa el fluido de la cámara de desplazamiento mediante la carrera hacia afuera de la bomba de desplazamiento. El desvío de la membrana por la bomba de desplazamiento durante la carrera hacia afuera presuriza la cámara de desplazamiento, forzando fluido hacia afuera de la cámara de desplazamiento. A continuación, el procedimiento 1200 incluye hacer fluir el fluido por el primer canal (etapa 1206). La cámara de desplazamiento presurizada causa que fluya fluido a través de la válvula abierta del primer canal y hacia el interior del primer canal de flujo.

45 En algunas formas de realización, el procedimiento anterior se repite utilizando una combinación diferente de válvulas para hacer fluir fluido a lo largo de un segundo camino de fluido de la bomba de volumen constante de 4 puertos. Por ejemplo, continuando con el ejemplo anterior, y haciendo referencia a la figura 4D, con una segunda carrera hacia adentro de la bomba de desplazamiento 460, la válvula de membrana 462(b) se cierra y la válvula de membrana 462(d) se abre, aspirando residuos del cultivo celular hacia el interior de la cámara de desplazamiento. Con la segunda carrera hacia afuera de la bomba de desplazamiento 460, la válvula de membrana 50 462(d) se cierra y la válvula de membrana 462(c) se abre, fluyendo el fluido residual hacia el interior del reservorio de residuos.

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo modular (100) para cultivar células, comprendiendo el dispositivo:
- 5 por lo menos un recipiente de cultivo celular abierto (206), acoplado de manera reversible a una placa de control (202);
- comprendiendo la placa de control una bomba de volumen constante (470) para hacer fluir un fluido dentro y fuera de por lo menos un recipiente de cultivo celular abierto comprendiendo además la bomba de volumen constante:
- 10 una cámara de desplazamiento central (476) que presenta una bomba de desplazamiento (471);
- por lo menos cuatro canales (475) que se extienden hacia afuera a partir de la cámara de desplazamiento central, en el que se acopla cada uno de los por lo menos cuatro canales en línea con una válvula de membrana (462, 472).
- 15
2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que una membrana de la válvula de membrana acoplada a los por lo menos cuatro canales comprende un elastómero fluoropolímero.
- 20
3. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que un condensador fluídico (912) se acopla en línea a uno de los por lo menos cuatro canales.
4. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que la válvula de membrana comprende además un accionador (956).
- 25
5. Dispositivo según la reivindicación 4, en el que el accionador es uno de un accionador electromagnético, un accionador neumático y un accionador piezoeléctrico.
- 30
6. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que la bomba de volumen constante está configurada para bombear un fluido a una velocidad de entre 0.1 µl/s y 1 µl/s.
7. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que la bomba de volumen constante está configurada para inyectar y retirar sustancialmente un volumen equivalente de líquido del recipiente de cultivo celular.
- 35
8. Dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además un sensor (106) acoplado a uno de los por lo menos cuatro canales que se extienden hacia afuera a partir de la cámara de desplazamiento central.
9. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que uno de los por lo menos cuatro canales se acopla a una entrada (208) del recipiente de cultivo celular y uno diferente de los por lo menos cuatro canales se acopla a una salida (208) del recipiente de cultivo celular.
- 40
10. Procedimiento para cultivar una pluralidad de células, comprendiendo el procedimiento:
- 45 proporcionar el dispositivo modular según la reivindicación 1;
- activar una primera válvula de membrana (462, 472) acoplada a un primer canal de los por lo menos cuatro canales para cerrar el primer canal;
- 50 aspirar, con la bomba de desplazamiento, un primer fluido dentro de la cámara de desplazamiento central (476);
- activar una segunda válvula de membrana (462, 472) acoplada a un segundo canal de los por lo menos cuatro canales para cerrar el segundo canal;
- 55 desactivar la primera válvula de membrana para abrir el primer canal;
- evacuar, con la bomba de desplazamiento, el fluido de la cámara de desplazamiento central; y
- hacer fluir el primer fluido a través del primer canal.
- 60
11. Procedimiento según la reivindicación 10, que comprende además:
- activar una tercera válvula de membrana acoplada a un tercer canal de los por lo menos cuatro canales para cerrar el tercer canal;
- 65 aspirar, con la bomba de desplazamiento, un segundo fluido dentro de la cámara de desplazamiento central;

activar una cuarta válvula de membrana acoplada a un cuarto canal de los por lo menos cuatro canales para cerrar el cuarto canal;

5 desactivar la tercera válvula de membrana para abrir el tercer canal;

evacuar, con la bomba de desplazamiento, el fluido de la cámara de desplazamiento central; y

hacer fluir el segundo fluido a través del tercer canal.

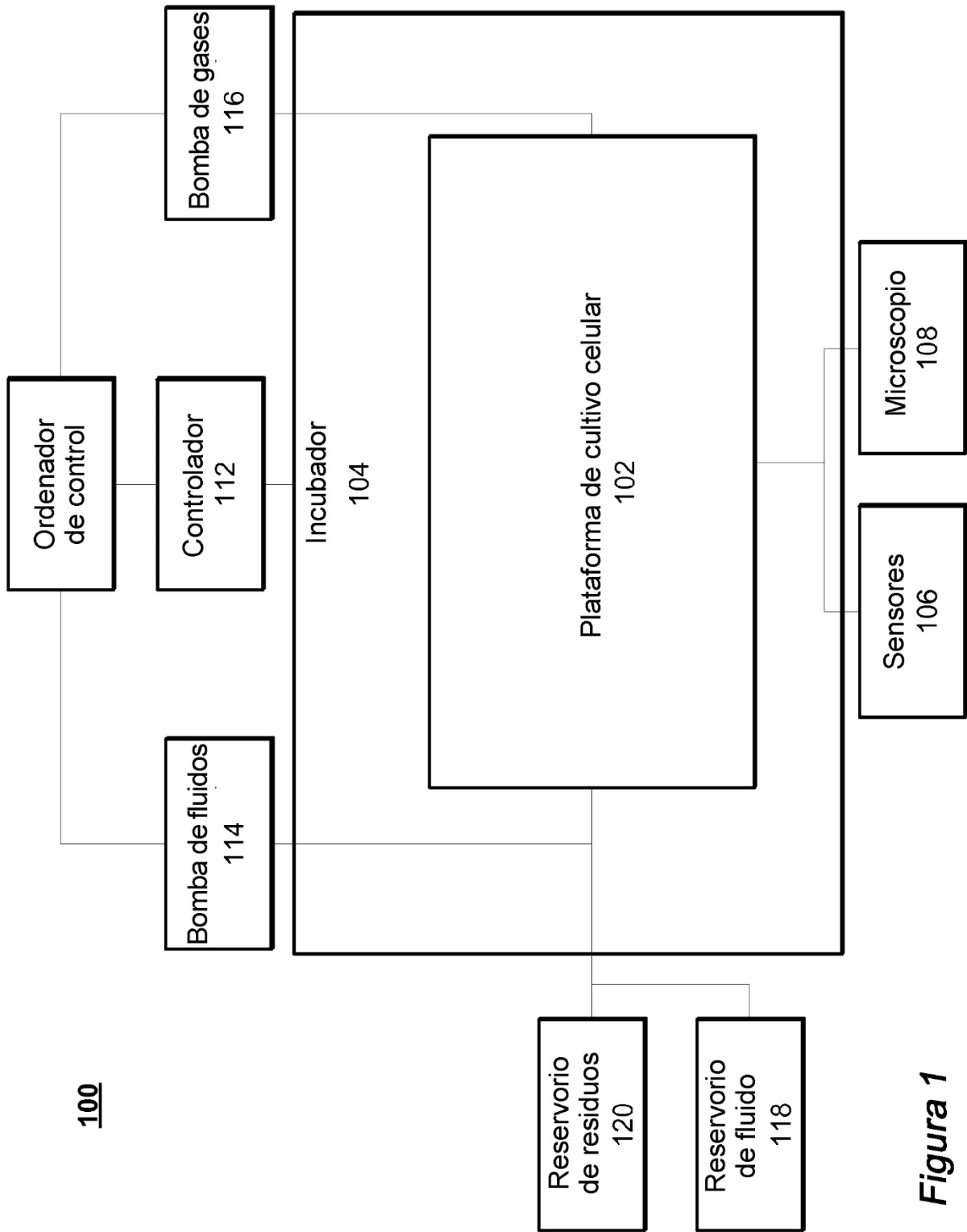
10

12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que el segundo fluido es diferente del primer fluido.

13. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que un volumen del primer fluido aspirado dentro de la cámara de desplazamiento es sustancialmente igual a un volumen del segundo fluido aspirado dentro de la cámara de desplazamiento.

15

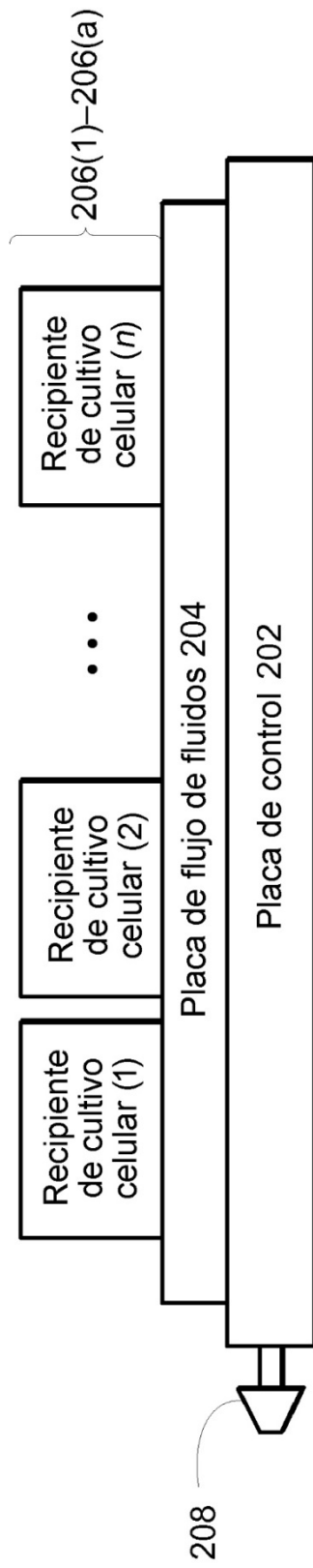
14. Procedimiento según la reivindicación 10, en el que el segundo fluido es un fluido residual del recipiente de cultivo celular.



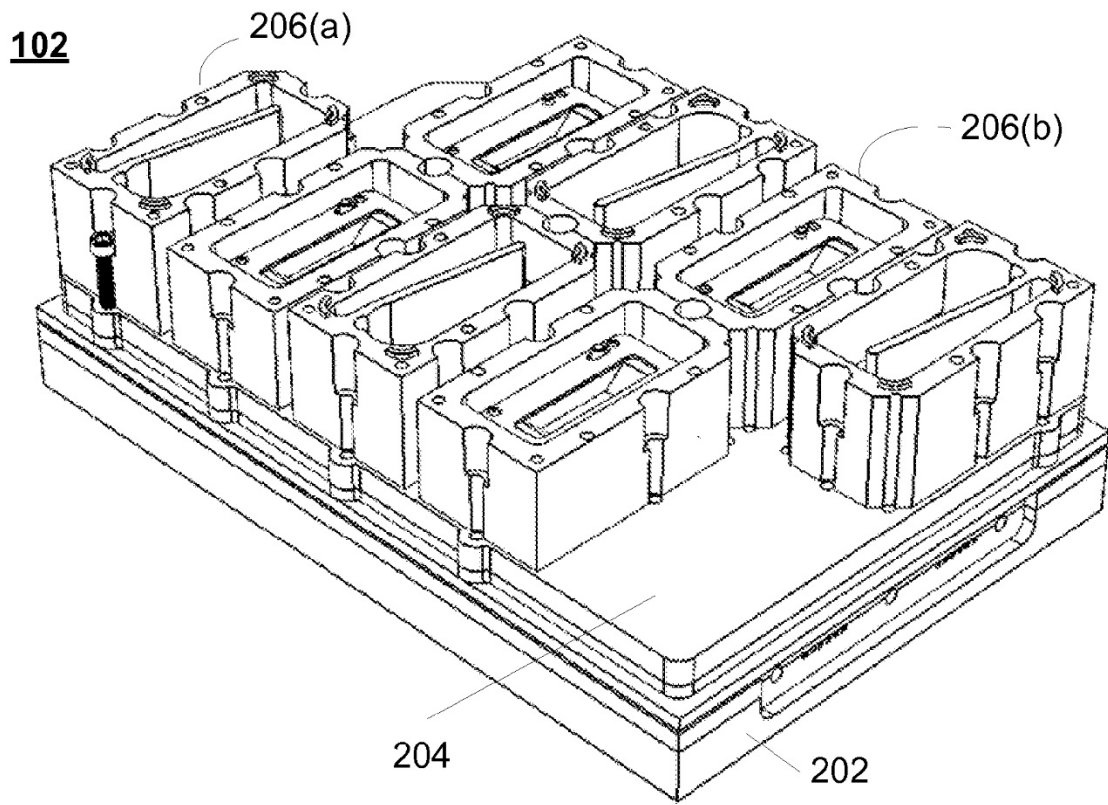
100

*Figura 1*

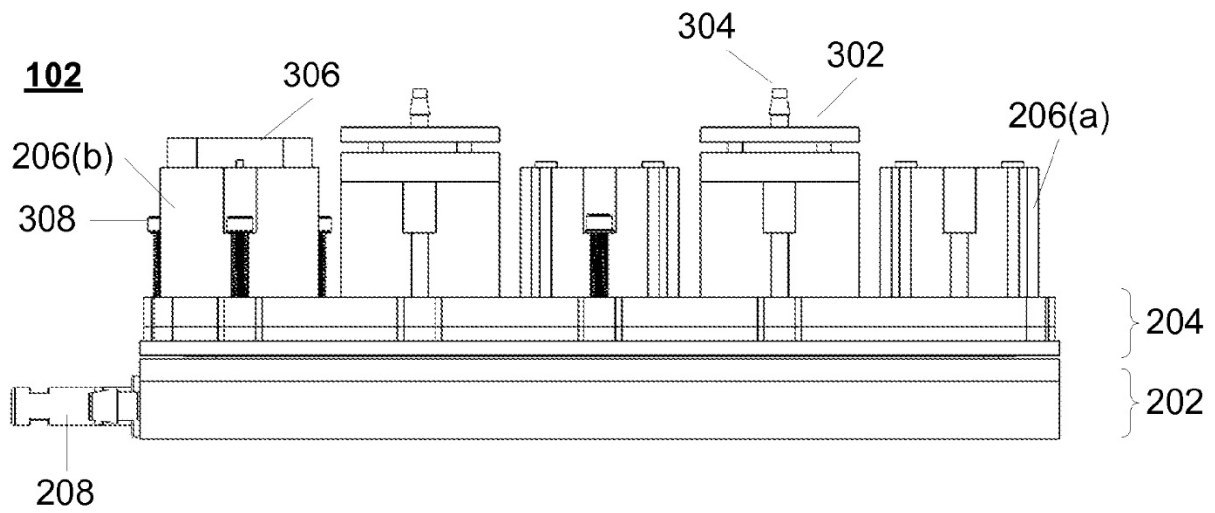
102



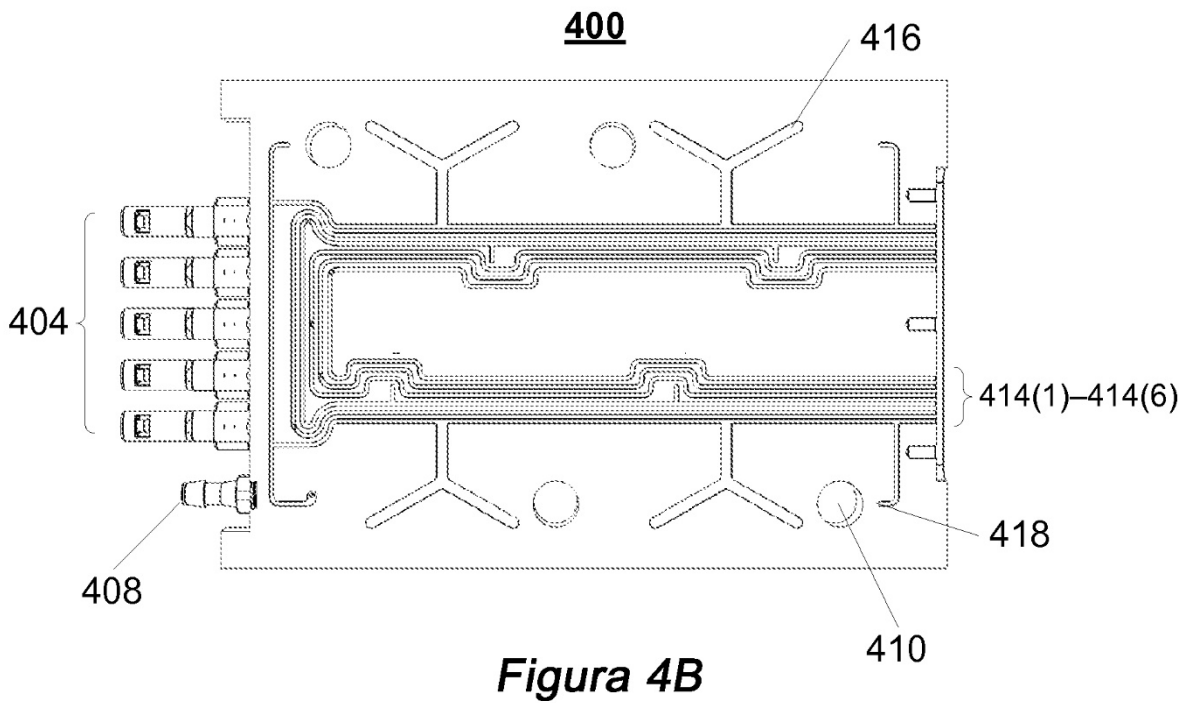
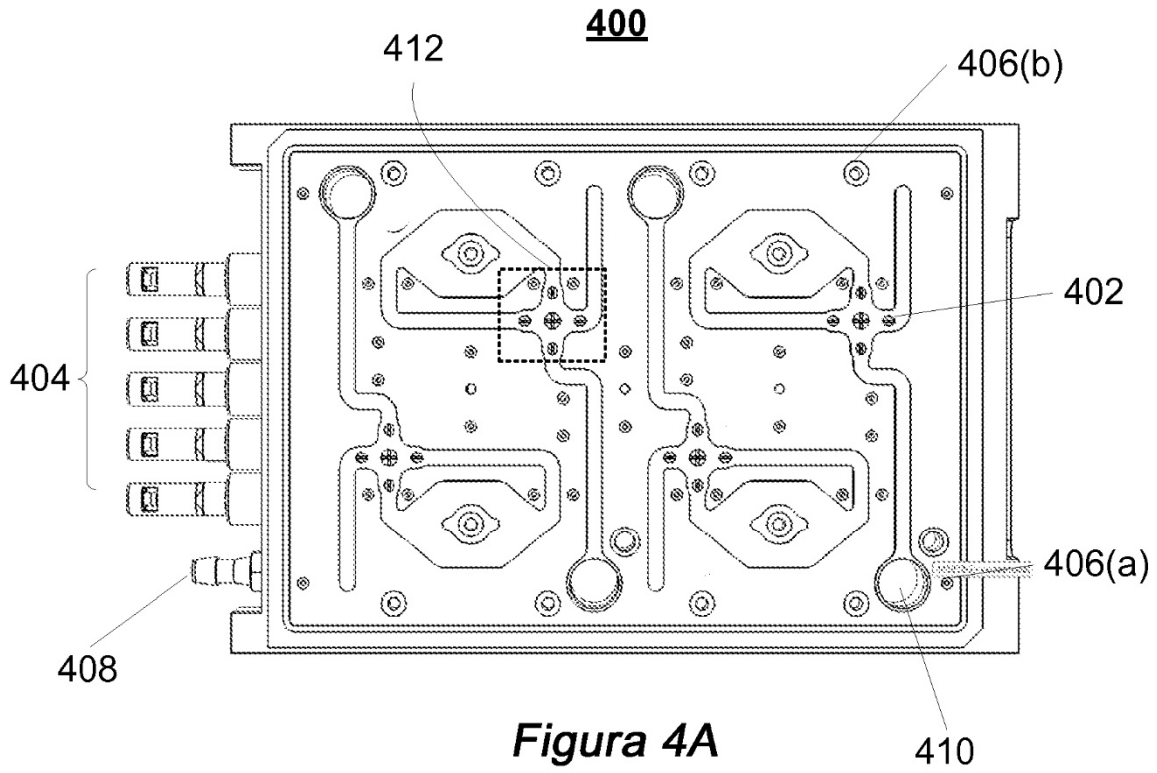
*Figura 2*



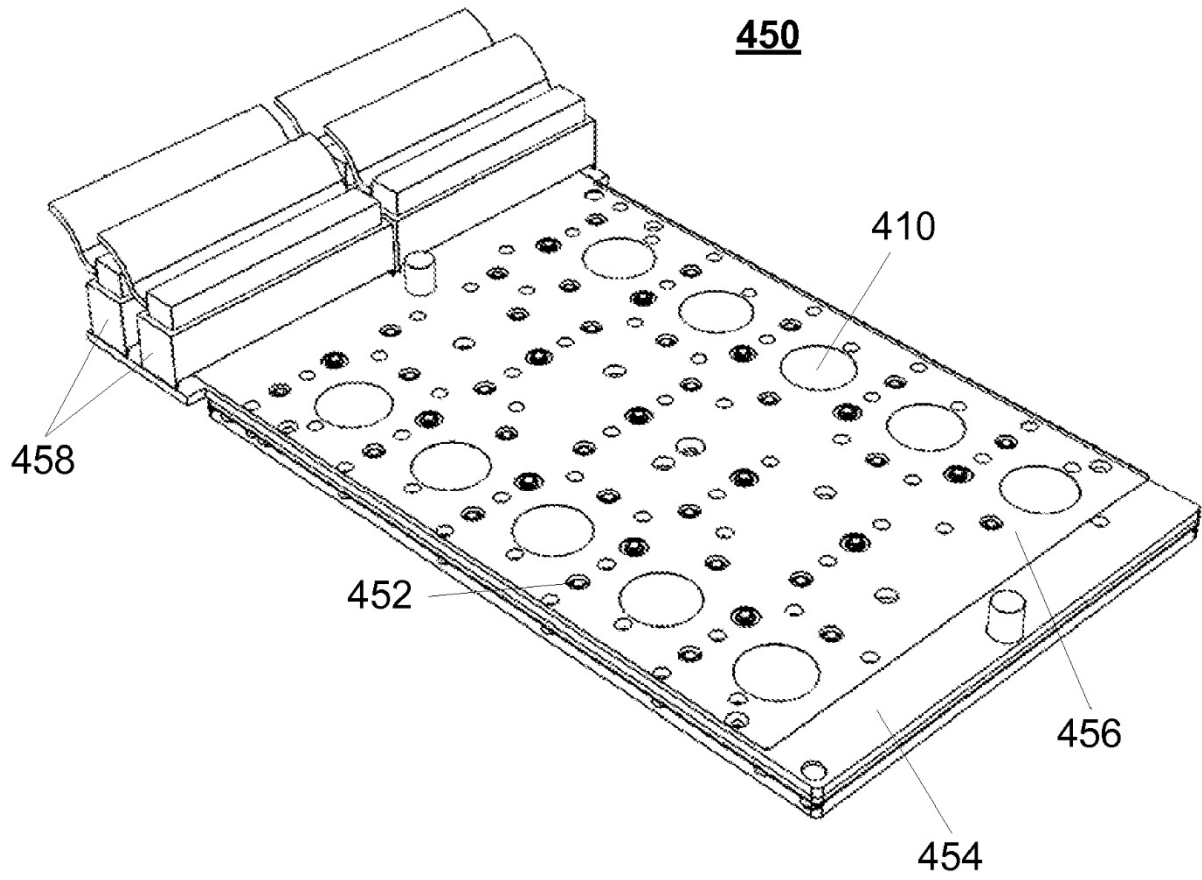
**Figura 3A**



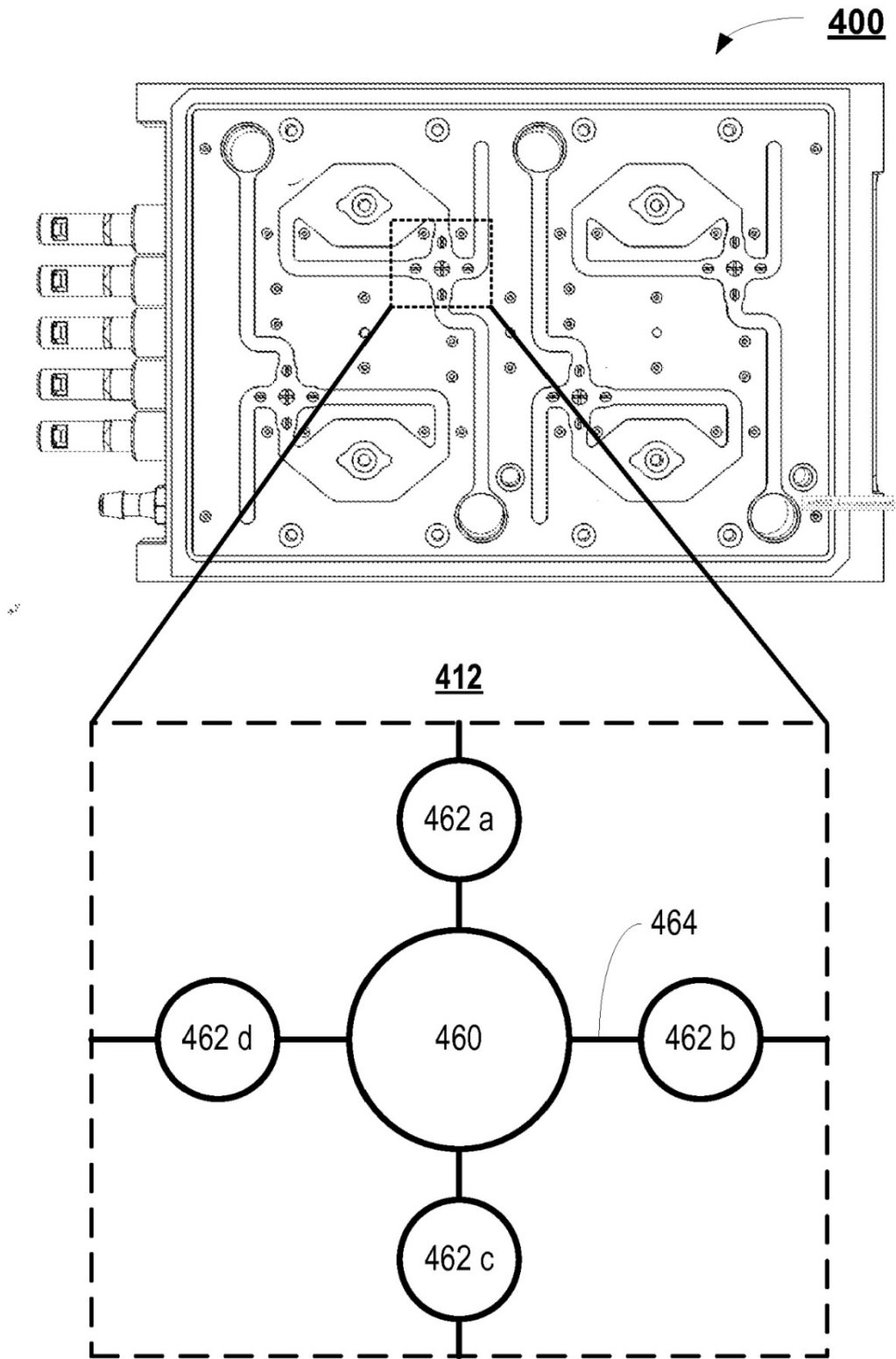
**Figura 3B**







**Figura 4C**



*Figura 4D*

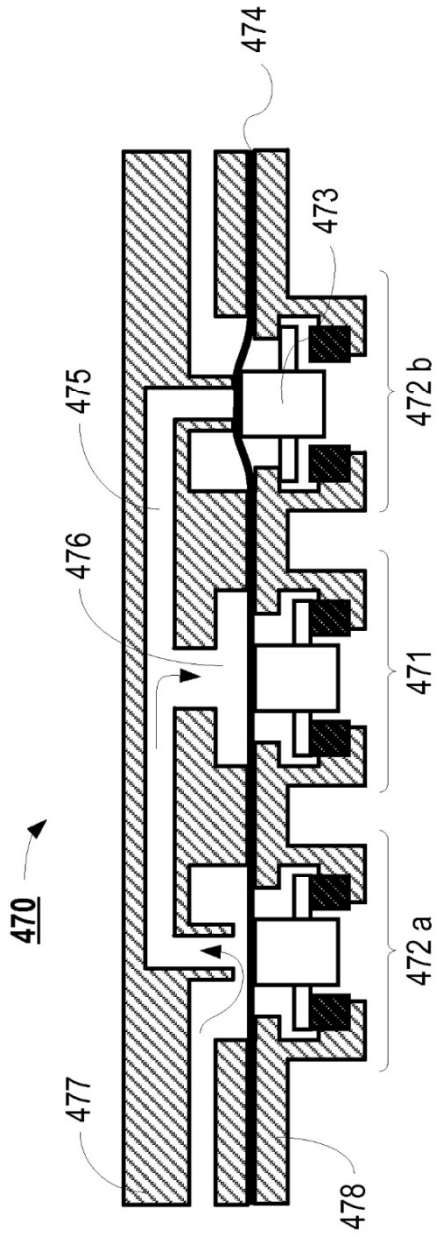


FIGURA 4E

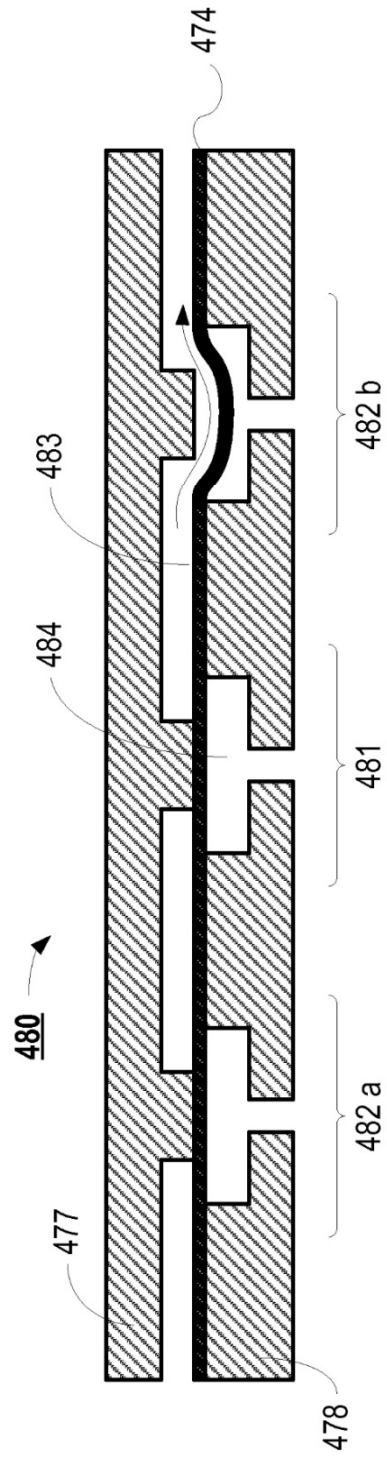
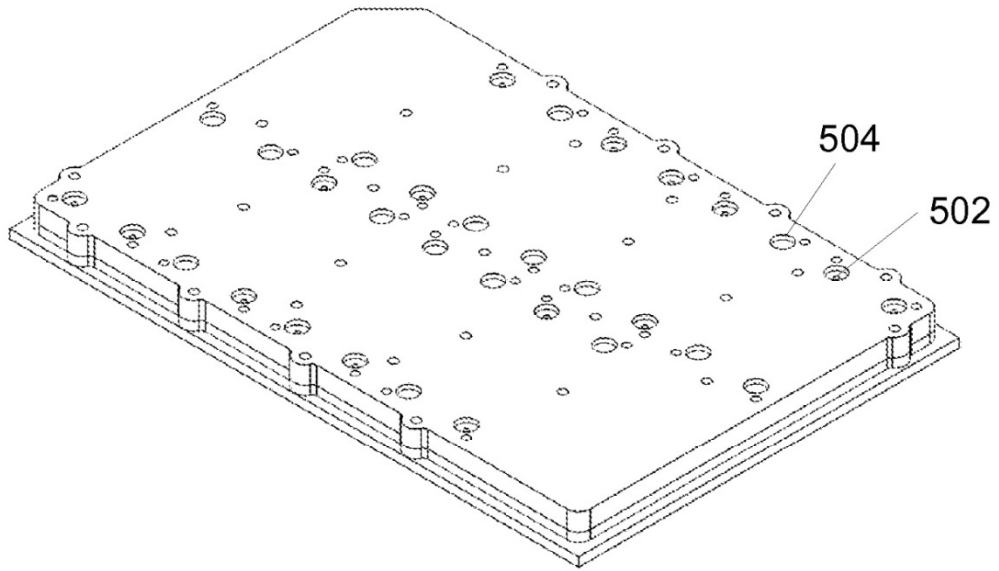
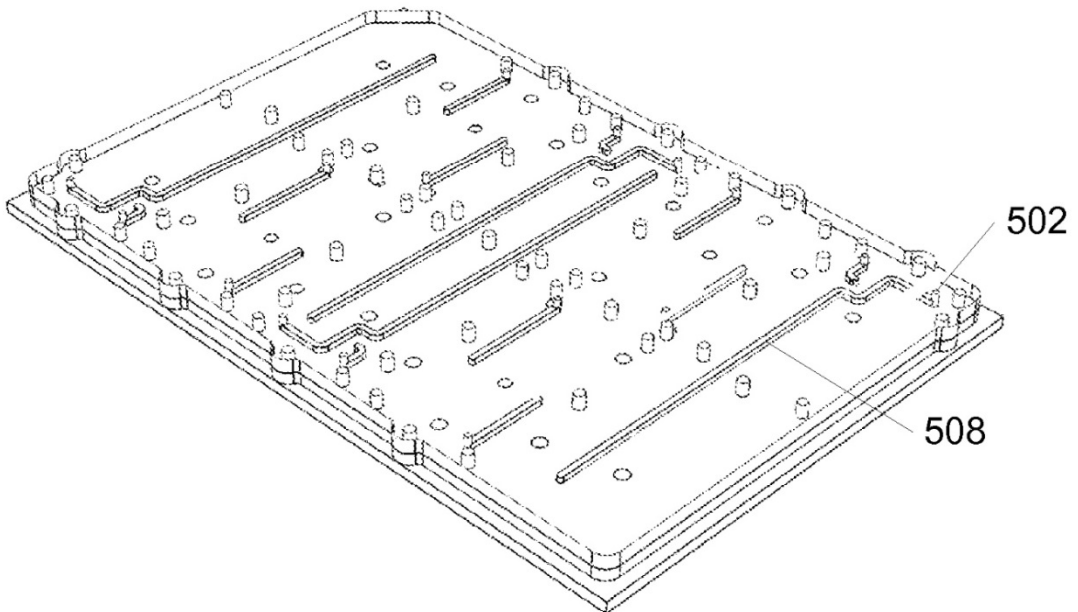


FIGURA 4F

**500**



**Figura 5A**



**Figura 5B**

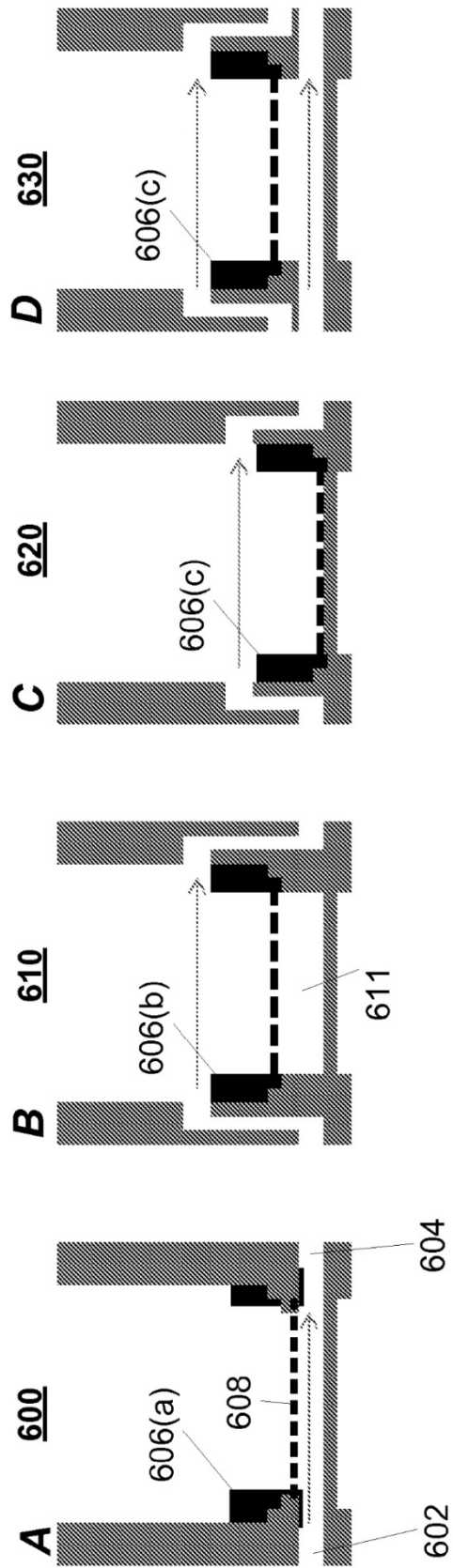
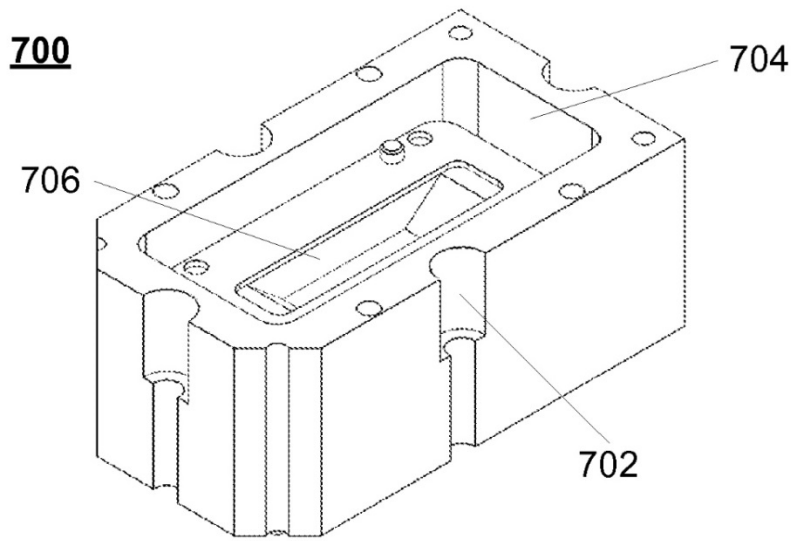
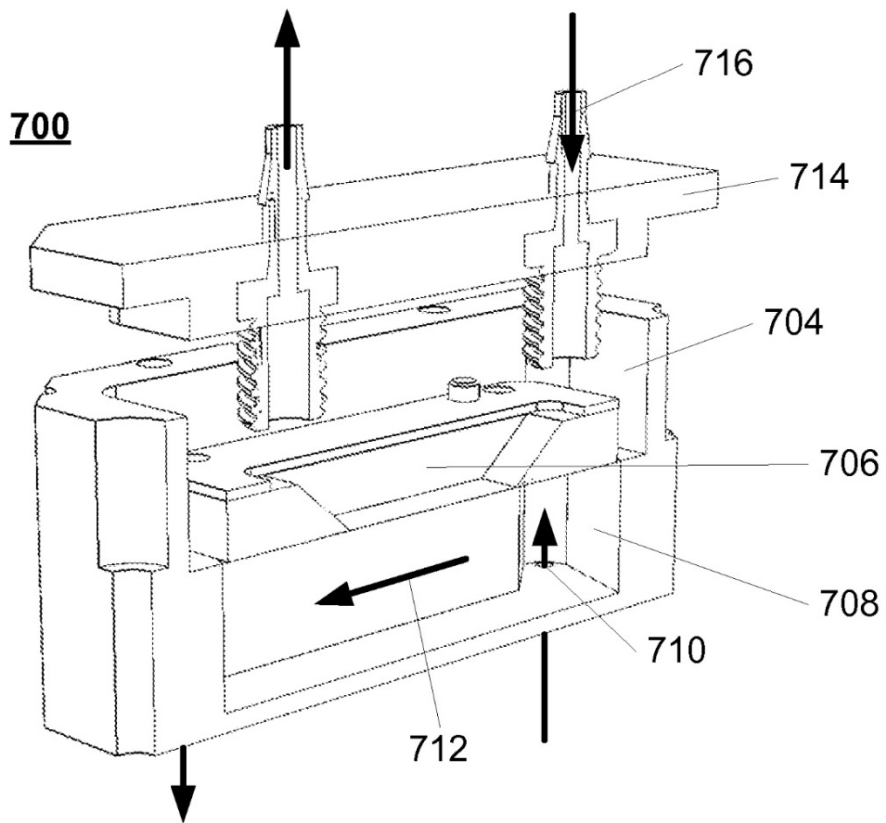


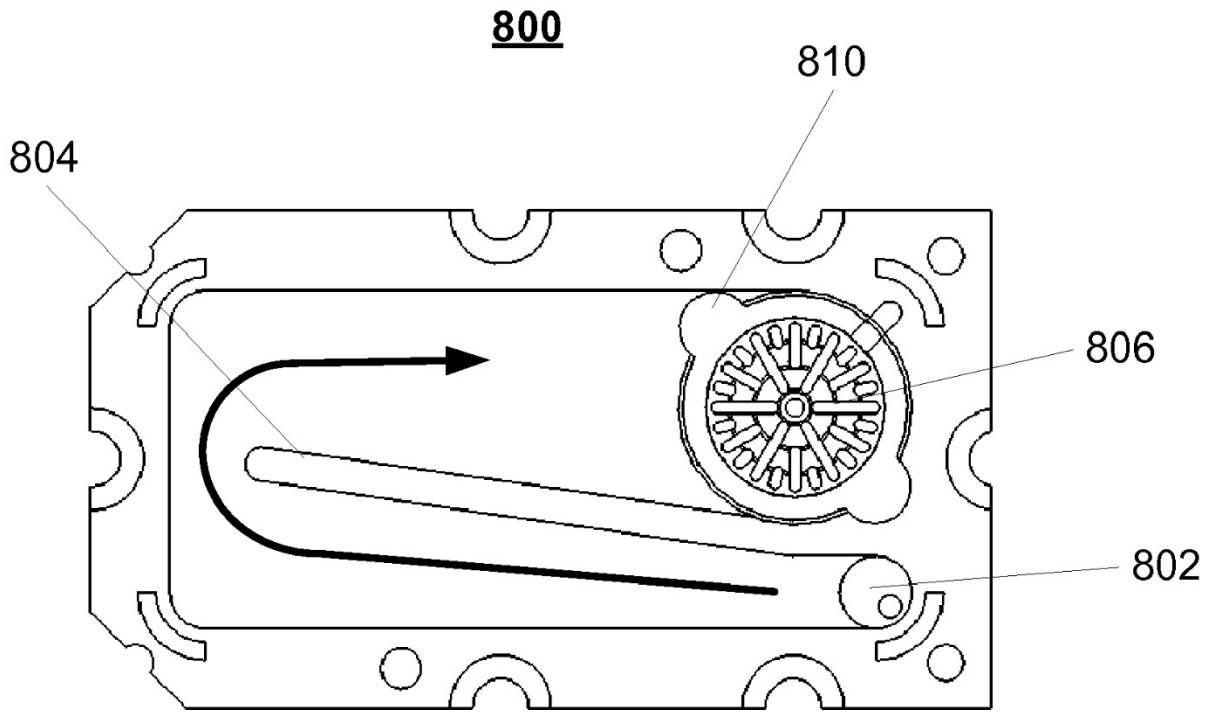
Figura 6



*Figura 7A*



*Figura 7B*



**Figura 8**

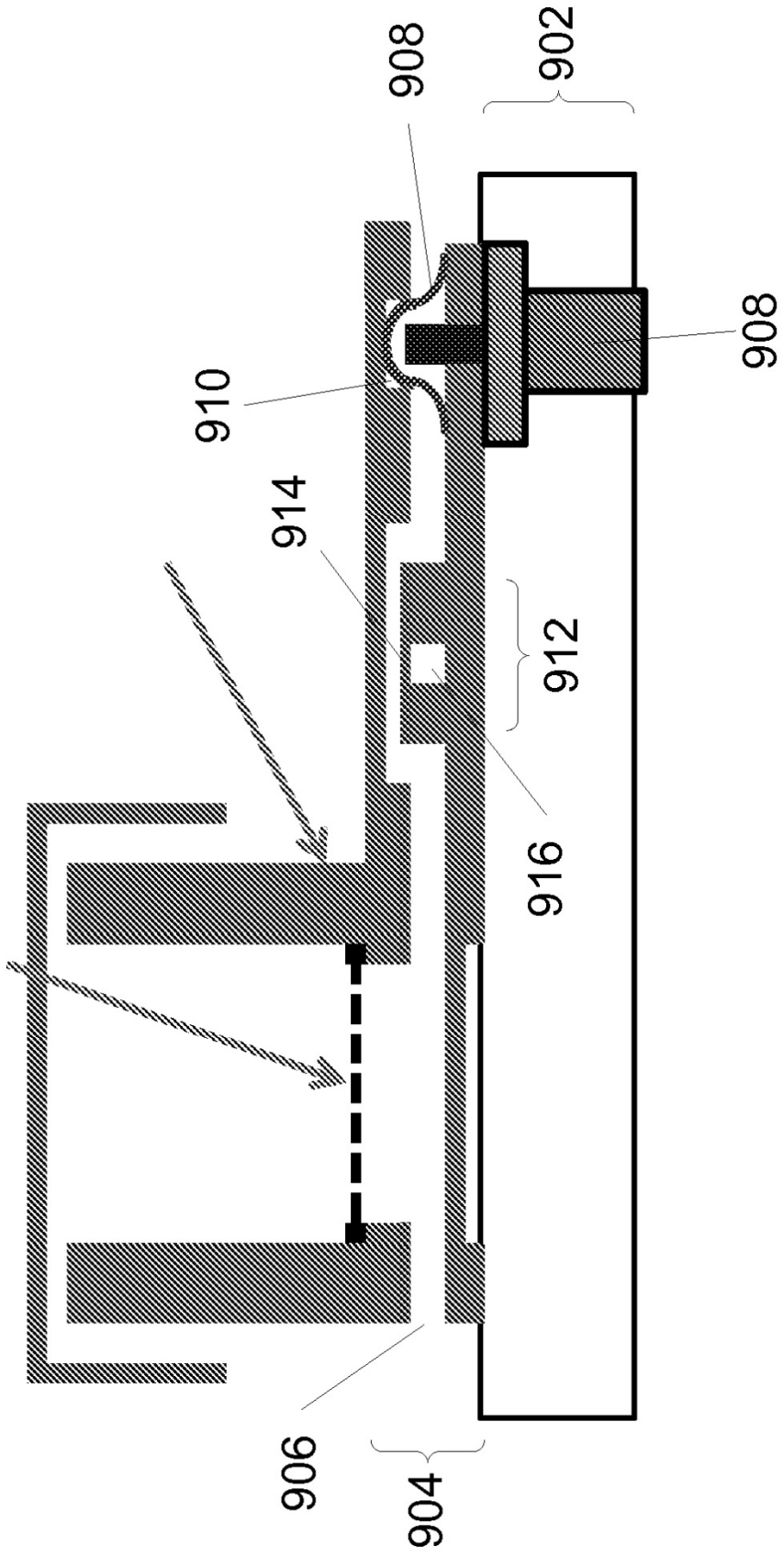


Figura 9A



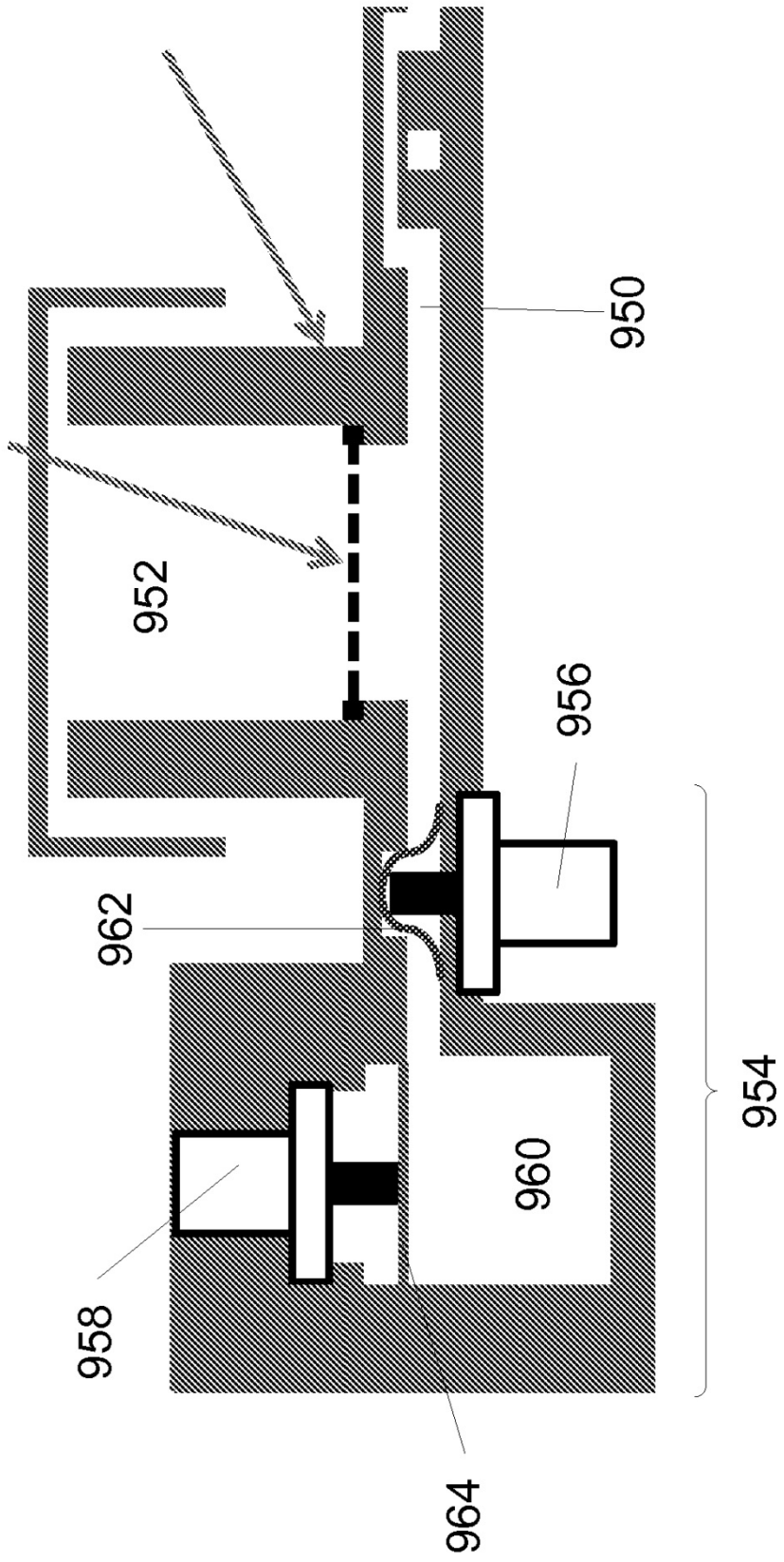
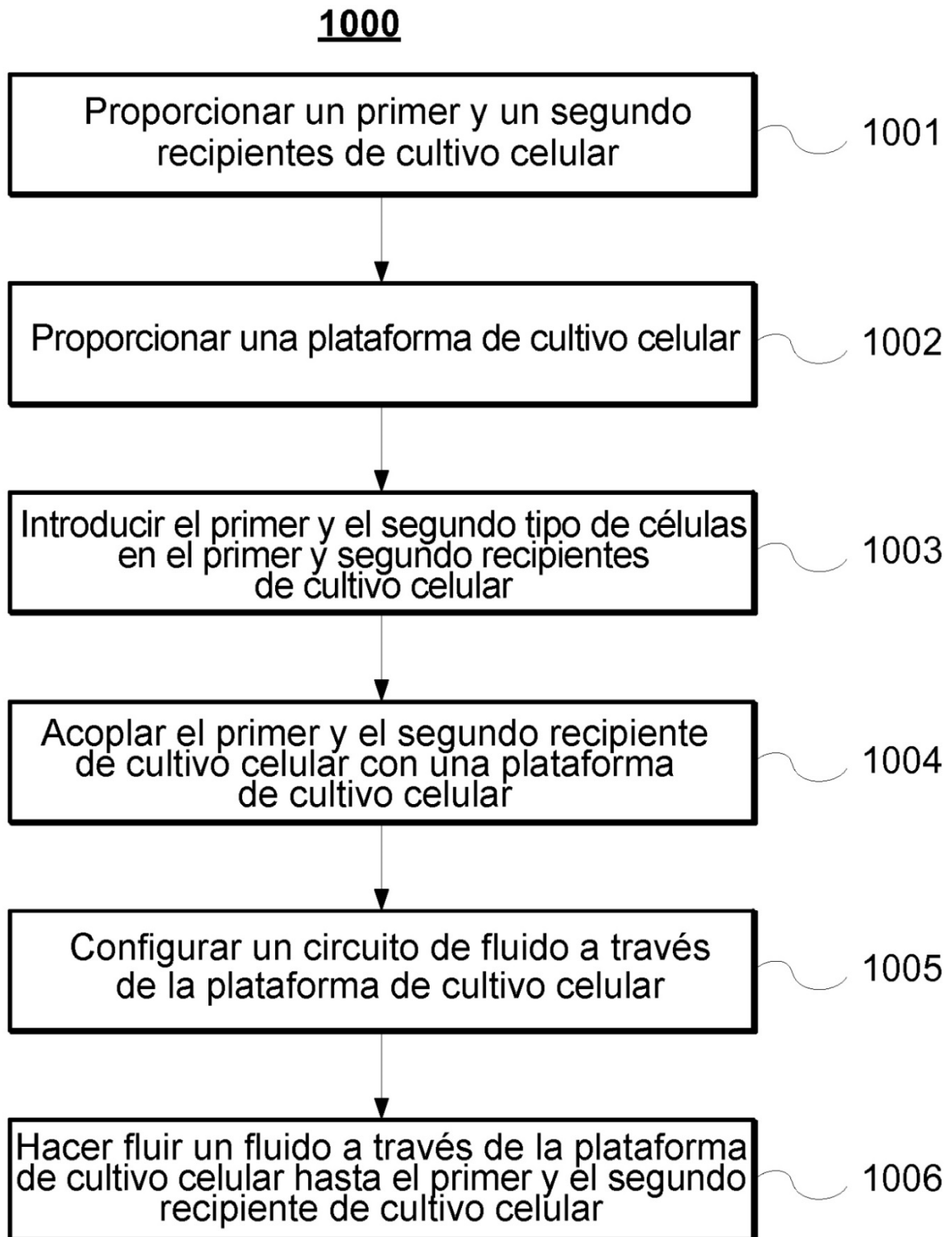


Figura 9B



**Figura 10**

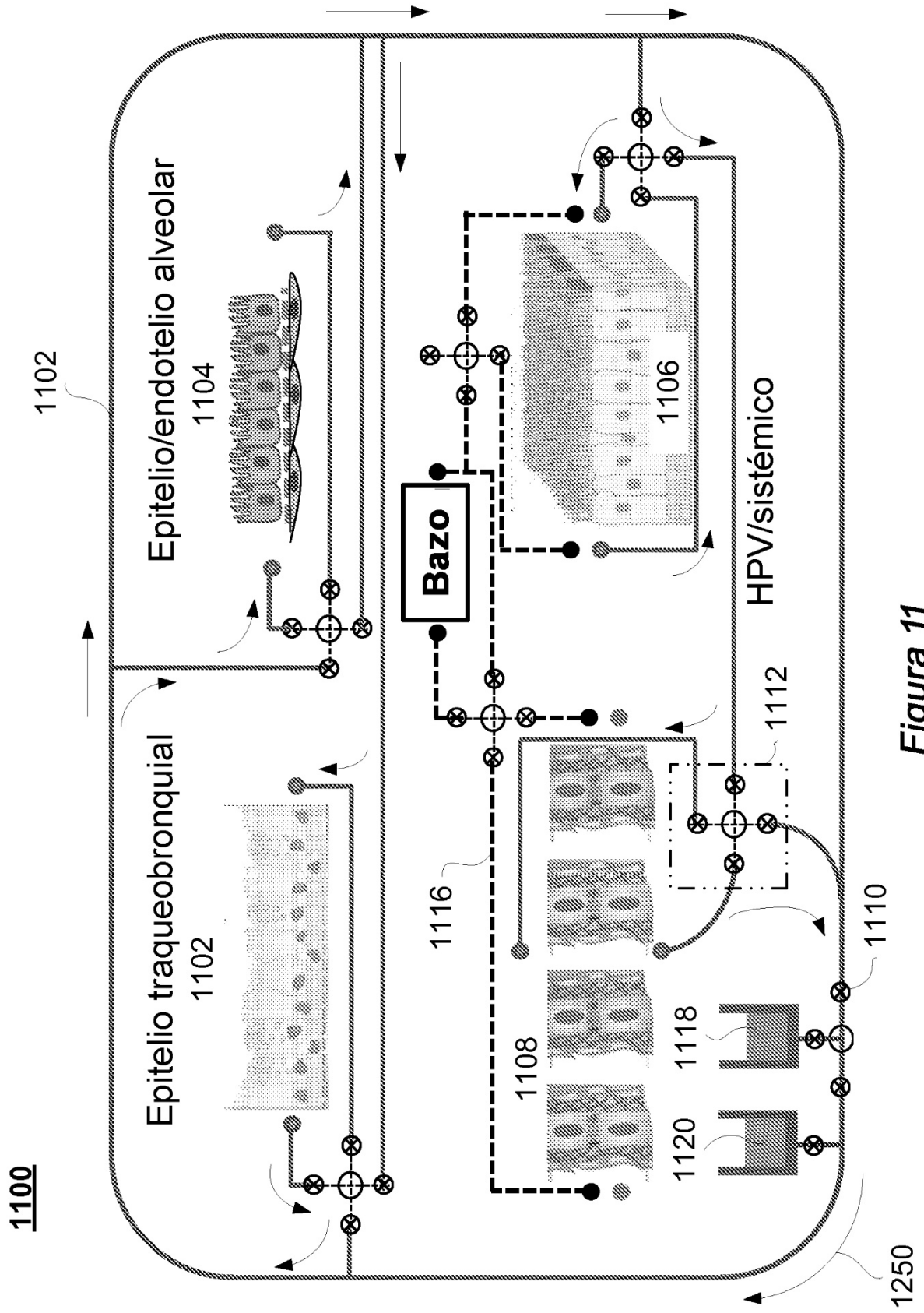
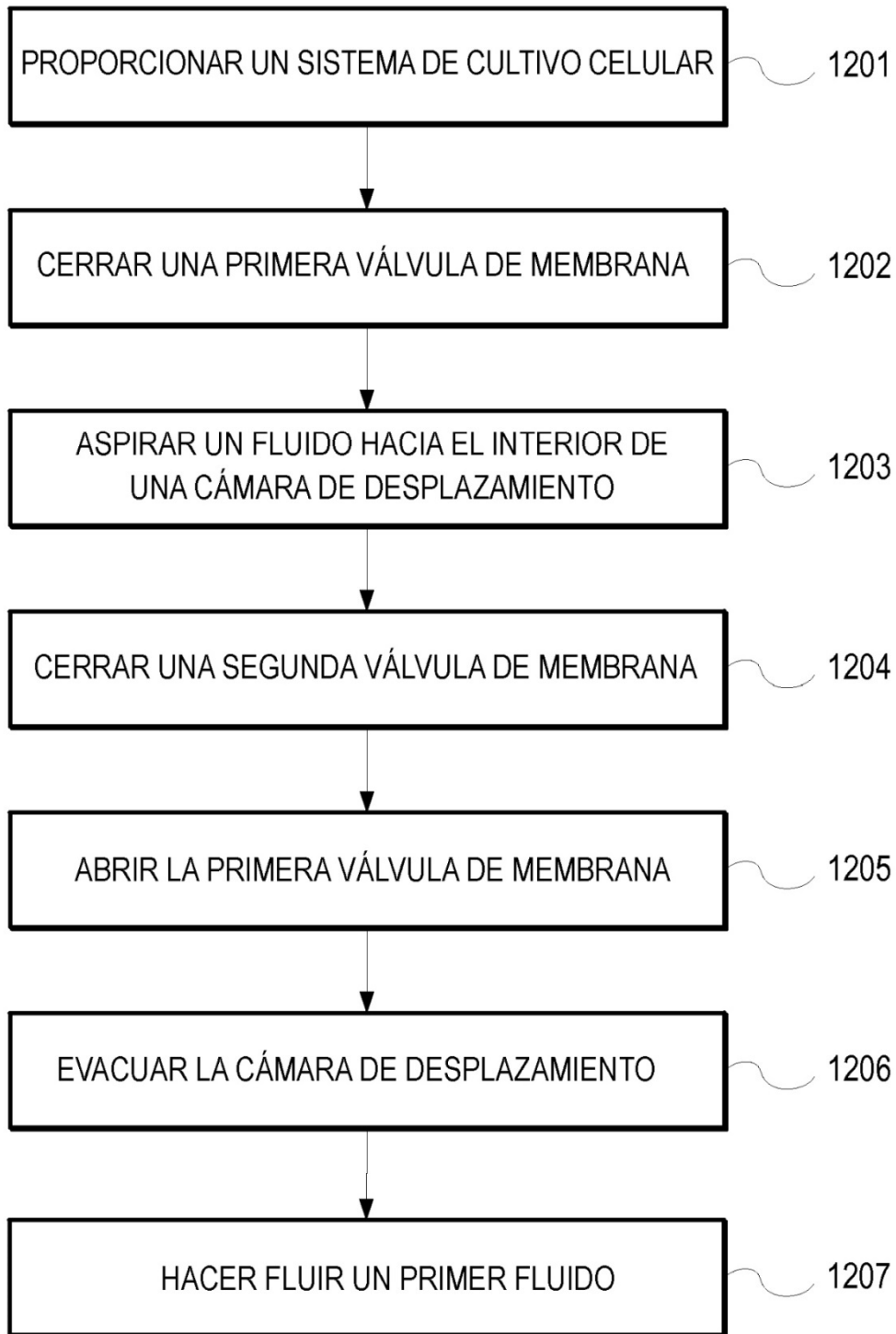


Figura 11

**1200**



**FIGURA 12**