



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102947438 A

(43) 申请公布日 2013. 02. 27

(21) 申请号 201180023670. X

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

(22) 申请日 2011. 05. 11

代理人 陆弋 王伟

(30) 优先权数据

1007861.6 2010. 05. 11 GB

1007855.8 2010. 05. 11 GB

1007863.2 2010. 05. 11 GB

(51) Int. Cl.

C12M 1/14(2006. 01)

C12M 3/04(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 11. 12

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2011/057621 2011. 05. 11

(87) PCT申请的公布数据

W02011/141512 EN 2011. 11. 17

(71) 申请人 阿特利斯公司

地址 比利时布鲁塞尔

(72) 发明人 迪迪耶·卡勒兰嘉博 朱利安·卡登

何塞·安东尼奥·卡斯蒂略冈萨雷斯

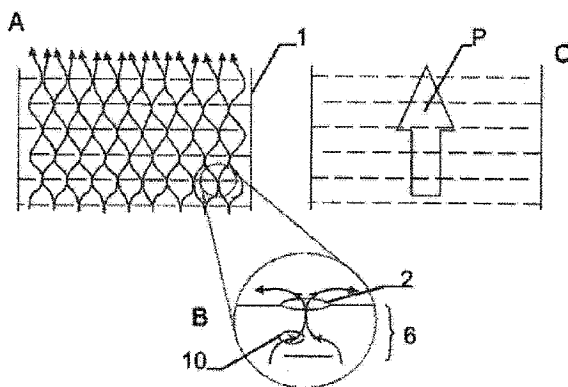
权利要求书 8 页 说明书 19 页 附图 14 页

(54) 发明名称

用于细胞培养的装置和方法

(57) 摘要

一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包含用于细胞(C)粘附和液体培养基(M)分配的载架(7)的堆叠体。所述载架(7)被堆叠,以便限定在相邻载架(7)之间的用于液体培养基(M)流动的层区(6)。相邻层区(6)经由空隙(2)而流体连通地互连,使得液体培养基(M)能够从一个层区(6)流向相邻层区(6)。第一层区与相邻的第二层区(6')之间的空隙(2)不与所述第二层区(6')与相邻的第三层区(6'')之间的一个或多个空隙(2)重叠。一个或多个载架也可以包括适合于阻止细胞粘附或生长的区域,从而允许从所述生物反应器外的有利位置来观察细胞在相邻载架上的生长。本发明还公开了相关的方法。



1. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括第一载架和第二载架(7),所述第一载架和第二载架各自具有允许流体培养基进入的至少一个入口,所述第一载架包括适合于细胞(C)粘附的第一部分,所述第二载架还包括适合于阻止细胞粘附的第二部分,由此,当所述第一部分与所述第二部分对齐时,所述第二载架的第二部分允许对所述第一载架的第一部分进行观察。

2. 根据权利要求1所述的生物反应器(1),其中,所述第一部分和第二部分包含所述载架(7)上的表面。

3. 根据权利要求1所述的生物反应器(1),其中,所述第二部分包括在所述第二载架与所述第一载架之间的透光材料。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的生物反应器(1),还包括用于容纳所述载架(7)的单个壳体。

5. 根据权利要求1至3中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)包含可堆叠的托架或立方盒体。

6. 根据权利要求1至3中任一项所述的生物反应器(1),还包括第三载架,所述第三载架具有适合于细胞粘附的第一部分以及适合与所述第二载架的第二部分对齐使用以阻止细胞粘附的第三部分。

7. 根据权利要求1至3中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述第二部分包含形成在所述载架中的开口。

8. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由多个载架(7)组成的堆叠体,位于所述多个载架中的第二载架上方的第一载架具有适合于阻止细胞粘附的区域,由此,所述第一载架的没有细胞粘附的该区域允许透过所述第一载架来观察所述第二载架上的细胞生长区域。

9. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由N个载架(7)组成的堆叠体,其中,第N-1个载架具有适合于阻止细胞粘附的至少一个区域,由此,所述第N-1个载架的该区域允许透过所述第N-1个载架来观察第N个载架上的细胞生长区域。

10. 根据权利要求9所述的生物反应器(1),其中,第N-2个载架具有适合于阻止细胞粘附的至少两个阻止区域,所述阻止区域中的第一个阻止区域允许观察所述第N-1个载架上的第一细胞生长区域,并且,所述阻止区域中的第二个阻止区域允许利用透过所述第N-1个载架的阻止区域的视线来观察所述第N个载架上的第二细胞生长区域。

11. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由N个载架(7)组成的堆叠体,其中,第N-M个载架具有适合于阻止细胞粘附的至少M个区域,由此,所述第N-M个载架的该区域允许透过所述第N-M个载架来观察第N个载架上的细胞生长区域。

12. 一种生物反应器(1),其包括由N个载架组成的堆叠体,并具有从外部有利位置通向第N-1个载架表面上的细胞生长区域的透光视线通路。

13. 根据权利要求12所述的生物反应器(1),还包括用于形成所述透光视线通路的透明材料(T)柱。

14. 一种生物反应器(1),其包括由多个载架(7)组成的堆叠体,并具有位于相邻载架之间的空间内的透光固体材料。

15. 一种生物反应器(1),其包括由多个载架(7)组成的竖直堆叠体,每个载架(7)均具

有用于接收流体培养基(M)的入口,并适合于允许透过一个载架的相邻载架而不是经由所述入口来观察该一个载架上的生长区域。

16. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由多个载架(7)组成的堆叠体,所述载架(7)彼此堆叠,从而在相邻载架(7)之间限定了用于液体培养基(M)从所述生物反应器(1)的入口(21)向出口(22)流动的层区(6),其中,相邻层区(6)经由两个或更多个空隙(2)而流体连通地互连,从而所述液体培养基(M)能够从一个层区(6)流到相邻的层区(6),其中,由第一载架提供的至少一个空隙与由相邻的第二载架提供的空隙(2)至少部分重叠,以产生基本不受阻挡的光路,用于观察第三载架上的生长区域。

17. 根据权利要求16所述的生物反应器,其中,所述载架(7)还包括位于第一层区和相邻的第二层区(6')之间的一个或多个空隙(2),当沿着主方向(P)投影时,位于所述第一层区和相邻的第二层区(6')之间的一个或多个空隙(2)不与位于所述第二层区(6')和相邻的第三层区(6'')之间的一个或多个空隙(2)重叠。

18. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由至少三个载架(7)组成的堆叠体,其中,第一载架提供了没有细胞粘附的至少三个空隙,并且,所述第一载架上的至少一个空隙与第二载架上的至少一个空隙对齐,以允许观察第三载架上的细胞生长区域。

19. 根据权利要求18所述的生物反应器(1),其中,所述第二载架包括至少两个空隙。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),还包括至少部分透明的侧壁。

21. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由多个用于细胞(C)粘附和液体培养基(M)分配的载架(7)组成的堆叠体,所述载架(7)在相邻载架(7)之间形成有用于所述液体培养基(M)流动的层区(6),其中,相邻层区(6)经由至少一个空隙(2)而流体连通地互连,从而所述液体培养基(M)能够从一个层区(6)流到相邻的层区(6),其中,位于第一层区和相邻的第二层区(6')之间的空隙(2)不与位于所述第二层区(6')和相邻的第三层区(6'')之间的空隙(2)重叠。

22. 根据权利要求21所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)形成在所述载架(7)中,并且彼此沿主方向(P)不重叠。

23. 根据权利要求21或22所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)中的至少一个由单个板或膜提供,其中所述空隙(2)是所述单个板或膜中的孔口。

24. 根据权利要求23所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)中的每一个均由包括一个或多个孔口的单个板和/或膜提供。

25. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)中的至少一个由通过所述空隙(2)横向隔开的一组板(8)或膜(8)提供。

26. 根据权利要求21至25中任一项所述的生物反应器,其中,所述空隙(2)包含所述载架中的沟槽。

27. 根据权利要求21至26中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)中的空隙(2)是对称的。

28. 根据权利要求21至26中任一项所述的生物反应器(1),其中,在至少一个所述载架(7)中,所述空隙(2)所占的总表面积随着距所述载架(7)几何中心的径向距离的增加而更快速地增加。

29. 根据权利要求21至28中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)中的至

少一个随着距所述载架(7)几何中心的径向距离的增加而变得更宽。

30. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述堆叠体中包含的载架(7)的数量为5至500个。

31. 根据权利要求21至30中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一个载架(7)的所述空隙(2)所占的总表面积与该载架(7)的实心部分所占的总表面积之间的比率为该载架的面积1%至10%。

32. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)的至少一部分在与主方向(P)成不垂直角度的方向上定向,该部分包括至少一个空隙(2)。

33. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)被定向成具有与所述生物反应器(1)中的液体培养基流动的主方向(P)成不垂直角度的主表面。

34. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)是圆锥形的。

35. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)包括设有至少一个侧脊(10)的至少一个侧边缘(18),第一载架(7)的侧脊(10)和相邻的第二载架(7)的侧脊(10)限定了所述载架(7)之间在所述侧边缘(18)处的相互距离。

36. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),其中,在相邻载架(7)之间限定的所述层区(6)在所述载架(7)的侧边缘(18)处被气密地封闭。

37. 根据权利要求36所述的生物反应器(1),其中,聚合物材料提供了所述层区(6)的封闭。

38. 根据权利要求37所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)的侧边缘包括从所述边缘向外凸出并埋设在所述聚合物材料中的脊(19)。

39. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),还包括至少一个循环机构(9),所述循环机构(9)用于驱动所述液体培养基(M)在所述生物反应器(1)内的流动。

40. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),还包括与由载架(7)组成的所述堆叠体分开的至少一个流体通道(5),所述流体通道提供了位于由载架(7)组成的所述堆叠体的第一末端处的第一载架(7)与位于由载架(7)组成的所述堆叠体的第二末端处的第二载架(7)之间的流体连通,由此为所述液体培养基(M)提供了循环系统。

41. 根据权利要求40所述的生物反应器,其中,所述流体通道(5)与由载架(7)组成的所述堆叠体是同心的,并且位于由载架(7)组成的所述堆叠体的内部或外部。

42. 根据权利要求41所述的生物反应器(1),其中,所述流体通道(5)是位于由载架(7)组成的所述堆叠体内部的中心柱。

43. 根据权利要求40至42中任一项所述的生物反应器(1),还包括上部空腔和下部空腔,所述上部空腔和下部空腔分别与由载架(7)组成的所述堆叠体的第一末端和第二末端相邻,并且彼此流体连通且与所述流体通道(5)流体连通。

44. 根据权利要求43所述的生物反应器(1),还包括通向所述上部空腔(4)和/或下部空腔(3)的入流端口/出流端口。

45. 根据权利要求43或44所述的生物反应器(1),其中,在所述下部空腔(3)中存在至少一个入流端口(21),在所述上部空腔(4)中存在至少一个出流端口(22),并且,在所述入

流端口(21)与出流端口(22)之间联接有外部循环机构。

46. 根据权利要求 21 至 45 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)的形状和尺寸允许 0.05mm 直径的硬质球形物体通过。

47. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器,还包括探针(23),用于测量所述液体培养基(M)的参数。

48. 根据权利要求 47 所述的生物反应器,还包括与所述探针(23)相连的控制器,所述控制器根据由所述控制器从所述探针(23)接收到的输入来改变所述参数。

49. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器,其中,在所述堆叠体中交替的载架交替地具有中央空隙和外周空隙。

50. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由用于细胞(C)粘附和液体培养基(M)分配的多个载架(7)组成的堆叠体,所述堆叠体中的每一对相邻载架彼此隔开,从而在相邻载架(7)之间限定了用于所述液体培养基(M)流动的层区(6),其中,相邻层区(6)经由所述相邻层区(6)共用的载架(7)中的多个空隙(2)而流体连通地互连,从而所述液体培养基(M)能够在所述相邻层区(6)之间流动,其中,单个载架(7)中的所述空隙(2)的宽度(W)比将该载架与相邻载架(7)隔开的平均距离(H)小至少 5 倍。

51. 根据权利要求 50 所述的生物反应器(1),其中,第一载架(7)中的所述空隙(2)不与相邻的第二载架(7)中的所述空隙(2)重叠。

52. 根据权利要求 50 或 51 所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)由单个板或膜提供,其中,所述一个或多个空隙(2)是所述单个板或膜中的孔口。

53. 根据权利要求 51 所述的生物反应器(1),其中,每个所述载架(7)均由包括一个或多个孔口的单个板和 / 或膜提供。

54. 根据权利要求 51 至 53 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)的长度与宽度的比率为 1 至 4。

55. 根据权利要求 51 至 54 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)是圆形的。

56. 根据权利要求 51 至 55 中任一项所述的生物反应器(1),其中,在所述载架的整个表面上,所述载架的每单位面积中的所述空隙(2)的数量是恒定的。

57. 根据权利要求 51 至 56 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)包含所述载架中的沟槽。

58. 根据权利要求 51 至 57 中任一项所述的生物反应器(1),其中,载架(7)中的所述空隙(2)以相对于中心旋转对称的方式布置。

59. 根据权利要求 51 至 58 中任一项所述的生物反应器(1),其中,在至少一个所述载架(7)中,所述空隙(2)所占的总表面积随着距所述载架(7)几何中心的径向距离的增加而更快速地增加。

60. 根据权利要求 51 至 59 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)中的至少一个随着距所述载架(7)几何中心的径向距离的增加而变得更宽。

61. 根据权利要求 51 至 60 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述堆叠体中包含的载架(7)的数量为 5 至 500 个。

62. 根据权利要求 51 至 61 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架由实心载

架和所述空隙构成,并且其中,在至少一个载架、优选在每个载架中,所述空隙所占的总表面积与所述实心载架所占的总表面积之间的比率为 1% 至 20%。

63. 根据权利要求 51 至 62 中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)的至少一部分在与主方向(P)成不垂直角度的方向上定向,该部分包括至少一个空隙(2)。

64. 根据权利要求 51 至 63 中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一些所述载架(7)具有与所述主方向(P)成不垂直角度的主表面。

65. 根据权利要求 51 至 64 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)是圆锥形的。

66. 根据权利要求 51 至 65 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述距离(H)是固定距离(H)。

67. 根据权利要求 51 至 66 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述距离(H)为 0.5 至 10mm。

68. 根据权利要求 51 至 67 中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一些所述载架(7)包括设有至少一个侧脊(10)的至少一个侧边缘(18),第一载架(7)的侧脊(10)和相邻的第二载架(7)的侧脊(10)限定了所述载架(7)之间在所述侧边缘(18)处的相互距离。

69. 根据权利要求 51 至 68 中任一项所述的生物反应器(1),其中,在相邻载架(7)之间限定的所述层区(6)在所述载架(7)的侧边缘(18)处被气密地封闭。

70. 根据权利要求 69 所述的生物反应器(1),其中,聚合物材料提供了所述层区(6)的封闭。

71. 根据权利要求 70 所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)的侧边缘包括从所述边缘向外凸出并埋设在所述聚合物材料中的脊(19)。

72. 根据权利要求 51 至 71 中任一项所述的生物反应器(1),还包括至少一个循环机构(9),所述循环机构(9)用于驱动所述液体培养基(M)在所述生物反应器(1)内的流动。

73. 根据权利要求 51 至 72 中任一项所述的生物反应器(1),还包括与由载架(7)组成的所述堆叠体分开的至少一个流体通道(5),所述流体通道提供了位于由载架(7)组成的所述堆叠体的第一末端处的第一载架(7)与位于由载架(7)组成的所述堆叠体的第二末端处的第二载架(7)之间的流体连通,由此为所述液体培养基(M)提供了循环系统。

74. 根据权利要求 73 所述的生物反应器,其中,所述流体通道(5)与由载架(7)组成的所述堆叠体是同心的,并且位于由载架(7)组成的所述堆叠体的内部或外部。

75. 根据权利要求 74 所述的生物反应器(1),其中,所述流体通道(5)是位于由载架(7)组成的所述堆叠体内部的中心柱。

76. 根据权利要求 73 至 75 中任一项所述的生物反应器(1),还包括上部空腔和下部空腔,所述上部空腔和下部空腔分别与由载架(7)组成的所述堆叠体的第一末端和第二末端相邻,并且彼此流体连通且与所述流体通道(5)流体连通。

77. 根据权利要求 76 所述的生物反应器(1),还包括通向所述上部空腔(4)和/或下部空腔(3)的入流端口/出流端口。

78. 根据权利要求 76 或 77 所述的生物反应器(1),其中,在所述下部空腔(3)中存在至少一个入流端口(21),在所述上部空腔(4)中存在至少一个出流端口(22),并且,在所述入

流端口(21)与出流端口(22)之间联接有外部循环机构。

79. 根据权利要求51至78中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)的形状和尺寸允许0.05mm直径的硬质球形物体通过。

80. 根据权利要求51至79中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙具有0.05mm至2mm的宽度。

81. 根据权利要求51至79中任一项所述的生物反应器,还包括探针(23),用于测量所述液体培养基(M)的参数。

82. 根据权利要求81所述的生物反应器(1),还包括与所述探针(23)相连的控制器,所述控制器根据由所述控制器从所述探针(23)接收到的输入来改变所述参数。

83. 一种用于细胞(C)培养的生物反应器(1),其包括由用于细胞(C)粘附的多个载架(7)组成的堆叠体,所述载架(7)包括位于所述堆叠体的第一末端处的第一载架和位于所述堆叠体的第二末端处的第二载架(7),从而在相邻载架(7)之间限定了用于液体培养基(M)流动的层区(6),其中,相邻层区(6)流体连通地互连,从而所述液体培养基(M)能够从一个层区(6)流到相邻的层区(6),其中,所述生物反应器还包括与所述堆叠体分开并与所述堆叠体同心的至少一个流体通道,所述流体通道提供了所述第一载架(7)和所述第二载架(7)之间的流体连通,由此为所述液体培养基(M)提供了循环系统,其中,所述流体通道(5)位于由载架(7)组成的所述堆叠体的内部或外部。

84. 根据权利要求83所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)由单个板或膜提供。

85. 根据权利要求84所述的生物反应器(1),其中,每个所述载架(7)均由单个板和/或膜提供。

86. 根据权利要求83所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)由通过一个或多个空隙(2)横向隔开的一组板(8)和/或膜(8)提供,所述空隙(2)提供了相邻层区(6)之间的流体互通。

87. 根据权利要求83所述的生物反应器(1),其中,相邻层区经由一个或多个空隙(2)而流体连通地互连,其中,位于第一层区和相邻的第二层区(6')之间的所述一个或多个空隙(2)不与位于所述第二层区(6')和相邻的第三层区(6'')之间的一个或多个空隙(2)重叠。

88. 根据权利要求86或87所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)形成在所述载架(7)中。

89. 根据权利要求87或88所述的生物反应器,其中,所述一个或多个空隙(2)是所述载架中的孔口。

90. 根据权利要求87至89中任一项所述的生物反应器,其中,所述空隙(2)包含所述载架中的沟槽。

91. 根据权利要求87至90中任一项所述的生物反应器(1),其中,载架(7)中的所述空隙(2)以相对于中心旋转对称的方式布置。

92. 根据权利要求87至91中任一项所述的生物反应器(1),其中,在至少一个所述载架(7)中,所述空隙(2)所占的总表面积随着距所述载架(7)几何中心的径向距离的增加而更快速地增加。

93. 根据权利要求 87 至 92 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)中的至少一个随着距所述载架(7)几何中心的径向距离的增加而变得更宽。

94. 根据权利要求 83 至 93 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述堆叠体中包含的载架(7)的数量为 5 至 500 个。

95. 根据权利要求 83 至 94 中任一项所述的生物反应器(1),其中,在至少一个载架、优选在每个载架中,所述空隙所占的总表面积为所述载架的面积 的 1% 至 10%。

96. 根据权利要求 83 至 95 中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)的至少一部分在与主方向(P)成不垂直角度的方向上定向。

97. 根据权利要求 96 所述的生物反应器(1),其中,所述部分包含围绕所述至少一个空隙(2)的外周。

98. 根据权利要求 83 至 97 中任一项所述的生物反应器(1),其中,至少一个所述载架(7)具有以与主方向(P)成不垂直角度的方向定向的主表面。

99. 根据权利要求 83 至 98 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)是圆锥形的。

100. 根据权利要求 83 至 99 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)包括设有至少一个侧脊(10)的至少一个侧边缘(18),第一载架(7)的侧脊(10)和相邻的第二载架(7)的侧脊(10)限定了所述载架(7)之间在所述侧边缘(18)处的相互距离。

101. 根据权利要求 100 所述的生物反应器(1),其中,在相邻载架(7)之间限定的所述层区(6)在所述载架(7)的侧边缘(18)处被气密地封闭。

102. 根据权利要求 101 所述的生物反应器(1),其中,聚合物材料形成了所述层区(6)的封闭。

103. 根据权利要求 102 所述的生物反应器(1),其中,所述载架(7)的侧边缘包括从所述边缘向外凸出并埋设在所述聚合物材料中的脊(19)。

104. 根据权利要求 83 至 103 中任一项所述的生物反应器(1),还包括至少一个循环机构(9),所述循环机构(9)用于驱动所述液体培养基(M)在所述生物反应器(1)内的流动。

105. 根据权利要求 83 至 104 中任一项所述的生物反应器(1),其中,所述流体通道(5)是位于由载架(7)组成的所述堆叠体内部的中心柱。

106. 根据权利要求 83 至 105 中任一项所述的生物反应器(1),还包括上部空腔和下部空腔,所述上部空腔和下部空腔分别与由载架(7)组成的所述堆叠体的第一末端和第二末端相邻,并且彼此流体连通且与所述流体通道(5)流体连通。

107. 根据权利要求 106 所述的生物反应器(1),还包括通向所述上部空腔(4)和/或下部空腔(3)的入流端口/出流端口。

108. 根据权利要求 107 所述的生物反应器(1),其中,在所述下部空腔(3)中存在至少一个入流端口(21),在所述上部空腔(4)中存在至少一个出流端口(22),并且,在所述入流端口(21)与出流端口(22)之间联接有外部循环机构。

109. 根据权利要求 83 所述的生物反应器(1),其中,所述空隙(2)的形状和尺寸允许 0.05mm 直径的硬质球形物体通过。

110. 根据权利要求 83 至 109 中任一项所述的生物反应器,还包括探针(23),用于测量所述液体培养基(M)的参数。

111. 根据权利要求 110 所述的生物反应器,还包括与所述探针(23)相连的控制器,所述控制器根据由所述控制器从所述探针(23)接收到的输入来改变所述参数。

112. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),还包括细胞。

113. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1),还包括过滤器。

114. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1)在干细胞或原代细胞培养中的应用。

115. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1)在哺乳动物细胞、昆虫细胞、鱼类细胞或植物细胞培养中的应用。

116. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1)在病毒生产中的应用,所述病毒用于获得人类疫苗和动物疫苗。

117. 根据前述权利要求中任一项所述的生物反应器(1)在蛋白质或抗体生产中的应用。

118. 一种在细胞培养中使用的生物反应器(1)所用的载架(7),所述载架的表面具有适合于细胞粘附的区域和适合于阻止细胞粘附的区域。

119. 根据权利要求 118 所述的载架,其中,用于阻止细胞粘附的所述表面附有一片透明材料(T)。

120. 根据权利要求 118 所述的载架,其中,用于阻止细胞粘附的所述表面是疏水性的。

121. 一种生物反应器,其包括至少一个根据权利要求 118 至 120 中任一项所述的载架。

122. 一种生物反应器,其包括多个根据权利要求 118 至 120 中任一项所述的载架。

用于细胞培养的装置和方法

技术领域

[0001] 本公开涉及一种用于细胞培养的装置、所述装置的制造和操作方法、以及所述装置用于贴壁细胞培养、干细胞或原代细胞培养、哺乳动物细胞培养和用于生产抗体或病毒(例如用于人类和 / 或动物治疗或疫苗的抗体或病毒)的应用。

背景技术

[0002] 商业上相关的真核细胞的细胞培养可以分成两类:细胞系和原代细胞或干细胞。细胞系适合于疫苗(病毒)和蛋白质例如抗体的制备。这样的细胞被用作生物反应器,因此所述细胞只是宿主。细胞可以被遗传工程改造:人们在细胞中导入基因序列,人们希望细胞生产这些基因序列的基因产物。这类细胞可以在固定床生物反应器例如 W02007/039600A 中公开的固定床生物反应器中生长,所述专利申请的公开内容在此引为参考。在涉及干细胞时,细胞本身可以被收获,因此也是产品。该产品可用于例如再生医学和组织工程。

[0003] 实验显示,某些细胞类型例如干细胞的培养比细胞系的培养精细得多,这是由几种因素造成的。细胞被证明对机械胁迫和其他外部影响非常敏感。在细胞系的生产中使用的用于扩增细胞和从生物反应器收获细胞两者的典型程序往往不适用于干细胞;它们容易损伤或杀死所有干细胞。

[0004] 目前,干细胞典型地在静置条件下、在置于培养箱中的组织培养瓶中生长。为清楚起见,“培养瓶”是指所有静置的培养装置,例如 T 瓶、皮氏培养皿、细胞工厂细胞培养室(Cell Factories Cell stacks)等。滚瓶也与培养瓶相关联。这些静置培养瓶设有用于气体交换的过滤器。培养箱包含多个 T 瓶,每个 T 瓶在提供足够营养物后构成了适合于细胞培养的基材。这样的系统具有的缺点是就每单位体积的可用表面而言效率非常低。此外,细胞生长的准备耗费时间:通过插入包含待生长的细胞和营养物的专用液体(例如分散体、或悬液等)来填充 T 瓶,然后将 T 瓶上下颠倒一次或大于一次以使细胞分布在可用层区上。此外,对于每个批次 / 每位患者来说,根据为生产治疗所需的足够细胞量所要求的 T 瓶的数量,这种操作需要重复几次。

[0005] 因此,认识到需要一种能够解决上述这种装置等的局限性的装置。

发明内容

[0006] 因此,本发明的目的是提供一种可选的生物反应器。本发明实施方案的优点包括:它们允许成本效率更高地培养细胞、特别是干细胞和 / 或原代细胞,同时仍允许细胞附着于表面,和 / 或在两个维度上提供良好生长,和 / 或允许以所需的质量水平收获细胞。

[0007] 本发明的目的通过本发明第一方面的实施方案得以满足。在本发明的第一方面中,提供了一种用于细胞培养的生物反应器。

[0008] 在第一方面的实施方案中,本公开涉及用于细胞培养的装置。所述装置包含多个用于细胞粘附和液体培养基分配的载架(carrier)。所述载架彼此堆叠,从而在相邻载架之间限定了用于液体培养基流动的层区(level)。这些层区经由所述载架中的一个或多个空

隙而流体连通地互连,使得液体培养基能够从一个层区向相邻层区流动。第一层区和与第一层区相邻的第二层区之间的一个或多个空隙彼此不重叠。

[0009] 在第一方面的实施方案中,本公开涉及用于细胞培养的生物反应器,其包含由板或膜形式的载架组成的堆叠体,所述载架具有用于细胞粘附并且液体培养基可以沿着其进行分配的表面。所述载架限定了在相邻表面之间的用于液体培养基流动(layer),其中所述层区通过每个表面中的一个或多个空隙互连,使得液体培养基能够从一个层区向相邻层区流动。第一载架中的一个或多个空隙,当垂直投影在相邻的第二载架上时,不与所述第二载架中的一个或多个空隙重叠。换句话说,当在第二载架中的第二空隙上的垂直投影中观察第一载架中的第一空隙时,在单个层区的相对侧上的第一和第二载架中的第一空隙是相互横向或旋转错位的。优选地,被限定在相邻载架之间的层区在所述载架的侧边缘处气密封闭。这迫使液体培养基使用载架内的空隙从一个层区去往相邻层区。

[0010] 所述堆叠体的顶部和/或底部载架尽管不为相邻层区所共用,但仍可以具有本公开的第一方面的任何实施方案的任何特征。例如,这些载架中可以具有多个空隙,使得液体培养基能够流过顶部或底部载架(以进入或离开堆叠体)。在底部载架的情形中,相邻载架位于其上方,而在顶部载架的情形中,相邻载架位于其下方。在顶部或底部载架之外的任何其他载架的情形中,相邻载架是下方或上方的载架。优选情况下,它是在驱动机构所施加的流动方向上的下一个载架(并且最优选情况下,是上方的载架)。

[0011] 在实施方案中,至少一个载架可以由单个实心载架(例如板或膜)提供,其中一个或多个空隙是所述实心载架中的孔口。载架优选由板或膜提供。板或膜可以是无孔或有孔的(其中孔小于 0.05mm,使得通过所述材料的流动是以通过所述空隙(例如圆形孔口)的流动为主而不是以通过所述孔的流动为主),并且优选包含刚性板。可选地,载架至少可以在远离互连空隙的区域中是无孔的。

[0012] 可选地,可以使用大孔材料,只要通过所述材料的流动是以通过所述孔口的流动为主而不是通过所述孔的流动为主即可。例如,可以使用不可渗透的织物。也可以使用塑料材料,例如刚性聚苯乙烯板。

[0013] 在实施方案中,至少一个载架可以由被一个或多个空隙横向隔开的一组实心载架(例如板和/或膜)提供。在一组实心载架被一个或多个空隙横向隔开的情形中,所述实心载架全都在同一平面中(如果载架垂直于主方向的话),或者全都是同一圆锥形或角锥形表面的一部分(如果载架以不垂直于主方向的方向定向的话)。载架中的空隙起到了使相邻层区之间流体连通地互连的作用。在实施方案中,在每个载架中,所述空隙所占的总表面积与实心载架所占的总面积之间的比率可以在 1% 至 20%、优选 1% 至 15%、更优选 1% 至 10% 的范围内。由该总表面积所表示的载架区域部分优选保持尽可能小,以便可用于携带细胞的表面保持尽可能大。然而,足以确保每个细胞的良好氧合和营养物供应的足够高和足够均匀的液体培养基流动,要求该载架区域部分足够大。本公开的实施方案可以同时满足所述细胞载架区域要求和氧合/营养物要求两者。

[0014] 在实施方案中,空隙可以具有 1 至 4、优选 1 至 2 的纵横比(长度与宽度的比率)。

[0015] 在实施方案中,空隙可以是圆形的。

[0016] 在实施方案中,不依赖于空隙的形状,空隙的宽度可以为 0.05mm 或更大、0.1mm 或更大、0.2mm 或更大、0.5mm 或更大、2mm 或更小、1mm 或更小、0.5mm 或更小。大于 0.05mm 的

尺寸是优选的,以允许细胞通过。

[0017] 在实施方案中,不依赖于空隙的尺寸和形状,层状载架的每单位面积的空隙数量优选使得用于流体连通地互连的所有空隙所占的表面积与用于细胞粘附的实心载架的表面积之间的比率优选为 20% 或更小,更优选为 15% 或更小,最优选为 10% 或更小。优选情况下,它为 1% 或更大。

[0018] 在实施方案中,层状载架的每单位面积的空隙数量在所述层状载架的整个表面上可以是恒定的。空隙(孔洞)的密度可以是例如 0.001 至 100 个空隙 /mm²、0.03 至 60 个空隙 /mm² 或 0.1 至 10 个空隙 /mm²。

[0019] 在一个实施方案中,在第一层状载架中存在多个空隙,并且每个这些空隙具体体现为穿透所述层状载架(例如板或膜)的圆形孔洞,其直径小于第一层状载架的直径的 1/10,优选小于 1/50,更优选小于 1/100,最优选小于 1/1000。在该实施方案中,每块板的空隙数量可以为例如 2 个空隙至 4x10⁷ 个空隙、10 个空隙至 10⁷ 个空隙、100 个空隙至 10⁶ 个空隙、1000 个空隙至 10⁵ 个空隙或 5000 个空隙至 20000 个空隙。当然,空隙的数量高度依赖于层状载架的尺寸。因此在该实施方案中,每个层状载架的空隙数量在适合情况下超过 25 个,优选超过 50 个,更优选至少 100 个,最优选至少 1000 个。空隙的直径优选为 0.05mm 至 2mm,更优选为 0.1mm 至 1mm,还更优选为 0.2mm 至 0.5mm。这允许细胞通过。

[0020] 在另一个实施方案中,空隙是沟槽形状的。每个载架的沟槽形状的空隙的数量优选为 1 至 30 个,更优选为 2 至 20 个,更优选为 4 至 25 个,还更优选为 8 至 20 个,甚至更优选为 12 至 18 个(例如 16 个)。如果每个载架的沟槽形状的空隙的数量为 n,则两个相邻载架的空隙通过旋转 1/2n 圈而相互错位。

[0021] 沟槽的宽度优选为 0.05mm 至 2mm,更优选为 0.05mm 至 0.5mm,甚至更优选为 0.05mm 至 0.1mm,以允许细胞通过。在沟槽从层状载架的中心向边缘变宽的情形中,沟槽的较大部分优选具有 0.05mm 至 1mm、更优选 0.05mm 至 0.5mm、甚至更优选 0.05mm 至 0.1mm 的宽度。

[0022] 在实施方案中,不依赖于空隙的形状,空隙的最小维度可以为 0.05mm,优选为 0.1mm,更优选为 0.5mm,最优选为 1mm。

[0023] 在实施方案中,空隙具有允许直径为 0.05mm、优选直径为 0.1mm、更优选直径为 0.5mm、最优选直径为 1mm 的球形物体通过的形状和尺寸。

[0024] 优选情况下,这样的沟槽形状的空隙在板或膜的主表面的中心与边缘之间的主要部分(例如,在圆形载架的情形中为半径的主要部分)上延伸。参考图 15(其中载架包含被空隙横向隔开的一组实心载架),显示了其中沟槽形状的空隙在载架的中心与边缘之间的整个部分上延伸的实施方案。沟槽的优点在于它们在将液体培养基均等地分配到载架的基本上所有位点的过程中更加有效。圆形孔洞由于其不连续的性质,分配液体流的均匀性较低。在实施方案中,沟槽形状的空隙可以被细分成一系列沟槽形状的沟,其提高了载架的刚性。

[0025] 例如,载架上可以存在脊,所述脊桥接被沟槽隔开的载架或同一载架上被沟槽隔开的部分。这样的桥接脊提高了载架的刚性,从而提高了整个装置的刚性。这样的桥接脊优选不贯穿空隙。此外,本公开的生物反应器的体系结构优选不阻挠细胞的收获。根据本发明的实施方案,空隙被设计成适合于培养基和细胞的流动。换句话说,空隙也被预期在收

获期间使用,而不仅仅用于循环目的。

[0026] 在实施方案中,空隙的最小维度为 0.05mm,优选为 0.1mm,更优选为 0.5mm,最优选为 1mm。这允许细胞通过而不损伤它们。

[0027] 在实施方案中,至少一个空隙随着距载架几何中心的径向距离的增加而变得更宽。这在沟槽的情形中是特别有利的。这帮助使整个载架表面上的流速变得均衡。

[0028] 在实施方案中,载架中的空隙可以旋转对称地位于中心周围。其优点在于它提供了培养基在单个层区上的均匀分配。此外,如果载架的形状是圆形的,则载架的堆叠得到简化,因为堆叠体中的水平旋转绝不会导致载架边缘伸出堆叠体。使用其他载架形状例如椭圆或矩形形状时情况不是如此。然而,不排除这样的其他形状。

[0029] 在实施方案中,载架的表面积(包括载架中的空隙所占的表面)可以为 50cm² 至 1m²,优选为 75cm² 至 0.8m²。

[0030] 例如,在载架是圆形的实施方案中,它们的直径可以为 10 至 100cm。

[0031] 载架的厚度优选尽可能薄,以允许在尽可能小的体积中有较多数量的载架。例如,可以使用厚度为 0.4 至 2mm 或 0.6 至 1mm 的载架。

[0032] 在实施方案中,在至少一个载架中,空隙所占的总表面积随着距载架几何中心的径向距离的增加而更快速地增加。这是有利的,因为它减少了接近载架几何中心的细胞和离载架几何中心更远的细胞所经历的流速的差值。这允许进行优化,使得在距载架几何中心的每种距离处流速可以基本上相等。优选情况下,空隙的表面积以及空隙的设计和 / 或分布使得空隙的总表面积随着距中心的径向距离的增加而增加。这被证明提高了整个生物反应器中流速的均匀性。明确观察到这种增加的总表面积可以通过增加单个空隙的宽度来获得。可选地或此外,这可以通过增加空隙的数量来获得。表面积的增加可以是连续的,或者可以是不连续的,例如分段的。在生物反应器具有优选的圆柱体形状的情形中,总表面积的增加将不依赖于空隙的位置或相位。在生物反应器具有其他形状,例如具有与主方向垂直的椭圆或矩形横截面的情形中,在离中心的不同方向上,表面积的增加可能不同。

[0033] 在实施方案中,在至少一个板或膜中,空隙所占的总表面积随着距载架几何中心的径向距离的增加而更快速地增加,其增加的方式使得在距载架几何中心的每种距离处流速基本上相等。

[0034] 在所有实施方案中,第一载架中的一个或多个空隙,当垂直投影在相邻的第二载架上时,不与所述第二载架中的一个或多个空隙重叠。这是有利的,因为这防止液体培养基在相邻层区之间以直线移动,并迫使至少一些液体培养基在能够到达相邻层区(典型地为相邻的上部层区)之前在层区内横向流动。尽管液体培养基的总体流动是沿着主方向(例如,液体总体上可以从载架堆叠体的底部向上移动到堆叠体的顶部),但液体培养基在层区内(例如横向)流动所耗费的时间比(例如竖直)流过相邻层区所耗费的时间多。这能够使液体培养基到达载架每个表面的所有区域,因此允许在生物反应器中的任何位点都具有基本上相同的流动。

[0035] 换句话说,当在第二载架上的垂直投影中观察第一载架中的第一空隙时,在单个层区的相对侧上的第一和第二载架中的第一空隙是相互旋转或横向错位的。利用这样的旋转或横向错位,避免了一组空隙限定了延伸过几个层区的柱状通道的风险。在其实施中,第一载架中的至少一个空隙设有在下部和上部角之间的第一相位,所述相位被定义为围绕层

区中心的相位或取向。第二载架中的空隙设有在下部和上部角之间的第二相位,其中所述第一相位不与所述第二相位重叠。

[0036] 第一方面的实施方案涉及用于细胞培养的生物反应器,其包含用于细胞粘附和液体培养基分配的层状载架的堆叠体,所述层状载架在主方向上堆叠,在所述堆叠体内的每对相邻层状载架彼此被一定的平均距离隔开,以便限定在所述相邻层状载架之间的用于所述液体培养基流动的层区,其中,相邻层区经由所述相邻层区共用的层状载架中的多个空隙流体连通地互连,使得所述液体培养基能够在所述相邻层区之间流动,其中层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选小至少 10 倍的宽度,并且其中所述宽度至少为 0.05mm。已经令人吃惊地观察到,当空隙具有比所述平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度时,即使在第一层状载架的空隙被垂直投影在第二层状载架的空隙上时发生重叠的情形中,液体培养基也不在相邻层区之间以直线移动,并且至少一些液体培养基在能够到达相邻层区(典型地为相邻的上部层区)之前在层区内横向流动。尽管液体培养基的总体流动是沿着主方向(例如,液体总体上可以从层状载架堆叠体的底部向上移动到层状载架堆叠体的顶部),但液体培养基在层区内(例如横向)流动所耗费的时间比(例如竖直)流过相邻层区所耗费的时间多。这能够使液体培养基到达层状载架每个表面的所有区域,因此允许在生物反应器中的任何位点都具有基本上相同的流动。

[0037] 在层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度,并且所述宽度至少为 0.05mm 的实施方案中,空隙可以具有 1 至 4、优选 1 至 2 的纵横比(长度与宽度的比率)。

[0038] 在层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度,并且所述宽度至少为 0.05mm 的实施方案中,空隙可以是圆形的。

[0039] 在层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度,并且所述宽度至少为 0.05mm 的实施方案中,不依赖于空隙的形状,空隙的宽度可以为 0.05mm 或更大、0.1mm 或更大、0.2mm 或更大、0.5mm 或更大、2mm 或更小、1mm 或更小、0.5mm 或更小。大于 0.05mm 的尺寸是优选的,以允许细胞通过。

[0040] 在实施方案中,其中层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度,并且其中所述宽度至少为 0.05mm。

[0041] 必须指出,堆叠体的顶部和 / 或底部层状载架尽管不为相邻层区所共用,但仍可以具有本发明的第一方面的任何实施方案的任何特征。例如,它们中可以具有多个空隙,使得所述液体培养基能够流过所述顶部或底部层状载架(以进入或离开层的堆叠体),其中层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度,并且其中所述宽度至少为 0.05mm。在底部层状载架的情形中,相邻层状载架位于其上方,而在顶部层状载架的情形中,相邻层状载架位于其下方。在顶部或底部层状载架之外的任何其他层状载架的情形中,相邻层状载架是下方或上方的层状载架。优选情况下,它是在驱动机构所施加的流动方向上的下一个层状载架。优选情况下,它是上方的层状载架。

[0042] 在载架堆叠体内,层状载架优选彼此平行。在这种情况下,平均距离是固定的距

离。

[0043] 两个层状载架之间的平均或固定距离优选为 0.5 至 10mm, 优选为 1 至 5mm, 更优选为 1 至 3mm, 甚至更优选为 1.2 至 2mm。该实施方案具有使得能够在如此小的层区间距离的情况下生存(对于细胞来说)的优点。在静置细胞培养装置中, 如此小的层区间距离将不允许细胞上方存在足够空间来允许细胞充分氧合。此外, 在层状载架中存在多个空隙, 其中所述空隙具有比所述平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度, 这使得能够通过减少液体培养基从层状载架堆叠体的底部移动到顶部所需的时间并同时减少细胞所经历的液体流动来利用如此小的层区间距离。

[0044] 在其他实施方案中, 空隙的最小维度为两个载架之间的距离的至少十分之一, 优选至少五分之一。

[0045] 在层状载架中的所述空隙具有比将所述层状载架与相邻层状载架隔开的平均距离小至少 5 倍、优选至少 10 倍的宽度, 并且所述宽度至少为 0.05mm 的其他实施方案中, 空隙的最小维度为两个载架之间的距离的至少十分之一, 优选至少五分之一。

[0046] 在其他实施方案中, 至少一些载架具有至少一个设有至少一个脊的侧边缘, 第一载架和第二相邻载架的脊限定了载架之间在所述侧边缘处的相互距离。这种排列提供了结构稳定性。脊可以在所述侧边缘的第一(例如顶部)侧面和 / 或第二(例如底部)侧面上延伸。脊可以是沿着侧边缘连续的。可选地, 脊可以是区段形状的, 并相互隔开一定空间。相邻载架的区段形状的脊可以延伸到这样的空间中。这允许限定相互的固定位置。换句话说, 在每个载架的边缘处可以存在用于板定位的公切口和母切口。脊也可以从边缘向外凸出。

[0047] 在实施方案中, 被限定在相邻载架之间的层区在载架的侧边缘处封闭。载架侧边缘的封闭将导致限定了生物反应器的侧向外表面。在一个实施方案中, 利用限定了柱状通道的侧壁的机械连接件来进行堆叠。这些机械连接件可以固定堆叠体中每个载架的取向, 但是可选地可以为每个载架的独立旋转留下自由度。显然, 决不排除通过例如模制方法将包含柱状通道的载架堆叠体作为整体制造, 和 / 或使用胶粘性或机械固定件(螺丝等)来固定堆叠体的一部分。然而, 载架的分开制造具有使堆叠体变得模块化以便根据所预期的用途和所需条件将其制造得更大或更短的优点。

[0048] 优选情况下, 使用脊来提供封闭。层区的封闭可以通过将脊(例如从边缘向外凸出的脊)与聚合物材料连接来获得。这样的聚合物材料包括胶粘剂、树脂等。聚合物材料可以作为液体或片状材料施加, 然后进行处理例如干燥、交联, 或者可以首先将其熔化, 然后让其冷却下来并固化。可选地, 可以通过例如嵌件模压法或传递模塑法将聚合物材料模制成所需形状。

[0049] 载架堆叠体可以包含限定了 5 至 500 个层区的 5 至 500 个载架。由于两个相邻载架限定一个层区, 因此层区的数量通常为载架数量减去 1。然而, 堆叠体的顶部载架通常也可用于细胞培养, 这意味着载架数量可以等于层区数量。

[0050] 一个生物反应器内的层区和 / 或载架的数量例如在 5 至 500 的范围内, 优选在 80 至 200 的范围内, 更优选在 130 至 180 的范围内。

[0051] 优选情况下, 所有载架在结构上相同, 即具有相同的尺寸、相同的取向、相同的空隙 / 载架面积比, 并具有形状和尺寸相同的空隙。这允许在每个层区处具有相同的流速。优选情况下, 对于层状载架堆叠体中的每对层状载架来说, 平均距离或固定距离相同。这也允

许在每个层区处具有相同的流速。为了确保同样的培养条件施加在生物反应器内的各处，这种相等的流速(在层区内和 / 或层区之间)即使不是必需的话也可能是所希望的。

[0052] 随着相对恒定地分配经过每个载架并且主要为横向流动方向，细胞可以附着于载架，并且可以在二维培养的基础上获得良好的细胞生长。在适合情况下，载架中的空隙可以具体体现为孔洞或沟槽形式的孔口。

[0053] 在本公开的优选实施方案中，堆叠体的每个载架包含至少两个空隙。在这样的情况下，本公开的生物反应器可以被认为由以串联和并联两种方式相连的多个流体互通件构成。流体互通件——实际上为层区的一部分——的这种串联和并联连接的组合被证明比流体互通件的单独串联或并联连接更好。如果流体互通件仅仅以串联方式相连，则它们将仅仅在一个层区上横向延伸。具体来说，培养基将在第一层区上从第一孔口向远处的第二孔口流动，然后返回到后面的第二层区上，等等。当堆叠体的每个载架包含至少两个空隙时，流速可以比每个载架仅存在一个空隙的情况下低，并同时保持相同的循环时间。因此，可以降低剪切应力，或者可以减少循环时间。在每个载架仅具有一个空隙的情形中，在限制剪切应力的流速(例如等于或小于 2mm/s)下，循环时间可能非常长，例如很容易达到几个小时。

[0054] 当每个板仅存在一个空隙时，有用的实施方案例如是使用外部循环系统并且堆叠体中交替的载架交替地具有中央空隙和外周空隙的实施方案。该实施方案中的载架具有两种交替类型。例如，第一种类型是通过其与外壁相连的边缘而保持在位，并具有中央空隙。在这种实例中，第二种类型是通过与中轴相连而保持在位，并通过不延伸至封闭堆叠体的壁来确保用于使两个相邻层区流体连通地互连的空隙。当然，中轴可以是与载架堆叠体同心并在其内部的流体通道(例如中空管)。该中空管形成了与载架堆叠体分开的流体通道，在载架堆叠体的第一末端处的第一载架与载架堆叠体的第二末端处的第二载架之间提供流体连通，由此为液体培养基提供了循环系统。

[0055] 可选地，如果流体互通件仅仅以并联的方式相连，则一个流体互通件有可能比另一个流体互通件短。因此生物反应器内的压降将不均匀，导致系统内流速的差异。如此大的流速差异是不希望的，因为它们可能引起湍流和 / 或不均匀性，湍流和 / 或不均匀性可能容易地损伤细胞和细胞生长。此外，在生物反应器的某些流体互通中，流速可能是低的。这典型地将产生死区(混合不良的区)，并因此在生物反应器内产生细胞生长的差异。在最糟糕的情形中，某些流体互通中的细胞培养将不产生足够的所需质量的终产物。

[0056] 此外，流体互通件的串联和并联连接防止流体互通件(例如空隙或孔口)的单个堵塞会阻断基本上所有的进一步流动。

[0057] 在实施方案中，反应器设有第一侧面和相对的第二侧面(例如底面和顶面)，并包含如本公开的第一方面的任何实施方案中所定义的载架的堆叠体，例如在从第一侧面(例如反应器的底面)通向第二侧面(例如反应器的顶面)的主方向上堆叠载架，以便限定在相邻载架之间的用于细胞培养和培养基流动的层区。专业技术人员将会理解，生物反应器优选在其第二侧面(例如顶面)处封闭，以便以最佳方式维持物理条件。在实施方案中，反应器的顶面和 / 或底面可以包含入口和 / 或出口(例如用于气体的入口和出口)和 / 或探针(例如温度探针、pH 值探针、溶解的 O₂ 的探针、溶解的 CO₂ 的探针、生物量探针或任何其他探针)。顶面和 / 或底面也可以是至少部分透明的，以允许显微镜介导的观察。例如，第一和 / 或第二侧面可以包含透光窗口。

[0058] 在实施方案中,反应器可以包含至少一个用于测量液体培养基的参数(例如物理、化学或生物学参数,例如温度、pH 值、O₂ 浓度、CO₂ 浓度、培养基中的细胞密度(生物量)等)的探针。生物反应器还可以包含与所述探针相连的控制器,所述控制器用于根据控制器从探针接收到的输入来改变参数。在实施方案中,生物反应器还可以包含用于改变参数的机构。在实施方案中,所述机构与控制器相连。这样的机构的实例是加热机构、冷却机构、气体递送机构和驱动机构等。

[0059] 在另一个实施方案中,生物反应器还设有用于使培养基在主方向上循环的泵或培养基循环机构(例如推进器)。优点包括更好的通气、热传递和可控制性等。此外,根据本公开,能够进行流体循环,使得在收获期间,培养基也可以进行循环。

[0060] 通过这种方式,本发明的生物反应器提供了用于细胞培养的二维结构,并具有适合的培养基流动和收获。

[0061] 在几个层区上产生引起细胞和培养基的不均匀分配的完全竖直的培养基流动的风险,可以通过使空隙的宽度比两个层状载架之间的距离小至少 5 倍来降低,或者可以通过使相邻层状载架的空隙之间不重叠来降低,并且可选地或此外,可以利用流体互通件的形状和/或通过主动流动刺激来降低。适合情况下,通过本技术领域已知的循环机构(例如推进器如机械推进器,优选为磁力推进器)来布置后一种主动流动刺激。适合情况下,推进器被提供在层状载架堆叠体上方并与其相邻的上部空腔中,或者被提供在生物反应器底部(在层状载架堆叠体下方)并与其相邻的下部空腔中。可选地,在下部空腔中存在第一推进器,并且在上部空腔中存在第二推进器,以便允许将生物反应器倒置操作。优选情况下,在下部和/或上部空腔中提供用于定位所述推进器的轴承。推进器可以存在于流体通道(例如在所述第一层状载架与所述第二层状载架之间提供流体连通并为液体培养基提供循环系统的中心柱和同心柱)中。这在不存在下部空腔时是特别有利的。

[0062] 在本公开的实施方案中,生物反应器还可以包括顶部区和底部区,该顶部区和底部区分别与由载架组成的所述堆叠体的第一末端和第二末端相邻,并且彼此流体连通且与中央流体通道流体连通。

[0063] 在本公开的实施方案中,生物反应器还可以包含通向所述顶部区和/或底部区的入流端口/出流端口。

[0064] 在本公开的实施方案中,在底部区中可以存在至少一个入流端口,并且在顶部区中可以存在至少一个出流端口,并且在入流端口和出流端口之间可以连有外部循环机构,例如泵。

[0065] 在另一个实施方案中,至少一些载架具有以包括与主方向成不垂直角度的方向定向的部分,所述部分包含至少一个空隙。其优选的实现方式是,当在穿过中轴的横截面侧视图中观察时,所述载架具有弯曲的形状。例如,载架可以是圆锥形的。可选地,载架也可以是角锥形的。尽管基本上所有载架都具有相同或相似的形状和取向被认为是适合的,但这不被认为是必需的。例如,第一载架可以具有弯曲的(例如圆锥形或角锥形的)形状,具有与生物反应器的中心相比更接近生物反应器的第一侧面的边缘,而第二载架具有弯曲的形状,并设有与生物反应器的中心相比更接近生物反应器的第二侧面的边缘,换句话说,取向可以是相反的。第一载架是平坦的,而第二载架具有不同的形状(例如圆锥形),这也是可能的。第一载架和第二载架是弯曲的并具有相同的取向,但第一载架的曲率与第二载架的曲

率不同,这也是可能的。这样的实施方案导致层区具有变化的高度,这对于提高收获而言可能是有利的。此外,堆叠体可以被细分成第一子堆叠体和第二子堆叠体,在第一子堆叠体和第二子堆叠体之间可以存在用于流体和 / 或培养基的入口和 / 或出口。然后将这样的端口适当地与具有不同高度的层区相连。

[0066] 在另一个实施方案中,可以对生物反应器中的物理条件进行充分监测和控制。这被认为是有益的,因为干细胞 / 原代细胞非常脆弱。物理条件例如温度、生物量、pH 值、 O_2 和 CO_2 浓度、以及机械冲击的轻微变化就可能损伤干细胞。对此,在适合情况下,本公开的生物反应器在载架堆叠体的上方设有与载架堆叠体相邻的上部空腔。传感器至少可以存在于所述上部空腔中。

[0067] 传感器可以存在于生物反应器内部。此外或可选地,如果存在外部循环系统的话,可以在例如生物反应器的出流端口与培养基储存罐之间监测外部循环系统的组成和物理条件。为此可以预见到独立的检测容器。待测量的典型条件包括 pH 值、温度、生物量、培养基的氧气和 CO_2 含量、生物材料的量和 / 或有效流速。本公开的生物反应器优选可以包含至少一个与载架堆叠体分开的流体通道,所述流体通道提供了基本上从第一侧面延伸至第二侧面的流体连通,并由此提供培养基的内部循环系统。用于培养基的内部循环系统比外部循环系统产生更小的足迹。此外,外部组件的数量少于使用外部循环系统的情况,这对用户友好性而言是有利的。用另一种方式表述就是,在实施方案中,生物反应器还可以包含至少一个与载架堆叠体分开的流体通道,所述流体通道在载架堆叠体的第一末端处的第一载架与载架堆叠体的第二末端处的第二载架之间提供流体连通,由此为液体培养基提供循环系统。优选情况下,流体通道具体体现为位于生物反应器中轴上的柱状通道。在实施方案中,流体通道可以是与载架堆叠体同心的,并在载架堆叠体的内部或外部。例如,流体通道可以是在载架堆叠体内部的中心柱。

[0068] 适合情况下,柱状通道在下部空腔与上部空腔之间延伸。推进器可以存在于下部空腔和 / 或上部空腔中。推进器优选具有与中轴相同的旋转轴。如上所述,例如如果不存在下部空腔,推进器可以在柱状通道中。在这种情形中,需要存在至少一些端口,以将柱状通道与至少一个层区(优选包含堆叠体的最低层区)互连。已观察到,可以利用具有一个或多个孔口即培养基的进入端口的壁将下部空腔与柱状通道分隔开。这样的分隔允许柱状通道中的流动比反应器的层区中的流动更剧烈。通过这样的方式,可以同时获得对细胞来说适合的混合和适合的流速两者。这样的柱状通道与生物反应器的各个层区之间的端口可以存在,但优选不存在。然而,正如上面提到的,如果不存在底部空腔,并且如果循环机构或泵是在柱状通道中的推进器,则优选存在端口。适合情况下,柱状通道不设有这样的端口,但是具有用于将组分提供到柱状通道内的培养基中的机构,例如管等。这种组分的实例是气态组分,例如空气、氧气和 CO_2 ,但也包括用于校正 pH 值的酸或碱,或培养基或其他营养物质或添加剂。所述机构可以具体实现为管,但是可选地可以具体体现为用于添加固体形式的组分的机构。如果所述机构具体体现为用于气体调节和 / 或交换和 / 或控制并调节气体(例如氧气或二氧化碳浓度)的管,所述机构可以是用于传播气泡的简单的管,或者可以是封闭的多孔硅胶管道(这避免了气泡和泡沫)。然后柱状通道可以在一定程度上具有一些搅拌或至少具有旋转运动。因此,组分例如氧气可以溶解到培养基中,并且在将培养基提供到细胞正在生长的层区之前获得了适合的混合。此外,任何气泡可以在培养基被提供到各个层区

之前离开培养基。穿过层区的气泡可能损伤细胞,因此是不希望的。

[0069] 这样的用于将组分提供到培养基中的机构也可以被提供在其他位置处(例如在上部空腔中)。还可以提供用于气体交换的过滤器。

[0070] 在其他实施方案中,层区包含结构化固定床,所述固定床具有适合于待扩增的细胞的尺寸的空腔尺寸。此外,可以在不振摇生物反应器的情况下进行收获。在干细胞或原代细胞培养的情形中,这样的振摇具有可能破坏所生长的细胞的缺点。

[0071] 在实施方案中,生物反应器的载架是亲水性的。这可以通过表面处理来获得。表面处理对于细胞培养是有利的。基本上,通过物理处理(例如真空或大气压等离子体处理)或化学处理(用亲水性硅烷进行官能化)来适当地进行亲水化。可以设想更复杂的其他处理方法(例如物理官能化、化学官能化)。

[0072] 可以通过例如酶反应(例如使用胰蛋白酶)来进行收获。载架表面上可以存在用于粘附的锚定点,尽管在典型情况下优选光滑的表面。

[0073] 在实施方案中,本公开的生物反应器被改造成使得层区中培养基的线速度小于 2mm/s (例如 1mm/s)和 / 或使得培养基的循环时间小于 60 分钟(例如 30min)。这可以通过选择适合的层区宽度、空隙密度、推进器或泵送速度、以及空隙的形状和位置来实现。

[0074] 优选情况下,生物反应器被进一步改造成允许培养基的线速度在收获步骤中增加至 10mm/s 至 20mm/s 的范围。这有助于从载架上分离细胞。

[0075] 最适合情况下,本公开的实施方案的生物反应器用于动物细胞(例如哺乳动物细胞、昆虫细胞、鱼类细胞、植物细胞等)的培养,优选用于包括或不包括人类细胞、但优选包括人类细胞的哺乳动物细胞的培养。本公开的实施方案的生物反应器可用于原代细胞和 / 或干细胞的培养。然而,不排除本发明的生物反应器在任何其他细胞类型或甚至任何其他生物材料类型例如病毒、细菌等的培养中找到应用。

[0076] 在第二方面,本公开涉及培养细胞的方法。在该第二方面的实施方案中,所述方法包括下列步骤:

[0077] - 检测液体培养基的参数(例如 pH 值、温度、O₂ 浓度、CO₂ 浓度……)值,以及

[0078] - 只要该参数值低于或高于预定值,就通过操作循环机构或泵而使液体培养基在生物反应器中循环。

[0079] 在该第二方面的具体实施方案中,所述方法包括下列步骤:

[0080] - 检测液体培养基的参数(例如 O₂ 浓度)值,以及

[0081] - 只要该参数值低于预定值,就通过使循环机构或泵运行而使液体培养基在生物反应器中循环。

[0082] 在该第二方面的另一个实施方案中,一旦在本公开第一方面的任何实施方案的生物反应器中生长出细胞之后,所述方法包括下列收集步骤:

[0083] - 通过打开用于液体培养基的出口,将生物反应器中的液体培养基排空,

[0084] - 引入含有释放剂(例如胰蛋白酶)的另一种液体培养基,

[0085] - 通过使循环机构或泵运行,而使所述另一种液体培养基在生物反应器内循环,

[0086] - 排空该生物反应器,并由此收集所生长的细胞。

[0087] 在本公开的第二方面的另一个实施方案中,所述方法包括下列步骤:

[0088] - 把含有细胞的第一液体培养基引入到根据本公开第一方面的任何实施方案的生

物反应器中，

[0089] - 使循环机构或泵运行，以使第一液体培养基在生物反应器中循环，

[0090] - 停止该循环机构或泵，以允许细胞沉积在生物反应器的载架的第一侧面上，以及

[0091] - 可选地，从生物反应器中去除该液体培养基，把含有细胞的第二液体培养基引入到生物反应器中，使循环机构或泵运行以使第二液体培养基在生物反应器中循环，停止该循环机构或泵，将生物反应器倒置，并允许细胞沉积在该生物反应器的载架的第二侧面上。

[0092] 在本公开的第二方面的另一个实施方案中，所述方法包括上述步骤的组合。例如，所述方法可以包括下列步骤：

[0093] - 把含有细胞的第一液体培养基引入到根据本公开第一方面的任何实施方案的生物反应器中，

[0094] - 使循环机构或泵运行，以使第一液体培养基在生物反应器中循环，

[0095] - 停止该循环机构或泵，以便允许细胞沉积在生物反应器的载架的第一侧面上，

[0096] - 可选地，从生物反应器中去除该液体培养基，把含有细胞的第二液体培养基引入到生物反应器中，使循环机构或泵运行以使第二液体培养基在生物反应器中循环，停止该循环机构或泵，将生物反应器倒置，并允许细胞沉积在生物反应器的载架的第二侧面上；检测液体培养基的参数(例如氧气浓度)值，

[0097] - 只要该参数值低于预定值，就通过使循环机构或泵运行而使液体培养基在生物反应器中循环，

[0098] - 一旦细胞生长之后，通过打开用于液体培养基的出口，将生物反应器中的液体培养基排空，

[0099] - 引入含有释放剂(例如胰蛋白酶)的另一种液体培养基，

[0100] - 通过使循环机构或泵运行，而使所述另一种液体培养基在生物反应器内循环，

[0101] - 排空生物反应器，并由此收集所生长的细胞。

[0102] 本公开的又一方面涉及用于监测细胞生长的装置和方法，所述装置包括多个堆叠在一起的载架。位于第二载架上方的第一载架可以包括适于阻止细胞生长的区域或部分。当该区域或部分与下方载架的生长区域对齐时，允许视线维持从生物反应器外部透过第一载架到达所述生长区域。

[0103] 本公开的再一方面涉及一种用于在生物反应器中培养细胞的载架。所述载架包括具有适合于细胞粘附的区域和适合于阻止细胞粘附的区域的表面。优选情况下，用于阻止细胞粘附的表面伴有一片透明材料，或者可以是疏水性的。

[0104] 用于细胞培养的生物反应器可以包括第一载架和第二载架，该第一载架和第二载架各自具有允许流体培养基进入的至少一个入口。第一载架包括适合于细胞粘附的第一部分，并且第二载架还包括适合于阻止细胞粘附的第二部分。因此当第一载架的第一部分与第二载架的第二部分对齐时，所述第二部分允许对所述第一部分进行观察。

[0105] 优选情况下，第一部分和第二部分包含载架上的表面，但是也可以形成开口。第二部分可以包括在第二载架与第一载架之间的透光材料。可以提供用于容纳载架的单个壳体，或者载架可以包含可堆叠的托架或立方盒体(cube)。

[0106] 可以提供第三载架，所述第三载架具有适合于细胞粘附的第一部分和适合于与第二载架的第二部分对齐使用以阻止细胞粘附的第三部分。

[0107] 本公开的再一方面是用于细胞培养的生物反应器。所述生物反应器包含载架的堆叠体。位于第二载架上方的第一载架包括适合于阻止细胞粘附的区域。第一载架的没有细胞粘附的区域允许透过所述第一载架来观察第二载架上的细胞生长区域。

[0108] 用于细胞培养的生物反应器包含 N 个载架的堆叠体。第 N-1 个载架具有至少一个适合于阻止细胞粘附的区域。第 N-1 个载架的该区域允许透过第 N-1 个载架来观察第 N 个载架上的细胞生长区域。优选情况下,第 N-2 个载架具有至少两个适合于阻止细胞粘附的区域,第一个阻止区域允许观察第 N-1 个载架上的第一细胞生长区域,并且第二个阻止区域允许使用透过第 N-1 个载架的阻止区域的视线来观察第 N 个载架上的第二细胞生长区域。

[0109] 从另一方面来看,用于细胞培养的生物反应器包含 N 个载架的堆叠体。第 N-M 个载架具有至少 M 个适合于阻止细胞粘附的区域。第 N-M 个载架的这些区域允许透过第 N-M 个载架来观察第 N 个载架上的细胞生长区域。

[0110] 本公开还涉及一种生物反应器,其包含 N 个载架的堆叠体,并具有从外部有利位置通向第 N-1 个载架表面上的细胞生长区域的透光视线通路。优选情况下,透明材料柱形成该透光视线通路。

[0111] 从另一方面来看,包含载架堆叠体的生物反应器包括位于相邻载架之间的空间中的透光固体材料。

[0112] 本公开的又一方面包含载架的竖直堆叠体的生物反应器,每个载架具有用于接收流体培养基的入口,并适合于允许透过相邻载架而不是经由所述入口来观察一个载架上的生长区域。

[0113] 再一方面用于细胞培养的生物反应器,其包含载架的堆叠体。所述载架被堆叠,以便限定在相邻载架之间的用于液体培养基从生物反应器的入口向出口流动的层区。相邻层区经由两个或更多个空隙流体连通地互连,使得液体培养基能够从一个层区向相邻层区流动。至少一个由第一载架提供的空隙与由第二个相邻载架提供的空隙至少部分重叠,以产生基本上没有阻挡的光路,用于观察第三载架上的生长区域。优选情况下,载架还在第一层区与相邻的第二层区之间包括一个或多个空隙,所述空隙在沿着主方向投影时不与所述第二层区与相邻的第三层区之间的一个或多个空隙重叠。

[0114] 本公开还涉及用于细胞培养的生物反应器,其包含至少三个载架的堆叠体。第一载架提供至少三个没有细胞粘附的空隙,并且第一载架上的至少一个空隙与第二载架上的至少一个空隙对齐,以允许观察第三载架上的细胞生长区域。优选情况下,第二载架包含至少两个空隙。

附图说明

[0115] 下面将参考附图对本发明的生物反应器进行进一步阐述,在所述附图中:

[0116] 图 1 显示了本公开的实施方案的设有外部循环系统的生物反应器的示意性视图;

[0117] 图 2 显示了包含整合在本公开实施方案的生物反应器中的循环系统的生物反应器的示意性横截面视图;

[0118] 图 3 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图;

- [0119] 图 4 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图；
- [0120] 图 5 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图(左图);它还显示了一个图,该图显示了载架中的空隙所占的总表面积(A)随着距载架几何中心的径向距离(D)的增加而更快速地增加；
- [0121] 图 6 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图；
- [0122] 图 7 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图；
- [0123] 图 8a-c 显示了用于解释本公开实施方案的生物反应器中的流动的图；
- [0124] 图 9 和 10 显示了本公开的其他实施方案的示意性横截面视图,其中生物反应器包含载架,所述载架包括相对于生物反应器中的主方向不垂直的角度；
- [0125] 图 11 和 12 显示了本公开的其他实施方案的示意性横截面视图,其中生物反应器包含载架,所述载架包括相对于生物反应器中的主方向不垂直的角度；
- [0126] 图 13 显示了本公开第二方面的实施方案的方法；
- [0127] 图 14 显示了本公开的实施方案的生物反应器的示意性横截面视图；
- [0128] 图 15 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图；
- [0129] 图 16 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的透视图；
- [0130] 图 17 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图(左图);它还显示了一个图,该图显示了载架中的空隙所占的总表面积(A)随着距载架几何中心的径向距离(D)的增加而更快速地增加；
- [0131] 图 18 显示了在本公开的反应器的实施方案中使用的载架堆叠体的边缘的横截面视图；
- [0132] 图 19 显示了本公开实施方案的载架堆叠体的透视图；
- [0133] 图 20-26 涉及本公开实施方案的生物反应器。

具体实施方式

[0134] 将针对具体实施方案并参考某些附图对本公开进行描述,但是本发明不限于此,而是仅仅受到权利要求书的限制。描述的附图仅仅是示意性的而不是限制性的。在附图中,出于说明的目的,一些元件的尺寸可能被夸大,并且没有按比例绘制。尺寸和相对尺寸不对应于实践本发明时的真实缩减。应该认识到,在本发明的示例性实施方案的描述中,出于精简本公开的内容和协助理解各种创造性方面中的一个或多个的目的,有时在单个实施方案、附图或其描述中会将本发明的各种特征组在一起。然而,这种公开方法不应被解释为反映出这样的意图,即要求保护的发明需要比在每个权利要求中明确记载的特征更多的特征。相反,正如权利要求书所反映出的,创造性方面在于比单个前面公开的实施方案的所有特征更少的特征。因此,权利要求书在此被明确整合在该详细的说明书中,其中每项权利要求自身保持作为本发明的单独的实施方案。

[0135] 此外,尽管本文中描述的一些实施方案包括其他实施方案中包含的一些而不是其

他特征,但不同实施方案的特征的组合意欲被包含在本发明的范围之内,并且形成不同的实施方案,正如本领域的技术人员会理解的。例如,在权利要求书中,任何所要求保护的实施方案可以以任何组合使用。

[0136] 此外,一些实施方案在本文中被描述为可以通过计算机系统的处理器或通过执行所述功能的其他机构来执行的方法或方法要素的组合。因此,带有用于执行这样的方法或方法要素所需的指令的处理器,形成了用于执行所述方法或方法要素的机构。此外,出于执行本发明的目的,本文描述的装置实施方案的元件是用于执行由所述元件行使的功能的机构的实例。

[0137] 在此提供的说明书中阐述了大量具体细节。然而应该理解,本发明的实施方案可以在没有这些具体细节的情况下进行实践。在其他情况下,众所周知的方法、结构和技术没有详细显示,以便不妨碍对本说明书的理解。

[0138] 图 1 显示了本发明的生物反应器的第一个实施方案的示意性视图。生物反应器 1 设有第一侧面 11 和相对的第二侧面 12。在生物反应器 1 中存在优选的载架 7 的堆叠体。沿着从第一侧面 11 向第二侧面 12 延伸的主方向 P 堆叠载架。载架 7 设有空隙(未示出)。该实施方案的生物反应器 1 设有外部循环系统 30。外部循环系统 30 包含培养基储存罐 32,培养基储存罐 32 通过管 36 与生物反应器 1 相连。存在能够使培养基流过生物反应器 1 的外部泵 33。流过所述管的培养基在生物反应器 1 的第一侧面 11 上的入流端口 21 处进入生物反应器 1。它穿过生物反应器 1 内的每个载架 7 中的空隙,然后在生物反应器 1 的第二侧面 12 上的出流端口 22 处离开生物反应器。在本实例中,培养基储存罐 32 设有用于气体交换的过滤器 34,以及用于添加组分的机构或输送器 35。机构 35 可以具体体现为管,但是可选地可以具体体现为用于添加固体形式的组分的机构。尽管培养基储存罐 32 在这里被显示为典型的实验室器具例如玻璃烧杯,但显然不排除更大规模的器具。尽管在这里将培养基储存罐 32 显示成与单个生物反应器 1 相连,但不排除将它与多个适合地并联排列的生物反应器 1 相连。尽管未示出,但优选情况下对生物反应器 1 的组成和物理条件进行监测。为此,在生物反应器内部可以存在传感器。可选地,可以在例如生物反应器 1 的出流端口 22 与培养基储存罐 32 之间监测外部循环系统的组成和物理条件。为此,可以预见到独立的检测容器。待测量的典型条件包括 pH 值、温度、培养基的氧气和 CO₂ 含量、生物材料的量和 / 或有效流速。

[0139] 图 2 是生物反应器 1 的第二个实施方案的横截面示意性视图。这里显示的实施方案是其中整合有循环系统的生物反应器。在该实例中,反应器设有下部空腔 3、上部空腔 4 和在下部空腔与上部空腔 3 和 4 之间沿着生物反应器 1 的主方向 P 延伸的流体通道 5。在这里显示的实例中,流体通道 5 是位于生物反应器 1 中心的柱状通道,其优选为圆柱体形状。载架 7 沿着相同方向堆叠。在一个实施方案中,利用限定了柱状通道 5 的侧壁的机械连接件来进行堆叠。这些机械连接件可以固定堆叠体中每个载架的取向,但是可选地可以为每个载架的独立旋转留下自由度。显然,决不排除通过例如模制方法将包含柱状通道的载架堆叠体作为整体制造,和 / 或使用胶粘性或机械固定件(螺丝等)来固定堆叠体的一部分。然而,载架的分开制造具有使堆叠体变得模块化以便根据所预期的用途和所需条件将其制造得更大或更短的优点。

[0140] 优选情况下,如该图 2 中所示,柱状通道 5 不与在生物反应器 1 中相邻载架 7 之间

延伸的单个层区 6 相通。其优点在于柱状通道 5 可用作混合和溶解容器。在本实例中,生物反应器 1 设有几个端口 13、14、15,例如用于气体交换的过滤器 13,用于添加液体组分特别是溶剂、溶液、悬液、分散体的端口 14,以及用于添加气态组分例如空气、氧气或 CO₂ 的端口 15。具体来说,更好地阻止了从气态组分的添加产生的任何气泡 16 进入载架 7 之间的层区 6。生物反应器 1 设有用于搅拌培养基的推进器 9。典型情况下,特别是在本发明的生物反应器 1 的实验室版本中,推进器是磁力推进器。然而,不排除机械驱动的推进器。

[0141] 该推进器 9 还负责提供培养基通过生物反应器的流动。然而,如果需要,可以使用独立的泵来控制 and 驱动这样的流动。推进器 9 可以被提供在柱状通道 5 末端处的下部空腔 3 中。已观察到,可以利用具有一个或多个孔口即培养基的进入端口的壁将下部空腔 3 与柱状通道分隔开。这样的分隔允许柱状通道 5 中的流动比反应器 1 的层区 6 中的流动更剧烈。通过这样的方式,可以同时获得对细胞来说适合的混合和适合的流速两者。

[0142] 本实施方案的生物反应器 1 设有至少一个在生物反应器 1 的第一侧面处的入流端口 21。该入流端口 21 主要用于填充和排空反应器。然而,决不排除该入流端口 21 形成通向除了内部流通系统以外使用的外部循环系统的端口。在这样的情形中,典型情况下,在反应器的第二侧面 12 上存在至少一个出流端口。如果需要,入流端口 21 和这样的出流端口 12 可以被倒转。

[0143] 如图 2 中所示,适合情况下,在上部空腔 4 中存在入流端口 13-15。该空腔 4 还为传感器 23 留下空间。本领域的技术人员将会理解,生物反应器 1 优选在其第二侧面 12 处封闭,以便以最佳的可能方式维持物理条件。

[0144] 图 3 至 7 显示了本发明的载架 7 的不同实施方案的多个示意性顶视图。所有这些实施方案都显示了具有空隙 2 的圆形载架 7,沿着从载架 7 的中心 17 至其边缘 18 的几条线提供所述空隙 2,以便包含旋转对称。然而,决不排除载架 7 可以具有其他形状。此外,不排除空隙 2 沿着中心 17 周围的圆取向而不是沿着径向线取向。载架包含空隙 2 和实心载架 27。

[0145] 图 3 和 5 显示了基于孔洞形状的空隙 2 的实施方案。图 4、6 和 7 显示了基于沟槽形状的空隙 2 的实施方案,其中沟槽基本上从中心 17 延伸至侧边缘 18。尽管未示出,但沟槽形状的空隙和孔洞形状的空隙可以被组合到单个载架 7 的设计中。尽管未示出,但沟槽形状的空隙可以被细分成一系列沟形状的空隙,并且孔洞形状的空隙可以被加宽成得到这样的沟形状的空隙。

[0146] 图 3 和 4 显示了其中空隙 2 的表面积不依赖于距中心 17 的距离的实施方案。图 5 和 6 显示了至少一个载架 7 中的空隙 2 所占的总表面积随着距载架 7 几何中心的径向距离的增加而更快速地增加的实施方案。图 6 显示了其中空隙 2 的表面积随着距中心 17 的距离而增加的优选实施方案。

[0147] 图 5 显示了其中通过例如减少各个空隙 2 之间的间隔使各自具有统一尺寸的空隙 2 的密度随着距中心的径向距离的增加而增加的实施方案。

[0148] 图 6 显示了其中空隙 2 的宽度随着距中心 17 的距离而增加的实施方案。

[0149] 图 7 显示了特定的实施方案,其中流体互通件 2 被限定成遵循生物反应器 1 中的培养基的旋转运动,所述旋转运动由泵送系统产生。

[0150] 图 8a-c 演示了本发明的一个实施方案的生物反应器中的流动。为了便于描绘,在

这里显示了其中第一载架 7 中的空隙 2 相对于相邻的第二载架 7 中的空隙 2 横向、例如旋转错位的实施方案。这里的图 8a 公开了微观尺度上的流动,而图 8c 公开了宏观尺度上的流动。图 8b 更详细地绘出了微观尺度。显然,尽管宏观尺度上的流动是沿着生物反应器 1 的主方向 P,但它在微观尺度上包括横向延伸的主要分量 10。图 8b 显示了详细视图,该详细视图阐明了,流动实际上主要是横向的而不是主要为竖直的。这是通过设计,例如设计层区 6 的宽度、空隙 2 的尺寸和密度来实现的。

[0151] 图 9 和 10 是生物反应器 1 的其他实施方案的横截面示意性视图。这些第三和第四实施方案的生物反应器 1 相当相似,使得可以将它们在一起讨论。在这些实施方案中,载架 7 的堆叠体具有圆锥形状,即每个载架至少包含包括与生物反应器的主方向成不垂直(即倾斜)的角度的部分。这种圆锥形状的一个优点在于它简化了各个载架之间的气泡消除。此外,反应器的排空和收获得到改进,因为避免了当排空反应器时形成水坑的风险。尽管在典型情况下,载架 7 只有一个侧面被用于细胞粘附,但将载架 7 的两个侧面都用于细胞粘附不是不可能的。其一种实施方式是使用在上部空腔和下部空腔两者中的推进器(参见图 14)。然后将生物反应器的取向倒转。这允许在第一次操作中导入细胞并提供时间使其沉积在第一载架上。然后将反应器的取向倒转,并导入另外的细胞(如果需要),提供时间使其沉积在第二载架上。

[0152] 图 13a-g 显示了本公开的实施方案的用于使用生物反应器中的每个载架的两个侧面的程序。在第一步中(图 13a),将在培养基 M 中的细胞 C 导入到生物反应器 1 中,并通过操作推进器 9 使细胞 C 均匀分布。在第二步中(图 13b),让细胞 C 沉积在载架 7 的第一侧面上。始于细胞 C 的箭头显示了沉积的方向。这是由重力引起的。在第三步中(图 13c),将培养基 M 从生物反应器 1 中去除。在第四步中(图 13d),将另外的在培养基 M 中的细胞 C 导入生物反应器 1 中,并通过操作推进器 9 使细胞 C 均匀分布。在第五步中(图 13e),在关闭推进器 9 之后,将生物反应器 1 倒置。在第六步中(图 13f),让细胞 C 沉积在载架 7 的第二侧面上。在第七步中(图 13g),将生物反应器 1 翻转回到其最初的取向,现在细胞 C 能够在每个载架 7 的两个侧面上生长。

[0153] 图 14 显示了与图 2 中相同的生物反应器,其中在生物反应器的上部空腔中存在第二个循环机构例如泵。这种反应器可以倒置操作。

[0154] 图 15 显示了在本公开的实施方案的生物反应器中使用的载架,其中载架 7 中的空隙 2 的宽度随着距中心 17 的距离而增加。在这里,载架 7 由交替的实心载架 27 和空隙 2 构成,所述空隙 2 横向分隔实心载架 27。

[0155] 图 16 显示了在本公开的实施方案的生物反应器中使用的载架的一部分,其中空隙 2 由脊 19 桥接,从而限定了沟槽形状的沟 20。

[0156] 图 17 显示了用于本公开实施方案的生物反应器中的载架的一种设计的示意性顶视图(左图);它还显示了一个图,该图显示了载架中的空隙所占的总表面积 A 随着距载架几何中心的径向距离 D 的增加而更快速地增加(右图)。

[0157] 图 18 显示了在本公开的反应器的实施方案中使用的载架 7 的堆叠体的边缘的横截面视图。可以看到确定了两个相邻载架 7 之间的相互距离的脊 10 和旨在埋设在聚合物材料中的向外凸出的脊 19。

[0158] 图 19 显示了用于细胞培养的生物反应器 1 的透视图,所述生物反应器包含限定了

层区 6 的载架 7 的堆叠体。载架 7 具有两种交替的类型。第一种类型是通过其边缘而保持在位,并具有中央空隙。第二种类型是通过与中轴 24 相连而保持在位,并通过不延伸至封闭堆叠体的壁来确保用于使两个相邻层区流体连通地互连的空隙。

[0159] 图 20-25 涉及一种实施方案,其中细胞培养装置例如生物反应器 1 包括载架 $7_a \dots 7_n$,并且还适合于从外部有利位置观察在一个或多个内部载架上的细胞 C 的生长。在一种可能的方法中,这可以通过提供从外部有利位置 V 透过载架 $7_a \dots 7_{n-1}$ 到达载架 7_n 的透光视线通路来实现。在如图 20 中所示的一个具体实施方案中,这可以通过在每个载架 $7_a \dots 7_{n-1}$ 上提供细胞不在其上生长的表面区域 A 来实现。该区域可以使用化学处理来获得,例如通过使用使所述区域疏水以阻止细胞粘附或生长的方法,或者相反地,通过使用天然地妨碍或阻止细胞粘附的材料,并对其进行改造以在区域 A 之外获得用于生长的区域(例如通过使用亲水化)。将载架 $7_a \dots 7_{n-1}$ 中的这些区域 A 总体上对齐,以便提供通向载架 7_n 上的细胞生长区域 A_{cg} 的基本上没有阻挡的视线。因此,通过使用显微镜 O 或类似装置,可以容易地观察该生长区域 A_{cg} 上的细胞,而不干扰载架 $7_a \dots 7_{n-1}$ 上的细胞生长。因此,区域 A 可以被当作窗口。

[0160] 图 21 显示了可选实施方案,其中通过提供区域 A 来提供所需视线,在所述区域 A 中,通过使用伴随着每个载架 $7_a \dots 7_{n-1}$ 但不伴随着需要进行细胞生长观察的载架 7_n 的透光材料 T 来阻止细胞生长。优选情况下,该材料完全充满相邻载架之间的空间,因此提供了从所需有利位置 V 起始的基本上连续的光路。与前一个实施方案相同,可以提供多个视线,以在生物反应器的不同层区处提供观察。在两种实施方案中,在优选情况下,区域 A 尽可能小,以避免使细胞生长区域最小化,同时仍允许进行所需的观察。

[0161] 参考图 22,应该认识到,在同一装置例如生物反应器 1 中,可以为不同载架提供不同的视线。因此,例如,为了观察载架 7_n 上的细胞生长,排列方式如图 20 中所示,其中区域 A 上的细胞生长基本上被阻止。对于 7_{n-2} 层来说,由相应的载架 $7_a \dots 7_{n-3}$ 上的类似区域 A_2 提供了不同的光路。此外,光路可以在不同的区域 A_3 中延伸,以到达载架 7_{n+3} 的生长区域。正如应该认识到的,如果需要或希望,这种模式可以被重复,以允许在一个或多个载架上进行观察。

[0162] 尽管如本文中所述,可以使用这些方法来观察细胞培养装置中的细胞生长区域,例如具有在同一壳体内的堆叠的载架 7 的生物反应器 1 中的细胞生长区域,但是它也可以在其他应用中找到用途。因此,例如,图 23-25 显示了上述实施方案在包含多个可堆叠的载架 7_a 、 7_b 和 7_c 的细胞培养装置(其可以包含生物反应器 1)中的用途,所述每个载架具有独立的入口。在图 22-24 中,载架 7_a 和 7_b 包括用于阻止细胞生长的区域 A,所述区域允许透过这些区域对载架 7_c 上的生长区域 A_{cg} 进行外部观察。类似地,在图 25 中,被放置在“立方箱体”型载架 7_a 和 7_b 中的透光材料 T 形成了用于阻止细胞生长的区域 A,所述区域允许透过这些区域对载架 7_c 上的生长区域 A_{cg} 进行外部观察(这当然需要载架 7_a 和 7_b 的任何居间部分是足够透光的,以允许以所需方式进行观察)。在任一种情况下,观察下层的能力,避免了为观察下部载架的细胞生长而不得不拆开任一个上部载架这种高成本且耗费时间的需求。

[0163] 图 26 显示了一个实施方案,其中载架 $7_a \dots 7_n$ 包括对齐的开口,以允许观察选定的载架上的细胞。具体来说,生物反应器 1 可以包括入口 21 和出口 22,所述入口和出口位于包含以堆叠构型排列的多个载架的壳体内。第一载架 7_a 可以被排列成提供至少一个空隙

2,所述空隙 2 用于允许透过壳体的第一侧面 12(为此目的,它至少是部分透明的)对下一个相邻载架 7_b 上的生长区域 A_{cg} 进行直接观察。通过类似的方式,第一载架和第二载架 7_a 和 7_b 可以提供对齐的空隙 2,用于提供通向下一个相邻载架 7_c 的基本上连续的光路。如果需要或希望,这种模式可以被重复,以允许从外部有利位置观察选定的载架上的生长区域,其中第一载架优选具有与待观察的最内部载架相对应的开口数量,并且每个连续的载架提供比前一个载架少一个的开口。此外,可以组合或改造这种方法,以允许从第二侧面 11 观察载架,正如由载架 7_n 中的空隙 2 所指示的(当然,前提是壳体适合于此目的)。

[0164] 正如应该认识到的,也可以对空隙 2 进行排列,以确保使流体、氧气和营养物向所述层最理想地流动,正如上面所概述的。例如,在载架(7)中可以存在不同的两组开口,例如第一组专用于细胞营养物的“曲折”流动,第二组对齐的开口用于观察(并且最优选情况下,排列成使得产生的通过对齐开口的“直线”流动相对于通过偏置开口的主要流动是相对低的)。

[0165] 当在本文中使用时,除非另有指明,否则术语“包含”不与具有更狭窄意义的术语“由……构成”同义。术语“包含”不应被解释为仅限于其后列出的机构;它不排除其他要素或步骤。因此,它应该被解释为明确说明存在所指的所述特征、整数、步骤或组件,但是不排除存在或添加一个或多个其他特征、整数、步骤或组件或其组合。因此,表述“包含机构 A 和 B 的装置”的范围不应限于仅由组件 A 和 B 构成的装置。它意味着对于本公开来说,装置的唯一相关组件是 A 和 B。此外,术语“包含”总是包括术语“由……构成”,并且当术语“包含”出现在本公开的实施方案中时,其中用术语“由……构成”代替术语“包含”的该相同实施方案也总是本公开的实施方案。

[0166] 此外,在说明书和权利要求书中,术语“第一”、“第二”、“第三”等被用于在相似的要素之间进行区别,不必定用于描述在时间上、在空间上、在等级上或采取任何其他方式的顺序。应该理解,如此使用的术语在适当情况下可以互换,并且本文中描述的本发明的实施方案能够以本文中描述或示例的顺序之外的其他顺序操作。

[0167] 此外,在说明书和权利要求书中,术语“顶部”、“底部”、“在……上方”、“在……下方”等是用于说明性目的,不必定用于描述相对位置。应该理解,如此使用的术语在适当情况下可以互换,并且本文中描述的本发明的实施方案能够以本文中描述或示例的取向之外的其他取向操作。

[0168] 在整个本说明书中,“一个实施方案”或“实施方案”的指称表示结合所述实施方案进行描述的特定特征、结构或特点被包括在本公开的至少一个实施方案中。因此,在整个本说明书的各个不同地方出现的词组“在一个实施方案中”或“在实施方案中”不必定全都指称同一实施方案,但是可以全都指称同一实施方案。此外,在一个或多个实施方案中,所述特定的特征、结构或特点可以以任何适合的方式进行组合,正如本领域的普通技术人员从本公开内容可以显然看出的。

[0169] 当在本文中使用时,除非另有指明,否则术语“长度”是指物体(例如空隙)的最长维度。

[0170] 当在本文中使用时,除非另有指明,否则术语“宽度”是指物体的与其长度成直角的最大维度。因此“宽度”绝不会比“长度”更长。

[0171] 提供了前面关于本发明的各种实施方案的描述是出于说明的目的,并且所述描述

并不旨在穷举或进行限制。鉴于上述教导,进行修改或改变也是可能的。对上面描述的实施方案进行选择以提供最佳应用,由此使本领域的普通技术人员能够在各种实施方案中利用所公开的发明,并进行适合于所设想的特定用途的各种修改。所有这样的修改和改变都在本发明的范围之内。

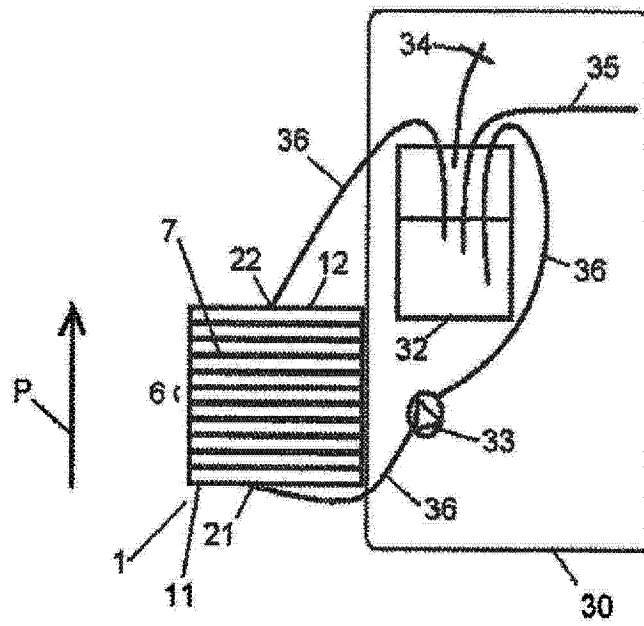


图 1

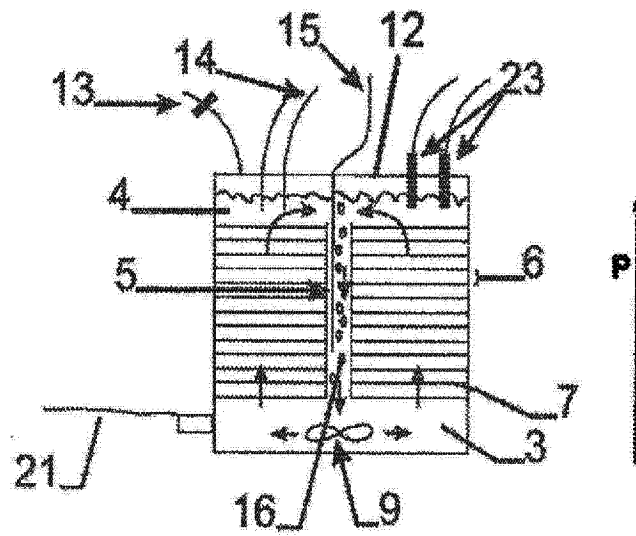


图 2

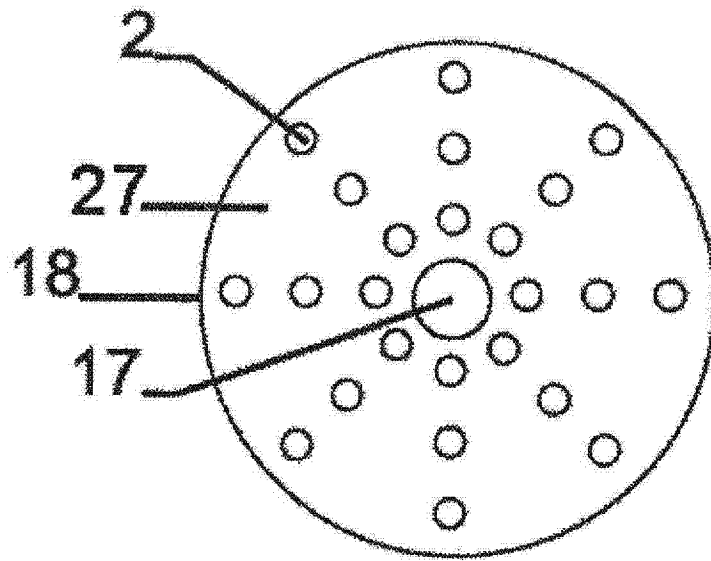


图 3

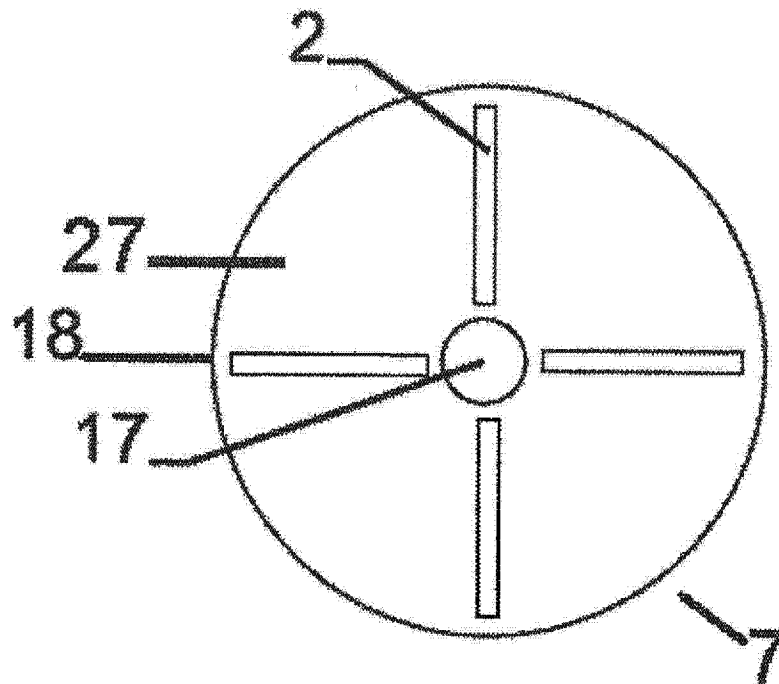


图 4

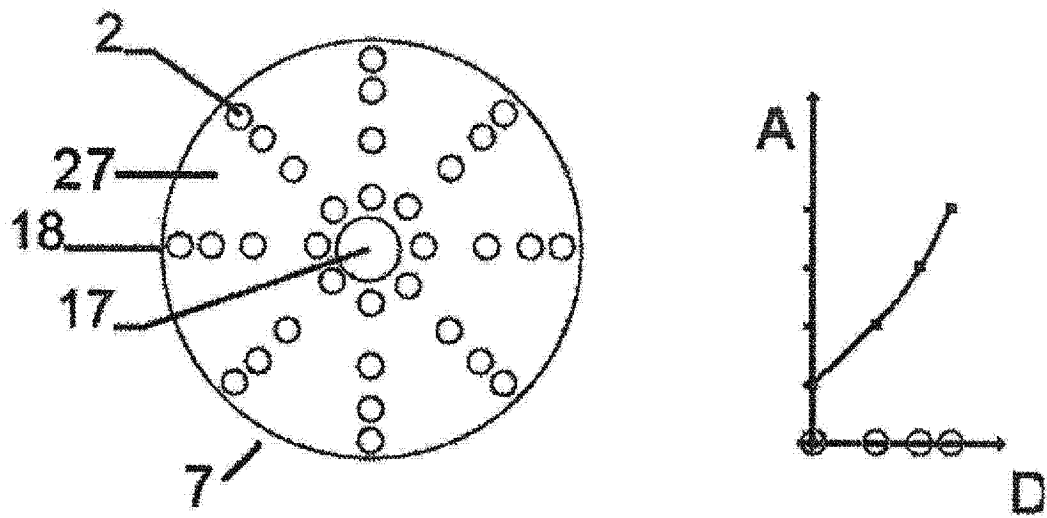


图 5

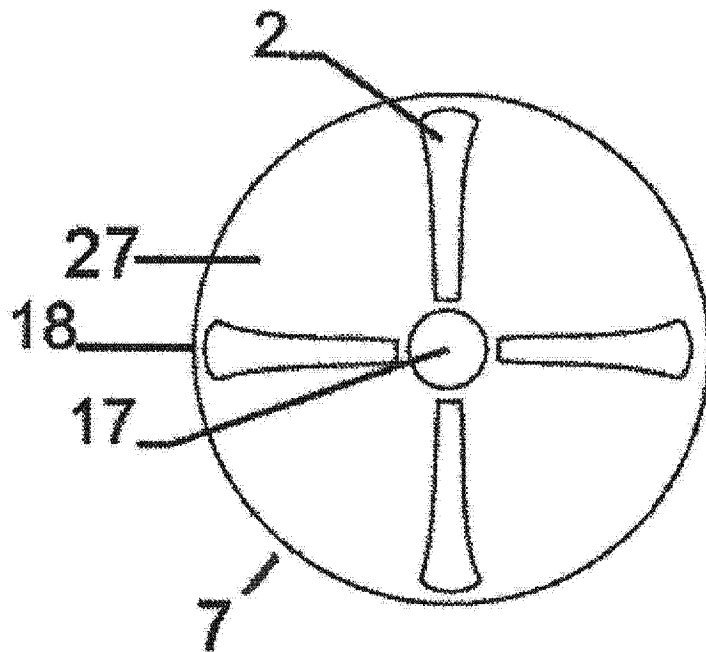


图 6

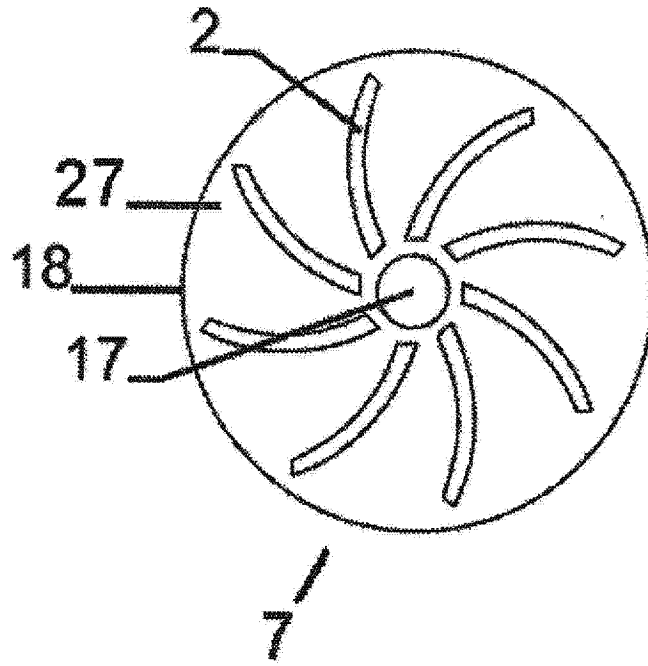


图 7

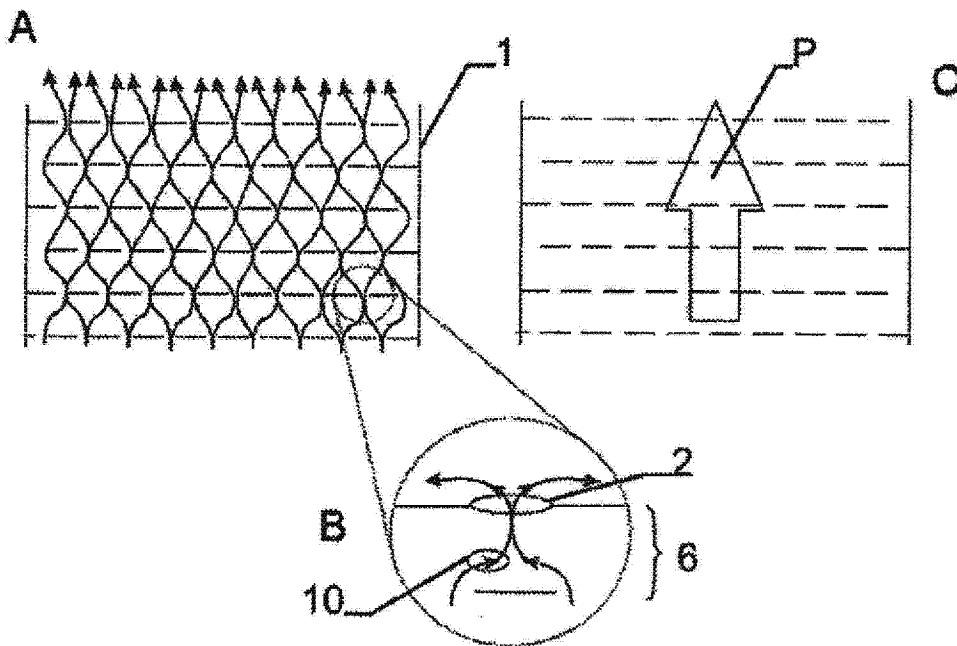


图 8

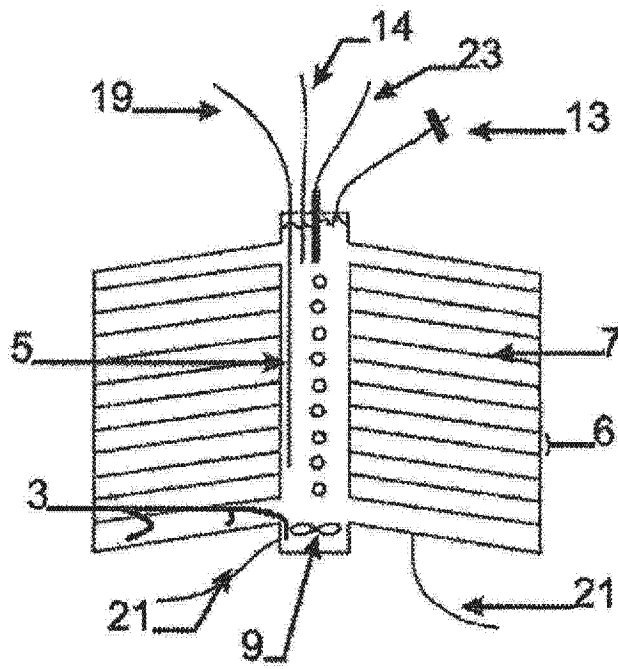


图 9

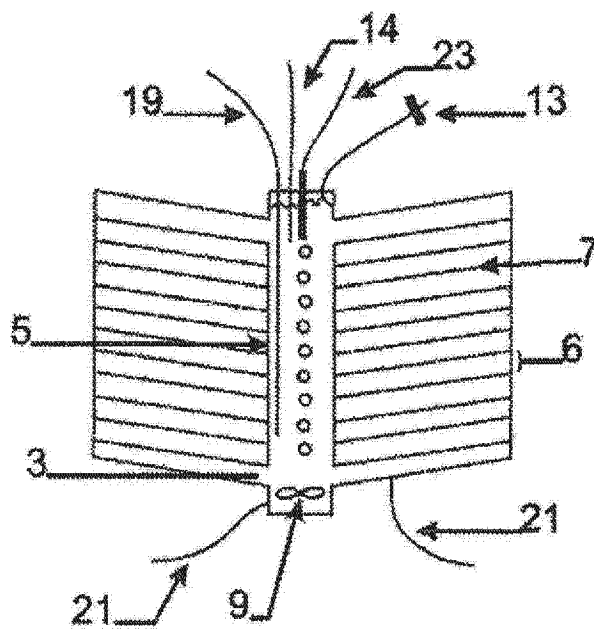


图 10

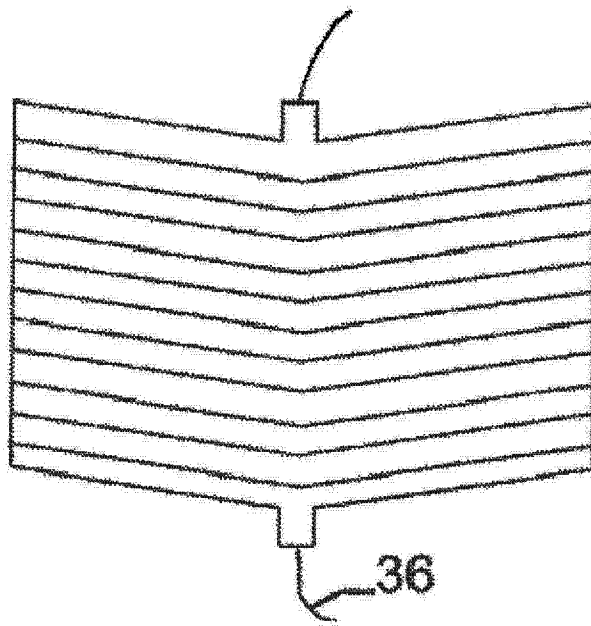


图 11

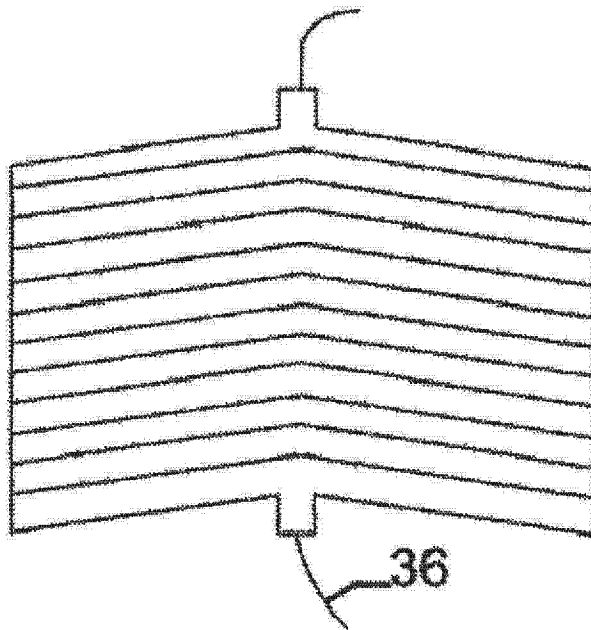


图 12

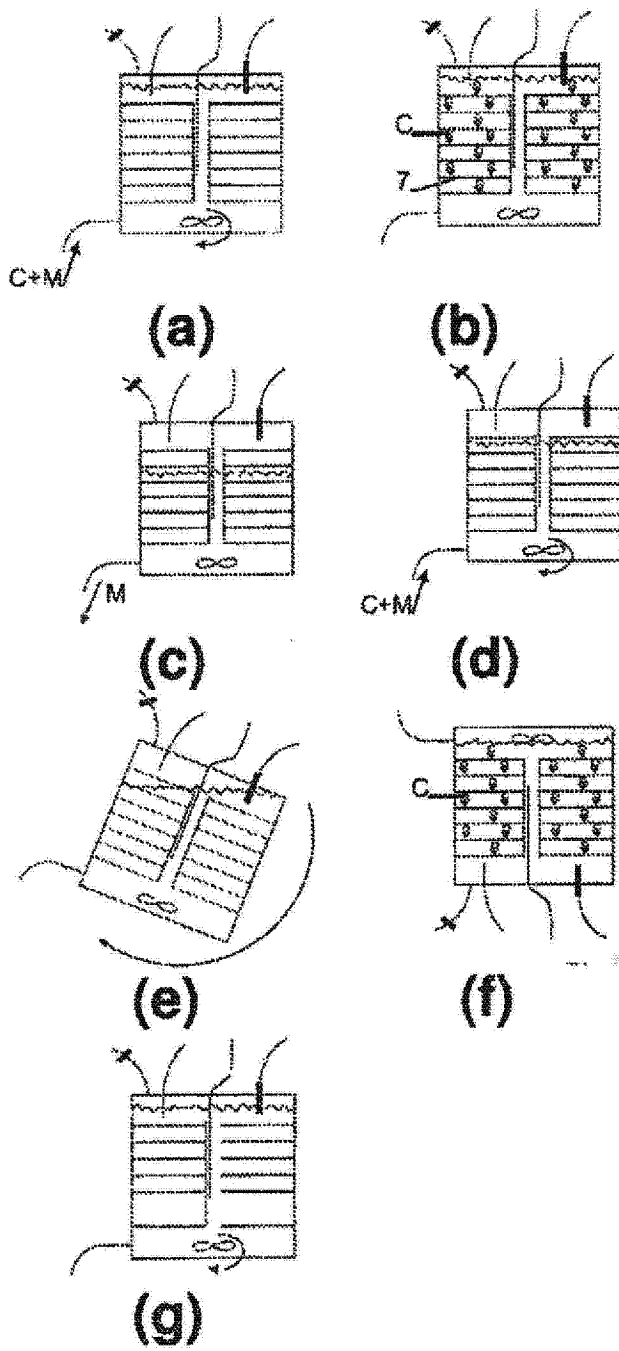


图 13

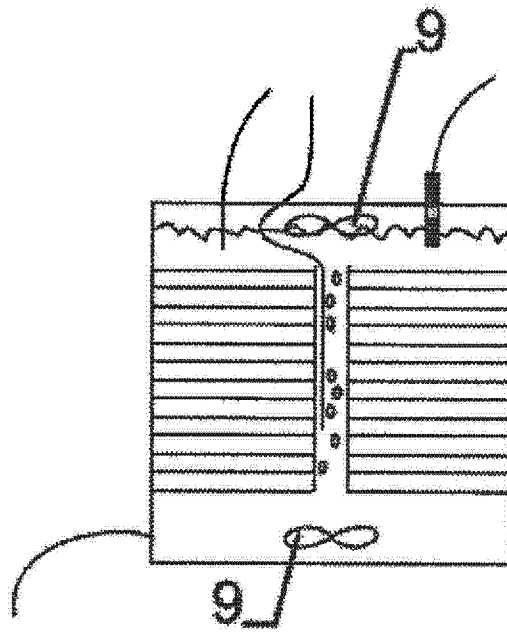


图 14

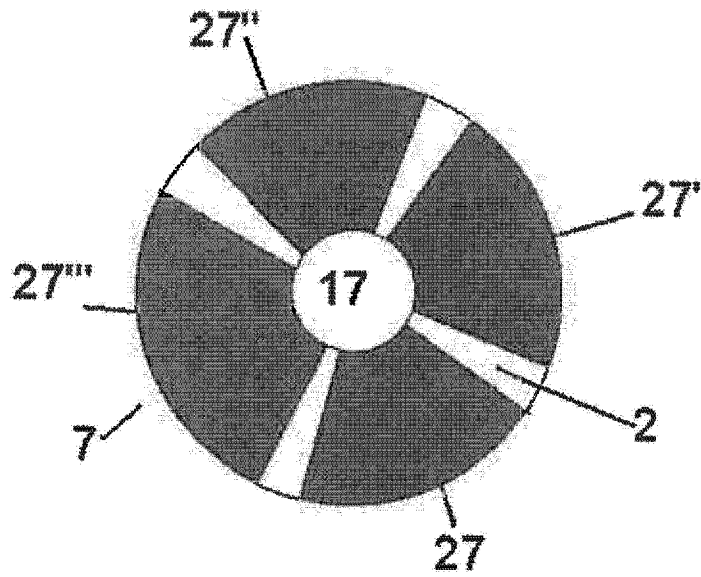


图 15

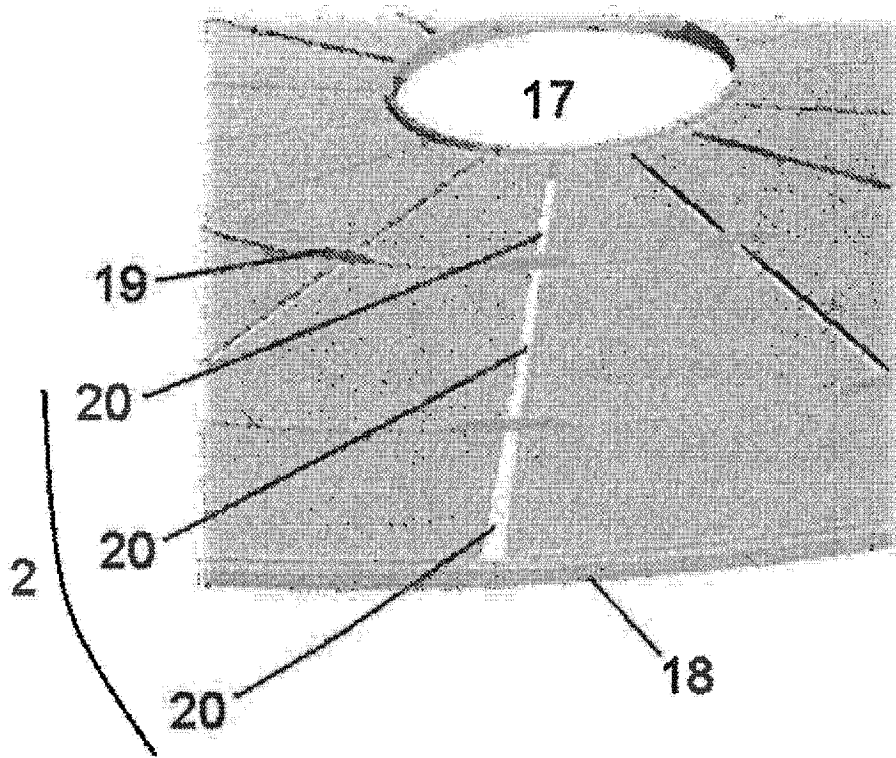


图 16

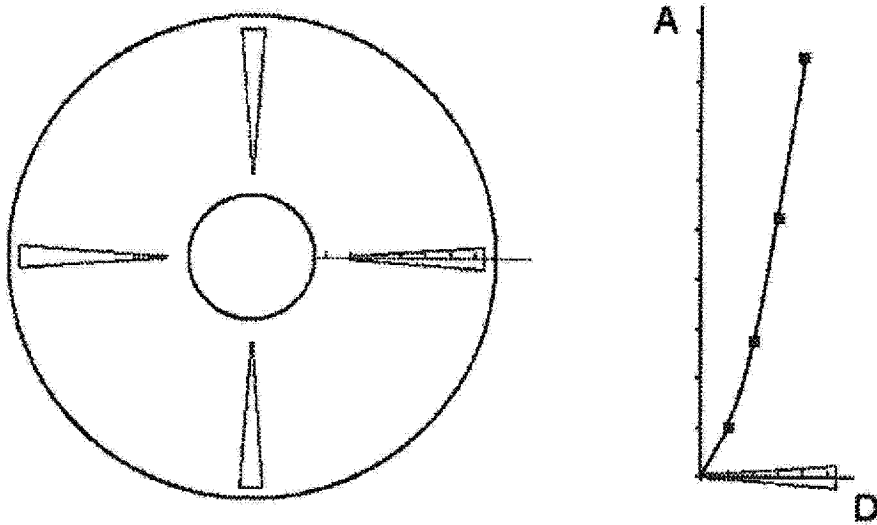


图 17

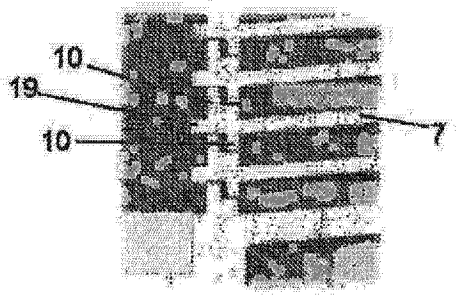


图 18

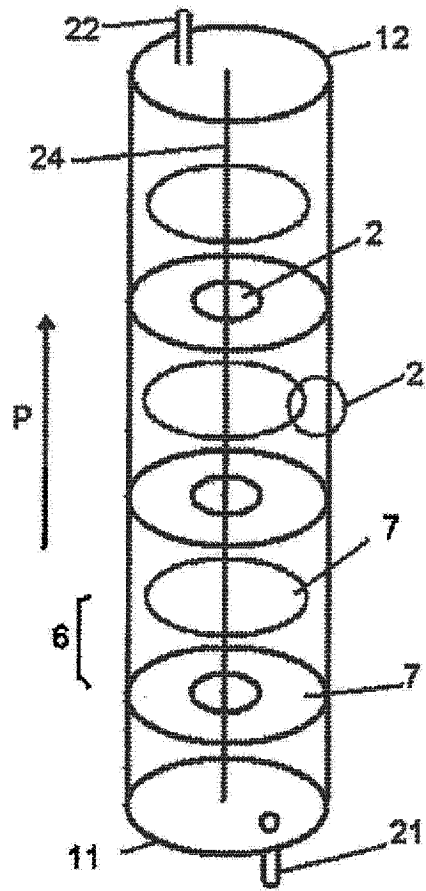


图 19

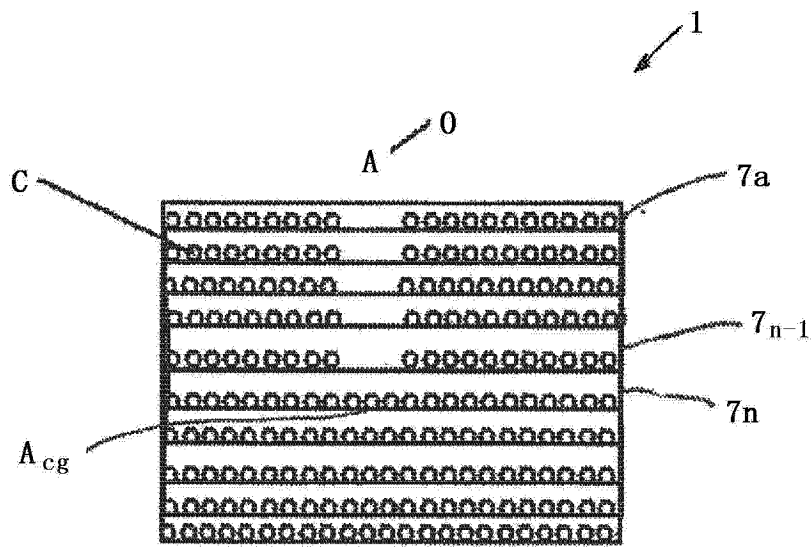


图 20

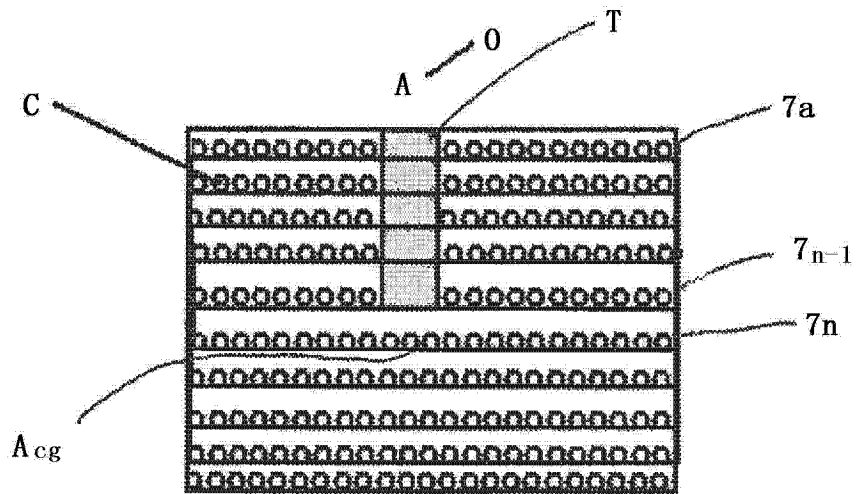


图 21

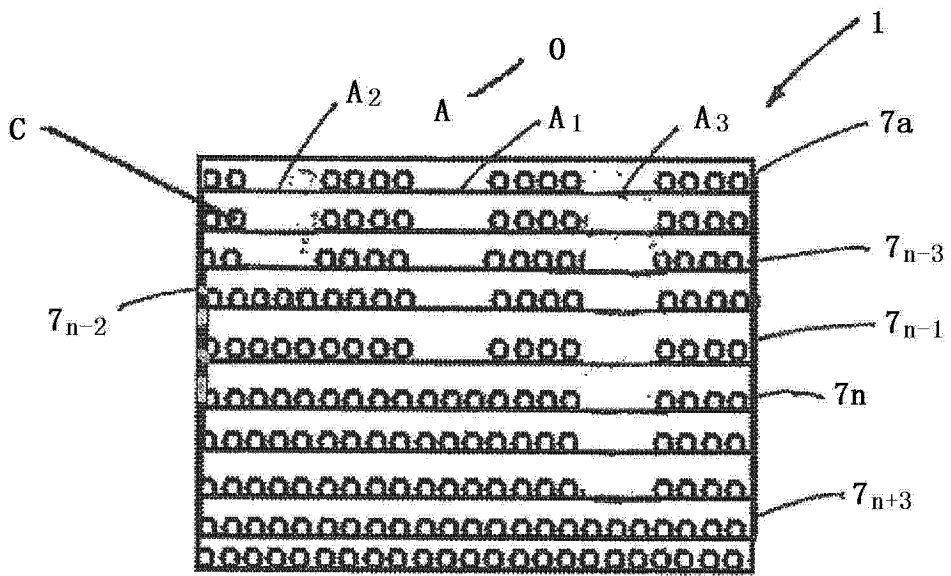


图 22

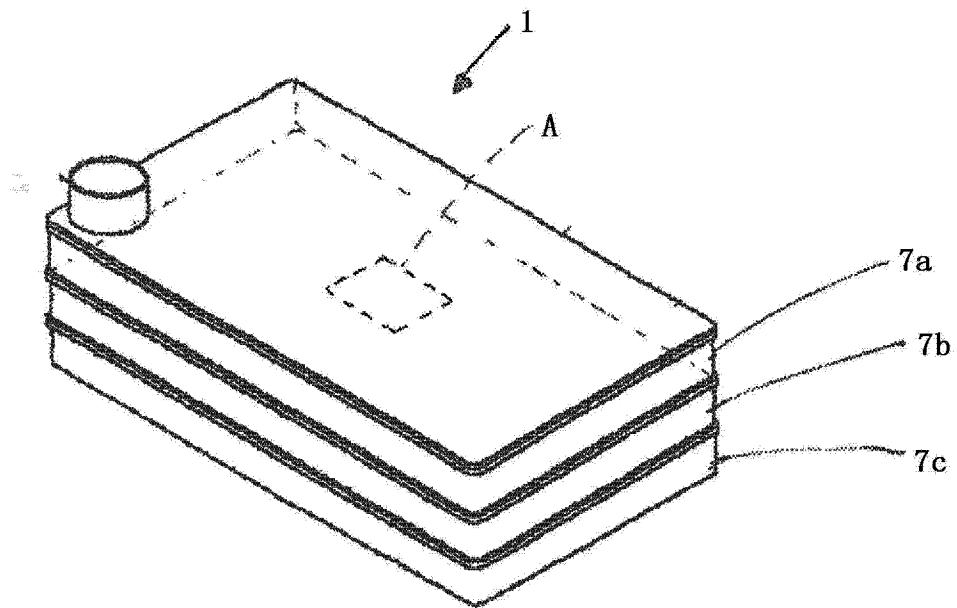


图 23

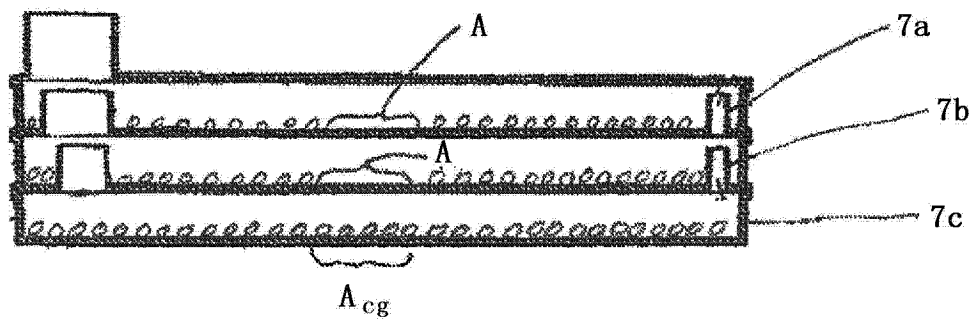


图 24

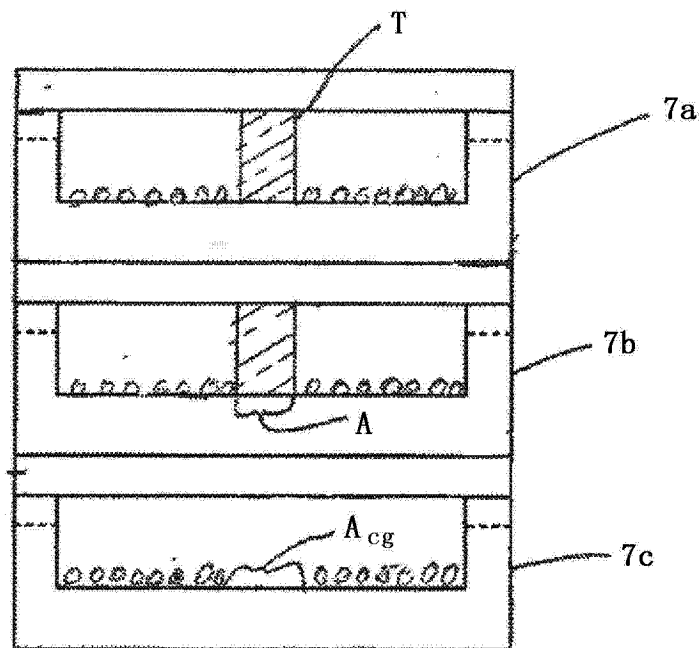


图 25

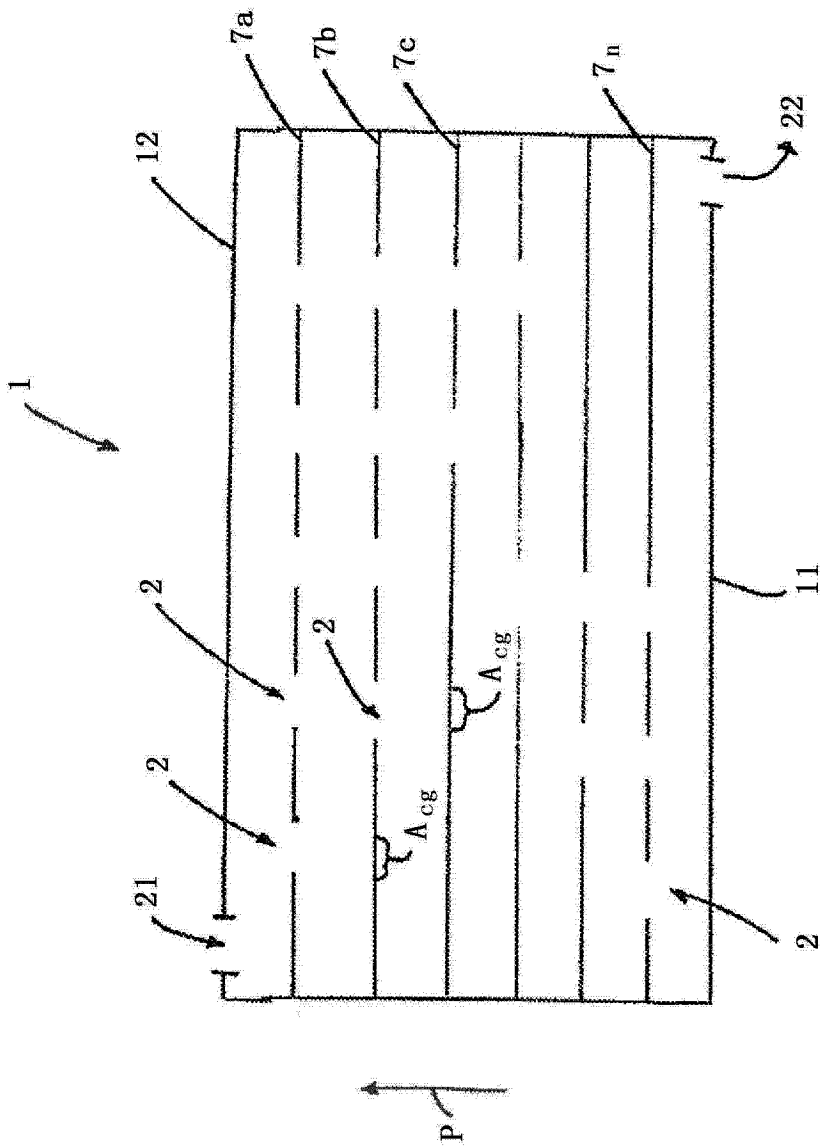


图 26