

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 1738/2006**

(22) Anmeldetag: **18.10.2006**

(43) Veröffentlicht am: **15.12.2007**

(51) Int. Cl.⁸: **C12M 1/34 (2006.01),
G01N 27/28 (2006.01)**

(73) Patentanmelder:

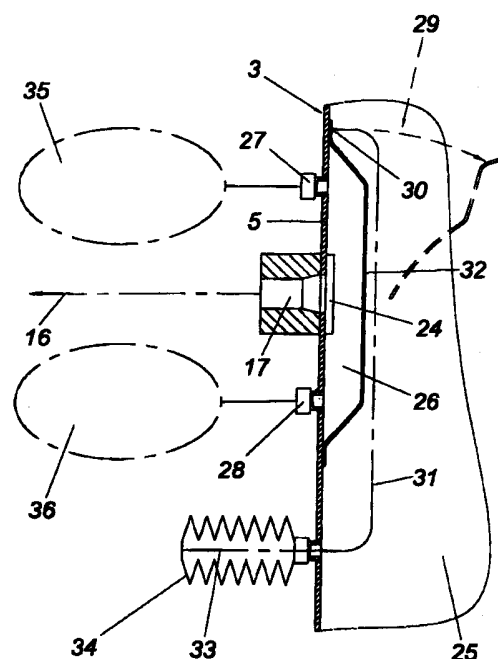
HEINRICH FRINGS GMBH & CO. KG
D-53115 BONN (DE)

(72) Erfinder:

NATELBERG TORSTEN DIPL.ING.
BONN (DE)
EMDE FRANK DR.ING.
BONN (DE)

(54) **REAKTOR ZUR BEHANDLUNG FLÜSSIGER SUBSTRATE, INSBESONDERE FÜR ZELLKULTUREN ODER MIKROORGANISMEN**

(57) Es wird ein Reaktor zur Behandlung flüssiger Substrate, insbesondere für Zellkulturen oder Mikroorganismen, mit einem sterilisierten Behälter (3) zur Aufnahme des Substrates, mit wenigstens einer gegenüber dem Aufnahmeraum (25) für das Substrat abgedichteten Messkammer (26) und mit einem der Messkammer (26) zugeordneten Sensor (17) für die Erfassung von Steuerdaten zur Bearbeitung des Substrates beschrieben. Um vorteilhafte Voraussetzungen zur Kalibrierung der Sensoren (17) zu schaffen, wird vorgeschlagen, dass die sowohl gegenüber dem Aufnahmeraum (25) des Behälters als auch nach außen abgedichtete Messkammer (26) Zu- und Ablaufanschlüsse (27, 28) für eine Kalibrierflüssigkeit zum Kalibrieren des Sensors (17) sowie einen durch eine Sollbruchstelle (30) verschlossenen Durchtritt (29) zum Aufnahmeraum (25) des Behälters (3) aufweist.





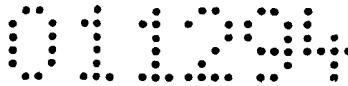
Patentanwalt
Dipl.-Ing. Helmut Hübscher
Spittelwiese 7, A-4020 Linz

(34 194) II

Zusammenfassung:

Es wird ein Reaktor zur Behandlung flüssiger Substrate, insbesondere für Zellkulturen oder Mikroorganismen, mit einem sterilisierten Behälter (3) zur Aufnahme des Substrates, mit wenigstens einer gegenüber dem Aufnahmeraum (25) für das Substrat abgedichteten Meßkammer (26) und mit einem der Meßkammer (26) zugeordneten Sensor (17) für die Erfassung von Steuerdaten zur Bearbeitung des Substrates beschrieben. Um vorteilhafte Voraussetzungen zur Kalibrierung der Sensoren (17) zu schaffen, wird vorgeschlagen, daß die sowohl gegenüber dem Aufnahmeraum (25) des Behälters als auch nach außen abgedichtete Meßkammer (26) Zu- und Ablaufanschlüsse (27, 28) für eine Kalibrierflüssigkeit zum Kalibrieren des Sensors (17) sowie einen durch eine Sollbruchstelle (30) verschlossenen Durchtritt (29) zum Aufnahmeraum (25) des Behälters (3) aufweist.

(Fig. 2)

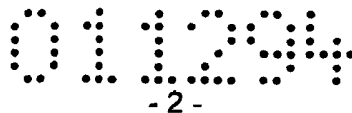


- 1 -

(34 194) II

Die Erfindung bezieht sich auf einen Reaktor zur Behandlung flüssiger Substrate, insbesondere für Zellkulturen oder Mikroorganismen, mit einem sterilisierten Behälter zur Aufnahme des Substrates, mit wenigstens einer gegenüber dem Aufnahme- raum für das Substrat abgedichteten Meßkammer und mit einem der Meßkammer zugeordneten Sensor für die Erfassung von Steuerdaten zur Bearbeitung des Sub- strates.

Um den Aufwand einer Sterilisation eines wiederholt einsetzbaren Reaktors bei- spielsweise zur Behandlung von Zellkulturen oder von Mikroorganismen zu vermei- den, sind Reaktoren bekannt (US 2005/0239198 A1, US 2005/0239199 A1), die mit einem Gestell zur Aufnahme eines nur einmal zu verwendenden, sterilisierten Be- hälters versehen sind, der Anschlüsse mit sterilen Kupplungen für den Zu- und Ab- lauf des zu behandelnden Substrates sowie ein Rührwerk aufweist, dessen An- triebswelle dicht durch den sterilen Behälter aus flexiblem Kunststoff geführt ist, so daß das Rührwerk von außen mit Hilfe eines dem Gestell zugehörigen Motors ange- trieben werden kann, ohne die Keimfreiheit des Behälters zu gefährden. Die für die Steuerung der Substratbehandlung im Reaktor erforderlichen Sensoren, beispiele- weise für die Substrattemperatur, den pH-Wert, den im Substrat gelösten Sauerstoff und dergleichen, sind in den sterilen Behältern angeordnet, wobei die Versorgungs- und Meßleitungen dieser Sensoren dicht durch den Behältermantel geführt sind, um die Sterilität des Aufnahme- raumes des Behälters für das zu behandelnde Substrat zu wahren. Nachteilig bei diesen innerhalb des sterilen Behälters vorbereiteten Sensoren ist allerdings, daß sie zwar vorkalibriert werden können, eine für höhere Genauigkeitsanforderungen erforderliche Kalibrierung unmittelbar vor der Substrat- behandlung aber nicht zulassen.



Sollen nachträglich Sensoren zur Bestimmung von für die Steuerung der Substratbehandlung benötigten Meßdaten verwendet werden, so können diese Sensoren in Taschen des Behälters eingesetzt werden. Diese Taschen bilden steril gegenüber dem Aufnahmeraum des Behälters für das Substrat abgedichtete Meßkammern und sind mit wenigstens einer Durchtrittsöffnung zum Einsetzen der Sensoren sowie zur Durchführung der Versorgungs- und Meßleitungen versehen. Wegen der gegenüber dem Aufnahmeraum für das Substrat abgeschlossenen Meßkammern ist wiederum eine Kontamination des Aufnahmeraumes durch die von außen eingesetzten Sensoren ausgeschlossen. Es können allerdings nur Sensoren eingesetzt werden, die nicht mit dem Substrat in Berührung zu kommen brauchen, was eine erhebliche Einschränkung hinsichtlich der einsetzbaren Sensoren mit sich bringt.

Der Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, einen Reaktor der eingangs geschilderten Art zur Behandlung flüssiger Substrate, insbesondere für Zellkulturen oder Mikroorganismen, so auszugestalten, daß eine nachträgliche Kalibrierung der Sensoren möglich wird, ohne auf Sensoren verzichten zu müssen, die unmittelbar mit dem zu behandelnden Substrat in Berührung kommen.

Die Erfindung löst die gestellte Aufgabe dadurch, daß die sowohl gegenüber dem Aufnahmeraum des Behälters als auch nach außen abgedichtete Meßkammer Zu- und Ablaufanschlüsse für eine Kalibrierflüssigkeit zum Kalibrieren des Sensors sowie einen durch eine Sollbruchstelle verschlossenen Durchtritt zum Aufnahmeraum des Behälters aufweist.

Da die Meßkammer sowohl nach außen als auch gegenüber dem Behälter abgedichtet ist, ist nach einer entsprechenden Vorbehandlung die Sterilität des Reaktors im Bereich der Meßkammer und des Aufnahmeraumes des Behälters für das Substrat und damit auch im Bereich des jeweiligen der Meßkammer zugeordneten Sensors gegeben, dessen Versorgungs- bzw. Meßleitungen in herkömmlicher Weise ohne Gefahr für eine Kontamination der Meßkammer nach außen geführt sein können. Es liegen daher alle Voraussetzungen für eine nachträgliche Kalibrierung des

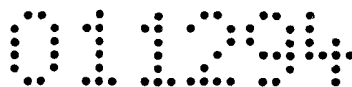


- 3 -

Sensors mit Hilfe einer Kalibrierflüssigkeit vor, die vorgegebene Werte der zu ermittelnden Meßdaten aufweist. Es braucht ja lediglich die Kalibrierflüssigkeit durch die hierfür vorgesehenen Anschlüsse in die Meßkammer eingefüllt zu werden. Nach einem Entleeren der Kalibrierflüssigkeit aus der Meßkammer und einem gegebenenfalls vorgesehenen Spülen mit einer sterilen Spülflüssigkeit kann durch ein Öffnen des Durchtrittes zwischen der Meßkammer und dem Aufnahmeraum des Behälters für das Substrat der kalibrierte Sensor mit dem Substrat beaufschlagt werden, um die für die Steuerung der Substratbehandlung erforderlichen Meßdaten zu erfassen und an die Steuereinrichtung weiterzuleiten.

Das Öffnen des Durchtrittes zwischen der Meßkammer und dem Aufnahmeraum des Behälters für das Substrat ist aufgrund der vorgesehenen Sollbruchstelle einfach zu bewerkstelligen. Es ist allerdings darauf zu achten, daß dabei keine Kontaminationsgefahr auftritt. Zu diesem Zweck kann an der Sollbruchstelle der Meßkammer eine Reißleine angreifen, die in einer gegenüber der Meßkammer und/oder dem Behälter abgedichteten Hülle nach außen geführt ist, so daß die Reißleine durch die Hülle hindurch betätigt werden kann, was einen dichten Abschluß der Meßkammer bzw. des Aufnahmeraumes für das Substrat im Bereich der Reißleinenführung sicherstellt.

Um eine Kontamination der Meßkammer über einen nachträglichen Anschluß an einen Vorratsbehälter für die Kalibrierflüssigkeit zu vermeiden, kann die Meßkammer bereits an einen vorbereiteten Vorratsbehälter für die Kalibrierflüssigkeit dicht angeschlossen sein, was die Kontaminationsgefahr durch einen nachträglichen Anschluß eines Kalibrierflüssigkeitsbehälters ausschließt. In gleicher Weise kann ein Ablaufbehälter zur Aufnahme der Kalibrierflüssigkeit aus der Meßkammer an deren Ablaufanschluß vorgesehen sein. Die Zu- und Ablaufanschlüsse der Meßkammer für die Kalibrierflüssigkeit sind allerdings nach der Kalibrierung wieder zu sperren, damit keine Kalibrierflüssigkeit in das zu behandelnde Substrat gelangen kann. Auf ähnliche Art kann für einen keimfreien Anschluß der Meßkammer an einen Spülflüssigkeitsbehälter bzw. an einen Leerbehälter für die Spülflüssigkeit aus der Meßkammer gesorgt werden, indem entsprechende Spülflüssigkeits- und Leerbehälter



- 4 -

an die Meßkammer angeschlossen sind, die wie der Behälter zur Aufnahme des zu behandelnden Substrates sowie die Behälter für die Kalibrierflüssigkeit und die Spülflüssigkeit ein vorgefertigtes, nach seiner einmaligen Verwendung zu verwendendes Modul für den Reaktor bilden. Die Kalibrier- und die Spülflüssigkeiten sind in einem solchen Fall in den für sie vorgesehenen Behältern enthalten und werden mit dem nur einmal zu verwendenden Reaktormodul geliefert.

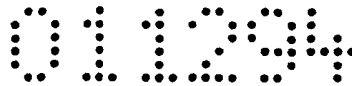
In der Zeichnung ist der Anmeldungsgegenstand beispielsweise dargestellt. Es zeigen

Fig. 1 einen erfindungsgemäßen Reaktor zur Behandlung flüssiger Substrate, insbesondere für Zellkulturen oder Mikroorganismen, in einem schematischen Axialschnitt und

Fig. 2 den Reaktor ausschnittsweise im Bereich einer Meßkammer im Schnitt in einem größeren Maßstab.

Der insbesondere für die Behandlung von Zellkulturen oder Mikroorganismen geeignete Reaktor weist gemäß der Fig. 1 ein Gestell 1 mit einer Aufnahme 2 für einen sterilen Behälter 3 auf. Die Aufnahme 2 bildet einen Stützmantel 4 für den aus einer Kunststoffolie bestehenden Behältermantel 5, der sich zwischen verstärkten Boden- und Deckenplatten 6, 7 erstreckt. Die Boden- und Deckenplatten 6, 7 sind mit Lagern zur Aufnahme einer Welle 8 für ein Rührwerk 9 versehen, das innerhalb des Behälters 3 angeordnet ist. Zum Antrieb dieses Rührwerkes 9 dient ein Motor 10, dessen Abtriebswelle den antriebsseitigen Teil 11 einer Magnetkupplung trägt, deren abtriebsseitiger Teil innerhalb des Behälters 3 auf der Welle 8 gelagert ist, die somit den Behälter 3 zur Antriebsverbindung mit dem Motor 10 nicht zu durchsetzen braucht.

Zur Befüllung des Behälters 3 mit einem zu behandelnden Substrat, mit Nährlösungen oder anderen Reaktionslösungen sind mit dem Behälter verbundene Versorgungsleitungen 13 vorgesehen, die an Pumpen 14 angeschlossen sind, um das Substrat bzw. die jeweils benötigte Lösung aus nicht dargestellten Vorratsbehältern auszufördern, und zwar dosiert über eine Steuereinrichtung 15, die über Meßleitun-

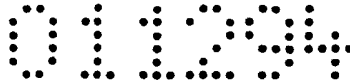


- 5 -

gen 16 von Sensoren 17 für die Erfassung der zur jeweiligen Steuerung benötigten Meßdaten beaufschlagt werden. Die Luftzufuhr erfolgt über ein fest mit dem Behälter 3 verbundenes Zuluftfilter 18 und eine an das Zuluftfilter 18 angeschlossene Zuluftleitung 19. Innerhalb des Behälters 3 ist eine strichpunktiert angedeutete Lufteintragsleitung 20 vorgesehen, die vom Zuluftfilter 18 ausgeht und im Bodenbereich mündet. Die Abluft wird über einen Abluftkondensator 21 und ein angeschlossenes Abluftfilter 22 aus dem Behälter abgeleitet. Zur Probenentnahme ist der Behälter 3 mit einem Probeentnahmeventil 23 versehen.

Da der Behälter 3 zur Aufnahme des zu behandelnden Substrates mit dem Rührwerk 9, den Versorgungsleitungen 13, dem Zuluftfilter 18 mit der zugehörigen Zuluftleitung 19, dem Abluftkondensator 21 mit dem Abluftfilter 22 und einer allfälligen Abluftleitung sowie mit den Sensoren 17 und dem Probeentnahmeventil 23 ein Modul bildet, das herstellerseitig sterilisiert und keimfrei verpackt werden kann, können beim Einsatz solcher Behälter im Zusammenhang mit der Behandlung von Zellkulturen oder Mikroorganismen hohe Anforderungen an die Sterilisation ohne besonderen Aufwand durch den Betreiber des Reaktors erfüllt werden. Das sterile Modul braucht ja lediglich in die hierfür vorgesehene Aufnahme 2 des Gestells 1 eingesetzt und die erforderlichen Anschlüsse für die Versorgungs- und Meßleitungen unter Beachtung der für die Aufrechterhaltung der Sterilität notwendigen Vorkehrungen vorgenommen zu werden, um den Reaktor in herkömmlicher Weise über die vorgesehene Steuereinrichtung 15 betreiben zu können.

Schwierigkeiten macht allenfalls die Kalibrierung der Sensoren 17, wenn diese Sensoren 17 mit dem zu behandelnden Substrat in Berührung kommen sollen und daher zumindest mit einem Fühler 24 für die zu messenden Größen, beispielsweise einer Elektrode zur Bestimmung des gelösten Sauerstoffgehaltes, innerhalb des nach außen abgedichteten Behälters 3 angeordnet sein müssen. In diesem Fall sind nämlich die innerhalb des Behälters 3 angeordneten Fühler 24 der Sensoren 17 mit einer Kalibrierflüssigkeit zu beaufschlagen, die einen vorgegebenen Wert für die zu erfassenden Meßdaten aufweist. Um den Aufnahmeraum 25 des Behälters 3 für das zu behandelnde Substrat nicht mit der Kalibrierflüssigkeit belasten zu müssen,

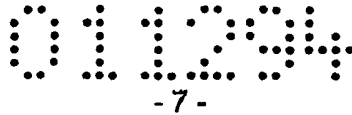


- 6 -

ist der Fühler 24 des Sensors 17 gemäß der Fig. 2 in einer gegenüber dem Aufnahme- raum 25 abgedichteten Meßkammer 26 angeordnet, die mit Zu- und Ablauf- anschlüssen 27, 28 für die Kalibrierflüssigkeit versehen ist, so daß der jeweilige Sensor 17 ohne Belastung des Aufnahme- raumes 25 für das Substrat mit der Kali- brierflüssigkeit beaufschlagt werden kann. Nach einer Reinigung der Meßkammer 26 mit einer Spülflüssigkeit kann dann ein Durchtritt 29 zwischen der Meßkammer 26 und dem Aufnahme- raum 25 für das Substrat geöffnet werden, und zwar über ei- ne Sollbruchstelle 30, die von außen über eine Reißleine 31 betätigt werden kann. Im Falle des in der Fig. 2 dargestellten Ausführungsbeispiels wird die Meßkammer 26 von einer mit dem Mantel 5 des Behälters 3 auf der Innenseite verbundenen Fo- lienwand 32 gebildet, die beispielsweise entlang ihrer Verbindungsnaht mit dem Mantel 5 des Behälters 3 über die Reißleine 31 aufgerissen werden kann, wie dies strichpunktiert angedeutet ist.

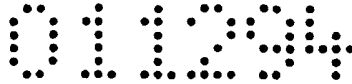
Da das Betätigungsende 33 der Reißleine 31 in einer gegenüber dem Behälter 3 abgedichteten Hülle 34 nach außen geführt ist, wird beim Betätigen der Reißleine 31 der dichte Abschluß des Behälters 3 nicht gefährdet. Die Hülle 34 ist unter Be- rücksichtigung der für die Betätigung der Reißleine 31 erforderlichen Stellwege aus- zubilden, beispielsweise in Form eines Faltenbalges.

Um eine Kontaminationsgefahr bei einer nachträglichen Verbindung der Meßkam- mer 26 mit Vorratsbehältern für die Kalibrierflüssigkeit bzw. für die Spülflüssigkeit von vornherein auszuschließen, kann der Zulaufanschluß 27 der Meßkammer 26 herstellerseitig bereits mit einem Vorratsbehälter 35 für die Kalibrierflüssigkeit blei- bend verbunden werden. Ist zugleich am Ablaufanschluß 28 ein Ablaufbehälter 36 angeschlossen, so kann die Kalibrierflüssigkeit aus dem vorzugsweise folienartigen Vorratsbehälter 35 in die Meßkammer 26 gedrückt werden und nach der Kalibrie- rung in den Ablaufbehälter 36 abfließen. Durch den bleibenden Anschluß der Meß- kammer 26 an einen Vorratsbehälter 35 und einen Ablaufbehälter 36 bleibt der in sich geschlossene sterile Behälterbereich erhalten. In ähnlicher Weise kann die Meßkammer 26 an einen Spülflüssigkeitsbehälter und an einen Leerbehälter zur Aufnahme der Spülflüssigkeit aus der Meßkammer 26 angeschlossen sein. Der Ab-



laufbehälter 36 zur Aufnahme der Kalibrierflüssigkeit aus der Meßkammer kann dabei auch als Leerbehälter für die Spülflüssigkeit dienen.

Das Beaufschlagen der Meßkammer 26 einerseits mit einer Kalibrierflüssigkeit und andererseits mit einer Spülflüssigkeit kann aber auch durch eine Zusatzeinrichtung erfolgen, die an die Zu- und Ablaufanschlüsse 27, 28 der Meßkammer 26 steril angesetzt wird und die Kalibrierflüssigkeit bzw. die Spülflüssigkeit mit Hilfe von Kolben in die Meßkammer pumpt, um diese Flüssigkeiten mit Hilfe gesonderter Kolben wieder aus der Meßkammer abzusaugen. Auch in diesem Fall kann eine Kontaminationsgefahr der Meßkammer vorteilhaft vermieden werden. Es ist in jedem Fall dafür zu sorgen, daß die aus der Meßkammer 26 ausgetragenen Kalibrier- bzw. Spülflüssigkeiten nicht mehr in die Meßkammer 26 zurückfließen können. Zu diesem Zweck sind die Zu- und Ablaufanschlüsse 27, 28 zu schließen, was im einfachsten Fall durch ein Abklemmen der Zu- bzw. Ableitungen erfolgen kann.



Patentanwalt
Dipl.-Ing. Helmut Hübscher
Spittelwiese 7, A-4020 Linz

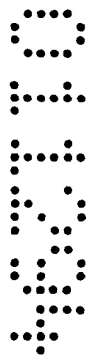
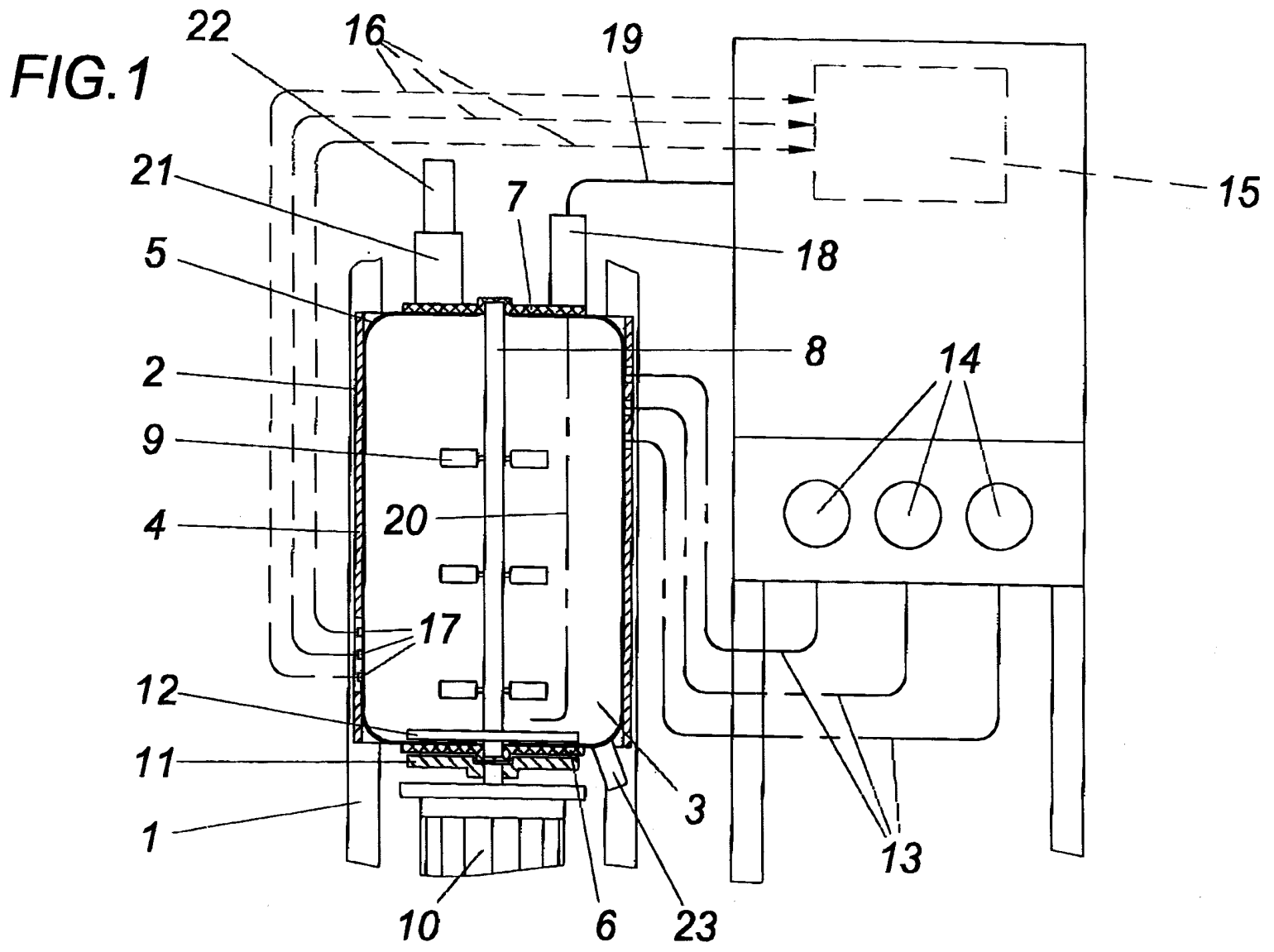
(34 194) II

Patentansprüche:

1. Reaktor zur Behandlung flüssiger Substrate, insbesondere für Zellkulturen oder Mikroorganismen, mit einem sterilisierten Behälter zur Aufnahme des Substrates, mit wenigstens einer gegenüber dem Aufnahmeraum für das Substrat abgedichteten Meßkammer und mit einem der Meßkammer zugeordneten Sensor für die Erfassung von Steuerdaten zur Bearbeitung des Substrates, dadurch gekennzeichnet, daß die sowohl gegenüber dem Aufnahmeraum (25) des Behälters als auch nach außen abgedichtete Meßkammer (26) Zu- und Ablaufanschlüsse (27, 28) für eine Kalibrierflüssigkeit zum Kalibrieren des Sensors (17) sowie einen durch eine Sollbruchstelle (30) verschlossenen Durchtritt (29) zum Aufnahmeraum (25) des Behälters (3) aufweist.
2. Reaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß an der Sollbruchstelle (30) der Meßkammer (26) eine Reißleine (31) angreift, die in einer gegenüber der Meßkammer (26) und/oder dem Behälter (3) abgedichteten Hülle (34) nach außen geführt ist.
3. Reaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß an die Zu- und Ablaufanschlüsse (27, 28) der Meßkammer (26) einerseits ein Vorratsbehälter (35) für die Kalibrierflüssigkeit und andererseits einen Ablaufbehälter (36) zur Aufnahme der Kalibrierflüssigkeit aus der Meßkammer (26) dicht angeschlossen sind.
4. Reaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Meßkammer (26) einerseits an einen Spülflüssigkeitsbehälter und andererseits an einen Leerbehälter für die Spülflüssigkeit angeschlossen ist.

Linz, am 18. Oktober 2006

Heinrich Frings GmbH & Co. KG
durch:



011094

FIG.2

