

## ÉPREUVE D'UN CANDIDAT

### A, EEQ 2019

L'invention concerne un dispositif de culture cellulaire. L'invention concerne également un procédé de fabrication d'un dispositif de culture cellulaire et un procédé de culture cellulaire utilisant ce dispositif.

Afin de réussir à cultiver des cellules dans un milieu de culture, c'est-à-dire en laboratoire, il faut fournir aux cellules ce qui est essentiel à leur croissance et à leur respiration. Les cellules dérivées d'animaux ou d'êtres humains sont normalement cultivées dans un milieu liquide qui contient tous les nutriments nécessaires. Les cellules sont habituellement cultivées dans des conditions contrôlées, notamment en ce qui concerne le pH, la température et les échanges de gaz comme l'oxygène (O<sub>2</sub>) et le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) avec l'environnement. Les dispositifs de culture cellulaires sont typiquement maintenus dans un incubateur dans lequel l'oxygène est fourni à une concentration d'environ 20%, afin que les cellules puissent recevoir suffisamment d'oxygène pour une croissance adéquate.

D1 décrit des dispositifs de culture cellulaire conventionnels se présentant sous la forme d'une plaque multipuits. Cette plaque est composée d'une surface plane comprenant une série de puits qui contiennent le milieu de culture cellulaire et les cellules. Pendant l'utilisation, les puits sont fermés de façon étanche, soit par un couvercle, soit par une membrane perméable aux gaz, qui peut être un film de fermeture étanche GazEasy™. D2 décrit ce film de fermeture étanche GazEasy™. Il s'agit d'une membrane adhésive perméable aux gaz et imperméable aux liquides qui peut être utilisée pour fermer de façon étanche les orifices d'un boîtier de culture. Ces films comprennent du polyéthylène et sont très perméables aux gaz.

Dans ces dispositifs conventionnels, l'alimentation en oxygène provient de l'espace du boîtier situé au-dessus de la surface du milieu de culture cellulaire et appelé espace de tête. Par conséquent, la surface disponible pour les échanges gazeux est limitée et peut entraîner de faibles taux de croissance des cellules. De plus, il peut y avoir une forte baisse initiale du pH au cours de la première heure ou des deux premières heures, du fait que le dioxyde de carbone provenant de l'espace de tête

se dissout dans le milieu. Cette baisse de pH peut avoir une incidence négative sur le taux de croissance des cellules.

L'invention a pour objet de remédier à ces désavantages. En particulier, l'invention a pour but d'augmenter les échanges gazeux et d'augmenter ainsi le taux de croissance des cellules.

Ce but est atteint par les caractéristiques de la revendication 1. En effet, le dispositif de culture cellulaire comprend 2 membranes opposées (2a, 2b) perméables aux gaz, ces membranes formant avec le cadre (1) la chambre de culture cellulaire (4). Le fait d'avoir 2 membranes opposées qui soient perméables aux gaz permet l'accroissement des échanges gazeux, en particulier de CO<sub>2</sub> et d'O<sub>2</sub>, car la surface disponible pour les échanges gazeux est augmentée.

Le terme « perméable aux gaz » signifie que la membrane contient des pores permettant aux gaz de la traverser.

Des formes avantageuses de réalisation du dispositif sont définies dans les revendications dépendantes.

L'invention concerne également un procédé de fabrication de dispositifs de culture cellulaire selon l'invention.

L'invention concerne également un procédé de culture cellulaire utilisant le dispositif de culture cellulaire selon l'invention.

La figure 1a montre une vue de dessus du dispositif cellulaire.

La figure 1b montre une vue latérale du dispositif de culture cellulaire.

La figure 1c montre une coupe à travers le dispositif de culture cellulaire selon le plan A-A dessiné dans la figure 1a.

## Revendications

- 1) Dispositif de culture cellulaire comprenant
  - une première membrane (2a) perméable aux gaz et imperméable aux liquides, et
  - une seconde membrane (2b) perméable aux gaz et imperméable aux liquides, la seconde membrane (2b) étant opposée à la première membrane (2a),les membranes (2a, 2b) étant maintenues par un cadre (1) afin de former une chambre de culture cellulaire (4) entre les deux membranes opposées (2a, 2b) et le cadre (1),  
les membranes opposées (2a, 2b) étant attachées au cadre (1) au moyen d'une fermeture étanche, et  
le cadre (1) comprenant au moins un orifice refermable de façon étanche (3a, 3b) et/ou l'une des membranes (2a, 2b) étant attachée au cadre (1) de manière refermable de façon étanche avec un adhésif sensible à la pression.
- 2) Dispositif de culture cellulaire selon la revendication 1 caractérisée en ce que au moins une des membranes (2a, 2b) est transparente optiquement.
- 3) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que les membranes (2a, 2b) comprennent des polymères, de préférence choisis parmi le polyéthylène, le polycarbonate, le polypropylène et le copolymère silicone.
- 4) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que les membranes (2a, 2b) comprennent du polyéthylène.
- 5) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que la surface intérieure d'au moins une des membranes (2a, 2b) est revêtue d'une substance qui facilite l'adhésion des cellules, de préférence choisie parmi la gélatine, le collagène et la fibronectine.

- 6) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que la distance moyenne entre les membranes (2a, 2b) est comprise entre 1 mm et 5 mm.
- 7) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le dispositif est de forme rectangulaire, de préférence mesurant entre 10 et 15 cm de long, entre 7 et 9 cm de large, entre 0,2 et 2 cm de haut, et les membranes (2a, 2b) ayant chacune une épaisseur de 0,05 à 0,15 mm.
- 8) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que les première et seconde membranes sont en contact direct avec l'air.
- 9) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'orifice refermable de façon étanche (3a, 3b) est un joint, de préférence un joint comprenant un matériau élastomère associé à un agent antimicrobien intégré à celui-ci.
- 10) Dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'il comprend au moins deux orifices refermables de façon étanches (3a, 3b).
- 11) Procédé de fabrication d'un dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce qu'il comprend une étape de fixation d'au moins une des membranes (2a, 2b) au cadre (1) par soudage ultrasonique ou avec un adhésif thermofusible, de préférence par soudage ultrasonique.

12) Procédé de culture cellulaire comprenant les étapes suivantes :

- a) Suspendre les cellules à cultiver dans une quantité appropriée de milieu de culture cellulaire afin de former une suspension cellulaire ;
- b) Introduire la suspension cellulaire dans un dispositif de culture cellulaire selon l'une des revendications 1 à 10 ;
- c) Incuber le dispositif de culture cellulaire contenant la suspension cellulaire, dans des conditions permettant la croissance des cellules.
- d)

13) Procédé de culture cellulaire selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'à l'étape b), la chambre de culture cellulaire (4) du dispositif de culture cellulaire est entièrement remplie de suspension cellulaire.

**Examination Committee I: Paper A - Marking Details - Candidate No**

Category		Max. possible	Marks Marker 1	Marker 2
Claims	Independent product claim	42	42	42
Claims	Independent method claim	15	15	15
Claims	Dependent claims	27	17	18
Description	Description	16	13	14
<b>Total</b>			<b>87</b>	<b>89</b>

Examination Committee I agrees on 88 points and recommends the grade PASS