



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I853843 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：108136340 (22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 10 月 08 日

(51)Int. Cl. : C12M3/06 (2006.01) C12M3/02 (2006.01)
C12M1/34 (2006.01) C12N1/12 (2006.01)
C12N1/14 (2006.01)

(30)優先權：2018/10/10 美國 62/743,974

(71)申請人：美商斯戴姆韋格公司 (美國) STAMM VEGH CORPORATION (US)
美國

(72)發明人：利亞馬薩維格，胡安法蘭西斯科 LLAMAZARES VEGH,JUAN FRANCISCO (AR)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN	1678731A	CN	106552560A
EP	1498475A1	US	2002/0173033A1
US	2006/0091051A	US	2018/0187139A1

審查人員：羅玉山

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：34 共 130 頁

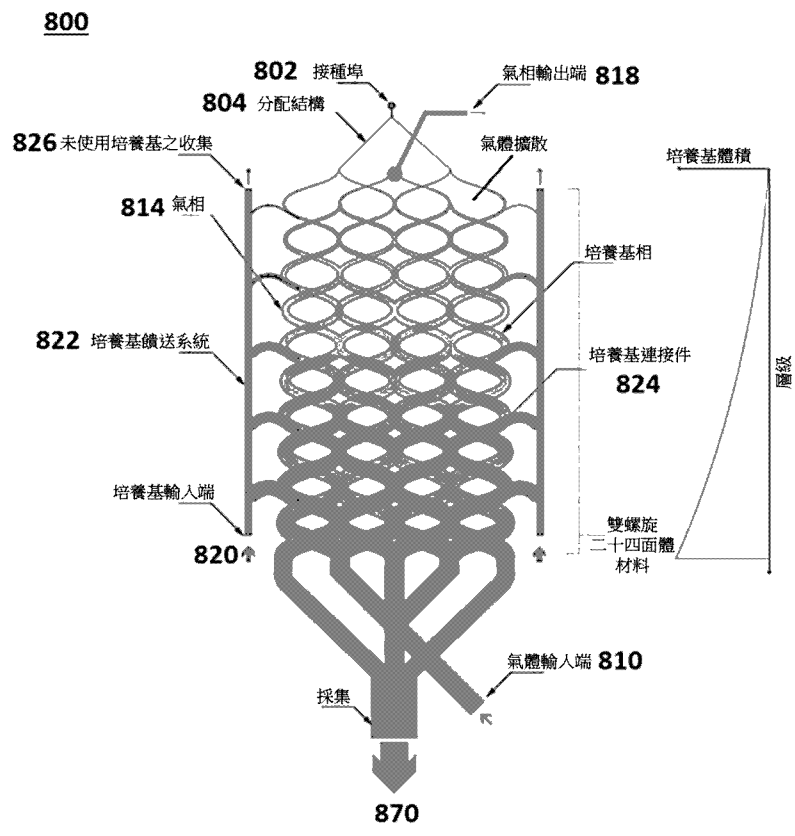
(54)名稱
生物反應器及用於細胞之規模生產之方法

(57)摘要

本發明涵蓋用於生物反應器之組件、系統及方法，該等生物反應器可用於生產及維持細胞、最佳化細胞生長及自此等細胞生產產物及用於生產及隔離細胞及由此等細胞製成之產物。本文中之該等系統、組件及方法解決規模、成本、效率及一致性，且適用於定製細胞及生物產物生產。

The present disclosure contemplates components, systems and methods for bioreactors that may be employed for producing and maintaining cells, optimizing cell growth and production of products from such cells, and for producing and isolating cells and products made by such cells. The systems, components and methods herein address the scale, cost, efficiency and consistency and are suitable for bespoke cell and bioproduct production.

指定代表圖：



【圖5】

- 符號簡單說明：
- 800:生產生物反應器/
生物反應器模組
 - 802:接種埠
 - 804:細胞分配結構
 - 810:氣體輸入端
 - 814:氣相通道
 - 818:氣體輸出端
 - 820:液體培養基輸入端
 - 822:培養基饋送系統
 - 824:培養基連接件
 - 826:收集
 - 870:埠



I853843

【發明摘要】

【中文發明名稱】

生物反應器及用於細胞之規模生產之方法

【英文發明名稱】

BIOREACTOR AND METHOD FOR SCALING PRODUCTION OF CELLS

【中文】

本發明涵蓋用於生物反應器之組件、系統及方法，該等生物反應器可用於生產及維持細胞、最佳化細胞生長及自此等細胞生產產物及用於生產及隔離細胞及由此等細胞製成之產物。本文中之該等系統、組件及方法解決規模、成本、效率及一致性，且適用於定製細胞及生物產物生產。

【英文】

The present disclosure contemplates components, systems and methods for bioreactors that may be employed for producing and maintaining cells, optimizing cell growth and production of products from such cells, and for producing and isolating cells and products made by such cells. The systems, components and methods herein address the scale, cost, efficiency and consistency and are suitable for bespoke cell and bioproduct production.

【指定代表圖】

圖5

【代表圖之符號簡單說明】

800	生產生物反應器/生物反應器模組
802	接種埠

804	細胞分配結構
810	氣體輸入端
814	氣相通道
818	氣體輸出端
820	液體培養基輸入端
822	培養基饋送系統
824	培養基連接件
826	收集
870	埠

【發明說明書】

【中文發明名稱】

生物反應器及用於細胞之規模生產之方法

【英文發明名稱】

BIOREACTOR AND METHOD FOR SCALING PRODUCTION OF CELLS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於用於生產及維持細胞及用於生產及隔離細胞及由此等細胞製成之產物之系統、組件及方法。

【先前技術】

【0002】 包含細胞、蛋白質及小及大化學分子之生物產物之生產在提供醫療、食品、工業及其他類型之產品方面已成為日益關注焦點。產品之一致性及規模生產之能力以及針對不同位置及環境條件定製製造之靈活性係生產之重要因素。

【0003】 生物反應器為大規模生產細胞及自此等細胞生產蛋白質及其他分子提供環境。許多生物反應器需要大量資本投資以及需要大型實體空間。此外，大型生物反應器之環境可與較小規模生長腔室所處之環境不同，且藉此導致次優生長及生產條件。生物反應器之較大規模亦可使得難以在個別細胞層級上研究生長條件。此可導致細胞之群體異質性以及影響由細胞生產之生物產物之品質、純度及產量。

【發明內容】

【0004】 本文中提供用於生產及維持細胞及用於生產及隔離細胞及由此等細胞製成之產物之系統、組件及方法。本文中之該等系統、組件及方法解決規模、成本、效率及一致性。

【0005】 在態樣中，本發明提供一種生物反應器，其包括：入口，其經組態以接納複數個細胞；複數個迷你模組，其等與該入口流體連通，其中該複數個迷你模組之迷你模組包括雙螺旋二十四面體結構或經修改雙螺旋二十四面體結構，其中該複數個迷你模組經流體互連以提供經組態以使該複數個細胞流動之至少一微通道；及出口，其與該複數個迷你模組流體連通，該出口經組態以將該複數個細胞或其等之衍生物引導出該至少一微通道。

【0006】 在一些實施例中，迷你模組係以提供各具有恆定平均曲率之至少兩個非重疊微通道之方式被互連。在一些實施例中，該至少兩個非重疊微通道之第一微通道經組態以使液體培養基流動，且其中該至少兩個非重疊微通道之第二微通道經組態以使氣體組合物流動。在一些實施例中，至少兩個非重疊微通道提供液體。在一些實施例中，至少兩個非重疊微通道係藉由多孔隔膜分離。在一些實施例中，第一微通道之面積相當於第二微通道之面積，且其中該多孔隔膜之面積係第一微通道及第二微通道之該等面積之總和。在一些實施例中，複數個迷你模組經組裝成巨觀結構。在一些實施例中，該巨觀結構係選自由角錐體、中空角錐體、薄片角錐體、薄片、棋盤式配置及圓木組成之群組。在一些實施例中，複數個迷你模組配置於巨觀結構內之層中，且其中該等層經組態使得各層中之液體培養基之速度實質上相同。在一些實施例中，複數個迷你模組配置於巨觀結構內之層中，且其中該等層經組態使得液體培養基之速度在層內改變。在一些實施例中，流動通過至少一微通道之液體培養基具有大於流動通過至少一微通道之細胞之自由下落速度之速度。在一些實施例中，生物反應器進一步包括在巨觀結構之基底處之氣體輸入端及在巨觀結構之頂部處之

氣體輸出端。在一些實施例中，生物反應器進一步包括在巨觀結構之頂部處之經組態以提供複數個細胞之細胞輸入端，及在巨觀結構之基底處之經組態以採集複數個細胞之細胞收集裝置。在一些實施例中，生物反應器進一步包括經組態以使液體培養基流動至複數個迷你模組之各層中之液體培養基輸入裝置。在一些實施例中，藉由該液體培養基裝置提供至各層之液體培養基之體積在各層中維持實質上恆定細胞密度。在一些實施例中，通過各迷你模組之液體培養基之速度係藉由細胞分裂速率確定，使得細胞穿過單個迷你模組或迷你模組層之時間係實質上與細胞分裂速率相同或與細胞分裂速率成比例。在一些實施例中，生物反應器係與沙箱模組互連。在一些實施例中，生物反應器係與細胞晶片模組互連。

【0007】 在另一態樣中，本發明提供用於細胞生產之系統，其包括：第一模組，其包括經組態以容納複數個細胞之細胞晶片；第二模組，其與該第一模組流體連通，其中該第二模組包括沙箱生物反應器，該沙箱生物反應器經組態以(i)與該細胞晶片介接，(ii)將來自該複數個細胞之細胞子組引導至不同片段，其中該等不同片段中之細胞生長條件可個別組態，及(iii)反覆產生用於該複數個細胞之一組生長條件；及第三模組，其與該第一模組及該第二模組流體連通，其中該第三模組包括生物反應器，該生物反應器經組態以(i)與該第二模組介接，(ii)接納該細胞子組，及(iii)在該組生長條件下產生該細胞子組之複製。

【0008】 在一些實施例中，第一模組、第二模組及第三模組經流體互連。在一些實施例中，系統進一步包括對應於各模組之泵，其中該泵經組態以依用於對應模組之流速或壓力提供液體培養基。在一些實施例中，泵係注射泵、蠕動泵或壓力泵。在一些實施例中，系統進一步包括選自由

培養基配製器、電穿孔儀、貯器、泵、氣泡感測器、氣泡捕獲器及其等之組合組成之群組之組件。在一些實施例中，系統進一步包括至少一感測器。在一些實施例中，該至少一感測器係線上感測器。在一些實施例中，至少一感測器量測生物參數、物理參數或化學參數。在一些實施例中，該生物參數係選自由細胞分裂速率、細胞生長速率、細胞壓力反應(cell stress response)、細胞蛋白質含量、細胞碳水化合物含量、細胞脂質含量及細胞核酸含量組成之群組。在一些實施例中，該物理參數係選自由細胞大小、細胞密度、細胞流速、液體培養基流速、混合速率、濁度、溫度及壓力組成之群組。在一些實施例中，該化學參數係選自由pH、液體培養基組合物、個別液體培養基組分之濃度、氣體組合物及氣體濃度以及溶解氣體濃度組成之群組。在一些實施例中，系統進一步包括相機裝置。在一些實施例中，該相機裝置經組態以對來自沙箱生物反應器或生物反應器之輸出端之細胞計數。在一些實施例中，該相機裝置經組態以擷取與來自至少一生物反應器模組之該輸出端之個別細胞相關聯之至少一額外參數，且其中該額外參數係細胞之生物、化學或物理特徵。

【0009】 在另一態樣中，本發明提供一種細胞晶片模組，其包括：分層結構，其包括至少一流體迴路；細胞保持區域，其與該至少一流體迴路流體連通，其中該細胞保持區域包括經組態以保持複數個細胞之至少一第一捕獲器；入口埠，其與該分層結構流體連通且經組態以將液體培養基輸入至該細胞保持區域中；及出口埠，其與該分層結構流體連通且經組態以收集用過或多餘的培養基及細胞。

【0010】 在一些實施例中，至少一流體迴路經組態以使氣體流動至細胞保持區域。在一些實施例中，至少一流體迴路經組態以使液體培養基

流動至細胞保持區域。在一些實施例中，至少一捕獲器包括抽吸捕獲器。在一些實施例中，至少一捕獲器包括閘捕獲器。在一些實施例中，細胞保持區域進一步包括第二捕獲器。在一些實施例中，該第二捕獲器係溢出捕獲器。在一些實施例中，至少一捕獲器及第二捕獲器係彼此串聯。在一些實施例中，細胞保持區域包括至少一閘捕獲器及兩個或兩個以上溢出捕獲器。在一些實施例中，細胞晶片模組進一步包括儲存模式中之一或多個細胞。在一些實施例中，該儲存模式係選自經乾燥、凍乾、冷凍或懸浮於液體中之細胞。在一些實施例中，細胞晶片模組進一步包括用於分配流動通過細胞晶片模組之細胞之一或多個物理障壁。

【0011】 在另一態樣中，本發明提供一種包括一系列片段之沙箱生物反應器模組，其中該系列片段之一片段包括至少兩個微通道，該至少兩個微通道經組態以將至少一細胞自該至少兩個微通道之一微通道之一端輸送至該至少兩個微通道之該微通道之另一端，其中該微通道之一端經組態以輸入液體培養基及該至少一細胞，其中該微通道之另一端經組態以輸出該液體培養基及該至少一細胞，且其中該系列片段中之生長條件可個別組態。

【0012】 在一些實施例中，該系列片段之第一片段及第二片段係串聯配置，使得細胞自該第一片段之微通道轉運至該第二片段之微通道。在一些實施例中，第一片段之微通道在輸出端處分叉成來自第二片段之至少兩個微通道，其中該至少兩個微通道係配置成並聯組態，使得來自第一片段之細胞輸出輸入至該至少兩個微通道之一者中且來自第一片段之另一細胞輸出輸入至該至少兩個微通道之另一者中。在一些實施例中，沙箱生物反應器進一步包括經組態以將液體培養基提供至該系列片段之第一入口。

在一些實施例中，微通道之長度係藉由細胞分裂速率確定，使得細胞在自微通道之一端轉運至微通道之另一端期間分裂零次、一次、兩次、三次、四次、五次或五次以上。在一些實施例中，微通道之直徑係藉由細胞大小、轉運液體之混合速率或其等之組合來確定。在一些實施例中，沙箱生物反應器進一步包括用於量測沙箱生物反應器細胞環境之參數之至少一感測器。在一些實施例中，沙箱生物反應器進一步包括經組態以回應於來自該至少一感測器之該量測改變至沙箱生物反應器之輸入之控制器。在一些實施例中，該參數係選自由生物參數、物理參數及化學參數組成之群組。在一些實施例中，該參數係選自由氣體含量、氣體濃度、pH、光學密度及溫度組成之群組。在一些實施例中，該參數係選自由細胞分裂速率、細胞密度、細胞壓力反應或細胞代謝物組成之群組。在一些實施例中，沙箱生物反應器進一步包括在片段系列中之最後片段之微通道之出口處之樣本收集腔室。在一些實施例中，沙箱生物反應器係與細胞晶片模組互連。

【0013】 在另一態樣中，本發明提供一種使細胞生長及儲存細胞之方法，其包括：用至少一細胞接種細胞晶片模組，其中該細胞晶片模組包括具有至少一流體迴路之分層結構、與該至少一流體迴路流體連通之細胞保持區域、與該分層結構流體連通之入口埠及與該分層結構流體連通之出口埠；將液體培養基提供至該入口，使得該至少一細胞保持於該細胞保持區域之第一捕獲器中；在足以允許細胞分裂之條件下培育該細胞晶片達一時間段，使得經分裂細胞保持於該第一捕獲器中；在細胞分裂之該時間段之後，將該等細胞放置於儲存模式中。

【0014】 在一些實施例中，儲存模式係選自由乾燥、凍乾、冷凍或懸浮於液體中組成之群組。在一些實施例中，方法進一步包括提供新液體

培養基至入口及在允許細胞分裂之條件下培育細胞晶片達一時間段以使細胞分裂再活化。在一些實施例中，細胞分裂時間段產生足夠細胞，使得大量細胞離開第一捕獲器且進入細胞晶片模組中之第二捕獲器。在一些實施例中，進一步培育細胞達細胞分裂之第二時間段，且其中該第二時間段產生足夠數目之細胞，使得大量細胞離開第二捕獲器且自細胞晶片模組流動至出口以供收集。在一些實施例中，來自細胞晶片模組之出口之細胞係提供至經互連沙箱或生物反應器模組。在一些實施例中，第二捕獲器係抽吸捕獲器或溢出捕獲器。在一些實施例中，第一捕獲器係閘捕獲器或抽吸捕獲器。

【0015】 在另一態樣中，本發明提供用於選擇細胞生長條件之方法，其包括：將第一群組細胞引入至包括一系列片段之沙箱生物反應器中，其中該系列片段之一片段可個別組態；在該系列片段之第一片段中之第一組生長條件下培育該第一群組細胞；監測該第一片段中之該第一群組細胞之第一參數；及回應於該第一片段中之該第一參數之該監測而改變該組生長條件以在該系列片段之第二片段中產生第二組生長條件。

【0016】 在一些實施例中，第一群組細胞移動至第二片段，且其中將第二群組細胞引入至第一片段中。在一些實施例中，將第一群組細胞自細胞晶片模組引入至沙箱生物反應器。在一些實施例中，沙箱反應器係與生物反應器模組互連。在一些實施例中，將第二組生長條件應用於該生物反應器。在一些實施例中，藉由細胞分裂速率確定細胞自各片段之一端至另一端之流速。在一些實施例中，細胞在其自該片段之一端轉運至該片段之另一端之時間段中分裂一次。在一些實施例中，通過片段系列之各片段之液體培養基流係層流。

【0017】 在另一態樣中，本發明提供用於細胞之規模生產之方法，其包括：將複數個細胞引入至生物反應器之入口中，其中該生物反應器包括雙螺旋二十四面體結構或經修改雙螺旋二十四面體結構之迷你模組集合，其中該等迷你模組係配置於包括入口及出口之巨觀結構內之層中；使液體培養基流動至該生物反應器中；將氣體組合物供應至該生物反應器中；及自該出口收集該複數個細胞；其中該複數個細胞在該等迷你模組之間轉運，且其中該複數個細胞自該巨觀結構之該入口端轉運至該巨觀結構之該出口端。

【0018】 在一些實施例中，複數個細胞在自迷你模組之一層轉運至迷你模組之下一層期間平均分裂一次。在一些實施例中，流動至迷你模組之各層之液體培養基之量在各層中維持實質上相同細胞密度。在一些實施例中，流動通過生物反應器之液體培養基之速度超過細胞之自由下落速度。在一些實施例中，將複數個細胞自細胞晶片或沙箱模組引入至生物反應器。在一些實施例中，自巨觀結構之出口端收集複數個細胞之部分。在一些實施例中，複數個細胞生產至少一生物產物，且其中自巨觀結構之出口端收集該生物產物。在一些實施例中，該生物產物係選自由小分子、蛋白質、抗體、大的巨分子及代謝物組成之群組。

【0019】 在另一態樣中，本發明提供用於定製細胞生產之方法，其包括：將選定類型之細胞引入至細胞晶片模組中；使該等細胞在該細胞晶片模組中生長；將該等細胞自該細胞晶片模組轉運至沙箱生物反應器；及自該沙箱生物反應器中之第一組生長條件選擇至少一生長條件以產生第二組生長條件。

【0020】 在另一態樣中，本發明提供用於培養細胞之方法，其包

括：將複數個細胞提供至包括至少一通道及微多孔隔膜之黏附生物反應器；允許該複數個細胞之至少部分黏附至該至少一通道之表面，使得該複數個細胞之該至少部分在該至少一通道之該表面上複製以產生經附著細胞；使液體培養基自該至少一通道流動通過該微多孔隔膜以(i)洗滌該等經附著細胞，(ii)使該等經附著細胞脫離以產生懸浮細胞，(iii)洗滌該等懸浮細胞；及視需要收集該等懸浮細胞。

【0021】 在一些實施例中，至少一通道包括適用於複數個細胞之至少部分之黏附之材料。在一些實施例中，方法進一步包括使額外液體培養基流動通過至少一通道以(i)提供培養基以允許複數個細胞之至少部分之生長及/或複製，(ii)使經附著細胞自至少一通道脫離，或(iii)使懸浮細胞自至少一通道流動至收集區域。在一些實施例中，黏附生物反應器係與細胞晶片模組流體連通，且其中該細胞晶片模組提供複數個細胞至黏附生物反應器。在一些實施例中，黏附生物反應器係與生物反應器流體連通，且其中黏附生物反應器提供懸浮細胞至該生物反應器。在一些實施例中，複數個細胞係選自由細菌細胞、真菌細胞、酵母細胞、真核細胞、植物細胞及藻類細胞組成之群組。在一些實施例中，複數個細胞係重組細胞。

【0022】 在一些實施例中，方法進一步包括使選定類型之細胞之樣本在具有第二組生長條件之生物反應器中生長。在一些實施例中，自該生物反應器收集選定類型之細胞或其部分。在一些實施例中，選定類型之細胞係嵌合抗原受體T (CAR-T)細胞、幹細胞或分化細胞。在一些實施例中，選定類型之細胞生產至少一生物產物，且其中自該生物反應器收集該生物產物。

【0023】 在另一態樣中，本發明提供一種包括具有實質上恆定橫截

面之複數個流體流動路徑之系統，其中該複數個流體流動路徑之第一流體流動路徑係與該複數個流體流動路徑之第二流體流動路徑流體連通以允許氣體沿著該第一流體流動路徑以實質上恆定速率自該第一流體流動路徑流動至該第二流體流動路徑，且其中該第一流體流動路徑經組態以允許細胞培養。

【0024】 在一些實施例中，複數個流體流動路徑包括螺旋二十四面體結構、雙螺旋二十四面體結構、經修改雙螺旋二十四面體結構、三重週期性最小表面或其等之組合。

【0025】 在另一態樣中，本發明提供用於處理複數個細胞之方法，其包括：**(a)**提供生物反應器，該生物反應器包括：**(i)**入口；**(ii)**與該入口流體連通之複數個迷你模組，其中該複數個迷你模組之迷你模組包括雙螺旋二十四面體結構或經修改雙螺旋二十四面體結構，其中該複數個迷你模組經流體互連以提供至少一微通道；及**(iii)**與該複數個迷你模組流體連通之出口；及**(b)**將複數個細胞引導至該入口，該複數個細胞或其等之衍生物係自該入口通過該至少一微通道被引導至該出口。

【0026】 在一些實施例中，生物反應器包括至少兩個微通道。在一些實施例中，該至少兩個微通道之第一微通道使液體培養基流動。在一些實施例中，該至少兩個微通道之第二微通道使氣體組合物流動。在一些實施例中，該至少兩個微通道係藉由多孔隔膜分離。在一些實施例中，複數個迷你模組經組裝成巨觀結構。

【0027】 在另一態樣中，本發明提供包括產生生物反應器之方法，該生物反應器包括：入口，其經組態以接納複數個細胞；複數個迷你模組，其等與該入口流體連通，其中該複數個迷你模組之迷你模組包括雙螺

旋二十四面體結構或經修改雙螺旋二十四面體結構，其中該複數個迷你模組經流體互連以提供經組態以使該複數個細胞流動之至少一微通道；及出口，其與該複數個迷你模組流體連通，該出口經組態以將該複數個細胞或其等之衍生物引導出該至少一微通道。

【0028】 在一些實施例中，生物反應器係使用三維(3-D)列印複數個迷你模組而產生。

【0029】 在一些實施例中，提供一種用於細胞生產之系統，其包括：第一模組，其包括經組態以容納複數個細胞之細胞晶片；第二模組，其包括沙箱生物反應器，該沙箱生物反應器經組態以(i)與該細胞晶片介接，(ii)將來自該複數個細胞之細胞引導至不同片段，其中該等不同片段中之細胞生長條件可個別組態，及(iii)反覆產生用於該複數個細胞之一組生長條件；及第三模組，其包括生產生物反應器，該生產生物反應器經組態以(i)與該第二模組介接，(ii)接納該等細胞，及(iii)在該組生長條件下產生該等細胞之複製。

【0030】 在一些實施例中，系統之第一模組、第二模組及第三模組在功能上互連。在一些實施例中，系統進一步包括對應於各模組之泵，其中該泵以用於對應模組之流速或壓力提供液體培養基。在一些實施例中，泵係注射泵、蠕動泵或壓力泵。

【0031】 本文中亦提供進一步包括選自由培養基配製器、電穿孔儀、貯器、泵、氣泡感測器、氣泡捕獲器及其等之組合組成之群組之組件之此等系統。在一些實施例中，系統亦包含至少一感測器，諸如線上感測器。在一些實施例中，至少一感測器量測生物參數、物理參數或化學參數，例如，該生物參數、該物理參數或該化學參數可包含：選自由細胞分

裂速率、細胞生長速率、細胞壓力反應、細胞蛋白質含量、細胞碳水化合物含量、細胞脂質含量及細胞核酸含量組成之群組之生物參數；選自由細胞大小、細胞密度、細胞流速、液體培養基流速、混合速率、濁度、溫度及壓力組成之群組之物理參數；選自由pH、液體培養基組合物、個別液體培養基組分之濃度、氣體組合物及氣體濃度以及溶解氣體濃度組成之群組之化學參數；及其等之組合。

【0032】 本文中提供進一步包括相機裝置之此等系統。在一些實施例中，該相機裝置對來自沙箱生物反應器或生產生物反應器之輸出端之細胞計數。在一些實施例中，該相機裝置擷取與來自至少一生物反應器模組之該輸出端之個別細胞相關聯之至少一額外參數，其中該額外參數係細胞之生物、化學或物理特徵。

【0033】 又本文在一些實施例中提供一種細胞晶片模組，其包括：細胞保持區域，其包括用於保持細胞之至少一第一捕獲器及視需要用於保持細胞之至少一第二捕獲器；入口埠，其經組態以將液體培養基輸入至該細胞保持區域中；及出口埠，其經組態以收集用過或多餘的培養基及細胞。在一些實施例中，該第一捕獲器可為抽吸捕獲器、閘捕獲器、溢出捕獲器或其等之組合。在一些實施例中，第一捕獲器及第二捕獲器係彼此串聯。在一些實施例中，細胞晶片模組包含至少一閘捕獲器及兩個或兩個以上溢出捕獲器。在一些實施例中，細胞晶片模組可包含用於分配流動通過模組之細胞之一或多個物理障壁。

【0034】 在一些實施例中，細胞晶片模組進一步包括儲存模式中的一或多個細胞，例如，該一或多個細胞可為經乾燥、凍乾、冷凍或懸浮於液體中之細胞。

【0035】 本文在一些實施例中提供一種包括一系列片段之沙箱生物反應器模組，其中該系列片段之一片段包括至少一微通道，該至少一微通道經組態以將細胞自該微通道之一端輸送至該微通道之另一端，且其中該微通道之一端經組態以輸入液體培養基及至少一細胞，且其中該微通道之另一端經組態以輸出該液體培養基及至少一細胞。

【0036】 在沙箱生物反應器之一些實施例中，第一片段及第二片段係串聯配置，使得細胞自該第一片段之微通道之一者轉運至該第二片段之微通道之一者。在一些實施例中，第一片段之微通道在輸出端處分叉成來自第二片段之至少兩個微通道，其中該兩個微通道係配置成並聯組態，使得來自第一片段之細胞輸出輸入至該至少兩個微通道之一者中且來自第一片段之另一細胞輸出輸入至該至少兩個微通道之另一者中。

【0037】 在一些實施例中，沙箱生物反應器進一步包含適用於將液體培養基提供至片段之第一入口。在一些實施例中，沙箱生物反應器之各微通道之長度係藉由細胞分裂速率確定，使得細胞在其自該微通道之一端轉運至該微通道之另一端期間分裂零次、一次、兩次、三次、四次、五次或五次以上。在一些實施例中，各微通道之直徑係藉由細胞大小、轉運液體之混合速率或其等之組合來確定。

【0038】 在一些實施例中，沙箱生物反應器包含用於量測生物反應器細胞環境之參數之至少一感測器，及視需要用於回應於來自該至少一感測器之該量測改變至生物反應器之輸入之控制器。在一些實施例中，該感測器量測參數，諸如生物參數、物理參數及/或化學參數，諸如氣體含量、氣體濃度、pH、光學密度、溫度、細胞分裂速率、細胞密度、細胞壓力反應、細胞代謝物或其等之組合。

【0039】 在一些實施例中，沙箱生物反應器包含在片段系列中之最後片段之微通道之出口處之樣本收集腔室。在一些實施例中，沙箱生物反應器係與細胞晶片模組(諸如本文中所描述之細胞晶片模組之任一者)互連。

【0040】 本文在一些實施例中提供一種生產生物反應器，其包括複數個迷你模組，其中該複數個迷你模組之各者包括雙螺旋二十四面體形狀或結構，且其中該複數個迷你模組經互連以提供微通道。在一些實施例中，該等迷你模組之該互連產生各具有恆定平均曲率之兩個非重疊通道。在一些實施例中，該生產生物反應器之一個微通道提供液體培養基且其中第二微通道提供氣體組合物。在一些實施例中，兩個微通道皆提供液體。在一些實施例中，微通道係藉由多孔隔膜分離。在一些實施例中，第一微通道之面積相當於第二微通道之面積，且其中該隔膜之面積係第一微通道及第二微通道之面積之總和。

【0041】 在一些實施例中，生產生物反應器可包含組裝成巨觀結構之迷你模組，例如，該巨觀結構可為角錐體、中空角錐體、薄片角錐體、薄片、棋盤式配置或圓木。在一些實施例中，該等迷你模組配置於巨觀結構內之層級中，且其中各層級中之液體培養基之速度實質上相同。在一些實施例中，液體培養基之速度在層級內改變。在一些實施例中，流動通過微通道之液體培養基具有大於流動通過該微通道之細胞之自由下落速度之速度。

【0042】 在一些實施例中，生產生物反應器包含在巨觀結構之基底處之氣體輸入端及在巨觀結構之頂部處之氣體輸出端。在一些實施例中，具有在巨觀結構之頂部處之細胞輸入端，及在巨觀結構之基底處之細胞收

集裝置。

【0043】 在一些實施例中，生產生物反應器包含液體培養基輸入裝置，其中液體培養基流動至迷你模組之各層級中。在一些實施例中，藉由該液體培養基裝置提供至各層級之液體培養基之體積在各層級中維持實質上恆定細胞密度。在一些實施例中，通過各迷你模組之液體培養基之速度係藉由細胞分裂速率確定，使得細胞穿過單個迷你模組或迷你模組層級之時間係實質上與細胞分裂速率相同或與細胞分裂速率成比例。

【0044】 在一些實施例中，生產生物反應器係與沙箱模組、細胞晶片模組互連，或互連至包含細胞晶片模組及沙箱模組兩者之系統。本文在一些實施例中提供一種包括具有實質上恆定橫截面之複數個流體流動路徑之系統，其中該複數個流體流動路徑之第一流體流動路徑係與該複數個流體流動路徑之第二流體流動路徑流體連通以允許氣體沿著該第一流體流動路徑以實質上恆定速率自該第一流體流動路徑流動至該第二流體流動路徑。在一些實施例中，複數個流體流動路徑包括螺旋二十四面體形狀或結構、經修改螺旋二十四面體形狀或結構、三重週期性最小表面或其等之組合。

【0045】 本文中亦提供使細胞生長及儲存細胞之方法，其包括：用至少一細胞接種細胞晶片模組；將液體培養基提供至該細胞晶片之液體入口，使得該至少一細胞保持於第一捕獲器中；在允許細胞分裂之條件下培育該細胞晶片達一時間段，使得經分裂細胞保持於該第一捕獲器中；及在細胞分裂之該時間段之後，將該等細胞放置於儲存模式中。在一些實施例中，該儲存模式係選自由乾燥、凍乾、冷凍或懸浮於液體中組成之群組。在一些實施例中，方法進一步包含提供新液體培養基至細胞晶片之液體入

口及在允許細胞分裂之條件下培育細胞晶片達一時間段以使細胞分裂再活化。在一些實施例中，細胞分裂時間段產生足夠細胞，使得大量細胞離開第一捕獲器且進入細胞晶片模組中之第二捕獲器。在一些實施例中，進一步培育細胞達細胞分裂之第二時間段，且其中細胞分裂之該第二時間段產生足夠細胞，使得大量細胞離開第二捕獲器且自細胞晶片流動至出口以供收集。在一些實施例中，來自細胞晶片之出口之細胞係提供至經互連沙箱或生產生物反應器模組。在方法之一些實施例中，第二捕獲器係抽吸捕獲器或溢出捕獲器。在一些實施例中，第一捕獲器係閘捕獲器或抽吸捕獲器。

【0046】 本文中提供最佳化細胞環境之方法，其包括：將第一群組細胞引入至包括一系列片段之沙箱生物反應器中；在第一片段中之第一環境下培育該第一群組；監測該第一片段中之該等細胞之第一參數；及回應於該第一參數之該監測而改變該第一環境以產生第二環境。在方法之一些實施例中，該第一群組細胞移動至第二片段且其中將第二群組細胞引入至第一片段中。在一些實施例中，將細胞自細胞晶片模組引入至沙箱生物反應器。在一些實施例中，沙箱反應器係與生產生物反應器模組互連。在方法之一些實施例中，將第二環境應用於該生產生物反應器。

【0047】 在方法之一些實施例中，藉由細胞分裂速率確定細胞自各片段之一端至另一端之流速。在一些實施例中，細胞在其自該片段之一端轉運至該片段之另一端之時間段中分裂一次。在一些實施例中，液體培養基通過各片段之流動係層流。

【0048】 本文中亦提供用於細胞之規模生產之方法，其包括：將細胞引入至生產生物反應器中，其中該生產生物反應器包括雙螺旋二十四面

體形狀或結構之迷你模組集合，其中該等迷你模組係配置於巨觀結構內之層級中；使液體培養基流動至該生產生物反應器中；及將氣體組合物供應至該生產生物反應器中；其中該等細胞在該等迷你模組之間轉運；且其中該等細胞自該巨觀結構之入口端轉運至該巨觀結構之出口端。在方法之一些實施例中，細胞在自迷你模組之一個層級轉運至迷你模組之下一層級期間平均分裂一次。在一些實施例中，流動至迷你模組之各層級之液體培養基之量在各層級中維持實質上相同細胞密度。在一些實施例中，流動通過生產反應器之液體培養基之速度超過細胞之自由下落速度。

【0049】 在本文中之方法之一些實施例中，將細胞自細胞晶片或沙箱模組引入至生物反應器。在一些實施例中，自巨觀結構之輸出端收集細胞之部分。在一些實施例中，細胞生產至少一生物產物，且其中自巨觀結構之出口端收集該生物產物，舉例而言，諸如由細胞生產之小分子、蛋白質、抗體、大的巨分子、代謝物或其等之組合。

【0050】 本文中提供用於定製細胞生產之方法，其包括：將選定類型之細胞引入至細胞晶片中；使該等細胞在該細胞晶片中生長；將該等細胞自該細胞晶片模組轉運至沙箱生物反應器；及最佳化該沙箱生物反應器中之第一細胞環境之至少一參數以產生第二細胞環境。在一些實施例中，方法進一步包含使選定類型之細胞之樣本在具有該第二細胞環境之生產生物反應器中生長。在一些實施例中，自該生產生物反應器收集細胞或其部分。在一些實施例中，用於方法中之細胞係CAR-T細胞、幹細胞或分化細胞或其等之組合。在一些實施例中，細胞生產至少一生物產物且其中自該生產生物反應器收集該生物產物。

【0051】 本文中提供使細胞生長之方法，其包括使細胞在如本文中

所描述之細胞晶片模組中生長。在一些實施例中，方法進一步包含將細胞放置於儲存模式中。本文中提供最佳化細胞環境條件之方法，其包括使細胞在如本文中所描述之沙箱生物反應器中生長及最佳化該細胞環境之至少一參數。本文中亦提供使細胞生長之方法，其包括使細胞在如本文中所描述之生產生物反應器中生長。在一些實施例中，方法係高規模細胞生產之方法。在用於使細胞生長及生產細胞之方法之一些實施例中，該等細胞係選自由細菌細胞、真菌細胞、植物細胞、動物細胞、禽類細胞、哺乳動物細胞、人類細胞及基因改造細胞組成之群組。在一些實施例中，本文中所描述之系統、裝置及方法可在零重力下或在微重力條件下使用，使得細胞在零重力或微重力條件下生長。

【0052】 熟習此項技術者將自以下詳細描述易於明白本發明之額外態樣及優點，其中僅展示及描述本發明之闡釋性實施例。如將認識到，本發明能夠具有其他及不同實施例，且其若干細節能夠在各種顯著方面進行修改，其等皆未偏離本發明。因此，圖式及描述應被視為本質上具闡釋性而非限制性。

以引用方式併入

【0053】 本說明書中提及之所有公開案、專利及專利申請案皆以相同程度以引用方式併入本文中，如同明確及個別地指示各個別公開案、專利或專利申請案以引用方式併入。就以引用方式併入之公開案及專利或專利申請案與本說明書中所含之揭示內容相矛盾而言，本說明書旨在取代及/或優先於任何此類矛盾材料。

【圖式簡單說明】

【0054】 在隨附發明申請專利範圍中具體闡述本發明之新穎特徵。

將藉由參考闡述其中利用本發明之原理之闡釋性實施例之以下詳細描述及隨附圖式(本文中亦稱為「圖(figure及FIG.)」)來獲得本發明之特徵及優點之較佳理解；在隨附圖式中：

【0055】 圖1展示具有三個模組之系統之實例性實施例；

【0056】 圖2A展示細胞晶片模組201之實例性實施例；圖2B展示作為細胞晶片之個別「層」之細胞環境205、細胞晶片培養基迴路230及細胞晶片氣體迴路250之實例性實施例；圖2C展示該細胞晶片之該等層之側輪廓；

【0057】 圖3A至圖3F提供與細胞晶片模組一起使用之細胞捕獲器之實例性實施例；圖3A至圖3B展示閘捕獲器之實例性實施例；圖3C至圖3D展示溢出捕獲器之實例性實施例；且圖3E至圖3F展示抽吸捕獲器之實例性實施例；

【0058】 圖4A至圖4E提供沙箱生物反應器之實例性實施例；

【0059】 圖5提供生產生物反應器之實例性實施例；

【0060】 圖6A至圖6C提供用於生產生物反應器之巨觀結構之實例性實施例；

【0061】 圖7A展示經修改雙螺旋二十四面體形狀或結構及組裝成重疊通道諸如用於如本文中所描述之生產生物反應器之實例性實施例；圖7B提供組裝成兩個重疊通道網路之經修改雙螺旋二十四面體形狀或結構之實例；圖7C提供藉由將經修改雙螺旋二十四面體組裝成通道而產生之曲率之實例；

【0062】 圖8展示用於細胞生長、儲存、環境最佳化及擴大規模生產之實例性方法之方案；

【0063】 圖9A至圖9F展示用於將迷你模組組裝成巨觀結構之實例性方案；圖9A展示迷你模組之實例；圖9B展示將迷你模組組裝成實例性三維矩陣之實例；圖9C展示實例性三維矩陣；圖9D展示三維矩陣之實例性層；圖9E至圖9F展示包括多個三維層之實例性總成；

【0064】 圖10A至圖10F展示各種形狀(例如，正方形及類正方形總成形狀)之層總成之實例；

【0065】 圖11A至圖11F展示連接至實例性饋送迴路之模組層之實例；

【0066】 圖12展示中空角錐體形狀之實例性層；

【0067】 圖13A及圖13B提供用於中空角錐體形狀之生長之實例；

【0068】 圖14展示用於中空角錐體形狀之外部饋送迴路之實例；

【0069】 圖15展示薄片巨觀結構之實例；

【0070】 圖16展示具有饋送迴路之薄片巨觀結構之實例；

【0071】 圖17展示實例性巨觀結構；

【0072】 圖18展示實例性饋送及收集配置；

【0073】 圖19A至圖19E展示實例性連接系統；圖19A展示包括介於細胞晶片模組與流體源之間的連接器之實例性連接系統之概述；圖19B展示具有輸入及輸出針之實例性連接系統；圖19C展示藉由實例性連接器系統進行之實例性連接；圖19D展示具有穿透實例性細胞晶片模組中之腔室之針之連接系統的實例性實施例；圖19E展示具有穿透第二腔室之針之實例性連接系統；

【0074】 圖20展示用於黏附細胞之實例性多層模組；

【0075】 圖21A展示用於黏附細胞之層模組之實施例；圖21B展示

附著至分層結構之細胞之實例；圖21C展示用於細胞脫離之胰蛋白酶洗滌之實例；圖21D展示細胞脫離之實例；圖21E展示經脫離細胞流動之實例；

【0076】 圖22A展示實例性迷你模組之剖視圖；圖22B展示具有增加之混合之實例性迷你模組之剖視圖；

【0077】 圖23A展示十個迷你模組之實例性組合；圖23B展示具有增加之混合之十個迷你模組之實例性組合；

【0078】 圖24展示具有巨觀結構之實例性生物反應器設計；

【0079】 圖25A展示實例性巨觀結構之等角視圖；圖25B展示實例性經列印巨觀結構；圖25C展示由商業樹脂製成之實例性經列印巨觀結構；

【0080】 圖26A展示充滿染料之實例性生物反應器迴路；圖26B展示充滿染料之實例性雙螺旋二十四面體結構；

【0081】 圖27展示用於晶片上之實例性菌株之實例性設計；

【0082】 圖28展示腔室中之粒子流之實例；

【0083】 圖29展示在時間進程中之粒子流之實例；

【0084】 圖30A展示具有混合模組之實例性沙箱單元；圖30B至圖30D展示由聚二甲基矽氧烷形成之實例性沙箱單元；

【0085】 圖31展示用於實例性沙箱生物反應器之氣體迴路及培養物迴路；

【0086】 圖32展示沙箱之實例性經列印培養物層；

【0087】 圖33展示實例性沙箱之經組裝層；及

【0088】 圖34展示經程式化或以其他方式經組態以實施本文中所提

供之方法之電腦系統。

【實施方式】

【0089】

交叉參考

本申請案主張於2018年10月10日申請之美國臨時專利申請案第62/743,974號之權利，該案之全文以引用的方式併入本文中。

【0090】 雖然本文中已展示及描述本發明之各項實施例，但熟習此項技術者將明白，此等實施例僅藉由實例提供。熟習此項技術者可想到諸多變動、改變及替換而不偏離本發明。應理解，可採用對本文中所描述之本發明之實施例之各種替代例。

【0091】 本文中提供用於生產及維持細胞及用於生產及隔離細胞及由細胞製成之產物之系統、組件及方法。本文中之該等系統、組件及方法對針對不同細胞類型、細胞環境類型及所生產之分子之類型之定製生產提供靈活性。該等系統、組件及方法亦提供規模靈活性。例如，本文中所描述之該等系統、組件及方法可在不改變或顯著改變實驗室規模生長條件之情況下提供生產擴大規模。

【0092】 本文在系統及組件中包含用於使細胞生長之一或多個生物反應器。該等生物反應器係在微生物反應器規模上，使得系統可經建構為具有使少量及大量細胞及/或細胞產物生長及生產之能力之台式生物反應器。此系統及使用方法在其等可擴展性、靈活性及資源保護方面係有利的。

【0093】 如本文中所使用，術語「細胞晶片」或「細胞晶片模組」通常係指適於使細胞生長、培養及/或儲存細胞之裝置，該裝置可包含用

於輸入細胞、用於提供液體培養基及其他細胞環境因素之一或多個通道或其他開口，及視需要用於在細胞晶片或其子區段之生長/培養環境內捕獲、容納或引導細胞之流動之一或多個結構。

【0094】 如本文中所使用，術語「沙箱生物反應器」通常係指用於使細胞生長及允許以反覆方式測試一或多個細胞環境條件對一或多種類型之細胞之影響之裝置。沙箱反應器可包含使得其中之細胞環境及細胞環境對細胞之影響係與用於細胞及生物產物之擴大規模及生產之細胞環境及影響相關的設計。沙箱反應器可包含單一測試環境或可由可在其中測試一或多個環境條件的多個片段組成。

【0095】 如本文中所使用，術語「生產生物反應器」或「生物反應器」通常係指適於規模生產細胞及/或由細胞生產之產物之生物反應器裝置。生產生物反應器可包含用於輸入細胞、用於提供液體培養基、氣體組合物及其他細胞環境因素之一或多個通道或其他開口，及用於採集細胞及/或由細胞生產之產物之一或多個通道。

【0096】 如本文中所使用，術語「培養基配製器」通常係指用於混合用作使細胞生長之培養基之成分之組件或裝置。

【0097】 如本文中所使用，術語「捕獲器」通常係指用於在實體區域內捕獲、容納及/或引導細胞之流動之結構。捕獲器可包含(但不限於)閘捕獲器、溢出捕獲器、抽吸捕獲器及多孔隔膜捕獲器(諸如但不限於本文中所描述之該等捕獲器)。在一些實施例中，捕獲器大小係由細胞大小、體積及/或直徑來決定，使得捕獲器減慢、阻止或防止細胞自一個實體空間移動至另一個實體空間中。在一些實施例中，當細胞數目或密度增加時或當細胞或液體培養基流動速度提高時，可降低或克服捕獲器減慢、阻止

或防止細胞移動之能力。

【0098】 如本文中所使用，術語「迷你模組」通常係指生產生物反應器之片段，該片段可經互連及組裝成較大結構(例如，巨觀結構或巨觀形狀)以構成該生產生物反應器之至少部分或整體。

【0099】 如本文中所使用，術語「螺旋二十四面體」通常係指不含直線之經連接週期性最小表面。此表面可具有數學上無限數目個連接件。在一些實例中，螺旋二十四面體係具有約 38.01° 之關聯角之施瓦茨P及D表面之關聯系列之獨特非平凡嵌入式部件。螺旋二十四面體可經組態為單個螺旋二十四面體或雙螺旋二十四面體。雙螺旋二十四面體可針對微流體裝置中之特定應用定向及組態。該雙螺旋二十四面體可藉由平衡與迷你模組及巨觀結構(例如，巨觀形狀)中所觀察之流體動態效能有關之幾何態樣(諸如雙螺旋二十四面體結晶結構及空間群組)而組態。螺旋二十四面體或雙螺旋二十四面體可依各種結晶結構實施。

【0100】 每當術語「至少」、「大於」或「大於或等於」在一系列兩個或兩個以上數值中之第一數值之前時，術語「至少」、「大於」或「大於或等於」適用於該系列數值中之該等數值之各者。例如，大於或等於1、2或3係相當於大於或等於1、大於或等於2或大於或等於3。

【0101】 每當術語「不超過」、「小於」或「小於或等於」在一系列兩個或兩個以上數值中之第一數值之前時，術語「不超過」、「小於」或「小於或等於」適用於該系列數值中之該等數值之各者。例如，小於或等於3、2或1係相當於小於或等於3、小於或等於2或小於或等於1。

生物反應器模組

【0102】 在態樣中，本發明提供用於生產細胞之模組化及經互連生

物反應器組件之系統及方法。細胞可為細菌細胞、真菌細胞、酵母細胞、真核細胞、植物細胞或藻類細胞。細胞可為重組細胞。模組化系統可包括第一模組、第二模組及第三模組。該第一模組可為經組態以容納複數個細胞之細胞晶片。該第二模組可與該第一模組流體連通且可為沙箱反應器。該沙箱反應器可經組態以(i)與細胞晶片介接，(ii)將來自該複數個細胞之細胞子組引導至沙箱之不同片段，及(iii)反覆產生用於該複數個細胞之一組生長條件。該等不同片段可個別組態。該第三模組可與第一模組及第二模組流體連通。第三模組可包括生物反應器，該生物反應器經組態以(i)與第二模組介接，(ii)接納該細胞子組，及(iii)在該組生長條件下產生該細胞子組之複製。在一些實施例中，第三模組可包括生物反應器且可與細胞晶片模組流體連通。

【0103】 本文中之系統、組件及方法係模組化及可互連的。在本文中之一些實施例中，系統係由一或多個模組組成，其中各模組包含至少一生物反應器。在一些實施例中，系統含有至少一個、兩個、三個或更多模組。在一些實施例中，系統包含三個以上模組。各模組經組態以用於液體(包含培養基及/或溶劑)之層流且此外在一些實施例中用於細胞之單向流。在一些實施例中，一或多個模組經組態以用於液體(例如，培養基及/或溶劑)之過渡流或紊流。

【0104】 在一些實施例中，系統包含經互連之至少1個、2個、3個或更多模組。在一些實施例中，模組包括細胞晶片模組、沙箱生物反應器模組及生產生物反應器模組之一或多者。在一些實施例中，細胞晶片模組係互連(例如，流體地連接)至沙箱生物反應器模組，使得該細胞晶片供應細胞以最初為該沙箱反應器接種。在一些實施例中，細胞晶片模組係互連

(例如，流體地連接)至生產生物反應器，使得該細胞晶片供應細胞以最初為該生產生物反應器接種。在一些實施例中，沙箱生物反應器係互連(例如，流體地連接)至生產生物反應器且來自該沙箱生物反應器之細胞流動至該生產生物反應器中以擴大規模。在一些實施例中，系統以串聯組態將細胞晶片連接至沙箱生物反應器及生產生物反應器。替代性地或此外，系統以並聯組態將細胞晶片連接至沙箱生物反應器及生產生物反應器。細胞可最初生長於該細胞晶片中，在該沙箱生物反應器中針對最佳環境條件進行測試及在該生產生物反應器中擴大規模。

【0105】 在一些實施例中，系統包含作為其中輸入一或多個細胞且透過細胞生長及分裂使該一或多個細胞增殖之細胞保持及儲存晶片(在本文中亦被稱為細胞晶片)之模組。該細胞晶片可為消耗品(例如，使用一次或幾次並丟棄)。細胞晶片可具備一或多個細胞株。細胞晶片可包含用於液體培養基中之流動之輸入通道及用於使用過之培養基且視需要細胞流動離開細胞晶片之輸出通道。細胞晶片可具有至少1個、2個、3個、4個、5個、6個、8個、10個或更多輸入通道。細胞晶片可具有至少約1個、2個、3個、4個、5個、6個、8個、10個或更多輸出通道。細胞晶片可具有相同數目個輸入及輸出通道或可具有不同數目個輸入及輸出通道。各輸入通道可使單個組分(例如，單個液體培養基)流動或各輸入通道可使不同組分(例如，不同類型之液體培養基)流動。輸出通道可使用過或多餘的培養基及細胞流動。替代性地或此外，細胞可與培養基流分離且藉由一或多個輸出通道自細胞晶片輸出。細胞晶片可包含用於將細胞捕獲於模組內之至少一機構。

【0106】 在一些實施例中，用於捕獲細胞之機構係在細胞隨著細胞

晶片內之液體培養基之層流流動至捕獲器中時將細胞收集於捕獲器內之閘捕獲器。閘捕獲器可防止細胞在晶片內自由流動，將細胞限制於經屏蔽環境，不受流動慣性力影響，同時能夠正確接取營養物及氣體。閘捕獲器可具有接種埠以使細胞能夠在閘捕獲器之內部空間內接種。閘捕獲器可具有經塑形以便使內部細胞不受流動慣性力影響之一或多個流量保護器。可用作該一或多個流量保護器之實例性形狀或結構包含三角形、正方形、五邊形、六邊形、圓形及其等之組合。流量保護器可被開口中斷以容許接取氣體及營養物，及使細胞能夠受控地自閘捕獲器逸出。在一些實施例中，保護器開口大小係大於流量保護器內之細胞之直徑。在一些情況中，開口大小係流量保護器內之細胞的兩倍。在一些情況中，開口大小可為流量保護器內之細胞直徑的至少2倍、3倍、4倍、5倍、7倍或10倍大。在一些實施例中，開口在流量保護器形狀之整個形狀或結構內均勻分佈。在一些實施例中，開口係根據預期流動方向及速度來配置。在一些實施例中，在流動大致方向上計數，開口在流量保護器形狀之第二半側上可能更充足。在一些實施例中，閘捕獲器之直徑係自約20微米至約1000微米。在一些實施例中，閘捕獲器之直徑係約大於或等於30微米、40微米、50微米、60微米、70微米、80微米、90微米、100微米或更多。在一些實施例中，閘捕獲器之直徑係約100微米、200微米、300微米、400微米、500微米、600微米、700微米、800微米、900微米、1000微米或更多。在一些實施例中，閘捕獲器之直徑係小於或等於約1000微米、900微米、800微米、700微米、600微米、500微米、400微米、300微米、200微米、100微米、90微米、80微米、70微米、60微米、50微米、40微米、30微米或更小。

【0107】 在一些實施例中，用於捕獲細胞之機構係溢出類型捕獲

器。該(等)溢出類型捕獲器可藉由實體地阻止細胞逸出及利用慣性流動力強制執行其等之限制而防止細胞在晶片內自由流動，從而將細胞限制於經屏蔽環境，同時能夠接取營養物及氣體。在一些實施例中，溢出捕獲器流量保護器包含依序配置以將細胞實體地限制於捕獲器內之一或多個渠化(canalized)箱壁。在一些實施例中，該等渠化箱壁具有介於其等之間的開口。在一些實施例中，該等開口小於內部之細胞直徑。在一些實施例中，渠化箱壁不具有介於其等之間的任何開口。在一些實施例中，在晶片之頂部與渠化箱壁之高度之間具有開口。在一些實施例中，渠化箱壁之高度與該頂部之間的該開口小於捕獲器內之細胞直徑。當細胞體積超過閘捕獲器之體積容量時，細胞流出捕獲器。在一些實施例中，溢出捕獲器之直徑係約50微米至約2000微米。在一些實施例中，溢出捕獲器之直徑係大於或等於約180微米或210微米。在一些實施例中，溢出捕獲器之直徑係小於或等於約210微米或180微米。在一些實施例中，溢出捕獲器之直徑係大於或等於約50微米、100微米、150微米、200微米、250微米、300微米、350微米、400微米、450微米、500微米、600微米、800微米、1000微米、1200微米、1500微米、2000微米或更多。在一些實施例中，溢出捕獲器之直徑係小於或等於約2000微米、1500微米、1200微米、1000微米、800微米、600微米、500微米、450微米、400微米、350微米、300微米、250微米、200微米、150微米、100微米、50微米或更小。

【0108】 在一些實施例中，細胞捕獲器包含抽吸捕獲器。該抽吸捕獲器可藉由使液體培養基區域與具有多孔隔膜之細胞生長區域垂直分離而經設計。抽吸捕獲器可經設計以具有一或多個臂，細胞在該一或多個臂處輸入且細胞在該一或多個臂處生長並分裂。液體培養基行進通過晶片且可

跨越多孔隔膜至下部區域，而細胞歸因於孔徑小於細胞大小而保持於上部區域中。液體培養基自上部層級移動至下部層級產生使細胞保持於一或多個臂內之抽吸力。當細胞分裂至特定數目或密度時，該抽吸力不再使所有細胞維持於臂內，且細胞可在上部層級上流出臂且朝向細胞晶片之輸出埠。抽吸捕獲器可具有至少1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個或更多臂。在一些實施例中，所使用之多孔隔膜可根據細胞類型而改變。在一些實施例中，多孔隔膜可具有小於細胞直徑之孔徑。在一些實施例中，多孔隔膜之孔徑可大於或等於0.22微米、1微米、3微米、5微米、7微米或更多。在一些實施例中，孔徑係小於或等於約7微米、5微米、3微米、1微米、0.22微米或更小。在一些實施例中，所使用之多孔隔膜具有所選擇之特定孔徑之離散孔；此可藉由實施軌跡蝕刻技術來達成。在一些實施例中，多孔隔膜之孔係經隨意分佈。替代性地或此外，孔可經配置或圖案化。在一些實施例中，用於多孔隔膜之材料係高品質聚碳酸酯膜。在一些實施例中，用於多孔隔膜之材料係聚矽、聚乙烯、聚四氟乙烯、聚丙烯、硝化纖維素、奈米纖維素、耐綸、陶瓷發泡體或碳奈米管。

【0109】 在一些實施例中，用於將細胞捕獲於細胞晶片中之機構包含捕獲器類型之組合，包含閘捕獲器、抽吸捕獲器及溢出捕獲器。在一些實施例中，捕獲器類型係串聯的，使得在細胞自一種類型之捕獲器釋放時，細胞流動至且捕獲於另一類型之捕獲器中。替代性地或此外，捕獲器可配置成並聯組態。在一些實施例中，捕獲器係配置成串聯及並聯組態兩者。捕獲器之數目及配置可針對細胞類型以及細胞晶片之大小及體積及細胞晶片中之液體流速來定製。在一些實施例中，細胞晶片單獨容納大於或

等於1個、2個、3個、4個、5個、10個、20個、50個、100個或更多閘捕獲器，或容納該等閘捕獲器連同一或多個溢出捕獲器或連同一或多個抽吸捕獲器。在一些實施例中，細胞晶片單獨容納大於或等於約1個、2個、3個、4個、5個、10個、20個、50個、100個、250個、300個、400個、500個、1000個或更多溢出捕獲器，或容納該等溢出捕獲器連同一或多個閘捕獲器或一或多個抽吸捕獲器。

【0110】 在一些實施例中，用於捕獲細胞之機構係多孔隔膜捕獲器。此類型捕獲器在多孔隔膜之上側上具有液體培養基流且細胞在該多孔隔膜下方之腔室中輸入並生長。在培養基灌注至細胞腔室中時且在細胞密度增加且細胞較靠近隔膜生長時，細胞被抽取通過隔膜之孔進入上部培養基通道中，在該上部培養基通道中細胞可接著隨著液體培養基流移動，藉此離開捕獲器。捕獲器中之隔膜之孔徑可針對細胞類型及大小定製。在一些實施例中，孔徑係自約0.22微米至約5微米。在一些實施例中，孔徑係大於或等於約0.22微米、1微米、3微米、5微米、7微米或更多。在一些實施例中，孔徑係小於或等於約7微米、5微米、3微米、1微米、0.22微米或更小。隔膜下方之腔室之大小及體積可針對細胞類型及大小定製。細胞腔室之數目可針對任何處理量定製。在一些實施例中，細胞腔室之數目係大於或等於1個、2個、3個、4個、5個、10個、25個、50個、100個、250個、500個、1000個或更多。

【0111】 在一些實施例中，在細胞在細胞晶片中生長之後，細胞晶片儲存捕獲於其中之細胞以供稍後使用。可藉由各種方法儲存細胞，例如，包含冷凍、乾燥、凍乾或儲存於液體培養基或經改質以在室溫下或在其他溫度下實現細胞儲存之液體培養基中。

【0112】 在一些實施例中，系統包含沙箱生物反應器。該沙箱反應器可為消耗品(例如，使用一次或幾次並丟棄)。替代性地或此外，沙箱反應器可能並非消耗品。沙箱生物反應器模組係由一系列片段構成，其中各片段具有適於將細胞自微通道之一端轉運至微通道之另一端之至少一微通道。在一些實施例中，片段具有彼此並行起作用之兩個或兩個以上微通道，使得一個微通道中之細胞可不轉運至相同片段內之另一個微通道。在一些實施例中，片段具有並聯之大於或等於2個、4個、8個、16個、32個、64個、128個或 2^n 個微通道。微通道之長度及直徑可針對細胞類型、細胞大小及細胞及液體培養基在該微通道中之轉運速率而定製。在一些實施例中，通道可具有大於或等於約20微米、50微米、70微米、120微米、200微米、600微米、1500微米、2000微米之直徑及約1毫米、2毫米、4毫米、10毫米、22毫米、40毫米、120毫米、200毫米或更多之長度。在一些實施例中，微通道之長度係針對轉運通過該微通道之細胞之細胞分裂速率定製，使得該細胞在自進入微通道至離開微通道之轉運時間期間分裂一次。各微通道之直徑可針對細胞大小、轉運液體之混合速率、氣體交換率或其等之組合來定製。

【0113】 在一些實施例中，沙箱生物反應器之片段包括兩個或兩個以上區段。一個區段可包括混合模組且另一個區段可包括生長腔室。該混合模組及該生長腔室可呈串聯或並聯組態。在實例中，混合模組及生長腔室係呈串聯組態。混合模組可流體地連接至大於或等於1個、2個、4個、6個、8個、10個或更多輸入通道。該等輸入通道可包含使培養基、氣體及/或細胞流動之通道。在實例中，混合模組流體地連接至兩個輸入通道，使得一個通道提供培養基且另一個通道提供細胞至混合模組。培養基

及細胞可在混合模組中混合。混合模組可包括筆直通道或可包括具有蛇形或彎曲幾何結構之通道。混合模組之該通道之直徑可大於或等於約20微米、50微米、70微米、120微米、200微米、600微米、1500微米或2000微米且長度約1毫米、2毫米、4毫米、10毫米、22毫米、40毫米、120毫米、200毫米。混合模組可提供經混合之細胞及培養基至生長腔室。生長腔室可包含增加片段之直徑之擴展區帶。生長腔室可具有大於或等於20微米、50微米、70微米、120微米、200微米、600微米、1500微米或2000微米之直徑及約1毫米、2毫米、4毫米、10毫米、22毫米、40毫米、120毫米或200毫米之長度。

【0114】 在一些實施例中，沙箱生物反應器具有彼此串聯放置之兩個或兩個以上片段，使得來自一個片段之微通道之細胞流動至下一片段之微通道中。在一些實施例中，來自第一片段之微通道互連至與該第一片段串聯放置之第二片段內之兩個微通道。第一片段之該微通道之長度經定製使得細胞在自進入第一微通道至離開第一微通道之轉運時間期間分裂至多一次，且使得自此分裂產生之兩個細胞經分離且分別流動至第二片段之兩個微通道中。第二片段之兩個微通道可配置成並聯組態。在一些實施例中，第二片段微通道係以類似於串聯之下一片段之微通道之方式互連。在一些實施例中，細胞在其等轉運通過各微通道期間並不分裂。在其他實施例中，細胞可在其中其等轉運通過微通道之長度之時間段期間分裂大於或等於1次、2次、3次、4次、5次或更多次。片段可依大於或等於2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個或更多片段串聯放置，各片段含有一或多個微通道。在微通道自一個片段互連至下一片段且在細胞自一個片段之微通道轉運至下一片段時劃分分裂細胞之情況下，微通道之數

目可增加達 2^n 倍，其中 $n = 1、2、3、4、5、6$ 或大於6。

【0115】 沙箱生物反應器可允許測試及量測變化環境條件對細胞之影響。變化環境條件可包含培養基組分、pH、溫度、氣體組合物、氣體交換、細胞密度、細胞流及/或液體培養基之流速之變動。在一些實施例中，沙箱生物反應器具有至第一片段之入口，液體培養基係透過該入口提供且流動通過第一片段至串聯及/或並聯連接之下游片段中。培養基之組合物及/或流速可隨時間改變或可保持恆定，

【0116】 沙箱生物反應器可包含一或多個感測器及/或一或多個樣本收集裝置。該等感測器及/或樣本收集裝置可用於監測對環境變化之細胞反應。在一些實施例中，一或多個感測器係線上感測器。在一些實施例中，感測器係離線的且接收細胞、培養基或其等之組合之取樣。感測器可量測生物、物理及/或化學參數。實例性參數pH、細胞分裂速率、細胞生長速率、細胞密度、溫度、光學密度、氣體組合物及/或氣體交換率。實例性參數亦包含細胞代謝物、蛋白質、核酸、脂質、小分子或生物分子或其等之組合之一或多者之圖譜分析(profiling)、單物種鑑定及量化。在一些實施例中，感測器量測作為對環境變化之回應之細胞壓力反應及細胞代謝物。

【0117】 沙箱反應器可進一步包括一或多個控制器。該等控制器可控制沙箱生物反應器之一或多個片段中之細胞環境。在一些實施例中，控制器係與沙箱生物反應器之該一或多個片段內之細胞、細胞環境或其等之組合所相關之一或多個感測器通信及/或自該一或多個感測器接收資訊。控制器可回應於來自該一或多個感測器之資訊而改變細胞環境。實例性變化包含液體培養基流速、液體培養基組分濃度、pH、溫度、氣體濃度、

氣體含量及細胞密度。

【0118】 在一些實施例中，系統包含生產生物反應器模組。該生產生物反應器對細胞及/或來自細胞之生物產物之擴大規模生長及生產提供環境。生產生物反應器提供包括多個迷你模組之3-D結構。生產生物反應器可包含大於或等於1個、2個、4個、6個、8個、10個或更多迷你模組。該等迷你模組產生用於使細胞之生長及移動及用於液體培養基、氣體及生物產物之流動之一系列通道及腔室。生產生物反應器之迷你模組可包含若干形狀，諸如雙螺旋二十四面體、經修改雙螺旋二十四面體或可經描述為三重週期性最小表面(TPMS)之任何形狀。此類型之表面形成可在所有三個軸(X、Y、Z)上週期性地生長之柵格系統。TPMS可能無自相交點且將給定體積劃分成兩個(或兩個以上)獨立子體積。自相交點可包括表面，其中每點之單個法向向量界定該表面。若該表面劃分其中其經外接至兩個獨立且全等之子體積中之體積，則此表面被稱為平衡表面。TPMS係根據基本貼片或不對稱單元來描述，整個表面可藉由其對稱元件自該基本貼片或不對稱單元來建置。迷你模組可彼此流體地連接(例如，互連)，使得氣體、培養基及/或副產物可自一個迷你模組流動至另一個迷你模組。

【0119】 在一些實施例中，生產生物反應器之迷你模組可包含雙螺旋二十四面體或經修改雙螺旋二十四面體形狀。雙螺旋二十四面體(DG)可包括兩個螺旋二十四面體，且可包含兩個共生非重疊域。經修改雙螺旋二十四面體(DG)可包含兩個共生非重疊域，該兩個共生非重疊域可藉由由基質相分離之兩個恆定平均曲率(CMC)表面定界。經修改雙螺旋二十四面體結構可包括對未經修改雙螺旋二十四面體之連接件之最小修改以便使該結構適於給定巨觀結構或功能。修改可包含阻斷該等連接件或相交點

(例如，「嘴」)之部分，修改結構之一或兩個相通道之直徑，或完全或部分消除存在於DG結構中之任何相通道。DG或經修改DG可包含與第二螺旋二十四面體結構纏繞之第一螺旋二十四面體結構。兩個通道可藉由多孔隔膜(基質相)分離。該基質相可依可至少部分基於特定壓力及氣體組合物之方式使氣體分子擴散。當液體組分微通道半徑與氣態組分微通道半徑相等時，基質相表面可等於此等半徑之總和。當多個DG經互連(例如，配裝在一起)時，兩個CMC表面產生兩個連續通道。此兩個通道產生用於液體培養基及/或氣體之流動之兩個非重疊通道。多孔隔膜可提供表面，特定細胞類型可在該表面上黏附並生長。在一些實施例中，一個通道提供遍及生產生物反應器之液體培養基。在一些實施例中，兩個通道皆提供液體。在一些實施例中，一個通道提供液體培養基且另一個通道提供氣體至生產生物反應器。在一些實施例中，迷你模組之微通道之直徑可針對特定細胞類型、生產要求及類似者而視需要改變。在一些實施例中，迷你模組可具有規則立方包覆結構，其邊緣具有長度「L」。L可與掃掠直徑有關。在一些實施例中，L係等於微通道之掃掠直徑之三分之二，乘以2的平方根，乘以3的平方根。若液體組分及氣態組分兩者之半徑在迷你模組內相同，則對應於液體組分之微通道之總表面及體積可等於氣態組分之對應尺寸。在一些實施例中，該等組分之半徑可不同。在一些實施例中，當兩個半徑相同時，微通道半徑不能大至掃掠半徑的0.7倍。兩個不同面之兩個迷你模組之間的最短距離係等於掃掠半徑乘以2的平方根，減去各組分通道半徑之和。

【0120】 在一些實施例中，DG之第一通道之面積相當於DG內之第二通道之面積，且其中基質相之面積係第一通道之面積與第二通道之面積

之總和。

【0121】 使通道與各通道之中心分離之基質相之間的距離係常數。可藉由選定細胞類型及細胞密度以及待在細胞上產生之壓力條件來確定培養基及氣體流動通過生產模組之速率。藉由由結構所形成之氣體通道中之氣體組合物及氣體壓力以及隔膜厚度及經選擇用於製造通道及周圍區域之材料來確定氣體通過基質擴散至液體培養基中之速率。氣體流速及工作壓力可與培養細胞密度有關。在一些實施例中，氣體流量可等於每分鐘之氣體組分體積。在一些實施例中，氣體流量係大於或等於每分鐘氣體組分體積的約2倍、3倍、5倍或10倍。在一些實施例中，工作壓力可自約1大氣壓(atm)改變至5 atm。在一些實施例中，工作壓力係大於或等於1 atm、2 atm、3 atm、4 atm、5 atm或更多。

【0122】 DG之優點係減輕重力，該等重力在其他結構中可提供不均勻培養基曝露及提供氣體交換。形狀產生三維(3-D)層流力，使得平均化任一細胞至結構壁之距離變動以提供細胞群體中之更恆定及更均勻之曝露。此外，DG形狀避免液體或氣體之停滯區域，在該等停滯區域中流動可能不會發生或可能中斷。此容許透過生物反應器以較低速度使用較高處理量且導致細胞上之較低剪切壓力。在一些實施例中，平均速度可大於或等於約1微米/秒、3微米/秒、5微米/秒、10微米/秒、15微米/秒、20微米/秒、50微米/秒、100微米/秒、200微米/秒或更多。如相較於其他生物反應器系統，DG結構提供培養基及氣體之更佳擴散。在一些實施例中，液體培養基流動通過DG內之通道之速度係大於流動通過相同通道之細胞之自由下落速度。

【0123】 DG結構在許多形狀選項內提供增加之表面區域，且此增

加之表面區域提供用於細胞生長之表面區域以及改善液體培養基流動、混合及氣體交換。當L等於L1時，各組件之表面可經描述為 $Y = 3258.6.XE(-1)$ ，其中Y係平方毫米/微升且X等於由L1定義之半徑。

【0124】 迷你模組DG結構係一起配裝成構成生產生物反應器之巨觀結構或巨觀形狀。在一些實施例中，該巨觀結構係角錐體。在一些實施例中，巨觀結構係中空角錐體、薄片角錐體、棋盤式配置或圓木。生產生物反應器內之巨觀結構及迷你模組之數目可針對待生長之細胞之細胞分裂速率定製，以及用以調節液體培養基、氣體交換及細胞移動通過生物反應器之速度。各巨觀結構可提供與細胞相互作用之不同可能性，且可鑑於生產生物反應器預期刺激之特定程序選擇該巨觀結構。角錐體及中空角錐體巨觀結構實現用於生長之合適環境同時保持恆定速度及細胞密度。較敏感菌株隨時間可能需要更多干預，在此情況中，中空角錐體可提供該能力。薄片角錐體藉由保持速度及密度兩者恆定而實現用於生長及發展之合適環境，同時在每個時間點提供對各細胞之完全接取，從而實現直接干預及治療。棋盤式及圓木配置亦可在程序之每個時間點提供對每個細胞之完全接取，同時允許控制均勻速度及密度。在一些實施例中，細胞係在巨觀結構之頂部及在巨觀結構之基底處之細胞收集裝置處輸入。

【0125】 DG迷你模組配置成巨觀結構提供用於確定及最佳化生物反應器內之液體培養基及氣體流動之機構。在一些實施例中，該巨觀結構包括若干層或層級之迷你模組。在一些實施例中，迷你模組係配置成若干層級或層且各層級中之液體培養基之速度係實質上相同的。替代性地或此外，各層級或層中之液體培養基之速度可改變。例如，液體培養基之速度可在層級或層之間增加或減小。液體培養基之速度可在迷你模組之間改變

或可在迷你模組之間實質上相同。在一些實施例中，生產生物反應器進一步包括液體培養基輸入裝置。該液體培養基裝置可經結構化以對巨觀結構內之各層級迷你模組提供液體培養基。在一些實施例中，提供至各層級之液體培養基之體積在各層級中維持實質上恆定細胞密度。微通道半徑可與細胞半徑、細胞密度或其他參數(例如，絲狀配置、鏈狀配置等)關聯。在一些實施例中，細胞密度可自 1×10^6 個細胞/ml 改變至 1×10^{12} 個細胞/ml。在一些實施例中，液體培養基通過各迷你模組之速度係藉由細胞分裂速率確定，使得細胞穿過單個迷你模組或迷你模組層級之時間係實質上與細胞分裂速率相同或與細胞分裂速率成比例，使得細胞在轉運期間分裂大於或等於1次、2次、3次、4次、5次或超過5次。在一些實施例中，第一層級具有x體積之液體培養基，使得在具有給定數目個細胞之情況下，密度為X，且第二層級具有2x體積之液體培養基，且在持續時間期間細胞自該第一層級轉運至該第二層級，細胞數目加倍(例如，各細胞平均分裂一次)，使得第二層級中之密度保持X (即，層級之間的恆定細胞密度)。

【0126】 可藉由確定在巨觀結構之基底(細胞及/或生物產物在通過輸出端離開結構至收集容器之前到達之巨觀結構之終端)處之細胞之預期數目來實現額外最佳化。亦可針對巨觀結構之不同層級來確定預期細胞數目。基於基底及不同層級處之預期細胞數目，可針對各層級調整氣體及液體培養基之流動以在細胞朝向結構之基底行進通過生物反應器時隨著細胞數目透過細胞分裂、細胞移動及細胞積聚增加而補償增加之氣體及液體培養基需求。

液體培養基供應器

【0127】 在一些實施例中，系統包含一或多個組件以供應液體培養

基至一或多個模組。組件可包含培養基配製器、電穿孔儀或其他滅菌裝置、貯器、泵、氣泡感測器及氣泡捕獲器之一或多者。該培養基配製器藉由適當混合培養基之組分與水而產生用於一或多個模組之液體培養基以使細胞在模組中生長。電穿孔儀可互連至培養基產生器以清潔培養基並提供無菌起始培養基以供應至一或多個模組以使細胞生長。可包含氣泡感測器及氣泡捕獲器以偵測及移除在培養基產生或清潔時引入之液體培養基中之任何氣泡。

【0128】 系統亦可包含用於在將儲備培養基供應至模組之前用於保持儲備培養基之一或多個貯器。在一些實施例中，系統包含至少2個、3個、4個、6個、8個、10個或更多貯器。該等貯器可非同步裝填，使得一個貯器裝填而已充分裝填之另一個貯器係用於對一或多個模組供應液體培養基。以此方式分離貯器對於隔離系統之細胞生長模組與至電流之任何連接額外有利。經裝填之貯器曝露至可自上游組件(諸如電穿孔儀)流動之電流。經裝填貯器係與電流流動隔離，使得其無法將電流傳輸至下游組件及模組。在一些實施例中，貯器之體積可與生產生物反應器在經選擇用於程序之細胞之分裂時間內之處理量關聯。在一些實施例中，多個貯器可彼此並聯安裝及彼此解耦合。在一些實施例中，多個貯器可串聯安裝。

【0129】 液體培養基供應組件亦可包含一或多個感測器。該等感測器可量測包含培養基之pH及溫度之參數。感測器可為線上感測器或可連接至自液體培養基供應器之一或多個組件對培養基進行間歇取樣之取樣裝置。供應系統可依取決於系統之用途、規模及操作之速率範圍來提供液體培養基。在一些實施例中，液體培養基供應器可對下游模組之一或多者提供從每小時約100微升至約1000公升。在一些實施例中，液體培養基供應

器對下游模組之一或多者提供從每小時約0.5公升至1000公升。在一些實施例中，液體培養基供應器對下游模組之一或多者提供從每小時約0.5公升至5公升。在一些實施例中，液體培養基供應器對下游模組之一或多者提供從每小時約10公升至80公升。在一些實施例中，液體培養基供應器對下游模組之一或多者提供從每小時約100公升至1000公升。

【0130】 液體培養基供應組件可包含用於使培養基自貯器或培養基配製器流動至下游組件(諸如細胞晶片、沙箱生物反應器或生產生物反應器)之一或多個泵。系統可包含大於或等於1個、2個、3個、4個、6個、8個、10個或更多泵。該等泵可為相同類型之泵或可為不同類型之泵。實例性泵包含注射泵、蠕動泵及壓力泵。液體培養基供應系統經組態以對下游組件提供單向流動。在一些實施例中，泵係用於供應培養基至細胞晶片之注射泵。在一些實施例中，泵係用於供應培養基至沙箱生物反應器之注射泵。在一些實施例中，泵係用於供應培養基至生產生物反應器之蠕動泵。在一些實施例中，系統包含三個泵，即，為細胞晶片及沙箱反應器供應之兩個注射泵及為生產生物反應器供應之蠕動泵。泵可同步或個別地工作。在一些實施例中，全部三個泵同步地工作。一或多個泵以高度體積及速率準確度供應培養基至下游模組。在一些實施例中，準確度係在1奈升、2奈升、3奈升、4奈升或5奈升內。

氣體供應器及組合物

【0131】 本文中之系統相容於與需要特定氣體組合物之細胞(諸如需要氧氣來生長及存活之細胞)一起使用。用於建構生物反應器模組之材料可包含玻璃、丙烯酸、膠原蛋白、聚二甲基矽氧烷(PDMS)、聚(乙二醇)(PEGDA)、聚(D,L-乳酸交酯)及容許培養基之氧合作用之其他生物相容性

聚合物。在一些實施例中，系統包含控制氧氣及其他氣體溶液在一或多個模組中之擴散之控制器。氣體溶液係由諸如來自儲氣罐或其他供應機構之純組分氣體配製，以依各種濃度及流速建立混合物或純氣體溶液。替代性地或此外，氣體混合物可藉由淨化之空氣混合物提供。氣體溶液可用於提供曝氣環境且控制pH，以及為液相提供碳、氮、磷及硫。在一些實施例中，系統具有一個以上氣體控制器或機構，使得不同氣體溶液可被提供至系統內之不同模組。

感測器及環境監測

【0132】 在一些實施例中，一或多個生物反應器模組係與監測環境之一或多個特徵之一或多個感測器互連。該等感測器可被放置於模組或系統內之特定點處。在特定時框內及在特定時間點進行量測，使得感測器監測特定細胞群組。在一些實施例中，一或多個感測器在特定細胞群組移動通過生物反應器模組時追蹤該特定細胞群組之特徵。感測器可回應於該量測觸發特定處理以最佳化用於特定細胞群組之條件。特徵之實例性量測及最佳化包含pH、經稀釋氧氣、總氣體組合物、其他氣體之稀釋、溫度、細胞密度、糖圖譜、轉錄組學及目標轉錄物監測、代謝組學及蛋白質組學。在一些實施例中，特徵係在至少1個、2個、3個、4個、6個、8個、10個或更多時間點進行量測。在一些實施例中，特徵係針對特定細胞群組量測且可經計時以在該特定細胞群組移動通過生物反應器之模組及在不同模組之間移動時監測該群組。

【0133】 在一些實施例中，至少一感測器量測生物反應器模組內、行進通過、進入及/或離開生物反應器模組之細胞之參數，諸如生物參數、物理參數或化學參數。在一些實施例中，至少一感測器量測生物反應

器模組內之細胞環境之參數，諸如生物參數、物理參數或化學參數。實例性生物參數包含細胞分裂速率、細胞生長速率、細胞壓力反應、細胞蛋白質含量、細胞碳水化合物含量、細胞脂質含量及細胞核酸含量。實例性物理參數包含細胞大小、細胞密度、細胞流速、液體培養基流速、混合速率、濁度、溫度及壓力。實例性化學參數包含pH、液體培養基組合物、個別液體培養基組分之濃度、氣體組合物、氣體濃度及溶解氣體組合物。

【0134】 在一些實施例中，系統或模組係與相機裝置通信。該相機監測至少一生物反應器模組之輸出。相機可擷取該生物反應器輸出之生物化學、物理或化學特徵。在一些實施例中，相機裝置擷取諸如細胞計數、細胞速度及細胞密度之資訊。在一些實施例中，相機係跨波長範圍擷取資訊之逆譜相機。在一些實施例中，相機裝置自兩個或兩個以上生物反應器模組之輸出擷取資訊。

使用方法

【0135】 在本文中之一些實施例中，利用一或多個模組來生產細胞。圖8展示利用一或多個模組生產細胞之實例性方法。可透過模組之輸出通道收集細胞。在一些實施例中，在該模組內收集細胞且將細胞儲存於該模組中，諸如將細胞儲存於細胞晶片模組內。在一些實施例中，一或多個模組係用於自細胞生產生物產物，諸如小分子、蛋白質、抗體、代謝物或由在模組中生長之細胞生產之其他產物。可透過模組之輸出通道收集該生物產物且諸如藉由透過多孔隔膜擴散或藉由過濾而使該生物產物與生長細胞分離。在一些實施例中，生物產物係在細胞內部。為採集生物產物，收集細胞、使細胞溶解且可接著進一步淨化生物產物。在一些實施例中，生物產物係自細胞分泌且可在不需採集細胞或使細胞溶解之情況下被收

集。

【0136】 本文中之生物反應器模組及系統可用於生產特定細胞類型且具有用於使各種細胞類型生長之靈活性。在一些實施例中，細胞晶片模組係用於將特定類型之細胞提供至沙箱生物反應器、提供至生產生物反應器或提供至與生產模組串聯之沙箱模組。該細胞晶片模組容許定製細胞生產及環境最佳化。

【0137】 細胞晶片可適應生產幹細胞及其他類型之細胞療法，包含自體及同種異體生產。在一些實施例中，可執行t細胞之擴增、基因傳遞或活化以進行個人化嵌合抗原受體T細胞(CAR-T)治療。在一些實施例中，幹細胞可為未分化、生長及/或分化的。

【0138】 在一些實施例中，待於系統中生長之細胞係原核細胞，諸如細菌細胞。在一些實施例中，經生長之細胞係真核細胞，諸如酵母細胞、真菌細胞、藻類細胞、植物細胞、禽類細胞或哺乳動物細胞。該等細胞可在培養物中自由漂浮或可為黏附至生物反應器內之一或多個表面之黏附細胞。細胞可經轉化或以其他方式工程設計以生產生物產物(諸如異性蛋白質、小分子或代謝物)。

【0139】 在一些實施例中，本文中所描述之系統、裝置及方法可在零重力下或在微重力條件下使用，使得細胞在零重力或微重力條件中生長。

用於建構生物反應器模組之方法

【0140】 本文中之系統、組件及模組可由各種材料製造且此等材料可取決於經生長之細胞及所採用之細胞環境而定製。在一些實施例中，組件及模組或其等之部分係藉由3-D列印製造。列印可採用市售樹脂及紫外

線(UV)可固化生物相容性聚合物。在一些實施例中，各迷你模組形狀係在虛擬環境中離散地設計。在一些實施例中，組件及模組係藉由如本文中所描述般組合及配置在一起之市售組件提供。在一些實施例中，所使用之生物材料可包含三種亞組分(即，生物相容性聚合物、光引發劑及UV吸收劑)之組合。

【0141】 本發明之裝置及系統可藉由3-D列印(舉例而言，諸如立體微影)形成。在一些實例中，將本發明之裝置之電腦輔助製造(CAM)或電腦輔助設計(CAD)模型提供至採用立體微影之3-D列印系統，包括提供具有樹脂之容器，該樹脂包括光引發劑及一或多個聚合物前體。紫外線(UV)雷射可用於將預程式化之設計或結構繪製至具有樹脂之該容器之表面中。樹脂可為在與該UV雷射接觸之後光化學固化以形成單層之光聚合物。在逐層製程中可添加並固化額外樹脂。立體微影可用於以自上而下或自下而上加成製造方法建構模組。

【0142】 用於建構反應器模組之替代方法可包含形成3-D螺旋二十四面體結構之聚合物(例如，嵌段共聚物)之自組裝，或減成製造方法。減成製造方法可包含化學或機械移除犧牲材料。例如，犧牲材料可使用利用燒結雷射之黏附製造來形成。犧牲材料可經浸入、浸漬或以其他方式塗佈於生物相容性聚合物中。犧牲材料可接著經溶解或機械移除以自生物相容性聚合物形成3-D螺旋二十四面體結構。

定製生物反應器及系統

【0143】 本文中之生物反應器模組及系統可針對特定細胞類型及特定生物產物輸出而設計及定製。特定言之，生產生物反應器可針對特定及個體化用途而設計。迷你模組之體積、各迷你模組內之通道、迷你模組層

級之數目及巨觀結構可經選擇以提供細胞環境(例如，生長條件)以實現給定細胞密度、細胞分裂速率、液體剪切力及適應液體培養基、用於採集生物產物之液體(諸如分解及/或分餾細胞組分之溶劑)、液體流速、氣體組合物及氣體流速之選擇。

【0144】 在一些實施例中，系統包含用於最佳化結合一或多個細胞之生物反應器模組及細胞環境之機構。該最佳化機構可包含自系統內之一或多個感測器及相機接收關於細胞環境(E)及細胞行為(B)之資訊之資料迴路。另外，對於輸入至系統中之細胞，可將用於細胞類型之基因資訊(G)輸入至最佳化機構中以提供諸如 $G * E = B$ 之關係。

【0145】 在一些實施例中，細胞環境係在一或多個參數(諸如pH、液體培養基組分、氣體組合物、流速)上改變且針對各變動(E_1 至 E_n)及在各環境變動下之所得細胞行為(B_1 至 B_n)收集關於細胞環境之資訊。在一些實施例中，所輸入之細胞改變(諸如不同遺傳學，例如，在分裂速率、營養物消耗、形態、壓力耐受性上改變之細胞)且針對各細胞變動(G_1 至 G_n)及在生物反應器中之環境下之所得細胞行為(B_1 至 B_n)收集關於各細胞之資訊。在一些實施例中，在細胞環境及細胞遺傳學中使用變動，及量測行為，使得各細胞變動(G_1 至 G_n)愈多，最佳化機構就在一個以上細胞環境(E_1 至 E_n)下量測行為(B_1 至 B_n)。最佳化機構對跨細胞遺傳學及細胞環境之 $G * E = B$ 關係進行排名，指示或以其他方式比較該等 $G * E = B$ 關係以提供關於在各種測試細胞環境下不同細胞遺傳學之相容性、最佳化及排名之資訊。最佳化機構可藉此基於細胞遺傳學、細胞環境或兩者最佳化生產。最佳化機構可藉此提供最佳化生產生物反應器之參數，包含定製生物反應器之設計及針對細胞類型及用於生產之輸出之定製細胞環境條件。

【0146】 在一些實施例中，最佳化機構係電腦控制裝置。在一些實施例中，最佳化機構包含採用來自一個變動或一組變動之資料以產生用以測試之下一變動或下一組變動之機器學習演算法。在一些實施例中，本文中所描述之系統、裝置及方法可在零重力下或在微重力條件下使用，使得細胞在零重力或微重力條件中生長。

實例性生物反應器模組及系統

【0147】 本文中所提供之生物反應器模組可分開使用或組合使用以建構用於生產、最佳化及在一些情況中儲存細胞之系統。在一些實施例中，本文中所描述之系統、裝置及方法可在零重力下或在微重力條件下使用，使得細胞在零重力或微重力條件中生長。圖1中展示3模組系統之實例性實施例。在此實例性實施例中，三個生物反應器互連至該系統：細胞晶片200、沙箱生物反應器400及生產生物反應器800。液體培養基係在培養基配製器101中混合且移動以供電穿孔儀20清潔。該電穿孔儀可包含冷卻器21以使液體培養基之溫度達到系統之操作溫度。泵40使液體培養基自配製器101移動至電穿孔儀20中。泵50使培養基流動通過氣泡捕獲器60以移除藉由電穿孔處理產生之氣泡且氣泡感測器70針對正確無氣泡狀態監測流動通過之培養基。培養基接著到達貯器30。在一些實施例中，貯器30係由兩個或兩個以上貯器構成，使得在裝滿時，第一貯器在第二貯器正在裝填時提供液體培養基至生物反應器模組。各生物反應器模組200、400及800在分別使用泵100、110及120時自貯器接納液體培養基。使用可包括用於各氣體組分之一或多個氣體儲存裝置之氣體供應器500供應氣體至生物反應器。氣體供應器可包含用於混合及調節至生物反應器之氣體組合物及氣體流動(包含分別至各生物反應器模組之不同混合物及不同流速)之

控制裝置。

【0148】系統及生物反應器亦可包含特定輸出容槽及裝置。包含液體培養基輸入及流通之各生物反應器亦可包含流體處置裝置。常見流體處置器600可用於自所有生物反應器模組收集用過的液體培養基。類似地，對於包含氣體輸入及流通之各生物反應器，氣體處置器可收集用過及細胞分泌之氣體組合物。常見氣體處置器550可用於自所有生物反應器模組收集輸出之氣體。

【0149】生物反應器之使用或在多個生物反應器之系統中包含一或多個感測器以監測包含物理參數、生物參數及化學參數以及其等之組合之一或多個參數。圖1中所展示之實例性感測器包含用於監測培養基配製器之感測器80、用於監測電穿孔儀之感測器81及用於監測一或多個貯器之感測器82。額外感測器83監測來自細胞晶片模組之輸出。感測器84及85監測分別來自沙箱模組之液體及氣體輸出。類似地，感測器86及87監測分別來自生產生物反應器模組之液體及氣體輸出。

【0150】一或多個生物反應器之系統可進一步包含生物反應器模組之間的互連。如圖1之實例性系統中所展示，細胞晶片係藉由連接件280互連至沙箱模組且可經調節以容許細胞自細胞晶片之輸出端傳遞至進入沙箱模組中之輸入端。連接器380允許來自沙箱模組之輸出端之細胞流動至生產生物反應器模組之輸入端。連接器480係生產生物反應器之輸出端至收集容槽或裝置收集器700之間的互連件。收集器700可自生產生物反應器800收集細胞、生物產物或其等之組合。在一些實施例中，收集器700可包含過濾器、隔膜或用於分離(諸如分離細胞與液體培養基、分離生物產物與細胞及分離細胞組分或在細胞組分之間分離)之其他單元及/或模

組。

【0151】 圖2A中展示細胞模組201中之實例性細胞環境205。在此實例中，細胞晶片包含閘捕獲器220、多個抽吸捕獲器240及多個溢出捕獲器260。用於提供培養基至細胞環境之培養基輸入埠202係在輸入端處。用於採集在細胞晶片模組中生長之細胞之採集埠210係在相對端處(在液體培養基流動方向上)。圖2B中展示用於細胞晶片201之實例性培養基迴路230之細節。該培養基迴路可包含輸入培養基埠231、輸出培養基埠233及培養基饋送通道235。圖2B中展示用於細胞晶片201之實例性氣體迴路250之細節。該氣體迴路可包含輸入氣體迴路251、輸出氣體迴路253及氣體分配通道255。圖2C展示具有培養基迴路230、氣體迴路250及細胞環境205之配置之實例之細胞晶片201的側視圖。

【0152】 圖3A至圖3F展示與細胞晶片模組一起使用之實例性捕獲器。在圖3A (俯視圖)及圖3B (側視圖)中用圖解法表示經展示為靠近培養基輸入埠202之實例性閘捕獲器221。該閘捕獲器係由圍繞內部空間之流量保護器225構成，該保護器225在其等之間具有限制細胞203自捕獲器之該內部空間流出之開口227。在一些實施例中，保護器225之間的開口227經設定大小為待生長於細胞晶片上之細胞之直徑的兩倍。在一些實施例中，開口227經設定大小為大於待生長於細胞晶片上之細胞之直徑。可使用接種埠223將細胞接種至晶片上及至閘捕獲器221中。

【0153】 圖3C及圖3D自俯視圖(圖3C)及側視圖(圖3D)展示實例性溢出捕獲器260配置。該等捕獲器係由經配置以在三個側上圍繞內部空間之渠化箱壁245之配置構成且在形成中產生壁區段之間的開口247。開口247之大小可針對待生長於晶片上之細胞定製。在一些實施例中，開口

247之直徑小於活細胞之直徑，但大於死細胞之直徑，使得活細胞203保持捕獲於渠化箱壁245之內部空間中，直至其等達到足以溢出箱配置之數目，而死細胞通過開口247且未被保持於渠化箱壁245之內部空間內。

【0154】 圖3E及圖3F中以俯視圖及側視圖展示實例性抽吸捕獲器240。該等捕獲器具有多孔場262及環境壁264。該多孔場經設計使得細胞之大小超過孔徑。

【0155】 圖4A至圖4E顯示實例性沙箱模組及其等之組件。圖4A顯示實例性沙箱片段405。該實例性片段包含其中細胞及相關聯細胞環境流動至混合模組420中之通道445，在混合模組420中來自通道443之液體培養基與細胞混合且隨後混合物流動至細胞腔室410中以用於細胞生長及視需要藉由一或多個感測器或相機量測。圖4B顯示實例性沙箱模組細胞環境401，其包含串聯及並聯接合之多個片段、來自沙箱模組之細胞輸入440及細胞輸出460。各實例性片段包含混合模組(例如，421、422、423)及細胞腔室(例如，411、412、413)。圖4C展示用於實例性沙箱細胞環境401 (底部)之氣體迴路470 (頂部)之實例。圖4D展示具有培養基輸入之液體培養基迴路480 (頂部)之實例及細胞輸入通道490 (底部)之實例。圖4E展示液體培養基迴路480、氣體迴路470及細胞輸入通道490疊對至實例性沙箱細胞環境401上以建構自俯視圖及側視圖展示之實例性沙箱模組400之實例。

【0156】 圖5顯示實例性生產生物反應器800，其包含使細胞進入該生物反應器之接種埠802，及其中細胞流動至生物反應器中且與液體培養基及其他細胞環境組分混合之細胞分配結構804。液體培養基輸入端820

允許將液體培養基引入至生產生物反應器中，接著使用培養基連接件(例如，824)透過培養基饋送系統822分配該液體培養基，且收集826未使用之培養基。氣體在氣體輸入端810處進入且藉由氣相通道814分配遍及生物反應器，且透過氣體輸出端818輸出。氣體及/或由細胞生產之產物可透過埠870被採集。

【0157】 圖6A至圖6C顯示與本文中所描述之生產生物反應器一起使用之巨觀結構之實例。圖6A展示實例性角錐體巨觀結構881及與培養基分配系統883疊對之角錐體巨觀結構。圖6B展示實例性中空角錐體巨觀結構885及887。圖6C展示實例性圓木巨觀結構489。

【0158】 在一些實施例中，用於生產生物反應器之巨觀結構係由迷你模組構成，各迷你模組可具有給定形狀(諸如雙螺旋二十四面體或經修改雙螺旋二十四面體)。圖7A展示用於建構用於生產生物反應器之一或多個迷你模組之經修改雙螺旋二十四面體形狀841的實例性實施例。如圖底部中所展示，雙螺旋二十四面體迷你模組係示意性地表示為諸如在圖6A至圖6C之巨觀結構中所展示之方塊841A。經修改雙螺旋二十四面體形狀841可包含相842及844，該等相842及844在經組裝時(諸如在圖7B中所顯示)可組裝成疊對通道843及845。此外，隔膜間空間846係在相842與相844之間。圖7C展示顯示遍及通道之恆定直徑之實例性通道842之部分之實例性掃描。

迷你模組組裝成巨觀結構

【0159】 可將本文中所描述之迷你模組組裝成巨觀結構，從而提供對培養基及氣體流量及分配之標定控制。在一些實施例中，迷你模組係組裝成巨觀結構以產生生產生物反應器之經修改雙螺旋二十四面體(DG)。

圖9A至圖9F繪示以第一迷你模組(例如，DG)開始且組裝額外迷你模組，使得重複幾何結構以形成三維(3-D)矩陣之組裝，該3-D矩陣之生長係限於三個可能維度之兩者。一個迷你模組至另一個迷你模組之連接點被稱為「嘴」。相同定向之經互連迷你模組之此第一總成被稱為「層」。該層可經配置成(例如)長菱形形狀，使得在一些實施例中，若相同數目個模組係在選定方向上連接，則所得生長不成比例且因而層之生長相對於彼此不規則。在一些實施例中，層經配置成正方形形狀或使得所得生長係成比例的。圖9D至圖9F繪示層組裝及生長之實例性實施例。

【0160】 在各層之邊緣上，迷你模組之未連接嘴可用於使該層與其他功能性(諸如培養基流動或氣體之輸入及用過的培養基、用過的氣體之輸出及細胞及由細胞生產之生物產物之輸出)連接。

【0161】 在一些實施例中，迷你模組之層總成(「第一矩陣」)可與迷你模組之層之第二總成(「第二矩陣」)共置，藉此該第二矩陣佔據該第一矩陣留下之自由空間，且藉此佔據相同體積之該等矩陣無接觸點，且維持恆定最小距離。圖10A至圖10F中展示兩個矩陣之實例性總成。圖10A展示內接於立方體中之雙螺旋二十四面體之部分之實例。圖10B展示圖10A之結構之正交及剖視圖。圖10C及圖10D展示第二層相對於第一層之生長方向之實例。圖10E展示自角錐體減去且逆時針方向生長之體積之實例。圖10F展示巨觀結構沿著中空角錐體之垂直軸之順時針方向生長之實例。

【0162】 在一些實施例中，迷你模組係組裝成中空角錐體巨觀結構。中空角錐體具有中空中心及不斷增大之橫向截面之體積。使用該中空角錐體巨觀結構，饋送迴路可服務外周邊及內周邊兩者。對於中空角錐體

之建構，矩陣具有連結至分配器之初始層及繼而連接至收集器之層。該初始層之上部嘴之數目，如該層之連接至收集器之下部嘴之數目一樣，可屬於集合 $M = 2^n$ 。以此方式，確保連接通道或樹可以平衡方式成對分支。樹可為無氣泡生物反應器之經分配結構(輸入)及收集(輸出)。在輸入及輸出兩者中，通道可自單個通道轉變或分支成 2^n 個通道。層之間的體積(此係在流動方向上添加於一層與下一層之間的迷你模組之數目)之增加係藉由生物反應器確定且藉由以下項排序：(i)在其外周邊之邊緣之間的交替生長意義；及(ii)其內周邊(即，內部中空中心之周邊)之增加。例如，若 N 係中空角錐體之外周邊之邊緣之一者中之模組的數目，則 n 係構成中空角錐體之內周邊之邊緣之一者之迷你模組的數目，接著若在一層處 $N = (8;8)$ ，則 $n = (4;4)$ (參見圖12)。此邏輯係在各層中之角錐體之外邊緣之間並在順時針意義上(考量到流動方向)交替重複。結果係其中其階狀部形成琢面螺旋形之階狀角錐體。內周邊亦具有螺旋式生長，但具有低於外周邊之頻率，且內周邊之生長方向係與外周邊之生長方向相反(參見圖13A及圖13B)。內外螺旋形與流動方向之間的相互作用導致使培養基在中空角錐體結構內流動之渦流式移動。

【0163】 在一些實施例中，饋送系統係透過一或多個子通道連接至生物反應器。饋送迴路之子通道可在給定層之各面上以等距圍繞生物反應器中之一或多個層之周邊。子通道可在迷你模組之一或多個嘴處連接作為層之邊緣。圖11A至圖11F中展示實例性連接件組。

【0164】 在一些實施例中，饋送迴路在1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個或8個以上點處連接至生物反應器。在實施例中，饋送迴路服務中空角錐體巨觀結構生物反應器且饋送迴路具有5個子通道之

劃分。此等子通道之一者延伸至角錐體內部通道之內部中且其餘饋送子通道平行於各層之邊緣(外部通道)。饋送迴路之壓力及流量平衡係透過饋送系統之外部通道與內部通道之比例性來維持。圖14中展示用於中空角錐體形狀之實例性饋送迴路。

【0165】 在一些實施例中，生物反應器之巨觀結構係薄片。在一些實施例中，饋送系統係透過一或多個子通道連接至生物反應器。饋送迴路之子通道可在給定層之各面上以等距圍繞生物反應器中之一或多個層之周邊。子通道可在迷你模組之一或多個嘴處連接作為層之邊緣。圖11A至圖11F中展示實例性連接件組。

【0166】 在一些實施例中，生物反應器採用由迷你模組(諸如DG)組成之薄片巨觀結構。薄片巨觀結構具有恆定厚度及包括迷你模組之不斷增大之橫截面之薄板。該薄板之恆定厚度容許均勻接取來自饋送迴路之物質。層之間的體積(此係在流動方向上添加於一層與下一層之間的模組之數目)之增加係藉由生物反應器確定且藉由在薄板之最短邊緣之間的交替生長意義來排序(例如，參見圖15)。在薄片巨觀結構中，可能具有一個或一個以上薄板，例如，並聯配置之2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個或8個以上薄板。各薄板之間的空間可用於放置饋送迴路或饋送迴路之饋送薄板中之模組之部分(例如，參見圖16)。

【0167】 在一些實施例中，迷你模組係組裝成樹(棋盤式巨觀結構)，該樹具有與迷你模組層縱向交叉之恆定橫截面之至少一中空行。在一些實施例中，樹(棋盤式巨觀結構)具有1個、2個、3個、4個或4個以上此等行。該等行可用於提供透過依循縱向行之通道輸送液體培養基及其他物質之區域。用過的培養基、氣體、細胞及生物產物之收集可在結構之外

部面之一或多者或所有者上進行，藉由行中心與面之間的壓力差驅動。圖17中展示實例性樹(棋盤式巨觀結構)，且圖18中展示實例性饋送及收集配置。

生物反應器連接系統

【0168】 模組可藉由一或多個連接系統連接、耦合或流體連通。圖19A及圖19B展示實例性連接系統，其包含介於細胞晶片模組與流體源或流體收集模組之間的連接器。該連接器包含支撐件及允許流體及/或含細胞流體進入及流出之一組中空針。在一些實施例中，連接器透過該等針連接至第一模組(諸如細胞晶片模組)。針可經配置為若干組，使得各組針可包含用於輸入流體之針及用於自細胞晶片模組輸出流體之另一針。針之一端係用於進入至細胞晶片模組中之腔室或通道中且針之另一端可連接至流體源，連接至收集裝置或另一模組。

【0169】 在一些實施例中，該組針包含至少一輸入針及一個輸出針。在一些實施例中，具有複數組針。各組針可經引導至分離腔室及/或分離通道，流體經引導至該分離腔室及/或該分離通道以用於輸入或經移除以用於輸出。

【0170】 在一些實施例中，連接器可將細胞晶片模組連接至可用於對細胞晶片模組供應流體且視需要移除用過的流體之一或多個流體(諸如培養基、營養補充劑、化學輸入、胰蛋白質、洗滌/緩衝溶液)源。在一些實施例中，連接器可將細胞晶片模組連接至第二模組(諸如沙箱生物反應器或生產生物反應器)，諸如用於將細胞自一個模組轉移至另一個模組。

【0171】 在實施例中，連接系統包含清潔腔室，使得針在進入模組(諸如細胞晶片模組)之前被清潔及/或滅菌。在實施例中，該清潔腔室係在

該細胞晶片模組之一端處之一或多個分離腔室。(若干)清潔腔室係藉由隔板定界於第一端上，該隔板容納清潔腔室使其免受環境影響且針可透過該隔板自一端穿孔至清潔腔室中。清潔腔室可藉由安全膜或其他邊界定界於第二端上，該安全膜或其他邊界可將清潔或滅菌流體(或氣體)容納於清潔腔室內。在此等實施例中，連接器係在針之另一端處連接至流體源，諸如具有清潔或消毒劑及(若干)洗滌溶液之流體源。

【0172】 通道係在安全膜或邊界之另一側上。一旦經清潔並滅菌，針便可透過安全膜或邊界被放置於該通道中。通道可為使培養基自針流動至細胞晶片中之其他位置之培養基通道。通道可為細胞採集通道，存在於晶片中之細胞(諸如在晶片中生長並增殖之細胞)接著可自該細胞採集通道被引導至通道且接著透過針被引導至分離模組或採集組件。通道可為廢物通道，用過的培養基可透過該廢物通道被引導及自晶片移除。

【0173】 圖19C展示由連接器系統進行之至容納培養基、消毒劑之組件以及至廢物收集及沙箱模組之連接之實例性實施例。連接管或通道自連接器系統連接且利用閥以將流體自連接器引導至適當來源、收集器或模組。

【0174】 圖19D展示具有穿透細胞晶片模組中之第一腔室諸如用於清潔並滅菌之針之連接系統的實例性實施例，其繪示在清潔程序期間之連接系統之實例性實施例，具有自容納消毒流體之組件至細胞晶片中之消毒腔室之流體流動且使各組針之一者移除用過的消毒流體。

【0175】 圖19E展示具有在清潔/滅菌之後穿透第二腔室之針之連接系統的實例性實施例。第一組針(左)經定位使得輸入針進入培養基通道/腔室且容許新的培養基流動至細胞晶片模組中。中間組針經定位使得一個針

經定位用於自細胞晶片模組中之通道輸出用過的培養基及培養物廢物。第三組針(右)經定位使得僅輸出針進入腔室/通道且經定位用於自細胞晶片模組輸出培養基及細胞。

用於黏附細胞培養之模組

【0176】 在另一態樣，本發明提供用於培養細胞之方法。該方法可包含將複數個細胞提供至黏附生物反應器。該黏附生物反應器可包括至少一通道及微多孔隔膜。黏附生物反應器可為細胞晶片模組或沙箱生物反應器之部分。可允許細胞之至少部分黏附至該至少一通道之表面，使得複數個細胞之該至少部分在通道之該表面上生長及/或複製以產生附著細胞。液體培養基可自至少一通道流動通過微多孔隔膜。使該液體培養基自通道流動通過微多孔隔膜可洗滌黏附細胞(諸如用新鮮培養基或無菌洗滌緩衝液)，或可經採用以使細胞自通道之表面脫離或可洗滌經脫離細胞。經脫離細胞(例如，懸浮細胞)可藉由使具有細胞之另一液體培養基流動通過通道而被收集。黏附生物反應器可流體地耦合至細胞晶片模組、沙箱生物反應器、生物反應器(例如，生產生物反應器)或其等之任何組合。該細胞晶片模組可提供細胞至黏附生物反應器。黏附生物反應器可提供細胞至生物反應器(例如，生產生物反應器)。

【0177】 可在受控條件下在表面或人造基板上培養細胞或使細胞生長。例如，可在單層或其他表面生長組態中培養細胞。圖20展示用於黏附細胞培養之實例性分層模組。圖21A展示適用於黏附細胞培養之模組之實施例。細胞可黏附至適用於細胞黏附之材料(諸如PDMS)。在選定時間點或選定細胞密度下，黏附細胞可自黏附材料移除且釋放至周圍培養基中，諸如在流過黏附(例如，附著)細胞之液體中添加酶(諸如胰蛋白酶)，使得

可自模組採集細胞或其等之部分。

【0178】 在一些實施例中，黏附材料係藉由一或多個開放通道定界，藉此培養基伴隨黏附細胞流動。模組亦可含有容許培養基或其他流體通過之邊界(諸如微穿孔隔膜)，但細胞歸因於微穿孔之大小而無法通過該邊界。

【0179】 在一些實施例中，用於黏附細胞之模組可具有一或多個腔室。圖20中展示具有用於將細胞輸入至模組中之接種腔室、過濾腔室及附著腔室之實例性實施例。該等附著腔室可具有黏附材料，使得細胞黏附至其等表面。

【0180】 諸如藉由在培養基或流過黏附細胞或用黏附細胞培育之其他流體中包含胰蛋白酶，可自黏附位置移除細胞。一旦(諸如自PDMS材料)移出細胞，便可藉由用培養基或其他流體洗滌來移除胰蛋白酶，且接著使此等培養基或流體通過微穿孔隔膜，從而留下細胞。此等細胞可接著重新懸浮於新鮮培養基或其他液體中，且可使用通過通道之液體流動將細胞或其等之一部分移動至採集腔室或其他輸出通道以進行收集。

【0181】 圖21B至圖21E展示一實例性系列之細胞附著、用於細胞脫離之胰蛋白酶化及洗滌並採集。在一些實施例中，黏附細胞模組係細胞晶片模組或其部分。在一些實施例中，黏附細胞模組係沙箱模組或其部分。在一些實施例中，黏附細胞模組係沙箱模組或其部分(諸如一或多個迷你模組)之部分。

電腦系統

【0182】 本發明提供經程式化以實施本發明之方法之電腦系統。圖34展示經程式化或以其他方式組態以控制如經程式化之系統之所有內部程

序的電腦系統3401，該等內部程序諸如培養基配製及滅菌、流量控制、氣體流速、壓力及配製、透過嵌入式感測器之資料獲取(例如，物理、化學及生物資料)、感測器資料融合及命令控制迴路、影像處理及產生與各程序相關聯之資料集。電腦系統3401可調節本發明之系統內之細胞所見證之微環境條件之各種態樣，舉例而言，諸如培養基流速及子組分濃度、混合時間、貯器裝填；脈衝數、脈衝電壓、藉由電穿孔儀施加至培養基之工作週期、氣體流量及壓力、差分氣體溶液配製、針對一些或所有組分之差分氣體流量、針對一些或所有組分之差分流量培養基；針對一些或所有組分之差分pH值；針對一些或所有組分之差分溶解氣體、針對一些或所有組分之差分糖圖譜、針對一些或所有組分之溫差、針對一些或所有組分之取樣時間、針對一些或所有組分之物理、化學、生物參數(諸如溫度、pH、溶解氣體之量及類型、流量、細胞密度、糖圖譜)之分析，及生化分析(諸如蛋白質組學、代謝組學、轉錄組學及類似者)。電腦系統3401可為使用者之電子裝置或相對於該電子裝置遠端定位之電腦系統。該電子裝置可為行動電子裝置。

【0183】電腦系統3401包含中央處理單元(CPU，在本文中亦被稱為「處理器」及「電腦處理器」) 3405，該中央處理單元3405可為單核或多核處理器，或用於並行處理之複數個處理器。電腦系統3401亦包含記憶體或記憶體位置3410 (例如，隨機存取記憶體、唯讀記憶體、快閃記憶體)、電子儲存單元3415 (例如，硬碟)、用於與一或多個其他系統通信之通信介面3420 (例如，網路配接器)，及周邊裝置3425 (諸如快取區、其他記憶體、資料儲存器及/或電子顯示配接器)。記憶體3410、儲存單元3415、介面3420及周邊裝置3425係透過通信匯流排(實線) (諸如主機板)

與CPU 3405通信。儲存單元3415可為用於儲存資料之資料儲存單元(或資料儲存庫)。電腦系統3401可在通信介面3420之幫助下可操作地耦合至電腦網路(「網路」) 3430。網路3430可為網際網路(Internet、internet)及/或商際網路，或與網際網路通信之企業內部網路及/或商際網路。在一些情況中，網路3430係電信及/或資料網路。網路3430可包含可實現分佈式運算(諸如雲端運算)之一或多個電腦伺服器。在一些情況中，網路3430在電腦系統3401之幫助下可實施可使耦合至電腦系統3401之裝置能表現為客戶端或伺服器之同級間網路。

【0184】 CPU 3405可執行可體現於程式或軟體中之一序列機器可讀指令。該等指令可儲存於記憶體位置(諸如記憶體3410)中。可將指令引導至CPU 3405，該等指令可隨後程式化或以其他方式組態CPU 3405以實施本發明之方法。藉由CPU 3405執行之操作之實例可包含提取、解碼、執行及回寫。

【0185】 CPU 3405可為電路(諸如積體電路)之部分。系統3401之一或多個其他組件可包含於該電路中。在一些情況中，電路係特定應用積體電路(ASIC)。

【0186】 儲存單元3415可儲存檔案(諸如驅動程式、程式庫及經保存程式)。儲存單元3415可儲存使用者資料(例如，使用者偏好及使用者程式)。在一些情況中，電腦系統3401可包含在電腦系統3401外部(諸如定位於透過企業內部網路或網際網路與電腦系統3401通信之遠端伺服器上)之一或多個額外資料儲存單元。

【0187】 電腦系統3401可透過網路3430與一或多個遠端電腦系統通信。例如，電腦系統3401可與使用者之遠端電腦系統(例如，虛擬私人網

路、託管於諸如亞馬遜網路服務(AWS)、衛星通信之服務中之電腦)通信。遠端電腦系統之實例包含：個人電腦(例如，可攜式PC)、平板(slate或tablet) PC (例如，Apple® iPad、Samsung® Galaxy Tab)、電話、智慧型電話(例如，Apple® iPhone、Android啟用裝置、Blackberry®)或個人數位助理。使用者可經由網路3430存取電腦系統3401。

【0188】可藉由儲存於電腦系統3401之電子儲存位置上(舉例而言，諸如在記憶體3410或電子儲存單元3415上)之機器(例如，電腦處理器)可執行程式碼來實施如本文中所描述之方法。機器可執行或機器可讀程式碼可以軟體形式提供。在使用期間，可藉由處理器3405執行程式碼。在一些情況中，程式碼可自儲存單元3415擷取且儲存於記憶體3410上以供處理器3405就緒存取。在一些情境中，可排除電子儲存單元3415，且機器可執行指令係儲存於記憶體3410上。

【0189】程式碼可經預編譯及組態以與具有經調適以執行程式碼之處理器之機器一起使用，或可在運行時間期間編譯。可依可經選擇以使程式碼能以預編譯或按編譯方式執行之程式設計語言供應程式碼。

【0190】本文中所提供之系統及方法(諸如電腦系統3401)之態樣可以程式化來體現。技術之各項態樣可被視為呈機器(或處理器)可執行程式碼及/或相關聯資料(其係攜載於機器可讀媒體類型中或體現於機器可讀媒體類型中)之形式之「產品」或「製品」。機器可執行程式碼可儲存於電子儲存單元上，諸如記憶體(例如，唯讀記憶體、隨機存取記憶體、快閃記憶體)或硬碟。「儲存」類型媒體可包含電腦、處理器或類似者之有形記憶體之任一者或所有者，或其等之相關聯模組(諸如各種半導體記憶體、磁帶機、磁碟機及類似者)，其等可隨時提供非暫時性儲存以用於軟體程式

化。軟體之全部或部分有時可透過網際網路或各種其他電信網路通信。例如，此等通信可使軟體能自一個電腦或處理器載入至另一電腦或處理器中，例如，自管理伺服器或主機電腦載入至應用程式伺服器之電腦平台中。因此，可承載軟體元件之另一類型之媒體包含光波、電波及電磁波，諸如透過有線及光學固網網路及經由各種空中鏈路跨本端裝置之間的實體介面使用之光波、電波及電磁波。攜載此等波之實體元件(諸如有線或無線鏈路、光學鏈路或類似者)亦可被視為承載軟體之媒體。如本文中所使用，除非限於非暫時性、有形「儲存」媒體，否則諸如電腦或機器「可讀媒體」之術語係指參與提供指令至處理器以供執行之任何媒體。

【0191】 因此，機器可讀媒體(諸如電腦可執行程式碼)可採取許多形式，包含(但不限於)有形儲存媒體、載波媒體或實體傳輸媒體。例如，非揮發性儲存媒體包含諸如可用於實施圖式中所展示之資料庫等之光碟及磁碟，諸如(若干)任何電腦中之儲存裝置之任一者或類似者。揮發性儲存媒體包含動態記憶體，諸如此電腦平台之主記憶體。有形傳輸媒體包含同軸纜線、銅線及光纖(包含包括電腦系統內之匯流排之導線)。載波傳輸媒體可採取電信號或電磁信號或聲波或光波(諸如在射頻(RF)及紅外(IR)資料通信期間產生之電信號或電磁信號或聲波或光波)之形式。因此，電腦可讀媒體之常見形式包含(例如)：軟碟、可撓性磁碟、硬碟、磁帶、任何其他磁性媒體、CD-ROM、DVD或DVD-ROM、任何其他光學媒體、打孔卡紙帶、具有孔圖案之任何其他實體儲存媒體、RAM、ROM、PROM及EPROM、FLASH-EPROM、任何其他記憶體晶片或卡匣、傳送資料或指令之載波、傳送此載波之纜線或鏈路或電腦可自其讀取程式化程式碼及/或資料之任何其他媒體。許多此等形式之電腦可讀媒體可涉及攜載一或

多個序列之一或多個指令至處理器以供執行。

【0192】 電腦系統3401可包含電子顯示器3435或與電子顯示器3435通信，該電子顯示器3435包括用於提供(例如)設定、即時列出系統之每個階段之經量測變數之生物程序報告、匯出及匯入檔案(例如，組態檔案、更新)、校準、警報(例如，錯誤、維護、更換消耗品)之能力之使用者介面(UI) 3440。UI之實例包含(但不限於)圖形使用者介面(GUI)及基於網路之使用者介面。

【0193】 可藉由一或多個演算法實施本發明之方法及系統。可藉由軟體在由中央處理單元3405執行之後來實施演算法。例如，該演算法可使用回饋迴路調整控制系統之變數；藉由影像辨識及圖案分析、模糊邏輯以及硬及軟臨限值強制執行來偵測程序中之問題；透過機器學習(例如，監督、無監督及/或強化)使特定及非特定資料相關聯以最佳化系統內之程序條件、程序結果、模型化行為及模擬。

實例

實例1：模擬迷你模組之層中之流體流動及混合

【0194】 考量到流動係層流，可在兩個例項中解決模擬；一方面係速度場，且另一方面係對待分析之微生物之平流擴散輸送。在此情況中，決定使用以特定濃度進入模組之入口或不同耦合模組之入口之各分支之兩種物種(S1及S2)。對於S1根據水中之螢光素之擴散係數來建立擴散值，且對於S2根據其擴散係數降低2個數量級來建立擴散值。

【0195】 用以恆定每秒5微米($\mu\text{m} / \text{sec}$)考量之平均傳入率來模擬流之間的進展及混合程序，且自出口遍及整個截面追蹤物種之濃度。假定用於兩個傳入分支之流量係相等的，則可自良好混合預期傳入值之50%之濃

度。

【0196】 在圖22A中，單個迷你模組之剖視圖展示由物種之低擴散係數引起之較差或低混合情況，而在圖22B中，擴散係數較高且可瞭解成功混合。圖23A至圖23B展示經受模擬程序之十個迷你模組之組合之結果。展示純量分佈(表示細胞)及培養基之濃度(顏色)。一方面，可觀察到迷你模組之此特定分佈，其中細胞自頂部進入，且培養基通過側部進入，細胞不會在所有下部出口離開且培養基係不均勻地分佈(歸因於模擬中之短流動路徑)。圖25A至圖25C展示迷你模組模擬之另一配置係用6個模組層級來執行。在此配置中，第一層級以較大數目個模組開始，使得各層級中之模組之百分比增長較小(按列/層增加1模組行)且使用具有較少嘴之不同培養基傳入陣列。在此配置中，細胞之分佈及培養基培養之分佈皆為適當均勻的。

實例2：建構迷你模組之巨觀結構

【0197】 使用圖24中所展示之由DG迷你模組層組成且具有如所展示之饋送迴路之巨觀結構來設計生物反應器。採用使用商業樹脂之SLA 3-D列印機(Peopoly Moai)以3-D列印包含所有系統及連接件。圖23A及圖23B中展示作為剖視圖之經列印生物反應器。

【0198】 用SLA列印機及光可固化樹脂列印額外生物反應器。該設計包含呈「正向形(positive form)」之兩個相(兩個相之體積纏繞在一起，而沒有中間隔膜)。圖25A展示所使用之測試檔案之等角視圖，其包含幾層雙螺旋二十四面體(直徑：600微米(μm))及用於較佳操縱之固體基底。應注意，未放置各相之饋送系統。圖25B展示在PEGDA光可固化樹脂上之成功列印之測試檔案且圖25C展示使用商業樹脂之成功列印之測試檔

案。

實例3：演示通過迷你模組之流體流動

【0199】 使用商業樹脂之直射光投影類型3-D列印機係用於列印由具有輸入/輸出連接之4層及4x2模組之列組成之矩陣，其中螺旋二十四面體之直徑係500 μm 。經列印生物反應器係用紅色染料在一個輸入連接處注射。圖26A展示充滿紅色染料之迴路。執行由第一矩陣及第二矩陣組成之第二列印以形成雙螺旋二十四面體，兩個螺旋二十四面體皆具有直徑500 μm 。一個矩陣係用紅色染料在輸入連接處注射，且另一個矩陣用藍色染料注射。圖26B展示藉由顏色區分之2個矩陣。

實例4：晶片上之菌株

【0200】 圖27中展示使用設計建構之在晶片實施例上之實例性菌株。圖28展示在測定中獲得之影像隨時間之進展。為模擬微生物，將具有50微米之近似平均直徑之玻璃粒子如下般引入至結構。

【0201】 在埠2關閉之情況下，將蒸餾水流動自埠3施加至埠1。在初始階段中，迴路係用凍乾水充滿以用於模擬；對於微生物接種，迴路可首先用培養基充滿。關閉採集輸出端(2)且用玻璃粒子「接種」晶片以模擬微生物。流動行為將粒子輸送至腔室，且一旦埠2打開，透過多孔隔膜之抽吸效應便可將大多數粒子保持於適當位置中。

【0202】 迴路具有輸入埠3至4及培養基之輸出端(1)。藉由此組態，主迴路係透過埠3接種，結合將液體培養基(此處水)引入至埠4中。壓力平衡迫使培養基佔據次級迴路且藉由輸出埠1離開迴路。多孔隔膜用作過濾器，從而使經模擬微生物被捕獲於主迴路腔室中。

【0203】 一旦腔室充滿，便可關閉接種埠且啟用採集輸出端。歸因

於通過腔室之流動之動力學，在腔室中之粒子移動遠離中心軸時(參見圖28)，粒子之速度及對粒子之影響急劇減小。此增加次級迴路之抽吸效應，使居留於室中之微生物群體不斷增殖(當使用活生物體代替此實例中所使用之模擬時)。在微生物數目增加時，一些微生物移位至靠近來自埠4之流量之中心軸之特定點且被拖曳至埠2 (參見圖28)。圖29展示隨時間進程之離子移動。

實例5：實例性沙箱生物反應器單元

【0204】 圖30A展示具有混合模組、單個生長腔室及採集埠之實例性沙箱單元之設計。圖30B至圖30D展示由PDMS製成之經建構單元。在圖30B中，以每小時985微升(μL)之流速將水(無色)接種至中心通道中，且以每小時985 μL 之流速將具有藍色染料之水接種至各側通道中。在圖30C中，以每小時984 μL 之流速將水(無色)接種至中心通道中，且以每小時3335 μL 之流速將具有藍色染料之水接種至各側通道中。圖30C展示用側通道之間的不平衡流量接種之模組。

實例6：用多個互連單元建構沙箱生物反應器

【0205】 圖31展示用於實例性沙箱生物反應器模組之培養物迴路及氣體迴路之設計。模組之三層共用其中調整螺釘、墊圈及螺母以防止洩漏之一系列通孔。

【0206】 此模組中之培養基分佈層係用軟管形成之複合分佈系統。該等軟管可具有在50微米與500微米之間的直徑且可由生物相容性材料形成。藉由計算培養基之負載損失及比較該負載損失與各混合模組中之壓力來調整軟管之長度。PDMS層分離氣體層與培養物層。圖32展示沙箱之經列印培養物層。圖33展示經組裝層。具有藍色染料之水係用於自輸入埠接

種沙箱以展示通過沙箱模組之流動。

【0207】 雖然本文中已展示及描述本發明之較佳實施例，但熟習此項技術者將明白，此等實施例係僅藉由實例提供。本發明並不意欲由說明書內提供之特定實例限制。雖然已參考前述說明書描述本發明，但本文中之實施例之描述及圖解並不意欲以限制性意義解釋。熟習此項技術者現將想到不偏離本發明之數種變動、改變及替換。此外，應理解，本發明之所有態樣並不限於本文中所闡述之取決於各種條件及變數之特定描繪、組態或相對比例。應理解，本文中所描述之本發明之實施例之各種替代例可用於實踐本發明。因此，設想本發明亦應涵蓋任何此等替代、修改、變動或等效物。以下發明申請專利範圍旨在定義本發明之範疇且藉此涵蓋在此等發明申請專利範圍及其等效物之範疇內之方法及結構。

【符號說明】

【0208】

20	電穿孔儀
21	冷卻器
30	貯器
40	泵
50	泵
60	氣泡捕獲器
70	氣泡感測器
80	感測器
81	感測器
82	感測器

83	感測器
84	感測器
85	感測器
86	感測器
87	感測器
100	泵
101	培養基配製器/配製器
110	泵
120	泵
200	細胞晶片/生物反應器模組
201	細胞模組/細胞晶片
202	培養基輸入埠
203	細胞/活細胞
205	細胞環境
210	採集埠
220	閘捕獲器
221	閘捕獲器
223	接種埠
225	流量保護器/保護器
227	開口
230	細胞晶片培養基迴路/培養基迴路
231	輸入培養基埠
233	輸出培養基埠

235	培養基饋送通道
240	抽吸捕獲器
245	渠化箱壁
247	開口
250	氣體迴路
251	輸入氣體迴路
253	輸出氣體迴路
255	氣體分配通道
260	溢出捕獲器
262	多孔場
264	環境壁
280	連接件
380	連接器
400	沙箱生物反應器/生物反應器模組/沙箱模組
401	沙箱模組細胞環境/沙箱細胞環境
405	沙箱片段
410	細胞腔室
411	細胞腔室
412	細胞腔室
413	細胞腔室
420	混合模組
421	混合模組
422	混合模組

423	混合模組
440	細胞輸入
443	通道
445	通道
460	細胞輸出
470	氣體迴路
480	連接器/液體培養基迴路
489	實例性圓木巨觀結構
490	細胞輸入通道
500	氣體供應器
550	氣體處置器
600	流體處置器
700	收集容槽或裝置收集器/收集器
800	生產生物反應器/生物反應器模組
802	接種埠
804	細胞分配結構
810	氣體輸入端
814	氣相通道
818	氣體輸出端
820	液體培養基輸入端
822	培養基饋送系統
824	培養基連接件
826	收集

841	經修改雙螺旋二十四面體形狀
841A	方塊
842	相/通道
843	通道
844	相
845	通道
846	隔膜間空間
870	埠
881	角錐體巨觀結構
883	培養基分配系統
885	中空角錐體巨觀結構
887	中空角錐體巨觀結構
3401	電腦系統/系統
3405	中央處理單元(CPU)/處理器
3410	記憶體或記憶體位置
3415	電子儲存單元/儲存單元
3420	通信介面/介面
3425	周邊裝置
3430	電腦網路/網路
3435	電子顯示器
3440	使用者介面(UI)

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種生物反應器，其包括：

入口，其經組態以接納複數個細胞；

複數個迷你模組，其等與該入口流體連通，其中該複數個迷你模組之迷你模組包括雙螺旋二十四面體結構或經修改雙螺旋二十四面體結構，其中該複數個迷你模組經流體互連以提供經組態以使該複數個細胞流動之至少一微通道；及

出口，其與該複數個迷你模組流體連通，該出口經組態以將該複數個細胞或其等之衍生物引導出該至少一微通道。

【第2項】

如請求項1之生物反應器，其中該複數個迷你模組係以提供各具有恆定平均曲率之至少兩個非重疊微通道之方式互連。

【第3項】

如請求項2之生物反應器，其中該至少兩個非重疊微通道之第一微通道經組態以使液體培養基流動，且其中該至少兩個非重疊微通道之第二微通道經組態以使氣體組合物流動。

【第4項】

如請求項3之生物反應器，其中該至少兩個非重疊微通道之該第一微通道及該第二微通道係藉由多孔隔膜分離。

【第5項】

如請求項4之生物反應器，其中該第一微通道之面積相當於該第二微通道之面積，且其中該多孔隔膜之面積係該第一微通道及該第二微通道之

該等面積之總和。

【第6項】

如請求項1至5中任一項之生物反應器，其中該複數個迷你模組經組裝成巨觀結構，該巨觀結構係選自由角錐體、中空角錐體、薄片角錐體、薄片、棋盤式配置及圓木組成之群組。

【第7項】

如請求項6之生物反應器，其中該複數個迷你模組配置於該巨觀結構內之層中，且其中該等層經組態使得各層中之液體培養基之速度實質上相同。

【第8項】

如請求項1至5中任一項之生物反應器，其中流動通過該至少一微通道之液體培養基具有大於流動通過該至少一微通道之細胞之自由下落速度之速度。

【第9項】

如請求項7之生物反應器，其進一步包含經組態以使液體培養基流動至該巨觀結構內之該等層之各層的培養基輸入裝置，且其中藉由該液體培養基裝置提供至各層之液體培養基之體積在該等層之各者中維持實質上恆定細胞密度。

【第10項】

如請求項7之生物反應器，其中通過各迷你模組之液體培養基之該速度係藉由細胞分裂速率確定，使得細胞穿過單個迷你模組或迷你模組層之時間係實質上與該細胞分裂速率相同。

【第11項】

一種用於細胞之規模生產之方法，其包括：

將第一複數個細胞引入至如請求項1至10中任一項之生物反應器之該入口中；

將氣體組合物供應至該生物反應器中；及

使該等細胞在細胞分裂之條件下生長以製造第二複數個細胞；其中該第二複數個細胞在該複數個迷你模組之模組及該複數個迷你模組之另一模組之間轉運，且其中該第二複數個細胞自該生物反應器之該入口端轉運至該生物反應器之該出口端。

【第12項】

如請求項11之方法，其進一步包括自該出口收集該第二複數個細胞或其部分。

【第13項】

如請求項11或12之方法，其中該第一複數個細胞包括嵌合抗原受體T (CAR-T)細胞、幹細胞、重組細胞或分化細胞。

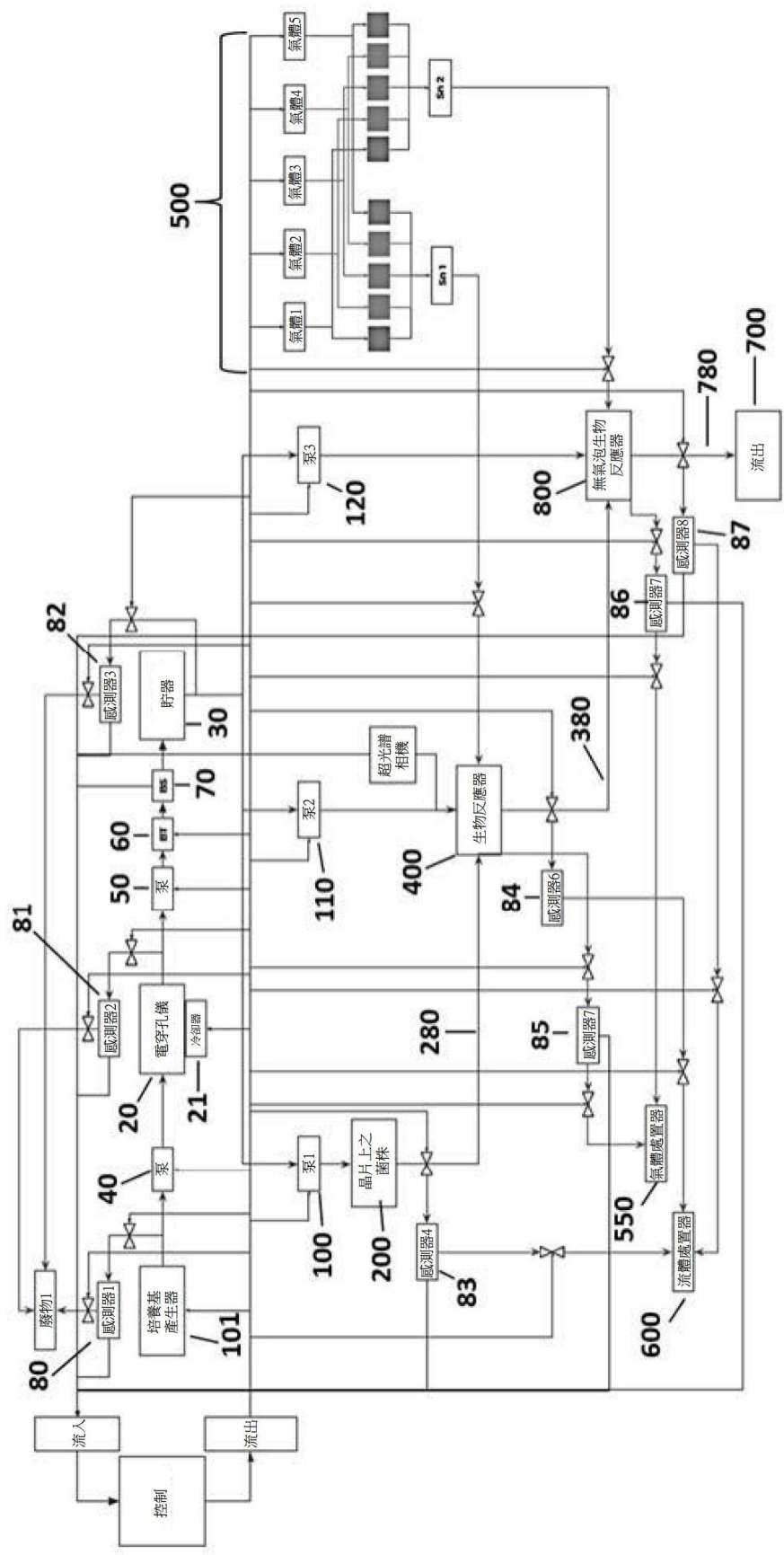
【第14項】

如請求項11或12之方法，其中該第一複數個細胞包括細菌細胞、真菌細胞、酵母細胞、真核細胞、植物細胞或藻類細胞。

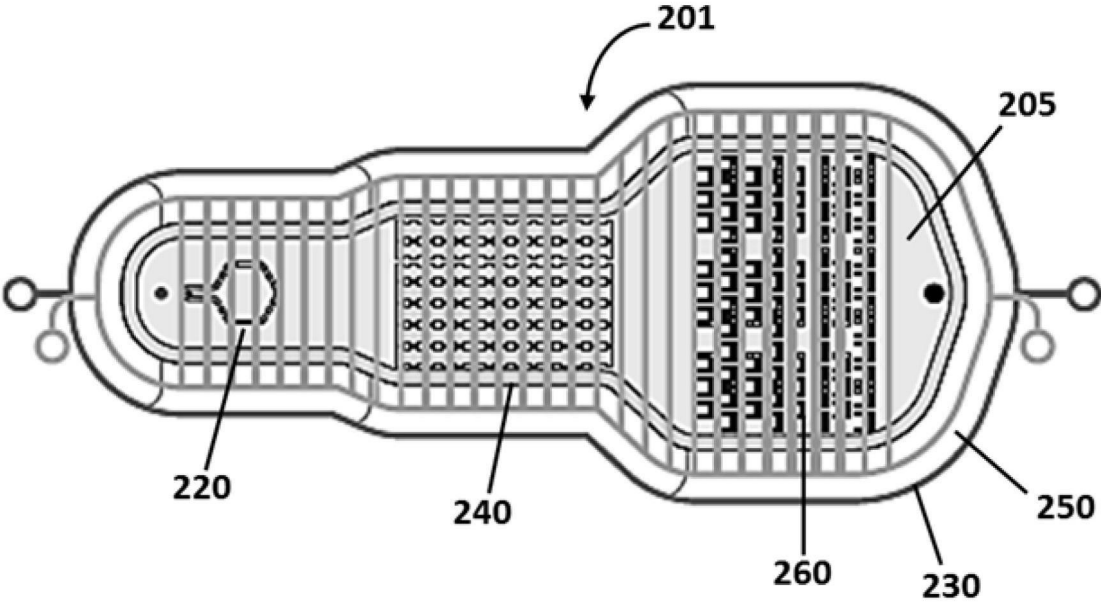
【第15項】

如請求項11或12之方法，其中該第二複數個細胞生產至少一生物產物，且其中自該生物反應器收集該至少一生物產物。

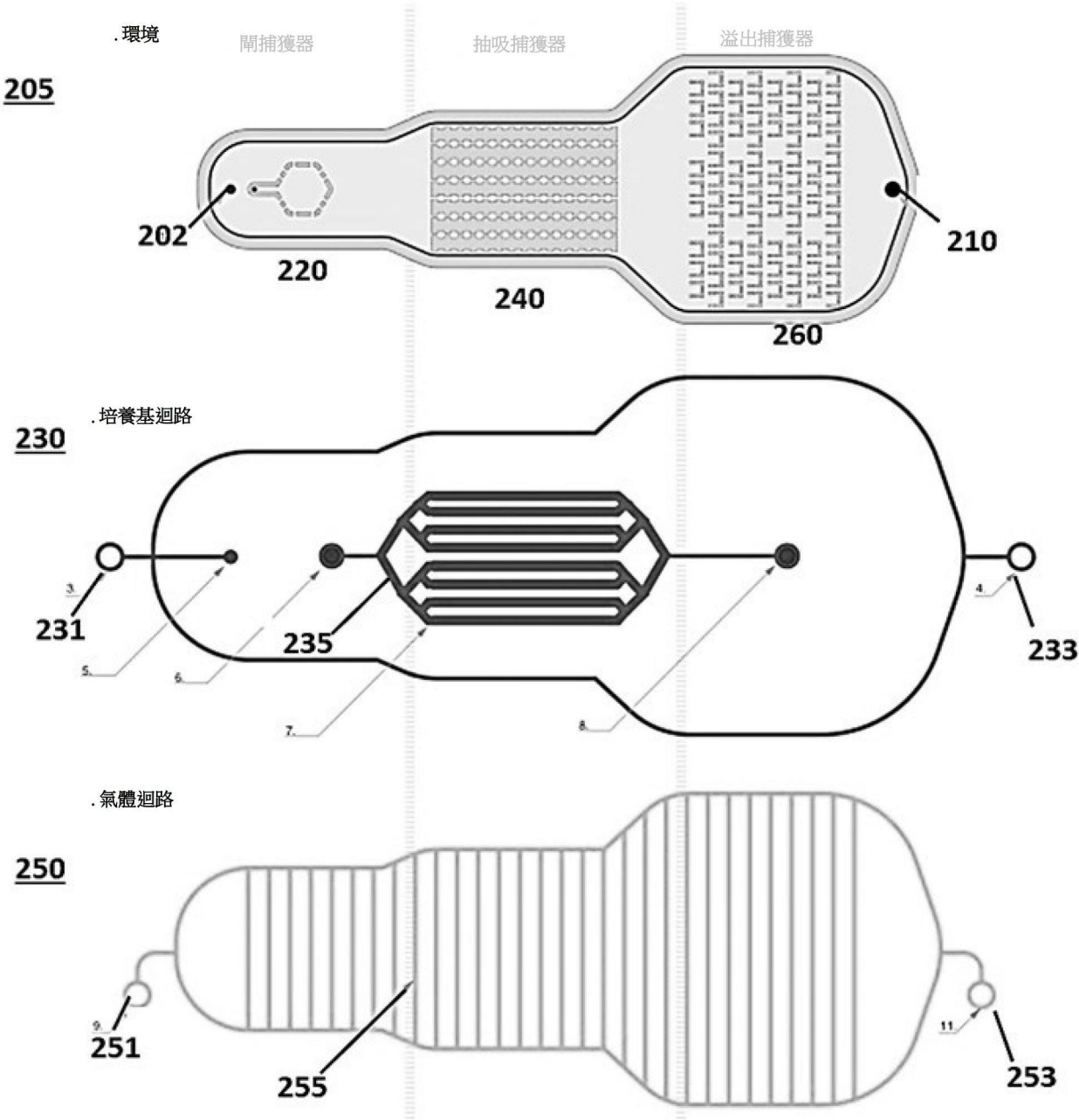
【發明圖式】



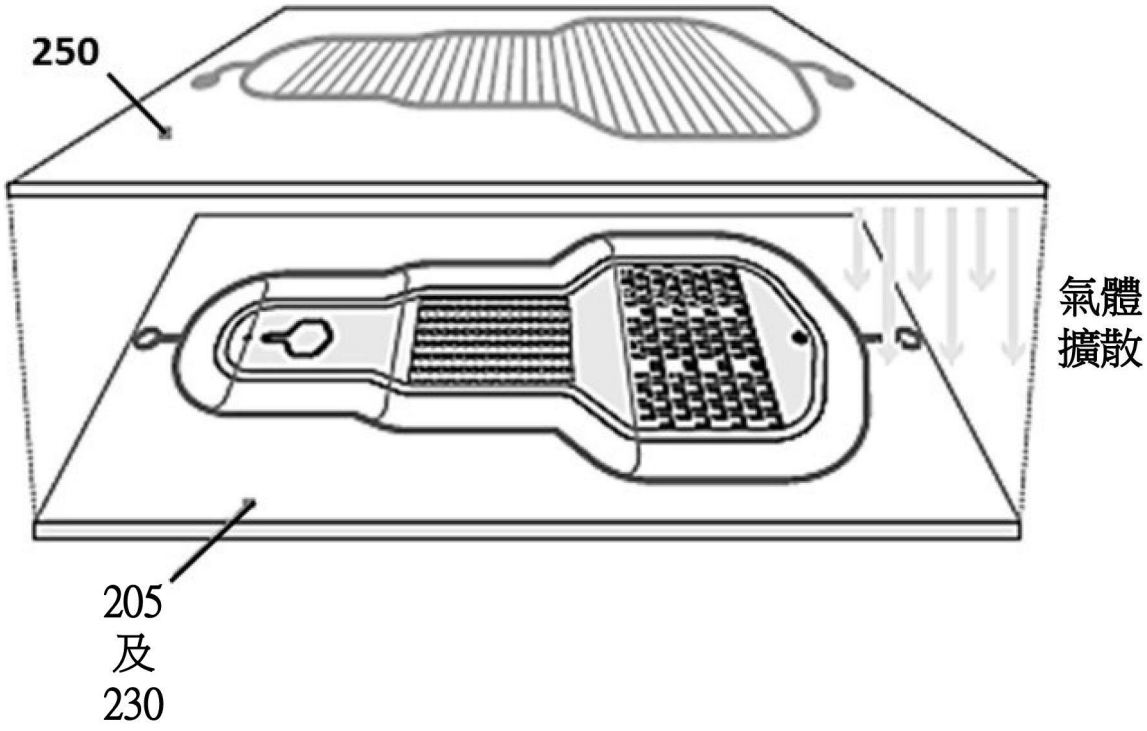
【圖1】



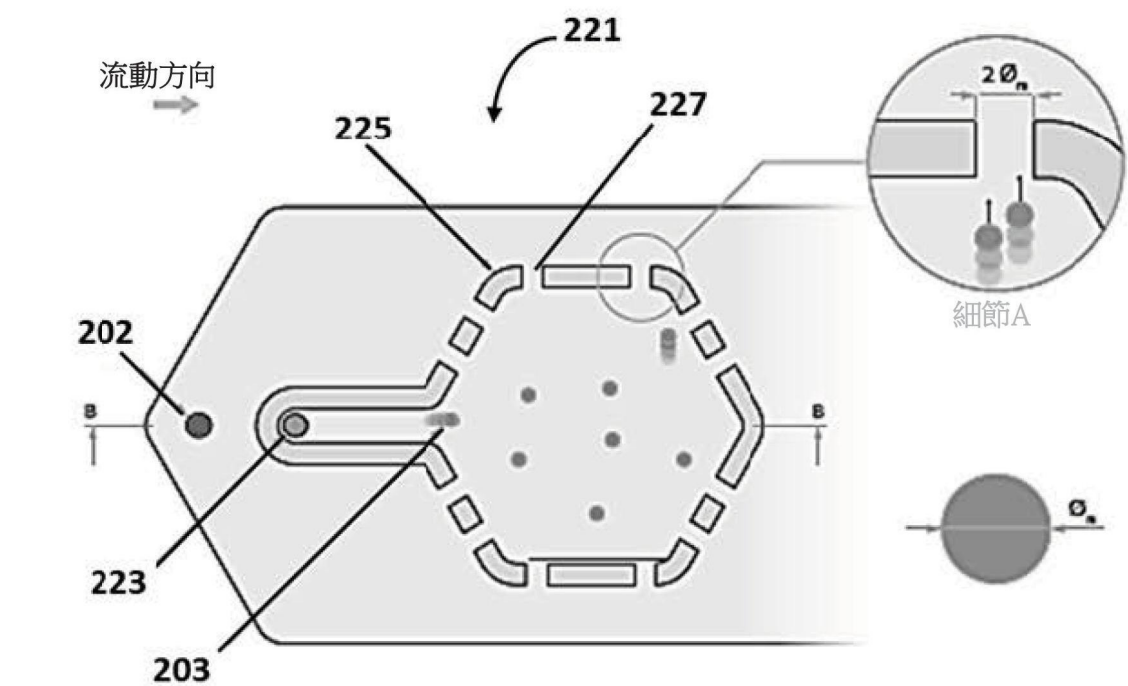
【圖2A】



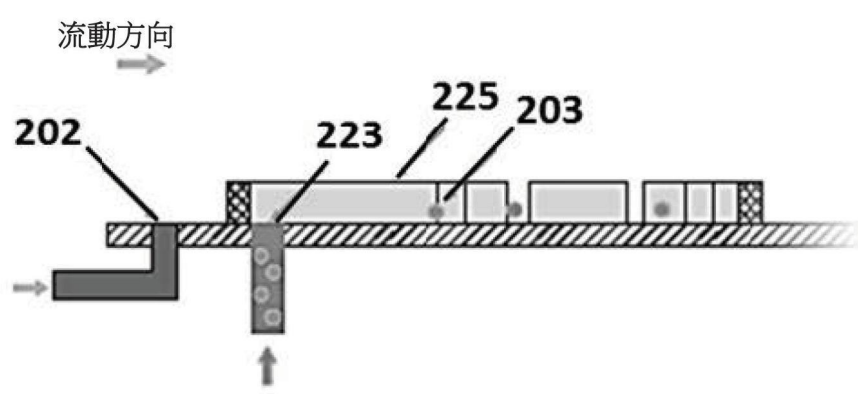
【圖2B】



【圖2C】



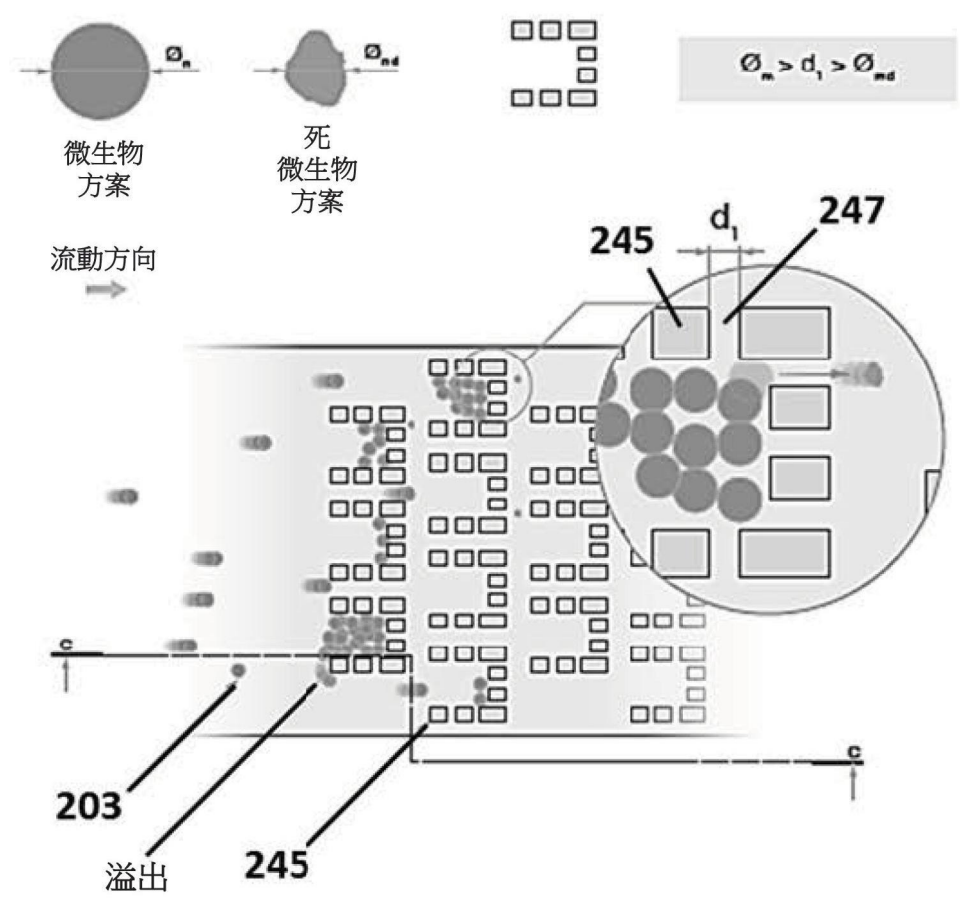
【圖3A】



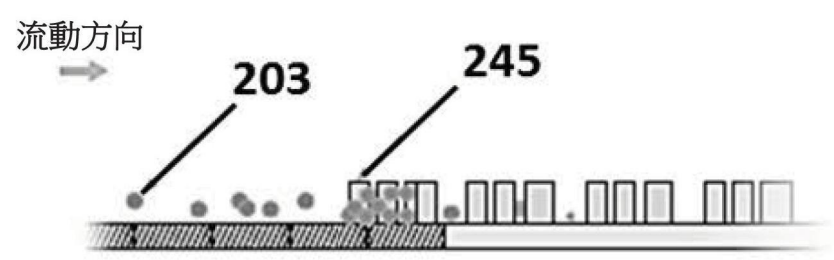
行為

低密度	→	低逸出計數
高密度	→	受控逸出率

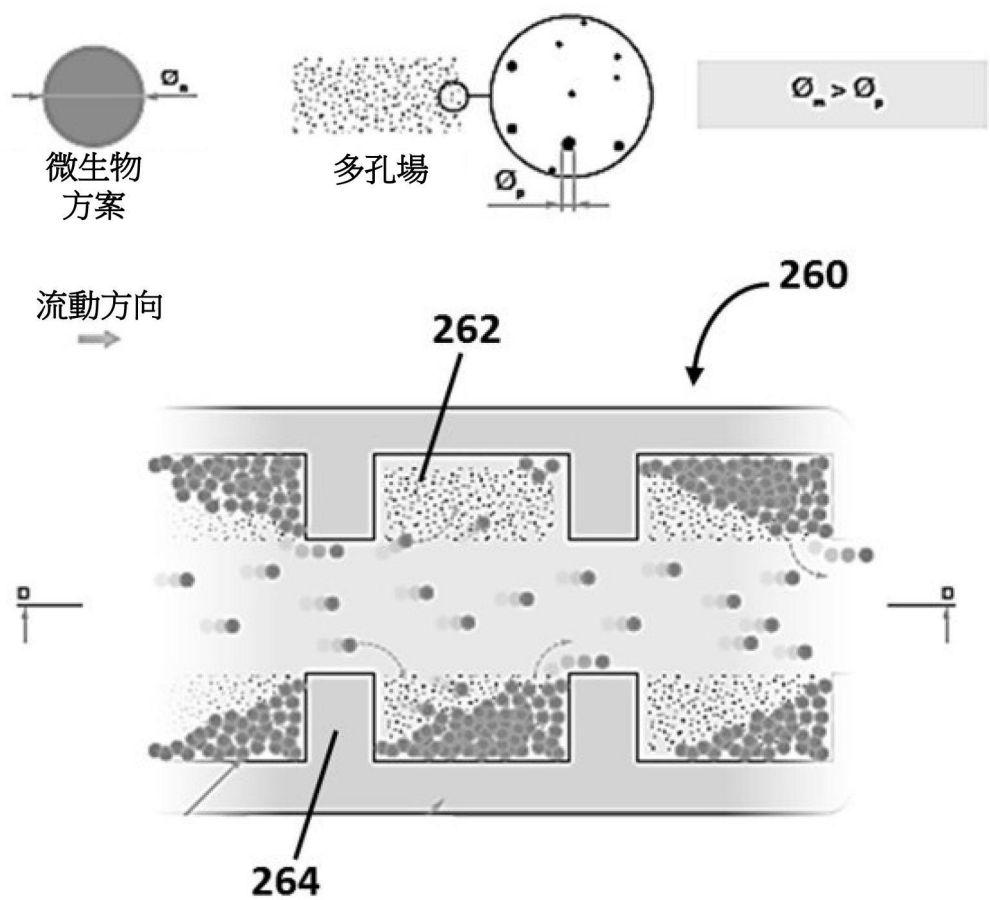
【圖3B】



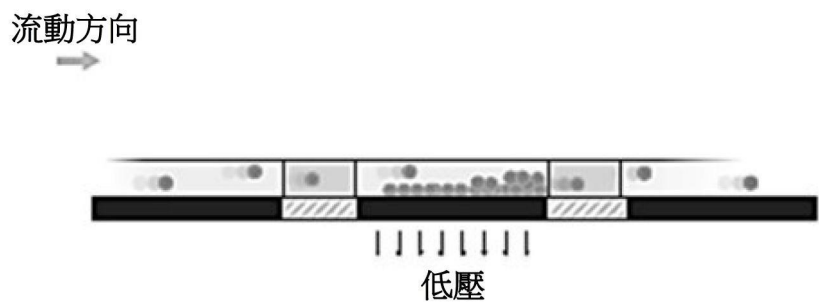
【圖3C】



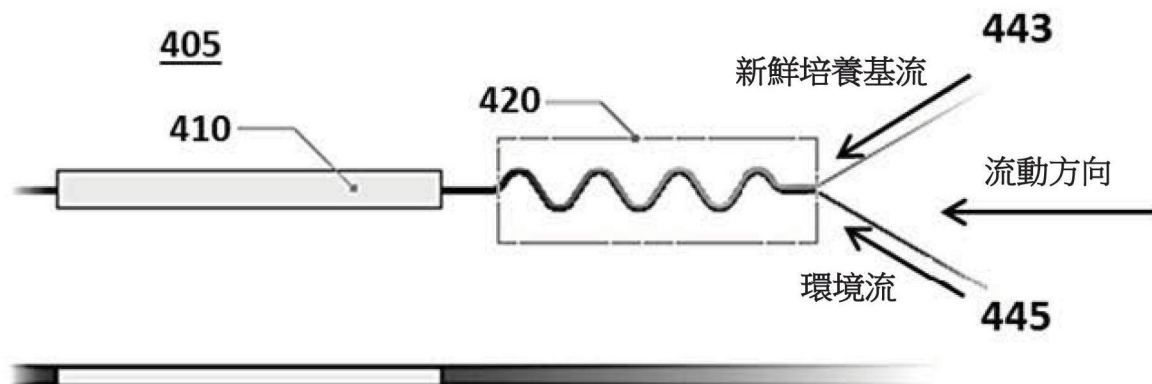
【圖3D】



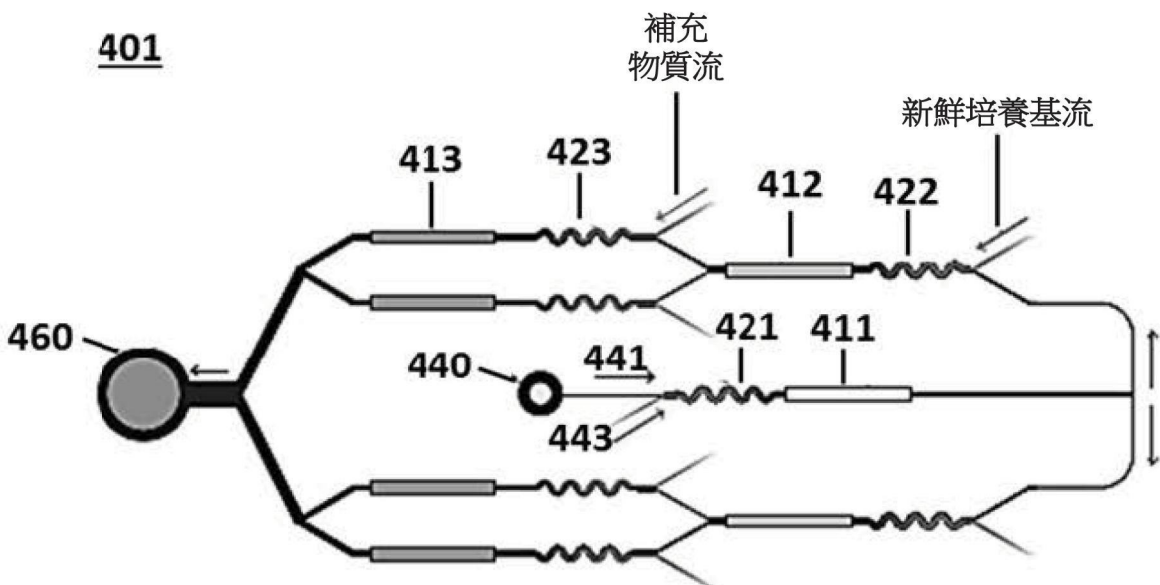
【圖3E】



【圖3F】

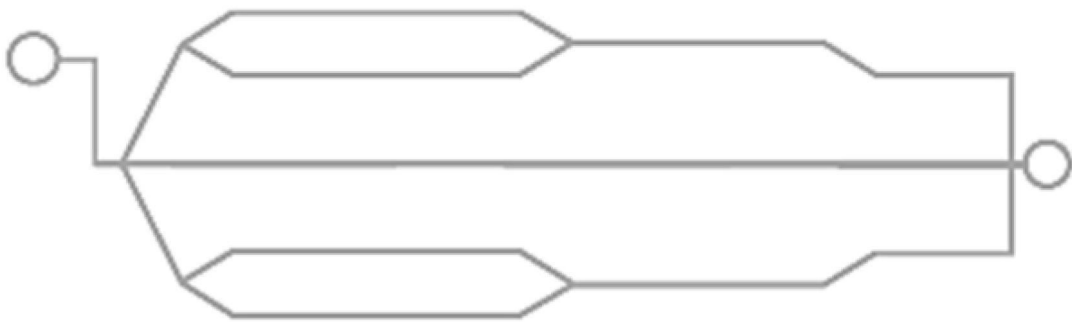


【圖4A】

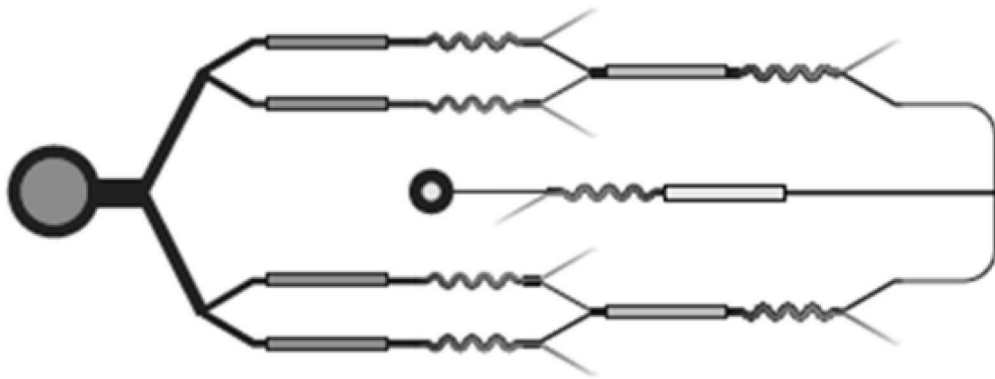


【圖4B】

470

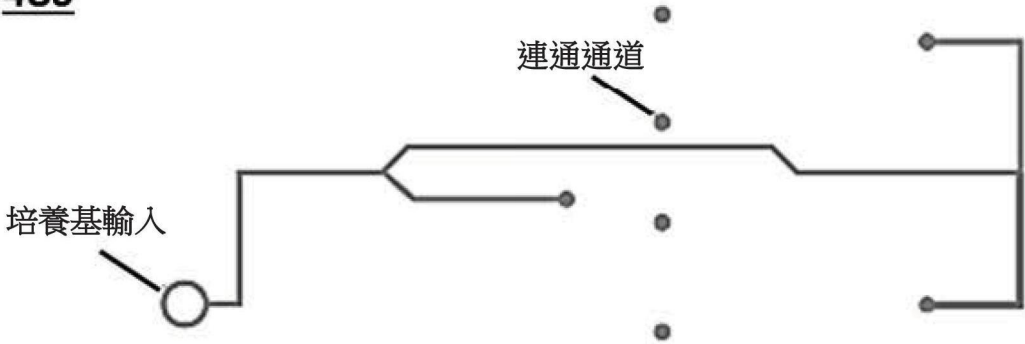


401

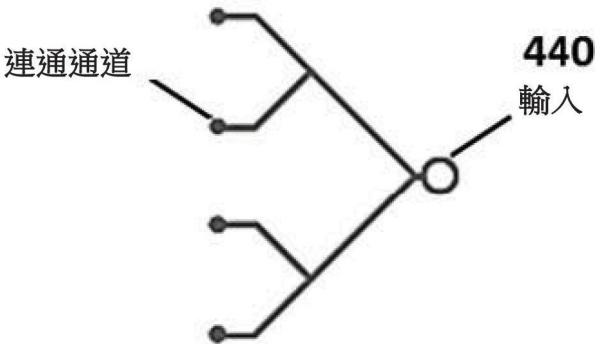


【圖4C】

480

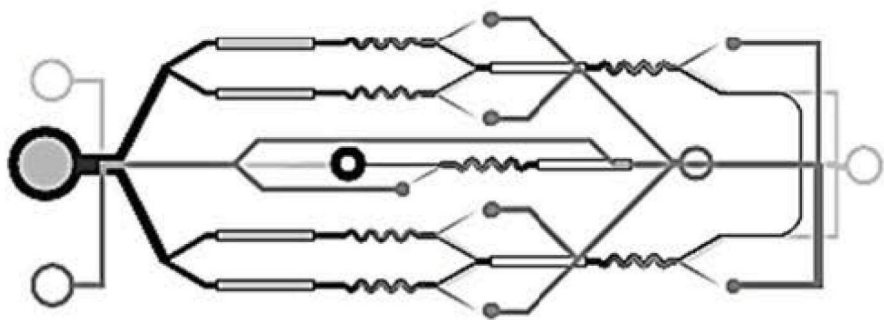


490

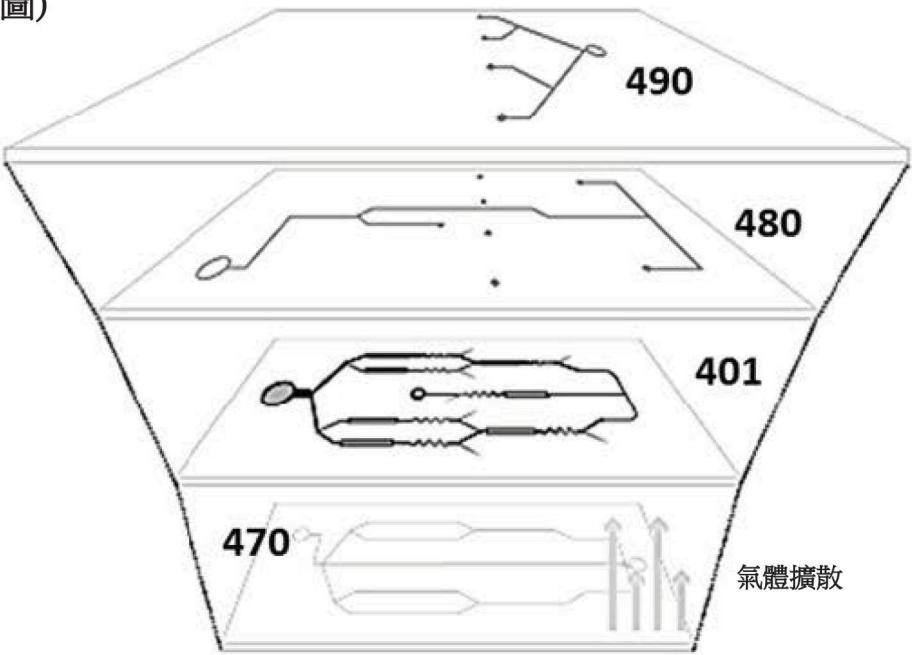


【圖4D】

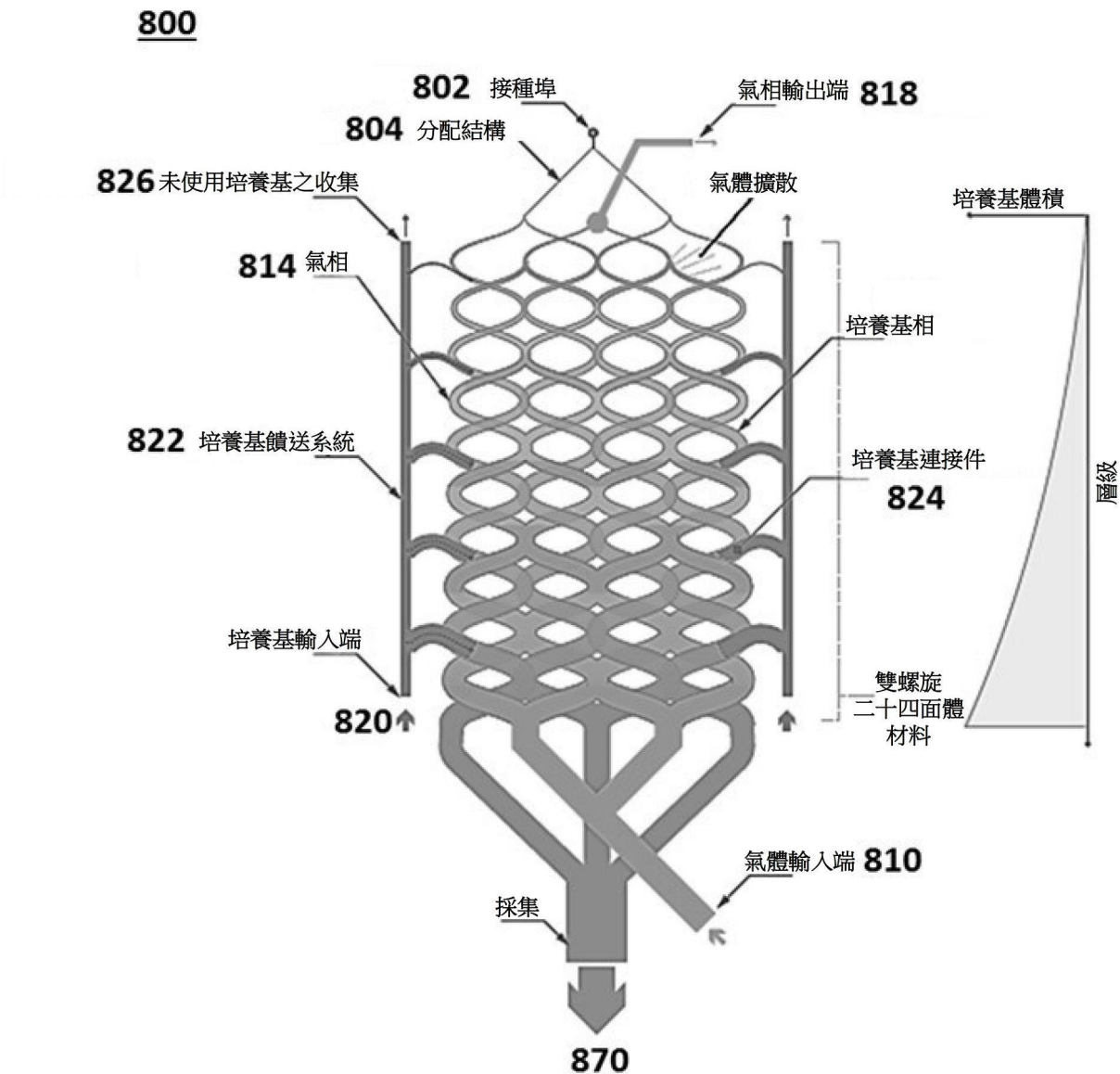
400 (俯視圖)



400 (分層側視圖)

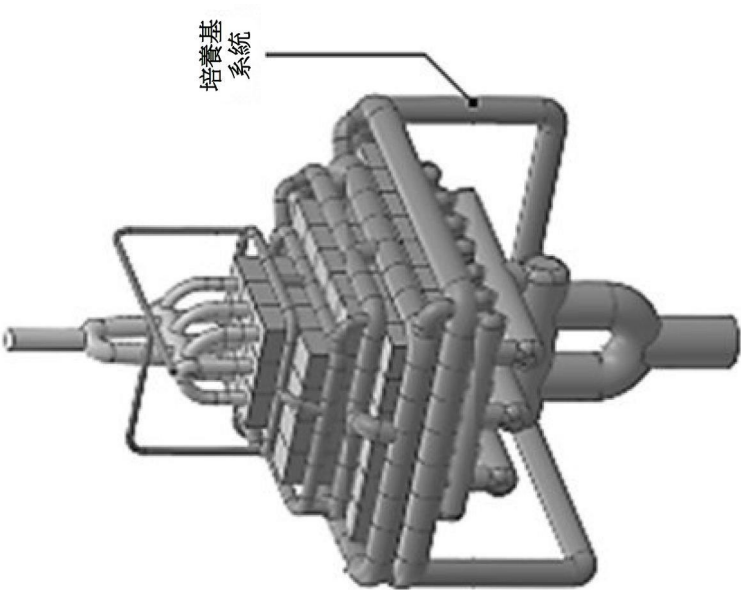


【圖4E】

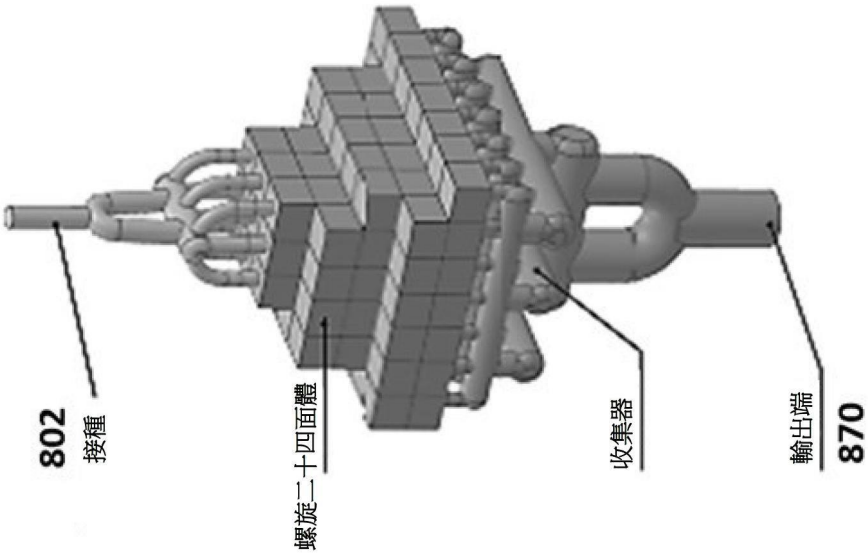


【圖5】

883

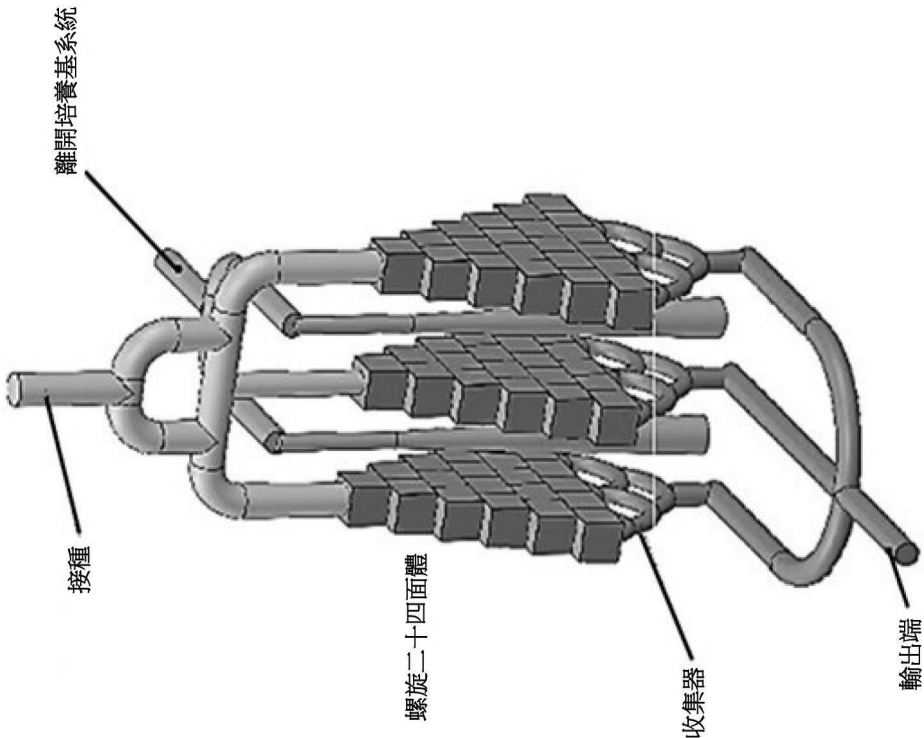


881

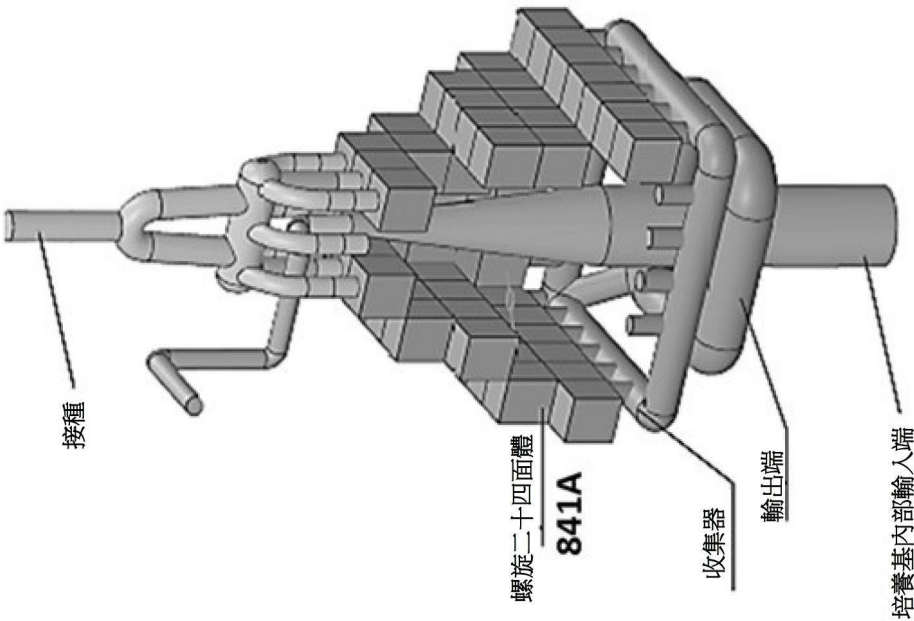


【圖6A】

887

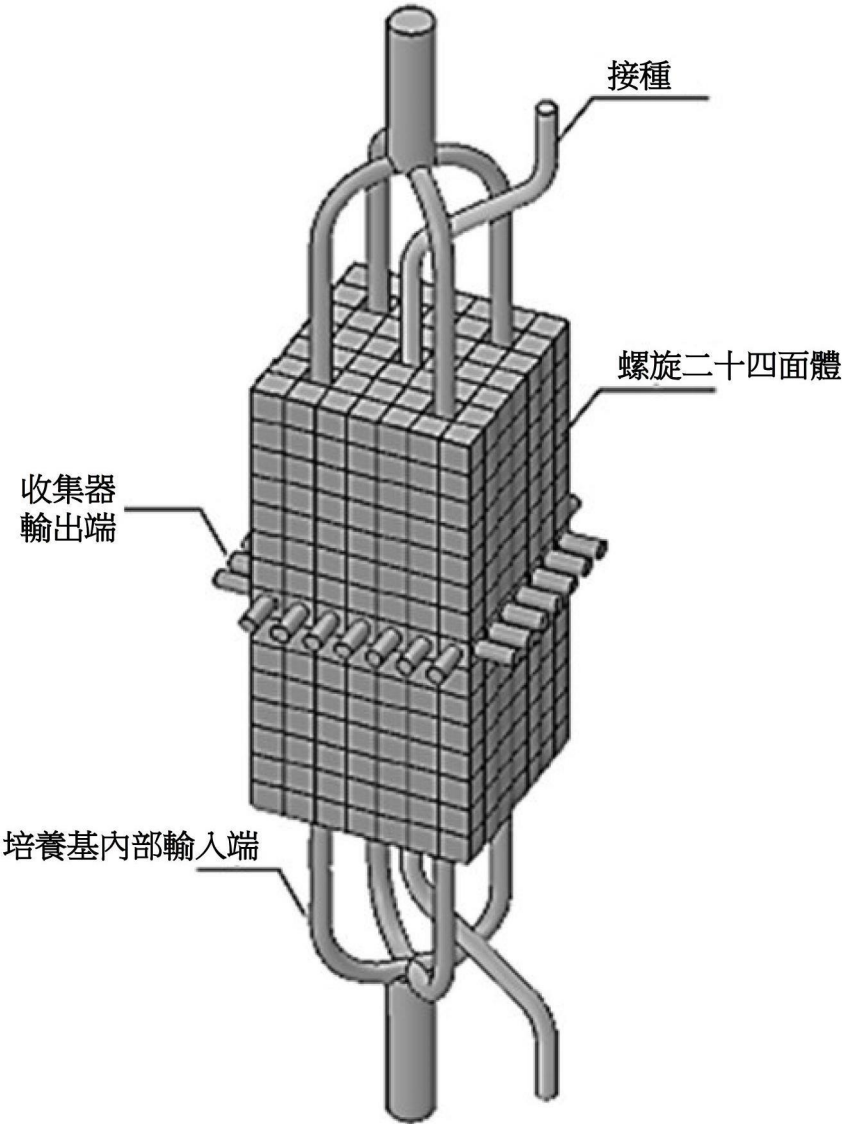


885

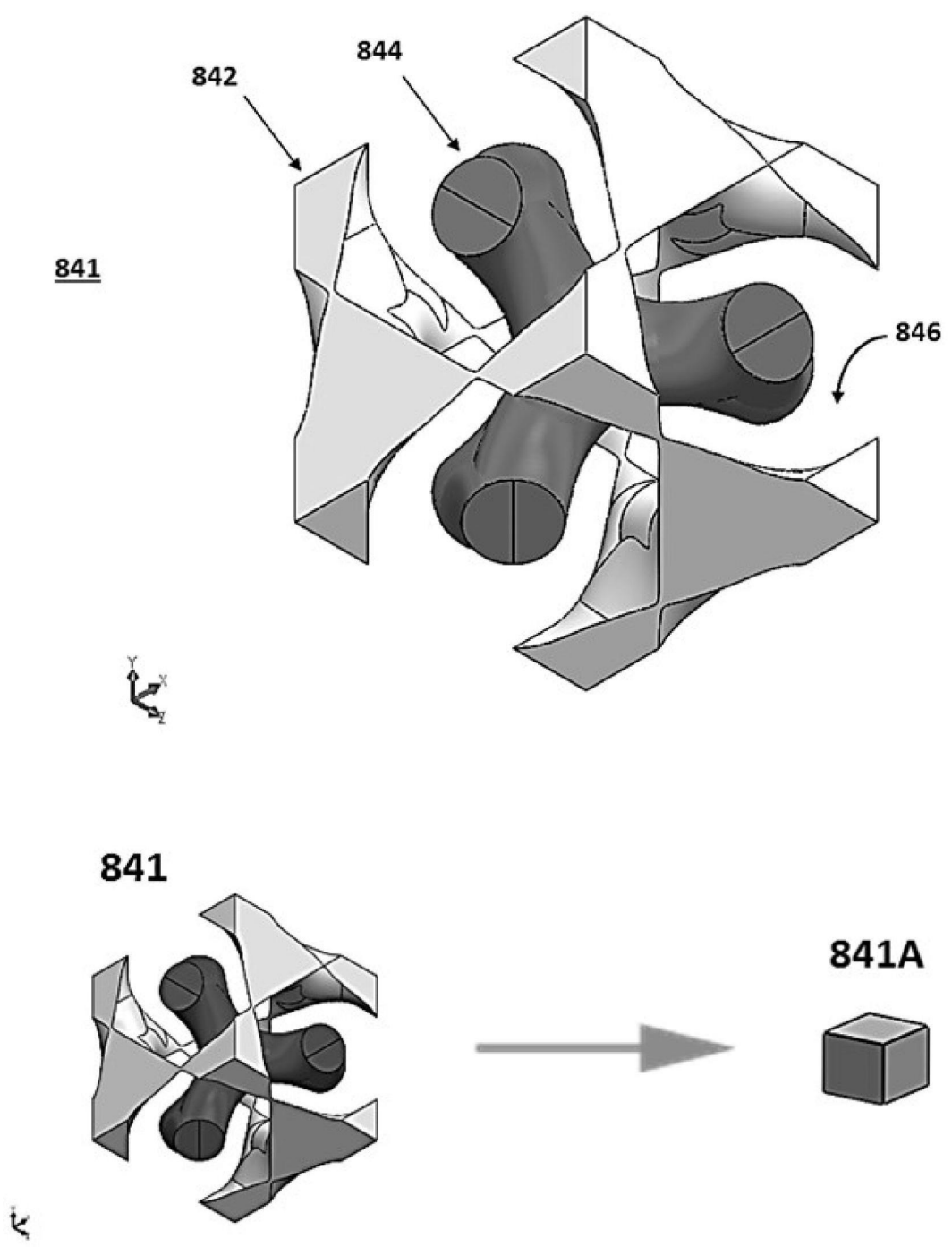


【圖6B】

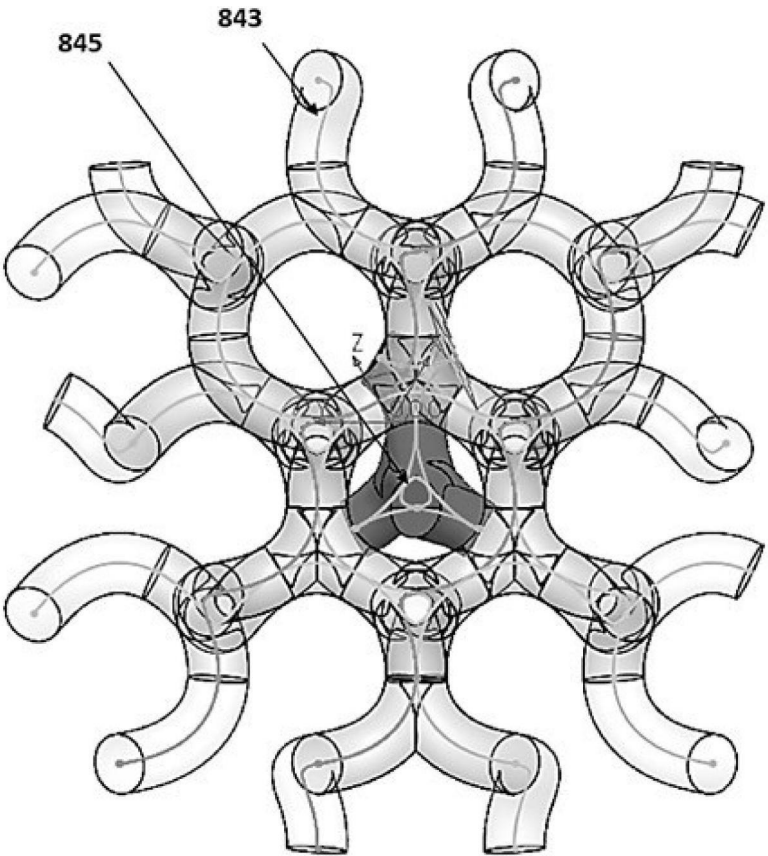
489



【圖6C】

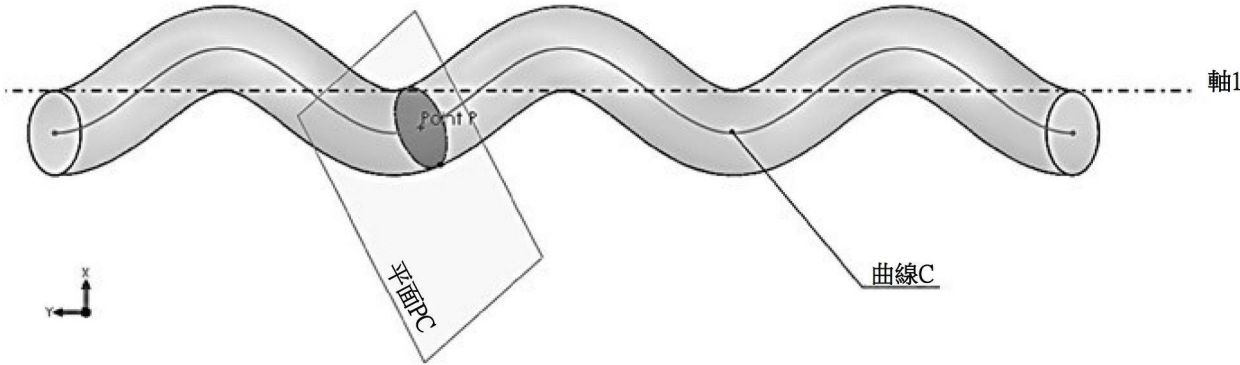


【圖7A】



【圖7B】

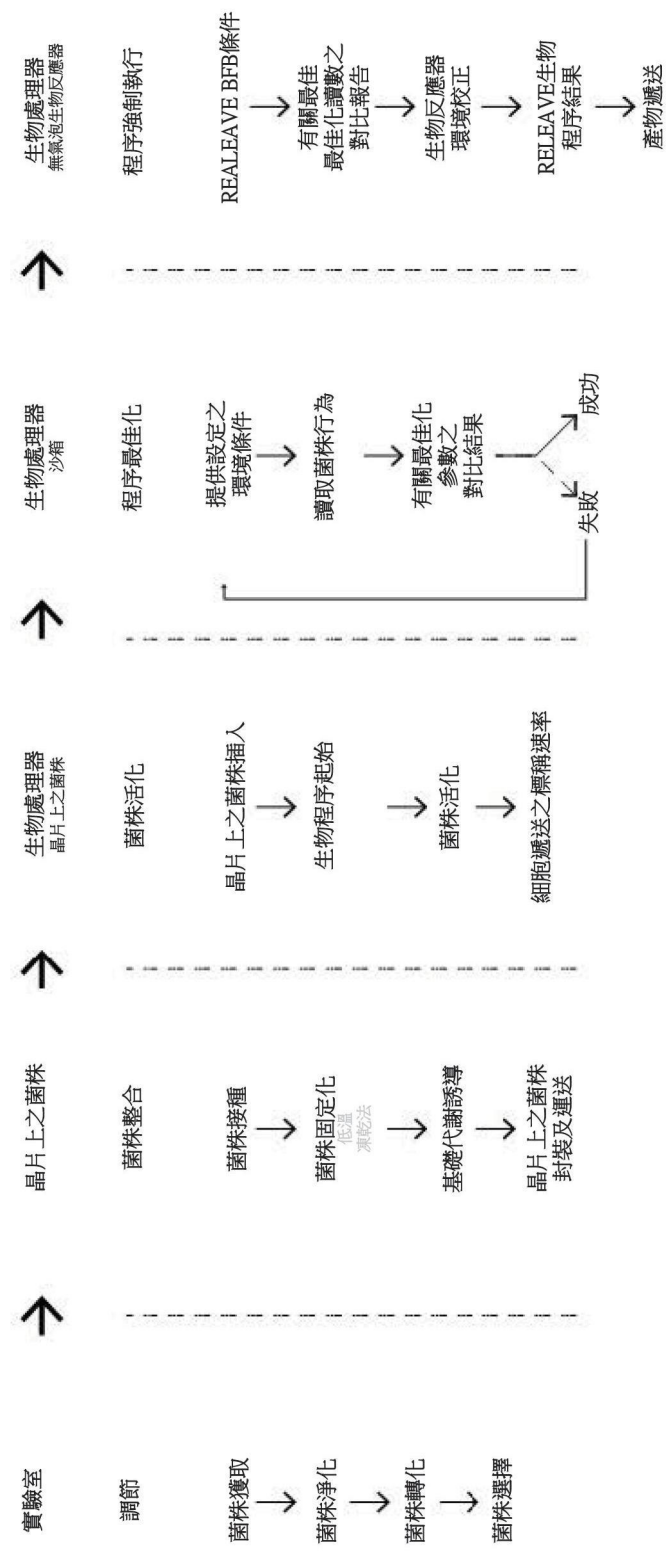
掃掠



【圖7C】

方法.

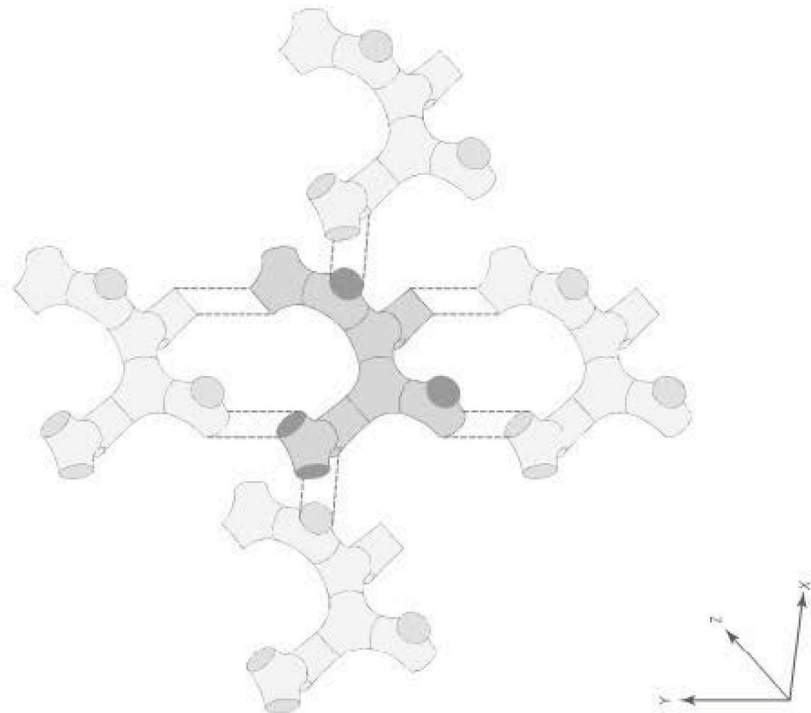
細胞生長、儲存、環境最佳化及擴大規模生產。



【圖8】

模組總成

1.

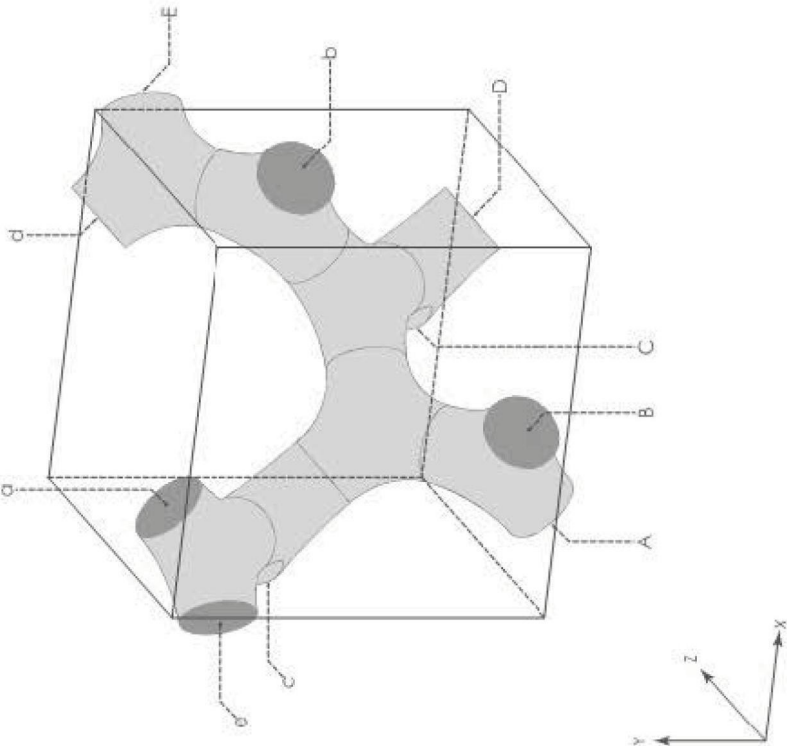


【圖9B】

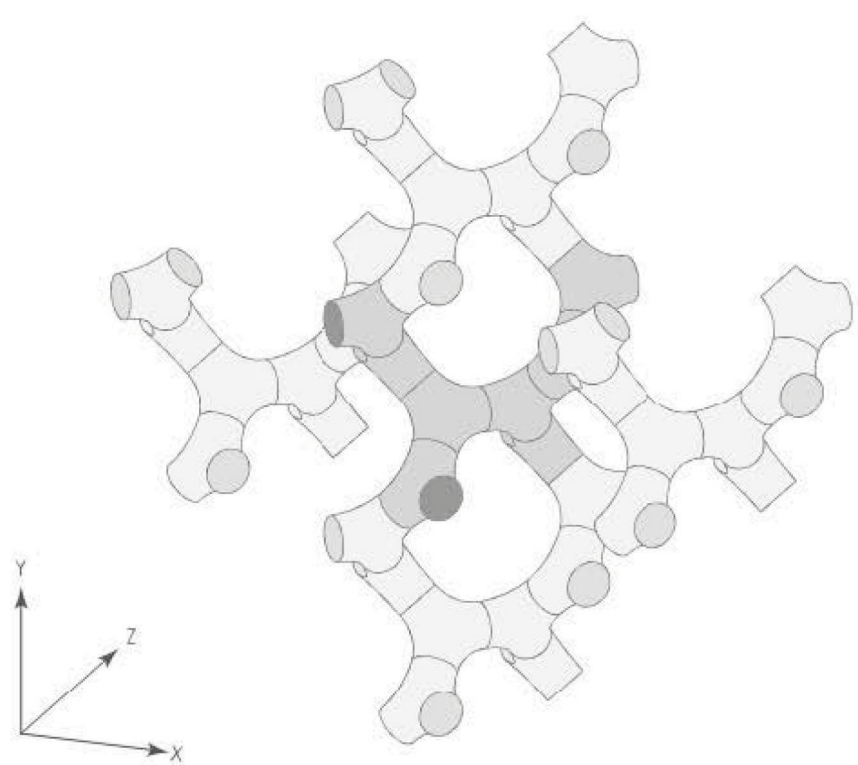
模組總成

1. 平行平面對：A/a-B/b-C/c-D/d-E/e

連接平面之總數目：10

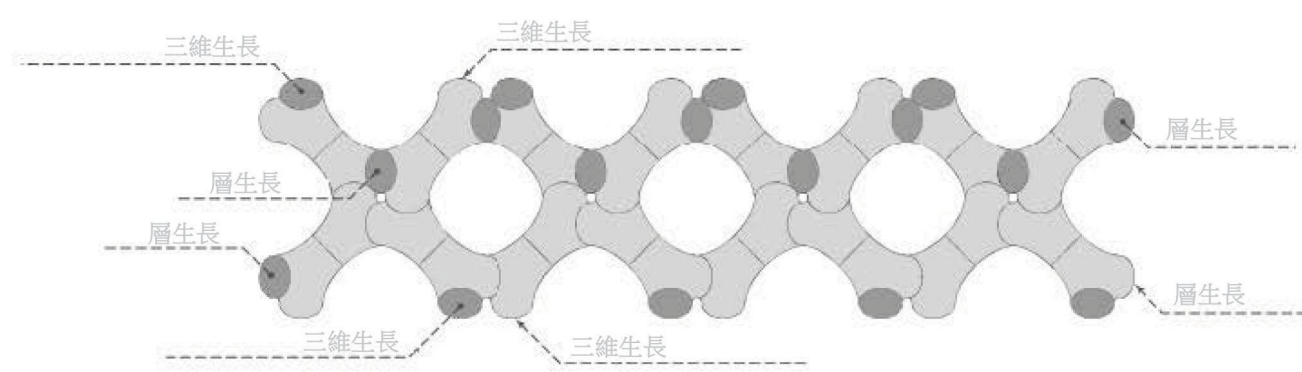


【圖9A】



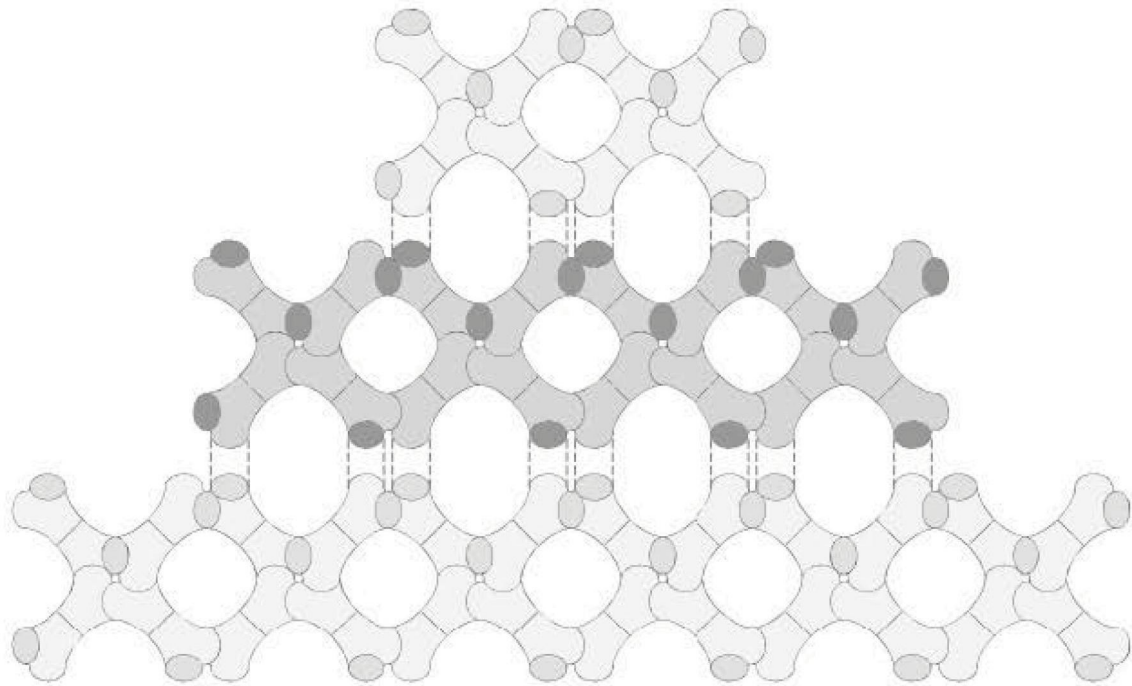
【圖9C】

層側視圖

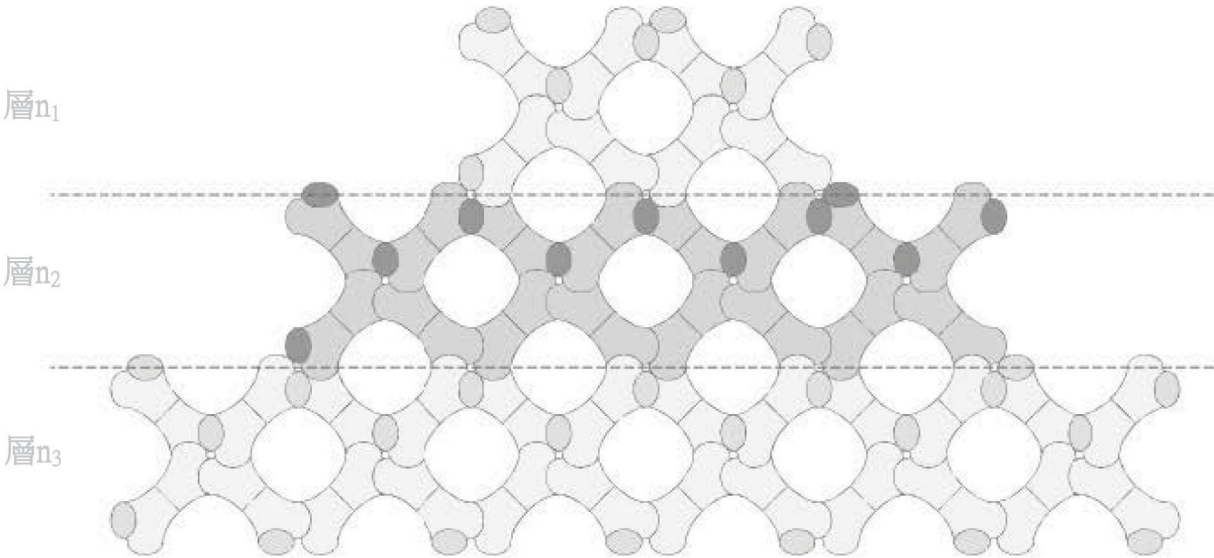


【圖9D】

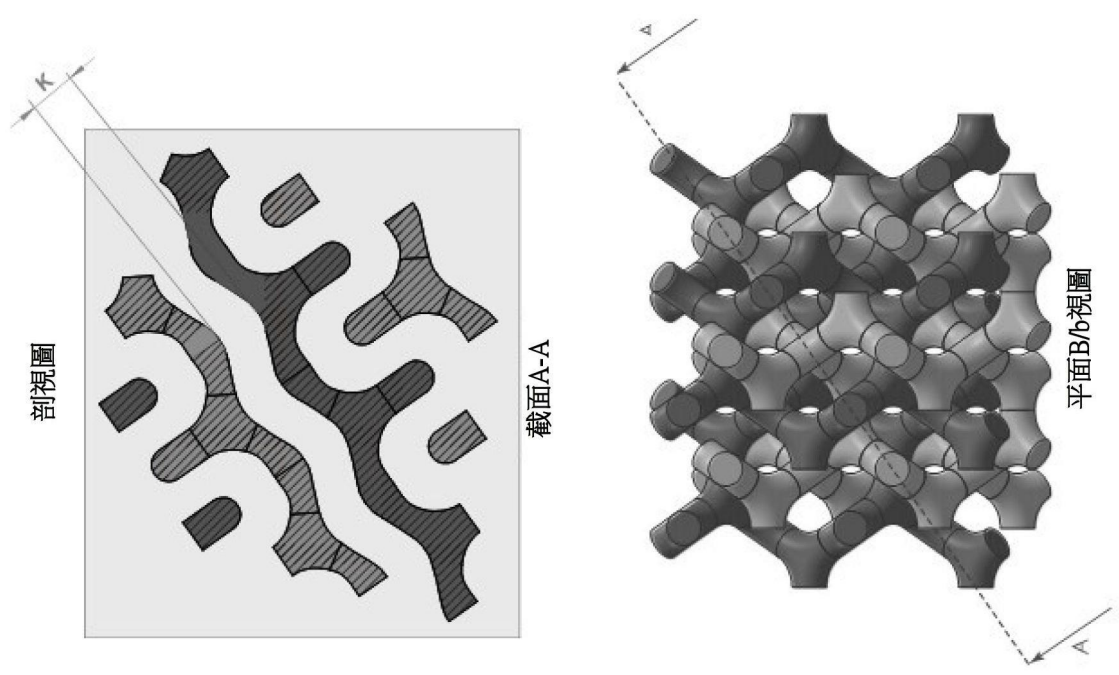
層-層側視圖



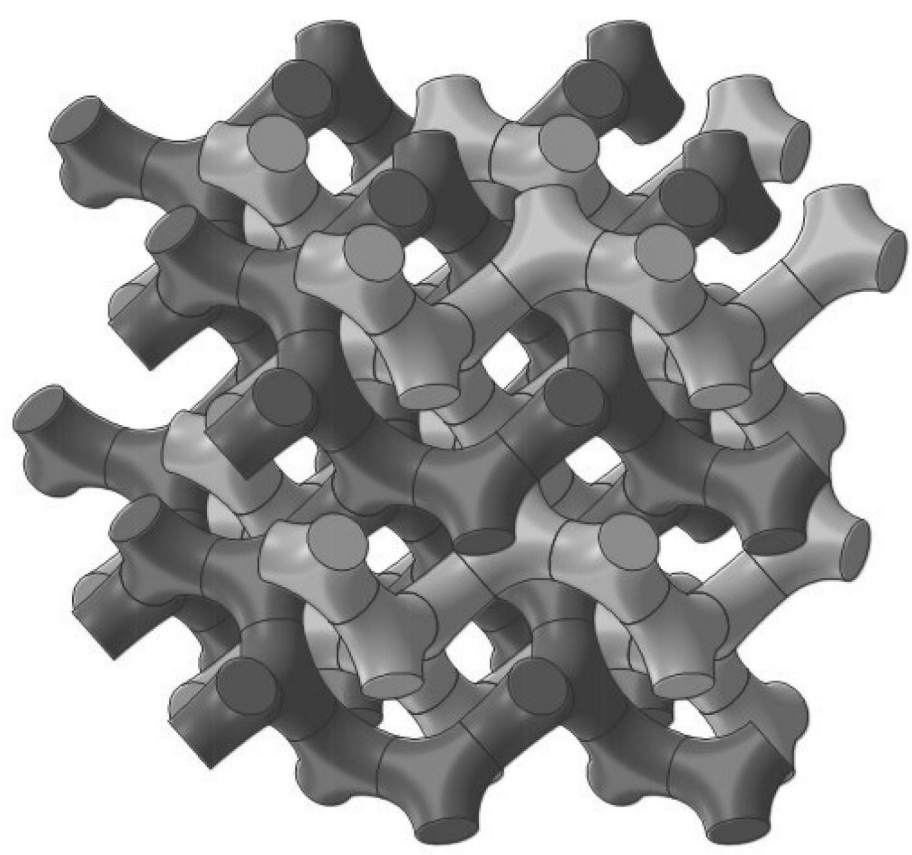
【圖9E】



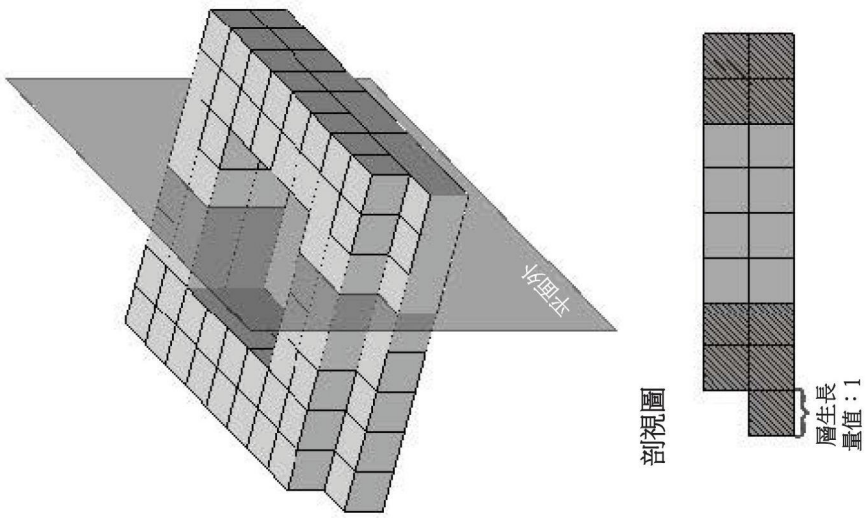
【圖9F】



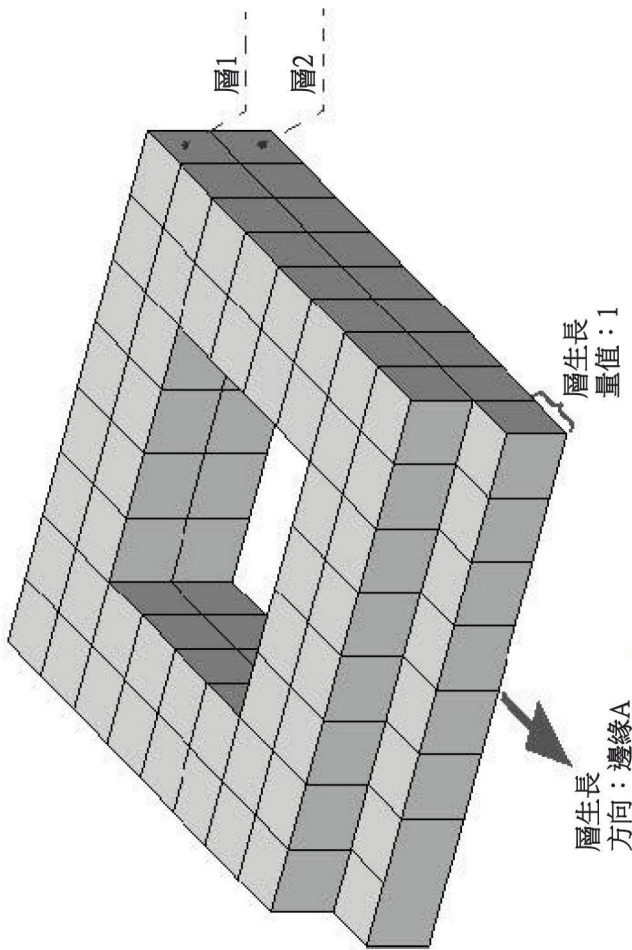
【圖10B】



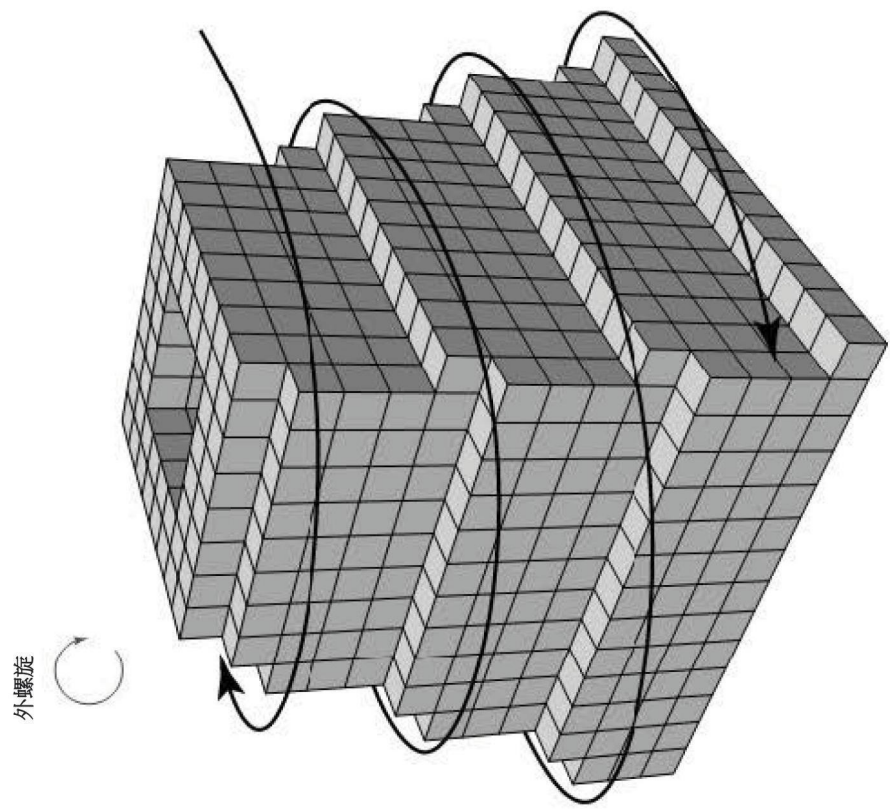
【圖10A】



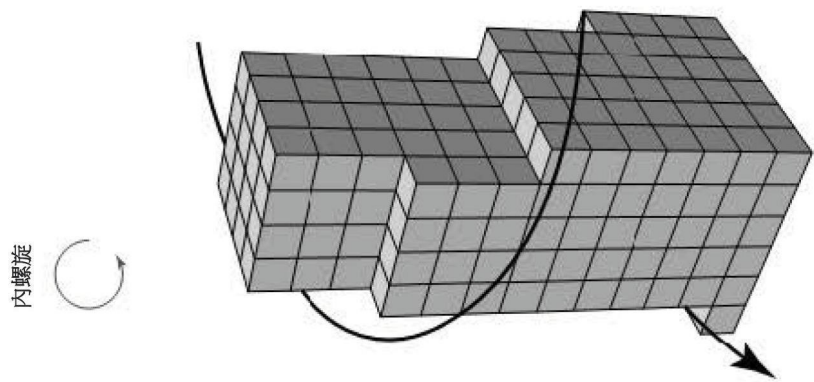
【圖10D】



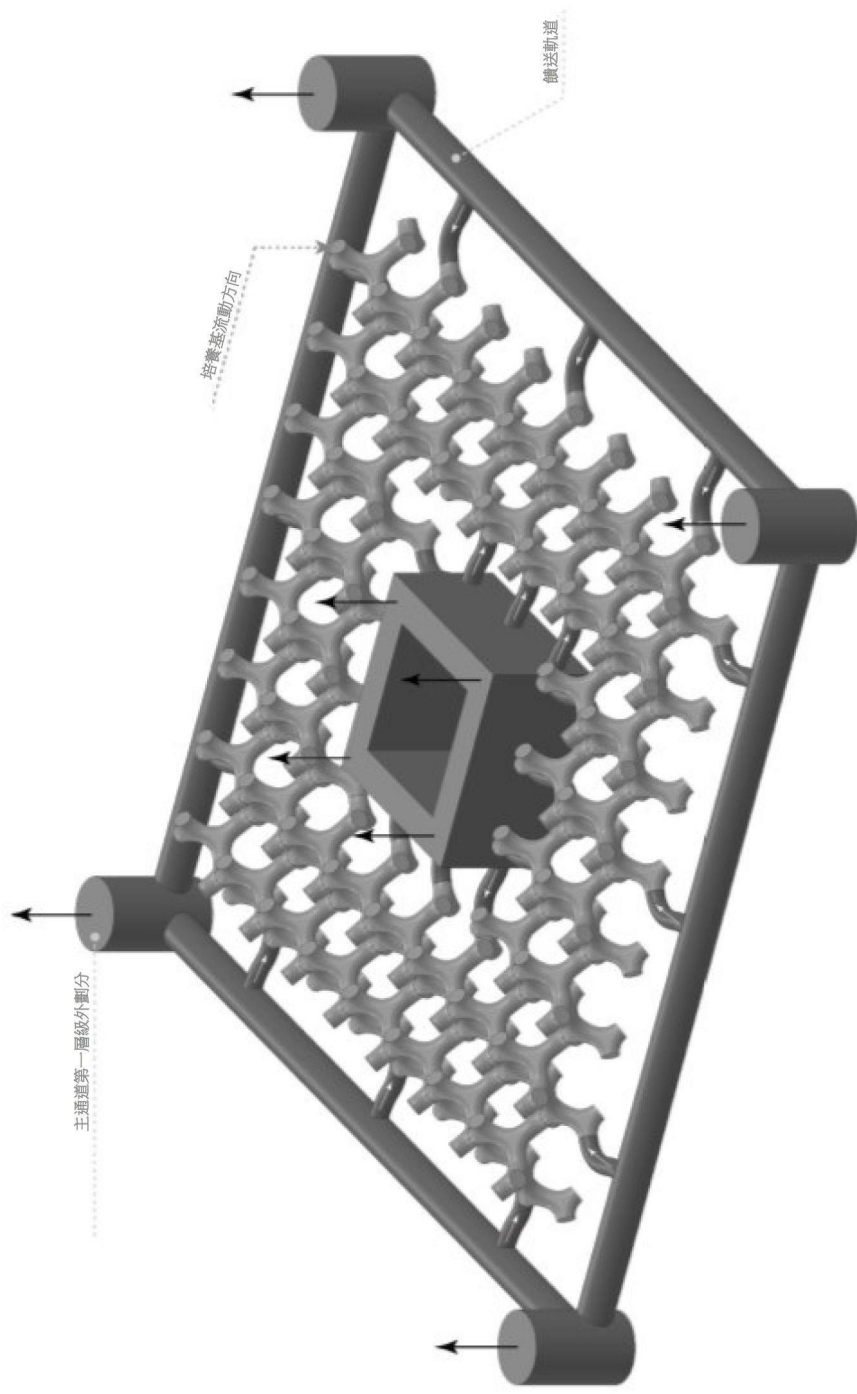
【圖10C】



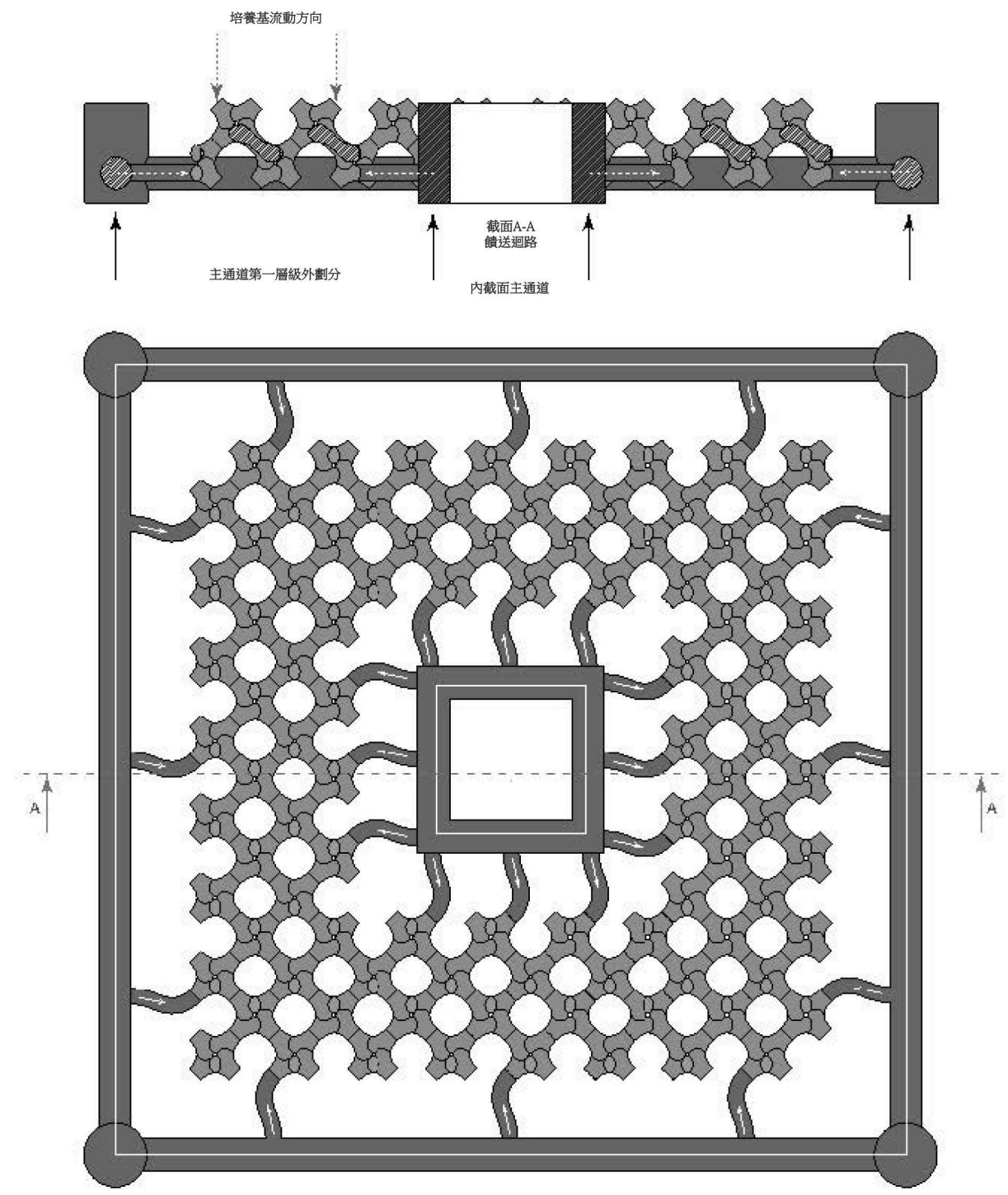
【圖10F】



【圖10E】

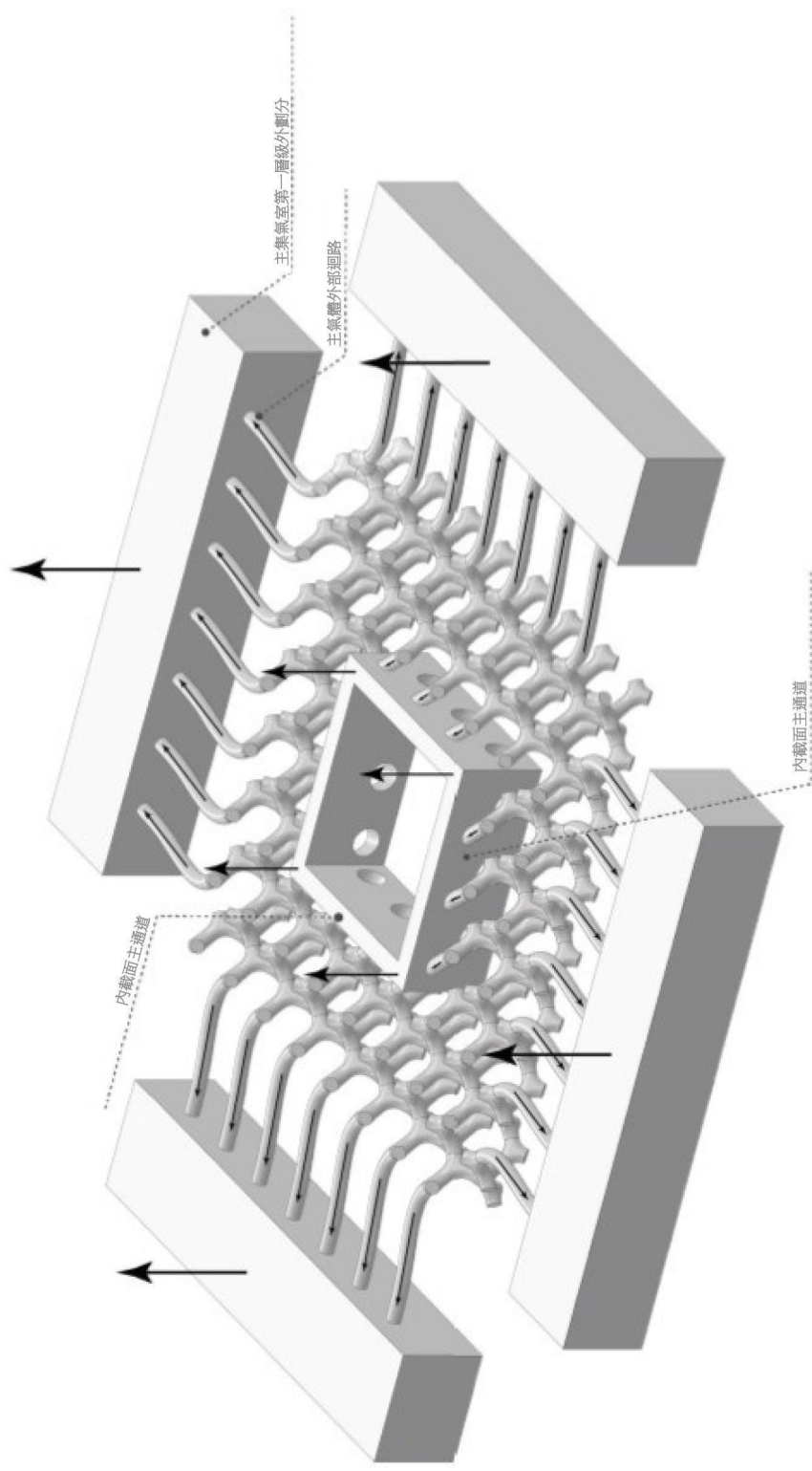


【圖11A】

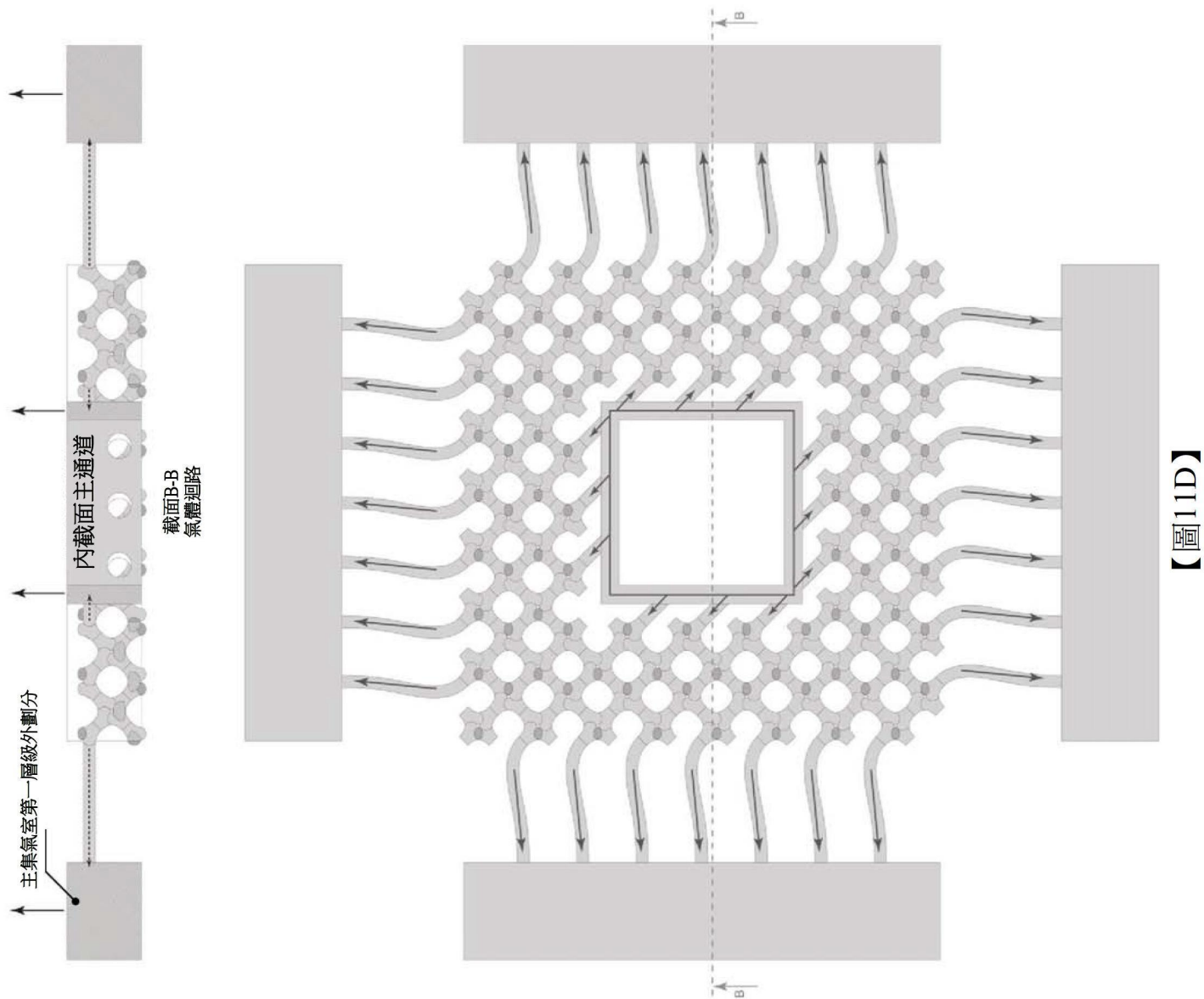


【圖11B】

基質氣體迴路子組

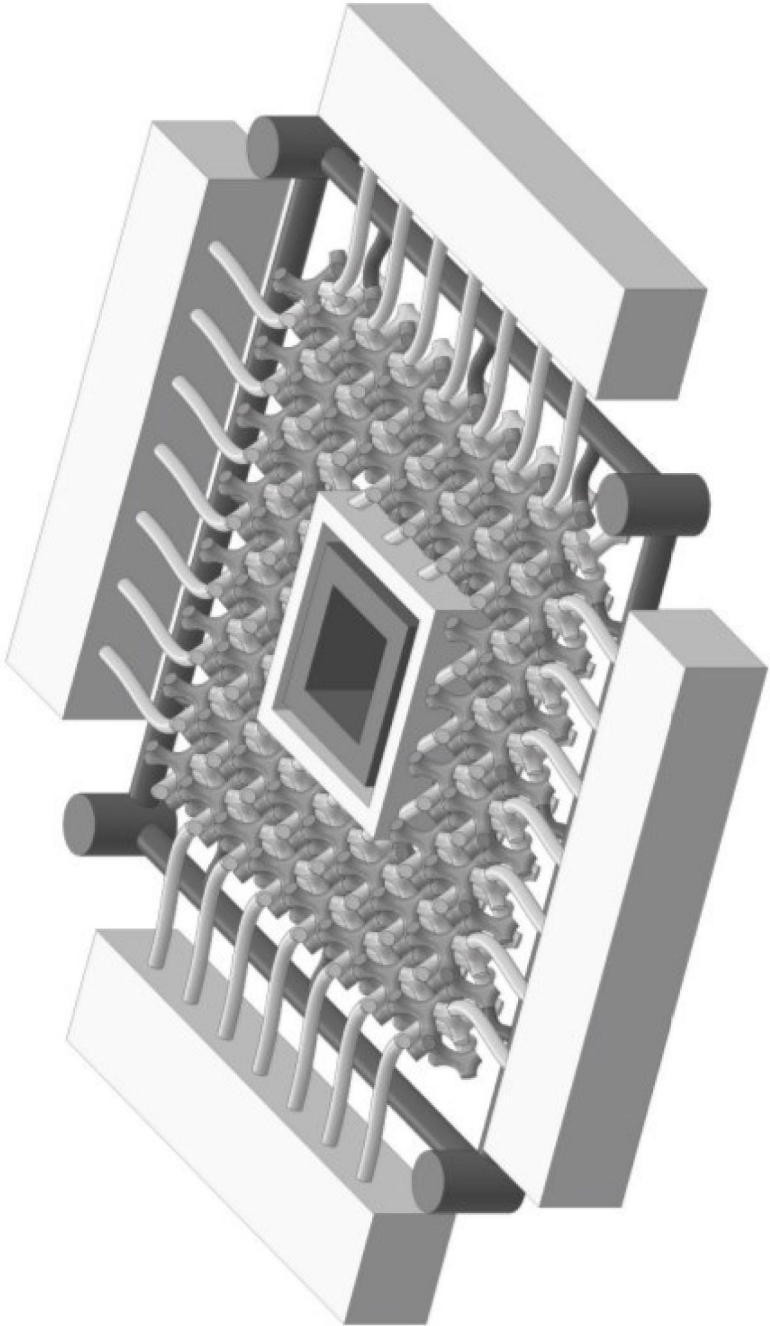


【圖11C】

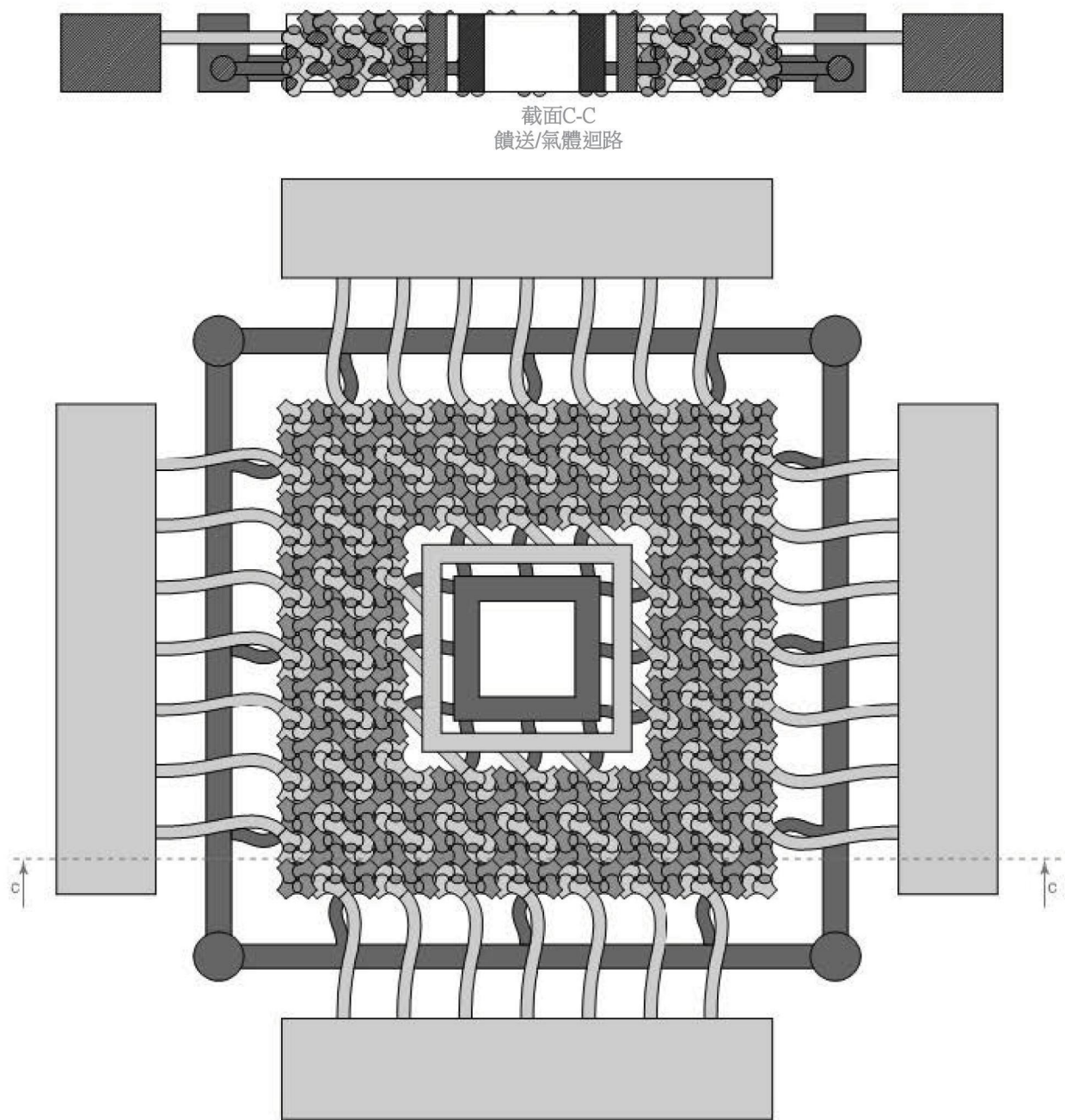


【圖11D】

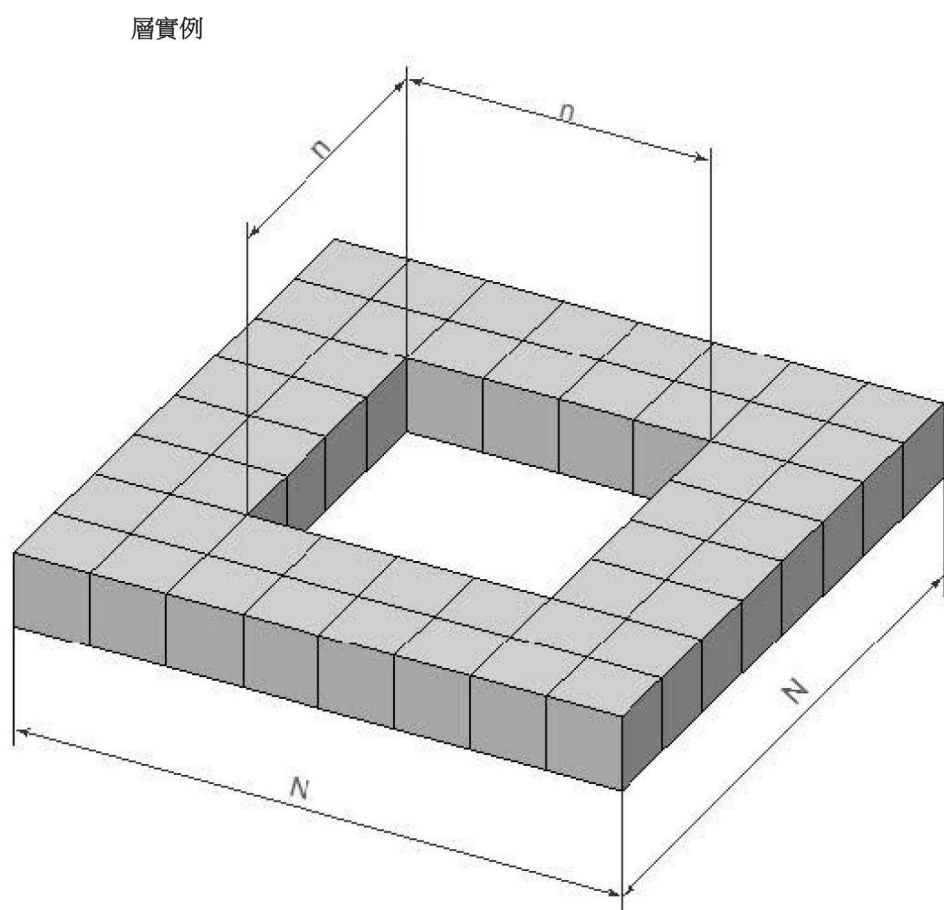
基質氣體迴路子組+基質饋送迴路子組總成



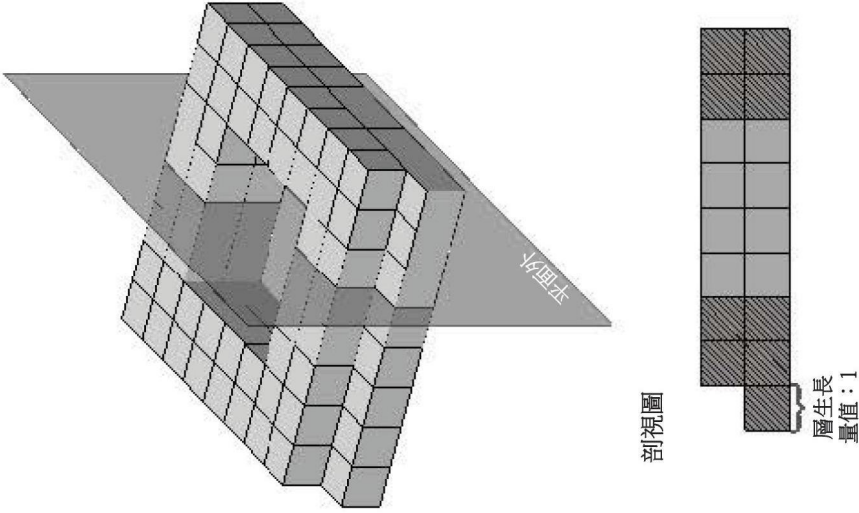
【圖11E】



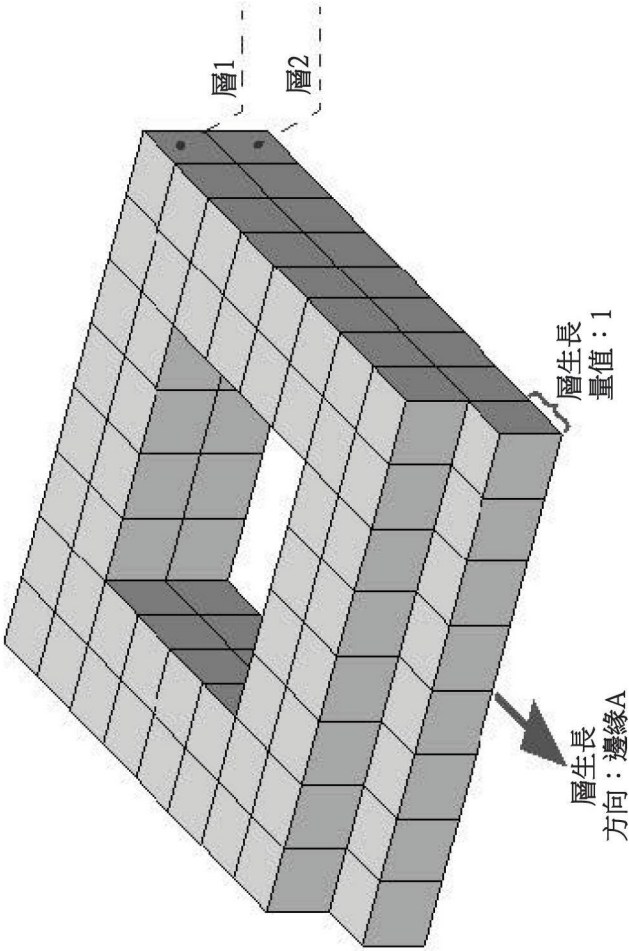
【圖 11F】



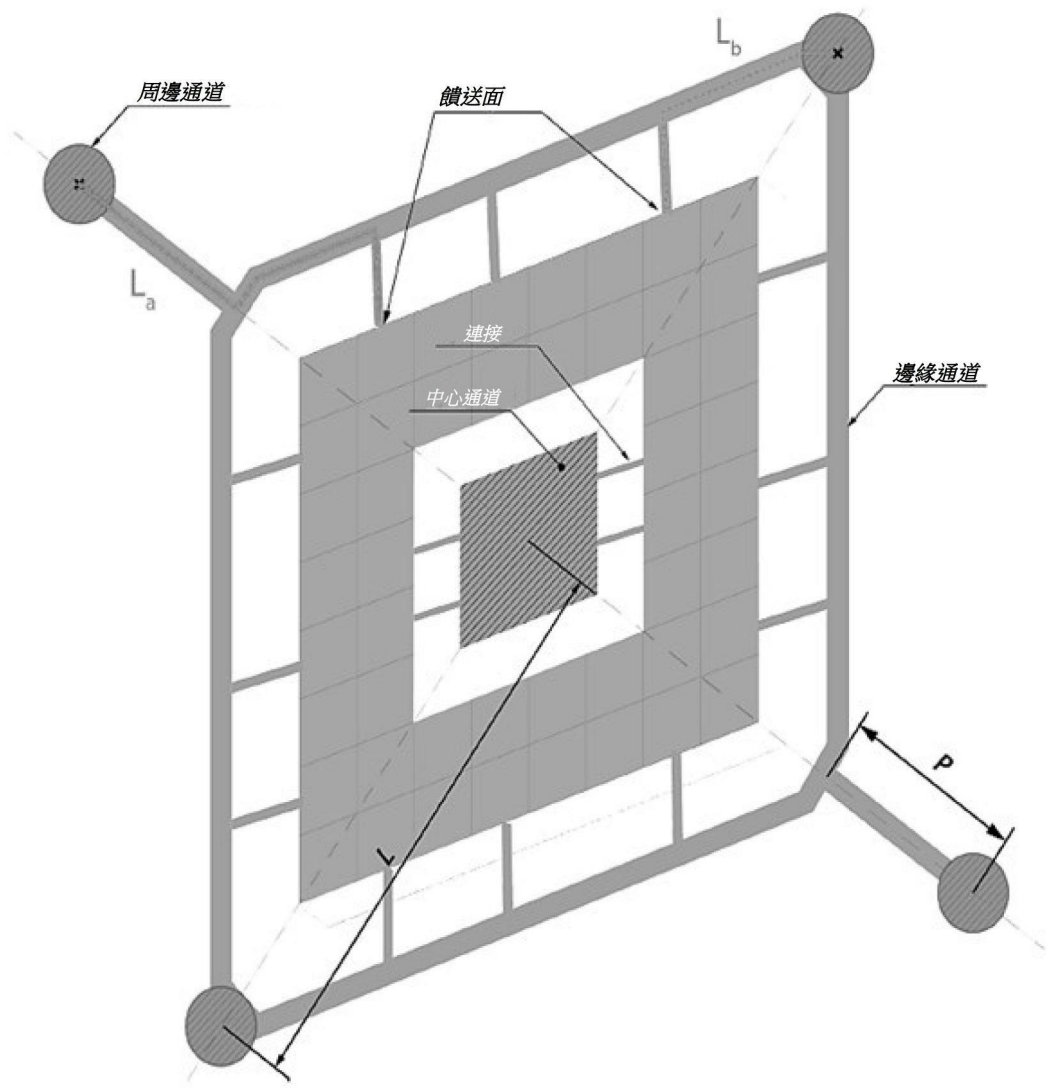
【圖12】



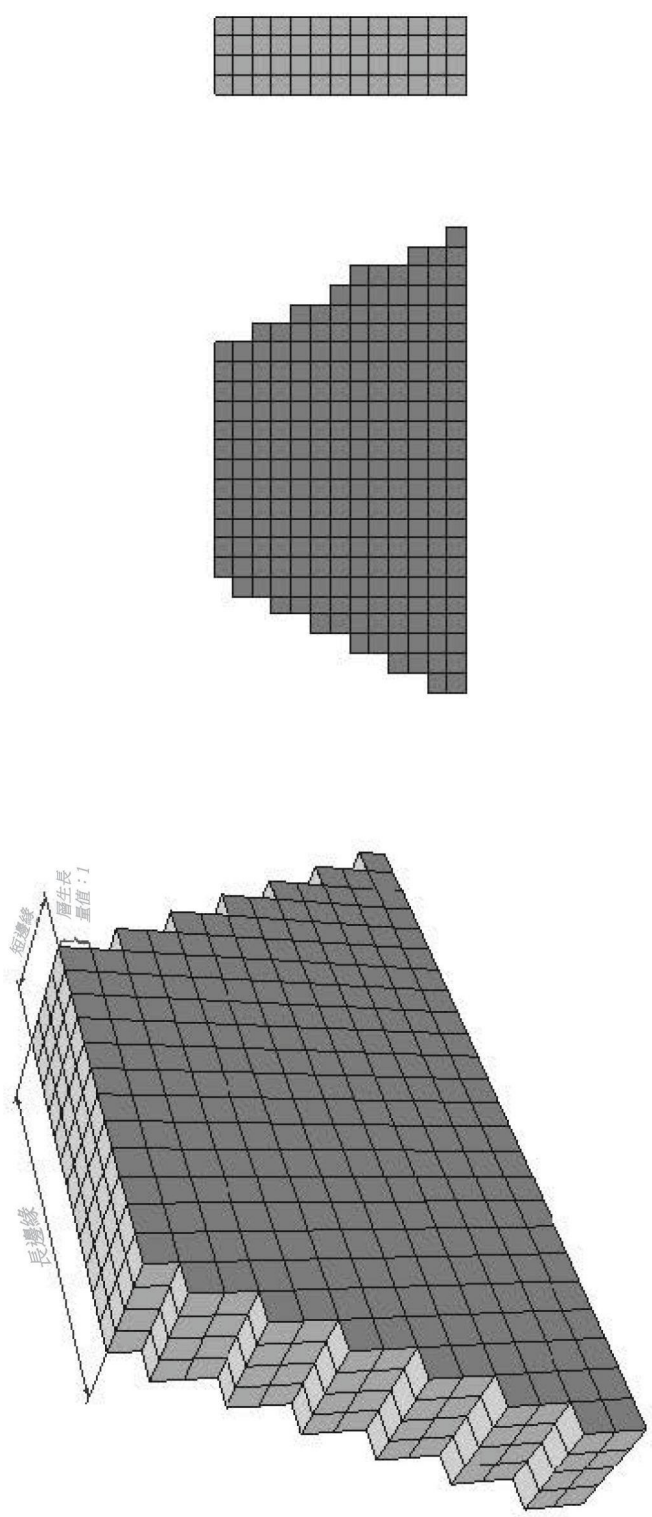
【圖13B】



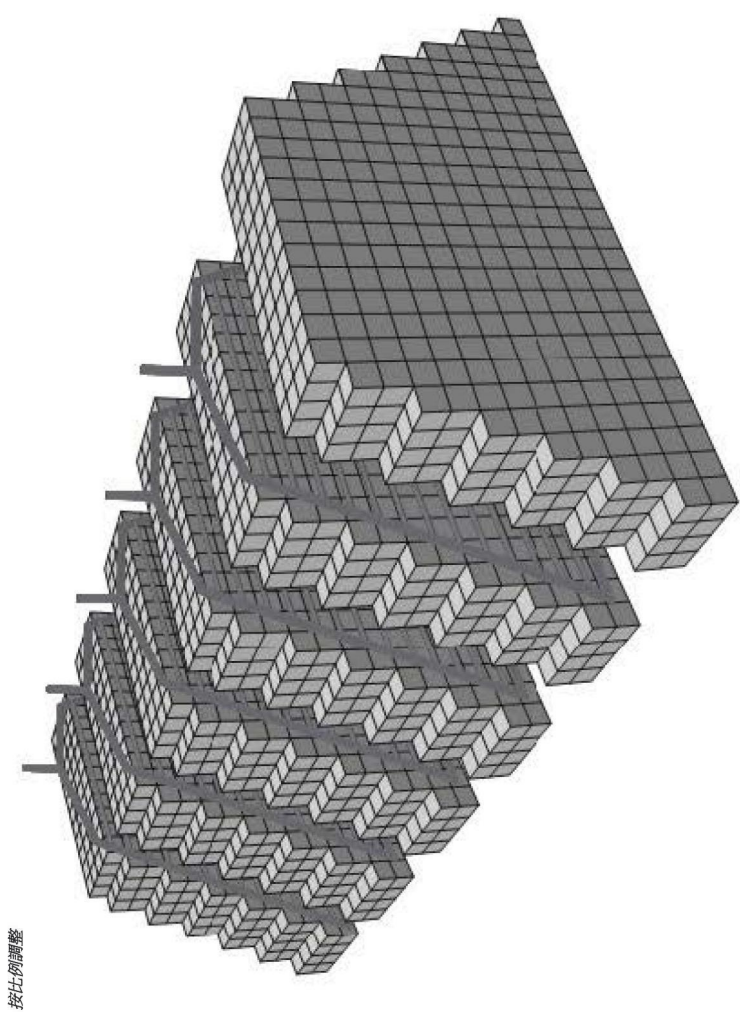
【圖13A】



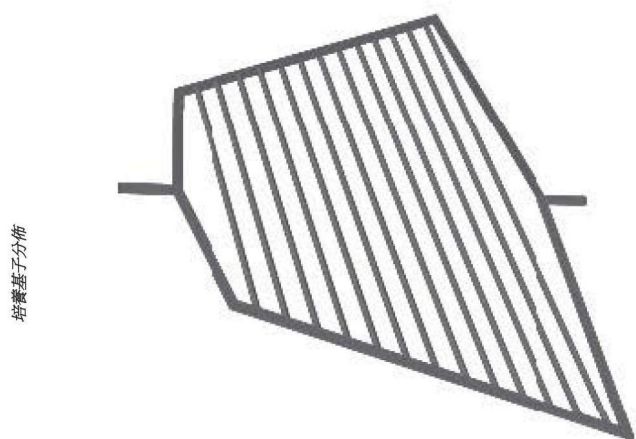
【圖14】

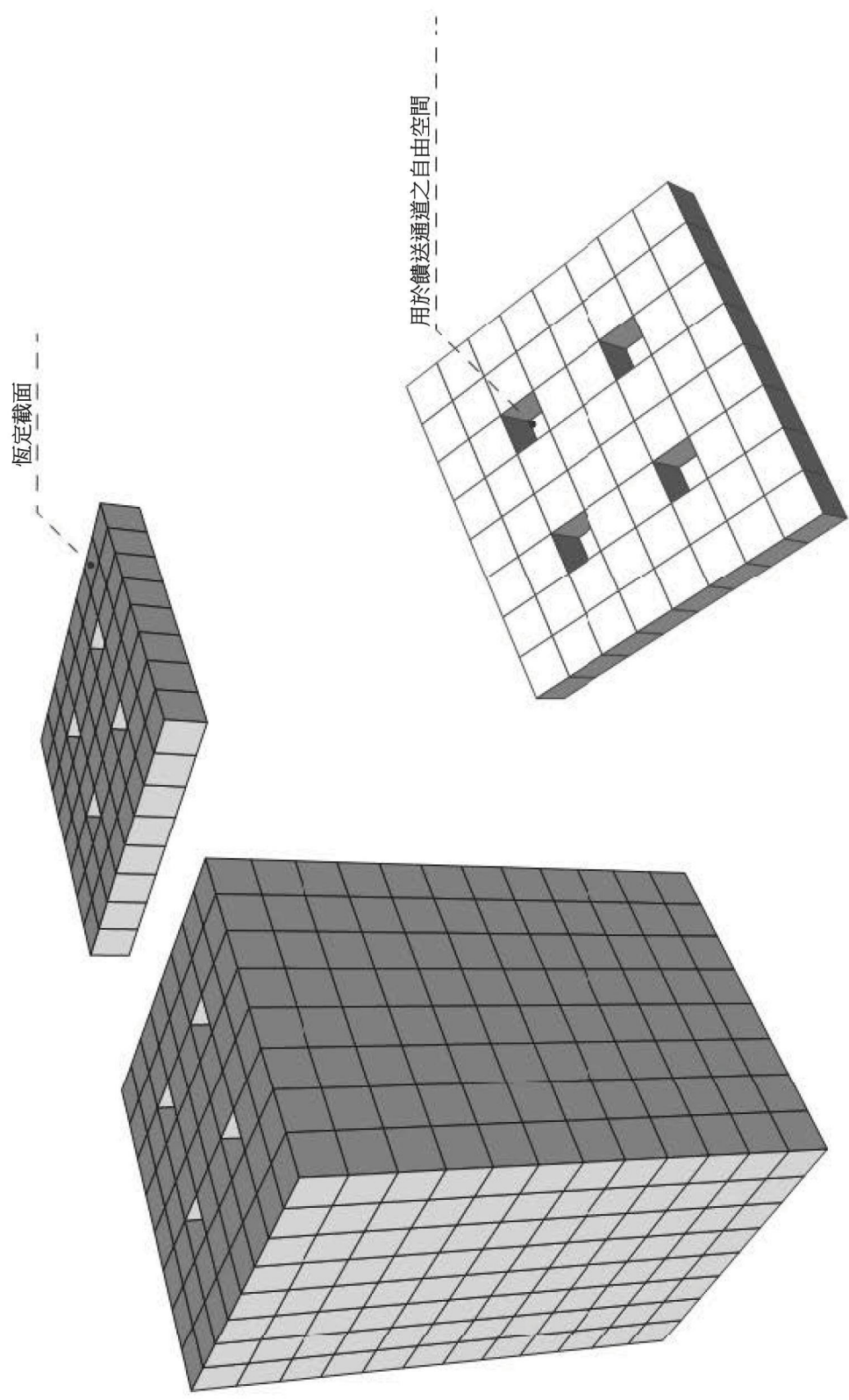


【圖15】

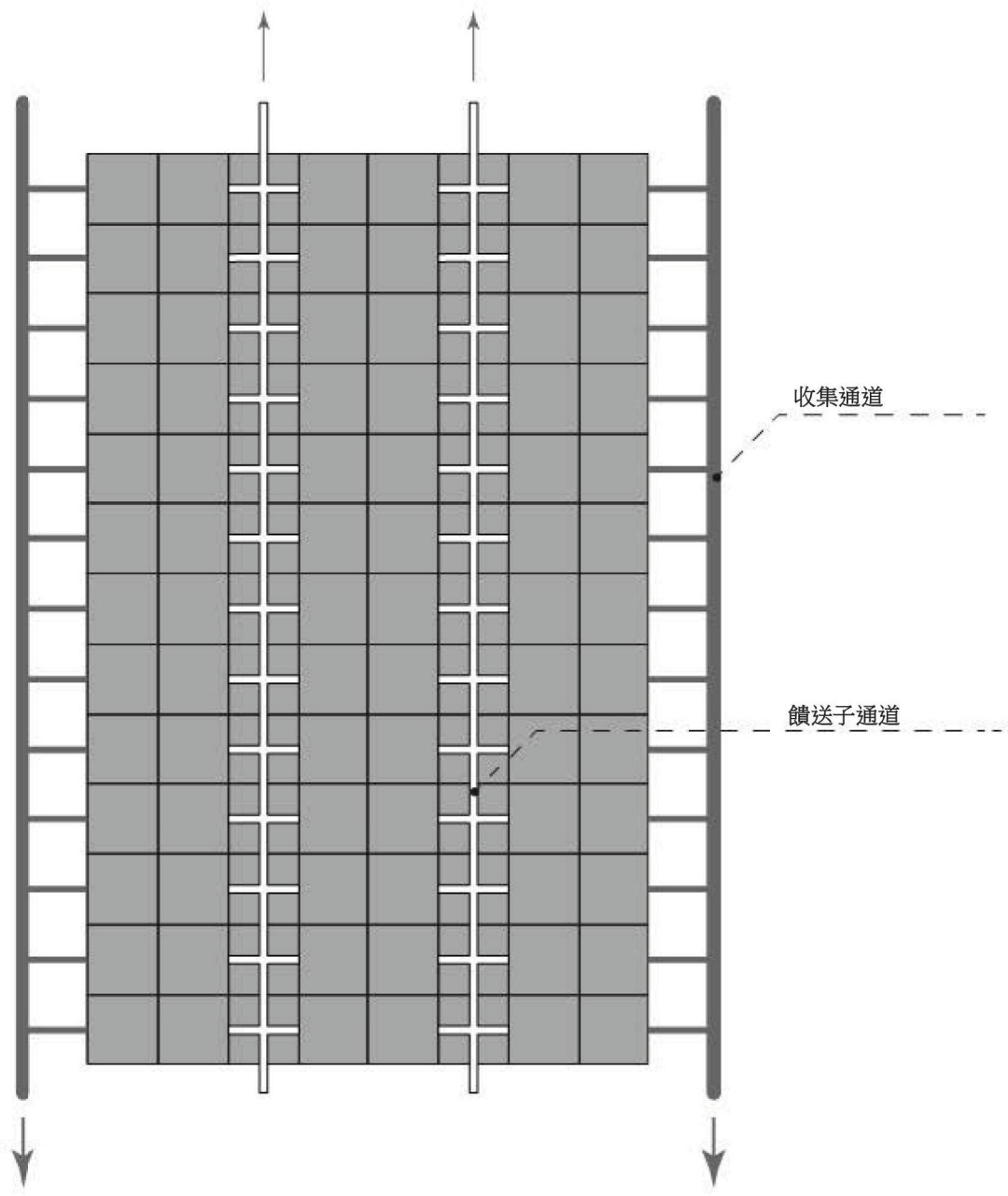


【圖16】

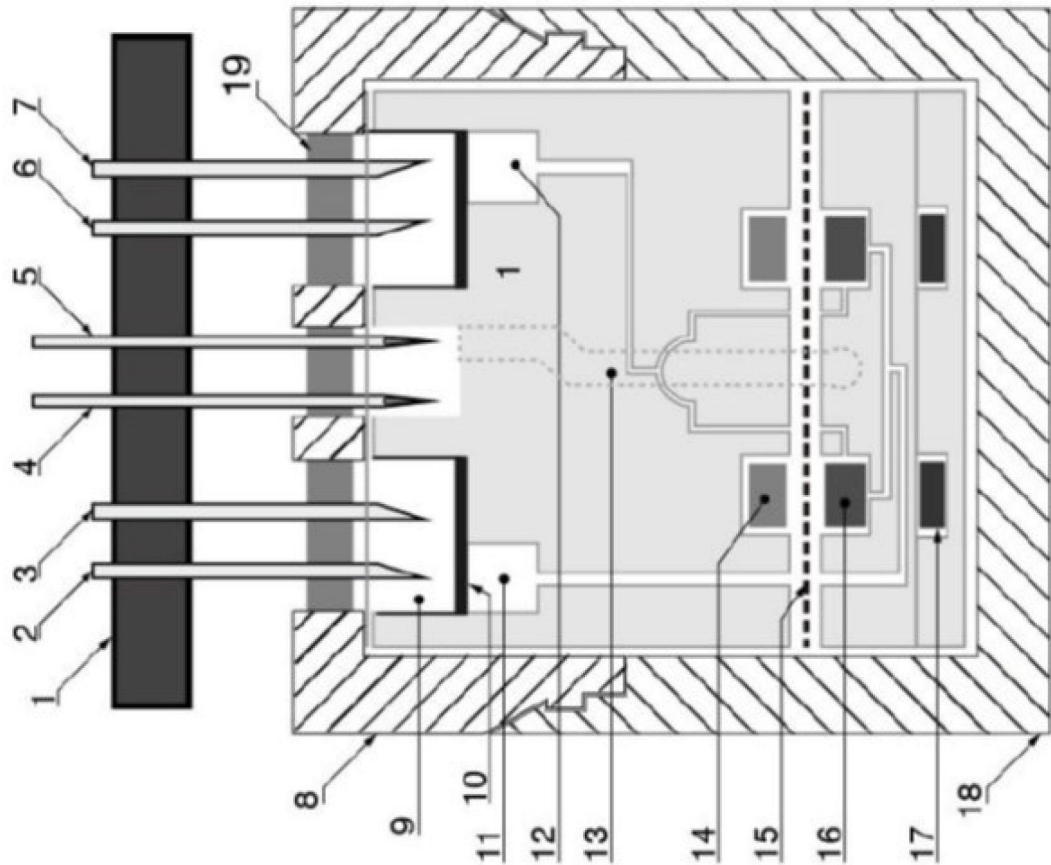




【圖17】

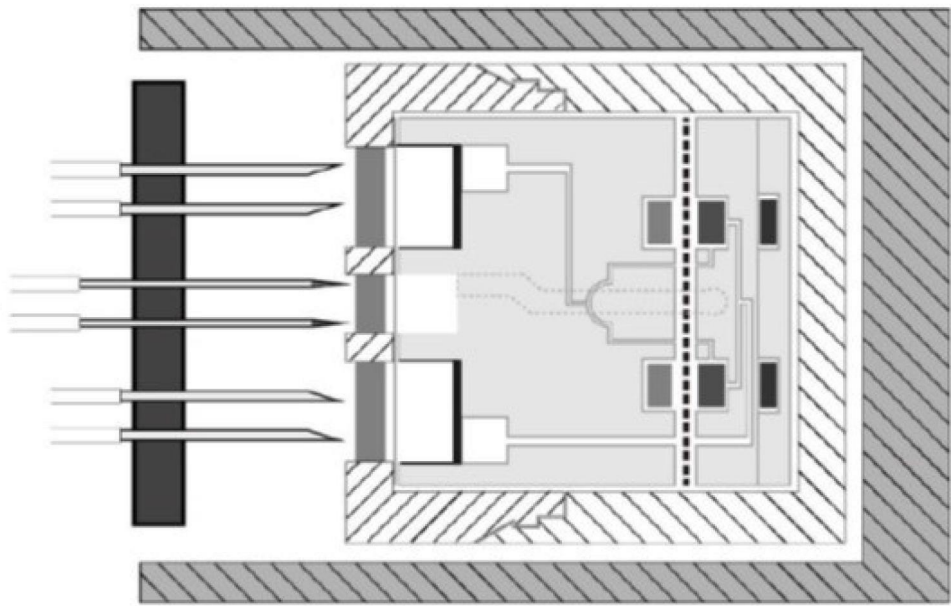


【圖18】

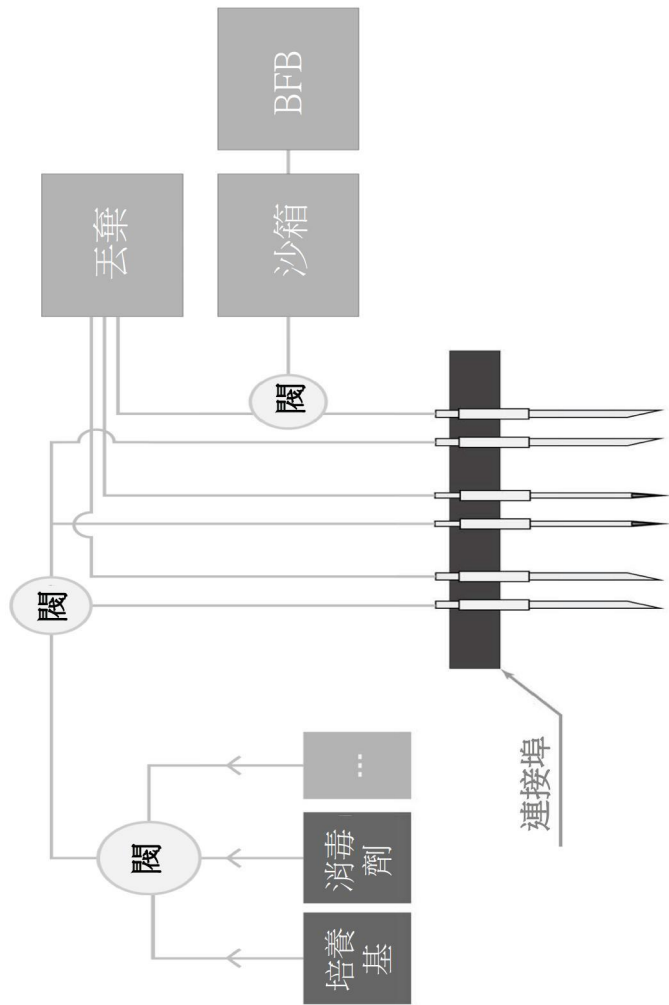


【圖19A】

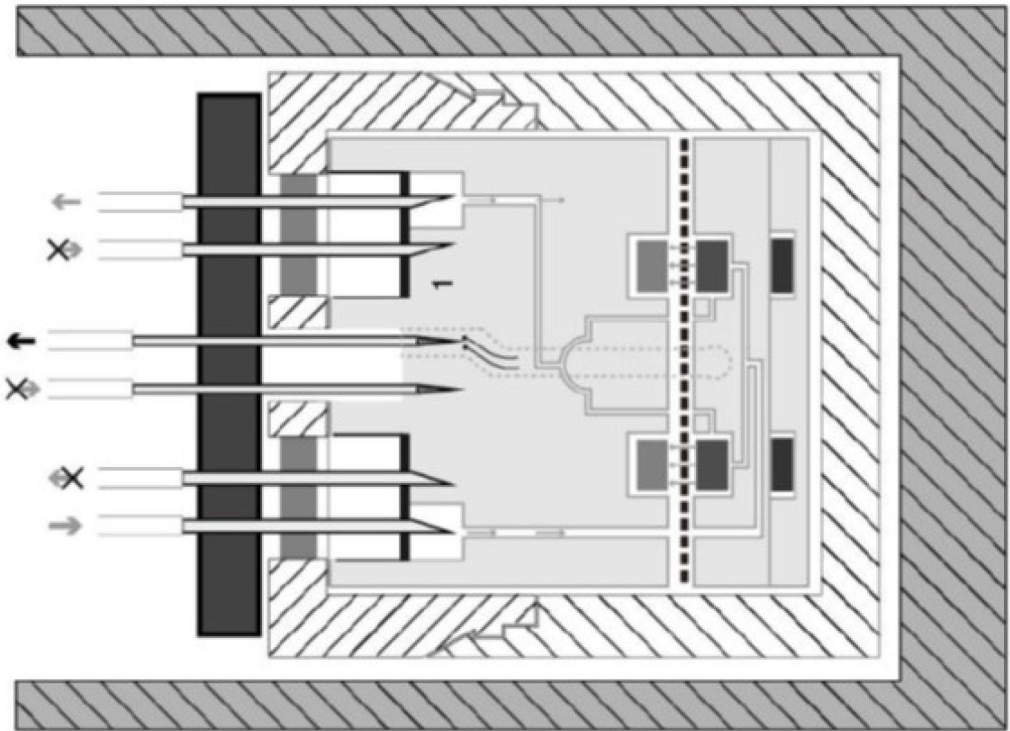
- 1-連接器支撐件
- 2-輸入端1
- 3-輸出端1
- 4-廢物1
- 5-廢物2
- 6-輸入端2
- 7-輸出端2
- 8-SoC殼體1
- 9-清潔腔室
- 10-安全膜
- 11-CM輸入通道
- 12-採集通道
- 13-經過濾CM輸出
- 14-經過濾流
- 15-多孔隔膜
- 16-微生物
- 17-氣體流動
- 18-SoC殼體2
- 19-隔板



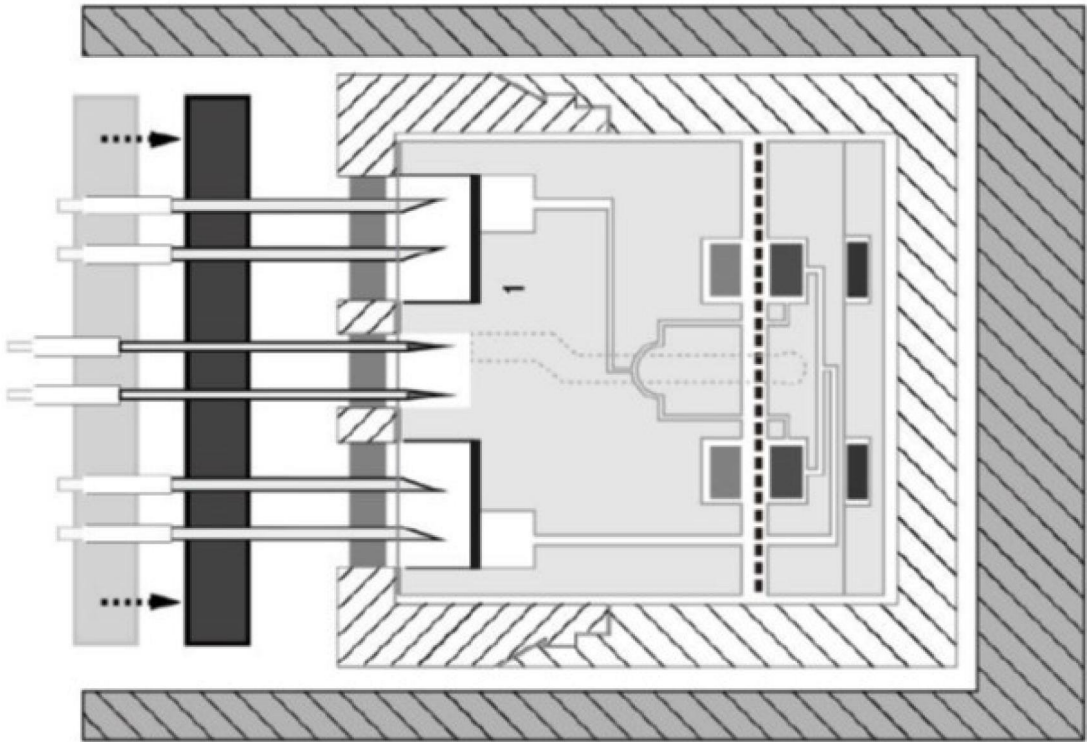
【圖19B】



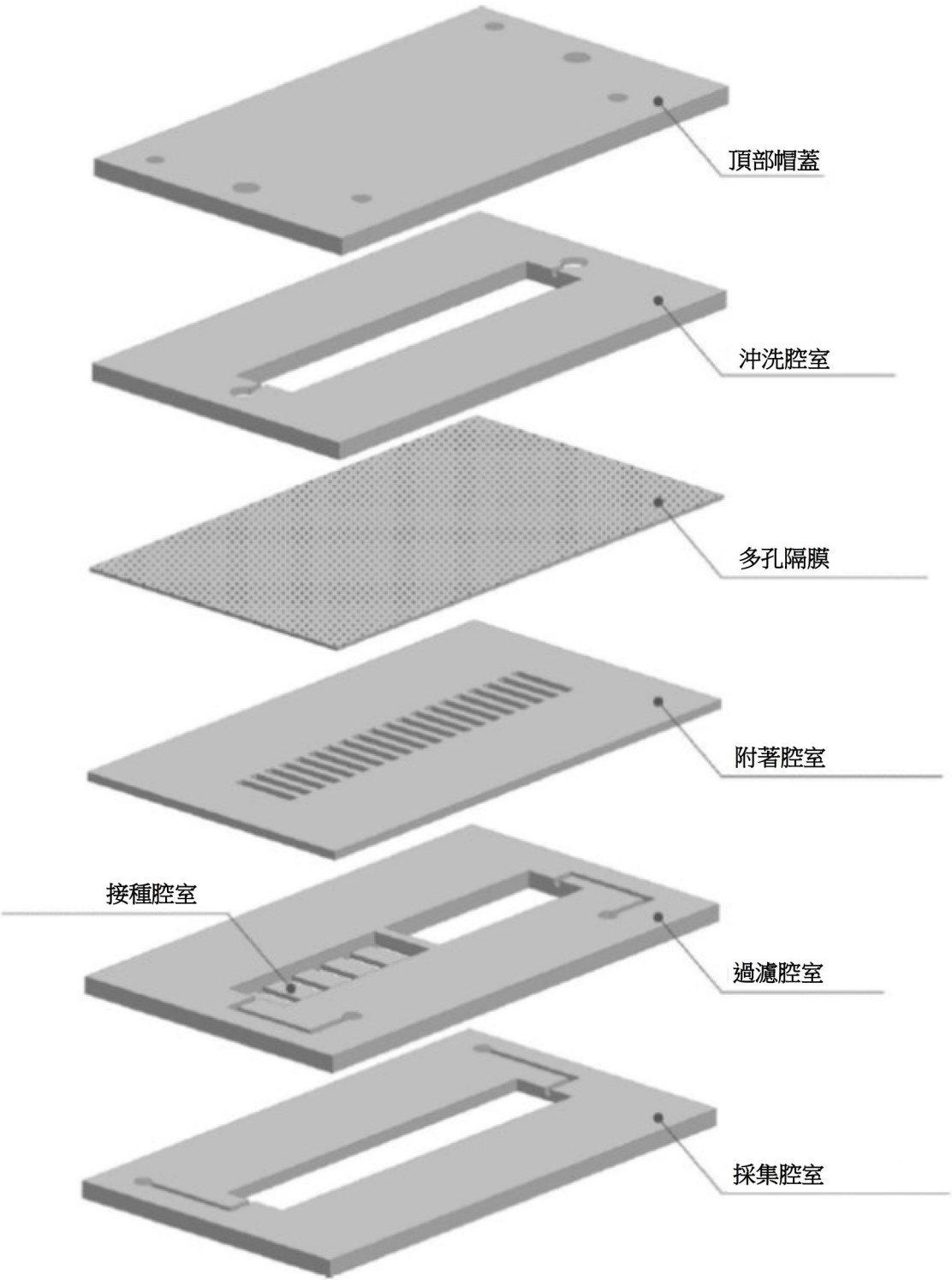
【圖19C】



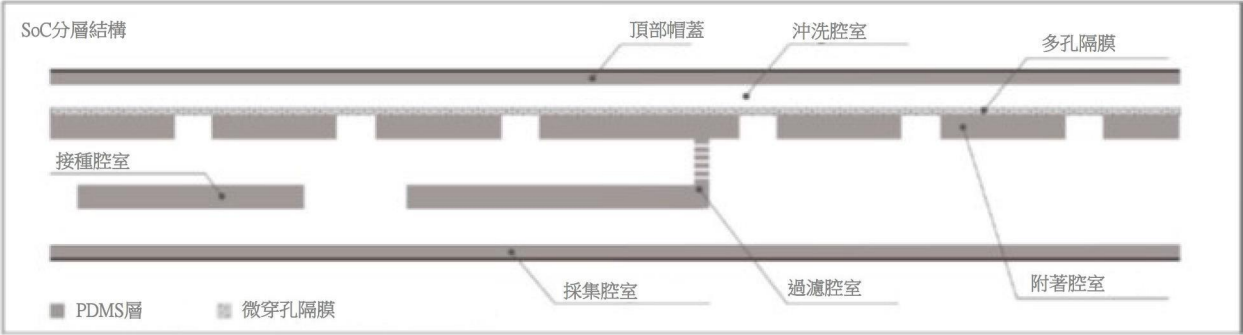
【圖19E】



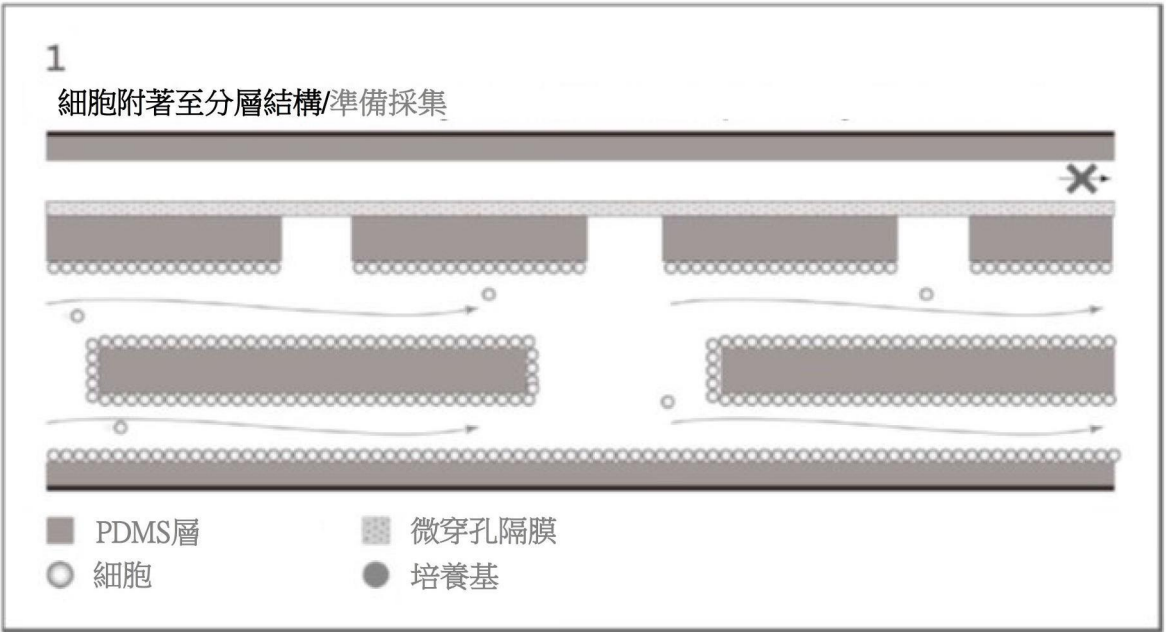
【圖19D】



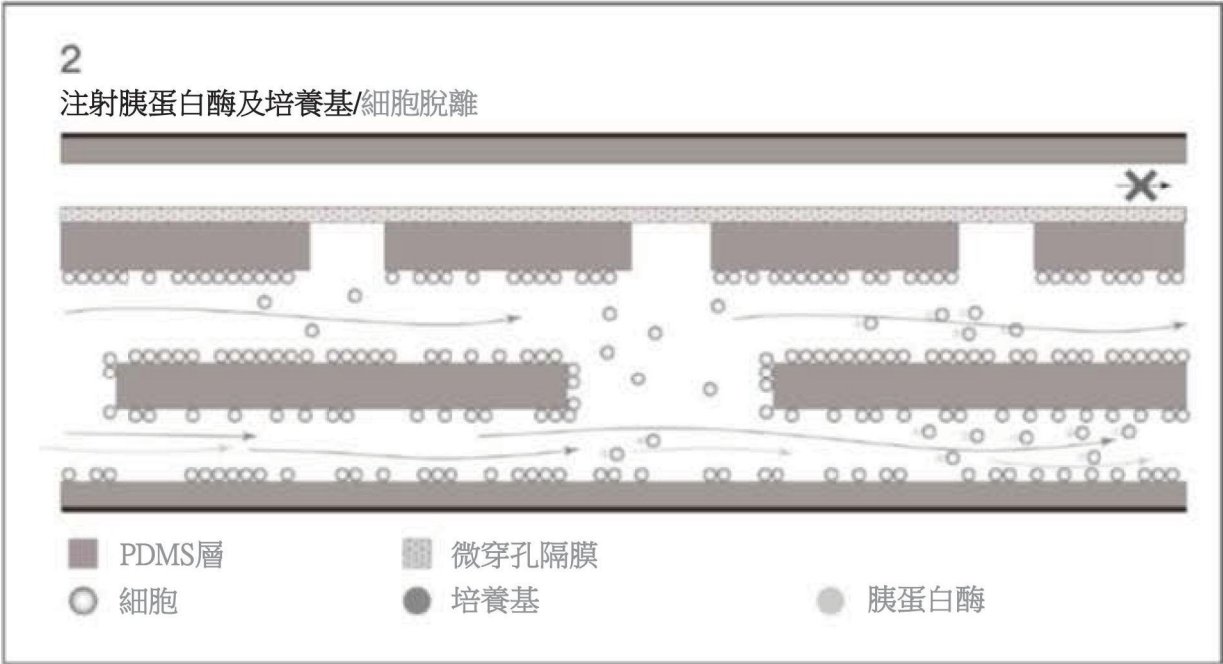
【圖20】



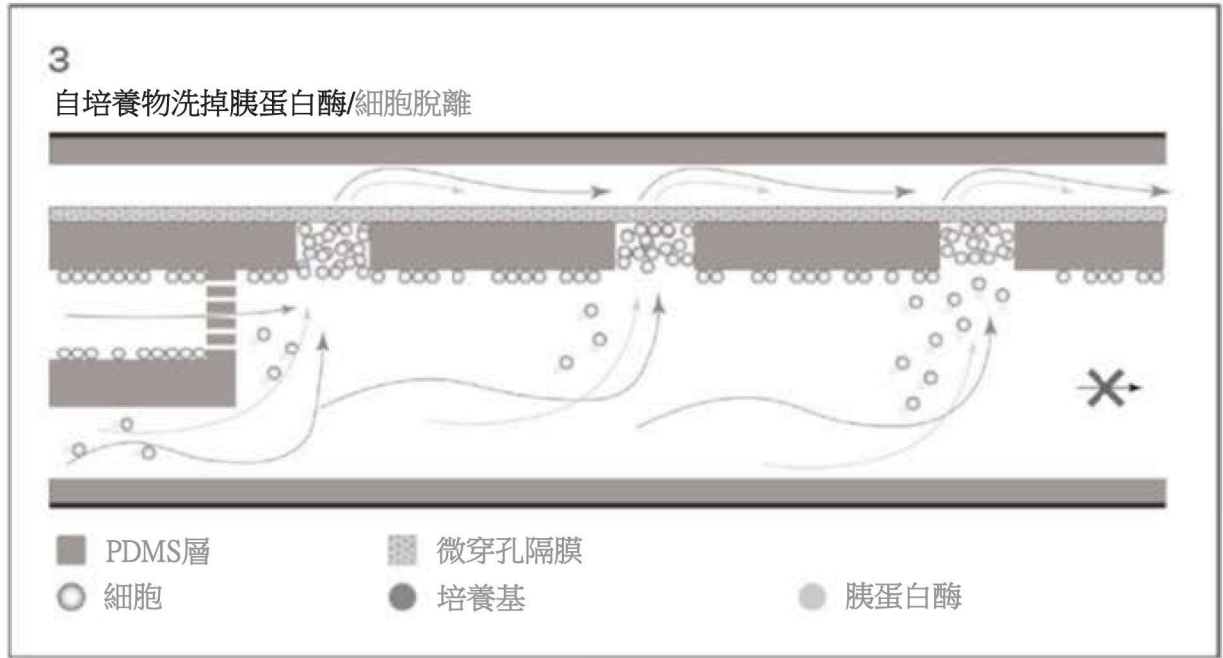
【圖21A】



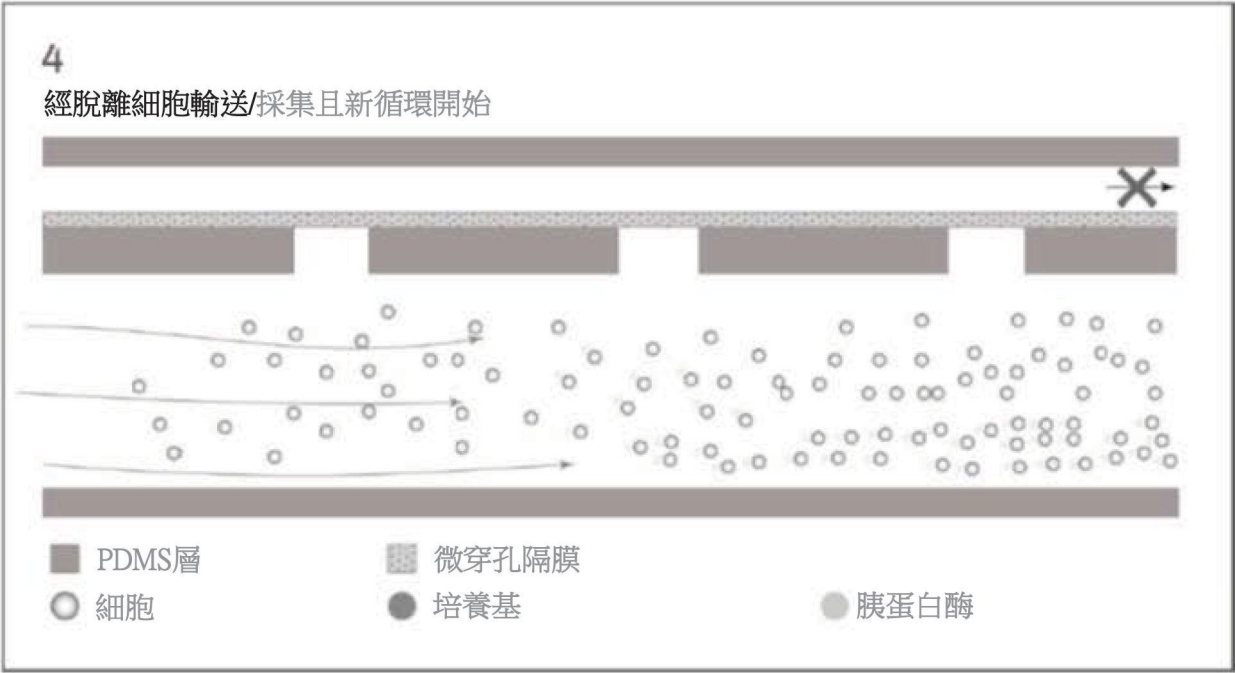
【圖21B】



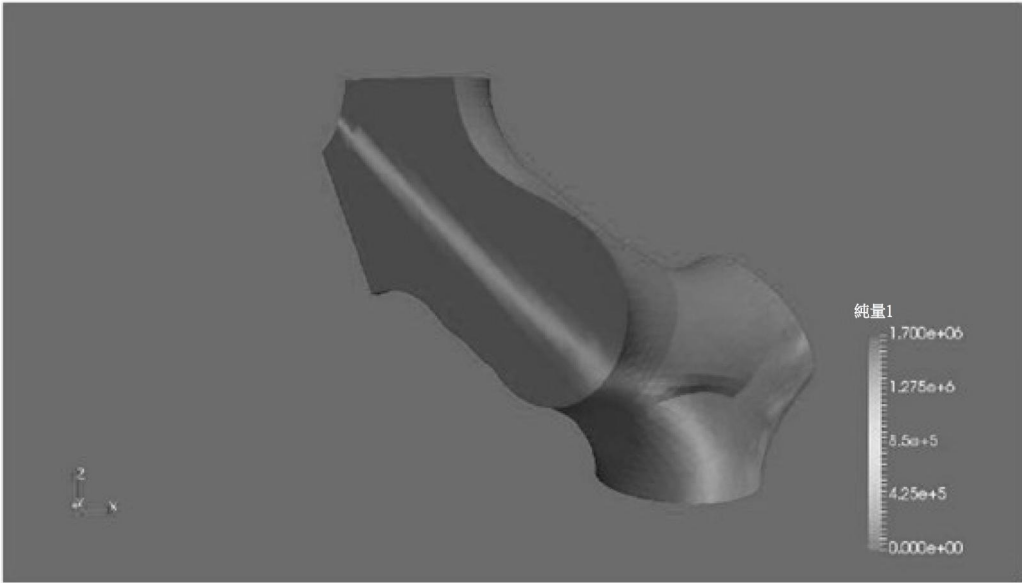
【圖21C】



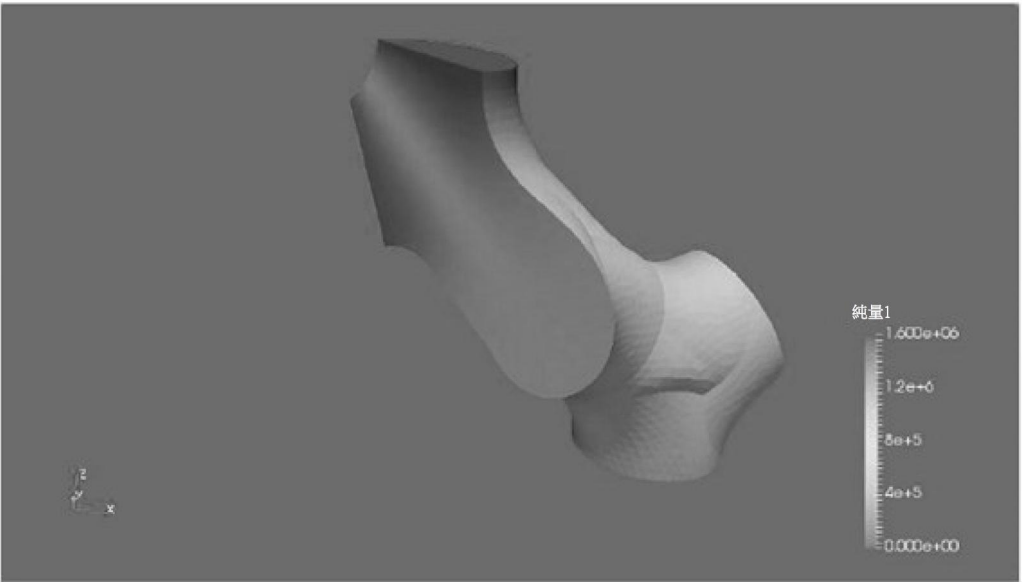
【圖21D】



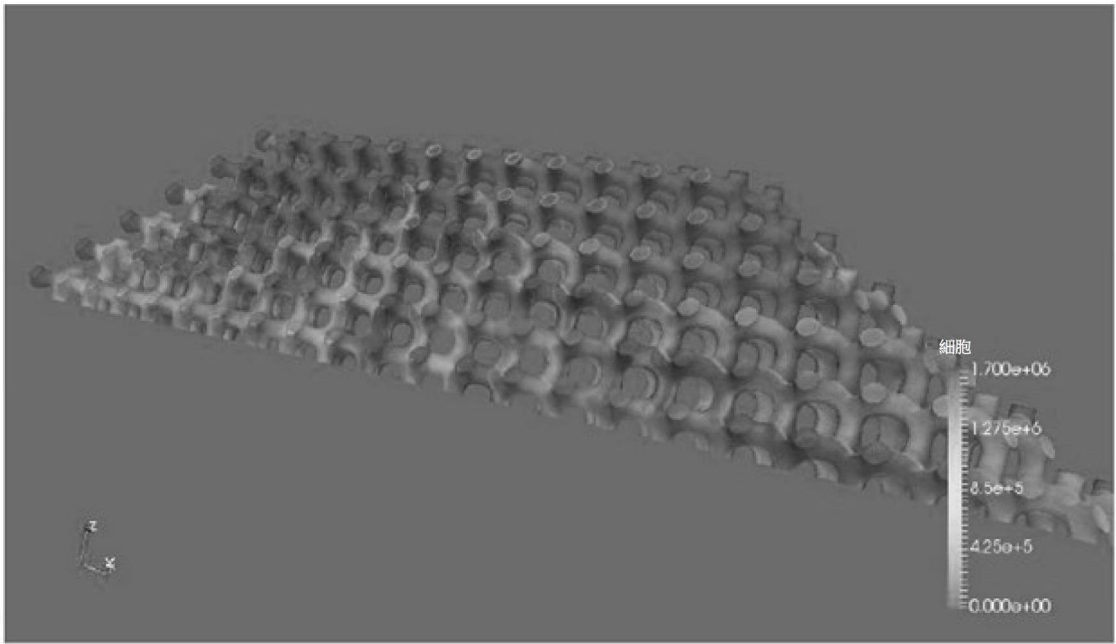
【圖21E】



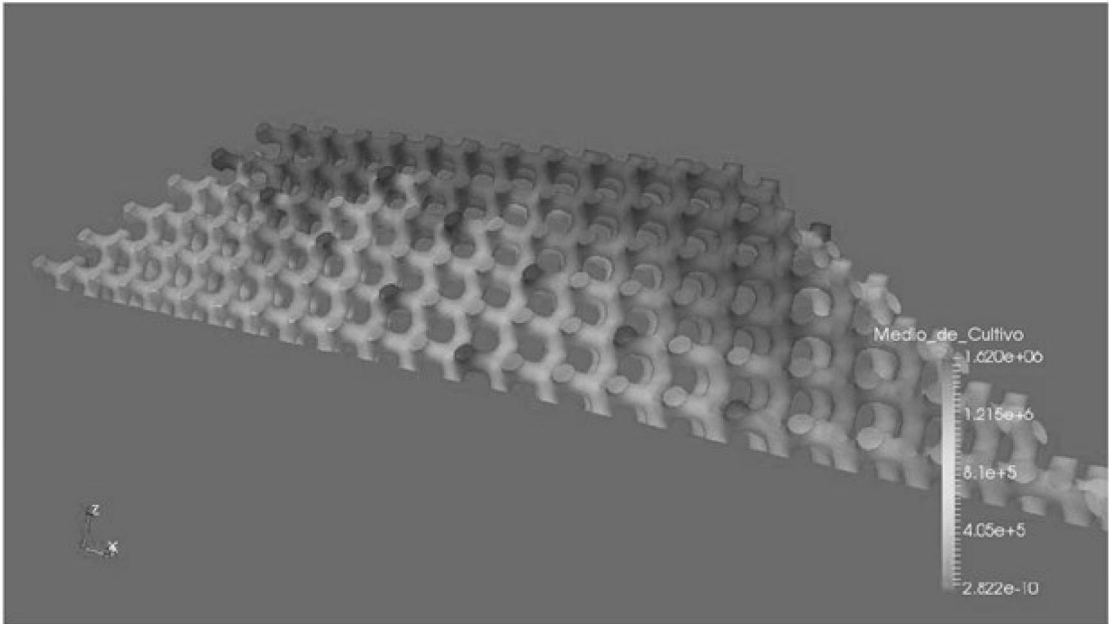
【圖22A】



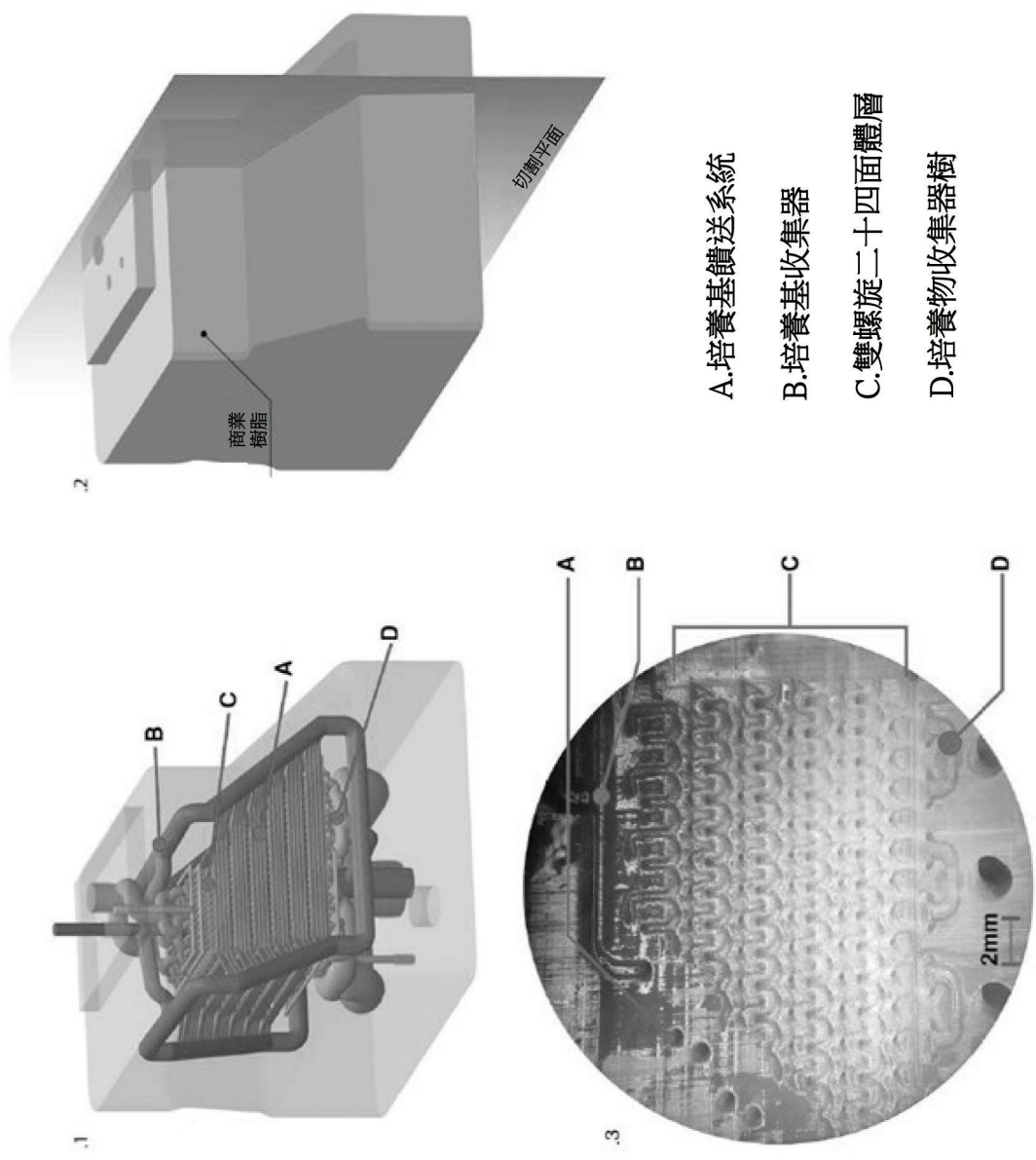
【圖22B】



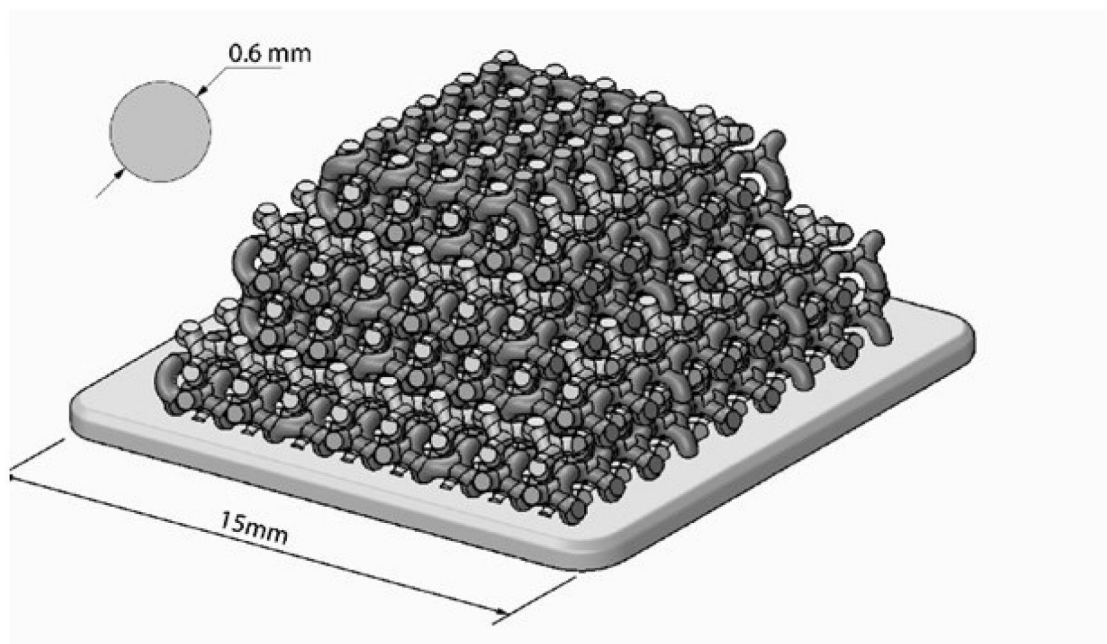
【圖23A】



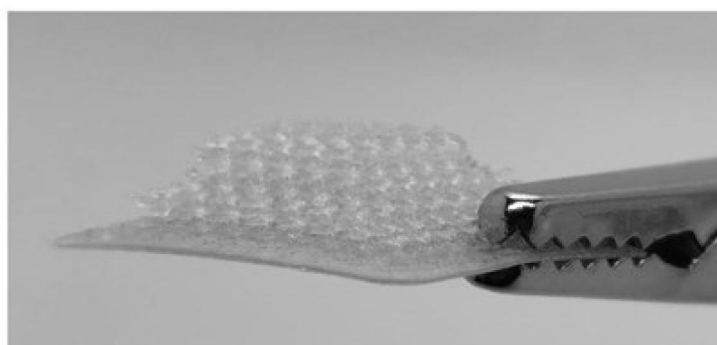
【圖23B】



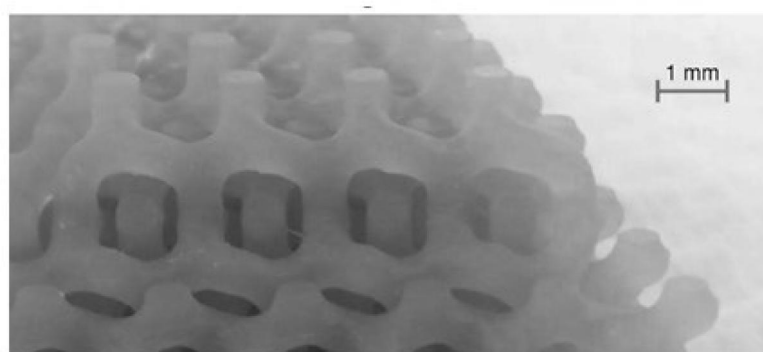
【圖24】



【圖25A】



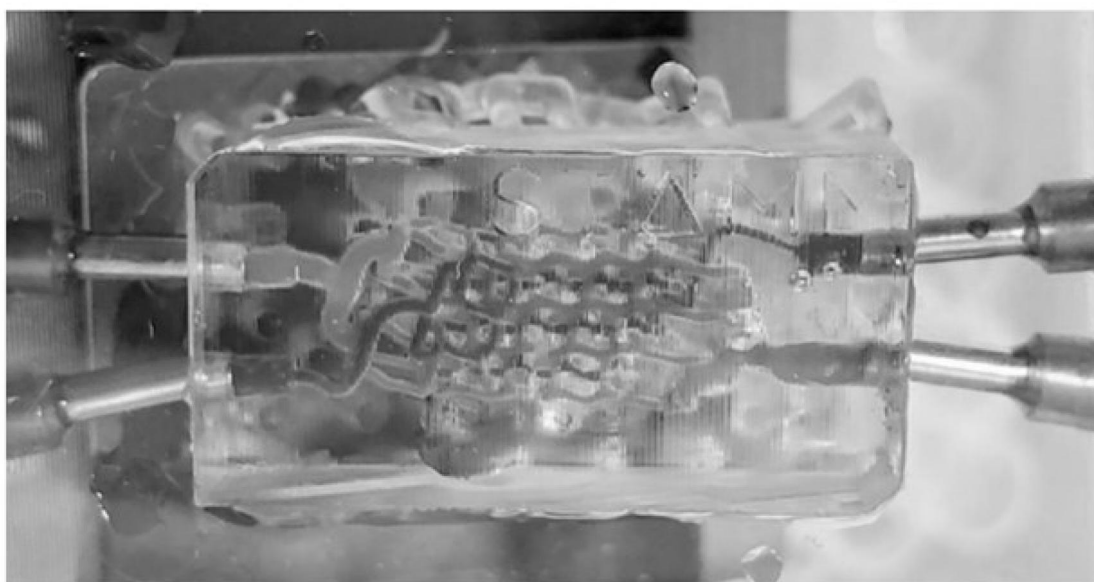
【圖25B】



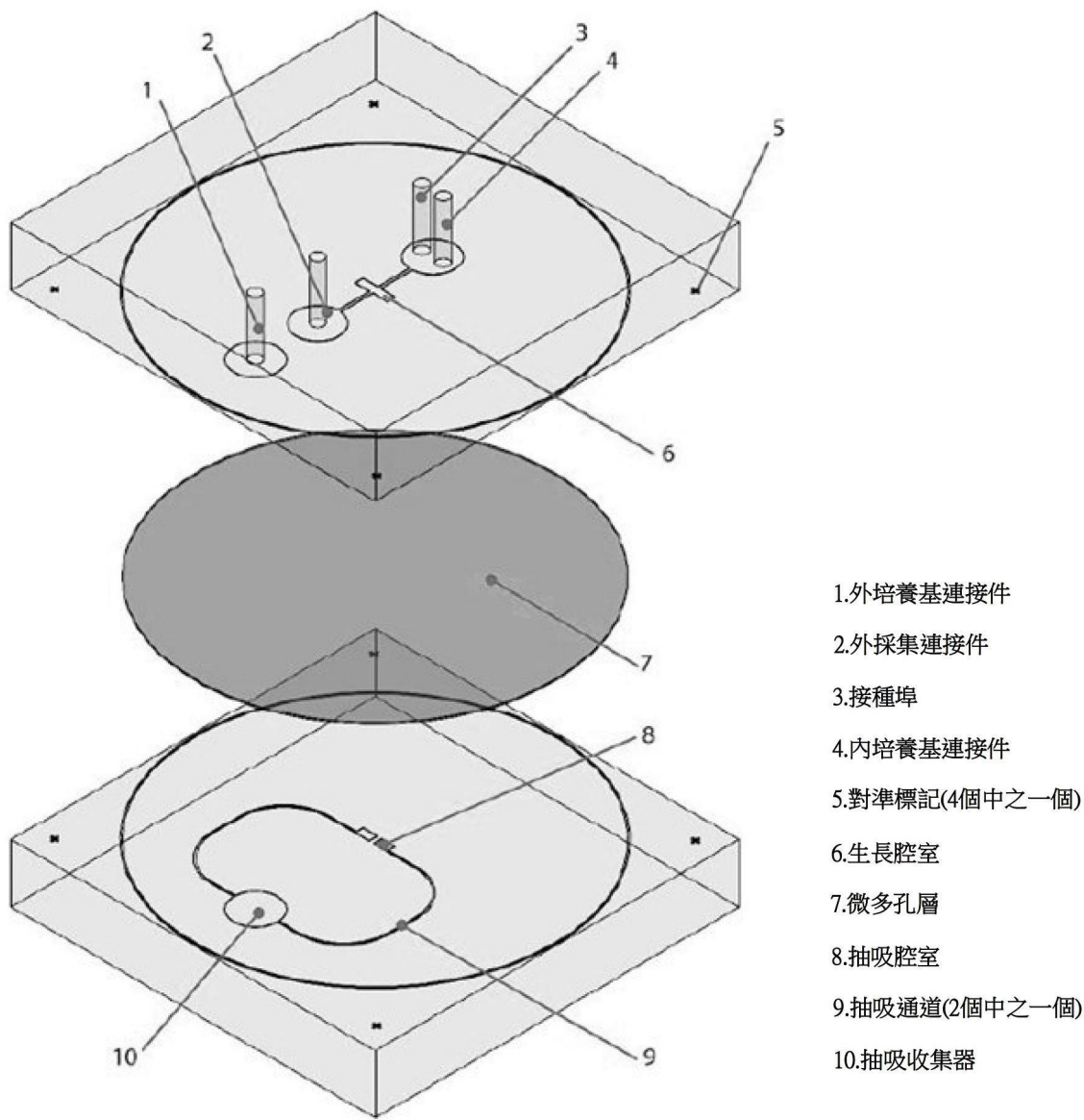
【圖25C】



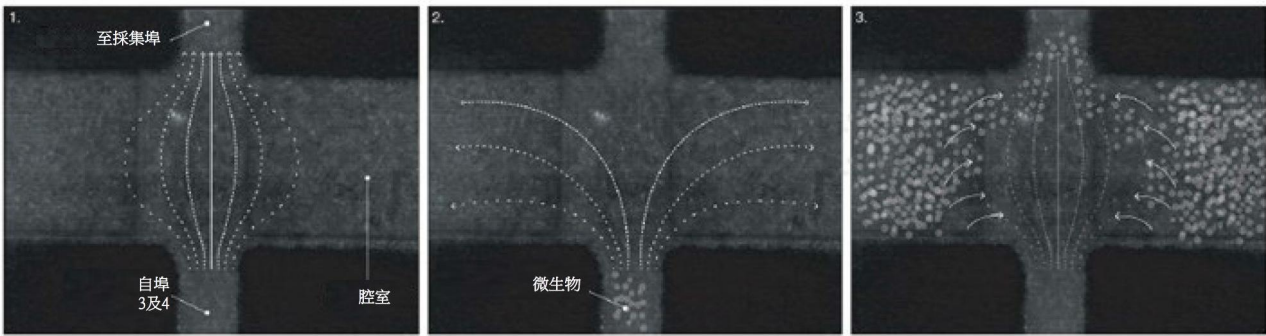
【圖26A】



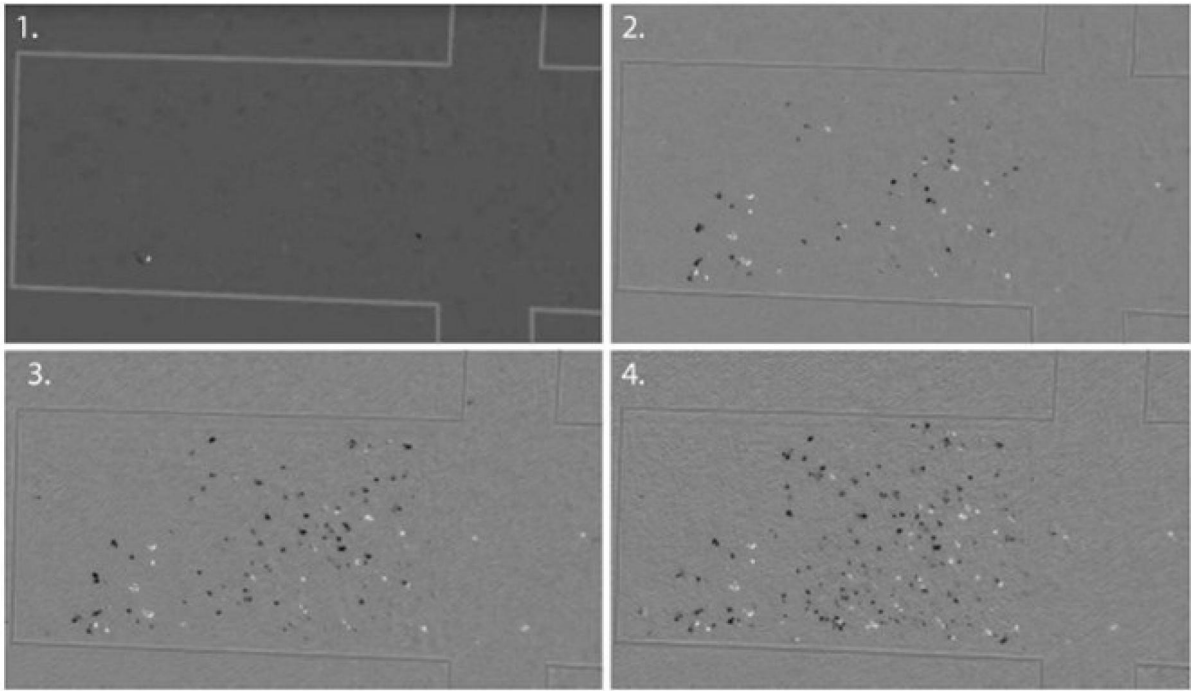
【圖26B】



【圖27】

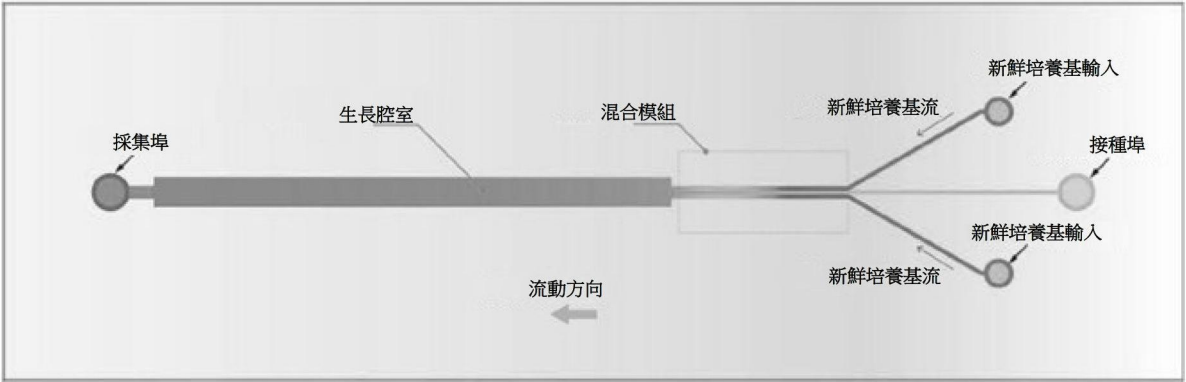


【圖28】

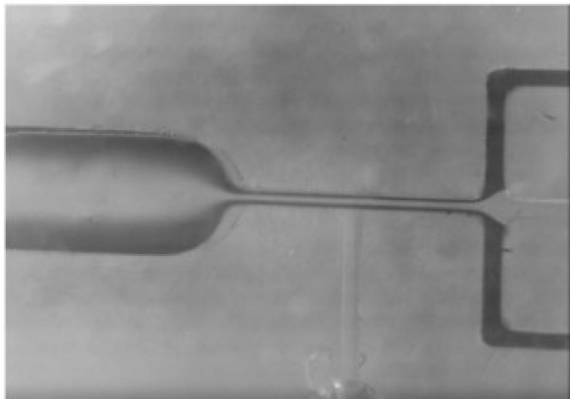


(1.)時間= 0 s ° (2.)時間= 120 s ° (3.)時間= 240 s ° (4.)時間= 360 s °

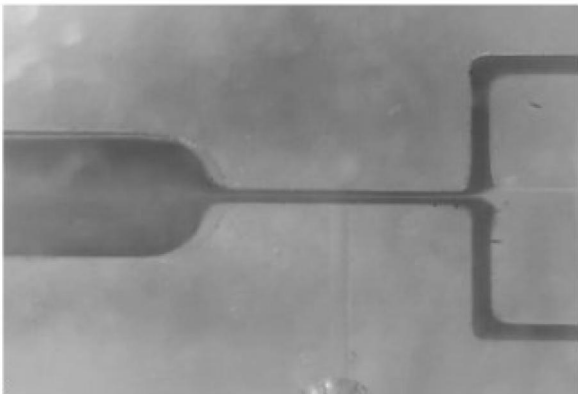
【圖29】



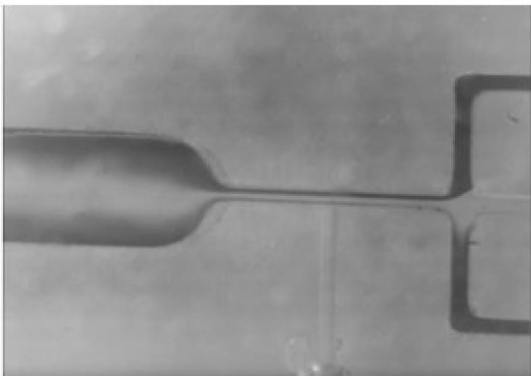
【圖30A】



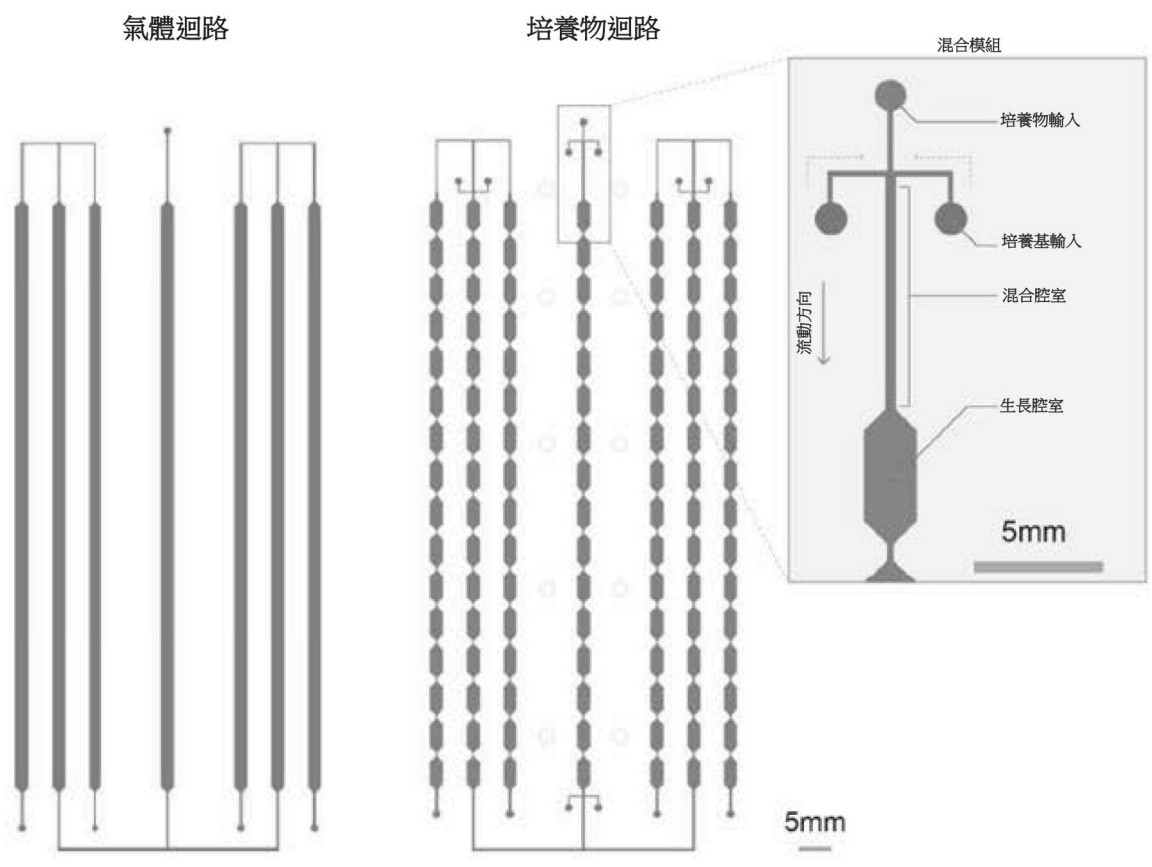
【圖30B】



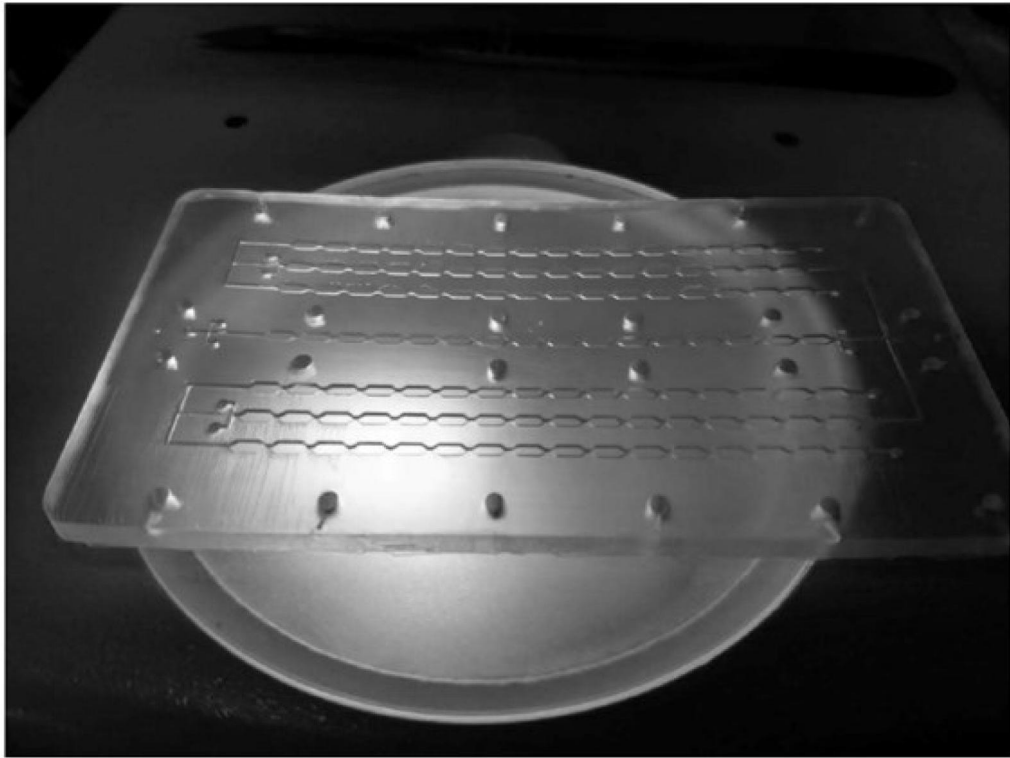
【圖30C】



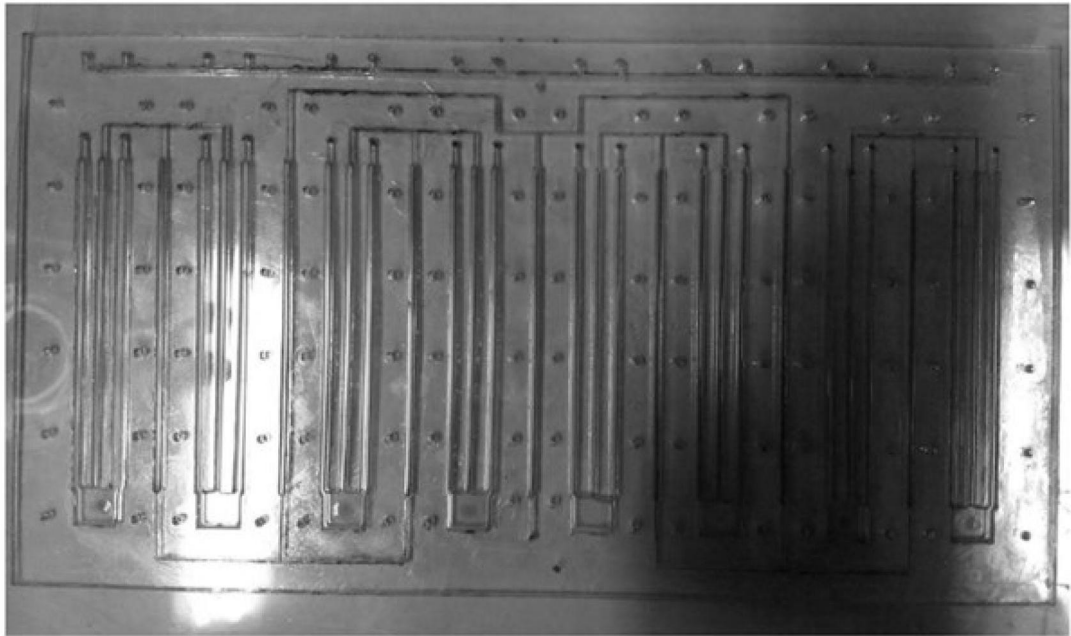
【圖30D】



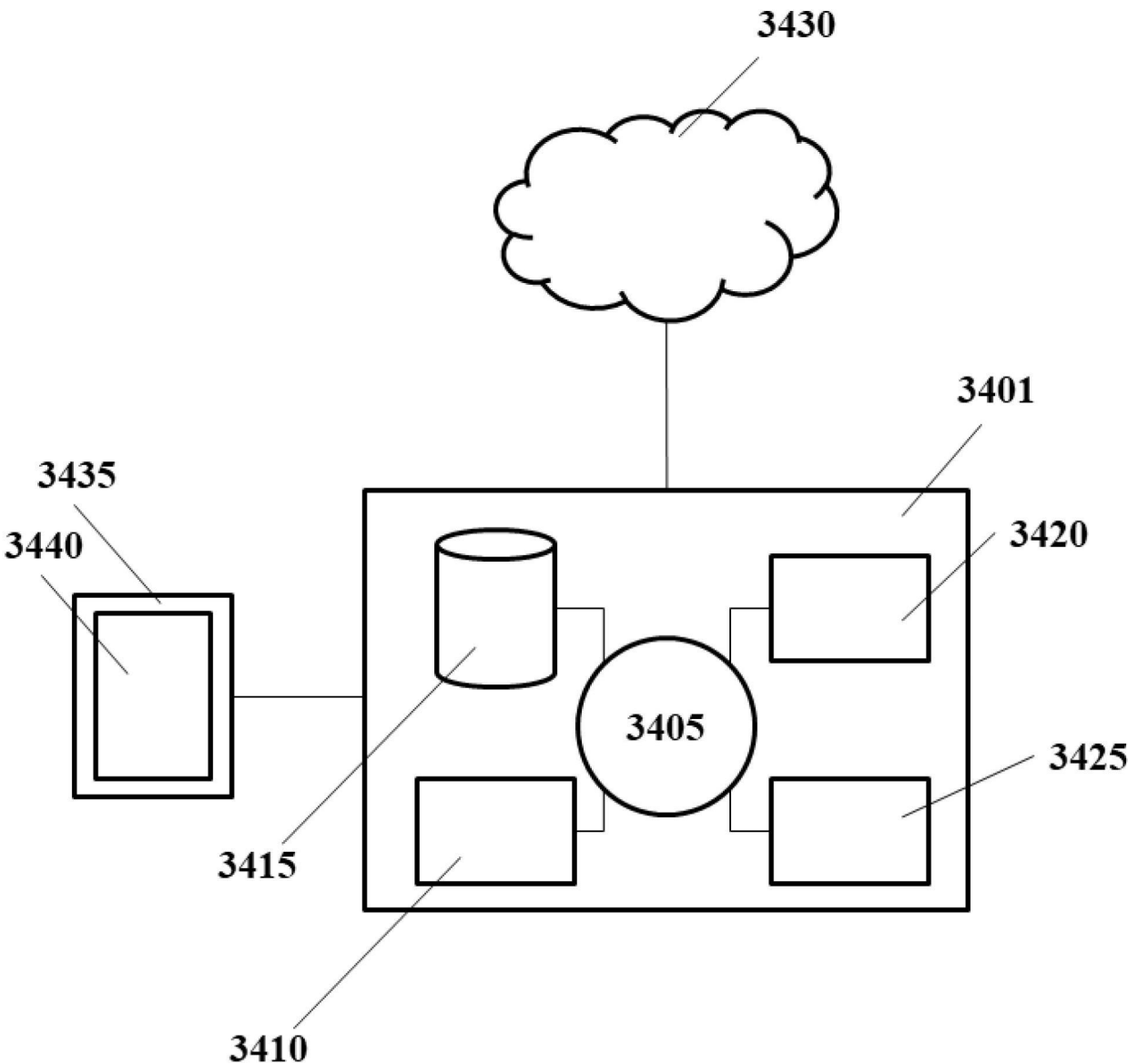
【圖31】



【圖32】



【圖33】



【圖34】