



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103305422 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 20

(21) 申请号 201310261553. 8

CN 101831385 A, 2010. 09. 15, 全文.

(22) 申请日 2013. 06. 27

CN 102745809 A, 2012. 10. 24, 全文.

(73) 专利权人 上海日泰医药设备工程有限公司
地址 201712 上海市青浦区青赵公路 3766 号

审查员 吴漾

(72) 发明人 陈光南

(74) 专利代理机构 上海兆丰知识产权代理事务
所(有限合伙) 31241
代理人 屠轶凡

(51) Int. Cl.

C12M 3/02(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 203403094 U, 2014. 01. 22,

CN 202808481 U, 2013. 03. 20, 全文.

CN 2542671 Y, 2003. 04. 02, 全文.

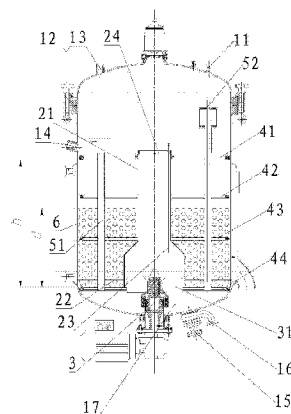
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

一种生物反应器

(57) 摘要

本发明公开了医药设备领域的一种生物反应器,包括罐体,以及位于所述罐体内的导流筒、多孔圆管、多级调速搅拌器、上固定板和下固定板;所述导流筒和所述多孔圆管均位于所述罐体的中心,所述导流筒的底部与所述多孔圆管的顶部同心相接,所述多级调速搅拌器从所述多孔圆管的底部伸入所述多孔圆管;所述上固定板是围绕所述导流筒的顶部设置的;所述下固定板是围绕所述多孔圆管的底部设置的;所述下固定板的外圆周与所述罐体的内壁固定;所述上固定板和所述下固定板均为多孔板;所述上固定板的底面和所述下固定板的顶面之间填充由细胞培养载体组成的填料,所述填料的高度最多为所述上固定板底面和所述下固定板顶面之间距离的三分之二。



1. 一种生物反应器,其特征在于:包括罐体(1),以及位于所述罐体(1)内的竖直设置的导流筒(21)、竖直设置的多孔圆管(22)、多级调速搅拌器(3)、上固定板(41)和下固定板(44);

所述导流筒(21)和所述多孔圆管(22)均位于所述罐体(1)的中心,所述导流筒(21)的底部与所述多孔圆管(22)的顶部同心相接,所述多级调速搅拌器(3)从所述多孔圆管(22)的底部伸入所述多孔圆管(22);

所述上固定板(41)是围绕所述导流筒(21)的顶部设置的;所述下固定板(44)是围绕所述多孔圆管(22)的底部设置的;所述下固定板(44)的外圆周与所述罐体(1)的内壁固定;所述上固定板(41)和所述下固定板(44)均为多孔板;

所述上固定板(41)的底面和所述下固定板(42)的顶面之间填充由细胞培养载体组成的填料(6),所述填料(6)的高度最多为所述上固定板(41)底面和所述下固定板(44)顶面之间距离的三分之二;

该生物反应器内设有围绕所述导流筒(21)和所述多孔圆管(22)圆周均布的偶数根竖直设置导流管(51),所述的偶数根导流管(51)均贯穿所述上固定板(41)和所述下固定板(44),所述的偶数根导流管(51)中相互间隔地插接有第一通气管(52);所述罐体(1)的顶部设有通气口(11)。

2. 根据权利要求1所述的一种生物反应器,其特征在于:所述导流筒(21)和所述多孔圆管(22)内插接有紧贴所述导流筒(21)内壁的第二通气管(23),所述第二通气管(23)顶面的高度低于所述第一通气管(52)顶面的高度。

3. 根据权利要求2所述的一种生物反应器,其特征在于:所述第二通气管(23)通过位于所述导流筒(21)顶部的滤网(24)固定。

4. 根据权利要求1或2或3所述一种生物反应器,其特征在于:所述多孔圆管(22)的顶部呈上小下大的喇叭口形。

5. 根据权利要求1所述的一种生物反应器,其特征在于:所述罐体(1)内还包括位于所述上固定板(41)和所述下固定板(44)之间的上挡板(42)和下挡板(43),所述上挡板(42)和所述下挡板(43)的内圆周与所述导流筒(21)固定,所述上挡板(42)和所述下挡板(43)的外圆周与所述罐体(1)的内壁分离,所述上挡板(42)和所述下挡板(43)均为多孔板,所述填料(6)的顶面低于所述上挡板(42)的底面,高于所述下挡板(43)的顶面。

6. 根据权利要求1所述一种生物反应器,其特征在于:所述罐体(1)的侧壁上设有出泡口(14),所述出泡口(14)高于所述上固定板(41)的顶面,所述罐体(1)的顶部设有冷凝器口(13),所述的出泡口(14)和所述的冷凝器口(13)通过旋液分离器连接,所述旋液分离器的进口连接所述出泡口(14),所述旋液分离器的出口连接所述冷凝器口(13)。

7. 根据权利要求1所述一种生物反应器,其特征在于:所述罐体(1)的底部设有取样阀口(16),所述取样阀口(16)内插有取样阀,所述取样阀设有一根阀杆,所述的阀杆从所述下固定板(44)的底部插入所述填料(6)。

8. 根据权利要求1所述的一种生物反应器,其特征在于:所述填料(6)中的细胞培养载体为片状纤维载体。

一种生物反应器

技术领域

[0001] 本发明涉及医药设备领域的一种生物反应器。

背景技术

[0002] 目前进行细胞培养的生物反应器,主要分为流化床生物反应器和固定床生物反应器。固定床生物反应器是通过在一个固定的容器中间装填填料来进行细胞培养。所述填料是由细胞培养载体组成的,所述细胞培养载体通常是直径 2-6mm 颗粒载体、多孔球载体或者片状纤维载体。细胞培养液循环通过细胞培养载体,细胞培养液依靠搅拌器在搅拌中产生的负压不断在固定床生物反应器内流动,以进行营养成分和 / 或氧的传递。刚接种的细胞生长在所述细胞培养载体的表面,随着细胞增殖,细胞开始充满所述细胞培养载体间的空隙。固定床生物反应器内细胞培养液流动速度大,细胞生长密度高,可减少无血清培养时的蛋白的用量,适用于增殖悬浮细胞,且对细胞无机械损害,但是,由于所述填料被上固定板和下固定板压紧,细胞的代谢产物及死细胞很难排出,同时细胞培养液不均匀的流动而造成沟流现象和营养分布不均匀,细胞生长速度一致性差。

[0003] 流化床生物反应器包括罐体和搅拌器,以及由细胞培养载体组成的填料等,通过所述搅拌器在所述罐体内产生向上流动的漩流,使支持细胞生长的细胞培养液呈流态化,并使内部装填的所述填料中的细胞培养载体上下翻动,依附所述细胞培养载体生长的大量细胞在悬浮状态下生长。流化床生物反应器内,细胞培养液的流动性好,细胞的生长所需的营养在流化床生物反应器内分布均匀,细胞生长一致性好,但细胞和细胞培养载体容易冲出,同时随着细胞的增多,细胞在流化床生物反应器内悬浮态变差。同时流化床生物反应器的规模无法放大,现有流化床生物反应器的深度最大为仅为 2m 左右,横截面积最大规模仅为 1m^3 。

发明内容

[0004] 本发明的目的是为了克服现有技术的不足,提供一种生物反应器,其既能够克服流化床生物反应器进行细胞培养时,细胞和细胞培养载体容易冲出,造成提取的上清液残存的细胞和细胞培养载体较多的缺陷,又能克服采用固定床生物反应器进行细胞培养时,细胞生长速度不一致的缺陷。

[0005] 实现上述目的的一种技术方案是:一种生物反应器,包括罐体,以及位于所述罐体内的竖直设置的导流筒、竖直设置的多孔圆管、多级调速搅拌器、上固定板和下固定板;

[0006] 所述导流筒和所述多孔圆管均位于所述罐体的中心,所述导流筒的底部与所述多孔圆管的顶部同心相接,所述多级调速搅拌器从所述多孔圆管的底部伸入所述多孔圆管;

[0007] 所述上固定板是围绕所述导流筒的顶部设置的;所述下固定板是围绕所述多孔圆管的底部设置的;所述下固定板的外圆周与所述罐体的内壁固定;所述上固定板和所述下固定板均为多孔板;

[0008] 所述上固定板的底面和所述下固定板的顶面之间填充由细胞培养载体组成的填

料,所述填料的高度最多为所述上固定板底面和所述下固定板顶面之间距离的三分之二。

[0009] 进一步的,该生物反应器内设有围绕所述导流筒和所述多孔圆管圆周均布的偶数根竖直设置的导流管,所述的偶数根导流管均贯穿所述上固定板和所述下固定板,所述的偶数根导流管中相互间隔地插接有第一通气管;所述罐体的顶部设有通气口。

[0010] 再进一步的,每根所述的导流管的管壁上设有围绕所述导流管圆周均布的偶数列第一径向通孔,且任意相邻两列的所述第一径向通孔均是相错布置的。

[0011] 再进一步的,所述导流筒和所述多孔圆管内插接有紧贴所述导流筒内壁的第二通气管,所述第二通气管顶面的高度低于所述第一通气管顶面的高度。

[0012] 更要进一步的;所述第二通气管通过位于所述导流筒顶部的滤网固定。

[0013] 进一步的,所述多孔圆管的顶部呈上小下大的喇叭口形。

[0014] 进一步的,所述罐体内还包括位于所述上固定板和所述下固定板之间的上挡板和下挡板,所述上挡板和所述下挡板的内圆周与所述导流筒固定,所述上挡板和所述下挡板的外圆周与所述罐体的内壁分离,所述上挡板和所述下挡板均为多孔板,所述填料的顶面低于所述上挡板的底面,高于所述下挡板的顶面。

[0015] 进一步的,所述罐体的侧壁上设有出泡口,所述出泡口高于所述上固定板的顶面,所述罐体的顶部设有冷凝器口,所述的出泡口和所述的冷凝器口通过旋液分离器连接,所述旋液分离器的进口连接所述出泡口,所述旋液分离器的出口连接所述冷凝器口。

[0016] 进一步的,所述罐体的底部设有取样阀口,所述取样阀口内插有取样阀,所述取样阀设有一根阀杆,所述的阀杆从所述下固定板的底部插入所述填料。

[0017] 进一步的,所述填料中的细胞培养载体为片状纤维载体。

[0018] 采用了本发明的一种生物反应器的技术方案,即在上固定板与下固定板之间的固定床内,填料的高度最多为固定床高度的三分之二的技术方案。其技术效果是:其既能够克服流化床生物反应器进行细胞培养时,细胞和细胞培养载体容易冲出,造成提取的上清液残存的细胞和细胞培养载体较多的缺陷,又能克服采用固化床生物反应器进行细胞培养时,细胞生长速度不一致的缺陷。

附图说明

[0019] 图 1 为本发明的一种生物反应器的结构示意图。

具体实施方式

[0020] 请参阅图 1,本发明的发明人为了能更好地对本发明的技术方案进行理解,下面通过具体地实施例,并结合附图进行详细地说明:

[0021] 请参阅图 1,本发明的一种生物反应器,属于一种固定床生物反应器,包括:包括罐体 1、竖直设置的导流筒 21、竖直设置的多孔圆管 22、第二通气管 23、滤网 24、多级调速搅拌器 3、上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43、下固定板 44、以及导流管 51 和第一通气管 52。

[0022] 其中,罐体 1 的顶部设有通气口 11、补液管 12 和冷凝器口 13,罐体 1 的侧壁上设有出泡口 14、罐体 1 的底部设有出料阀口 15 和取样阀口 16。罐体 1 的内壁上还设有圆周滤网(图中未显示)。补液管 12 用于往生物反应器内添加细胞培养液。

[0023] 导流筒 21、多孔圆管 22、多级调速搅拌器 3、上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43 和

下固定板 44 均位于罐体 1 内。

[0024] 其中导流筒 21 和多孔圆管 22 均位于罐体 1 内的中心位置,多孔圆管 22 的顶部通过焊接与导流筒 21 的底部固定。且导流筒 21 和多孔圆管 22 是同心设置的。多孔圆管 22 的管壁上均布有第二径向通孔(图中未显示)。多孔圆管 22 的顶部呈上小下大的喇叭口形,以利于细胞培养液在生物反应器内的循环。多级调速搅拌器 3 从多孔圆管 22 的底部伸入多孔圆管 22。同时,导流筒 21 的顶部设有滤网 24。

[0025] 第二通气管 23 紧贴导流筒 21 的内壁,从导流筒 21 的顶部伸入导流筒 21,穿过整个导流筒 21,再伸入多孔圆管 22,第二通气管 23 是通过滤网 24 固定的。

[0026] 上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43、下固定板 44 均位于罐体 1 内,并沿着竖直方向从上到下依次设置。其中上固定板 41 围绕导流筒 21 的顶部设置,上挡板 42 围绕导流筒 21 的中部设置,下挡板 43 围绕导流筒 21 的底部设置。上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43 均通过垫圈与导流筒 21 固定。下固定板 44 围绕多孔圆管 22 的底部设置,下固定板 44 通过垫圈与多孔圆管 22 固定。其中,下固定板 44 的外圆周上设有法兰和套接在所述法兰外圆周上的垫圈,用于将下固定板 44 与罐体 1 的内壁固定。上固定板 41 底面是细胞培养床顶面,下固定板 44 顶面为细胞培养床的底面。上固定板 41、下固定板 44、导流筒 21、多孔圆管 22 和罐体 1 的内壁之间形成了该生物反应器的细胞培养床。下固定板 44 与罐体 1 的底面之间形成一个回流腔 17。上挡板 42 和下挡板 44 的外圆周上也套接法兰,该法兰与罐体 1 的内壁之间留有间隙。上固定板 41 的外圆周上设有法兰和套接在所述法兰外圆周上的垫圈,该垫圈与罐体 1 的内壁之间留有间隙。上固定板 41 底面与下固定板 44 顶面之间的距离为 h 。其中,上挡板 42 顶面与上固定板 41 底面之间的距离小于 $h/3$,下挡板 43 底面和下固定板 44 顶面之间的距离小于 $h/2$ 。

[0027] 本实施例中,上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43、下固定板 44 都是多孔板,选用不锈钢或塑料制成。上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43、下固定板 44 优选的材料为多孔聚乙烯板、多孔聚丙烯板和多孔 EFTE (聚乙烯-聚四氟乙烯共聚物)板。

[0028] 导流管 51 的数量为偶数根,而且是竖直设置的。该偶数根导流管 51 是围绕该多孔圆管 22 和导流筒 21 的圆周均布。该偶数根导流管 51 均依次贯穿上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43 和下固定板 44。即该偶数根导流管 51 的顶部向上贯穿上固定板 41,该偶数根导流管 51 的底部向下贯穿下固定板 44。第一通气管 52 相互间隔地插入该偶数根导流管 51,即插有第一通气管 52 的导流管 51 和未插有第一通气管 52 的导流管 51 是间隔分布的。第一通气管 52 的顶部与罐体 1 的通气口 11 相通,以导入外来的氧气,对该生物反应器进行深层通气。因此,第一通气管 52 顶面的高度高于第二通气管 53 顶面的高度。

[0029] 同时导流管 51 的管壁上,围绕导流管 51 的圆周均布有偶数列第一径向通孔(图中未显示),任意相邻的两列所述第一径向通孔是相错布置的。

[0030] 上固定板 41 的底面与下固定板 44 的顶面之间填充有细胞培养载体组成的填料 6,细胞培养载体通常采用的是片状纤维载体。填料 6 的高度 d 为 $h/2$ 到 $2h/3$ 。即填料 6 的顶面要高于下挡板 43 顶面而低于上挡板 42 的底面以使罐体 1 内的空间得到充分地利用。

[0031] 同时,上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43、下固定板 44 所采用的多孔板的孔径,以及多孔圆管 22 上第二径向通孔和导流管 51 上第一径向通孔的孔径均小于填料 6 中细胞培养载体的直径,起到对填料 6 中细胞培养载体的阻隔作用,防止在填料 6 中细胞培养载体内

培养的细胞因受到多级调速搅拌器 3 剪切力的作用而死亡。

[0032] 在罐体 1 内,细胞培养液从导流管 51 和导流筒 21 流向罐体 1 底部的回流腔 17,细胞培养液在各个导流管 51、导流筒 21 和多孔圆管 22 内形成向下流动的漩流,该向下流动的漩流从各个导流管 51 和多孔圆管 22 的底部冲出,进入罐体 1 底部的回流腔 17。从各个导流管 51 和从多孔圆管 22 底部冲出的向下流动的漩流,在多级调速搅拌器 3 的作用下,在回流腔 17 内转而形成了向上流动的漩流。

[0033] 由于上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43 和下固定板 44 都为多孔板,该向上流动的漩流从下固定板 44 的底部进入填料 6。为填料 6 中细胞培养载体内的细胞提供营养和溶解氧。该向上流动的漩流的继续向上流动,流经下挡板 43 和上挡板 42,再穿过上固定板 41,回流到罐体 1 的顶部,完成细胞培养液在罐体 1 内的一次循环。或者从围绕下挡板 43、上挡板 42 和上固定板 41 外圆周的间隙,回流到罐体 1 的顶部,完成细胞培养液在罐体 1 内的一次循环。

[0034] 本实施例中,通过改变多级调速搅拌器 3 的搅拌速度,可以改变该向上流动的漩流在该填料 6 内向上运动的速度。当多级调速搅拌器 3 处于零档时,罐体 1 底部的回流腔 17 内无法形成向上流动的漩流。当多级调速搅拌器 3 的旋转速度处于最低速的一档时,该向上流动的漩流向上流动的速度低于填料 6 中细胞培养载体的冲出点,填料 6 中细胞培养载体可以在罐体 1 中沉降下来,形成类似固定床培养的培养方式。此时细填料 6 中细胞培养载体之间存在较大间隙,并且可以观察到所述细胞培养载体在进行微小的晃动,这种晃动有助于使细胞培养液在填料 6 内的均匀分布,比现有的固定床培养方式优越。

[0035] 多级调速搅拌器 3 的旋转速度上升,即多级调速搅拌器 3 的旋转速度处于最高速的第 N 档时,该向上流动的漩流向上流动的速度高于填料 6 中细胞培养载体的沉降速度,使填料 6 中细胞培养载体的处于悬浮状态,形成类似于流化床的培养方式。由于上固定板 41、上挡板 42、下挡板 43 和下固定板 44 所采用的多孔板,其孔径均小于填料 6 中细胞培养载体的直径,填料 6 中细胞培养载体的受到上挡板 42 和上固定板 41 的两层阻隔,而不会冲出,保证了上固定板 41 顶面的上方是上层清液。

[0036] 为了保证多级调速搅拌器 3 的调速,多级调速搅拌器 3 采用的桨叶是平叶或螺旋桨形桨叶。

[0037] 该生物反应器固定床培养方式为主,间歇而短暂地改变多级调速搅拌器 3 的旋转速度,使细填料 6 中细胞培养载体的处于悬浮状态,形成类似于流化床的培养方式,使生物反应器内的细胞培养液和代谢产物均质化。该生物反应器优选的培养程序可设定为:固定床的培养方式培养 1-3 小时,流化床的培养方式培养 1-3 分钟,停止搅拌 0.5-1 分钟,重新开始利用固定床的培养方式进行细胞培养。

[0038] 该生物反应器可实现高密度的细胞培养,细胞密度可达 10^8 个 /ml 以上,且可以进行长时间连续培养,这是通过连续往罐体 1 的底部供给细胞培养液和溶解氧,同时罐体 1 的顶部输出上清液来实现的。导流管 51 上的第一径向通孔不断地将细胞培养液送入填料 6。同时填料 6 中细胞培养载体内细胞产生的代谢的固体产物在多级调速搅拌器 3 的作用下不断从多孔圆管 22 上的第二径向通孔排出,而不从下固定板 44 流出,沉积到罐体 1 的底部并排出,防止下固定板 44 被细胞代谢的固体产物堵塞,影响向上流动的漩流的产生。导流管 51 上第一径向通孔的作用在于:在竖直方向上保证填料 6 内细胞培养液的均匀性。所述第

一径向通孔相错布置,可以进一步在竖直方向上保证填料 6 内细胞培养液的均匀性。

[0039] 外界输入的氧气通过第一通气管 52,输送到罐体 1 的底部,对该生物反应器进行深层通气,由于受到导流管 51 上第一径向通孔的孔径的限制,第一通气管 52 在深层通气中所产生的气泡并不会通过所述的第一径向通孔进入填料 6。所述的气泡在多级调速搅拌器 3 的搅拌下破裂,形成溶解在细胞培养液的溶解氧,并通过下固定板 44 的底部进入填料 6,对填料 6 中细胞培养载体内培养的细胞进行供氧,以减少所述气泡对所述细胞培养载体内细胞的损伤。

[0040] 第二通气管 23 的顶面的高度低于罐体 1 顶部上层清液液面的高度,以将上层清液中的溶解氧对该生物反应器进行深层通气,进一步保证细胞培养所需的氧气的供应。

[0041] 填料 6 内,细胞在细胞培养在体内部生长,有良好的群体效应,不易脱落。该生物反应器在对细胞以固化床的方式进行培养时,细胞代谢产物及死细胞可以从多孔圆管 22 上第二径向通孔排出,并沉积在罐体 1 的底部。因此,本发明的一种生物反应器中,细胞培养液进入填料 6 和细胞代谢的固体产物排出填料 6 的途径是不同的。

[0042] 由于该生物反应器还通过在第一导流管 51 内插入第一通气管 52,在解决了深层通气的问题的同时,防止了深层通气过程中气泡对细胞的损伤。因此其放大潜能好,可在该细胞培养床内实现高密度的细胞培养,细胞密度可达 10^8 个 /ml 以上。该生物反应器还可以进行长时间连续的细胞培养。该生物反应器尤其适合于无血清培养,长时间连续灌流,长时间收获细胞代谢产物。

[0043] 由于该生物反应器进行了高密度的细胞培养,因此细胞培养过程中,由于细胞的呼吸作用产生了大量的粘稠泡沫,粘稠泡沫从上固定板 41 顶面以及上固定板 41 与罐体 1 内壁之间的间隙冒出。由于出泡管 14 的入口高于上固定板 41 的顶面而低于上层清液的液面。因此可将出泡口 14 与一个旋液分离器(图中未显示)的入口连接,将冷凝器口 13 与该旋液分离器的出口连接。这样,可以通过旋液分离器将细胞培养过程中,由于细胞的呼吸作用产生的粘稠泡沫,及泡沫中含有的二氧化碳去除。滤网 24 的作用在于防止泡沫回流到生物反应器的底部。

[0044] 同时,罐体 1 底部的取样阀口 16 中插入取样阀(图中未显示),所述取样阀的阀杆穿过下固定板 44,对填料 6 的细胞培养载体中的细胞进行无菌取样,每次取样只取样几片细胞培养载体,取样量少,取样的细胞培养载体可进行细胞计数,观察细胞生长形态。罐体 1 底部的出料阀口 15 用于在细胞培养完成后的出料。

[0045] 同时该生物反应器可以重复使用多达 10 次以上,这对于科研工作而言,极大地降低成本。同时该生物反应器的容积也可达到 500L 以上。

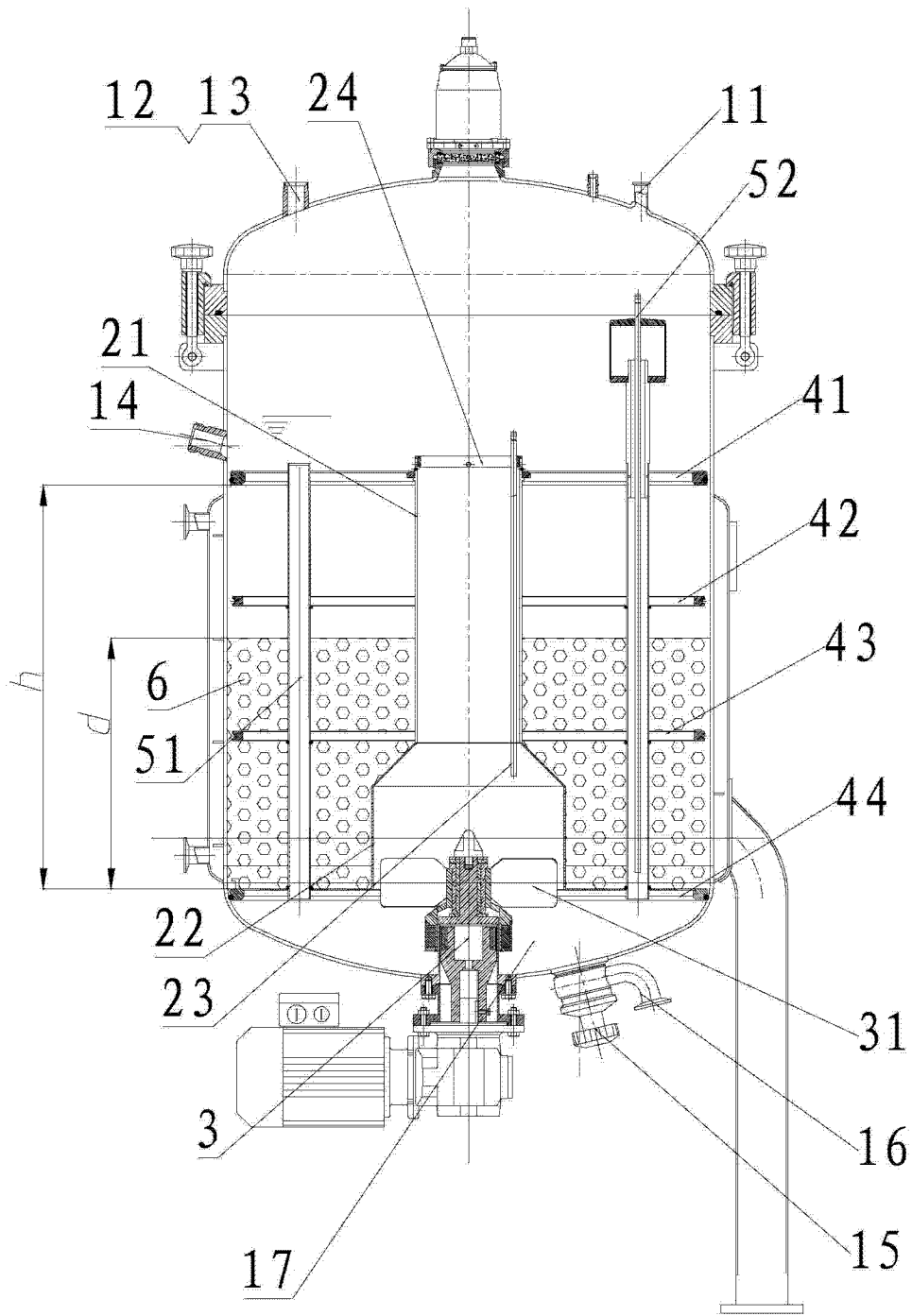


图 1