

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391709** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.30

(22) Дата подачи заявки
2022.01.05

(51) Int. Cl. **G01N 33/483** (2006.01)
C12M 3/00 (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
C12M 1/02 (2006.01)
C12Q 1/02 (2006.01)

(54) СИСТЕМА И СПОСОБ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ

(31) **63/205,757**

(32) **2021.01.06**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/011267**

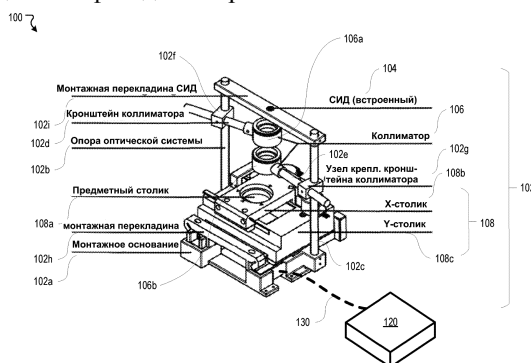
(87) **WO 2022/150351 2022.07.14**

(71) Заявитель:
ЭММАУС МЕДИКАЛ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Олива Вилана Жоан, Отгай Дзюн
(US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В настоящем документе описано устройство для оценки биологических клеточных культур. Устройство содержит корпус и контроллер, соединенный с корпусом посредством шины данных. Корпус содержит источник света для генерирования света, коллиматор для коллимации света, генерируемого источником света, столик прямолинейного перемещения для приведения в движение чашки для клеточной культуры, содержащей биологическую клеточную культуру, в ортогональных направлениях, и фотодетектор для приема коллимированного света через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. Контроллер выполнен с возможностью подачи через шину данных инструкций для управления работой источника света, столика прямолинейного перемещения и фотодетектора.



A1

202391709

202391709

A1

СИСТЕМА И СПОСОБ ОЦЕНКИ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] В настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с §119(e) раздела 35 Свода законов США по предварительной заявке на патент США № 63/205,757, поданной 6 января 2021 г., которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[02] Настоящее изобретение в целом относится к оценке биологических веществ. В частности, настоящие изобретения относятся к системе и способу определения толщины, зрелости и прозрачности биологических клеточных культур.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[03] Технология клеточных пластов привлекла интерес в регенеративной медицине в контексте заживления поврежденных органов или тканей. Клеточный пласт может быть однослойным или многослойным. В регенеративной медицине пласты выращенных в лаборатории стволовых клеток могут быть трансплантированы на поврежденные органы или ткани, так что пересаженные стволовые клетки могут регенерироваться как клетки нижележащих органов или тканей. Такие методы были успешно использованы, например, в кожной пластике. В качестве другого примера пласты прозрачных клеточных культур, таких как клетки роговицы, могут быть выращены и пересажены на поврежденные глаза. Кроме того, можно точно измерить пропускание роговицы доноров перед трансплантацией. В обычных методиках выращивания таких пластов стволовых или

роговичных клеток используют различные подложки-носители, такие как амниотическая мембрана, фибриновый гель, гидрогель с гиалуроновой кислотой, коллаген и т. д., выращивая на них тонкий пласт стволовых или роговичных клеток. После этого пласты стволовых или роговичных клеток собирают и укладывают поверх других пластов стволовых или роговичных клеток для образования многослойного пласта стволовых или роговичных клеток, который затем может быть трансплантирован на поврежденный орган или ткань для регенерации. У этих обычных методик может быть множество недостатков. Например, вновь выращенный пласт стволовых или роговичных клеток нужно механически извлечь или отделить от чашки для клеточной культуры, а затем поместить поверх другого пласта стволовых или роговичных клеток. Для того чтобы пласт стволовых или роговичных клеток выдержал усилие, прилагаемое к нему при извлечении, его необходимо выращивать достаточно долго, чтобы он обладал достаточно прочной физической целостностью для сохранения структуры пласта при поднятии с чашки для клеточной культуры. В случае преждевременного сбора пласта стволовых или роговичных клеток стволовые или роговичные клетки могут разорваться, и потребуются повторить процесс выращивания пласта стволовых или роговичных клеток на замену. По этой причине процесс выращивания многослойных пластов стволовых или роговичных клеток может быть трудоемким, длительным, сложным и дорогостоящим.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[04] В настоящем документе описано устройство для определения толщины, зрелости, прозрачности биологических клеточных культур и количества клеток в пласте клеток. Устройство может содержать корпус и контроллер, соединенный с корпусом посредством шины данных. Корпус может содержать источник света

для генерирования света, коллиматор для коллимации света, генерируемого источником света, столик прямолинейного перемещения для приведения в движение чашки для клеточной культуры, содержащей биологическую клеточную культуру, в ортогональных направлениях, и фотодетектор для приема коллимированного света через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. Источник света может быть расположен в верхней части корпуса. Коллиматор может быть расположен ниже источника света. Столик прямолинейного перемещения может быть расположен под коллиматором и может обеспечивать поверхность для крепления чашки для клеточной культуры. Фотодетектор может быть расположен под столиком прямолинейного перемещения и у основания на корпусе. Контроллер может быть выполнен с возможностью подачи через шину данных инструкций для управления работой источника света, столика прямолинейного перемещения и фотодетектора.

[05] В некоторых вариантах реализации корпус может также содержать стержни, проходящие вертикально из основания корпуса, первую перекладину, механически соединенную со стержнями, и вторую перекладину, механически соединенную со стержнями. Первая перекладка может быть расположена в верхней части корпуса и может включать в себя источник света. Вторая перекладка может быть расположена между первой перекладкой и коллиматором и может включать в себя апертуру, выровненную по линии видимости источника света.

[06] В некоторых вариантах реализации коллиматор может содержать по меньшей мере одну линзу. Линза может быть механически соединена со стержнем посредством кронштейна и узла крепления кронштейна.

[007] В некоторых вариантах реализации линза может иметь диаметр 25,4 мм и фокусное расстояние 25,4 мм.

[008] В некоторых вариантах реализации линза может быть помещена в держатель, соединенный с кронштейном.

[009] В некоторых вариантах реализации столик прямолинейного перемещения может содержать предметный столик, x-столик и y-столик. Предметный столик может обеспечивать поверхность для крепления чашки для клеточной культуры. X-столик может приводить в движение столик прямолинейного перемещения в первом направлении. Y-столик может приводить в движение столик прямолинейного перемещения во втором направлении, ортогональном первому направлению.

[010] В некоторых вариантах реализации x-столик и y-столик могут включать в себя шаговый двигатель, соединенный с синхронизирующим ремнем, который вызывает перемещение x-столика и y-столика в их соответствующих направлениях.

[011] В некоторых вариантах реализации каждый из предметного столика, x-столика и y-столика может иметь отверстие, которое позволяет коллимированному свету проходить через него.

[012] В некоторых вариантах реализации контроллер может содержать вычислительный блок, соединенный по меньшей мере с двумя модулями драйвера двигателя.

[013] В некоторых вариантах реализации по меньшей мере два модуля драйвера двигателя могут генерировать сигналы для приведения в действие шаговых двигателей x-столика и y-столика.

[014] В некоторых вариантах реализации вычислительный блок может принимать аналоговые сигналы от фотодетектора по шине данных и оцифровывать аналоговые сигналы.

[015] В некоторых вариантах реализации вычислительный блок может генерировать цифровые сигналы для включения или выключения фотодетектора.

[016] В некоторых вариантах реализации свет, сгенерированный источником света, может содержать острый пик при 450–475 нм и плоский пик при 560–60 нм.

[017] В некоторых вариантах реализации шина данных может быть проводным соединением для передачи данных.

[018] В некоторых вариантах реализации проводное соединение для передачи данных может быть по меньшей мере одним из соединения для передачи данных на основе Ethernet, последовательной или интерфейсной шины общего назначения.

[019] В некоторых вариантах реализации шина данных может быть беспроводным соединением для передачи данных.

[020] В некоторых вариантах реализации беспроводное соединение для передачи данных может быть по меньшей мере одним из соединения для передачи данных на основе сотовой связи, Wi-Fi, Bluetooth или связи ближнего действия.

[021] В настоящем документе описан способ управления работой устройства. Контроллер может приводить в движение столик прямолинейного перемещения для перемещения в первое местоположение, соответствующее первому заданному

местоположению чашки для клеточной культуры. Источник света посредством коллиматора может генерировать коллимированный свет, проходящий через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру в первом местоположении. Фотодетектор может принимать коллимированный свет, проходящий через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. Контроллер может определять интенсивность коллимированного света в первом местоположении.

[022] В некоторых вариантах реализации интенсивность коллимированного света может быть средним значением по меньшей мере 10 измерений интенсивности.

[023] В некоторых вариантах реализации контроллер может приводить в движение столик прямолинейного перемещения для перемещения во второе местоположение, соответствующее второму заданному местоположению чашки для клеточной культуры. Источник света посредством коллиматора может генерировать коллимированный свет, проходящий через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру во втором местоположении. Фотодетектор может принимать коллимированный свет, проходящий через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. Контроллер может определять интенсивность коллимированного света во втором местоположении.

[024] Эти и другие признаки устройств, систем, способов и некрatковременного компьютерочитаемого носителя информации, раскрытых в настоящем документе, а также способы управления работой и функции соответствующих элементов конструкции и комбинации частей и экономичность изготовления станут более очевидными при рассмотрении следующего описания и прилагаемой формулы изобретения со ссылкой на сопроводительные чертежи,

которые все являются частью настоящего описания изобретения, при этом одинаковые номера позиций обозначают соответствующие части на различных фигурах. Однако следует четко понимать, что чертежи приведены только для целей иллюстрации и описания и не предназначены для определения объема изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[025] Конкретные признаки различных вариантов реализации настоящей технологии подробно изложены в прилагаемой формуле изобретения. Признаки и преимущества технологии станут более понятными при обращении к следующему подробному описанию, в котором изложены иллюстративные варианты реализации, использующие принципы изобретения, и к прилагаемым чертежам, на которых:

[026] На **ФИГ. 1А–1D** показано устройство для определения толщины, зрелости и прозрачности биологической клеточной культуры в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[027] На **ФИГ. 2** показана электрическая схема контроллера в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[028] На **ФИГ. 3А** показано визуальное представление настройки конфигурации, которая может быть загружена в контроллер для измерения интенсивности света, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[029] На **ФИГ. 3В** показан способ управления работой устройства в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[030] На **ФИГ. 3С** показан способ определения пропускания биологических клеточных культур с использованием устройства в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[031] На **ФИГ. 4А** приведена схема, показывающая взаимосвязь между пропусканием (интенсивностью света) и толщиной или временем сбора (называемым также зрелостью) биологической клеточной культуры в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[032] На **ФИГ. 4В–4С** показаны графики, изображающие взаимосвязь между пропусканием биологической клеточной культуры, такой как многослойный пласт стволовых или роговичных клеток, и количеством дней, в течение которых выращивали биологическую клеточную культуру в лабораторных условиях, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[033] На **ФИГ. 4D** показан способ определения толщины и/или зрелости биологической клеточной культуры, такой как многослойный пласт стволовых или роговичных клеток, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[034] На **ФИГ. 4Е** показан справочный график, который может быть использован для определения количества клеток в пласте клеток, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения.

[035] На фигурах исключительно в целях иллюстрации изображены различные варианты реализации раскрытой технологии, при этом на фигурах одинаковые номера позиций указывают одинаковые элементы. Специалист в данной области легко поймет из дальнейшего обсуждения, что могут быть использованы альтернативные варианты реализации конструкций и способов без отступления от принципов раскрытой технологии, описанной в настоящем документе.

ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[036] В регенеративной медицине пласты выращенных в лаборатории стволовых клеток могут быть трансплантированы на поврежденные органы или ткани, так что пересаженные стволовые клетки могут регенерироваться как клетки нижележащих органов или тканей. Такие методы были успешно использованы, например, в кожной пластике. В качестве другого примера можно вырастить пласты прозрачных клеточных культур, таких как клетки роговицы, и пересадить на поврежденные глаза, или можно точно измерить проницаемость роговицы доноров перед трансплантацией. В обычных методиках выращивания таких пластов стволовых или роговичных клеток используют различные подложки-носители, такие как амниотическая мембрана, фибриновый гель, гидрогель с гиалуроновой кислотой, коллаген и т. д., выращивая на них тонкий пласт стволовых или роговичных клеток. После этого листы стволовых или роговичных клеток собирают и укладывают поверх других пластов стволовых клеток для образования многослойного пласта стволовых или роговичных клеток, который затем может быть трансплантирован на поврежденный орган или ткань для регенерации. У этих обычных методик может быть множество недостатков. Например, вновь выращенный пласт стволовых или

роговичных клеток нужно механически извлечь или отделить от чашки для клеточной культуры, а затем поместить поверх другого пласта стволовых или роговичных клеток. Для того чтобы пласт стволовых или роговичных клеток выдержал усилие, прилагаемое при извлечении, пласт стволовых или роговичных клеток должен выращиваться достаточно долго, чтобы пласт стволовых или роговичных клеток обладал достаточно прочной физической целостностью для сохранения структуры пласта при поднятии с чашки для клеточной культуры. В случае преждевременного сбора пласта стволовых или роговичных клеток стволовые или роговичные клетки могут разорваться, и потребуется повторить процесс выращивания пласта стволовых или роговичных клеток на замену. Поэтому процесс выращивания многослойных пластов стволовых или роговичных клеток может быть трудоемким, длительным, сложным и дорогостоящим. Существует потребность в более совершенных решениях для мониторинга роста многослойных пластов стволовых или роговичных клеток, а также для определения времени сбора пластов клеток и количества клеток, что является частью позологии пластов клеток.

[037] В настоящем документе описаны изобретения, которые решают вышеописанные проблемы. В отличие от вышеописанных обычных методик, описанные в настоящем документе изобретения могут быть использованы для мониторинга роста многослойного пласта стволовых или роговичных клеток непосредственно на чашке для клеточной культуры и для определения времени сбора многослойного пласта стволовых или роговичных клеток, чтобы его можно было непосредственно трансплантировать на поврежденные органы или ткани. Эта методика позволит также определять количество клеток на пласт клеток с использованием неинвазивного подхода, который будет использован для позологии. Таким образом, вместо выращивания пластов

стволовых или роговичных клеток один за другим и наложения слоями пластов стволовых или роговичных клеток можно непосредственно вырастить многослойные пласты стволовых или роговичных клеток до определенной толщины и/или зрелости и затем собрать. В различных вариантах реализации изобретения могут включать в себя устройство для определения толщины, зрелости и прозрачности биологической клеточной культуры, такой как многослойный пласт стволовых или роговичных клеток. Устройство может включать в себя корпус, который содержит источник света, коллиматор, столик прямолинейного перемещения, детектор света и контроллер. Источник света может быть выполнен с возможностью генерирования (или излучения) света на одной или более частотах. Например, в некоторых вариантах реализации источник света может быть выполнен с возможностью генерирования света на частотах, соответствующих красному, белому или синему свету. Коллиматор может собирать излучаемый свет от источника света и преобразовывать свет в коллимированный свет (т. е. параллельные лучи света), который может быть сфокусирован на отверстии (например, апертуре) столика прямолинейного перемещения. На столике прямолинейного перемещения может быть закреплена чашка для клеточной культуры, содержащая биологическую клеточную культуру, таким образом, чтобы коллимированный свет мог проходить через биологическую клеточную культуру через отверстие. Детектор света может быть выполнен с возможностью приема (или обнаружения) коллимированного света, проходящего через биологическую клеточную культуру, для измерения его интенсивности. Контроллер может быть выполнен с возможностью управления источником света для излучения света на различных частотах. Контроллер может быть выполнен с возможностью приведения в движение столика прямолинейного перемещения. Например, в некоторых вариантах реализации контроллер может содержать схему драйвера, которая может генерировать сигналы для

приведения в движение столика прямолинейного перемещения в направлениях x и y . И контроллер может быть также выполнен с возможностью определения пропускания биологической клеточной культуры на основе интенсивности. Устройство будет рассмотрено более подробно в настоящем документе.

[038] В различных вариантах реализации изобретения могут также включать в себя способ определения толщины, зрелости и прозрачности биологической клеточной культуры с использованием устройства. На столик прямолинейного перемещения может быть помещена чашка для клеточной культуры. Коллимированный свет, излучаемый источником света, может освещать ряд заданных местоположений на чашке для клеточной культуры, чтобы коллимированный свет мог проходить через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру в заданных местоположениях. Интенсивности коллимированного света в заданных местоположениях могут быть измерены для определения значений пропускания биологической клеточной культуры в заданных местоположениях. На основе этих значений пропускания может быть определена толщина и/или зрелость биологической клеточной культуры. Эти и другие признаки изобретений описаны более подробно в настоящем документе.

[039] На **ФИГ. 1A–1D** показано устройство 100 для определения толщины, зрелости и прозрачности биологической клеточной культуры в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. На **ФИГ. 1A** изображен изометрический вид устройства 100. На **ФИГ. 1A** изображен вид спереди устройства 100. На **ФИГ. 1C** изображен вид сбоку устройства 100. На **ФИГ. 1D** изображен упрощенный вид спереди устройства 100. Как показано на **ФИГ. 1A** и **1B**, в некоторых вариантах реализации устройство 100 может содержать корпус 102, соединенный с

контроллером 120 посредством шины 130 данных. Хотя корпус 102 и контроллер 120 показаны на **ФИГ. 1А** и **1В** как отдельные элементы, в некоторых вариантах реализации контроллер 120 может быть встроен в корпус 102 или быть его частью. В некоторых вариантах реализации шина 130 данных может быть проводным соединением для передачи данных. Например, шина 130 данных может быть соединением для передачи данных на основе Ethernet, последовательной или интерфейсной шины общего назначения. В некоторых вариантах реализации шина 130 данных может быть беспроводным соединением для передачи данных. Например, шина 130 данных может быть соединением для передачи данных на основе сотовой связи, Wi-Fi, Bluetooth или связи ближнего действия.

[040] Корпус 102 может включать в себя источник света 104, коллиматор 106, столик 108 прямолинейного перемещения и фотодетектор 110 (показаны на **ФИГ. 1В** и **1D**). В некоторых вариантах реализации корпус 102 может также включать в себя монтажное основание 102а, которое может использоваться для закрепления корпуса 102 на поверхности. Например, в условиях лаборатории корпус 102 может быть прикреплен к приспособлению или столу через крепежные отверстия монтажного основания 102а. Монтажное основание 102а может включать в себя опорные стойки 102b, 102с оптической системы, которые проходят вертикально от верхней части монтажного основания 102а. Каждая из опорных стоек 102b, 102с оптической системы может включать в себя кронштейн коллиматора (т. е. 102d и 102е), который может быть использован для жесткого крепления одной или более линз коллиматора 106. Например, в некоторых вариантах реализации коллиматор 106 может включать в себя оптическую систему, содержащую по меньшей мере две линзы, которые преобразуют свет в коллимированный свет. В этом примере первая линза оптической системы может быть прикреплена к корпусу 102 посредством кронштейна 102d коллиматора, а вторая

линза оптической системы может быть прикреплена к корпусу 102 посредством кронштейна 102e коллиматора. В некоторых вариантах реализации кронштейны 102d, 102e коллиматора могут включать в себя узел (т. е. 102f и 102g) крепления кронштейна коллиматора, который может быть использован для механического соединения кронштейнов 102d, 102e коллиматора с опорными стойками 102b, 102c оптической системы, соответственно. Каждый узел 102f, 102g крепления кронштейна коллиматора содержит по меньшей мере два отверстия, которые могут быть использованы для регулировки высоты и длины кронштейнов 102d, 102e коллиматора. Например, первое отверстие узла 102f крепления кронштейна коллиматора может быть использовано для подъема или опускания кронштейна 102b коллиматора вдоль опорного стержня 102b оптической системы. В некоторых случаях первое отверстие может быть использовано для вращательного перемещения линзы, прикрепленной к кронштейну 102d коллиматора, на линию видимости света. Второе отверстие узла 102f крепления кронштейна коллиматора может быть использовано для удлинения или укорачивания кронштейна 102d коллиматора относительно опорного стержня 102b оптической системы. После того, как настроены надлежащие высота, поворот и длина узла 102f крепления кронштейна коллиматора, узел 102f крепления кронштейна коллиматора может быть зафиксирован на опорном стержне 102b оптической системы путем затягивания крепежных штифтов, связанных с первым отверстием и вторым отверстием. Узел 102g крепления кронштейна коллиматора может быть настроен аналогичным образом, чтобы поднять или опустить кронштейн 102e коллиматора или удлинить или укоротить кронштейн 102e коллиматора относительно опорного стержня 102c оптической системы. Таким образом, оптическая система коллиматора 106 может быть отрегулирована множеством способов. Например, фокус коллиматора 106 может быть отрегулирован путем поднятия или опускания одного или обоих кронштейнов 102d, 102e коллиматора. В

качестве другого примера коллиматор 106 может быть перемещен на линию видимости света или с нее путем удлинения или укорачивания одного или обоих кронштейнов 102d, 102e коллиматора. В качестве альтернативы коллиматор 106 может быть перемещен на линию видимости или с нее путем поворота одного или обоих кронштейнов 102d, 102e коллиматора на линию видимости или в сторону от нее.

[041] В некоторых вариантах реализации корпус 102 может также содержать по меньшей мере одну монтажную перекладину 102h, которая механически соединена с монтажным основанием 102a. Монтажная перекладина 102h может обеспечивать жесткость конструкции монтажного основания 102a и, следовательно, корпуса 102. Например, монтажная перекладина 102h может свести к минимуму скручивание или деформацию монтажного основания 102a, вызываемую приведением в движение столика 108 прямолинейного перемещения. В некоторых случаях монтажная перекладина 102h вместе с монтажным основанием 102 могут обеспечить место крепления для прикрепления столика 108 прямолинейного перемещения. Например, в некоторых вариантах реализации монтажная перекладина 102h и монтажное основание 102a могут иметь сквозные отверстия для прикрепления с их помощью столика 108 прямолинейного перемещения к корпусу 102.

[042] В некоторых вариантах реализации корпус 102 может также включать в себя монтажную перекладину 102i источника света, соединенную с опорными стойками 102b, 102c оптической системы. Аналогично монтажной перекладине 102h монтажная перекладина 102i источника света может обеспечивать жесткость конструкции корпуса 102 при приведении в движение столика 108 прямолинейного перемещения. В некоторых вариантах реализации монтажная перекладина 102i источника света может содержать отверстие для вставки (или встраивания) источника 104 света. Хотя на **ФИГ. 1А–1С**

показано, что отверстие монтажной перекладины 102i источника света находится посередине, в некоторых вариантах реализации отверстие может быть расположено в других местах монтажной перекладины 102i источника света. Например, источник 104 света может быть вставлен в монтажную перекладину 102i источника света не в центре. Возможны и предполагаются множество вариантов.

[043] В некоторых вариантах реализации корпус 102 может также включать в себя перекладину 102j апертуры (показанную на **ФИГ. 1D**), соединенную с опорными стойками 102b, 102c оптической системы. Аналогично монтажной перекладине 102h и монтажной перекладине 102i источника света перекладина 102j апертуры может обеспечивать жесткость конструкции корпуса 102 при приведении в движение столика 108 прямолинейного перемещения. В некоторых вариантах реализации перекладина 102j апертуры может также содержать апертуру (т. е. отверстие), которая позволяет проходить свету, излучаемому источником 104 света, и создает линию видимости. Обычно перекладина 102j апертуры и монтажная перекладина 102i источника света расположены вдоль опорных стоек 102b, 102c оптической системы так, чтобы апертура перекладины 102j апертуры находилась непосредственно ниже источника 104 света, вставленным в монтажную перекладину 102i источника света. Тем самым минимизируется рассеяние света, излучаемого источником света, прежде чем он достигает коллиматора 106. В одном конкретном варианте реализации перекладина 102j апертуры расположена вдоль опорных стоек 102b, 102c оптической системы так, что апертура находится в 5 мм от источника 104 света.

[044] Хотя корпус 102, показанный на **ФИГ. 1A–1D**, изображен как имеющий открытую конструкцию, в некоторых вариантах реализации корпус 102 может быть полностью заключен в оболочку. В таких вариантах реализации оболочка может быть

облицована изнутри матовой черной фольгой, чтобы окружающий свет не мог проникать и создавать помехи фотодетектору 110. Например, окружающий свет, проникающий в оболочку, может увеличивать интенсивность света, воспринимаемую фотодетектором 110. Благодаря отделке оболочки изнутри матовой черной фольгой, проникающий в нее окружающий свет может быть уменьшен или полностью устранен, что повышает точность определения интенсивности. В некоторых вариантах реализации корпус 102 может также включать в себя одну или более камер. Камеры могут быть дополнительно выполнены с возможностью управления светом и фокусирования его на различные местоположения на столике 108 прямолинейного перемещения. Например, камеры могут обеспечивать обратную связь столику 108 прямолинейного перемещения, чтобы можно было улучшить фокусирование света на различные местоположения столика 108 прямолинейного перемещения.

[045] Источник света 104 может быть выполнен с возможностью генерирования света на одной или более частотах. Как правило, в качестве источника 104 света может быть реализован источник света любого типа, и источник 104 света может быть взаимозаменяемым. Например, в некоторых вариантах реализации в качестве источника 104 света может быть реализован источник света с использованием галогенной лампы, источник света с использованием флуоресцентной лампы или источник света с использованием лампы накаливания. В других вариантах реализации в качестве источника 104 света может быть реализован источник ультрафиолетового света или источник инфракрасного света. Возможны и предполагаются множество вариантов. В одном конкретном варианте реализации в качестве источника 104 света может быть реализован источник света с использованием светоизлучающего диода (СИД). Реализация источника 104 света с использованием светодиодов может обеспечить несколько

преимуществ. Например, светодиодный источник света может быть выполнен с возможностью генерирования света на различных частотах или длинах волн. Например, светодиодному источнику света может быть выдана инструкция посредством управляющего сигнала от контроллера 120, например, излучать красный, белый или синий свет (т. е. на разных длинах волны света). Кроме того, источник светодиодный источник света может быть выполнен таким образом, чтобы он занимал малую площадь, и его можно было легко вставить в монтажную перекладину 102i источника света. В некоторых вариантах реализации источник света 104 может быть выполнен с возможностью излучения преобразованного люминофором белого света.

Преобразованный люминофором белый свет может иметь широкое спектральное распределение мощности с острым пиком при 450–475 нм для синего цвета и плоским пиком при 560–60 нм для желтого света. Такие характеристики света могут способствовать освещению через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. В некоторых вариантах реализации источник 104 света может быть также выполнен с возможностью генерирования света на конкретных длинах волн в зависимости от типа белка, экспрессируемого биологической клеточной культурой. Например, если биологическая клеточная культура экспрессирует (или продуцирует) зеленый флуоресцентный белок, источник 104 света может быть выполнен с возможностью генерирования света, который может обнаруживать присутствие зеленого флуоресцентного белка в дополнение к определению толщины и/или зрелости биологической клеточной культуры. Возможны и предполагаются множество вариантов.

[046] Коллиматор 106 может быть выполнен с возможностью преобразования света в коллимированный свет. Коллимированный свет (т. е. параллельные лучи света) может быть уплотнен (или сфокусирован) так, чтобы коллимированные лучи света

могли проходить сквозь отверстие столика 108 прямолинейного перемещения к фотодетектору 110. Как показано на **ФИГ. 1А–1С**, в некоторых вариантах реализации коллиматор 106 может включать в себя оптическую систему, содержащую по меньшей мере две линзы 106а, 106b. Линзы 106а, 106b могут быть прикреплены к кронштейнам 102d, 102е коллиматора, соответственно. Например, линзы 106а, 106b могут быть закреплены в держателе. Держатель после этого может быть прикручен к кронштейнам 102d, 102е коллиматора. В некоторых вариантах реализации линзы 106а, 106b могут быть плосковыгнутыми линзами для уменьшения рассеянного света при прохождении света через коллиматор 106. Вообще, линзы 106а, 106b могут иметь любые диаметры линзы и фокусные расстояния для коллимации света. Выбор конкретных диаметров линзы для линз 106а, 106b может зависеть от различных факторов, таких как, например, материалы линзы и радиус кривизны линз и т. д. В одном конкретном варианте реализации по меньшей мере одна из линз 106а, 106b может иметь диаметр линзы 25,4 мм и фокусное расстояние 25,4 мм. В некоторых вариантах реализации обе линзы 106а, 106b могут иметь диаметр линзы 25,4 мм и фокусное расстояние 25,4 мм.

[047] Столик 108 прямолинейного перемещения может быть выполнен с возможностью приведения в движение предметного столика 108а в двух ортогональных направлениях. Например, столик 108 прямолинейного перемещения может быть выдана инструкция посредством одного или более управляющих сигналов, генерируемых контроллером 120, например, переместить предметный столик 108а вдоль оси x или y в плоскости x-y. В некоторых вариантах реализации столик 108 прямолинейного перемещения может также включать в себя x-столик 108b, соединенный с y-столиком 108с. В некоторых вариантах реализации предметный столик 108а может включать в себя отверстие с направляющей конструкцией, которая позволяет точно устанавливать чашку для клеточной культуры на предметный

столик 108a. Таким образом, чашки для клеточной культуры, содержащие различные биологические клеточные культуры, могут быть установлены на предметный столик 108a, не влияя на выравнивание чашек для клеточной культуры с предметным столиком 108a. Каждый из x-столика 108b и y-столика 108c может включать в себя отверстие, которое позволяет свету проходить сквозь него. Каждый из x-столика 108b и y-столика 108c может также включать в себя оснащенный двигателем исполнительный механизм с ременным приводом, который позволяет приводить в движение x-столик 108b и y-столик 108c в линейном направлении. Например, исполнительный механизм x-столика 108b может перемещать x-столик 108b вдоль оси x, а исполнительный механизм y-столика 108c может перемещать y-столик 108c вдоль оси y. Таким образом, чашка для клеточной культуры, содержащая биологическую клеточную культуру и помещенная на предметный столик 108a, может быть перемещена в различные местоположения, чтобы коллимированный свет, выходящий из коллиматора 106, мог освещать (или просвечивать) через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру в этих местоположениях. В некоторых вариантах реализации оснащенный двигателем исполнительный механизм с ременным приводом может включать в себя синхронизирующий ремень и шаговый двигатель. В таких вариантах реализации контроллер 120 может генерировать командные сигналы шаговому двигателю, которые вызывают поворот шагового двигателя в конкретное угловое положение. Этот поворот приводит к тому, что столик, с которым соединен шаговый двигатель, приводится в движение для перемещения в конкретное линейное положение посредством синхронизирующего ремня. В некоторых вариантах реализации каждый из x-столика 108b и y-столика 108c может включать в себя исполнительный механизм, управляемый ходовым винтом. В отличие от оснащенного двигателем исполнительного механизма с ременным приводом исполнительный механизм, управляемый ходовым винтом,

повышает точность и надежность. В некоторых вариантах реализации, как показано на **ФИГ. 1А–1С**, предметный столик 108а может быть встроен в х-столик 108b или являться его частью. В других вариантах реализации предметный столик 108а может быть установлен поверх х-столика 108b.

[048] Фотодетектор 110 может быть выполнен с возможностью измерения интенсивности света, проходящего через закрепленную на столике 108 прямолинейного перемещения чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. В некоторых вариантах реализации фотодетектор 110 может представлять собой монолитный фотодиод. Фотодетектор 110 может преобразовывать интенсивность света, воспринимаемую фотодетектором 110, в аналоговый сигнал электрического напряжения. Этот аналоговый сигнал электрического напряжения может быть оцифрован аналого-цифровым преобразователем контроллера 120. Вообще, аналого-цифровой преобразователь может иметь любое подходящее разрешение. Например, в некоторых вариантах реализации аналого-цифровой преобразователь может иметь разрешение 8 битов. В других вариантах реализации аналого-цифровой преобразователь может иметь разрешение 10 битов. Возможно множество вариантов. В некоторых вариантах реализации фотодетектор 110 может быть выполнен с возможностью непрерывного измерения интенсивности света. Например, в некоторых вариантах реализации фотодетектор 110 может быть выполнен с возможностью измерения интенсивности света с частотой 10 Гц (т. е. 10 измерений интенсивности в секунду). В качестве другого примера в некоторых вариантах реализации фотодетектор 110 может быть выполнен с возможностью измерения интенсивности света с частотой 100 Гц (т. е. 100 измерений интенсивности в секунду). Таким образом, могут быть определены значения интенсивности, которые являются статистически значимыми.

[049] Контроллер 120 может быть выполнен с возможностью управления работой источника 104 света, столика 108 прямолинейного перемещения и фотодетектора 110. Например, контроллер 120 может передать по шине 130 данных управляющие сигналы источнику 104 света, чтобы дать источнику 104 света инструкцию излучать свет на конкретных частотах или с конкретными длинами волн. Например, контроллер 120 может дать источнику света 104 инструкцию излучать белый свет, имеющий острый пик при 450–475 нм для синего света и плоский пик при 560–60 нм для желтого света. В качестве другого примера контроллер 120 может передать по шине 130 данных управляющие сигналы столику 108 прямолинейного перемещения, чтобы дать столику 108 прямолинейного перемещения инструкцию переместиться в конкретное положение в плоскости x-y. Например, контроллер 120 может дать столику 108 прямолинейного перемещения инструкцию переместиться в положительном направлении x на 10 мм и в отрицательном направлении y на 5 мм. В качестве еще одного примера контроллер 120 может передать по шине данных 130 управляющие сигналы фотодетектору 110, чтобы дать фотодетектору 110 инструкцию измерять интенсивность света с определенной частотой. Например, контроллер 120 может дать фотодетектору 110 инструкцию измерять интенсивность света с частотой 5 Гц, 10 Гц и т. д. В некоторых вариантах реализации контроллер 120 может синхронизировать операции, связанные с источником 104 света, столиком 108 прямолинейного перемещения и фотодетектором 110 таким образом, чтобы автоматизировать измерения интенсивности света через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру. Например, в одной конкретной реализации контроллер 120 может быть выполнен с возможностью автоматического измерения интенсивности света в 9 заданных местоположениях чашки для клеточной культуры, содержащей биологическую клеточную культуру, причем в каждом

местоположении измерять интенсивность света с частотой 10 Гц (т. е. 10 раз). В этом примере контроллер 120 может синхронизировать работу источника 104 света, столика 108 прямолинейного перемещения и фотодетектора 110. Например, контроллер 120 сначала передает управляющие сигналы столику 108 прямолинейного перемещения, чтобы вызвать перемещение столика 108 прямолинейного перемещения в первое заданное положение. По завершении этого перемещения контроллер 120 передает управляющие сигналы источнику 104 света для излучения белого света. Затем, наконец, контроллер 120 передает управляющие сигналы фотодетектору 110 для измерения интенсивности света 10 раз. Возможны и предполагаются множество вариантов. В некоторых вариантах реализации контроллер 120 может быть реализован с использованием вычислительного блока, такого как вычислительный блок Arduino. Контроллер 120 будет рассмотрен подробнее в настоящем документе со ссылкой на **ФИГ. 2**.

[050] На **ФИГ. 2** показана электрическая схема 200 контроллера 120 в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. Как показано на **ФИГ. 2**, в некоторых вариантах реализации контроллер 120 может включать в себя вычислительный блок 202. Вычислительный блок 202 может включать в себя по меньшей мере один процессор, по меньшей мере одну память и по меньшей мере один интерфейс ввода/вывода, соединенные друг с другом посредством шины данных. В некоторых вариантах реализации вычислительный блок 202 может также включать в себя одну или более схем для генерирования и/или считывания различных сигналов для поддержки работы источника 104 света, столика 108 прямолинейного перемещения и фотодетектора 110 через интерфейс ввода/вывода. Например, вычислительный блок 202 может содержать схему, которая генерирует цифровой выходной сигнал 204а, вызывающий включение или выключение источника 104

света. В качестве другого примера вычислительный блок 202 может также включать в себя схему, которая принимает аналоговый входной сигнал 204b от фотодетектора 110 и оцифровывает аналоговый входной сигнал 204b. В некоторых вариантах реализации, показанных на **ФИГ. 2**, вычислительный блок 202 может питаться от внешнего источника 206 питания 5 В. Этот источник 206 питания 5 В может питать процессор, память и одну или более схем для генерирования и/или считывания различных сигналов, связанных с вычислительным блоком 202. В некоторых вариантах реализации контроллер 120 может также включать в себя по меньшей мере два модуля 208a, 208b драйвера двигателя. В таких вариантах реализации контроллер 120 может генерировать сигналы модулям 208a, 208b драйвера двигателя, вызывающие генерирования модулями 208a, 208b драйвера двигателя сигналов с широтно-импульсной модуляцией шаговым двигателям 210a, 210b x-столика 108b и y-столика 108c, соответственно. Сигнал с широтно-импульсной модуляцией может вызвать вращение двигателей 210a, 210b, что, в свою очередь, приводит к инициированию линейного перемещения x-столика 108b и y-столика 108c. В некоторых вариантах реализации модули 208a, 208b драйвера двигателя могут питаться от внешнего источника 212 питания 9 В. В других вариантах реализации модули 208a, 208b драйвера двигателя могут питаться от источника 206 питания 5 В, питающего вычислительный блок 202. В некоторых вариантах реализации вычислительный блок 202 может быть реализован с использованием вычислительного блока Arduino, такого как вычислительный блок Arduino Uno R3. В других вариантах реализации вычислительный блок может быть реализован с использованием подходящих встроенных вычислительных систем.

[051] В некоторых вариантах реализации вычислительный блок 202 может быть соединен с возможностью обмена данными с вычислительной системой. Вычислительная система может быть

выполнена с возможностью выполнения интегрированной среды разработки, которая позволяет пользователю (например, программисту) конфигурировать вычислительный блок 202 для осуществления автоматизации. Обычно интегрированная среда разработки может поддерживать множество языков программирования для автоматизации. Например, в одной конкретной реализации пользователь может запрограммировать вычислительный блок 202 на осуществление автоматизации с использованием кода Python или Visual Basic. Предполагается множество языков программирования.

[052] На **ФИГ. 3А** показано визуальное представление 300 настройки конфигурации, которая может быть загружена в контроллер 120 для измерения интенсивности света, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. Как обсуждалось выше, в различных вариантах реализации контроллер 120 может быть выполнен с возможностью автоматизации измерений интенсивности света, проходящего через чашку для клеточной культуры, содержащую биологическую клеточную культуру. Это может быть сделано, например, путем программирования настройки конфигурации для контроллера 120 посредством интегрированной среды разработки, выполняющейся в вычислительной системе, соединенной с контроллером 120. Настройка конфигурации может быть загружена в контроллер 120, чтобы контроллер 120 мог синхронизировать работу источника 104 света, столика 108 прямолинейного перемещения и фотодетектора 110 для автоматизации. Как видно, на **ФИГ. 3А** изображена чашка 302 для клеточной культуры. Чашка 302 для клеточной культуры может включать в себя биологическую клеточную культуру, такую как многослойный пласт стволовых или роговичных клеток, которую выращивали в лабораторных условиях. Чашка 302 для клеточной культуры может быть закреплена на столике 108 прямолинейного перемещения. Настройка конфигурации может включать в себя инструкции для отправки контроллером 120

источнику 104 света, столику 108 прямолинейного перемещения и фотодетектору 110 в некотором конкретном порядке или последовательности. Например, в качестве не имеющего ограничительного характера примера настройка конфигурации может включать в себя первый набор инструкций для перемещения контроллером 120 столика 108 прямолинейного перемещения в некоторое местоположение так, чтобы линия видимости света, излучаемого источником 104 света, пересекала первую точку 304a чашки для клеточной культуры 302 и, следовательно, биологическую клеточную культуру. Файл конфигурации может включать в себя второй набор инструкций для включения контроллером 120 источника 104 света после некоторой временной задержки, позволяющей столику 108 прямолинейного перемещения переместится в нужное местоположение. Файл конфигурации может содержать третий набор инструкций для выдачи контроллером 120 инструкции фотодетектору измерить интенсивности света после еще одной некоторой временной задержки, позволяющей источнику 104 света включиться. Файл конфигурации может содержать дальнейшие инструкции для вызова перемещения столика 108 прямолинейного перемещения в местоположение, соответствующее второй точке 304b чашки 302 для клеточной культуры по завершении измерений интенсивности света в местоположении, соответствующем первой точке 304a, и повторения измерений интенсивности света в этом местоположении. Эти инструкции продолжаются до тех пор, пока интенсивности света не будут измерены во всех точках 304a–304n чашки 302 для клеточной культуры. В некоторых вариантах реализации настройка конфигурации может включать в себя инструкции на перемещение чашки для клеточной культуры по змеевидной траектории, показанной на **ФИГ. 2**.

[053] На **ФИГ. 3B** показан способ 330 управления работой устройства 100 в соответствии с различными вариантами реализации

настоящего изобретения. На этапе 332 столику 108 прямолинейного перемещения может быть выдана инструкция на приведение в действие для перемещения в местоположение, соответствующее первому заданному местоположению чашки для клеточной культуры, содержащей биологическую клеточную культуру и закрепленной на столике 108 прямолинейного перемещения. На этапе 334 источнику 104 света может быть выдана инструкция генерировать свет, проходящий через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру в местоположении, соответствующем первому заданному местоположению. На этапе 336 фотодетектор 110 может принять свет, проходящий через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру, и измерить интенсивность света. Этот процесс повторяется до тех пор, пока не будут измерены интенсивности во всех заданных местоположения чашки для клеточной культуры.

[054] Методы, описанные в настоящем документе, реализуются, например контроллером 120. В некоторых вариантах реализации методы, описанные в настоящем документе, могут быть реализованы одним или более специализированными вычислительными устройствами. Специализированные вычислительные устройства могут иметь жесткую логику для выполнения методов или могут содержать схему или цифровые электронные устройства, такие как одна или более специализированных интегральных схем (ASIC) или программируемых пользователем вентильных матриц (FPGA), которые запрограммированы на постоянной основе для выполнения методов, или могут включать в себя один или более аппаратных процессоров, запрограммированных на выполнение методов в соответствии с программными инструкциями во встроенном программном обеспечении, в памяти, другом устройстве для хранения или их комбинации.

[055] На **ФИГ. 3С** показан способ 360 определения пропускания биологических клеточных культур с использованием устройства 100 в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. На этапе 362 коллимированный свет, проходящий через чашку для клеточной культуры, содержащую биологическую клеточную культуру, принимается фотодетектором 110. Фотодетектор 110 преобразует интенсивность коллимированного света в электрическое напряжение. На этапе 364 аналого-цифровой преобразователь контроллера 120 преобразует электрическое напряжение в первое цифровое значение. Первое цифровое значение может составлять от 0 до 900, где 0 эквивалентен пропусканию 0% (т. е. непрозрачности), а 900 эквивалентно пропусканию 100% (т. е. прозрачности). На этапе 366 фотодетектор 110 принимает коллимированный свет, освещающий через холостую чашку для клеточной культуры, содержащую 2 мл культуральной среды (например, культуральной среды для остеобластов, хондроцитов или недифференцированных клеток), которая использовалась для выращивания биологической клеточной культуры. На этапе 366 аналого-цифровой преобразователь контроллера 120 преобразует электрическое напряжение, соответствующее интенсивности коллимированного света, освещающего через холостую чашку для клеточной культуры, во второе цифровое значение. На этапе 368 вычисляют пропускание биологической клеточной культуры на основе следующего выражения:

$$\left(\frac{\text{Измерение пласта клеток/холостое измерение}}{\text{холостое измерение}} \right) * 100 = \% \text{ пропускания},$$

где измерение пласта клеток представляет собой пропускание чашки для клеточной культуры, содержащей биологическую клеточную культуру, а холостое измерение представляет собой пропускание холостой чашки для клеточной культуры, содержащей культуральную среду.

[056] В некоторых вариантах реализации устройство 100 может быть использовано для измерения оптической плотности роговицы или другой биологической клеточной культуры перед трансплантацией. В таких вариантах реализации можно оценить количество клеток в пласте клеток на основе пропускания пласта клеток, измеренного с использованием устройства 100, и сравнения измеренного пропускания со справочным графиком, на котором нанесено пропускание в зависимости от количества клеток. Таким образом, при сборе пласта клеток можно осуществлять строгий контроль качества и точное управление выпуском пласта клеток, а также позологией при терапии пластом клеток. Это приводит к меньшей вариабельности зрелости пласта клеток перед сбором. Справочный график, на котором нанесено пропускание в зависимости от количества клеток, подробно обсуждается далее в настоящем документе со ссылкой на **ФИГ. 4Е**.

[057] На **ФИГ. 4А** приведена схема 400, показывающая взаимосвязь между пропусканием (интенсивностью света) и толщиной и/или зрелостью биологической клеточной культуры в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. Вообще, пропускание света через вещество или материал напрямую связано с интенсивностью света, выходящего из вещества или материала. Например, говорят, что материал имеет высокое пропускание света, когда свет, выходящий из материала, имеет высокую интенсивность света. Аналогичным образом говорят, что материал имеет низкое пропускание света, когда свет, выходящий из материала, имеет низкую интенсивность света. Кроме того, обычно толщина и/или зрелость биологической клеточной культуры напрямую связана с количеством пластов клеток. Например, чем толще биологическая клеточная культура, тем больше пластов клеток она имеет. На **ФИГ. 4А** показана упрощенная схема устройства 100, в

котором на столике 108 прямолинейного перемещения закреплена чашка для клеточной культуры. Кроме того, на **ФИГ. 4А** показаны сценарии 402–406 измерения интенсивности света. В сценарии 402 в чашке для клеточной культуры выращивали биологическую клеточную культуру в течение первого количества дней. Процент пропускания, указанный на ФИГ. 4А, используется в качестве примера для описания изменений пропускания при выращивании пластов клеток на чашке для клеточной культуры. Свет, сгенерированный источником 104 света, проходит через чашку для клеточной культуры и теряет в биологической клеточной культуре приблизительно 1% интенсивности света. В этом сценарии, как говорят, чашка для клеточной культуры и биологическая клеточная культура имеют пропускание 99%. Это пропускание может быть коррелировано с толщиной и/или зрелостью биологической клеточной культурой, выращенной в течение первого количества дней. В сценарии 404 после первого количества дней биологическую клеточную культуру продолжали выращивать в чашке для клеточной культуры в течение второго количества дней. Когда чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру снова поместили в устройство 100 для измерения интенсивности света, на этот раз свет, выходящий из чашки для клеточной культуры и биологической клеточной культуры, терял приблизительно 3% интенсивности света, и, как говорят, чашка для клеточной культуры и биологическая клеточная культура имели пропускание 97%. В сценарии 406 после второго количества дней биологическую клеточную культуру продолжали выращивать в чашке для клеточной культуры в течение третьего количества дней. Когда чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру снова поместили в устройство 100 для измерения интенсивности света, на этот раз свет, выходящий из чашки для клеточной культуры и биологической клеточной культуры, терял приблизительно 12% интенсивности света, и, как говорят, чашка для клеточной культуры и биологическая клеточная культура имели пропускание 88%. Таким

образом, с помощью этого способа пропускание биологической клеточной культуры может быть коррелировано с толщиной и/или зрелостью биологической клеточной культуры (т. е. с количеством пластов клеток биологической клеточной культуры). Кроме того, в некоторых случаях пропускание биологической клеточной культуры может быть коррелировано со зрелостью биологической клеточной культуры. Например, чем выше зрелость биологической клеточной культуры (т. е., чем дольше выращивали биологическую клеточную культуру в чашке для клеточной культуры), тем толще биологическая клеточная культура и, следовательно, тем лучше способность выдерживать стресс, связанный с извлечением из чашки для клеточной культуры. На основе этой корреляции можно откалибровать пропускание биологической клеточной культуры для определения толщины и/или зрелости биологической клеточной культуры и времени для сбора биологической клеточной культуры с использованием неинвазивной методики. Например, время для сбора биологической клеточной культуры может быть определено на основе толщины и/или зрелости биологической клеточной культуры. В этом примере толщина и/или зрелость биологической клеточной культуры может быть определена путем определения пропускания биологической клеточной культуры. Поэтому в этом примере время для сбора биологической клеточной культуры может быть определено на основе пропускания биологической клеточной культуры. Таким образом, время для сбора биологической клеточной культуры может быть определено неинвазивным способом и без повреждения биологических клеточных культур.

[058] На **ФИГ. 4В–4С** показаны графики 420 и 440, изображающие взаимосвязь между пропусканием биологической клеточной культуры, такой как многослойный пласт стволовых или роговичных клеток, и количеством дней, в течение которых выращивали биологическую клеточную культуру в лабораторных

условиях, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. График 420 представляет собой график x-y. Ось x графика x-y представляет дни выращивания биологической клеточной культуры, а ось y графика x-y представляет пропускание биологической клеточной культуры, измеренное в конкретные дни. На графике 420 вариации значений пропускания, измеренных в различных точках биологической клеточной культуры в конкретные дни, представлены столбиками 422. Максимальные и минимальные значения пропускания указаны краями 422a, 422b столбиков 422. Средние значения пропускания представлены кружками 422c на столбиках 422. На основе средних значений пропускания можно определить математическую зависимость между пропусканием и днями выращивания. Таким образом, простым измерением значения пропускания биологической клеточной культуры можно определить количество дней, в течение которых выращивали эту биологическую клеточную культуру, и, следовательно, толщину и/или зрелость. График 420 представляет собой график x-y, показывающий пропускание пласта жировых стромальных клеток и дни, в течение которых пласт жировых стромальных клеток выращивали в чашке для клеточной культуры.

[059] На **ФИГ. 4D** показан способ 460 определения толщины и/или зрелости биологической клеточной культуры, такой как многослойный пласт стволовых или роговичных клеток, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. На этапе 462 коллимированный свет освещает чашку для клеточной культуры, содержащую биологическую клеточную культуру, в заданном количестве местоположений чашки для клеточной культуры. Коллимированный свет генерируется источником 104 света устройства 100 и коллимируется посредством коллиматора 106 устройства 100. Заданное количество местоположений на чашке для клеточной культуры определяют на основе настройки

конфигурации, которая должна быть загружена в контроллер 120 устройства 100. Чашку для клеточной культуры приводят в движение для перемещения в заданное количество местоположений с использованием столика 108 прямолинейного перемещения устройства 100.

[060] На этапе 464 измеряют интенсивности коллимированного света, проходящего через биологическую клеточную культуру, в заданном количестве местоположений. Интенсивности измеряются фотодетектором 110 устройства 100. Фотодетектор измеряет по меньшей мере 10 значений интенсивности в каждом из заданного количества местоположений.

[061] На этапе 466 определяют диапазон пропускания для биологической клеточной культуры на основе интенсивностей. Диапазон пропускания включает в себя по меньшей мере максимальное значение пропускания, минимальное значение пропускания и среднее значение пропускания для биологической клеточной культуры. Диапазоны пропускания для биологической клеточной культуры, измеренные в конкретные дни, наносят на график. На основе средних значений пропускания, измеренных в конкретные дни, можно определить корреляционную кривую между значениями пропускания биологической клеточной культуры и толщиной/зрелостью и количеством клеток в пластах клеток биологической клеточной культуры.

[062] На **ФИГ. 4Е** показан справочный график 480, который может быть использован для определения количества клеток в пласте клеток, в соответствии с различными вариантами реализации настоящего изобретения. Как обсуждалось выше, на основе пропускания пласта клеток, измеренного с использованием устройства 100, и сравнения измеренного пропускания со справочным графиком

480 можно оценить количество клеток в пласте клеток. Как показано на **ФИГ. 4Е**, справочный график 480 может представлять собой диаграмму рассеяния x - y . Диаграмма рассеяния x - y может включать в себя процент пропускания пласта клеток на оси y и количество клеток в пласте клеток на оси x , графически показывая зависимость пропускания от количества клеток. Кроме того, диаграмма рассеяния x - y может содержать кластеры точек данных из различных культуральных сред. Например, культуральная среда для недифференцированных клеток представлена в виде треугольных точек данных, для остеобластов — в виде квадратных точек данных, и для хондроцитов — в виде круглых точек данных. Поэтому, зная пропускание пласта клеток и культуральной среды, которую использовали для выращивания пласта клеток, можно на основе справочного графика 480 определять количество клеток в пласте клеток. Таким образом, при сборе пласта клеток можно осуществлять строгий контроль качества и точное управление выпуском пласта клеток, а также позологией при терапии пластом клеток.

Формула изобретения

1. Устройство для оценки биологических клеточных культур, содержащее:

корпус, при этом корпус содержит:

источник света для генерирования света, причем источник света расположен в верхней части корпуса;

фотодетектор, причем фотодетектор расположен у основания на корпусе;

коллиматор для коллимации света, причем коллиматор расположен ниже источника света, а фотодетектор предназначен для приема коллимированного света; и

столик прямолинейного перемещения для приведения в движение чашки для клеточной культуры, содержащей биологическую клеточную культуру, в ортогональных направлениях, причем столик прямолинейного перемещения расположен между источником света и фотодетектором и обеспечивает поверхность для закрепления чашки для клеточной культуры; и

контроллер, соединенный с корпусом посредством шины данных, причем контроллер выполнен с возможностью подачи через шину данных инструкций для управления работой источника света, столика прямолинейного перемещения и фотодетектора.

2. Устройство по п. 1, в котором корпус также содержит:

стержни, проходящие вертикально из основания корпуса;

первую перекладину, механически соединенную со стержнями, причем первая перекладина расположена в верхней части корпуса и включает в себя источник света; и

вторую перекладину, механически соединенную со стержнями, причем вторая перекладина расположена между первой перекладинной

и коллиматором и включает в себя апертуру, выровненную по линии видимости источника света.

3. Устройство по п. 2, в котором коллиматор содержит по меньшей мере одну линзу, и при этом линза механически соединена со стержнем посредством кронштейна и узла крепления кронштейна.

4. Устройство по п. 3, в котором линза имеет диаметр 25,4 мм и фокусное расстояние 25,4 мм.

5. Устройство по п. 3, в котором линза помещена в держатель, соединенный с кронштейном.

6. Устройство по п. 1, в котором столик прямолинейного перемещения содержит предметный столик, х-столик и у-столик, при этом предметный столик обеспечивает поверхность для закрепления чашки для клеточной культуры, причем х-столик выполнен с возможностью приведения столика прямолинейного перемещения в движение в первом направлении, а у-столик выполнен с возможностью приведения столика прямолинейного перемещения в движение во втором направлении, ортогональном первому направлению.

7. Устройство по п. 6, в котором х-столик и у-столик включают в себя шаговый двигатель, соединенный с синхронизирующим ремнем, который вызывает перемещение х-столика и у-столика в их соответствующих направлениях.

8. Устройство по п. 6, в котором каждый из предметного столика, х-столика и у-столика включает в себя отверстие, позволяющее коллимированному свету проходить через него.

9. Устройство по п. 6, в котором контроллер содержит вычислительный блок, соединенный по меньшей мере с двумя модулями драйвера двигателя.

10. Устройство по п. 9, в котором по меньшей мере два модуля драйвера двигателя выполнены с возможностью генерирования сигналов для приведения в движение шаговых двигателей x-столика и y-столика.

11. Устройство по п. 9, в котором вычислительный блок выполнен с возможностью приема аналоговых сигналов от фотодетектора по шине данных и оцифровывания аналоговых сигналов.

12. Устройство по п. 9, в котором вычислительный блок выполнен с возможностью генерирования цифровых сигналов для включения или выключения фотодетектора.

13. Устройство по п. 1, в котором свет, сгенерированный источником света, содержит острый пик при 450–475 нм и плоский пик при 560–60 нм.

14. Устройство по п. 1, в котором шина данных является проводным соединением для передачи данных.

15. Устройство по п. 14, в котором проводное соединение для передачи данных является по меньшей мере одним из соединения для передачи данных на основе Ethernet, последовательной или интерфейсной шины общего назначения.

16. Устройство по п. 1, в котором шина данных является беспроводным соединением для передачи данных.

17. Устройство по п. 14, в котором беспроводное соединение для передачи данных является по меньшей мере одним из соединения для передачи данных на основе сотовой связи, Wi-Fi, Bluetooth или связи ближнего действия.

18. Способ управления работой устройства по п. 1, включающий:

приведение контроллером в движение столика прямолинейного перемещения для перемещения в первое местоположение, соответствующее первому заданному местоположению чашки для клеточной культуры;

генерирование источником света посредством коллиматора коллимированного света, проходящего через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру в первом местоположении;

прием фотодетектором коллимированного света, проходящего через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру; и

определение контроллером интенсивности коллимированного света в первом местоположении.

19. Способ по п. 18, также включающий:

приведение контроллером в движение столика прямолинейного перемещения для перемещения во второе местоположение, соответствующее второму заданному местоположению чашки для клеточной культуры;

генерирование источником света посредством коллиматора коллимированного света, проходящего через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру во втором местоположении;

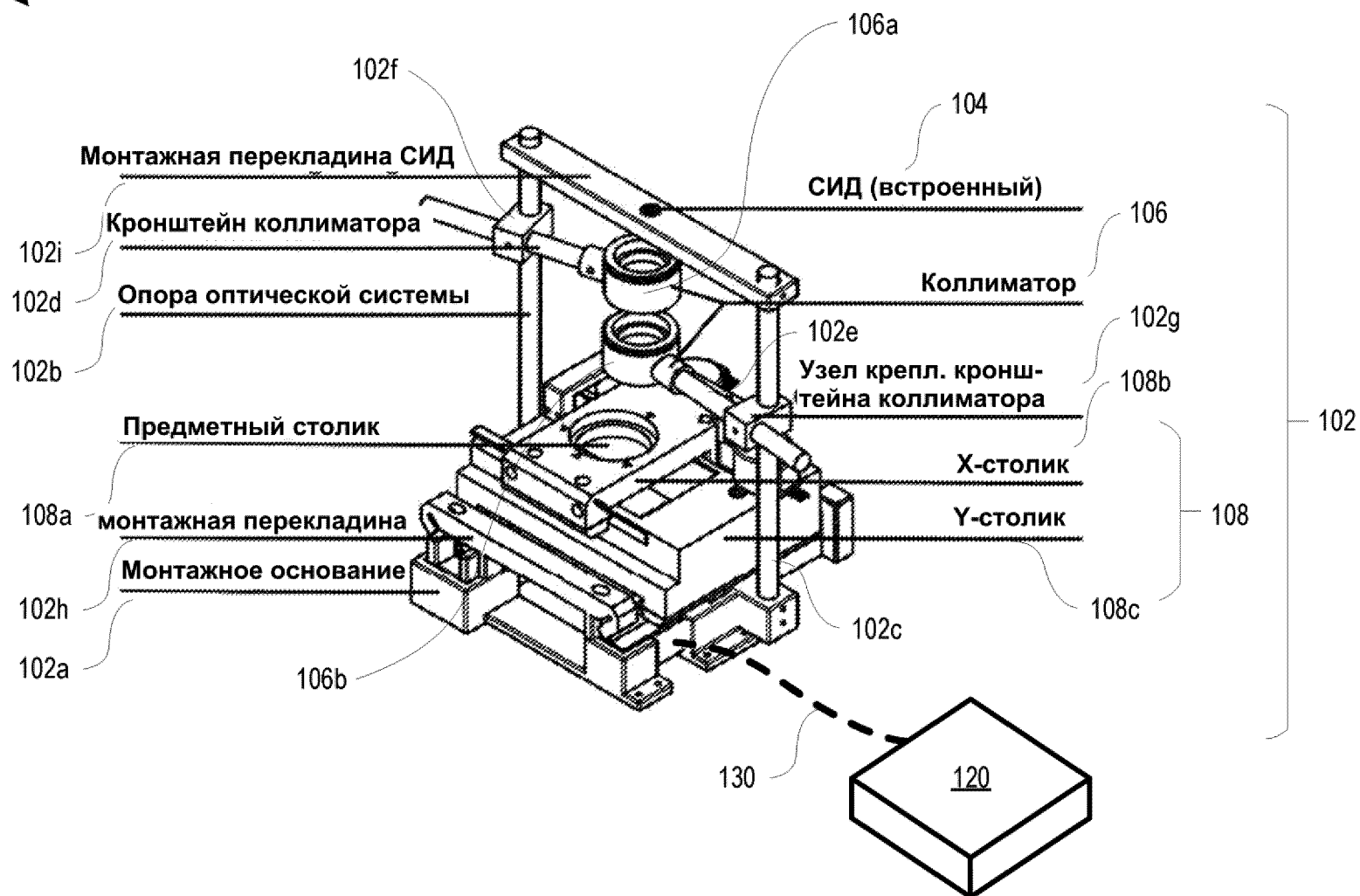
прием фотодетектором коллимированного света, проходящего через чашку для клеточной культуры и биологическую клеточную культуру; и

определение контроллером интенсивности коллимированного света во втором местоположении.

20. Способ по п. 19, в котором интенсивность коллимированного света в первом местоположении и интенсивность коллимированного света во втором местоположении используют для определения:

толщины биологической клеточной культуры,
зрелости биологической клеточной культуры для сбора биологической клеточной культуры,
количества клеток в одном или более пластах клеток биологической клеточной культуры и
прозрачности биологической клеточной культуры.

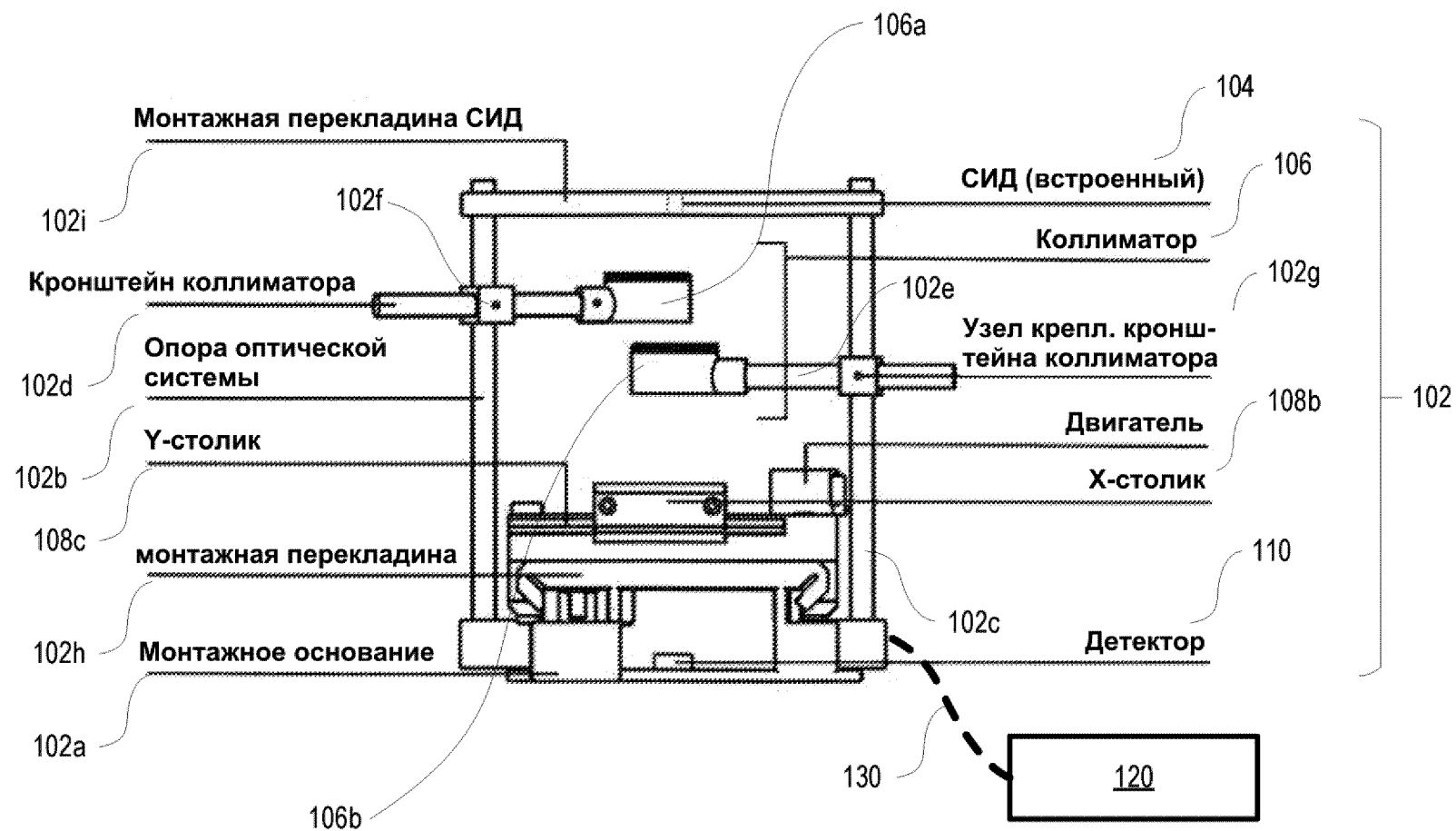
100 ↗



1/13

ФИГУРА 1А

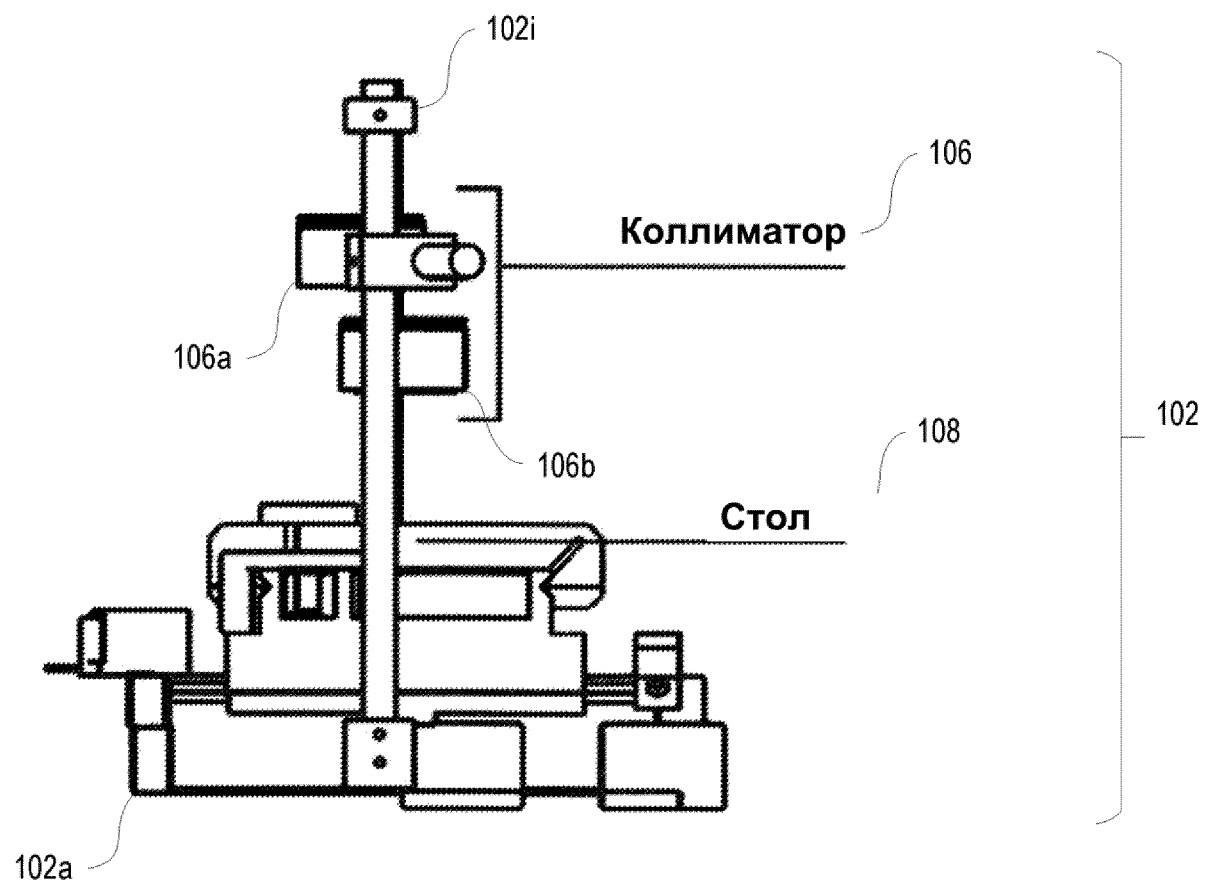
100 ↗



2/13

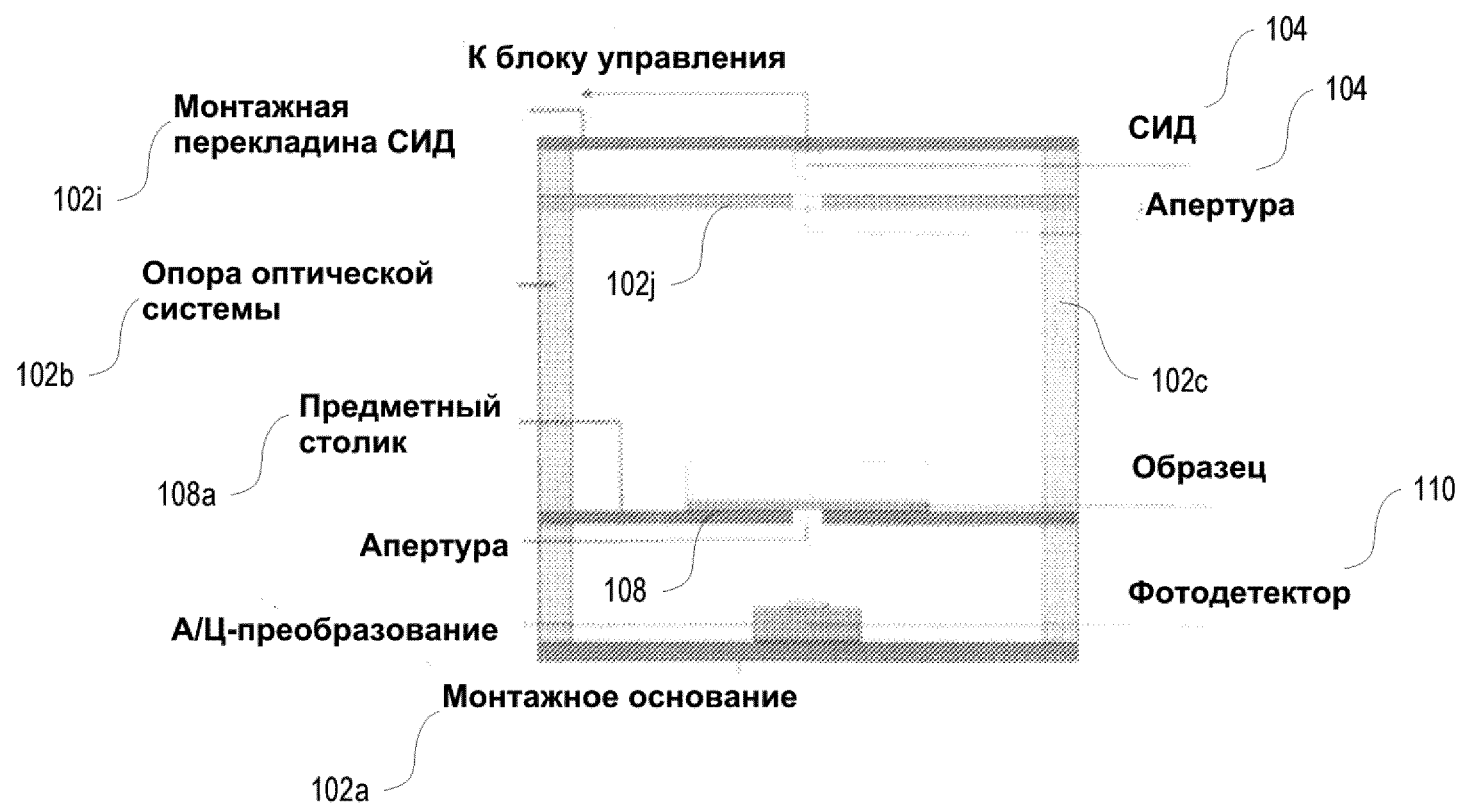
ФИГУРА 1В

100 ↗



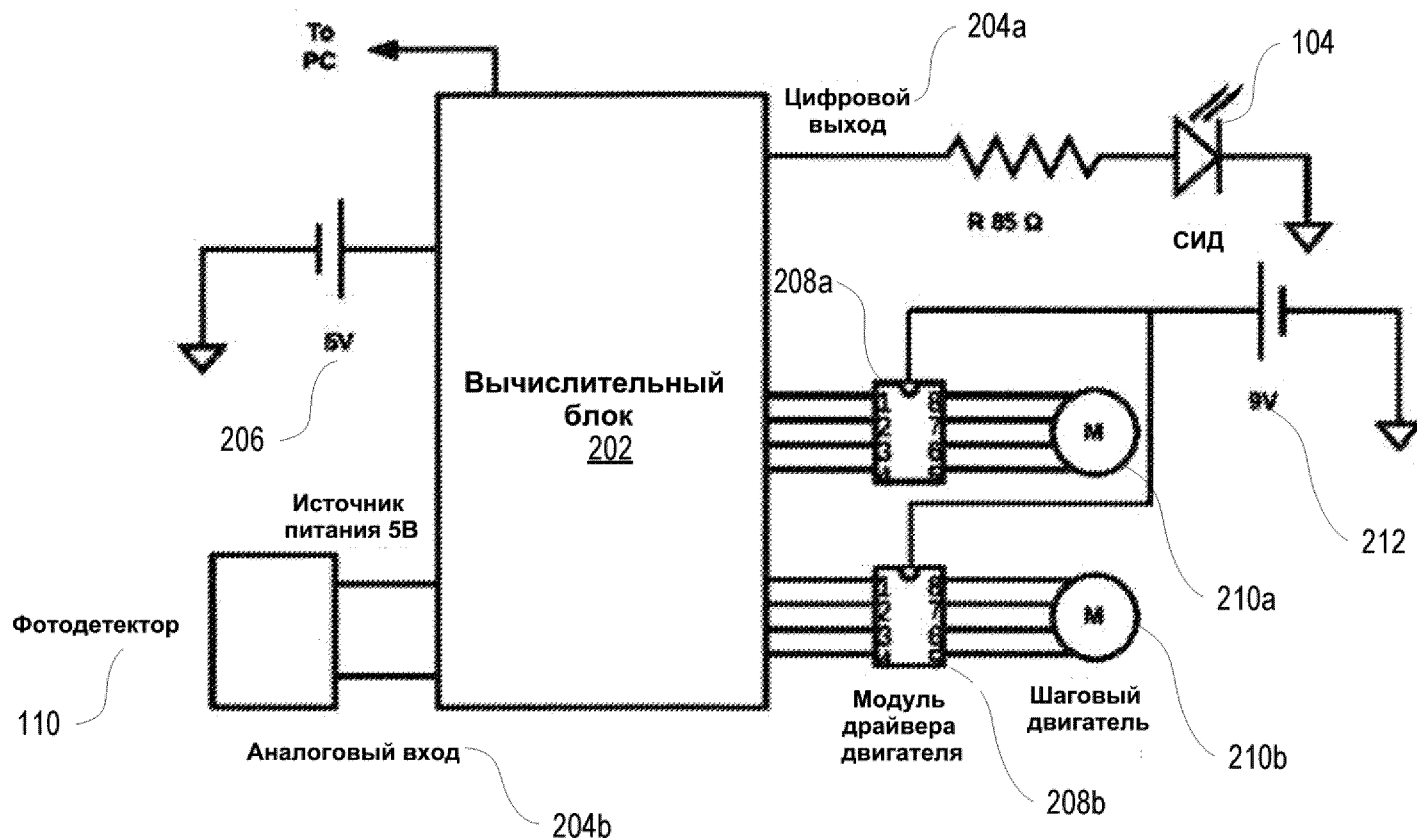
ФИГУРА 1С

100 ↗



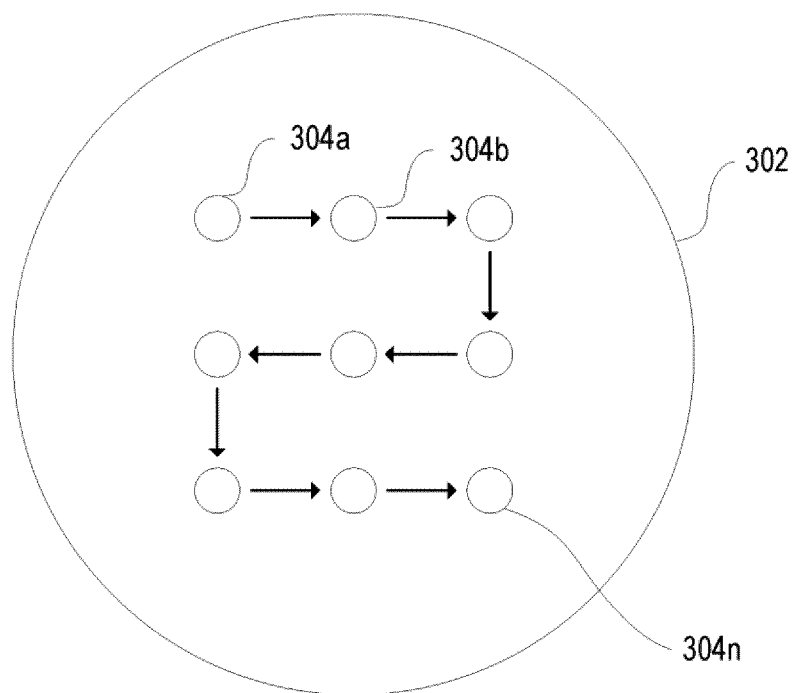
ФИГУРА 1D

200 ↗



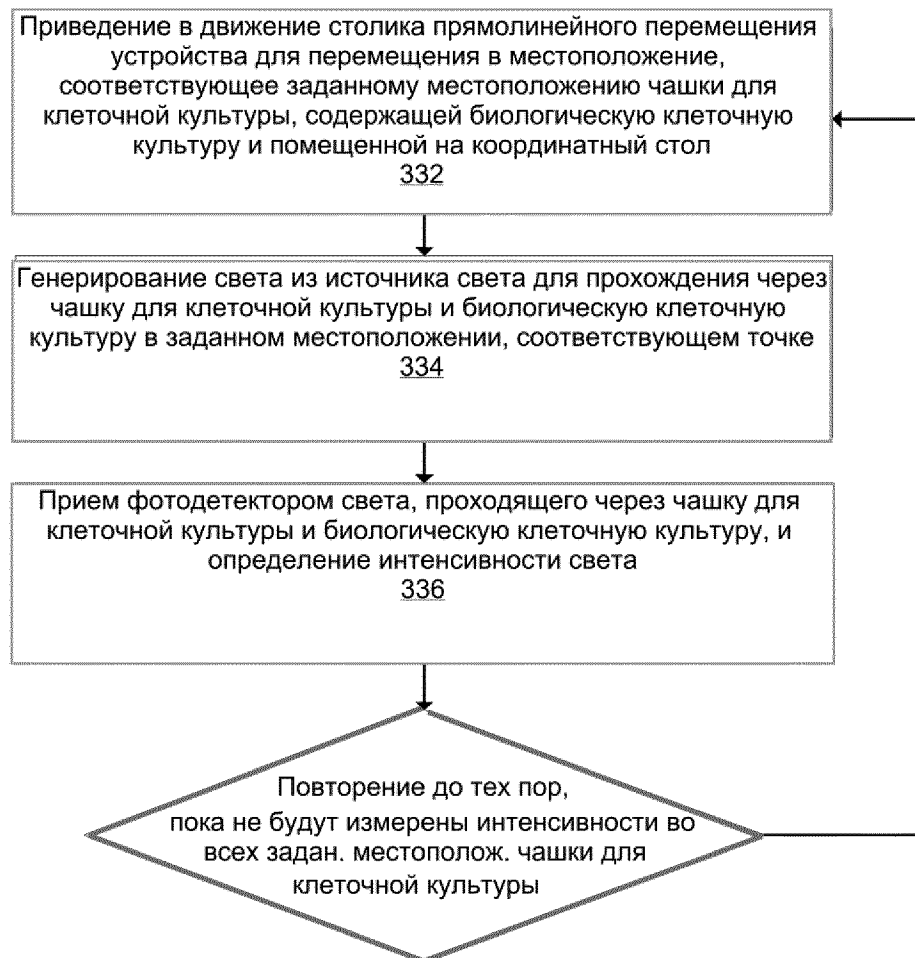
ФИГУРА 2

300 ↗



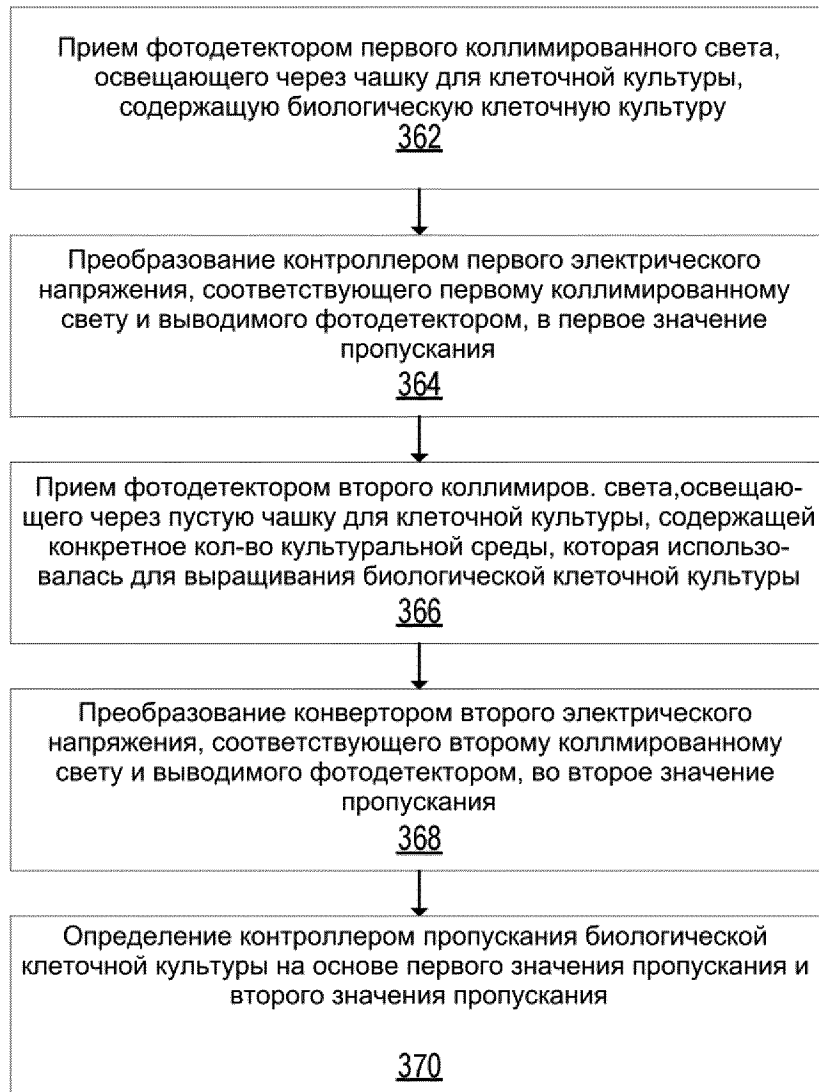
ФИГУРА 3А

330 ↗



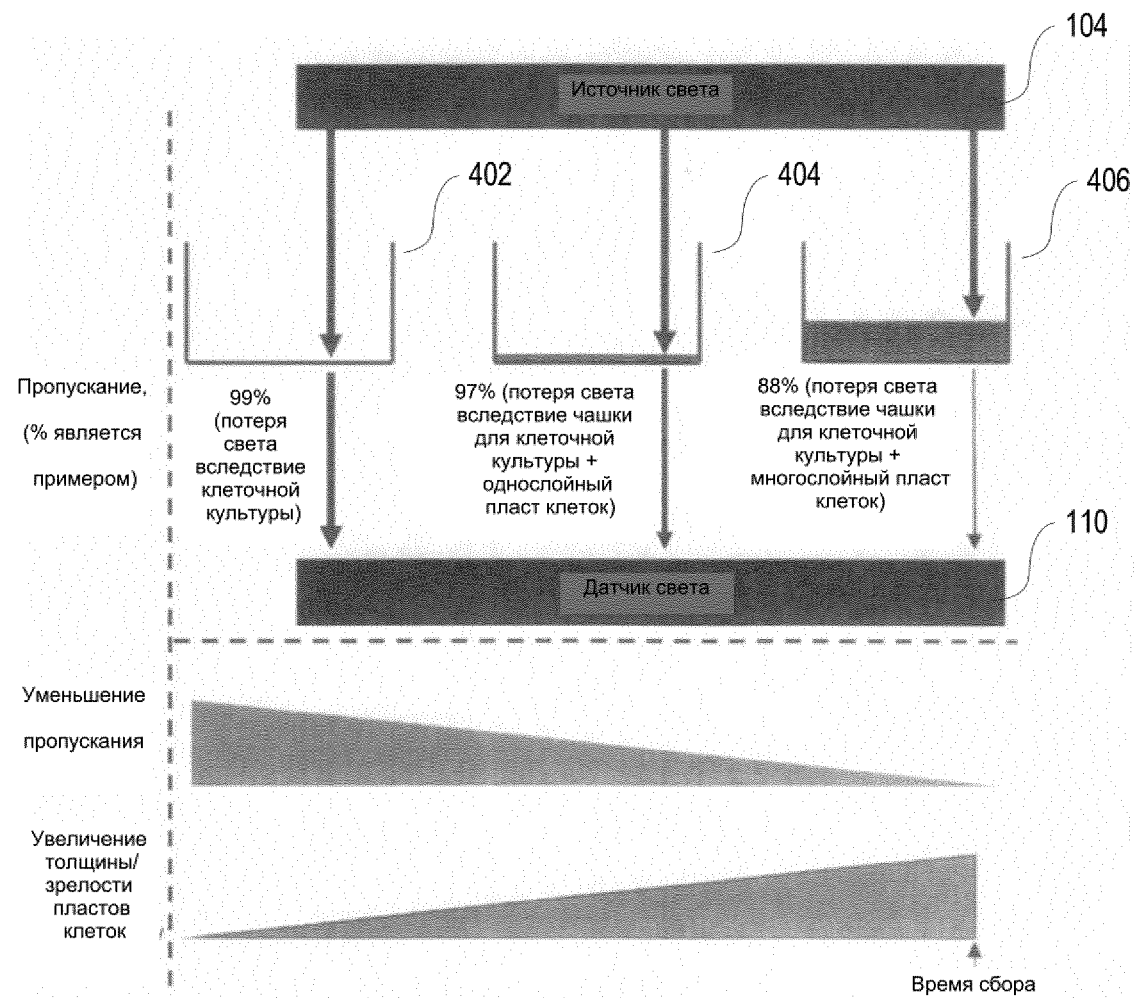
ФИГУРА 3В

360 ↷



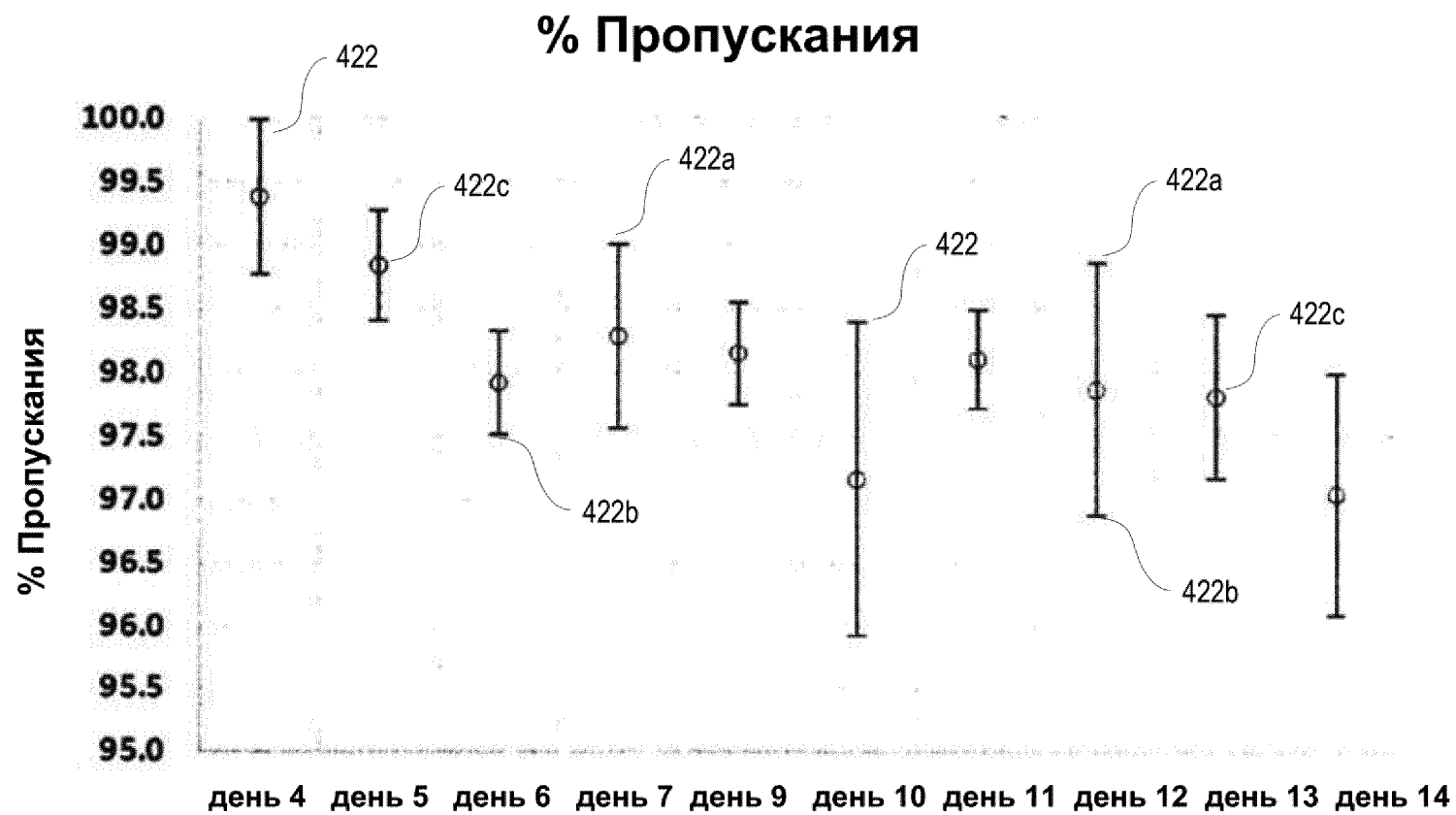
ФИГУРА 3С

400 ↗



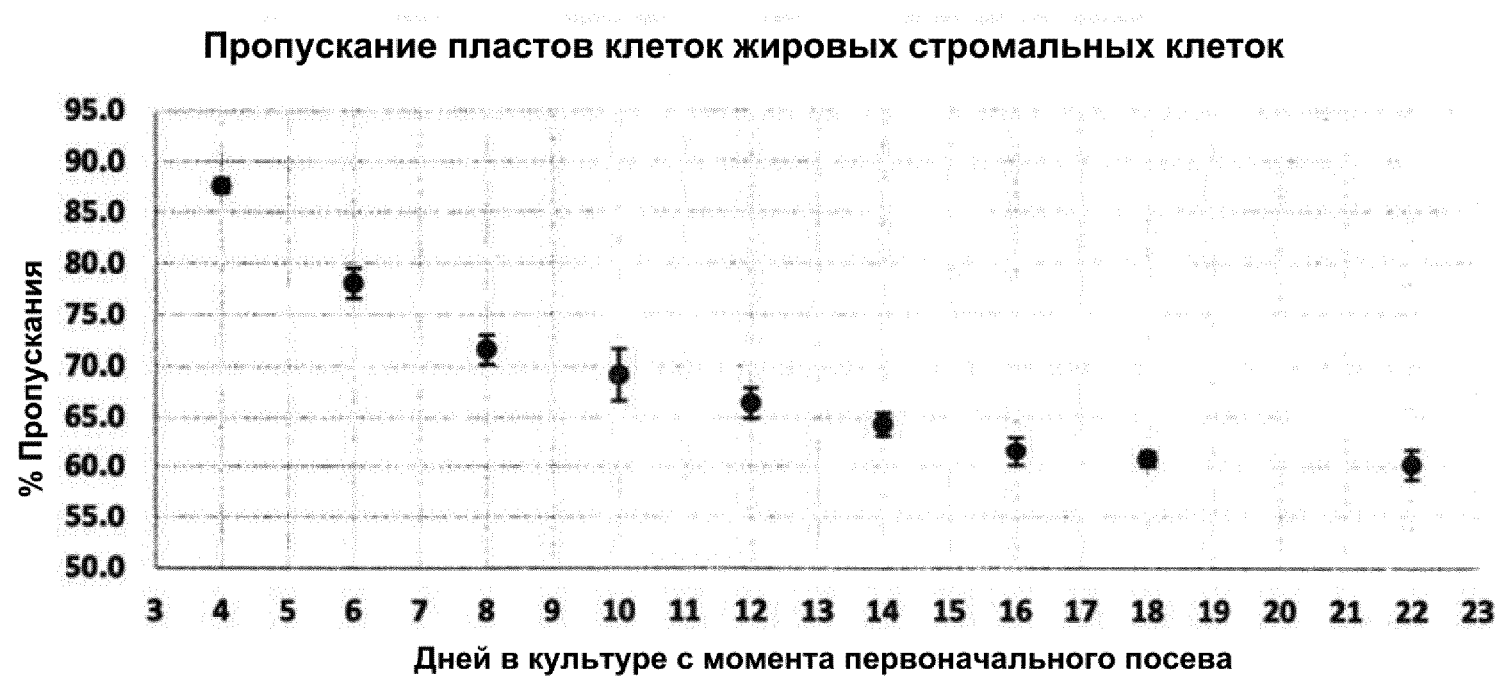
ФИГУРА 4А

420 ↘



ФИГУРА 4В

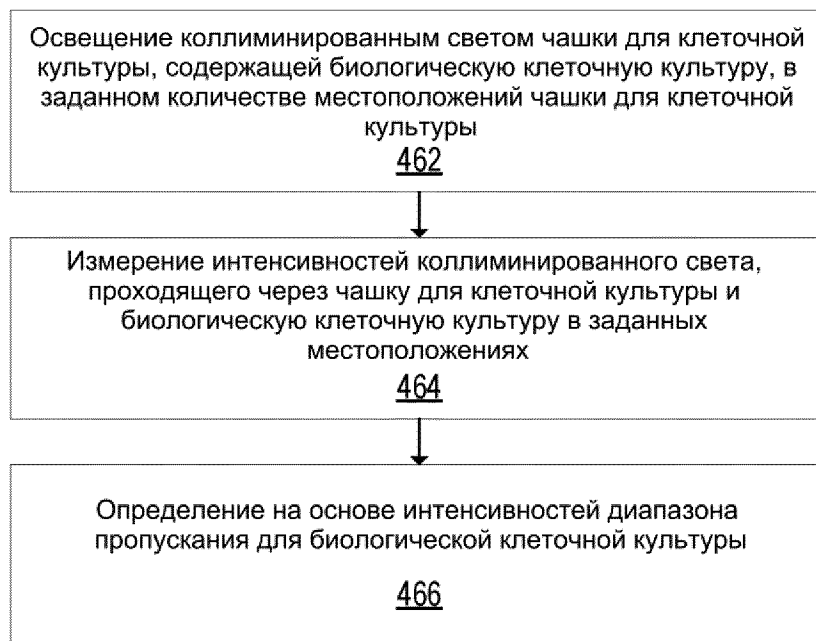
440 ↗



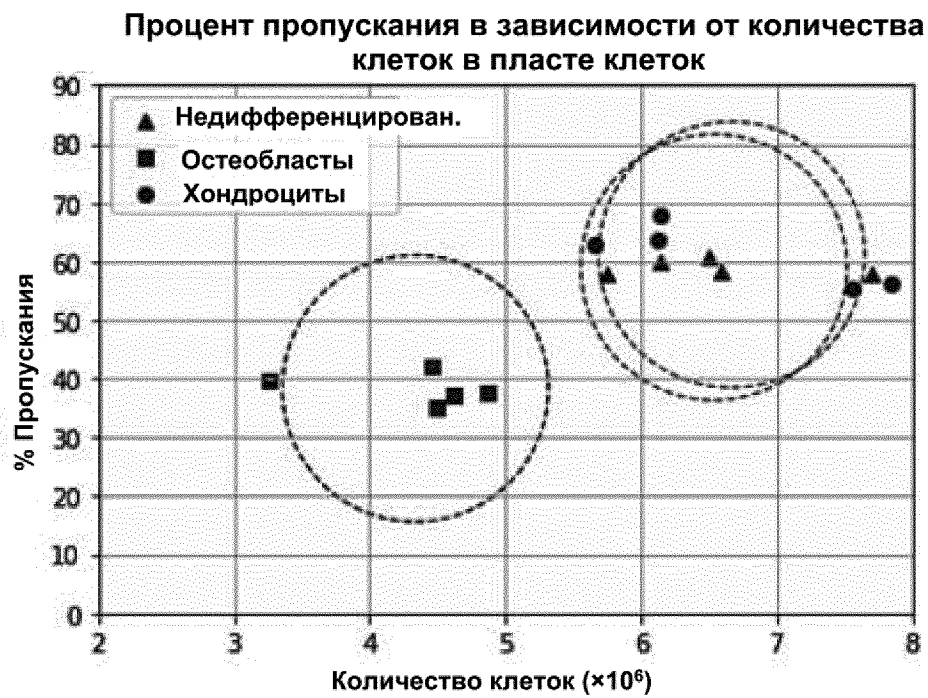
11/13

ФИГУРА 4С

460 ↘

**ФИГУРА 4D**

480 ↘



ФИГУРА 4Е