(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 111051494 B
(45)授权公告日 2024.03.29

(21)申请号 201880057357.X
(22)申请日 2018.07.13
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111051494 A
(43)申请公布日 2020.04.21
(30)优先权数据
62/532,639 2017.07.14 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.03.04
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/042159 2018.07.13
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/014635 EN 2019.01.17
(73)专利权人 康宁股份有限公司
地址 美国纽约州
(72)发明人 V·N·戈拉尔
(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
专利代理师 张璐 项丹
(51)Int.Cl.
C12M 1/24(2006.01)
C12M 1/32(2006.01)
(56)对比文件
GB 2500424 A,2013.09.25
US 5707869 A,1998.01.13
US 9005550 B2,2015.04.14
WO 2016/069885 A1,2016.05.06
审查员 邹帅

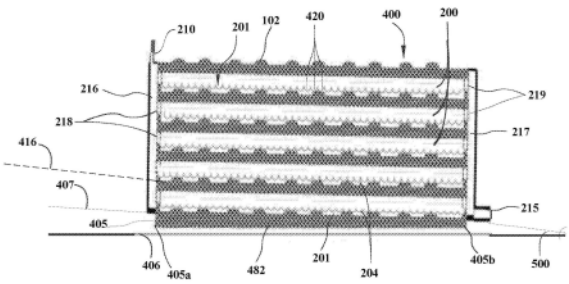
权利要求书1页 说明书15页 附图12页

(54)发明名称

用于手动或自动培养基交换的3D细胞培养容器

(57)摘要

一种细胞培养容器(400),包括限定基底平面的基底,所述基底平面在第一方向和垂直于第一方向的第二方向上延伸;彼此上下堆叠的多个细胞培养室(200),每个细胞培养室具有顶部(202)、底部(201)和侧壁(203),顶部、底部和侧壁各自具有内表面,其中,至少底表面具有支持以球体来培养细胞的微腔体(420)的阵列,并且每个底表面相对于其上放置容器的台或表面的平面成某角度。此外,液体可通过进口(210)流到每个细胞培养室中,并且可通过出口(215)从每个细胞培养室流出。成角度的细胞培养表面使得在球体不从微腔体移出的情况下灌注细胞培养室以及进行培养基更换。



CN 111051494 B

1.一种三维细胞培养容器,其包括:

至少一个细胞培养室,其具有底部、顶部和侧壁;

基底,其限定了在第一方向和垂直于第一方向的第二方向上延伸的支承平面;

其中,底部、顶部、和侧壁各自具有面向细胞培养室内侧的表面;

其中,至少细胞培养室的底表面包括微腔体阵列;

在容器的顶部中的进口,其在容器的一侧上提供了通到细胞培养室的口;

在容器的底部中的出口,其在容器的相对侧上提供了通到每个细胞培养室的口;

其中,细胞培养室的底表面限定了基材平面,其相对于支承平面的第一方向成第一角度,并且相对于支承平面的第二方向成第二角度;并且

其中,第一角度和第二角度的绝对值分别为1°至30°。

2.如权利要求1所述的三维细胞培养容器,其中,第一平面角度的绝对值为5°,并且第二平面角度的绝对值为5°。

3.如权利要求1所述的三维细胞培养容器,其包括彼此上下堆叠的至少两个细胞培养室。

4.如权利要求3所述的三维细胞培养容器,其中,进口通过进口歧管流体连接到每个细胞培养室,并且每个细胞培养室具有在细胞培养室与进口歧管之间的进口开口。

5.如权利要求4所述的三维细胞培养容器,其中,出口通过出口歧管流体连接到每个细胞培养室,并且每个细胞培养室具有在细胞培养室与出口歧管之间的出口开口。

6.如权利要求3所述的三维细胞培养容器,其中,每个细胞培养室的底部包含气体可渗透、液体不可渗透的材料。

7.如权利要求6所述的三维细胞培养容器,其中,每个细胞培养室通过管状空间与其紧邻的细胞培养室分开。

8.如权利要求1所述的三维细胞培养容器,其中,进口在容器的顶部角落中。

9.如权利要求8所述的三维细胞培养容器,其中,出口在容器的与进口顶部角落相对的底部角落中。

10.一种在如权利要求1-9中任一项所述的三维细胞培养容器中培养细胞的方法,包括:

通过进口将含有细胞和培养基的液体引入细胞培养室中;

使细胞通过重力沉降到微腔体中;以及

培养细胞。

11.如权利要求10所述的方法,还包括:在培养细胞时,使液体通过进口流动到容器中,通过细胞培养室,以及通过出口从容器流出。

用于手动或自动培养基交换的3D细胞培养容器

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年7月14日提交的题为“Cell Culture Containers and Methods of Culturing Cells(细胞培养容器及培养细胞的方法)”的系列号为62/532,639的美国临时申请的优先权权益,本文以该申请的内容为基础并通过引用将其全部结合入本文。

技术领域

[0003] 本公开一般涉及细胞培养容器和培养细胞的方法,更具体地,涉及用于容纳和基于三维细胞培养(包括交换培养基)的细胞培养容器,以及培养三维细胞的方法和使用所述细胞培养容器来交换培养基的方法。

背景技术

[0004] 在细胞培养容器中容纳三维细胞是已知的。在细胞培养容器中培养三维细胞也是已知的。

发明内容

[0005] 下文给出了本公开的简化归纳,以便提供对具体实施方式所描述的一些示例性实施方式的基本理解。

[0006] 细胞培养容器(例如烧瓶)可提供用于培养细胞的无菌微腔体。在一些实施方式中,培养细胞可提供关于疾病和毒理学研究,药剂和治疗的功效,肿瘤特性、生物体、遗传学以及细胞和与细胞相关的其他科学、生物学和化学原理的信息。在培养期间,细胞培养容器提供无菌、液体不可渗透的微腔体来容纳细胞。

[0007] 微腔体或细胞生长室可包括底表面、顶表面和具有表面的侧壁。这些表面中的至少一个表面可适于细胞生长。例如,为了建立球体细胞培养的基础,细胞生长表面可包括多个微腔体(例如,微米尺寸的孔、亚毫米尺寸的孔穴),它们例如以阵列排列。细胞生长表面可与烧瓶一体,或者可以是放置在或固定在细胞生长室中的单独的基材。顶表面、底表面、一个或多个侧表面或它们的组合可包括成阵列的微腔体。例如,微腔体可以波状或正弦形状形成,从而形成具有圆化顶部和圆化底部的微腔体或微孔穴。在一些实施方式中,烧瓶可填充有促进三维细胞培养物(例如细胞团、球体)的生长的材料(例如,培养基、固体、液体、气体)。例如,可向细胞培养室添加包含细胞并且细胞悬浮在液体中的培养基。悬浮的细胞可被聚集在多个微腔体中并且可形成(例如,生长)为细胞组或细胞簇。成组或成簇的细胞在三个维度上生长以形成3D细胞,或被称为球体或类器官。在单个微腔体中形成单个细胞簇或球体。因此,细胞培养表面具有微腔体阵列的细胞培养室可用于培养球体阵列,并且每个球体位于其自身的微腔体中。

[0008] 例如,在一些实施方式中,在多个微腔体的每个微腔体中可形成单个球体。细胞将通过重力沉降到微腔体中。悬浮在液体培养基中的一个或多个细胞将经过液体落下并沉降在每个微腔体中。微腔体的形状(例如,限定孔穴的凹表面),以及防止细胞粘附于表面的微

腔体的表面涂层也可促进细胞生长成三维形式,从而在每个微腔体中形成球体。

[0009] 在培养期间,球体可消耗培养基(例如,养料、营养)并且产生作为副产物的代谢物(例如废物)。因此,在一些实施方式中,在培养期间可向细胞培养室添加培养基形式的养料,并且在培养期间可从细胞培养室移除废培养基。这种更换培养基来饲养细胞以及移除废产物的能力促进了细胞的长期培养。然而,添加和移除培养基可使置于微腔体中的球体移位。当微腔体涂覆有低结合性涂层以防止细胞粘住微腔体表面时尤为如此。在本公开中,公开了降低球体从微腔体移位的风险的结构,从而促进了球体的长期培养。相比于二维细胞培养物,在一些实施方式中,三维细胞培养物可产生多细胞结构,其在生理学上更精确,并且相比于实验室中的模拟条件更逼真地代表细胞可在实际生命应用中存在和生长的环境。例如,发现三维细胞培养物更接近地提供模拟“体内”(即,在活体内,在真实环境中)细胞生长的真实环境;而发现二维细胞培养物提供模拟“体外”(即,在玻璃中,在实验室环境中)细胞生长的环境,其不能那么好地代表实验室外发生的真实环境。通过与三维细胞培养物的相互作用以及观察其性质和行为,可实现关于以下方面的细胞理解的进步,例如,疾病和毒理学研究,药剂和治疗的功效,肿瘤特性、生物体、遗传学以及细胞和与细胞相关的其他科学、生物学和化学原理。

[0010] 在一些实施方式中,在研究疾病和毒理学,药剂和治疗的功效,肿瘤特性、生物体、遗传学以及细胞和与细胞相关的其他科学、生物学和化学原理期间,期望长期培养大量球体以放大信号。例如,如果期望测试药物的代谢物,可能需要长期培养细胞以给予所培养的细胞足够的时间来代谢足够量的药物从而使代谢物可测量。在一些实施方式中,还期望使大量球体以尽可能小的物理空间来生长,从而在细胞培养期间节约孵育箱的空间。单层细胞培养装置(包括烧瓶)在本领域中是已知的。多层细胞培养装置允许使用者在孵育箱空间的每立方英寸中培养更多细胞,该装置也是已知的;例如参见第7,745,209号、第8,273,572号、第8,470,589号、第8,846,399号、第9,045,721号、第9,845,451号和第8,178,345号美国专利,所有专利均转让给康宁股份有限公司(Corning Incorporated)。图1获取自第8,178,345号美国专利,并且其作为现有技术的例示来提供。已经公开了被结构化和布置用于生长球体细胞的多层装置(例如参见WO2016/069885和WO2016/069892,其也被转让给康宁股份有限公司)。本文所引用的所有文献均通过参引纳入本文。本公开提供了适于在培养基更换期间降低位于微腔体中的球体移位的风险的单层或多层细胞培养容器。

[0011] 在实施方式中,细胞培养容器包括基底,其限定了在第一方向以及垂直于第一方向的第二方向上延伸的基底平面。在实施方式中,细胞培养容器具有彼此叠置的多个细胞培养室,每个细胞培养室具有形成细胞培养室的顶部、底部和侧壁。顶部、底部和侧壁各自具有面向细胞培养室内侧的内表面。在实施方式中,至少底表面具有微腔体阵列以为将细胞作为球体来培养创建基础。在实施方式中,每个细胞培养室的每个底表面相对于基底平面成角度。此外,液体可通过进口流到每个细胞培养室中,并且可通过出口从每个细胞培养室流出。成角度的细胞培养表面防止了培养基更换期间球体移出。

[0012] 在实施方式中,细胞培养容器可包括一个或多个细胞培养室。每个细胞培养室(由顶部、侧壁和底部限定)至少是底表面具有微腔体阵列以允许细胞以3D或球体形式在细胞培养室中生长。此外,所述容器具有垂直于重力方向的台平面,该平面在第一方向以及垂直于第一方向的第二方向上延伸。台平面平行于容器位于其上的表面平面。台平面例如是容

器位于其上的工作台或工作空间的平坦平面。每个细胞培养室的底表面可以相对于台平面的第一方向成第一角度,并且相对于台平面的第二方向成第二角度来取向。在实施方式中,第一角度和第二角度中的至少一者的绝对值可大于零。在一些实施方式中,一种方法可包括在细胞培养容器中培养细胞。

[0013] 在一些实施方式中,一种培养细胞的方法可包括:将液体引入到多个细胞培养室中,同时使容器的基底平面相对于重力方向为垂直取向。基底平面可在第一方向和垂直于第一方向的第二方向上延伸。所述方法可包括:在将液体引入到至少一个室中后,在所述至少一个细胞培养室中培养细胞,以及在至少一个微腔体中培养细胞的同时,使液体在平行于基材平面的流动方向上流动。

[0014] 以上实施方式是示例性的,并且可单独或与本文提供的任意一个或多个实施方式以任意形式组合来提供而不会偏离本公开的范围。另外,应当理解的是,前面的一般性描述和以下的具体实施方式都呈现了本公开的实施方式,且都旨在提供用于理解所描述和所要求保护的实施方式的性质和特性的总体评述或框架。包括的附图提供了对实施方式的进一步理解,附图结合于本说明书中并构成说明书的一部分。附图例示了本公开的各个实施方式,并与说明书一起用来解释其原理和操作。

附图说明

[0015] 当参照附图阅读时,可以进一步理解本公开的这些特征、实施方式和优点以及其他特征、实施方式和优点,附图中:

[0016] 图1代表了现有技术并且示出了多层细胞培养容器的剖视图。

[0017] 图2是本公开的一个实施方式中的灌注系统的示意图。

[0018] 图3是本公开的一个实施方式中的多层细胞培养容器的截面示意图。

[0019] 图4根据本公开的实施方式,示意性例示了包括基底平面和台平面的细胞培养容器的一个实施方式的平面图;

[0020] 图5根据本公开的实施方式,示出了沿着图4的线5-5的包括基底平面和台平面的细胞培养容器的一个实施方式的正视图;

[0021] 图6根据本公开的实施方式,示出了沿着图4的线506的包括基底平面和台平面的细胞培养容器的一个实施方式的侧视图;

[0022] 图7根据本公开的实施方式,示出了沿着图4的线7-7的包括基底平面和台平面的细胞培养容器的示例性实施方式截面图;

[0023] 图8根据本公开的实施方式,示出了以图7的视图8截取的包括基底并且基底包括较厚部分和较薄部分的细胞培养容器的一部分的替代性示例实施方式;

[0024] 图9根据本公开的实施方式,示出了以图7的视图8截取的包括基底并且基底包括基底的细胞培养容器的一部分的替代性示例实施方式;

[0025] 图10根据本公开的实施方式,示出了沿着图5的线10-10的包括基底平面和台平面的细胞培养容器的底视图;

[0026] 图11根据本公开的实施方式,例示了以图7的视图55截取的包括基材并且该基材包括多个细胞培养室的细胞培养容器的一部分的一个示例性实施方式的放大示意图;

[0027] 图12根据本公开的实施方式,示出了沿着图11的线12-12的包括细胞培养表面且

细胞培养表面包括多个微腔体的细胞培养容器的部分的平面图；

[0028] 图13根据本公开的实施方式，示出了包括使液体沿着流动路径流动的方法的图11的细胞培养容器的部分的替代性示例实施方式；

[0029] 图14根据本公开的实施方式，示出了包括在细胞培养室的底表面中的多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞的方法的图11的细胞培养容器的部分的替代性示例实施方式；

[0030] 图15根据本公开的实施方式，示出了包括在细胞培养室的底表面中的多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞，同时使液体和气体沿着流动路径流动的方法的图11的细胞培养容器的部分的替代性示例实施方式；

[0031] 图16根据本公开的实施方式，示出了包括在细胞培养室的底表面的多个微腔体中的至少一个微腔体中培养细胞的方法的图11的细胞培养容器的部分的替代性示例实施方式；

[0032] 图17根据本公开的实施方式，示出了包括在基材的多个微腔体中的至少一个微腔体中培养细胞，同时使液体和气体沿着流动路径流动的方法的图11的细胞培养容器的部分的替代性示例实施方式；以及

[0033] 图18根据本公开的实施方式，示出了包括在基材的多个微腔体中的至少一个微腔体中培养细胞的方法的图11的细胞培养容器的部分的替代性示例实施方式。

具体实施方式

[0034] 下文将参照附图更完整地描述各个特征，附图中示出了本公开的示例性实施方式。只要可能，在所有附图中使用相同的附图标记来表示相同或类似的部分。但是，本公开可以以许多不同的形式实施并且不应被解读成限于本文中提出的实施方式。

[0035] 图1代表了现有技术并且示出了多层细胞培养容器100的剖视图。如该现有技术装置中所示，多层细胞培养装置显示为具有顶表面102、底表面104、带盖112的颈缩开口110和侧壁120。存在多个细胞培养室114。细胞培养室114的底表面116由毗邻管状空间124的气体可渗透、液体不可渗透的材料构成。为了填充该容器，使用者将流体引入到颈缩开口中，从而通过歧管108将液体分配到每个细胞培养室中。在该容器中不能灌注。

[0036] 图2是本公开的一个实施方式中的灌注系统的示意图。图2例示了多层细胞培养容器400。容器400具有顶表面102和底表面482。多层细胞培养容器的每个层是离散的细胞培养室200。每个细胞培养室具有底部201、顶部202和侧壁203(图2中未示出)，它们一起限定了细胞培养室200。底部201、顶部202和侧壁各自具有面向细胞培养室200内的内表面。在实施方式中，具有上下堆叠的至少两个细胞培养室，每个细胞培养室具有底部、顶部和侧壁。在实施方式中，这些表面中的至少一个表面具有微腔体420。在实施方式中，至少底表面具有微腔体420。在实施方式中，微腔体420以微腔体阵列来提供。图2例示了具有五层细胞培养室200的实施方式，每个细胞培养室200具有底部201，所述底部201具有微腔体420的阵列。如本文中所用，“阵列”仅意为多个微腔体420。

[0037] 这些微腔体420被结构化和布置成向培养的细胞提供用于形成三维结构或球体的基础。也就是说，微腔体420涂覆有无粘性涂层，以保持细胞不粘着于基材并且不形成单层细胞，此外，这些微腔体具有适当的几何结构以促进细胞在培养中聚集在一起并形成球体。

在一个实施方式中以及如图11和13-18所示,这些微腔体420是正弦形状。也就是说,微腔体420具有圆化的顶部和圆化的底部。然而,微腔体420可以具有与培养中的球体的形成一致的任何形状或几何结构。

[0038] 图3是本公开的一个实施方式中的多层细胞培养容器400的截面示意图。图3例示了沿着容器的一侧在容器顶部的进口210以及沿着容器的另一侧在容器底部的出口215。在实施方式中,出口215在与进口210相对的容器的一侧。进口210通过进口歧管21与每个细胞培养室200流体连通。出口216通过出口歧管217与每个细胞培养室200流体连通。每个细胞培养室具有在细胞培养室200与进口歧管216之间的进口开口218以及在细胞培养室200与出口歧管217之间的出口开口219。在实施方式中,如图3所示,不需要泵来使液体流动通过容器,并且流体通过重力流动,从而在相对于台平面406成角度的细胞培养室的底表面上流动。

[0039] 回来参考图2,液体(例如培养基)可流到进口210中,通过进口歧管216,经进口开口218进入到每个细胞培养室200中,经出口开口219从细胞培养室200流出,通过出口歧管217,以及通过出口215离开容器。在实施方式中,液体的流动可以通过泵209的方式,或者通过重力来实现。在实施方式中,提供液体储器以既向进口210提供液体(213)又收集来自出口215的液体(211)。在实施方式中,可以存在阀212以控制来自新鲜培养基储器213以及流到废物或收集储器211的流量。在实施方式中,管道可以将进口连接到泵(未示出)以便将液体泵送到进口210中。

[0040] 在实施方式中,液体可从出口215来填充容器400。例如,液体可进入出口215,并且通过泵209而被泵送到容器400中。当以这种方式填充容器400时,液体可通过该进口进入容器,并且流到出口歧管217中,可通过出口开口219进入每个细胞培养室200,填充每个细胞培养室200,然后通过进口开口218填充进口歧管。这允许在填充容器时,使空气通过进口210离开容器。以这种方式来填充装置可以有助于在填充过程期间将空气从容器排出并且减少气泡的形成。

[0041] 图3还例示了具有内部管状空间204的多层细胞培养容器,所述内部管状空间204毗邻每个细胞培养室200的底部201。在实施方式中,每个细胞培养室的底部201由气体可渗透、液体不可渗透的材料制成。使用这种材料增加了来自管状或气体空间220的气体通过气体可渗透且液体不可渗透的材料进入到容纳球体的微腔体420中的气体交换。这种气体可渗透材料使得容器更加通用。例如,如果以非灌注模式使用,则在无灌注培养基的情况下,细胞接触氧气。然而,如果灌注系统处于运行中,则氧气可被输送至溶于循环培养基的细胞。由此,容器既可用作灌注系统又可用作静态系统。但是,在灌注系统中,该气体可渗透材料可以不是必要的,因为氧气经由含氧培养基循环通过细胞培养室200而被提供给球体。

[0042] 如图3所示,容器具有成角度的基底405。也就是说,基底405在容器的进口侧405a处比在容器的出口侧405b处更厚。由于基底在进口侧405a处比在出口侧405b处更厚,因此基底的平面(基底平面407)不同于台的平面406。台平面406往往与垂直于重力的平面平行,所述垂直于重力的平面代表台顶部或孵育箱搁板。台平面406平行于容器400位于其上的表面。堆叠的细胞培养室200被堆叠在基底405上并且平行于基底平面407。因此,堆叠的细胞培养室200中的每个细胞培养室相对于台平面406成角度(例如,参见图5的417i)。

[0043] 此外,如果细胞培养容器400为正方形或矩形,则进口可以在容器的对角角落上

(例如,如图5所示)。在该情况中,可以是基底405沿着容器400的一个平面具有某角度,或者基底405沿着容器400的两个平面具有某角度。也就是说,基底可以具有沿着“X”轴的角度(X-Z角,例如,参见图5的417i),沿着“Y”轴的角度(Y-Z角,例如,参见图6的418i),或者沿着“X”和“Y”轴二者的角。也就是说,细胞培养室可以被取向成将液体引导到容器400的出口壁480(参见图5),或者细胞培养室可以被取向成将液体引导到容器的出口角481(例如,参见图4)。或者,换言之,第一角度和第二角度中的至少一者的绝对值可大于零。

[0044] 基底405限定了在第一方向“X”和垂直于第一方向的第二方向“Y”上延伸的基底平面407。每个细胞培养室200的每个底表面201平行于基底平面407。在实施方式中,每个细胞培养室200的底表面201相对于基底平面的第一方向“X”成第一角度(参见图5的417i),并且相对于台平面的第二方向“Y”成第二角度(参见图6的418i);并且第一角度和第二角度中的至少一者的绝对值大于零。由于图3是截面图,因此在图3中未示出第二角度,而是参见下文的图4-18。

[0045] 在图3-18中提供了三维笛卡尔坐标系,包括第一方向“X”、第二方向“Y”和第三方向“Z”(其中各个方向彼此垂直),以指示容器400相对于第一方向“X”、第二方向“Y”和第三方向“Z”的具体空间取向。然而,除非另有说明,否则应理解,在附图中例示的容器400的具体空间取向提供了示例性的取向,其不旨在限制容器400的各特征的范围。因此,在一些实施方式中,可以与附图所示的具体取向不同的取向来提供容器400的一个或多个特征而不会偏离本公开的范围。一般来说,第三方向“Z”指示与重力方向平行的方向。

[0046] 例如,图4示意性例示了细胞培养容器400的一个实施方式的平面图(自上而下),图5示出了容器400的沿着图4的线5-5的正视图,并且图6示出了容器400的沿着图4的线6-6的侧视图。在附图中,容器400例示为由清澈(例如透明)材料制造;但是在一些实施方式中,容器400可替代性地由半透明材料、半不透明材料或不透明材料中的一种或多种制造而不会偏离本公开的范围。虽然图4-18所示的实施方式例示了单层细胞培养容器,但是这是为了易于说明。然而,应理解,所述装置可以为多层构造,如图2和图3所示。在图4-18所示的实施方式中,容器壁401形成了容器的底部482、顶部202和侧壁203。

[0047] 如图4所示,在一些实施方式中,细胞培养容器400可包括基底405,其具有与在第一方向“X”和第二方向“Y”上延伸的台平面406平行的底表面482,其中,第一方向“X”和第二方向“Y”正交。另外,容器400可包括延伸通过壁401与细胞培养室403流体连通的第一孔432(在图2中显示为进口210)或第二孔431(在图4-图4的顶部处显示的是俯视图,而在图2中显示为出口215),以及延伸通过壁与细胞培养室403流体连通的第二孔或进口432。图4例示了具有顶部202和侧壁203的容器。第二孔431从其中延伸的侧壁是容器400的出口侧480。第二孔431从其中延伸的角是容器的出口角481。

[0048] 如图5和图6所示,在一些实施方式中,第二孔432可沿着向外方向(例如,第三方向“Z”)与第一孔431间隔开,所述向外方向远离台平面406且垂直于台平面406延伸,如尺寸“dz”所表示的。另外,如图4和图5所示,在一些实施方式中,第一孔431可在第一方向“X”(如尺寸“dx”所表示的)上与第二孔432间隔开。同样地,如图4和图6所示,在一些实施方式中,第一孔431可在第二方向“Y”(如尺寸“dy”所表示的)上与第二孔432间隔开。注意,附图中的笛卡尔坐标是为了辅助该说明。在实施方式中,第一孔431和第二孔432的进口和出口位于容器400的相对壁。第一孔431(出口)从其中延伸的壁是出口壁480。包含第一孔431(出口)

的角是出口角481。图5和6示出了具有限定细胞培养室403的顶部202、侧壁203和底部405的容器。

[0049] 图11示出了在图7的视图11处获取的放大图,图12示出了沿着图11的线12-12的局部图,如图11和图12所示,在一些实施方式中,容器400在细胞培养室403的底表面或基材415中可包括微腔体420的阵列。在一些实施方式中,微腔体420在被放置到细胞培养室中并附接于细胞培养室的基材415中形成。在另一些实施方式中,微腔体420直接形成到一个或多个细胞培养室的底表面中。无论是形成于基材中或是直接形成于一个或多个细胞培养室的底表面中,细胞培养室的底表面415可包括多个微腔体420,并且所述多个微腔体420中的每个微腔体420a、420b、420c可包括限定微腔体422a、422b、422c的底部圆化凹表面421a、421b、421c和限定进入到孔穴422a、422b、422c中的路径的开口423a、423b、423c。细胞培养室的底表面或基材415可限定基材平面416i,其平行于基底平面407并且相对于台平面406i成角度,在基材平面416i上定位有多个微腔体420中的每个微腔体420a、420b、420c的开口423a、423b、423c。为了清楚起见,例如,在图4-18中未示出基材415。相反,在图4-18中示意性示出了平行于基底平面407并且相对于台平面406i成角度的基材平面416i,并且应理解,细胞培养室的底表面、或基材平面416i代表其上定位有基材415的多个微腔体420中的每个微腔体420a、420b、420c的开口423a、423b、423c的平面,示意性代表在细胞培养室403中的细胞培养表面、或基材415的存在。

[0050] 如图7所示,在一些实施方式中,容器400可包括多个细胞培养室200,其限定了对应的多个基材平面416a、416b、416c、416d。虽然提供了四个基材平面416a、416b、416c、416d,但应理解,在一些实施方式中,可提供一个基材平面(例如,基材平面416i),或者可提供不止一个(例如,两个、三个……七个、八个、十个等)基材平面而不会偏离本公开的范围。同样地,为了清楚起见,相对于基材平面416a、416b、416c、416d,示出了对应的多个台平面406a、406b、406c、406d,以示意性地提供基材平面416a、416b、416c、416d相对于台平面406的取向的图示表示。也就是说,在一些实施方式中,基材平面416a、416b、416c、416d中的每一者可与台平面406相交。因此,与台平面406平行的对应的台平面406a、406b、406c、406d提供了各个基材平面416a、416b、416c、416d相对于台平面406的取向的示意图。因此,在一些实施方式中,示出了基材平面416i,并且应理解,基材平面416i可以代表多个基材平面416a、416b、416c、416d中的任何一个或多个基材平面,并且包括其特征,并且基材是具有微腔体阵列的细胞培养表面。同样地,在一些实施方式中,示出了台平面406i,并且应理解,台平面406i可代表平行于台平面406的对应平面,提供台平面406i是出于清楚的目的,以示意性地例示基材平面416i相对于台平面406的相应取向。

[0051] 另外,在一些实施方式中,可向基底平面或基材平面416i相对于台平面406(如由对应的台平面406i表示的)的取向提供相应的第一角度417i(在“XY”平面上)、相应的第二角度418i(“YZ”平面)和相应的平面角度419i(其可以包括第一角度417i、第二角度418i或者第一角度417i和第二角度418i)。例如,如图5所示,在一些实施方式中,基底平面416i可以相对于第一方向“X”成第一角度417i取向。同样地,如图6所示,在一些实施方式中,基底平面416i可以相对于第二方向“Y”成第二角度418i取向。在一些实施方式中,第一角度417i和第二角度418i中的至少一者的绝对值可大于零。例如,在一些实施方式中,第一角度417i的绝对值可大于零,并且第二角度418i的绝对值可大于零。如图7所示,在一些实施方式中,

台平面406a、406b、406c、406d与基材平面416a、416b、416c、416d之间的基底平面角度419a、419b、419c、419d的绝对值可以为约1°至约30°。例如,在一些实施方式中,至少基于基底平面416i相对于台平面406(例如,相对于限定第一角度417i的第一方向“X”,以及相对于限定第二角度418i的第二方向“Y”)的取向,平面角度419a、419b、419c、419d的绝对值可以是约1°至约30°。例如,在一些实施方式中,平面角度419a、419b、419c、419d的绝对值可以是约5°。

[0052] 图8和图9示出了在图7的视图8处获取的容器400的局部截面图的示例性实施方式。例如,如图8所示,在一些实施方式中,限定基底平面407的基底405可包括相对于基底405的较薄部分405b的基底405的较厚部分405a。附加地或替代性地,如图9所示,在一些实施方式中,容器400可包括相对于基底405定位的阶状物405c,以升高容器400的至少一部分。阶状物405c和基底405可限定基底平面407。例如,在一些实施方式中,阶状物405c可位于基底405的角的下方,以升高容器400并且以相对于与重力方向垂直的水平面成某角度来提供容器400的基底405。

[0053] 附加或替代性地,如图10所示,其示出了沿着图5的线10-10的容器400的底视图,在一些实施方式中,可以基于位于容器400的基底405的底侧上的三个点P1、P2、P3来限定台平面406。例如,通过选择(例如识别)基底405的底侧上的三个点P1、P2、P3,可以限定代表台平面406的平面。在一些实施方式中,点P1、P2、P3中的一个或多个点可包括基底405的一个或多个结构特征,包括但不限于可附接(例如,成为一体、结合)于基底405或与基底405分离的突起和基底。

[0054] 回到图8,在一些实施方式中,基底405的内表面402a可包括从较厚部分405a延伸到较薄部分405b的倾斜表面402a。在一些实施方式中,倾斜表面402a可平行于台平面416i。同样地,如图9所示,在一些实施方式中,至少基于容器400的一部分的高度,阶状物405c可对基材405的内表面402进行取向,以包含倾斜表面402a。在一些实施方式中,倾斜表面402a可平行于台平面416i。在一些实施方式中,相对于重力方向,第一孔431可位于比第二孔432更低的高度处。因此,在一些实施方式中,至少基于重力作用,细胞培养室403中的液体可自然地向第一孔431排放。另外,在一些实施方式中,壁401的内表面402的倾斜表面402a可引起液体自然地向第一孔431排放。在一些实施方式中,使液体向着第一孔431排放并排出容器400可有助于在容器400中培养细胞之前或之后清洁细胞培养室403。

[0055] 图11-18示出了关于在细胞培养容器400中培养细胞的方法,包括图11的基材415的容器400的部分的示例性实施方式。例如,在一些实施方式中,如图13所示,所述方法可包括:在多个微腔体420的至少一个微腔体420a、420b、420c中沉积液体470。如图14所示,在一些实施方式中,所述方法可包括:在微腔体420a、420b、420c中沉积液体470之后,在微腔体420a、420b、420c中培养细胞450(例如,球体450a、球体450b、球体450c)。在一些实施方式中,在所述至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450时,台平面406(例如,406i)相对于重力方向“g”可以垂直。

[0056] 另外,在一些实施方式中,所述方法可包括:在所述至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450时,使材料在平行于基材平面416i的流动方向460上流动。例如,如图7所示,在一些实施方式中,如通过箭头461所表示的,所述方法可包括:使液体470通过第一孔431从容器400之外进入到细胞培养室403中,并且(如图13中通过箭头461所示),使液体

470沿着与基材平面416i平行的流动方向460在细胞培养室403中流动。同样地，在一些实施方式中，如通过图13中的箭头462所示，所述方法可包括：在使液体470沿着流动方向460在细胞培养室403中流动的同时，使气体471通过第二孔432（如图7中通过箭头462所示）而从细胞培养室403到容器400之外。在一些实施方式中，所述方法可包括：在使液体470沿着流动方向460在细胞培养室403中流动的同时，在所述多个微腔体420的至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450。例如，在一些实施方式中，所述方法可包括：在使液体470通过第一孔431而从容器400之外到细胞培养室403中（箭头461）和/或使气体471通过第二孔432而从细胞培养室403到容器400之外（箭头462）的同时，在至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450。

[0057] 如图15所示，在一些实施方式中，所述方法可包括：使液体470沿着与基材平面416i平行的流动方向460在细胞培养室403中流动，以及（如箭头464所表示的），使液体470通过第一孔431而从细胞培养室403到容器400之外（如图7中通过箭头464所示）。此外，如箭头463所示，所述方法可包括：在使液体470沿着流动方向460在细胞培养室403中流动时，使气体473通过第二孔432而从容器400之外到细胞培养室403中（如图7中通过箭头463所示）。如图16所示，在一些实施方式中，所述方法可包括：在使液体470沿着流动方向460在细胞培养室403中流动的同时，在所述多个微腔体420的至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450。在一些实施方式中，至少基于将气体473传递到细胞培养室403中（箭头463），可从细胞培养室403移除液体470，并且在一些实施方式中，每个微腔体420a、420b、420c可包含相应部分的液体470a、470b、470c。例如，在一些实施方式中，所述方法可包括：在使气体473通过第二孔432而从容器400之外到细胞培养室403中（箭头463）和/或使液体470通过第一孔431而从细胞培养室403到容器400之外（箭头464）的同时，在至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450。

[0058] 如图17和图18所示，在一些实施方式中，所述方法可包括：在所述至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450时，使材料在平行于基材平面416i的流动方向460上流动。例如，如图7所示，在一些实施方式中，如通过箭头461所表示的，所述方法可包括：使液体474（例如，不同于液体470的液体）通过第一孔431从容器400之外进入到细胞培养室403中，并且（如图61中通过箭头461所示），使液体474沿着与基材平面416i平行的流动方向460在细胞培养室403中流动。在一些实施方式中，液体474可置换每个微腔体420a、420b、420c中的液体470a、470b、470c，例如，利用有助于细胞450的培养的新液体474来置换。同样地，在一些实施方式中，如通过图17中的箭头462所示，所述方法可包括：在使液体474沿着流动方向460在细胞培养室403中流动时，使气体473通过第二孔432（如图7中通过箭头462所示）而从细胞培养室403到容器400之外。在一些实施方式中，所述方法可包括：在使液体474沿着流动方向460在细胞培养室403中流动的同时，在所述多个微腔体420的至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450。例如，在一些实施方式中，所述方法可包括：在使液体474通过第一孔431而从容器400之外到细胞培养室403中（箭头461）和/或使气体473通过第二孔432而从细胞培养室403到容器400之外（箭头462）的同时，在至少一个微腔体420a、420b、420c中培养细胞450。

[0059] 在一些实施方式中，例如，基于运行连接到第一孔431和/或第二孔432的包括泵、储器、管等的系统，并且所述系统促进将液体和气体自动传递到第一孔431和第二孔432中

或者使液体和气体从其中出来,可自动地将液体和气体传递到第一孔431和第二孔432中或者使液体和气体从中出来。因此,在一些实施方式中,例如,在长期培养细胞450期间,可基于运行所述系统而无需例如人的互动,可自动发生材料(例如,营养物和废物)的培养基交换(例如,置换、补充、移除)。同样地,可在不物理操纵容器400的情况下发生培养基交换。例如,不同于在培养期间可被倾斜、颠倒、旋转等来交换细胞培养室403中的培养基的其他容器,容器400在整个细胞培养过程期间可保持静止(例如,无相对移动),但是仍可基于本公开的特征来交换培养基。

[0060] 另外,以相对于台平面406成角度(例如,第一角度417i、第二角度418i、平面角度419i)地提供基材平面416i可提供多个优点。例如,在一些实施方式中,例如,当台平面406相对于重力方向"g"基本上垂直时,以相对于台平面406的平面角度419i的绝对值为约1°至约30°的取向来提供基材415可以提供处于可更好地培养细胞450的取向的基材415。例如,不意欲囿于理论,认为,在一些实施方式中,使基材平面416i的取向为平面角度419i的绝对值小于1°将不足以适应液体沿着流动方向460流动而不会在两个或更多个基材415之间和/或一个或多个微腔体420a、420b、420c内裹带气体(例如,空气袋)另外,在一些实施方式中,当基材平面416i的取向为基材平面角度419i的绝对值小于1°时,为了使液体沿着流动方向460流动,可增加流动的速度,而对细胞有负面影响,并且对将细胞球体保留在微腔体420a、420b、420c内有负面影响。也就是说,如果基材平面角度例如小于1°、小于5°或小于30°,则起到有效置换培养基作用所需的流动速率可产生湍流,其可能破坏微腔体中的球体。因此,提供取向为使得相对于台平面406的平面角度419i的绝对值为约1°至约30°的基材415可允许液体逐渐进入每个微腔体420a、420b、420c,因此减少或防止气体被困在微腔体420a、420b、420c中的可能性,以及减少或防止在微腔体420a、420b、420c中培养的细胞被破坏的可能性。

[0061] 也就是说,在一些实施方式中,至少部分基于重力,液体可沿着基材415自然流动,同时进行细胞450的培养而不会移出细胞450或破坏细胞450的培养。或者,使基材平面416i的取向为平面角度419i的绝对值小于1°可减轻重力造成的使液体在流动方向460上沿着基材415自然流动的作用,在这种情况中,可采用速度增加的流动,这种流动可移出或破坏细胞450。同样地,在一些实施方式中,使基材平面416i取向为平面角度419i的绝对值大于30°可造成在培养期间,微腔体420a、420b、420c中的细胞450从微腔体420a、420b、420c掉出(例如,移出、移位)。因此,在一些实施方式中,使基材平面416i取向为平面角度419i的绝对值为约1°至约30°(例如,约5°至约30°、约5°至约25°、约5°至约20°、约5°至约15°、约5°至约10°、约10°至约20°、约10°至约30°、约1°至约10°、约1°至约5°、约3°、约5°、约7°),这可提供多种优点,而这些优点是包含基材并且该基材是以约1°至约30°范围之外的不同取向来提供的细胞培养容器无法获得的。

[0062] 在本公开中,术语"材料"、"液体"和"气体"可用于描述当例如在细胞培养容器中培养细胞时,所用材料的性质。除非另有说明,否则出于本公开的目的,"材料"可包括流体材料(例如,液体或气体)。另外,材料可包括培养溶液或者包括含有悬浮在液体中的固体颗粒(例如细胞)的液体的培养基。除非另有说明,否则出于本公开的目的,"液体"可包括清洁或清洗溶液、水溶液、或可添加到容器中或从容器中移除的其他液体,例如,用于清洁细胞培养室,对基材和容器的一个或多个特征进行灭菌,为细胞生长准备底物以及液体的其他

用途。另外,液体可包括培养溶液或者包括含有悬浮在液体中的固体颗粒(例如细胞)的液体的培养基。除非另有说明,否则出于本公开的目的,“气体”可包括空气、经过滤或处理的空气或其他气体。

[0063] 在本公开中,术语“不可渗透”、“气体可渗透”和“多孔”可用于描述基材的一个或多个特征的性质(例如,材料性质、特性、参数)。

[0064] 除非另有说明,否则出于本公开的目的,“不可渗透”的基材(例如,不可渗透的基材材料)被认为是在正常条件下(例如,无外界影响,包括但不限于压力和力)对固体、液体和气体不可渗透,因此,其不允许固体、液体或气体在正常条件下传递进入、通过或离开不可渗透的基材。在一些实施方式中,不可渗透的基材可形成容器壁的一部分。另外,当不可渗透的基材形成容器壁的一部分时,容器的细胞培养室被认为是无菌的,这是因为,例如细菌不能通过不可渗透的基材。然而,当用材料填充基材的多个微腔体时,基于液体的表面张力,气体可被困在不可渗透的基材的微腔体中,在一些实施方式中,由此阻止材料填充微腔体并且阻止球体的生长。

[0065] 除非另有说明,否则出于本公开的目的,“气体可渗透的”基材(例如,气体可渗透的基材材料)被认为在正常条件下对固体和液体不可渗透,而对气体可渗透。因此,气体可渗透的基材不允许固体和液体传递进入、通过或离开气体可渗透的基材,但是允许气体传递进入、通过或离开气体可渗透的基材。在一些实施方式中,气体可渗透的基材可形成容器壁的一部分。另外,当气体可渗透的基材形成容器壁的一部分时,容器的细胞培养室被认为是无菌的,这是因为,例如细菌不能合理地通过气体可渗透的基材。然而,虽然基材是气体可渗透的,但是在用材料填充期间,气体仍可被困在微腔体中,这是因为在普通的操作条件下,通过气体可渗透的基材的气体渗透速率比从腔体中置换气体所需的速率慢,并因此可消耗不可接受的长时间来渗透通过基材。因此,在一些实施方式中,缓慢填充微腔体允许液体前沿以某角度进入每个微腔体,由此在液体填充微腔体时,置换气体。在一些实施方式中,在用液体填充腔体后,气体可渗透(缓慢)通过气体可渗透的基材。

[0066] 除非另有说明,否则出于本公开的目的,“多孔”基材(例如,多孔基材材料)被认为在正常条件下对固体不可渗透,而对液体和气体可渗透。因此,多孔基材不允许固体传递进入、通过或离开多孔基材,而是允许液体和气体进入、通过或离开多孔基材。多孔基材不能形成容器的一部分,因为细菌可通过多孔基材,因此导致细胞培养室中的无菌性问题。因此,当使用多孔基材时,基材需被包封(完全包封)在容器的无菌细胞培养室中。然而,在用材料填充微腔体期间,气体可通过多孔基材逸出(例如穿过)。因此,可迅速进行微腔体的填充而无需顾及气体被困在微腔体中。在一些实施方式中,液体只能在压力增加或物理接触及干扰基材的情况下通过多孔基材。因此,在一些实施方式中,只要基材不暴露于加压或物理接触和干扰的情况中,包含液体的材料可被包含在基材的微腔体中。例如,在一些实施方式中,可将多孔基材置于细胞培养室中以在填充期间以及培养期间允许气体通过基材,并且使基材与加压或物理接触及被外力干扰(例如,在细胞培养室之外的)隔离。

[0067] 本文公开了细胞培养容器和培养细胞的方法的多个方面。下文是一些选定方面的概述。

[0068] 在第1方面中,一种细胞培养容器包括:基底,其限定了在第一方向以及垂直于第一方向的第二方向上延伸的基底平面;包括内表面的壁,所述内表面限定了容器的细胞培

养室;以及细胞培养室的底表面。细胞培养室的底表面可以是插入到细胞培养室中的单独基材或者可以是细胞培养室的壁。基材或底表面包括多个微腔体,所述多个微腔体中的每个微腔体包括限定孔穴的凹表面以及限定进入到孔穴中的路径的开口。基材限定了基材平面,在所述基材平面上定位有多个微腔体中的每个微腔体的开口,所述基材平面以相对于第一方向为第一角度并且相对于第二方向为第二角度来取向,并且第一角度和第二角度中的至少一者的绝对值大于零。

[0069] 第2方面为根据第1方面所述的细胞培养容器,其中,第一角度的绝对值大于零,并且第二角度的绝对值大于零。

[0070] 第3方面为根据方面1或方面2所述的细胞培养容器,其中,基底平面与基材平面之间的平面角度的绝对值为约1°至约30°。

[0071] 第4方面为根据方面3所述的细胞培养容器,其中,平面角度的绝对值为约5°。

[0072] 第5方面为根据方面1-4中任一方面所述的细胞培养容器,其包括延伸通过壁与细胞培养室流体连通的第一孔,延伸通过壁与细胞培养室流体连通的第二孔,其中,第二孔与第一孔沿着向外方向间隔开,所述向外方向远离基底平面且垂直于基底平面延伸。

[0073] 第6方面为根据方面5所述的细胞培养容器,其中,第一孔在第一方向上与第二孔间隔开。

[0074] 第7方面为根据方面5或方面6所述的细胞培养容器,其中,第一孔在第二方向上与第二孔间隔开。

[0075] 在第8方面中,一种如方面1-7中任一方面所述的在细胞培养容器中培养细胞的方法,包括:将液体沉积在多个微腔体的至少一个微腔体中,以及在将液体沉积在所述至少一个微腔体中之后,在所述至少一个微腔体中培养细胞。

[0076] 第9方面为根据方面8所述的培养细胞的方法,其中,在所述至少一个微腔体中培养细胞时,基底平面相对于重力方向垂直。

[0077] 第10方面为根据方面8或方面9所述的培养细胞的方法,其中,该方法包括在所述至少一个微腔体中培养细胞时,使材料在平行于基材平面的流动方向上流动。

[0078] 在第11方面中,一种如方面5-7中任一方面所述的在细胞培养容器中培养细胞的方法,包括:使液体通过第一孔而从容器之外进入到细胞培养室中,以及使液体沿着与基材平面平行的流动方向在细胞培养室中流动。

[0079] 第12方面为根据方面11所述的培养细胞的方法,包括:在液体沿着流动方向在细胞培养室中流动时,使气体通过第二孔而从细胞培养室到容器之外。

[0080] 第13方面为根据方面11或方面12所述的培养细胞的方法,包括:在液体沿着流动方向在细胞培养室中流动时,在多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞。

[0081] 第14方面为根据方面13所述的培养细胞的方法,其中,在所述至少一个微腔体中培养细胞时,基底平面相对于重力方向垂直。

[0082] 在第15方面中,一种如方面5-7中任一方面所述的在细胞培养容器中培养细胞的方法,包括:使液体沿着与基材平面平行的流动方向在细胞培养室中流动,以及使液体通过第一孔而从细胞培养室到容器之外。

[0083] 第16方面为根据方面15所述的培养细胞的方法,包括:在液体沿着流动方向在细胞培养室中流动时,使气体通过第二孔而从容器之外进入到细胞培养室中。

[0084] 第17方面为根据方面15或方面16所述的培养细胞的方法,包括:在液体沿着流动方向在细胞培养室中流动时,在多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞。

[0085] 第18方面为根据方面17所述的培养细胞的方法,其中,在所述至少一个微腔体中培养细胞时,基底平面相对于重力方向垂直。

[0086] 在第19方面中,一种培养细胞的方法包括:将液体沉积在位于容器的细胞培养室中的基材的多个微腔体中的至少一个微腔体中,同时容器的基底平面相对于重力方向垂直地取向,所述基底平面在第一方向以及垂直于第一方向的第二方向上延伸,其中,所述多个微腔体中的每个微腔体包括限定了孔穴的凹表面以及限定了进入到孔穴中的路径的开口,其中,基材限定了基材平面,在所述基材平面上定位有多个微腔体中的每个微腔体的开口,其中,所述基材平面以相对于第一方向为第一角度以及相对于第二方向为第二角度取向,并且第一角度和第二角度中的至少一者的绝对值大于零;在将液体沉积在所述至少一个微腔体中之后,在所述至少一个微腔体中培养细胞;以及在所述至少一个微腔体中培养细胞时,使材料在平行于基材平面的流动方向上流动。

[0087] 第20方面为根据方面19所述的培养细胞的方法,其中,第一角度的绝对值大于零,并且第二角度的绝对值大于零。

[0088] 第21方面为根据方面19或方面20所述的培养细胞的方法,其中,基底平面与基材平面之间的平面角度的绝对值为约1°至约30°。

[0089] 第22方面为根据方面21所述的培养细胞的方法,其中,平面角度的绝对值为约5°。

[0090] 第23方面为根据方面19-22中任一方面所述的培养细胞的方法,包括:使液体通过容器的壁中的第一孔而从容器之外进入到细胞培养室中,以及使气体通过容器的壁中的第二孔而从细胞培养室到容器之外。

[0091] 第24方面为根据方面23所述的培养细胞的方法,包括:使气体通过第二孔而从容器之外进入到细胞培养室中,以及使液体通过第一孔而从细胞培养室到容器之外。

[0092] 第25方面为根据方面23或方面24所述的培养细胞的方法,其中,相对于重力方向,第一孔位于比第二孔更低的高度。

[0093] 在第26方面中,一种细胞培养容器包括:包含多个微腔体的基材;壁,所述基材和壁的内表面限定了容器的细胞培养室;延伸通过壁与细胞培养室流体连通的孔;沿着容器的轴与所述孔相背定位的内表面的第一部分,所述基材跨越细胞培养室的长度,所述长度沿着容器的轴延伸;从所述孔延伸到基材的内表面的第二部分;以及从第一部分延伸到基材的内表面的第三部分。

[0094] 第27方面为根据第26方面所述的细胞培养容器,其中,所述多个微腔体的每个微腔体包括限定了孔穴的凹表面以及限定了从细胞培养室进入到孔穴中的路径的开口。

[0095] 第28方面为根据方面26或方面27所述的细胞培养容器,其中,第一部分基本上垂直于容器的轴。

[0096] 第29方面为根据方面26-28中任一方面所述的细胞培养容器,其中,第一部分和第三部分限定了细胞培养室的非平面边界部分。

[0097] 第30方面为根据方面26-29中任一方面所述的细胞培养容器,其中,第三部分包含阶梯状轮廓。

[0098] 第31方面为根据方面26-29中任一方面所述的细胞培养容器,其中,第三部分包含

倾斜轮廓。

[0099] 第32方面为根据方面26-31中任一方面所述的细胞培养容器,其还包括从内表面的第二部分延伸的挡板,其中,所述挡板包括阻挡限定在孔与基材之间的路径的主表面。

[0100] 在第33方面中,一种如方面26-32中任一方面所述的在细胞培养容器中培养细胞的方法,包括:使液体通过孔而从容器之外进入到细胞培养室中,由此在细胞培养室中提供预定的液体量。

[0101] 第34方面为一种根据方面33所述的培养细胞的方法,包括:在细胞培养室的区域中容纳预定量的液体而不使所述预定量的液体中的液体接触所述多个微腔体中的一个或多个微腔体。

[0102] 第35方面为一种根据方面34所述的培养细胞的方法,其中,在细胞培养室的区域中容纳预定量的液体而不使所述预定量的液体中的液体接触所述多个微腔体中的一个或多个微腔体时,所述预定量的液体中的液体接触第一部分和第三部分。

[0103] 第36方面为一种根据方面34或方面35所述的培养细胞的方法,其中,在细胞培养室的区域中容纳预定量的液体而不使所述预定量的液体中的液体接触所述多个微腔体中的一个或多个微腔体时,容器的轴基本上在重力方向上延伸。

[0104] 第37方面为根据方面34-36中任一方面所述的培养细胞的方法,包括:在细胞培养室的区域中容纳预定量的液体而不使所述预定量的液体中的液体接触所述多个微腔体中的一个或多个微腔体之后,移动容器以造成至少一部分的所述预定量的液体沿着细胞培养室的长度从基材上方的区域流动并沉积在所述多个微腔体中的至少一个微腔体中。

[0105] 第38方面为根据方面37所述的培养细胞的方法,包括:在所述至少一个微腔体中沉积至少一部分的所述预定量的液体后,在所述多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞。

[0106] 第39方面为根据方面38所述的培养细胞的方法,其中,在所述多个微腔体中的至少一个微腔体中培养细胞时,容器的轴相对于重力方向基本上垂直。

[0107] 在第40方面中,一种培养细胞的方法包括:使液体通过容器的壁中的孔而从容器之外进入到容器的细胞培养室中,所述细胞培养室由壁的内表面以及包含多个微腔体的基材限定,由此在细胞培养室的区域中提供预定量的液体;以及在细胞培养室的区域中容纳预定量的液体而不使所述预定量的液体中的液体接触所述多个微腔体中的一个或多个微腔体。

[0108] 第41方面为根据方面40所述的培养细胞的方法,包括:移动所述容器以造成至少一部分的所述预定量的液体从基材上方的区域流动并且沉积在所述多个微腔体中的至少一个微腔体中。

[0109] 第42方面为根据方面41所述的培养细胞的方法,包括:在所述至少一个微腔体中沉积至少一部分的所述预定量的液体后,在所述多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞。

[0110] 在第43方面中,一种细胞培养容器包括:包含多个微腔体的基材;壁,所述基材和壁的内表面限定了容器的细胞培养室;延伸通过壁与细胞培养室流体连通的孔;沿着容器的轴与所述孔相背定位的内表面的第一部分,其中,所述基材跨越细胞培养室的长度,所述长度沿着容器的轴延伸;从所述孔延伸到基材的内表面的第二部分;以及从第二部分延伸

的挡板,其中,所述挡板包括阻挡限定在所述孔与基材之间的路径的主表面。

[0111] 第44方面为根据方面43所述的细胞培养容器,其中,所述多个微腔体的每个微腔体包括限定了孔穴的凹表面以及限定了从细胞培养室进入到孔穴中的路径的开口。

[0112] 第45方面为根据方面43或方面44所述的细胞培养容器,其中,挡板的主表面基本上垂直于容器的轴。

[0113] 第46方面为根据方面43或方面44所述的细胞培养容器,其中,挡板的主表面包括凸形轮廓。

[0114] 第47方面为根据方面43或方面44所述的细胞培养容器,其中,挡板的主表面包括凹形轮廓。

[0115] 第48方面为根据方面43-47中任一方面所述的细胞培养容器,其中,挡板的自由端的至少一部分与壁的内表面间隔某距离。

[0116] 在第49方面中,一种如方面43-48中任一方面所述的在细胞培养容器中培养细胞的方法,包括:通过将分配端口插入到孔中来将材料添加到细胞培养室中,然后,将材料从分配端口分配到细胞培养室中。

[0117] 第50方面为根据方面49所述的培养细胞的方法,包括:在将材料从分配端口分配到细胞培养室中时,在多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞。

[0118] 第51方面为一种根据方面49或方面25所述的培养细胞的方法,包括:通过将收集端口插入到孔中来从细胞培养室移除材料,然后通过收集端口收集来自细胞培养室的材料。

[0119] 第52方面为根据方面51所述的培养细胞的方法,包括:在通过收集端口收集来自细胞培养室的材料时,在多个微腔体的至少一个微腔体中培养细胞。

[0120] 在第53方面中,一种培养细胞的方法包括:将分配端口插入到容器的壁中的孔中;通过将材料从分配端口分配,使材料沿着第一流动路径在容器的细胞培养室中流动,所述细胞培养室由壁的内表面以及包括多个微腔体的基材限定,由此将材料从容器之外添加到细胞培养室中;以及阻挡沿着第一流动路径的材料流。

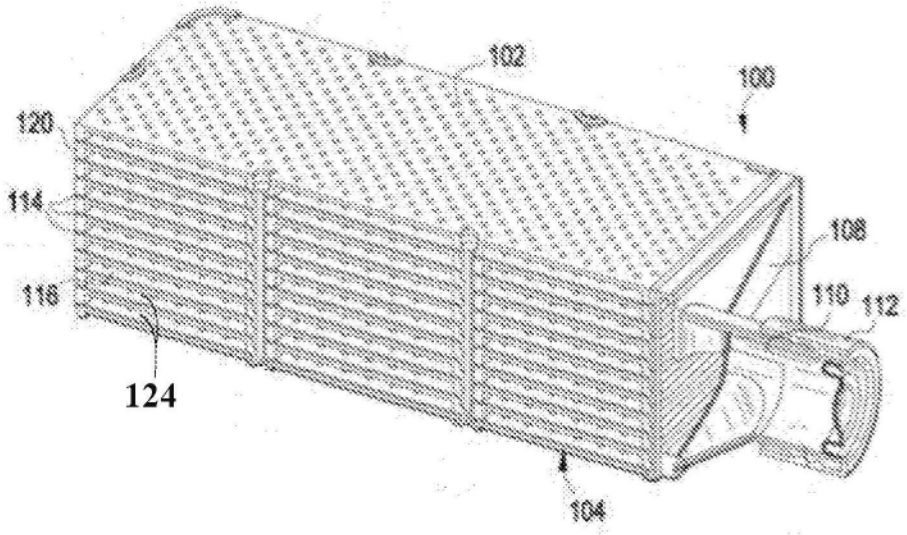

102
100
120
114
108
118
110
112
124
104

图1现有技术

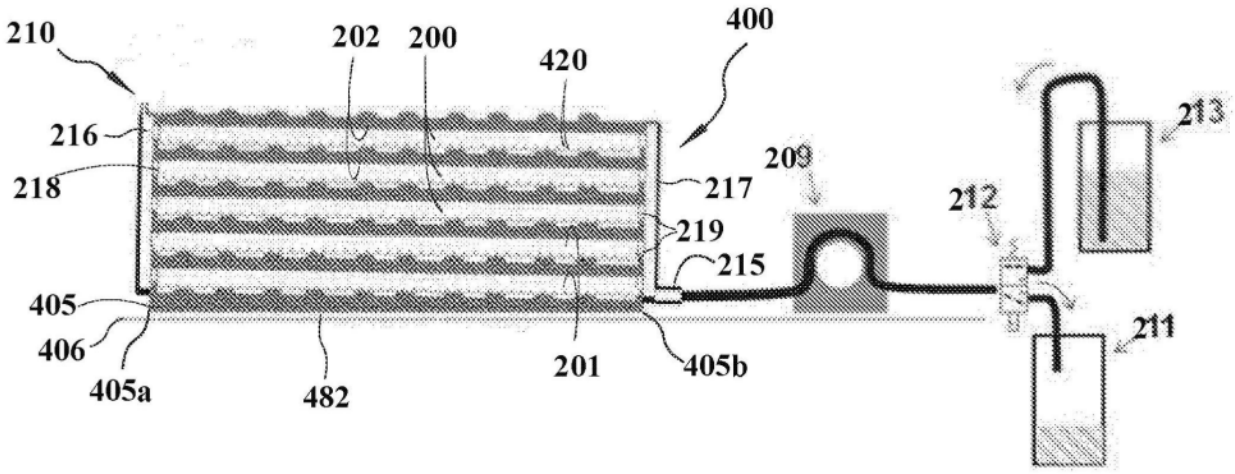

210
202
200
420
400
216
218
217
209
213
212
219
215
405
406
405a
482
201
405b
211

图2

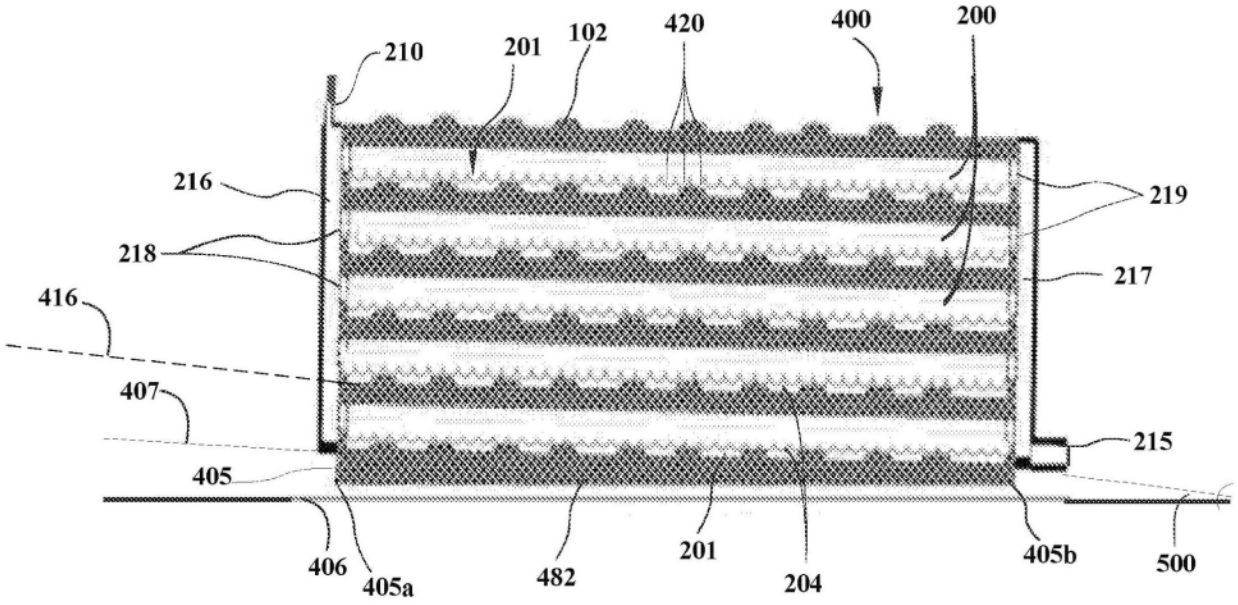

210
201
102
420
400
200
216
219
218
217
416
407
215
405
406
405a
482
201
204
405b
500

图3

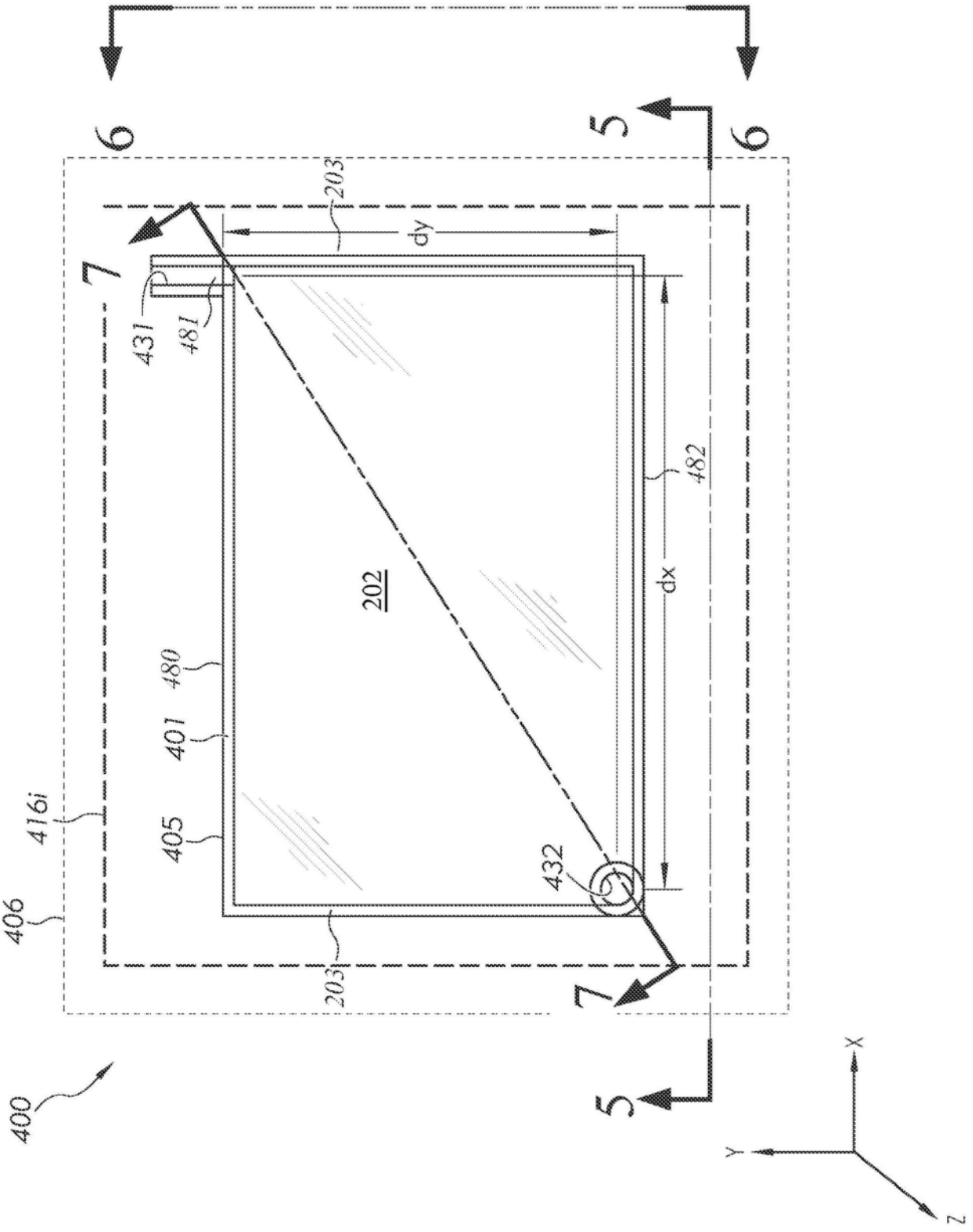

6
5
6
203
dy
7
431
481
482
202
dx
480
401
405
416i
406
432
203
7
5
400
X
Y
Z

图4

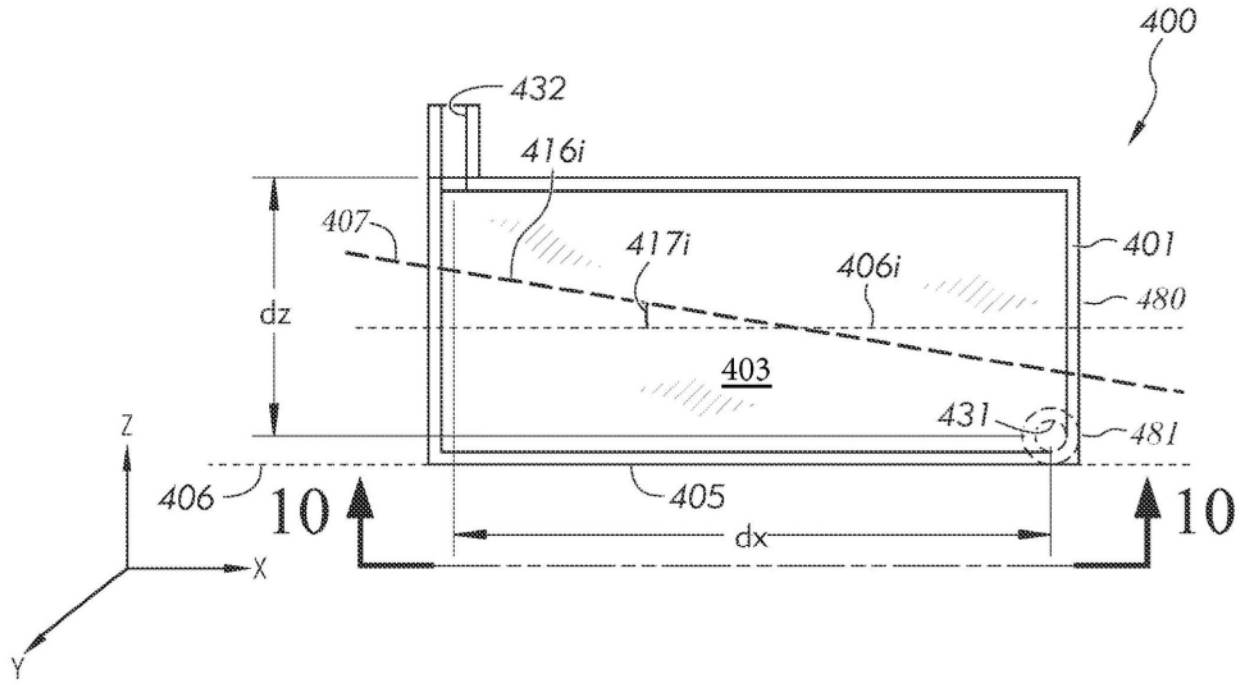

400
432
416i
407
417i
406i
401
480
dz
403
431
481
406
10
405
dx
10
Z
X
Y

图5

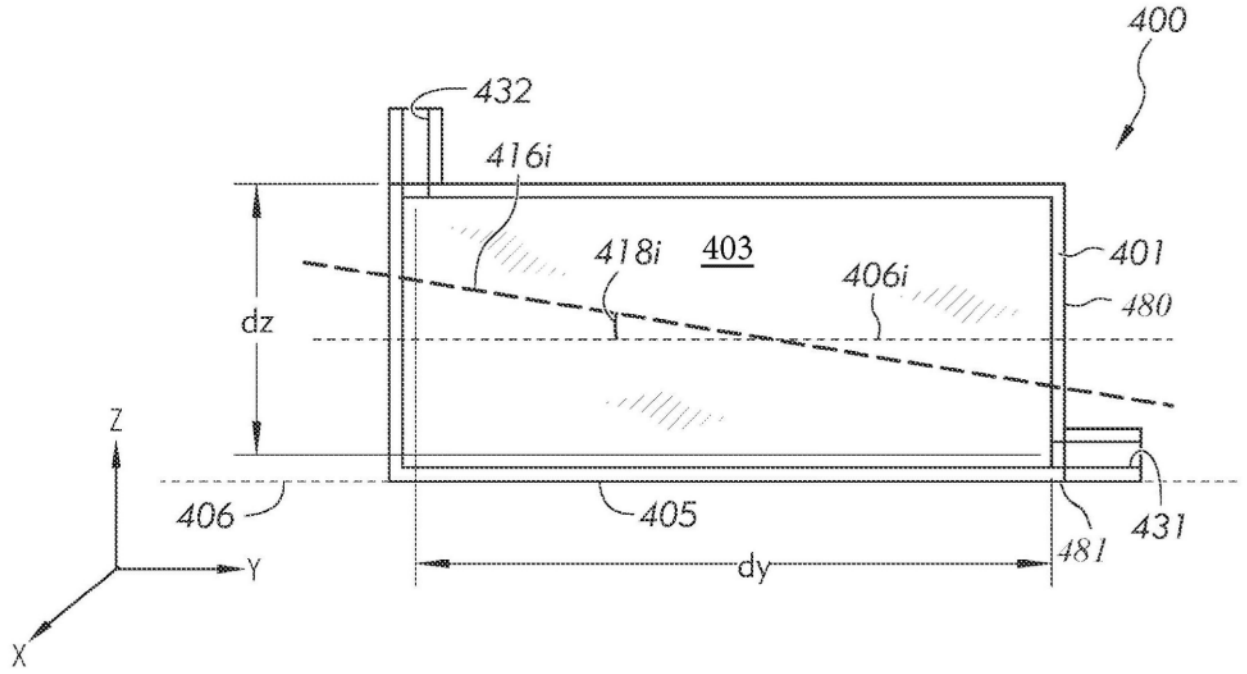

400
432
416i
418i
403
406i
401
480
dz
Z
406
405
431
481
Y
dy
X

图6

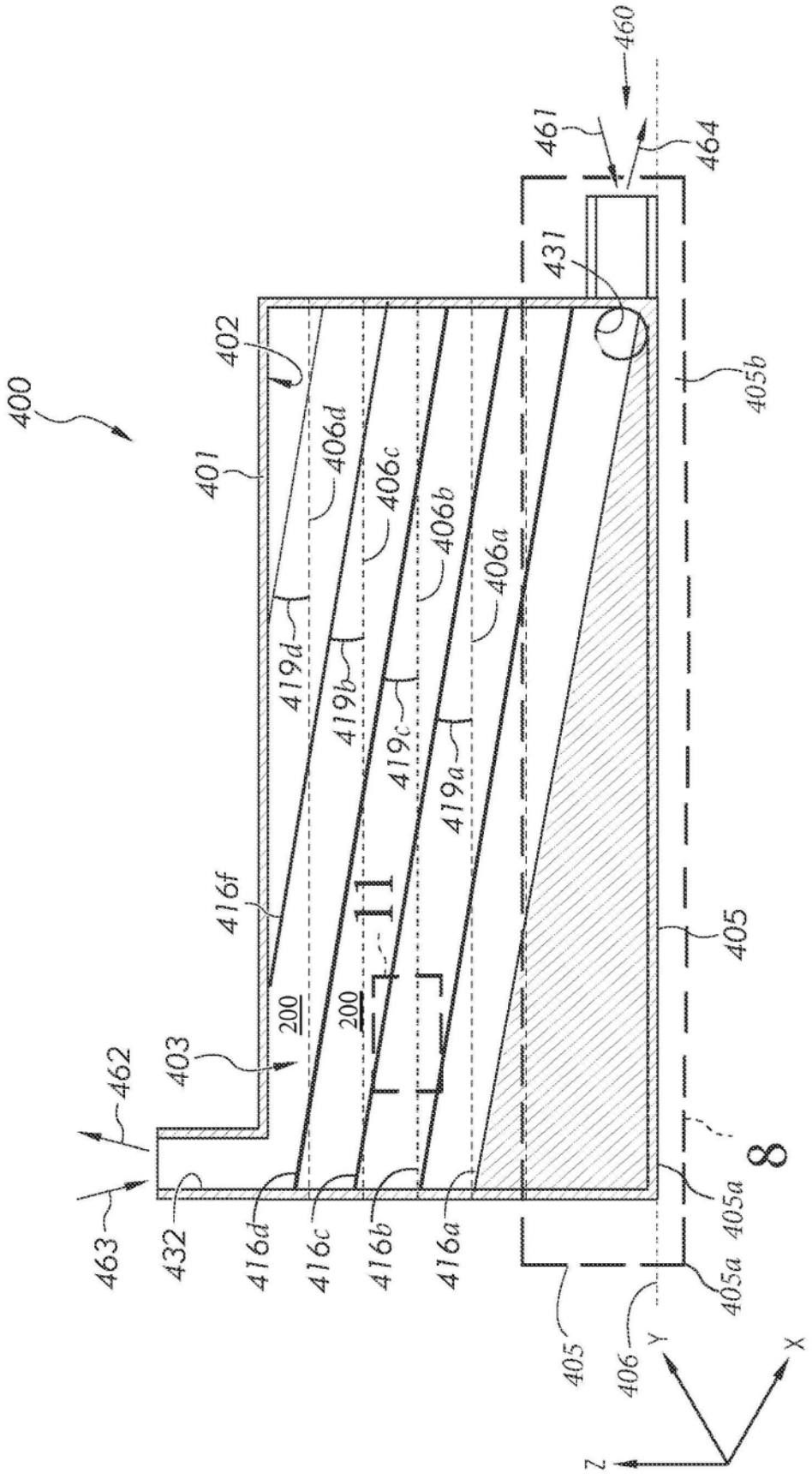

400
401
402
403
405
405a
405b
406
406a
406b
406c
406d
405
416a
416b
416c
416d
416f
419a
419b
419c
419d
200
200
11
8
431
432
460
461
462
463
464
Y
X
Z

图7

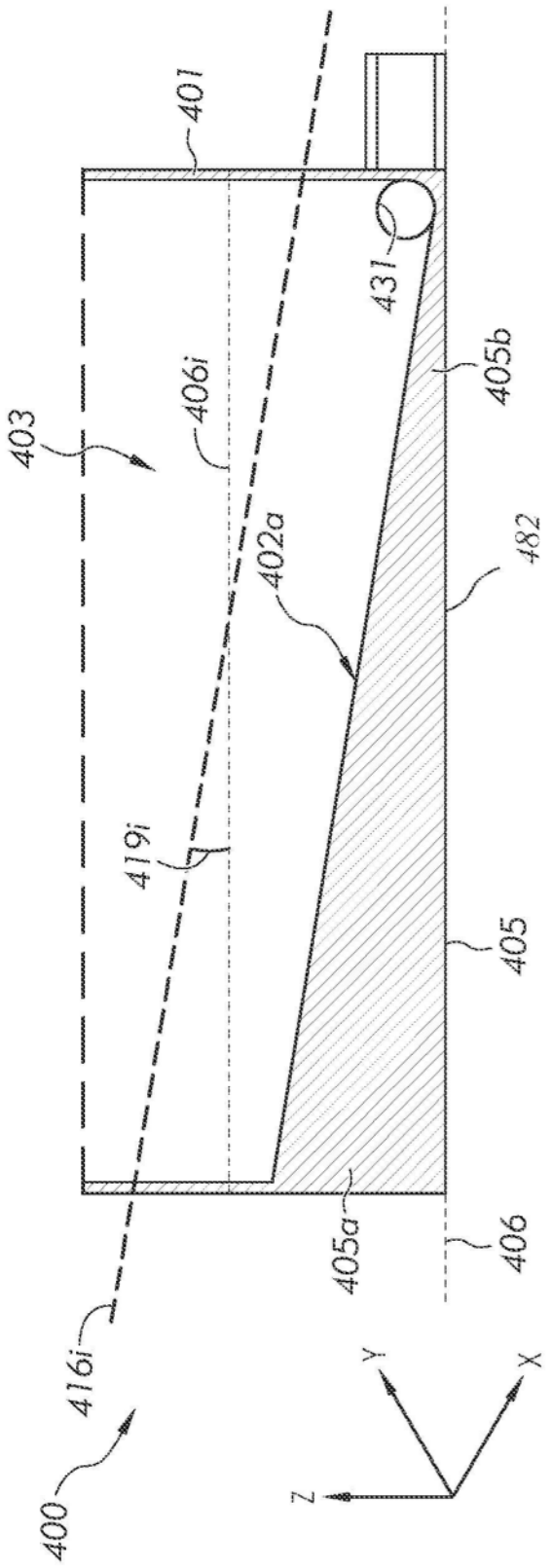


图8

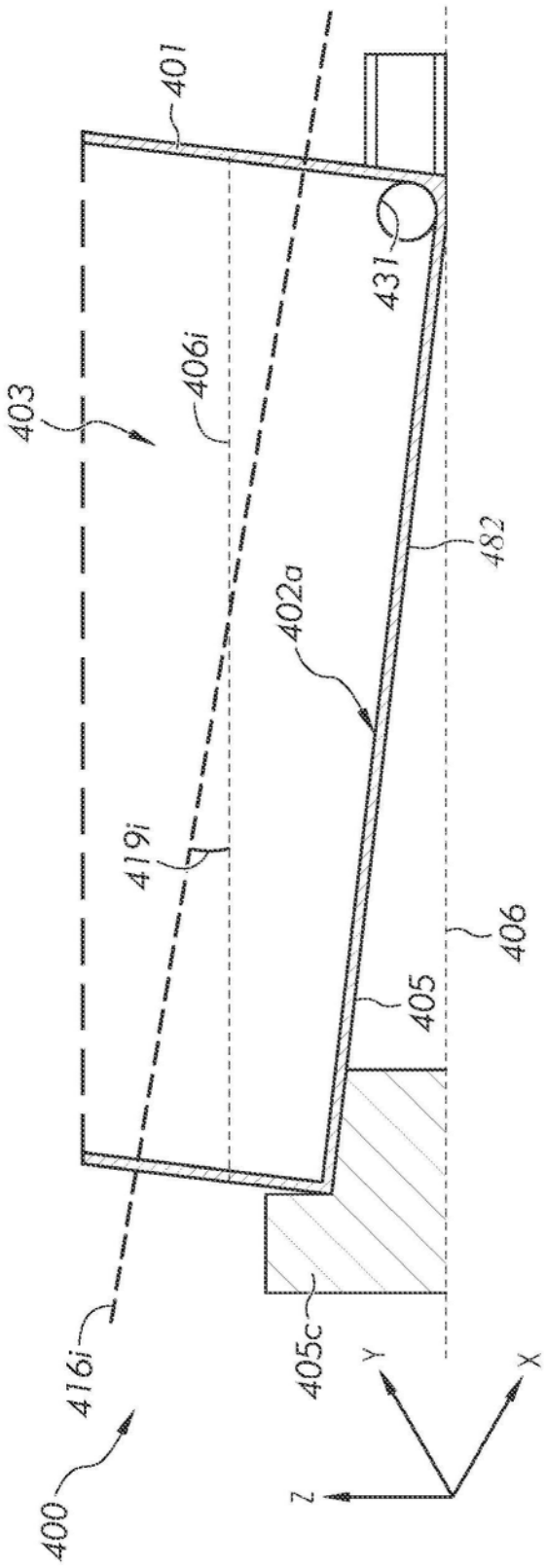


图9

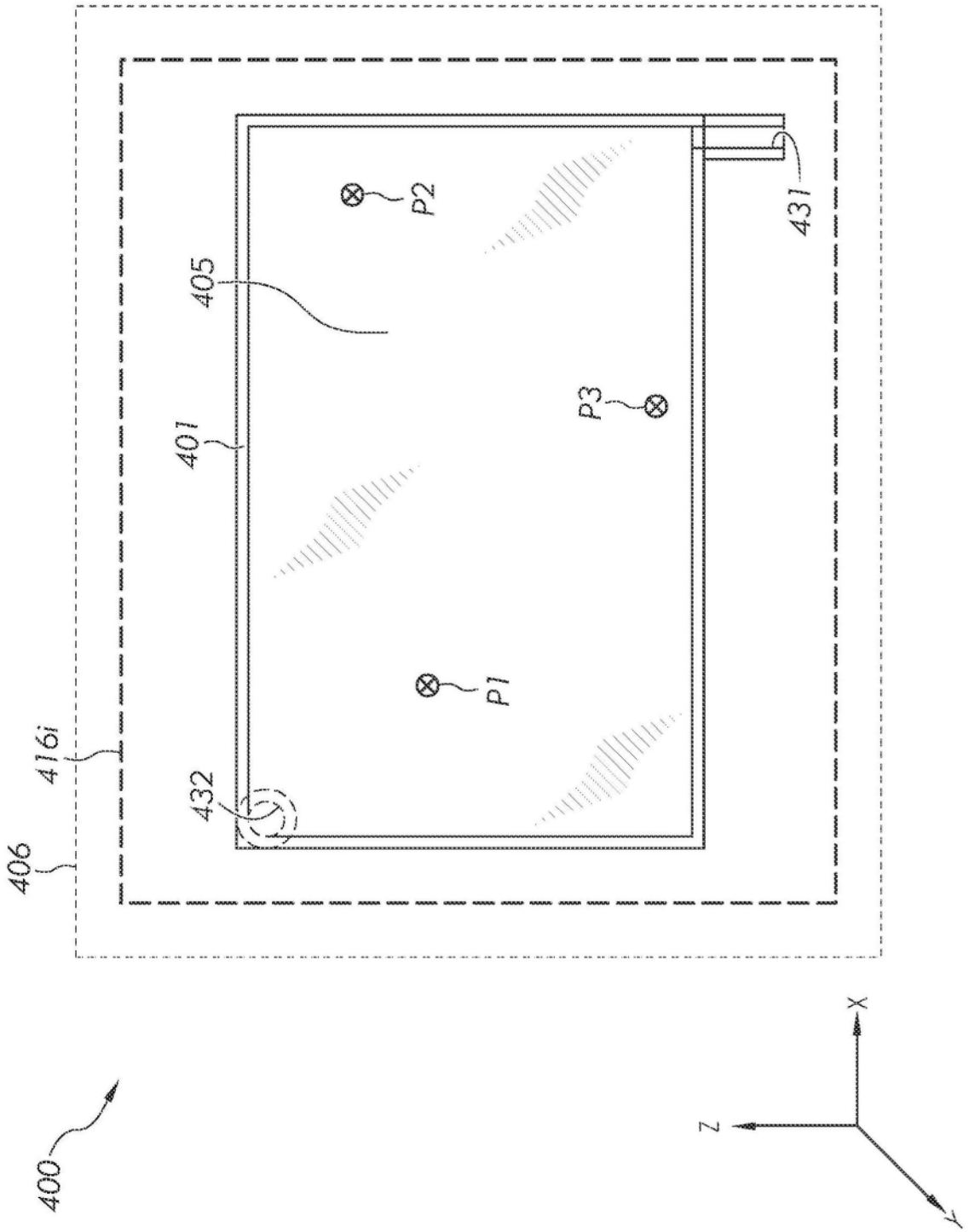


图10

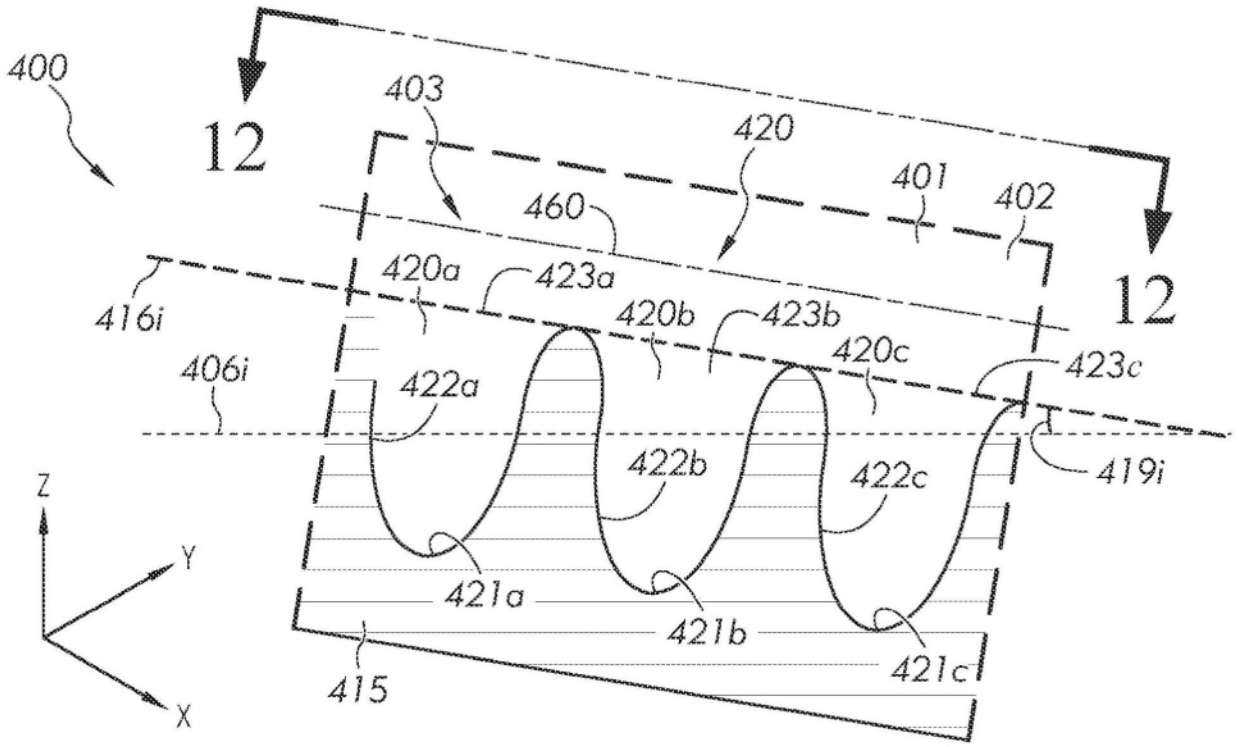

400
12
403
420
401
402
460
420a
423a
420b
423b
420c
423c
12
416i
406i
422a
422b
422c
419i
Z
Y
421a
421b
421c
415
X

图11

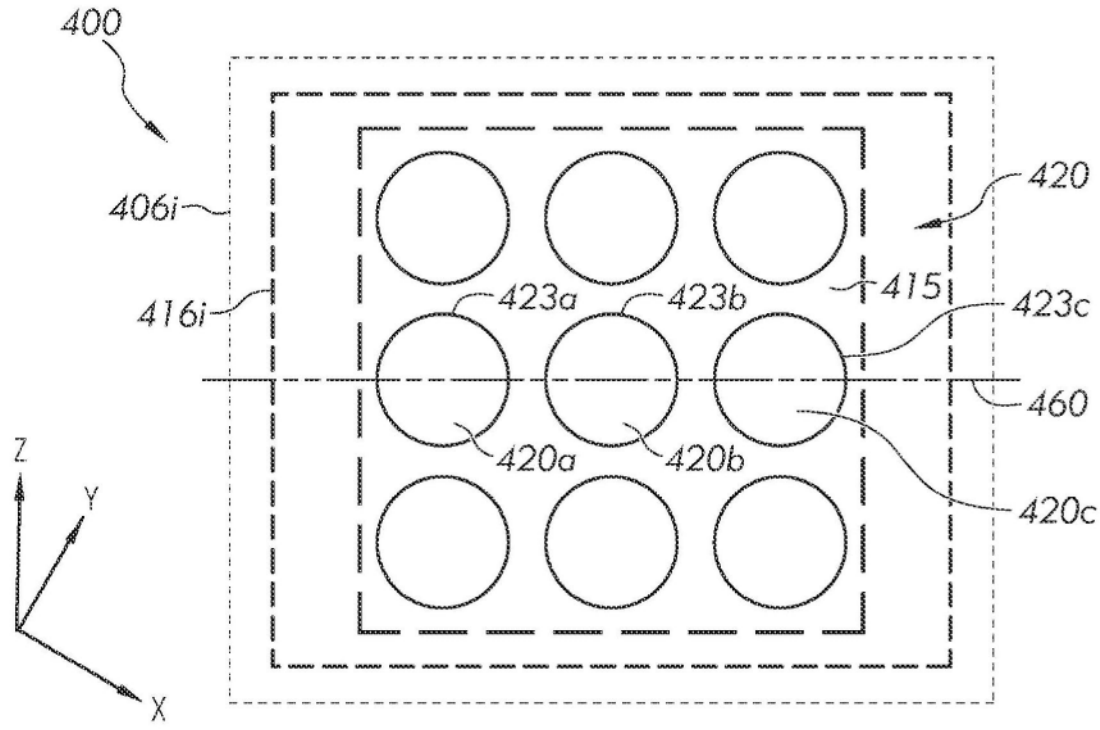

400
406i
420
416i
423a
423b
415
423c
460
420a
420b
420c
Z
Y
X

图12

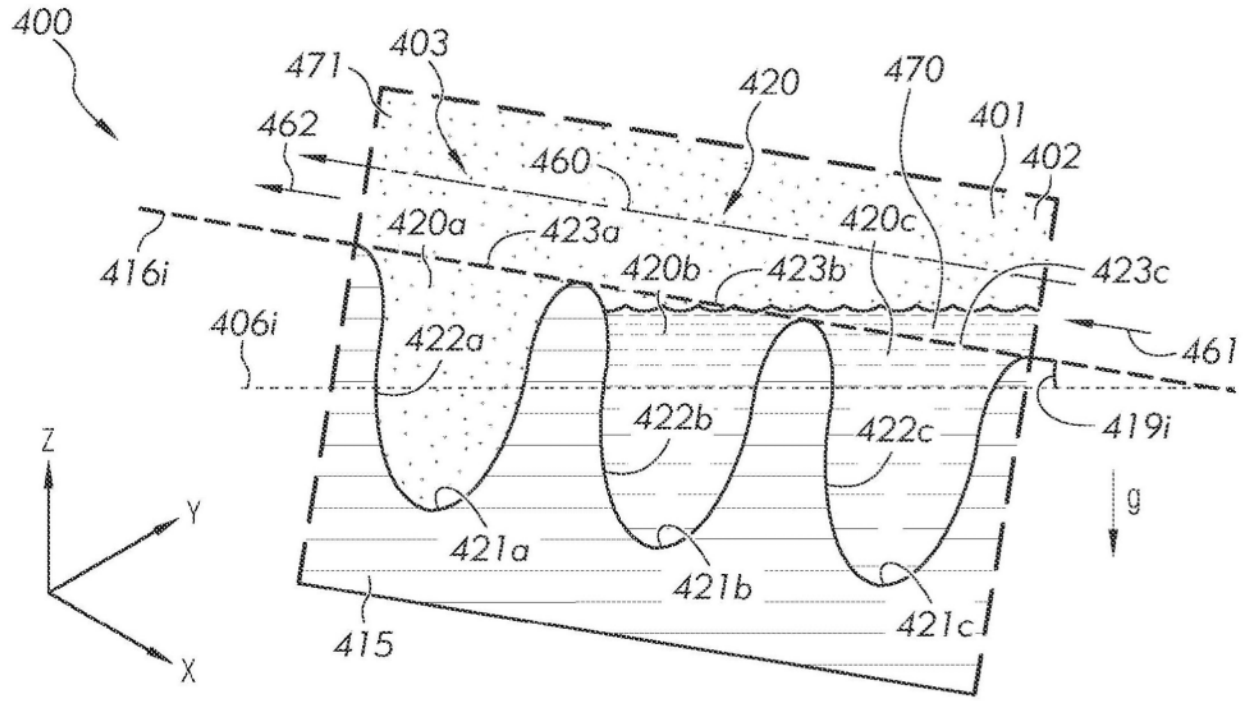

400
471
403
420
470
462
460
401
402
420a
423a
420c
416i
420b
423b
423c
406i
422a
461
422b
422c
419i
Z
Y
g
421a
421b
421c
415
X

图13

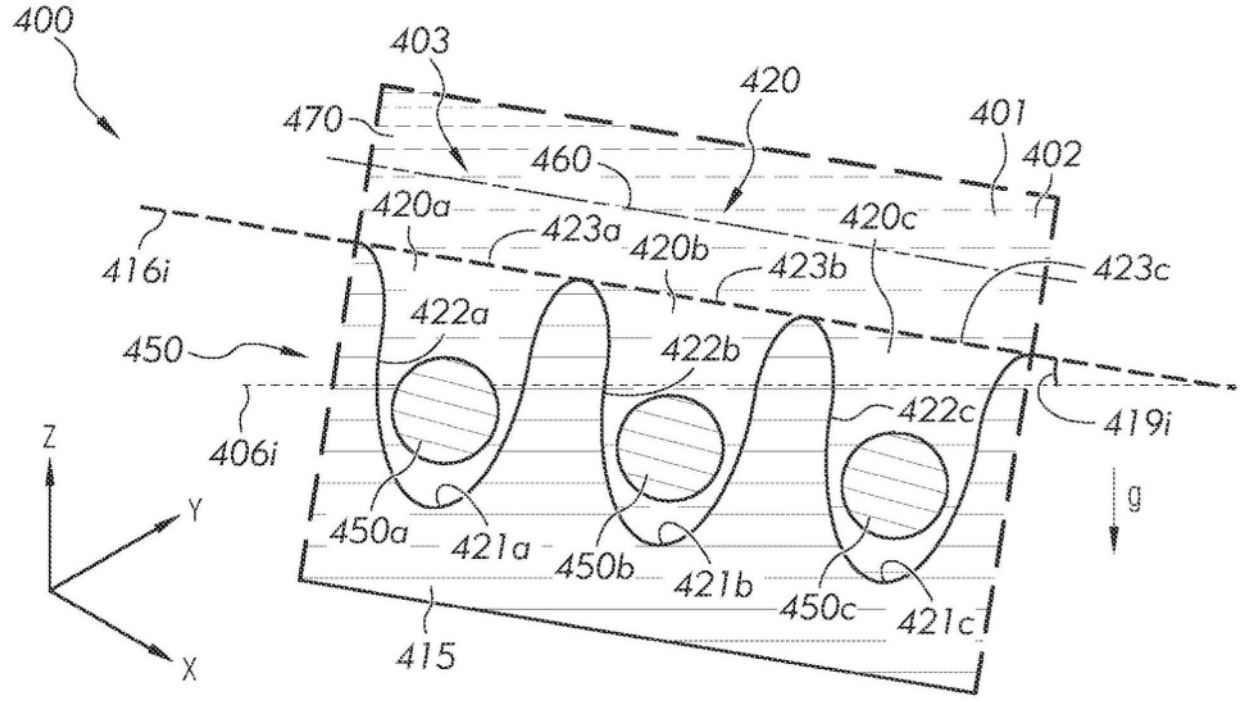

400
403
420
470
401
460
402
420a
423a
420b
420c
416i
423b
423c
422a
450
422b
406i
422c
419i
Z
Y
g
450a
421a
450b
421b
450c
421c
415
X

图14

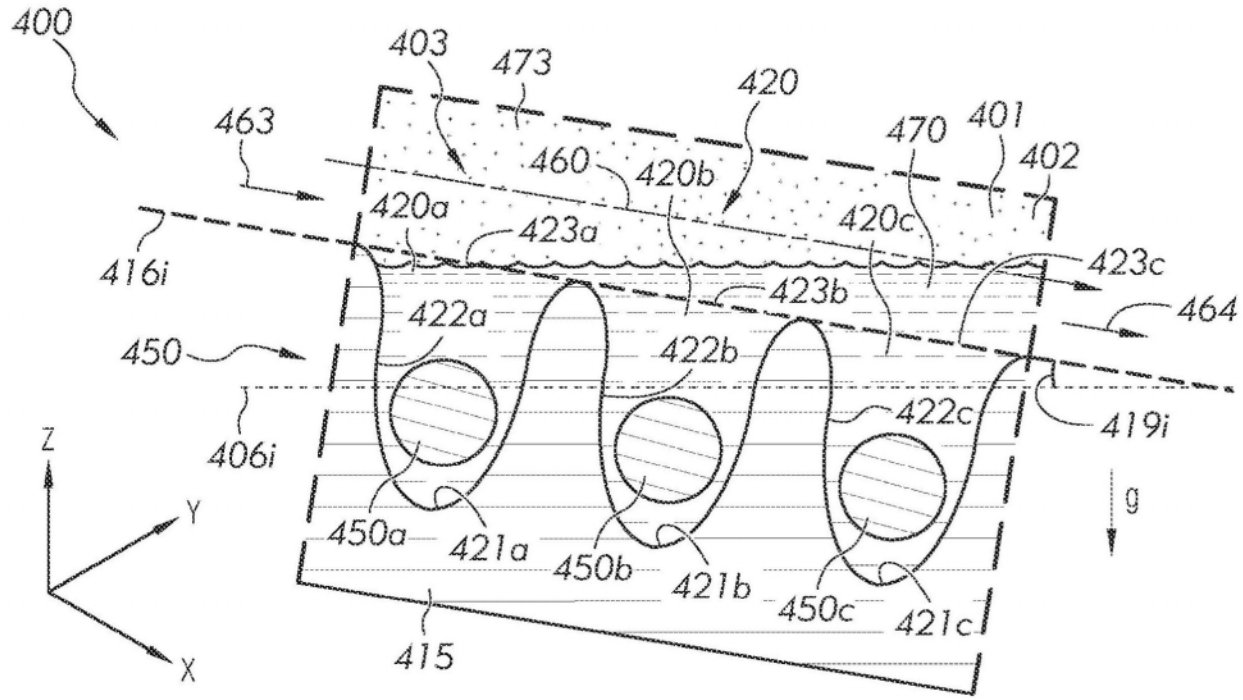

400
403
473
420
463
460
420b
470
401
402
420a
423a
420c
423c
416i
423b
464
422a
450
422b
422c
419i
406i
450a
421a
450b
421b
450c
421c
415
Z
Y
X
g

图15

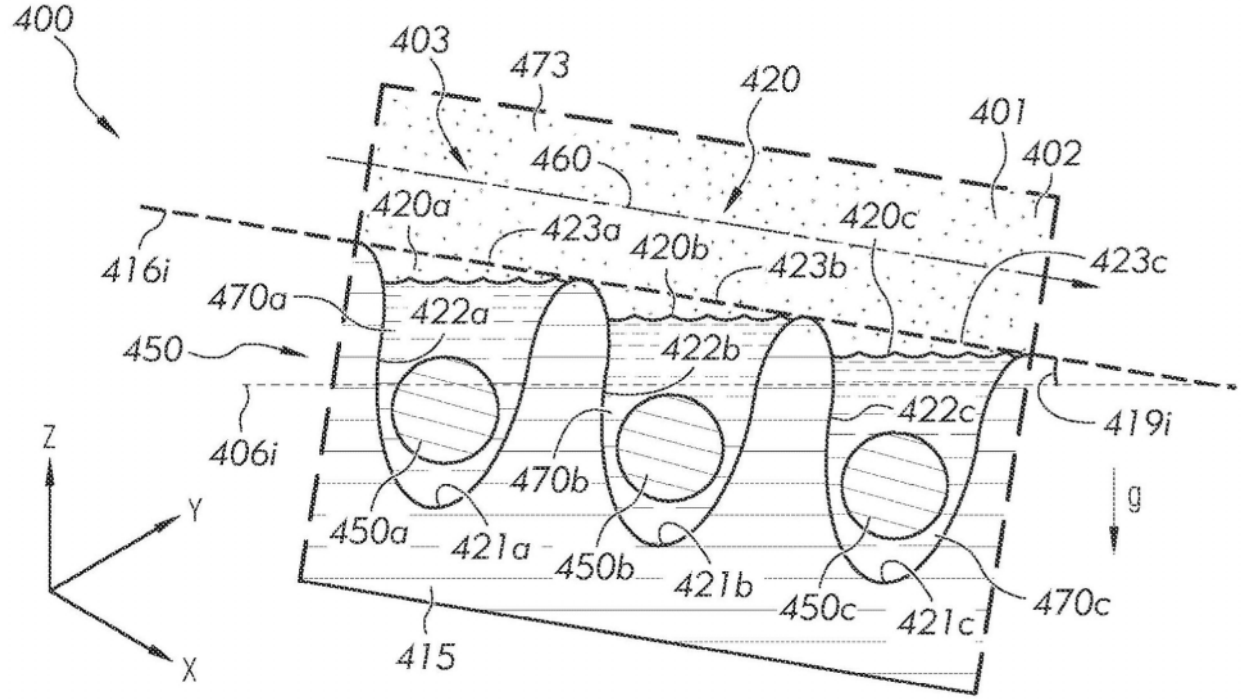

400
403
473
420
401
460
402
420a
423a
420b
420c
423c
416i
423b
470a
422a
450
422b
422c
419i
406i
470b
450a
421a
450b
421b
450c
421c
470c
415
Z
Y
X
g

图16

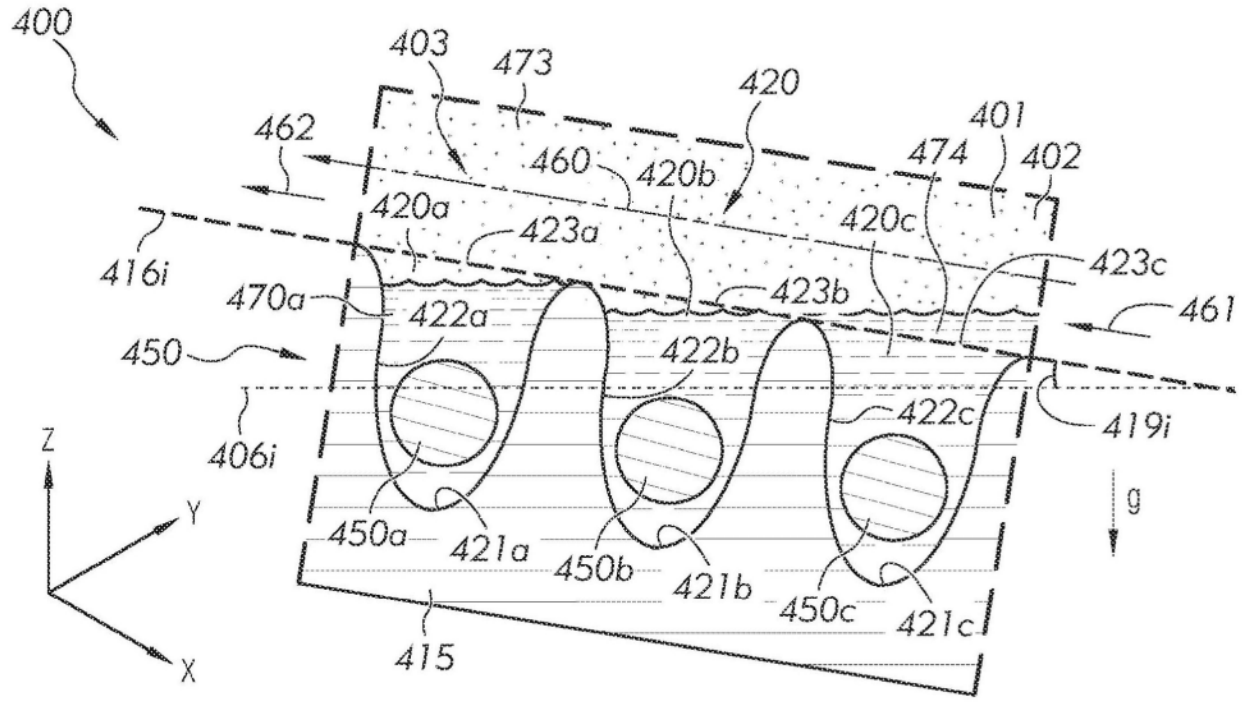

400
403
473
420
462
460
420b
401
474
402
420a
423a
420c
423c
416i
470a
422a
423b
461
450
422b
422c
419i
406i
450a
421a
450b
421b
450c
421c
415
Z
Y
X
g

图17

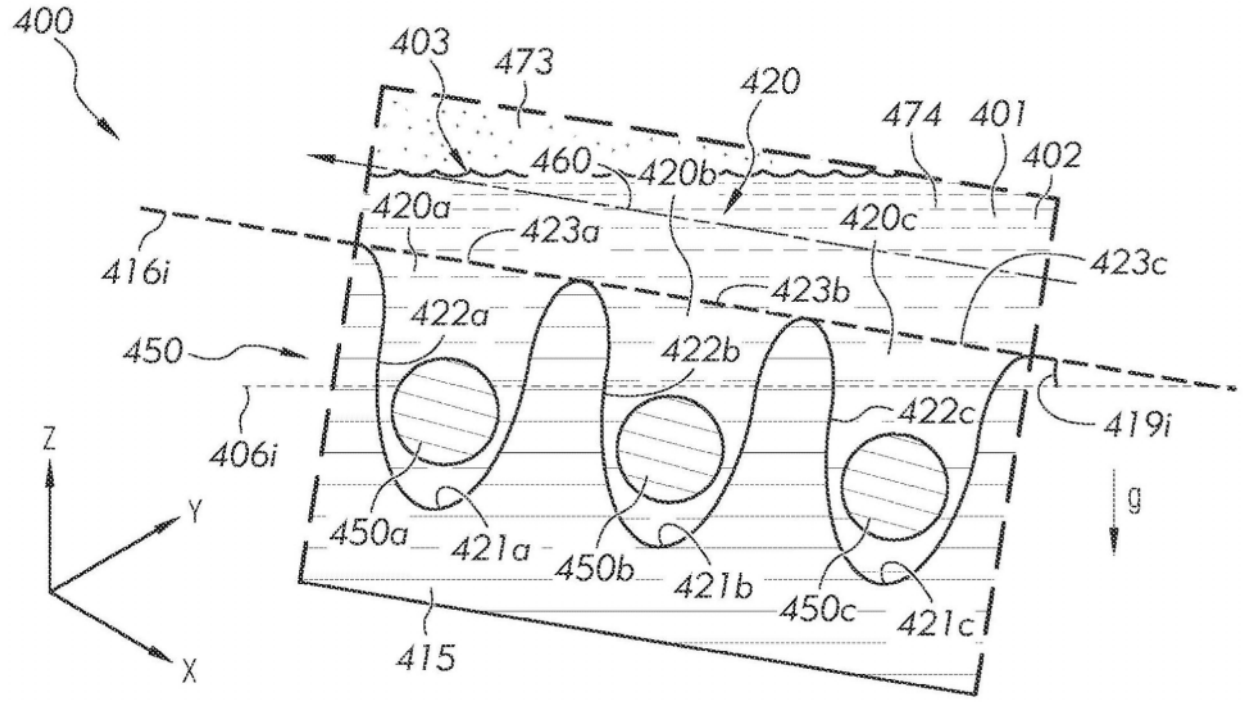

400
403
473
420
474
401
460
420b
402
420a
423a
420c
423c
416i
422a
423b
450
422b
422c
419i
406i
450a
421a
450b
421b
450c
421c
415
Z
Y
X
g

图18